

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI *ACHILLEA* L. TÜRLERİNİN LCMS-IT/TOF VE LC-MS/MS İLE
METABOLİK PROFİLLERİNİN ÇIKARILMASI ve BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

Mustafa Abdullah YILMAZ

DOKTORA TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR

EYLÜL-2015

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasında, bilgisinden ve deneyiminden yararlandığım, sabrını ve yol göstericiliğini benden esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Hamdi TEMEL'e teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında her konuda fikir ve yardımlarını esirgemeyen Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi değerli arkadaşım Doç. Dr. Abdulselam ERTAŞ'a teşekkür ederim.

Antikanser çalışmalarımın gerçekleşmesinde her türlü yardımı esirgemeyen Sayın Prof. Dr. İbrahim Demirtaş'a teşekkür ederim.

Antioksidan çalışmalarında yardımlarını ve desteğini esirgemeyen arkadaşım Yrd. Doç. Dr. Mehmet Boğa ve Cezayir'li arkadaşım Ahmed Boukeloua'ya teşekkür ederim.

Çalışmalarımda her türlü yardımını esirgemeyen Prof Dr. Mehmet Hakkı Alma'ya teşekkür ederim.

Tez bitkilerimi toplayan ve teşhisini yapan Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Pınar TÜRKMENÖĞLU, Arş. Gör. Osman Tuncay AĞAR ve İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden Arş. Gör. Dr. Yeter Yeşil'e teşekkür ederim.

Dicle Üniversitesi'nden arkadaşlarım Yrd. Doç. Dr. Medeni Aykut, Arş. Gör. Oğuz Çakır, Uz. İsmail Yener, Dr. Mehmet Şakir Ece, Erdal Ertaş ve Arş. Gör. Pelin Uğurlu'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında sık sık ayrı kaldığım ve her zaman, her koşulda yanımda olan, desteğini esirgemeyen eşim Rümeyza'ya, anneme, babama ve çocuklarım Serra Betül, Emir Yusuf ve Ahmet Yasir'e teşekkür ederim.

Danışmanım Prof. Dr. Hamdi TEMEL nezdinde Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜBTAM)'ne teşekkür ederim.

Bu çalışma, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: ECZ.15.001).

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÖZET.....	IX
ABSTRACT.....	XI
ÇİZELGE LİSTESİ.....	XIII
ŞEKİL LİSTESİ.....	XXII
KISALTMA VE SİMGELER.....	XXX
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	5
2.1. Çalışılan Türler Hakkında Genel Bilgiler.....	5
2.1.1. <i>Asteraceae (Compositae)</i> Familyasının Genel Özellikleri.....	5
2.1.2. <i>Achillea</i> L. Cinsi Hakkında Botanik Bilgiler.....	6
2.1.2.1. Türkiye Florasındaki <i>Achillea</i> L. Taksonları.....	7
2.1.3. <i>Achillea</i> Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı.....	10
2.1.4. <i>Achillea</i> Türleri ile İlgili Yapılan Kimyasal Araştırmalar.....	11
2.1.5. <i>Achillea</i> Türleri Üzerine Yapılan Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	26
2.1.5.1. Antioksidan Etki.....	26
2.1.5.2. Sitotoksik Etki.....	30
2.2. Antioksidanlar.....	33
2.2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	35
2.2.1.1. Birincil Antioksidanlar.....	35
2.2.1.2. İkincil Antioksidanlar.....	38
- Kelat Yapıcılar.....	39
- Oksijen Gidericiler ve İndirgeme Ajanları.....	39
- Singlet Oksijen Gidericiler.....	39

2.2.2.	Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri.....	40
2.3.	Alzheimer Hastalığı.....	41
2.3.1.	Asetilkolinesteraz (AChE) ve Butirilkolinesteraz (BChE) İnhibitörleri.....	41
2.3.2.	Kolinesteraz İnhibitörlerinin Alzheimer Hastalığındaki Mekanizması.....	42
2.4.	Bitkisel Metabolitler.....	44
2.4.1.	Flavonoidler.....	45
2.4.1.1.	Flavonoller.....	47
2.4.1.2.	Flavonlar.....	48
2.4.1.3.	Flavan-3-oller.....	49
2.4.1.4.	Antosiyanidinler.....	49
2.4.1.5.	Flavanonlar.....	51
2.4.1.6.	İzoflavonlar.....	52
2.4.2.	Fenolik asitler.....	53
2.4.2.1.	Hidroksibenzoik asitler.....	53
2.4.2.2.	Hidroksisinnamik asitler.....	54
2.4.3.	Stilbenler.....	54
2.4.4.	Alkaloidler.....	55
2.4.5.	Fenolik Bileşiklerin Biyosentezi.....	56
2.4.6.	Terpenler.....	60
2.4.6.1.	Terpenlerin Biyosentezi.....	60
2.4.6.2.	Monoterpenler.....	61
2.4.6.3.	Diterpenler.....	65
2.4.6.4.	Triterpenler.....	69
2.5.	Bitkilerin Sekonder Metabolitlerinin Belirlenmesinde Kullanılan Önemli Analitik Teknikler.....	70
2.5.1.	İnce Tabaka Kromatografisi (TLC)	71
2.5.2.	Gaz Kromatografisi (GC)	71

2.5.3.	HPLC teknikleri.....	73
2.5.3.1.	HPLC ile beraber kullanılan dedektörler.....	75
2.5.4.	LC-MS Teknikleri.....	76
2.5.4.1.	İyon Kaynağı.....	77
2.5.4.2.	Kütle Analizörü.....	79
2.5.4.3.	LC-MS/MS (Sıvı kromatografisi tandem kütle spektrometresi)	81
2.5.4.4.	LCMS-IT-TOF hibrit cihaz sistemi.....	83
3.	MATERYAL VE METOT.....	85
3.1.	Bitkisel Materyal.....	85
3.2.	Kimyasal Standartlar ve Çözücüler.....	86
3.2.1.	Antioksidan Tayin Yöntemlerinde Kullanılan Kimyasallar.....	86
3.2.2.	Antikanser (Sitotoksik Aktivite) Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar ve Organizmalar.....	86
3.2.3.	LC-MS/MS Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar.....	87
3.3.	Cihazlar ve Diğer Gereçler.....	87
3.4.	Ekstrelerin Hazırlanışı.....	87
3.5.	Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit İçeriklerinin Belirlenmesi.....	88
3.5.1.	Toplam Fenolik Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	88
3.5.2.	Toplam Flavonoit Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	88
3.5.3.	Toplam Fenolik Miktar Tayin Yöntemi.....	88
3.5.4.	Toplam Flavonoit Miktar Tayin Yöntemi.....	89
3.6.	Antioksidan Testleri.....	90
3.6.1.	β -Karoten Renk Açılım Yönteminde Kullanılan Çözelti.....	90
3.6.2.	DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözelti.....	90
3.6.3.	ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözelti.....	90
3.6.4.	CUPRAC Yönteminde Kullanılan Çözeltiler.....	91
3.6.5.	Antikolinesteraz Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	91

3.6.6.	Standart Çözeltilerinin Hazırlanması.....	92
3.6.7.	Antioksidan Tayin Yöntemleri.....	93
3.6.7.1.	β -Karoten-Linoleik Asit Yöntemi (Toplam Antioksidan Aktivite Tayini)	93
3.6.7.2.	DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) Serbest Radikal Giderim Yöntemi.....	94
3.6.7.3.	ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi.....	94
3.6.7.4.	CUPRAC Yöntemi.....	95
3.6.8.	Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi.....	95
3.6.8.1.	AChE Aktivite Testi.....	95
3.6.8.2.	BChE aktivite testi.....	96
3.6.8.3.	İstatistik Hesaplamalar.....	96
3.7.	Antikanser (Sitotoksik Aktivite) Testleri.....	96
3.8.	LC-MS/MS Cihazı ve Kromatografik Şartlar.....	97
3.9.	LC-MS IT-TOF Cihazı ve Kromatografik Şartlar.....	98
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	99
4.1.	LC-MS/MS ile 37 Fitokimyasal Maddenin Tanımlanması ve Kantitatif Analizi.....	99
4.1.1.	LC-MS/MS Metod Validasyon Parametreleri.....	106
4.1.2.	Doğrusallık (Lineerite)	106
4.1.3.	Gerçeklik (Geri Kazanım) ve Kesinlik (Tekrarlanabilirlik)	106
4.1.4.	Belirleme ve Tayin Alt Sınırları (LOD/LOQ)	107
4.1.5.	Bağıl Standart Belirsizlik (U^{95})	107
4.1.6.	LC-MS/MS ile Çalışılan <i>Achillea</i> Türlerindeki Fitokimyasalların Kantitatif Analizi.....	107
4.1.6.1.	Metanol-Kloroform (1:1) Ekstrelerinin İncelenmesi.....	108
4.1.6.2.	Etanol Ekstrelerinin İncelenmesi.....	113
4.1.7.	LC-MS/MS Metodundaki Analitlerin Kalibrasyon Grafikleri.....	120
4.1.8.	LC-MS/MS Analizine İlişkin Standart ve Numune Kromatogramları.....	121

4.1.9.	LC-MS/MS Metot Validasyon Çalışmaları.....	122
4.2.	Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid Miktar Tayin Sonuçları.....	125
4.3.	Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	126
4.4.	Ekstrelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları.....	128
4.5.	Ekstrelerin Sitotoksik (Antikanser) Aktivite sonuçları.....	129
4.6.	LC-MS IT-TOF ile <i>Achillea</i> Türlerinin Fitokimyasal İçeriğinin Taranması.....	134
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	145
6.	KAYNAKLAR.....	149
	EKLER.....	183
	ÖZGEÇMİŞ.....	287

ÖZET

BAZI *ACHILLEA* L. TÜRLERİNİN LCMS-IT/TOF VE LC-MS/MS İLE METABOLİK PROFİLLERİNİN ÇIKARILMASI VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ

MUSTAFA ABDULLAH YILMAZ

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

2015

Bu doktora tez çalışmasında, Asteraceae familyasına ait 14 farklı *Achillea* türünün majör sekonder metabolitleri LC-MS/MS ve LC-MS IT-TOF cihazlarıyla belirlenerek ekstraktlarının antioksidan ve antikanser aktiviteleri araştırıldı. Çalışılan türlerin (*A. biebersteinii* Afan, *A. coarctata* Poir., *A. kotschy* subsp. *kotschy*, *A. lycaonica* Boiss. et Heldr., *A. millefolium* L. subsp. *millefolium* L., *A. schischkinii* Sosn., *A. setacea* Waldst. et Kit., *A. sintenisii* Hub.-Mor., *A. wilhelmsii* C. Koch subsp. *wilhelmsii*, *A. teretifolia* Willd., *A. gonioccephala* Boiss. et Bal., *A. nobilis* L. subsp. *neilreichii* Formanek, *A. spinulifolia* Fenzl ex Boiss. ve *A. monocephala* Boiss. & Balansa) teşhisi yapıp kurutularak toprak altı ve toprak üstü kısımlar şeklinde ayrıldı. Çalıştığımız türlerin kloroform-metanol (1:1) ekstraktlarının UHPLC-ESI-IT-TOF MS cihazı ile kalitatif olarak sekonder metabolik profilleri belirlendi. Bu çalışmada *Achillea* türlerinde 89 adet sekonder bileşen tespit edildi.

Ayrıca, kloroform-metanol (1:1) ve etanol ekstraktlarının LC-MS/MS ile 37 bileşenin kalitatif ve kantitatif analizi için kapsamlı bir metot geliştirildi. Bu çalışmadaki dikkate değer önemli bulgular; *A. kotschy*'nin toprak altı etanol ekstresinde klorojenik asit (55812.2 µg/g ekstre), *A. schischkinii*'nin toprak üstü etanol ekstresinde kinik asit (38293.02 µg/g ekstre), *A. monocephala*'nın toprak altı metanol-kloroform ekstresinde fumarik asit (12986.93 µg/g ekstre), *A. millefolium*'un toprak üstü metanol-kloroform ekstresinde malik asit (12945.44µg/g ekstre), *A. coarctata*'nın toprak üstü etanol ekstresinde rutin (11120.52 µg/g ekstre) ve *A. teretifolia*'nın toprak altı etanol ekstresinde ise kersetin (9085.56 µg/g ekstre) şeklinde sıralanabilir.

Çalışılan *Achillea* türlerinin etanol ekstraktlarının antioksidan etkileri, DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi, ABTS katyon radikali giderim aktivitesi, β-Karoten lipid peroksidasyon test sistemi ve CUPRAC bakır indirgeme kapasitesi yöntemleriyle incelenmiştir. Her yöntemde en aktif ekstraktlara baktığımızda DPPH yönteminde *A. nobilis*'in toprak altı (IC₅₀: 12,23±0,24), ABTS yönteminde *A. monocephala*'nın toprak altı (<10), *A. nobilis*'in toprak altı (<10), *A. kotschy*'nin toprak altı (<10), CUPRAC yönteminde ise *A. nobilis* ve *A. kotschy*'nin toprak altı (sırasıyla 3.675±0,130 ve 3.547±0,039) olduğu belirlenmiştir. β-Karoten lipid peroksidasyon yönteminde ise genel olarak tüm türlerin düşük ve orta derecede aktif olduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak, çalışılan türlerin toplam fenolik içeriği (*A. nobilis* toprak altı (282,97±3,14 µg pirokatekole eşdeğer/mg ekstre)) ile toplam flavonoid içeriği (*A. schischkinii* toprak altı (35,36±0,54 µg kersetine eşdeğer/mg ekstre)) belirlenmiştir. Ayrıca antikolinesteraz aktivite sonuçlarına göre tüm ekstraktlar arasında en yüksek aktiviteyi hem bütirilkolinesteraz hem de asetilkolinesteraz enzim inhibisyonunda *A. monocephala*'nın toprak üstü ekstresi (sırasıyla 39.73±1.51, 19.60±0.44) göstermiştir. Çalışmanın diğer kısmında da çalışılan 14 *Achillea* türünün metanol-kloroform (1:1) ekstraktlarının HeLa (İnsan Servikal Karsinoma Hücreleri) hücrelerine karşı antikanserojen aktivitelerini incelenmiştir. En yüksek sitotoksik aktiviteyi *A. gonioccephala* toprak üstü (-0.009), *A. millefolium* toprak üstü (-0.0059), *A. wilhelmsii* toprak üstü (-0.0146), *A. spinulifolia* toprak altı (-0.03) ve toprak üstü (-0.02) ve *A. schischkinii* toprak üstü (-0.0034) ekstraktları göstermişlerdir.

Anahtar Kelimeler: *Achillea*, sekonder metabolit, LC-MS IT-TOF, LC-MS/MS, antioksidan, antikanser.

ABSTRACT

DETERMINING THE METABOLIC PROFILE OF SOME *ACHILLEA* SPECIES BY LC-MS-IT-TOF AND LC-MS/MS. AND INVESTIGATION OF THEIR BIOLOGICAL ACTIVITIES

PhD THESIS

MUSTAFA ABDULLAH YILMAZ

DICLE UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

2015

In this pHd study, major secondary metabolites of 14 different *Achillea* species that belong to Asteraceae family were determined by LC-MS/MS and LC-MS IT-TOF instruments. Also antioxidant and anticancer properties of these species were investigated. The studied species (*A. biebersteinii* Afan, *A. coarctata* Poir., *A. kotschy* subsp. *kotschy*, *A. lycaonica* Boiss. et Heldr., *A. millefolium* L. subsp. *millefolium* L., *A. schischkinii* Sosn., *A. setacea* Waldst. et Kit., *A. sintenisii* Hub.-Mor., *A. wilhelmsii* C. Koch subsp. *wilhelmsii*, *A. teretifolia* Willd., *A. gonioccephala* Boiss. et Bal., *A. nobilis* L. subsp. *neilreichii* (Kerner) Formanek, *A. spinulifolia* Fenzl ex Boiss.ve *A. monocephala* Boiss. & Balansa) were taxonomically identified, dried and their overground and underground parts were seperated. The secondary metabolic profiles of the chloroform-methanol (1:1) extracts of the species were determined qualitatively by UHPLC-ESI-IT-TOF MS instrument. With this study 89 metabolites were identified in studied *Achillea* species.

By developing and validating a comprehensive LC-MS/MS method, 37 phytochemicals of chloroform-methanol (1:1) and ethanol extracts of the species were analysed qualitativeley and quantitatively. In LC-MS/MS study, chlorogenic acid (55812.2 µg/g extract) in underground ethanol extract of *A. kotschy*, quinic acid (38293.02 µg/g extract) in overground ethanol extract of *A. schischkinii*, fumaric acid (12986.93 µg/g extract) in underground chloroform-methanol extract of *A. monocephala*, malic acid (12945.44 µg/g extract) in overground chloroform-methanol extract of *A. millefolium*, rutin (11120.52 µg/g extract) in overground ethanol extract of *A. coarctata*, quercetin (9085.56 µg/g extract) in underground ethanol extract of *A. teretifolia* were found to be the richest analytes.

Additionally, the antioxidant activities of the studied species were determined by using DPPH free radical scavenging assay, ABTS radical cation decolorization assay, β-carotene lipit peroxidation test system and CUPRAC cupper reduction capacity methods. For DPPH *A. nobilis*-underground (IC₅₀: 12,23±0,24), for ABTS *A. monocephala*-underground (<10), *A. nobilis*-underground (<10) and *A. kotschy*-underground (<10) and for CUPRAC *A. nobilis* and *A. kotschy*-underground (3.675±0,130 and 3.547±0,039 respectively) extracts were the most active extracts for the studied methods. And for β-carotene lipid peroxidation test system all of the studied species were low or moderately active. Moreover, total phenolic content (*A. nobilis*-underground (282,97±3,14 µg pyrocatechol equivalent/mg extract)) and total flavonoid content (*A. schischkinii*-underground (35,36±0,54 µg quercetin equivalent /mg extract)) of the studied species were investigated. According to the anticholinesterase activity results the highest activity in both butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase enzyme inhibition was shown by overground extract of *A. monocephala* (39.73±1.51 and 19.60±0.44 respectively). Most importantly, the cytotoxic (anticancer) activities (on HeLa (Human Cervical Carcinoma Cell Line) of the chloroform-methanol extracts of the overground and underground parts of the 14 *Achillea* species were determined. Though most of the extracts were highly active, the highest cytotoxic activities were shown by *A. gonioccephala*'s (-0.009), *A. millefolium*'s (-0.0059), *A. wilhelmsii*'s (-0.0146), *A. schischkinii*'s overground (-0.0034), *A. spinulifolia*'s underground (-0.03) and overground (-0.02), extracts.

Keywords: *Achillea*, seconder metabolite, LC-MS IT-TOF, LC-MS/MS, antioxidant, anticancer.

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1.	<i>Achillea</i> türlerinin ana uçucu yağ bileşenleri ve verimleri	12
Çizelge 2.2.	<i>Achillea</i> türlerinden elde edilen seskiterpen laktonlar, diterpenler ve triterpenler	17
Çizelge 2.3.	<i>Achillea</i> türlerinden elde edilen lignanlar	22
Çizelge 2.4.	<i>Achillea</i> türlerinden elde edilen flavonoidler	22
Çizelge 2.5.	<i>Achillea</i> türlerinden elde edilen fenolik asitler	25
Çizelge 2.6.	<i>Achillea</i> türlerindeki aminoasit türevleri	26
Çizelge 2.7.	Reaktif Oksijen ve Azot Türleri	33
Çizelge 2.8.	Fenolik bileşiklerin yapı iskeleti	45
Çizelge 2.9.	LCMS-IT-TOF cihazı ile yapılmış bazı fitokimyasal çalışmalar	84
Çizelge 3.1.	<i>Achillea</i> türlerinin herbaryum kayıtları	85
Çizelge 4.1.	LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler	104
Çizelge 4.2.	Standart maddeler için kullanılan kalibrasyon noktalarının derişimleri (µg/L)	106
Çizelge 4.3.	<i>Achillea</i> türlerinin metanol-kloroform ekstralarının LC-MS-MS ile kantitatif analizi	110
Çizelge 4.4.	<i>Achillea</i> türlerinin metanol-kloroform ekstralarının LC-MS-MS ile kantitatif analizi	111
Çizelge 4.5.	<i>Achillea</i> türlerinin metanol-kloroform ekstralarının LC-MS-MS ile kantitatif analizi	112
Çizelge 4.6.	<i>Achillea</i> türlerinin metanol-kloroform ekstralarının LC-MS-MS ile kantitatif analizi	112
Çizelge 4.7.	Analitlerin miktarının (µg analit/g ekstre) en çok bulunduğu ekstralar	116
Çizelge 4.8.	<i>Achillea</i> türlerinin etanol ekstralarının LC-MS-MS ile kantitatif analizi	117
Çizelge 4.9.	<i>Achillea</i> türlerinin etanol ekstralarının LC-MS-MS ile kantitatif analizi	117

Çizelge 4.10.	<i>Achillea</i> türlerinin etanol ekstralarının LC-MS-MS ile kantitatif analizi	118
Çizelge 4.11.	<i>Achillea</i> türlerinin etanol ekstralarının LC-MS-MS ile kantitatif analizi	119
Çizelge 4.12.	Kumarin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	123
Çizelge 4.13.	Kumarin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	124
Çizelge 4.14.	Kumarin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	124
Çizelge 4.15.	Ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoid içerikleri	125
Çizelge 4.16.	Ekstrelerin β -Karoten, DPPH ve ABTS yöntemlerine göre antioksidan aktiviteleri	127
Çizelge 4.17.	Ekstrelerin CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktiviteleri	128
Çizelge 4.18.	Ekstrelerin antikolinesteraz aktivite sonuçları	129
Çizelge 4.19.	Çalışılan <i>Achillea</i> kloroform-metanol ekstralarının HeLa hücreleri üzerinde uygulanan sitotoksik testlerinin 12, 24, 36 ve 48 saat sonraki hücre indeks değerleri	131
Çizelge 4.20.	Çalışılan <i>Achillea</i> türlerinin LC-MS IT-TOF ile kalitatif analizi sonucu moleköl formülleri tespit edilen adları tahmin edilen sekonder metabolitler	136
Çizelge 4.21.	Çalışılan <i>Achillea</i> ekstralarında LC-MS IT-TOF ile kalitatif analiz sonucu tespit edilen sekonder metabolitler	139

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1.	2001 ve 2010 yılları arasında onaylanan ilaç kaynakları	1
Şekil 2.1.	Birincil Antioksidanlar	38
Şekil 2.2.	İkincil Antioksidanlar	39
Şekil 2.3.	Flavonoidlerin benzopiran (A-C) ve sinnamoil halkası	45
Şekil 2.4.	Major flavonoidlerin genel iskelet yapıları	46
Şekil 2.5.	Minör flavonoidlerin yapıları	47
Şekil 2.6.	Flavonol aglikonları: Kaempferol, kersetin, isorhamnetin, myricetin	48
Şekil 2.7.	Apigenin ve luteolin flavonları ile polimetoksillenmiş nobiletin ve tangeretin	48
Şekil 2.8.	Flavan-3-ol molekül yapılarından bazıları	49
Şekil 2.9.	Genel antosiyanidin yapıları	50
Şekil 2.10.	Farklı tiplerde malvidin-3-O-glikozit konjuge yapıları	51
Şekil 2.11.	Bazı yaygın flavanon aglikonları ve glikozitleri	52
Şekil 2.12.	Önemli izoflavonoidler olan daidzein, genistein ve coumestrol	53
Şekil 2.13.	Doğada en çok bulunan hidroksibenzoik asitler	53
Şekil 2.14.	Doğada en çok bulunan hidroksisinnamik asitler	54
Şekil 2.15.	Stilbenlerin yapıları: <i>trans</i> - ve <i>cis</i> - resveratrol ile glikozitleri	55
Şekil 2.16.	Önemli bazı bitkisel alkaloidlerin molekül yapıları	56
Şekil 2.17.	Hidrolizlenebilen tanenler, hidroksibenzoik asitler, hidroksisinnamatlar ve 5-kafeoylkinik asidin biyosentezindeki ana biyolojik yollar ve anahtar enzimlerin şeması	58
Şekil 2.18.	Stilbenler ve flavonoidlerin biyosentezindeki ana biyolojik yollar ve anahtar enzimlerin şeması	59
Şekil 2.19.	İzoprenoid molekülünün yapısı ve karbon sayısına göre terpenlerin sınıflandırılması	60

Şekil 2.20.	Terpenlerin biyosentezine genel bir yaklaşım şeması	61
Şekil 2.21.	Doğadaki majör monoterpen iskeletleri	62
Şekil 2.22.	Asiklik monoterpenler	63
Şekil 2.23.	Monosiklik monoterpenler	63
Şekil 2.24.	Bisiklik monoterpenler	64
Şekil 2.25.	Trisiklik monoterpenler	64
Şekil 2.26.	Monoterpen glikozitler	64
Şekil 2.27.	Doğada yaygın bulunan diterpen iskeletleri	65
Şekil 2.28.	Monosiklik diterpenler	66
Şekil 2.29.	Bisiklik, trisiklik, tetrasiklik ve pentasiklik diterpenler	67
Şekil 2.30.	Lakton ya da Furan Halkası İçeren Diterpenler	67
Şekil 2.31.	Aromatik ve kinoit yapıdaki diterpenler	68
Şekil 2.32.	Diterpen Alkaloidler	68
Şekil 2.33.	Triterpen iskeletleri	69
Şekil 2.34.	Gaz kromatografi cihazının şematik gösterimi	72
Şekil 2.35.	Dolgulu ve kapiler kolon tipleri	73
Şekil 2.36.	Temel HPLC ekipman şeması	74
Şekil 2.37.	Kütle spektrometre cihazlarının şematik diyagramı	76
Şekil 2.38.	Farklı iyonlaştırma tekniklerinin uygulama spektrumu	77
Şekil 2.39.	ESI iyon kaynağı ve elektrosprey iyonlaştırma teorisi şeması	78
Şekil 2.40.	Kuadrupol kütle analizörü	79
Şekil 2.41.	Uçuş zamanlı (TOF) kütle analizörü	80
Şekil 2.42.	İyon tuzağı (IT) kütle analizörü	80
Şekil 2.43.	FT-ICR kütle analizörü	81
Şekil 2.44.	a) Tekli kuadrupol (LC-MS) ve b) üçlü kuadrupol (LC-MS/MS) cihaz şemaları	82

Şekil 2.45.	Hibrit IT-TOF/MS kütle spektrometresinin iç dizayn şeması	83
Şekil 2.46.	LCMS IT-TOF yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresinin fotoğrafı	84
Şekil 3.1.	Pirokatekolün Ölçü Grafiği	89
Şekil 3.2.	Kersetinin Ölçü Grafiği	90
Şekil 4.1.	LC-MS/MS metodunda kullanılan fitokimyasalların molekül yapıları	100
Şekil 4.2.	LC-MS/MS metodunda kullanılan fitokimyasalların molekül yapıları (Devam)	101
Şekil 4.3.	LC-MS/MS metodunda kullanılan fitokimyasalların molekül yapıları (Devam)	102
Şekil 4.4.	LC-MS/MS metodunda kullanılan fitokimyasalların molekül yapıları (Devam)	103
Şekil 4.5.	Kalibrasyon noktası 3'ün standart kromatogramı	121
Şekil 4.6.	A. schischkinii'nin toprak üstü CHCl ₃ -MeOH ekstresinin standart kromatogramı	121
Şekil 4.7.	Çalışılan <i>Achillea</i> türlerinin CHCl ₃ :MeOH (1:1) ekstrelerinin sitotoksik aktiviteleri (A: <i>A. Monocephala</i> (Toprak altı), B: <i>A. Monocephala</i> (Toprak üstü), C: <i>A. Nobilis</i> (Toprak altı), D: <i>A. Nobilis</i> (Toprak üstü), E: <i>A. Goniocephala</i> (Toprak altı), F: <i>A. Goniocephala</i> (Toprak üstü), G: <i>A. Sintenisii</i> (Toprak altı), H: <i>A. Sintenisii</i> (Toprak üstü), I: <i>A. Coarctata</i> (Toprak altı), J: <i>A. Coarctata</i> (Toprak üstü), K: <i>A. Kotschyi</i> (Toprak altı), L: <i>A. Kotschyi</i> (Toprak üstü))	132
Şekil 4.8.	Çalışılan <i>Achillea</i> türlerinin CHCl ₃ :MeOH (1:1) ekstrelerinin sitotoksik aktiviteleri (A: <i>A. Millefolium</i> (Toprak altı), B: <i>A. Millefolium</i> (Toprak üstü), C: <i>A. Lycaonica</i> (Toprak altı), D: <i>A. Lycaonica</i> (Toprak üstü), E: <i>A. Wilhelmsii</i> (Toprak altı), F: <i>A. Wilhelmsii</i> (Toprak üstü), G: <i>A. Spinulifolia</i> (Toprak altı), H: <i>A. Spinulifolia</i> (Toprak üstü), I: <i>A. Teretifolia</i> (Toprak altı), J: <i>A. Teretifolia</i> (Toprak üstü), K: <i>A. Setacea</i> (Toprak altı), L: <i>A. Setacea</i> (Toprak üstü))	133
Şekil 4.9.	Çalışılan <i>Achillea</i> türlerinin CHCl ₃ :MeOH (1:1) ekstrelerinin sitotoksik aktiviteleri (A: <i>A. schischkinii</i> (Toprak altı), B: <i>A. schischkinii</i> (Toprak üstü))	134

EK LİSTESİ

<u>Ek No</u>		Sayfa
Ek 1	LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon grafikleri	183
Ek 2	LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon grafikleri (Devam)	184
Ek 3	LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon grafikleri (Devam)	185
Ek 4	LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon grafikleri (Devam)	186
Ek 5	LC-MS/MS metodunda kullanılan standartların belirleme (LOD) ve tayin (LOQ) alt sınırlarının belirlenmesi çalışması	187
Ek 6	<i>A. setacea</i> 'nın toprak üstü CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	188
Ek7	<i>A. biebersteinii</i> 'nin toprak üstü CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	188
Ek 8	<i>A. teretifolia</i> 'nın toprak üstü CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	188
Ek 9	<i>A. spinulifolia</i> 'nın toprak üstü CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	189
Ek 10	<i>A. wilhelmsii</i> 'nin toprak üstü CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	189
Ek 11	<i>A. lycaonica</i> 'nın toprak üstü CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	189
Ek 12	<i>A. millefolium</i> 'un toprak üstü CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	190
Ek 13	<i>A. kotschyi</i> 'nin toprak üstü CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	190
Ek 14	<i>A. coarctata</i> 'nın toprak üstü CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	190
Ek 15	<i>A. sintenisii</i> 'nin toprak üstü CHCl ₃ -MeOH ekstresinin sta LC-MS/MS ndart kromatogramı	191
Ek 16	<i>A. goniocephala</i> 'nın toprak üstü CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	191
Ek 17	<i>A. nobilis</i> 'in toprak üstü CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	191

Ek 18	<i>A. monocephala</i> 'nın toprak üstü CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	192
Ek 19	<i>A. schischkinii</i> 'nin toprak altı CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	192
Ek 20	<i>A. setacea</i> 'nın toprak altı CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	192
Ek 21	<i>A. biebersteinii</i> 'nin toprak altı CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	193
Ek 22	<i>A. teretifolia</i> 'nın toprak altı CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	193
Ek 23	<i>A. spinulifolia</i> 'nın toprak altı ü CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	193
Ek 24	<i>A. wilhelmsii</i> 'nin toprak altı CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	194
Ek 25	<i>A. lycaonica</i> 'nın toprak altı CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	194
Ek 26	<i>A. millefolium</i> 'un toprak altı CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	194
Ek 27	<i>A. kotschyi</i> 'nin toprak altı CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	195
Ek 28	<i>A. coarctata</i> 'nın toprak altı CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	195
Ek 29	<i>A. sintenisii</i> 'nin toprak altı CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	195
Ek 30	<i>A. goniocephala</i> 'nın toprak altı CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	196
Ek 31	<i>A. nobilis</i> 'in toprak üstü CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	196
Ek 32	<i>A. monocephala</i> 'nın toprak üstü CHCl ₃ -MeOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	196
Ek 33	<i>A. schischkinii</i> 'nin toprak altı EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	197
Ek 34	<i>A. setacea</i> 'nın toprak altı EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	197
Ek 35	<i>A. biebersteinii</i> 'nin toprak altı EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	197
Ek 36	<i>A. teretifolia</i> 'nın toprak altı EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	198

Ek 37	<i>A. spinulifolia</i> 'nın toprak altı ü EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	198
Ek 38	<i>A. wilhelmsii</i> 'nin toprak altı EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	198
Ek 39	<i>A. lycaonica</i> 'nın toprak altı EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	199
Ek 40	<i>A. millefolium</i> 'un toprak altı EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	199
Ek 41	<i>A. kotschy</i> 'nin toprak altı EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	199
Ek 42	<i>A. coarctata</i> 'nın toprak altı EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	200
Ek 43	<i>A. sintenisii</i> 'nin toprak altı EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	200
Ek 44	<i>A. goniocephala</i> 'nın toprak altı EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	200
Ek 45	<i>A. nobilis</i> 'in toprak üstü EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	201
Ek 46	<i>A. monocephala</i> 'nın toprak üstü EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	201
Ek 47	<i>A. schischkinii</i> 'nin toprak üstü EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	201
Ek 48	<i>A. setacea</i> 'nın toprak üstü EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	202
Ek 49	<i>A. biebersteinii</i> 'nin toprak üstü EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	202
Ek 50	<i>A. teretifolia</i> 'nın toprak üstü EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	202
Ek 51	<i>A. spinulifolia</i> 'nın toprak üstü EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	203
Ek 52	<i>A. wilhelmsii</i> 'nin toprak üstü EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	203
Ek 53	<i>A. lycaonica</i> 'nın toprak üstü EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	203
Ek 54	<i>A. millefolium</i> 'un toprak üstü EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	204
Ek 55	<i>A. kotschy</i> 'nin toprak üstü EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	204
Ek 56	<i>A. coarctata</i> 'nın toprak üstü EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	204
Ek 57	<i>A. sintenisii</i> 'nin toprak üstü EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	205
Ek 58	<i>A. goniocephala</i> 'nın toprak üstü EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	205
Ek 59	<i>A. nobilis</i> 'in toprak üstü EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	205
Ek 60	<i>A. monocephala</i> 'nın toprak üstü EtOH ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı	206

Ek 61	Hesperidin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	207
Ek 62	Hesperidin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	208
Ek 63	Hesperidin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	208
Ek 64	<i>p</i> -Kumarik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	209
Ek 65	<i>p</i> -Kumarik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	210
Ek 66	<i>p</i> -Kumarik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	210
Ek 67	<i>o</i> -Kumarik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	211
Ek 68	<i>o</i> -Kumarik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	212
Ek 69	<i>o</i> -Kumarik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	212
Ek 70	Gallik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	213
Ek 71	Gallik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	214
Ek 72	Gallik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	214
Ek 73	Kafeik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	215
Ek 74	Kafeik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	216
Ek 75	Kafeik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	216
Ek 76	Vanilik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	217
Ek 77	Vanilik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	218
Ek 78	Vanilik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	218
Ek 79	Salisilik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	219
Ek 80	Salisilik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	220

Ek 81	Salisilik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	220
Ek 82	Kinik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	221
Ek 83	Kinik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	222
Ek 84	Kinik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	222
Ek 85	4-OH-benzoik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	223
Ek 86	4-OH-benzoik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	224
Ek 87	4-OH-benzoik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	224
Ek 88	Ferulik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	225
Ek 89	Ferulik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	226
Ek 90	Ferulik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	226
Ek 91	Klorojenik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	227
Ek 92	Klorojenik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	228
Ek 93	Klorojenik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	228
Ek 94	Rozmarinik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	229
Ek 95	Rozmarinik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	230
Ek 96	Rozmarinik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	230
Ek 97	Protokateşik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	231
Ek 98	Protokateşik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	232
Ek 99	Protokateşik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	232
Ek 100	Sinamik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	233

Ek 101	Sinamik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	234
Ek 102	Sinamik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	234
Ek 103	Sinapinik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	235
Ek 104	Sinapinik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	236
Ek 105	Sinapinik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	236
Ek 106	Fumarik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	237
Ek 107	Fumarik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	238
Ek 108	Fumarik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	238
Ek 109	Vanilin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	239
Ek 110	Vanilin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	240
Ek 111	Vanilin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	240
Ek 112	Pirokatekol için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	241
Ek 113	Pirokatekol için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	242
Ek 114	Pirokatekol için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	242
Ek 115	Malik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	243
Ek 116	Malik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	244
Ek 117	Malik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	244
Ek 118	Sirinjik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	245
Ek 119	Sirinjik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	246
Ek 120	Sirinjik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	246

Ek 121	Hesperetin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	247
Ek 122	Hesperetin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	248
Ek 123	Hesperetin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	248
Ek 124	Naringenin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	249
Ek 125	Naringenin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	250
Ek 126	Naringenin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	250
Ek 127	Rutin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	251
Ek 128	Rutin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	252
Ek 129	Rutin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	252
Ek 130	Kersetin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	253
Ek 131	Kersetin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	254
Ek 132	Kersetin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	254
Ek 133	Kersitrin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	255
Ek 134	Kersitrin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	256
Ek 135	Kersitrin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	256
Ek 136	Apigenin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	257
Ek 137	Apigenin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	258
Ek 138	Apigenin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	258
Ek 139	Krisin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	259
Ek 140	Krisin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	260

Ek 141	Krisin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	260
Ek 142	Likiritigenin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	261
Ek 143	Likiritigenin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	262
Ek 144	Likiritigenin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	262
Ek 145	İzokersitrin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	263
Ek 146	İzokersitrin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	264
Ek 147	İzokersitrin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	264
Ek 148	Apigetrin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	265
Ek 149	Apigetrin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	266
Ek 150	Apigetrin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	266
Ek 151	Roifolin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	267
Ek 152	Roifolin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	268
Ek 153	Roifolin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	268
Ek 154	Nikotiflorin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	269
Ek 155	Nikotiflorin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	270
Ek 156	Nikotiflorin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	270
Ek 157	Fisetin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	271
Ek 158	Fisetin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	272
Ek 159	Fisetin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	272
Ek 160	Luteolin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	273

Ek 161	Luteolin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	274
Ek 162	Luteolin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	274
Ek 163	Mirisetin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	275
Ek 164	Mirisetin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	276
Ek 165	Mirisetin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	276
Ek 166	Kamferol için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları	277
Ek 167	Kamferol için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları	278
Ek 168	Kamferol için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması	278
Ek 169	<i>A. monocephala</i> , <i>A. nobilis</i> , <i>A. goniocephala</i> ve <i>A. sintenisii</i> toprak altı kloroform-metanol ekstrlerinin LC-MS IT-TOF kromatogramları	279
Ek 170	<i>A. monocephala</i> , <i>A. nobilis</i> , <i>A. goniocephala</i> ve <i>A. sintenisii</i> toprak üstü kloroform-metanol ekstrlerinin LC-MS IT-TOF kromatogramları	280
Ek 171	<i>A. coarctata</i> , <i>A. kotschyi</i> , <i>A. millefolium</i> , ve <i>A. lycaonica</i> toprak altı kloroform-metanol ekstrlerinin LC-MS IT-TOF kromatogramları	281
Ek 172	<i>A. coarctata</i> , <i>A. kotschyi</i> , <i>A. millefolium</i> , ve <i>A. lycaonica</i> toprak üstü kloroform-metanol ekstrlerinin LC-MS IT-TOF kromatogramları	282
Ek 173	<i>A. wilhelmsii</i> , <i>A. spinulifolia</i> , <i>A. teretifolia</i> , ve <i>A. biebersteinii</i> toprak altı kloroform-metanol ekstrlerinin LC-MS IT-TOF kromatogramları	283
Ek 174	<i>A. wilhelmsii</i> , <i>A. spinulifolia</i> , <i>A. teretifolia</i> , ve <i>A. biebersteinii</i> toprak üstü kloroform-metanol ekstrlerinin LC-MS IT-TOF kromatogramları	284
Ek 175	<i>A. setacea</i> , ve <i>A. schischkinii</i> toprak altı kloroform-metanol ekstrlerinin LC-MS IT-TOF kromatogramları	285
Ek 176	<i>A. setacea</i> , ve <i>A. schischkinii</i> toprak üstü kloroform-metanol ekstrlerinin LC-MS IT-TOF kromatogramları	285

KISALTMA VE SİMGELER

μg	: Mikrogram
$\bar{x}$	: Ortalama
$[\text{M}+\text{H}]^+$	: Moleküler iyonun pozitif hidrojen adduct'ı
$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	: Moleküler iyonun negatif format adduct'ı
$[\text{M}+\text{NH}_4]^+$	: Moleküler iyonun pozitif amonyum adduct'ı
$[\text{M}-\text{H}]^-$	: Moleküler iyonun negatif hidrojen adduct'ı
1A9	: Ovaryum kanseri
4CL	: <i>P</i> -kumarat CoA liyaz
A.D.	: Aktif değil
A431	: İnsan deri epidermoid karsinoma hücreleri
ABTS	: 2,2 –azinobis(3-etilbenzotiazolin-sulfonik asit
AChE	: Asetilkolinesteraz
AcI	: Asetiltiyokolin iyodür
ACoAC	: Asetil CoA karboksilaz
AH	: Alzheimer hastalığı
AIDS	: Acquired Immuno Deficiency Syndrome
ANR	: Antosiyanidin redüktaz
ANS	: Antosiyanidin 4-redüktaz
APCI	: Atmosferik-basınç kimyasal iyonlaştırma
APP	: Amiloit prekürsör protein
APPI	: Atmosferik basınç fotoiyonizasyon
B16-F1	: Fare melanoma hücreleri
BA2H	: Benzoik asit-2-hidroksilaz
BChE	: Bütirilkolinesteraz
BHA	: Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	: 2,6-di- <i>t</i> -bütıl-1-hidroksitoluen
BuI	: Bütiriltiyokolin iyodür
C4H	: Sinnamat-4-hidroksilaz
Cdk1	: Siklin bağımlı kinaz 1
CE	: Kapiler elektroforez
CHCl_3	: Kloroform
CHI	: Kalkon izomeraz
CHR	: Kalkon redüktaz

CHS	: Kalkon sintaz
CID	: Collision Induced Dissociation
COMT-1	: Kafeik/5-hidroksiferulik asit <i>O</i> -metiltransferaz
CUPRAC	: Cupric reducing antioxidant capacity
DAD	: Diod-array dedektör
DC	: Doğru akım
DCFH-DA	: Diklorofloresin-diasetat
DFR	: Dihidroflavonol 4-redüktaz
DL	: Dissolvation line
DMAPP	: Dimetilallil pirofosfat
DMEM	: Dulbecco's modified eagle's medium-high glucose
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
DTNB	: 5,5-ditiyobis-(2-nitro benzoik asit
ECD	: Elektron yakalama dedektörü
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
ELSD	: Buharlaştırılmalı ışık saçılımlı dedektör
ESI	: Elektrosprey iyonlaştırma
EtOH	: Etanol
EU	: Uzatma birimleri
F.G.Ort.	: Farklı Günlerde Ortalama
F3H	: Flavanone 3-hidroksilaz
F3'H	: Flavonol 3'-hidroksilaz
F5H	: Ferulat-5-hidroksilaz
FAB	: Hızlı atom bombardımanı
FCR	: Folin-Ciocalteu reaktifi
FDA	: US Food and Drug Administration
Fem-X	: İnsan melanoma hücrelerinde
FID	: Alev iyonlaştırma dedektörü
FLS	: Flavonol sintaz
FNS	: Flavon sintaz
FPD	: Alev fotometrik dedektörü
FPP	: Farnesilpirofosfat

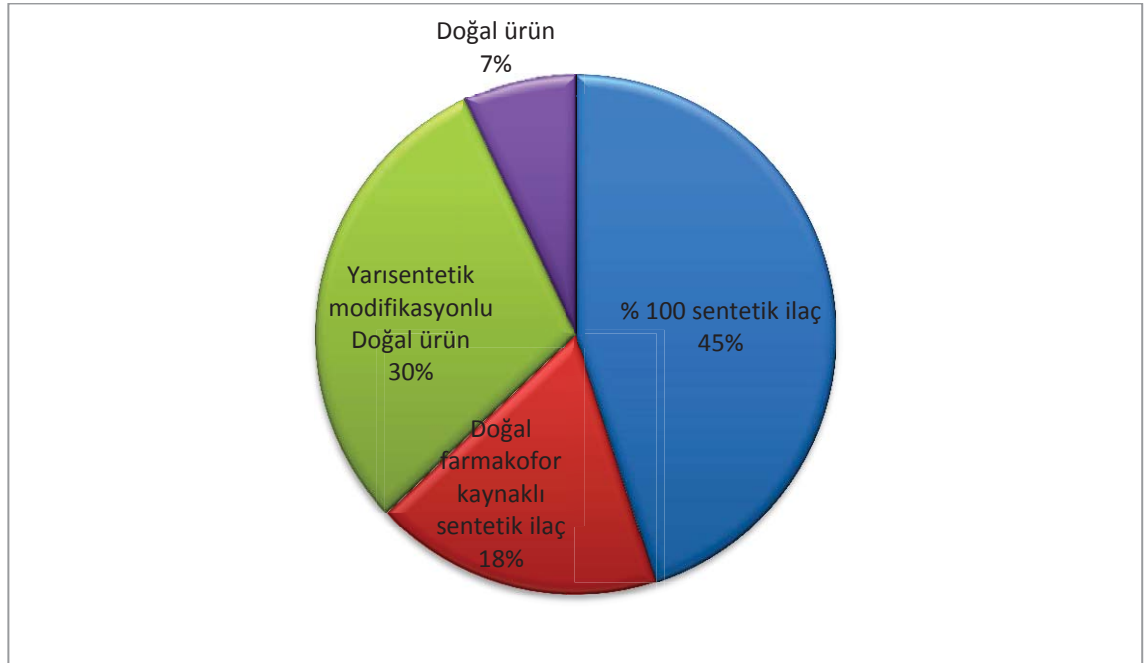
FT-ICR	: Fourier transform ion cyclotron resonance
G.K.Çal. Son.St.Sap.	: Geri Kazanım Çalışması Sonrası Standart Sapma
G2/M	: Hücre döngüsü metafaz kontrolü
GC-MS	: Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
Gen.Ort.	: Genel Ortalama
Gen.RSD	: Genel Bağlı Standart Sapma
Gen.Std.	: Genel Standart
GPP	: Geranilpirofosfat
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GSH	: Glutasyon
GT	: Galloyltransferaz
HCT-8	: İleoçekal kanseri
HEF	: Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Herbaryumu
HeLa	: İnsan servikal karsinoma hücreleri
Hep-2	: İnsan larenks epidermoit karsinoma hücreleri
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
HP-TLC	: Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi
HUEF	: Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
IFS	: İzoflavon sintaz
IPP	: İzopentil pirofosfat
IT	: İyon tuzağı
K562	: İnsan miyeloid lösemi hücreleri
KAT	: Katalaz
KB	: Nazofarenjeal kanseri
KB-VIN P	: Glikoprotein çoklu ilaç dirençli nazofarenjeal kanseri
KOAH	: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
kV	: Kilovolt
LAR	: Leukosiyanidin 4-redüktaz
LC	: Sıvı kromatografisi
LC-MS IT-TOF	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile birleşik hibrit iyon tuzaklı/uçuş zamanlı kütle spektrometresi
LC-MS/MS	: Sıvı kromatografisi üçlü kuadrupol kütle spektrometresi
LDL	: Low-density lipoprotein
LDOX	: Leukosiyanidin deoksijenaz
LNCaP	: İnsan prostat kanser hücreleri

LOD	: Belirleme alt sınırı
LOQ	: Tayin alt sınırı
LPO	: Lipid peroksidasyon
m/z	: kütle/yük
M+	: Pozitif moleküler iyon
MALDI	: Matris-destekli lazer-desorpsiyon
McCoy	: Sinovyal sıvı hücreleri
MCF7	: Meme adenokarsinom hücreleri
MDA-MB-231	: Yüksek invazif meme kanseri
MEM	: Minimum Eagle's Medium
MeOH	: Metanol
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
MRM	: Çoklu Reaksiyon Görüntüleme
MS	: Kütle spektrometresi
MS ⁿ	: Çoklu MS
MTT	: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromid
NADH	: Nikotinamit adenindinükleotit
NBT	: Nitroblutetrazolyum
Nc	: Neokuproin
NMDA	: N-metil-D-aspartat
ODS	: Oktadesilsilan
ORAC	: Oksijen radikal absorban kapasitesi
Ort.	: Ortalama
p 21	: Siklin bağımlı kinaz inhibitörü 1
PAL	: Fenilalanin amonyum liyaz
PC-12	: Pheochromocytoma of the rat adrenal medulla
PC-3	: Prostat kanseri
PID	: Foto-iyonizasyon dedektörü
PMS	: Fenazin-meta sülfat
ppm	: parts per million
R [•]	: Radikal
R ²	: Belirleme katsayısı
RF	: Radyo frekans
RID	: Refraktif indeks dedektörü

ROS	: Reaktif oksijen türleri
RSD	: Bağlı standart sapma
RT	: Alıkonma zamanı
SIM	: Seçilmiş iyon görüntüleme
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOD	: Süperoksit dismutaz
SRB	: Sülförödamın B
SS	: Stilben sintaz
Std.	: Standart
T98G	: İnsan gliyoblastoma hücreleri
TA	: Toprak altı
TCD	: Isıl iletkenlik dedektörü
TLC	: İnce tabaka kromatografisi
TNF- α	: Tümör nekrozu faktörü
TOF	: Uçuş zamanlı
TOSC	: Toplam oksiradikal süpürme kapasitesi
TRAP	: Toplam radikal tutma parametresi
TU	: Terminal birim
TÜ	: Toprak üstü
$u(P_{op})/P_{op}$	: Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik
U87-MG	: Gliyoblastoma
U^{95}	: Birleştirilmiş belirsizlik
UHPLC	: Ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi
UV	: Ultraviyole
α -Toc	: Alfa tokoferol
μ L	: Mikrolitre
μ M	: Mikromolar
σ	: Standart sapma

1. GİRİŞ

Medeniyetin başından beri insanoğlu, ilaç gibi temel ihtiyaçları için tabiata bağımlı kalmıştır. Canlı organizmalardan elde edilen kimyasal bileşikler veya maddeler ilaç pazarında bulunan onaylanmış ilaçların üçte birini teşkil eder. 1983 ve 1994 yılları arasında 33 farklı hastalık alanı için onaylanan ilaçların yüzde 39'u doğal ürünler veya bu doğal ürünlerden elde edilen bileşiklerdir (Cragg ve ark. 1997). 1981 ve 2006 yılları arasında dünya çapında bütün hastalıklar için onaylanan 1184 yeni kimyasal bileşenin yüzde 28'i doğal ürün veya doğal ürünlerden elde edilen bileşikler olup yüzde 24'ü ise doğal ürün iskeletleri kullanılarak sentezlenen bileşiklerdir (Newman ve Cragg 2007). 2001 ve 2010 yılları arasındaki onaylanan küçük moleküllü (molekül ağırlığı 5000 Da'dan küçük olan) ilaçların ise yüzde 55'i doğal ürün veya doğal ürünlerden elde edilen ilaçlardır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. 2001 ve 2010 yılları arasında onaylanan ilaç kaynakları (Eugster 2014).

Tabiatta bulunan karasal ve sucul canlı organizmalar içerisinde bitkiler başta olmak üzere, hayvansal ürünler, mantarlar, algler ve bakteriler gibi canlılar biyoaktif doğal ürünlerin kaynakları olmuştur. Bitkiler, binlerce yıldır varlığını sürdüren geleneksel tıp sistemlerinin temelini oluşturmuşlardır (Cragg ve Newman 2001). Bitki bazlı sistemler sağlık alanında önemli bir rol oynamaya devam etmektedir. Ayrıca dünya nüfusunun yüzde 80'inin temel sağlık hizmetleri için ağırlıklı olarak geleneksel

ilaçlara güvendiği Dünya Sağlık Örgütü tarafından belirlenmiştir. Buna ek olarak, bitkisel ürünler genellikle gelişmiş ülkelerde yaşayan geriye kalan yüzde 20 nüfusun da sağlık hizmetlerinde önemli bir role sahiptir (Cragg ve Newman 2005a). 90 farklı bitkiden türetilen 119 ilaç, geleneksel tıpta kullanılan bitkilerden izole edilen aktif bileşikler üzerine sürdürülen kimyasal çalışmalar sonucu keşfedilmiştir (Cragg ve Newman 2005b).

Fitokimya veya bitki kimyası;

“bitkilerde detaylandırılıp biriktirilmiş devasa çeşitlilikteki organik maddeler ve bu maddelerin kimyasal yapıları, biyosentezleri, dönüşüm ve metabolizmaları, doğal dağılımları ve biyolojik fonksiyonları ile ilgilenir (Harborne 1998).”

Dünya çapında yaklaşık olarak 328 640 bitki türü olduğu belirlenmiştir. Bağlı yapıları ve sofistike bağışıklık sistemlerinin eksikliği, bitkilerde karmaşık kimyasal sistemlerin gelişmesini gerekli kılmıştır. Tarihsel olarak, bitkiler tarafından üretilen bileşikler birincil (primer) ve ikincil (sekonder) metabolitler olarak kategorize edilmiştir. Temel metabolizmaya katkı sunan bileşikler birincil metabolitler olarak belirlenmiştir. Aksine, ikincil metabolitlerin hem bitki içerisinde hem de farklı türler arasında dağılımları sınırlıdır (Raven ve ark. 2005).

Bir zamanlar sekonder metabolitlerin gereksiz bileşikler olduğu düşünülmüştür (Raven ve ark. 2005). Ancak yapılan bilimsel çalışmalar neticesinde sekonder metabolitlerin birçoğunun kuvvetli bakteri öldürücü, kovucu hatta haşere ve otoburlar için toksik ajanlar olduğu bulunmuştur (Dewick 1997). Bazı uçucu organik bileşiklerin ve pigmentlerin bitkinin döllenmesine yardımcı olan böceklerle çekici geldiği veya yırtıcı hayvanlara karşı savunma mekanizması olduğu belirlenmiştir. Bazı sekonder metabolitlerin bitkileri serbest radikaller ve UV ışınlarına karşı koruduğu gibi, bitki hormonları ve feromonlar gibi metabolitlerin ise iletişim ve sinyal görevlerinin olduğu bilinmektedir (Raven ve ark. 2005). Çeşitli hastalıkları tedavi etme potansiyelini içinde barındıran bitkisel kaynaklı sekonder metabolitler flavonoidler, fenolik asitler, fenolik glikozitler, doymamış laktonlar, fenilpropanoidler, ligninler, terpenoidler ve steroidler gibi birçok sınıfa ayrılırlar. Bu kıymetli bileşiklerin gıda, kozmetik ve farmasötik sanayilerinde birçok uygulaması vardır (Banerjee ve Bonde 2011).

Geçtiğimiz yüzyılın özellikle ikinci yarısından bu yana gelişen tıbbi uygulamalar ışığında ortalama insan ömrünün uzaması ile beraber kronik birçok hastalıkta (hipertansiyon, diyabet, KOAH, kalp-damar hastalıkları, Alzheimer, kanser, vb.) artış görülmesi günümüzde antioksidanlara olan ilgiyi artırmıştır. Antioksidanlar vücuttaki oksidasyon sürecini inhibe etme yeteneğine sahip olan dolayısıyla serbest radikallerin oluşumunu engelleyen moleküllerdir (Sikorski 2001). Serbest radikallerin insan vücuduna verdiği zararlı etkilerini ve gıdalardaki yağ ve diğer maddelerin bozulmasını önleyen antioksidanlara olan ilgi giderek artmaktadır. Son zamanlarda bu alanda yapılan çalışmalar bitkisel kaynaklı doğal antioksidanlara doğru yönelmiştir (Kulisic ve ark. 2004).

Bitkilerden elde edilen birçok sekonder metabolit antikanser özellik göstermekte ve tümör gelişimini inhibe etmektedir. Örneğin, çayda bulunan epigallocateşin-3-gallat, apoptotik ölüme karşı dirençli olan kronik lenfositik lösemi B hücrelerinde apoptoza neden olur (Lee ve ark. 2004; Beliveau ve Gingras 2004). Ayrıca domateste bulunan likopen, prostat kanseri riskini azaltırken polifenoller insan prostat kanser hücrelerinin (LNCaP) proliferasyonunu inhibe etmektedir (Campbell ve ark. 2004). Flavonoidler sebzelerde geniş bir dağılım gösterirler ve günlük tahmini alımı 1 ila 25 gram arasındadır. Birçok flavonoid anti-tümör özellik göstermektedir. Flavopiridol bir Cdk1 inhibitörü olarak bilinir ve anti-kanser ajan olarak klinik gelişme sürecindedir. Bir kemoterapi önleyici ajan olarak düşünülen genistein ise bir tirozin kinaz inhibitörüdür (Dixon ve Ferreira 2002; Shapiro 2004).

Bu doktora çalışmasında *Achillea L.* cinsine ait Türkiye'nin farklı yerlerinden toplanan 14 farklı alt türün (*A. biebersteinii* Afan, *A. coerctata* Poir., *A. kotschy* subsp. *kotschy*, *A. lycaonica* Boiss. et Heldr., *A. millefolium* L. subsp. *millefolium* L., *A. schischkinii* Sosn., *A. setacea* Waldst. et Kit., *A. sintenisii* Hub.-Mor., *A. wilhelmsii* C. Koch subsp. *wilhelmsii*, *A. teretifolia* Willd., *A. goniocephala* Boiss. et Bal., *A. nobilis* L. subsp. *neilreichii* (Kerner) Formanek, *A. spinulifolia* Fenzl ex Boiss. ve *A. monocephala* Boiss. & Balansa) toprak üstü ve toprak altı kısımlarının muhtelif çözücülerle hazırlanan ekstraktlarının öncelikle major sekonder metabolitlerinin taranması hedeflenmiştir. Bunun için UHPLC-ESI-IT-TOF MS tekniği ile metabolik profillerinin belirlenmesi ve metot geliştirilmesi, LC-MS/MS ile fenolik asit ve flavonoid profillerinin metot validasyonu ile kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesi

amaçlanmıştır. Ayrıca, çalışılan *Achillea* türlerinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi, ABTS katyon radikali giderim aktivitesi, β -karoten lipit peroksidasyon test sistemi ve CUPRAC bakır indirgeme kapasitesi yöntemleriyle antioksidan etkileri, Ellman yöntemi ile antikolinesteraz etkileri incelenmiştir. Buna ek olarak, pirokatekole eşdeğer olarak toplam fenolik içeriği ile kersetine eşdeğer olarak toplam flavonoid içeriği belirlenmiştir. Çalışmanın diğer kısmında da çalışılan 14 *Achillea* türünün toprak üstü ve toprak altı kısımlarının metanol-kloroform (1:1) ekstrelerinin HeLa hücrelerine karşı antikanserojen aktivitelerini incelenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Çalışılan Türler Hakkında Genel Bilgiler

2.1.1. Asteraceae (Compositae) Familyasının Genel Özellikleri

Asteraceae familyası üyeleri yerkürenin neredeyse her yerinde yayılış göstermektedir. Güneybatı Amerika ve Meksika, Brezilya'nın güneyi, And Dağları boyunca, Akdeniz Bölgesi, Güneybatı Asya, Orta Asya, Güney Afrika ve Avustralya'da geniş çapta yayılmıştır (Bremer 1994). Bugüne kadar familya içerisinde 1.535 cins ve 26.000 tür rapor edilmiştir (Dogan ve ark. 2009).

Asteraceae familyası hem tür hem de cins bakımından floramızın en zengin familyası olup Türkiye Florası'nda 136 cins ve 1195 tür ile temsil edilmektedir. Asteraceae aynı zamanda en fazla endemik türe sahip familyalardan biridir. Bu familyada toplam 446 endemik tür bulunur ve endemizm oranı % 37.3'tür (Davis 1975; Davis ve Tan 1988; Güner ve ark. 2000).

Asteraceae (Compositae) kapsayıcı bir yayılıma sahiptir. Bu familyadaki bitkilerin habitat tercihi ve yaşam formlarında diversite (çeşitlilik) görülmektedir. Bu çeşitlilik, içerisinde tropikal ve kurak çevrelerdeki sucül, otçul, çalimsı formları ve tropikal yağmur ormanlarındaki ağaçları barındırmaktadır. Familyadaki bitkilerin çoğu otsu olup çalı veya ağaç formunda olanların sayısı azdır. Bazı cinsler süt içeren otsulardan ve nadiren tırmanıcı bitkilerden oluşur. Kapitulum, büyük oranda indirgenmiş ve farklılaşmış çiçekler, alt durumlu yumurtalıklar, birleşik anterler gibi çeşitli özelleşmiş morfolojik karakterlerinin bir arada bulunması familyanın doğallığını desteklemektedir. Familyada bulunan bitkilerin çoğu Compositae tipi salgı tüyü ve örtü tüyü taşır. İçlerinde barındırdıkları kıymetli bileşikler nedeniyle bitkilerin çoğu eczacılıkta, gıda endüstrisinde ve lateksinden dolayı diğer sanayi alanlarında kullanılmaktadır. Buna ek olarak, Asteraceae türleri sebzeler (enginar, marul, hindiba), yağ kaynakları (ay çiçeği, aspir), böcek kovucular (pire otu) ve bahçe süs bitkileri (krizantem, dalya, kadife çiçeği ve diğer birçok bitki) olarak geniş ekonomik bir öneme sahiptir (Jansen ve Palmer 1987; Baytop 1998; Seçmen ve ark. 2000).

2.1.2. *Achillea* L. Cinsi Hakkında Botanik Bilgiler

Achillea L. cinsi Asteraceae (Compositae) familyasının Anthemideae tribusunda yer alır. Bu cinsin dünya genelinde çoğunluğu Avrasya’da olmak üzere, Kuzey Afrika, Kuzey Amerika ve Güney Yarımkürenin bazı bölgelerinde doğal olarak yayılış gösteren yaklaşık 140 türü olduğu bilinmektedir (Bremer ve Humphries 1993; Guo ve ark. 2004; Arabacı 2006). *Achillea* L. cinsi ülkemizin hemen her yerinde yaygın olmasıyla birlikte, özellikle Kuzey ve Doğu Anadolu’da yayılış gösterir. Endemik olan türlerin ise Doğu Anadolu, Akdeniz ve İç Anadolu ve bölgelerinde daha fazla olduğu görülmektedir. Türkiye’de yetişen *Achillea* cinsi, 6 seksiyon (*Ptarmica*, *Anthemideae*, *Arthrolepis*, *Babounya*, *Santolinoidea*, *Achillea*) altında toplanarak, 46’sı tür olmak üzere, toplam 52 taksonla temsil edilmektedir. Bu cinse ait 21 endemik tür (28 takson) vardır (Huber-Morath 1975). Ayrıca, *Achillea* cinsinin Avrupa Florası’nda 52 türü tanımlanmıştır (Richardson 1976). *A. biebersteinii* Afan., *A. clypeolata* Sm., *A. cretica* L., *A. crithmifolia* Waldst. & Kit., *A. coarctata* Poir., *Achillea fraasii* Sch. Bip., *A. grandifolia* Friv., *A. millefolium* L., *A. nobilis* L., *A. setacea* Waldst. & Kit. türleri Türkiye’de ve Avrupa’da yayılış gösteren ortak türlerdir (Huber-Morath 1975; Richardson 1976).

Achillea cinsi adını Truva’lı bir kahraman olan “Achilles” tarafından yara iyileştirici olarak kullanılması vesilesiyle almıştır (Benedek ve Kopp 2007). Tournefort (1703) tarafından *Corollarium* adlı eserinde bu cinse *Ptarmica* adı verilmiş, *Achillea* ismi ise ilk defa Vaillant (1720) tarafından kullanılmıştır. Linnaeus (1738) da, *Hortus Cliffortianus* adlı eserinde *Achillea* ismini kabul etmiş ve *Ptarmica* ismini ise sinonim olarak ifade etmiştir (Arabacı 2006).

Son bilgilere göre *Achillea* cinsinin sistematikteki yeri şu şekildedir (Cronquist 1981; Bremer ve Humphries 1993; Thorne 2000; Arabacı 2006):

Regnum: Plantae

Subregnum: Tracheobionta

Divisio: Magnoliophyta

Classis: Magnoliopsida

Subclassis: Asteridae

Superordo: Asteranae

Ordo: Asterales

Family: Asteraceae (Compositae)

Subfamily: Asteroideae

Tribus: Anthemideae

Subtribus: Achilleinae

Genus: *Achillea* L.

Anadolu’da *Achillea* türleri farklı yöresel isimlerle bilinmektedir. *Achillea* halk arasında genel olarak “civanperçemi” adı ile bilinmesinin yanında, diğer isimleri şu şekilde sıralanabilir: Akbaşı, yılan çiçeği, barsam otu, binbiryaprakotu, civanperçemi beyazı, kandilçiçeği, ayvadana, ayvadanası, ayvadene, sırçanotu, yavşan, yavşan otu, boz yavşan, sarı civanperçemi, pire otu, kurpotu, marsamaotu, diş otu, baytaran, pazvat, sarıçiçek, çetüğe, kılıçotu, sarılıkotu, mayasıl otu (Arabacı 2006; Arıtuluk 2010; Çakılcıoğlu ve ark. 2010; Çakılcıoğlu ve ark. 2007; Gürhan ve Ezer 2004; Kultur 2007; Sezgin 2005; Sezik ve ark. 1997; Sezik ve ark. 2001; Tabata ve ark. 1994; Tuzlaci ve Erol 1999; Tuzlaci ve ark. 2010).

2.1.2.1. Türkiye Florasındaki *Achillea* L. Taksonları

Achillea cinsi ülkemizde 6 seksiyona ait toplam 46 türle (52 takson) temsil edilmektedir (Arabacı 2006; Arabacı ve Budak 2009; Çelik ve Akpulat 2008; Duman 2010; Huber-Morath 1975).

I. Seksiyon: *Ptarmica* (Mill.) W. Koch.

1. *A. biserrata* M. Bieb.

2. *A. salicifolia* Besser subsp. *salicifolia*

II. Seksiyon. *Anthemioideae* (DC.) Heimerl

3. *A. fraasii* Sch. Bip. subsp. *troiana* (Aschers. & Heimerl) T. Arabacı

4. *A. multifida* (DC.) Boiss.

III. Seksiyon. *Arthrolepis* Boiss.

5. *A. membranacea* (Labill.) DC.

6. *A. brachyphylla* Boiss. & Hausskn.

7. *A. oligocephala* DC.

8. *A. sipikorensis* Hausskn. & Bornm.

IV. Seksiyon. *Babounya* (DC.) O. Hoffm.

9. *A. sieheana* Stapf

V. Seksiyon. *Santolinoideae* (DC.) Heimerl

10. ***A. wilhelmsii* C. Koch. subsp. *wilhelmsii****

11. *A. falcata* L.

12. *A. cucullata* (Hausskn.) Bornm.

13. *A. vermicularis* Trin.

14. ***A. monocephala* Boiss. & Balansa***

15. ***A. schischkinii* Sosn.***

16. ***A. lycaonica* Boiss. & Heldr.***

17. *A. magnifica* Hub.-Mor.

18. *A. santolina* L.

19. *A. phrygia* Boiss. & Balansa var. *phrygia*

A. phrygia Boiss. & Balansa var. *chelikii* T. Arabacı.

20. *A. gypsicola* Hub.-Mor.

21. *A. boissieri* (Hausskn.) Boiss.

22. *A. aleppica* DC. subsp. *aleppica*

A. aleppica DC. subsp. *zederbaueri* (Hayek) Hub.-Mor.

23. *A. pseudoaleppica* Hub.-Mor.

24. ***A. teretifolia* Willd. ***

25. *A. cretica* L.

26. *A. armenorum* Boiss. & Hausskn.

27. **A. sintenisii Hub.-Mor.***
28. *A. milliana* H. Duman
29. *A. ketenoglu* H. Duman
30. **A. goniocephala Boiss. & Balansa***
31. **A. spinulifolia Fenzl ex Boiss.***
32. *A. hamzaoglu* Arabacı & Budak
33. *A. sivasica* Çelik & Akpulat

VI. Seksiyon. *Achillea*

34. *A. latiloba* Ledeb. ex. Nordm.
35. *A. grandifolia* Friv.
36. **A. millefolium L. subsp. millefolium***
37. *A. pannonica* Scheele
38. **A. setacea Waldst. & Kit.***
39. *A. crithmifolia* Waldst. & Kit.
40. **A. kotschy Boiss. subsp. kotschy***
A. kotschy Boiss. subsp. *canescens* Bässler
41. *A. nobilis* L. subsp. *sipylea* (O. Schwarz) Bässler
A. nobilis L. subsp. *kurdica* Hub.-Mor.
A. nobilis L. subsp. neilreichii (A.Kern.) Formánek *
A. nobilis L. subsp. *densissima* (O. Schwarz ex Bässler) Hub.-Mor.
42. *A. filipendulina* Lam.
43. *A. clypeolata* Sm.
44. **A. coarctata Poir. ***
45. **A. biebersteinii Afan. ***
46. *A. cappadocica* Hausskn. & Bornm.

* Tez çalışması kapsamındaki taksonlar.

2.1.3. *Achillea* Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı

Achillea L. Dünya çapında geniş dağılımlı ve eski çağlardan beri kullanılan bir tıbbi bitkidir. *Achillea* türlerinin fitokimyasal araştırmaları bu cinsten elde edilen birçok bileşiğin yüksek oranda biyoaktif olduğunu ortaya çıkarmıştır. *Achillea* türlerinin büyük bir çoğunluğu tedavi edici uygulamalara sahiptir. Bu türler Anadolu'nun en önemli ekonomik bitkileridir (Saeidnia ve ark. 2011). Bazı *Achillea* türleri çeşitli amaçlar için halk ilacı olarak kullanıldığından dolayı etnofarmakolojik bir öneme de sahiptir (Ünlü ve ark. 2002). Bazı türlerden hazırlanan bitki çayları çok sıklıkla diüretik, abdominal ağrı için, diyareye karşı, mide gazı ve mensturasyonu düzenleyici, yara iyileştirme amacıyla kullanıldığı ve bu türlerin uçucu yağlarının ve çeşitli özütlerinin antiinflamatuvar, analjezik, antimikrobiyal, antioksidan, spazmolitik, insan eritrosit ve lökosit koruyucu, hemostatik, dijestif ve kolagog etkileri olduğu rapor edilmiştir (Küpeli ve ark. 2007; Akkol ve ark. 2009; Demirci ve ark. 2009). Ayrıca *Achillea* türleri kozmetikte güzel koku üretiminde, tarımda bitki korumada kullanılmaktadır (Akkol ve ark. 2009).

Achillea cinsinin, halk arasında en yaygın ve en geniş kullanıma sahip birçok rahatsızlığın tedavisinde kullanılan türü *Achillea millefolium*'dur. Anadolu'da oldukça yaygın yetişen *A. millefolium* halk arasında, ağrı kesici, kas gevşetici, sindirimi kolaylaştırıcı, diüretik, antiseptik, iştah açıcı, gaz söktürücü, adet söktürücü ve hemoroid tedavisinde uzun yıllardır kullanılmaktadır. *A. millefolium* antiinflamatuvar etkisi sebebi ile halk arasında yara iyileştirici olarak kullanılmıştır. Ayrıca gastrit, böbrek ve karaciğer bozukluklarına karşı oldukça etkilidir. Bitki içerisinde bulunan achillein isimli acı madde, kanamayı durdurucu etki göstermektedir ve yapraklarından elde edilen özüt, patojenlerin gelişimini engellemektedir (Baytop 1999; Popovic ve ark. 2002; Candan ve ark. 2003; Applequist ve Moerman 2011). Türkiye'de *A. aleppica* DC. (Yılan çiçeği), *A. armenorum* Boiss. et Hausskn. (Baytaran), *A. biebersteinii* Afan. (Pire otu, Sarı civanperçemi), *A. kotschy* Boiss, *A. multifida* (DC.) Boiss. (Ebülmülük), *A. nobilis* L. (Ayvadana, Ayıdanası, Kurtotu), *A. setacea* Waldst. Et Kit. (Tilkikuyruğu, Yılandili), *A. wilhelmsii* C. Koch., *A. phrygia* Boiss. et Ball, *A. vermicularis* Trin. tedavi amaçlı kullanılan diğer *Achillea* türleridir (Baytop 1999; Küpeli ve ark. 2007).

2.1.4. *Achillea* Türleri ile İlgili Yapılan Kimyasal Araştırmalar

Gıda ve ilaç endüstrilerinde uçucu yağların kullanım eğilimindeki artışla daha fazla akademisyen *Achillea* cinsini araştırmaya başlamıştır. 1961’de *A. millefolium*’dan spazmolitik aktivite gösteren flavonoid yapısındaki sinarozit ve kozmosiin ilk defa izole edilmiştir (Horhammer 1961). 1979’de ise *Achillea* cinsinde tanımlanan ilk proazulen olan akillisin izole edilmiş ve yapı tayini yapılmıştır (Cuong ve ark. 1979). Yaklaşık 40 yıl önce de, *A. ageratum*’dan bir germakren olan ageratriol izole edilmiştir (Garanti ve ark. 1972).

Achillea türlerinin sekonder metabolitleri üzerine çok sayıda bilimsel araştırma mevcut olup, *Achillea* cinsinin başlıca uçucu yağlar, seskiterpen laktonlar, diterpenler, triterpenler, lignanlar, flavonoidler, fenolik asitler ve ayrıca amino asitler, yağ asitleri, alkan, inulin gibi diğer bazı madde gruplarınca zengin olduğu bilinmektedir (Çizelge 2.1- Çizelge 2.6).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Çizelge 2.1. *Achillea* türlerinin ana uçucu yağ bileşenleri ve verimleri

Biki Türü	Kull. Kısım	Ana Bileşen	% Miktar	Kaynak
<i>A. abrtanoides</i>	Toprak üstü	α -tuyon	35	Hanlidou ve ark. 1992
		β -tuyon	16.8	Chalchat ve ark. 2005
	Yaprak	1,8-sineol	18.5	Bicchi ve ark. 1988
<i>A. ageratum</i>	Toprak üstü	Artemisia keton	55.7	De La Puerta ve ark. 1996
		1,8-sineol	41	Muselli ve ark. 2007
	Çiçek	Artemisia asetat	45.6	Maffet ve ark. 1993
<i>A. albicaulis</i>	Toprak üstü	1,8-sineol	10.1	Feizbakhsh ve ark. 2003
<i>A. aleppica</i> subsp. <i>aleppica</i>	Toprak üstü	1,8-sineol	26.1	Iscan ve ark. 2006
<i>A. alexandri-regis</i>	Toprak üstü	α -pinen	14.4-15.7	Kovacevic ve ark. 2005
		β -pinen	18.6	Motl ve ark. 1990
	Çiçek	β -pinen	31.3-36.8	Kalinkina ve ark. 1974
<i>A. asiatica</i>	Yaprak	β -pinen	15-27.5	Kalinkina ve ark. 1974
		β -karyofillen	17.6	Simic ve ark. 2002
	Çiçek	Kamazulen	27.9	Maffet ve ark. 1993
<i>A. atrata</i>	Çiçek+Yaprak	1,8-sineol	24.3-31.3	Ristic ve ark. 2004
<i>A. biebersteinii</i>	Toprak üstü	1,8-sineol	7.9/29.9/32.8/ 38.1/46.1/16.5	Chialva ve ark. 1993; Küsmenoglu ve ark. 1995; Morteza-Semnani ve ark. 2005; Ghani ve ark. 2008; Kordali ve ark. 2009; Kotan ve ark. 2010; Türkmenoglu ve ark. 2015
		Kafur	17.5/11.7	Bader ve ark. 2003; Türkmenoglu ve ark. 2015
		Piperiton	31.1/34.9/49.9	Nemeth ve ark. 1993; Küsmenoglu ve ark. 1995; Bariş ve ark. 2006
	Çiçek+Yaprak	<i>p</i> -Simen	18.6	Türkmenoglu ve ark. 2015
		β -ödesmol	10.1	Türkmenoglu ve ark. 2015
		1,8-sineol	27-41	Azizi ve ark. 2010
<i>A. biserrata</i>	Yaprak	Kafur	37	Rustaiyan ve ark. 1998
<i>A. cartilaginea</i>	Toprak üstü	Kafur	1.8-23.3	Rahimmalek ve ark. 2009
<i>A. chrysocoma</i>	Toprak üstü	α -tuyon	36.8	Azaz ve ark. 2009
<i>A. clavennae</i>	Toprak üstü	1,8-sineol	26.2	Sadyrbekov ve ark. 2006
	Toprak üstü	Kafur	17	Tasic ve ark. 1998
	Yaprak	Kafur	29.5/41.9/46.9	Skocibusic ve ark. 2004; Boskovic ve ark. 2005; Stojanovic ve ark. 2005a
<i>A. clusiana</i>	Toprak üstü	β -tuyon	29.5	Bezic ve ark. 2003
			17.2	Trendafilova ve ark. 2010

Çizelge 2.1. *Achillea* türlerinin ana uçucu yağ bileşenleri ve verimleri (devam)

Biki Türü	Kull. Kısım	Ana Bileşen	% Miktar	Kaynak
<i>A. clypeolata</i>	Toprak üstü	(E)- γ -bisabolen 1,8-sineol	17.9 38.6	Simic ve ark. 2005 Chalchat ve ark. 2005
<i>A. coarctata</i>	Toprak üstü	1,8-sineol Viridiflorol	20.1 25.9	Toker ve ark. 2003 Turkmenoglu ve ark. 2015
	Çiçek+Yaprak	1,8-sineol	26.9-29.1	Tzakou ve ark. 2009
	Toprak üstü	Kamazulen β -pinen	20.8 22.5	Konakchiev ve ark. 2006 Bozin ve ark. 2008
<i>A. collina</i>	Çiçek	Kamazulen Germakren-D	30-67 41.4	Nemeth ve ark. 2007 Maffet ve ark. 1993
	Yaprak	Kamazulen	28-68	Nemeth ve ark. 2007
<i>A. conferta</i>	Toprak üstü	Kafur	22.1	Saeidnia ve ark. 2005
<i>A. cordabensis</i>	Toprak üstü+Tohum	Sabinen	25	Bulatovic ve ark. 1997
	Toprak üstü	Borneol Kafur	21.1 27.6	Smelcerovic ve ark. 2010 Palid ve ark. 2003
<i>A. crithmifolia</i>	Çiçek	Kafur α -terpineol	8-45 25	Nemeth ve ark. 1993 Tzakou ve ark. 1993
	Yaprak	Kafur	3-26	Nemeth ve ark. 1993
<i>A. cuneatiloba</i>	Toprak üstü	Kamazulen	22.4	Mustafaeva ve ark. 1991
	Çiçek	Kamazulen	26	Mustafaeva ve ark. 1991
<i>A. depressa</i>	Toprak üstü	1,8-sineol	24.1	Chalchat ve ark. 2005
<i>A. distans</i>	Çiçek	Bisabolen oksit	30.3	Maffet ve ark. 1993
	Kök	T-kadinol	17.6	Lazarevic ve ark. 2010
<i>A. erba-rotta</i>	Çiçek	Kafur	31.2	Maffei ve ark. 1989
	Toprak üstü	1,8-sineol Kafur	54.9 30.4	Ghasemi ve ark. 2008 Ghani ve ark. 2008
<i>A. eriophora</i>	Çiçek	Kafur	30.4	Ghani ve ark. 2009
	Çiçek+ Yaprak	1,8-sineol Kafur	34.2 35	Weyerstahl ve ark. 1997 Azizi ve ark. 2010
	Yaprak	Germakren-D	18.8	Rahimalek ve ark. 2009
<i>A. falcata</i>	Toprak üstü	1,8-sineol Grandisol	14-24 21.4	Kürkçüoğlu ve ark. 2003 Senatore ve ark. 2005
<i>A. filipendula</i>	Toprak üstü	Santolina alkol	43.8	Demirci ve ark. 2009

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Çizelge 2.1. *Achillea* türlerinin ana uçucu yağ bileşenleri ve verimleri (devam)

Bilgi Türü	Kull. Kısım	Ana Bileşen	% Miktar	Kaynak
<i>A. filipendulina</i>	Toprak üstü	Santolina alkol	29.1	Sadyrbekov ve ark. 2006
	Çiçek	Santolina alkol	43.6-47.8	Mosayebi ve ark. 2008
	Yaprak	Germakren-D	23.4	Rahimmalek ve ark. 2009
<i>A. fragrantissima</i>	Toprak üstü	<i>cis</i> -tuyon	29.5	el-Shazly ve ark. 2004
		α -tuyon	25.5-36.5	Fleisher ve Fleisher 1993
	Çiçek	Artemisia alkol	32	Aboutabl ve ark. 1986
		Santolina alkol	32	Aboutabl ve ark. 1986
		Kafur	25.6	Hanlidou ve ark. 1992
<i>A. grandifolia</i>	Toprak üstü	Kafur	40.2	Kordali ve ark. 2009
<i>A. gypsicola</i>	Toprak üstü	1,8-sineol	24.1	Turkmenoglu ve ark. 2015
<i>A. hamzaoglui</i>	Toprak üstü	Linalool	12.2	Turkmenoglu ve ark. 2015
		Kafur	6.7	Turkmenoglu ve ark. 2015
		1,8-sineol	47.4	Boskovic ve ark. 2005
<i>A. holosericea</i>	Toprak üstü	Burneol	17.3-18.1/30.2	Kovacevic ve ark. 2005; Stojanovic ve ark. 2005a
		Kafur	20.9	Magiatiss ve ark. 2002
<i>A. ketenoglui</i>	Toprak üstü	Burneol	14.1	Baser ve ark. 2001
<i>A. kotschyi</i>	Toprak üstü	1,8-sineol	22.5	Turkmenoglu ve ark. 2015
<i>A. ledebourii</i>	Toprak üstü	Germakren-D	20.6	Sadyrbekov ve ark. 2006
	Toprak üstü	Kafur	21.3/14.2-29.8	Filippi ve ark. 2006; Muselli ve ark. 2009
		Artemisia keton	43.9	Maffet ve ark. 1993
<i>A. ligustica</i>	Çiçek	Linalool	20.4/24.8/70.8	Tzakou ve ark. 1995; Bader ve ark. 2007; Maggi ve ark. 2009
		Moretenol	17.2	Conforti ve ark. 2005
		Santolina alkol	6.7-21.8	Tuberoso ve ark. 2005
		Terpinen-4-ol	13	Maggi ve ark. 2009
		4-Terpineol	19.3	Bader ve ark. 2007
<i>A. lingulata</i>	Toprak üstü	Linalool	28.2	Tzakou ve ark. 1995
		Burneol	23-40.7	Kovacevic ve ark. 2005
		T-kadinol	22.5	Boskovic ve ark. 2005
		Burneol	30.7	Kundakovic ve ark. 2007
		<i>Trans</i> -sabinen hidrat	9.3	Baser ve ark. 2001
<i>A. lycaonica</i>	Toprak üstü	Linalool	27.5	Demirci ve ark. 2009
<i>A. magnifolia</i>	Toprak üstü	Linalool	27.5	Demirci ve ark. 2009

Çizelge 2.1. *Achillea* türlerinin ana uçucu yağ bileşenleri ve verimleri (devam)

Biki Türü	Kull. Kısım	Ana Bileşen	% Miktar	Kaynak
		1,8-sineol	6.6/22/24.6/28.8	Candan ve ark. 2003; Hazini ve ark. 2010; Kotan ve ark. 2010; Smelcerovic ve ark. 2010
		Germakren-D	36.3	Motl ve ark. 1990
		Kafur	28	Shawl ve ark. 2002
	Toprak üstü	Kamazulen	0-42/42.2/48.3	Orav ve ark. 2006; Santoro ve ark. 2007; Rocha de Sant'Anna ve ark. 2009
		α -kopen	11.1	Saeidnia ve ark. 2004
		β -pinen	10.6-17.7/32.6	Agnihotri ve ark. 2005; Boskovic ve ark. 2005
		α -bisabolol	11.7	Turkmenoglu ve ark. 2015
		1,8-sineol	10.4-17.2	Tuberoso ve Kowalczyk 2009
		Kafur	26.4-38.4	Bocevska ve Sovova 2007
	Çiçek	Kamazulen	42.2/54	Jaimand ve ark. 2006; Rocha de Sant'Anna ve ark. 2009
		Sabinen		Amin ve ark. 2008
		β -pinen	13.1-19.3	Judzentiene ve Mockute 2005
	Çiçek+Yaprak	1,8-sineol	27-41	Azizi ve ark. 2010
		Nerolidol	9.4-31.9	Judzentiene ve Mockute 2010
		Germakren-D	4.4-45.9	Rahimmalek ve ark. 2009
	Yaprak	Kamazulen	35	Jaimand ve ark. 2006
		β -ödesmol	12.8	Judzentiene ve Mockute 2005
	Çiçek	Kafur	33.4-35.2	Gogus ve ark. 2006
	Yaprak	Kafur	28.7-30.5	Gogus ve ark. 2006
	Çiçek	Terpinen-4-ol	22.3	Maffei ve ark. 1989
	Toprak üstü	α -tuyon	60.9	Baser ve ark. 2002
	Çiçek	<i>Trans</i> -izoögenol	21.6	Maffei ve ark. 1989
	Toprak üstü	α -tuyon	25.7	Palid ve ark. 2003
	Çiçek	Germakren-D	46	Maffei ve ark. 1989
	Çiçek+Yaprak	α -tuyon	25-6	Azizi ve ark. 2010
	Toprak üstü	Fragranil asetat	31.8	Demirci ve ark. 2009
		α -tuyon	34.1	Ghani ve ark. 2008
	Çiçek	1,8-sineol	17	Karamenderes ve ark. 2007
	Toprak üstü	1,8-sineol	18.6	Toker ve ark. 2003
	Toprak üstü	<i>cis</i> -piperitol	11.2-31.2	Baser ve ark. 2000

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Çizelge 2.1. *Achillea* türlerinin ana uçucu yağ bileşenleri ve verimleri (devam)

<i>A. pseudoaleppica</i>	Toprak üstü	Kafur	29.1	Özen ve ark. 2003
<i>A. ptarmica</i>	Çiçek	Germakren-D	32.3	Maffei ve ark. 1989
<i>A. salicifolia</i> subsp. <i>salicifolia</i>	Toprak üstü	Kafur	55.3	Azaz ve ark. 2009
<i>A. santolina</i>	Toprak üstü	1,8-sineol	17.6	Bader ve ark. 2003
		Fragranil asetat	45.1	el-Shazly ve ark. 2004
	Çiçek	Fragranil asetat	51.7	el-Shazly ve ark. 2004
		Yaprak	47.1	el-Shazly ve ark. 2004
<i>A. schischkinii</i>	Toprak üstü	1,8-sineol	31/32.5	Donmez ve ark. 2005; Iscan ve ark. 2006
		Karyofilen oksit	17.5	Turkmenoglu ve ark. 2015
	Toprak üstü	Spatulenol	9.1	Turkmenoglu ve ark. 2015
		β-sabinil asetat	39.9	Simid ve ark. 2000
<i>A. setacea</i>	Toprak üstü	1,8-sineol	18.5	Ünlü ve ark. 2002
<i>A. sieheana</i>	Toprak üstü	α-Bisebolon oksit A	27.0	Turkmenoglu ve ark. 2015
<i>A. sintenisii</i>	Toprak üstü	(1S)(-)-kafur	39.9	Tabanca ve ark. 2004
<i>A. stricta</i>	Toprak üstü	Kafur	14.8	Sökmen ve ark. 2003
<i>A. sudetica</i>	Toprak üstü	β-ödesmol	26.4	Turkmenoglu ve ark. 2015
<i>A. talagonica</i>	Toprak üstü	Kafur	23.7	Chalchat ve ark. 2005
<i>A. tenuifolia</i>	Toprak üstü	Linalool	11.8	Sadyrbekov ve ark. 2006
	Toprak üstü	Kafur	21.9	Saeidnia ve ark. 2004
	Çiçek+Yaprak	1,8-sineol	27	Rustaiyan ve ark. 1998
	Toprak üstü	Artemisia keton	12.4	Demirci ve ark. 2009
<i>A. teretifolia</i>	Yaprak	Limonen	23.2	Shafaghat 2009
<i>A. tomentollum</i>	Toprak üstü	Germakren-D	6.6-69.6	Rahimmalek ve ark. 2009
<i>A. umbellata</i>	Toprak üstü	1,8-sineol	19.9/33.7	Ünlü ve ark. 2002; Demirci ve ark. 2009
<i>A. vermicularis</i>	Toprak üstü	Kafur	9.4	Demirci ve ark. 2009
<i>A. wilhelmsii</i>	Toprak üstü	β-tuyon	62.8	Tzakou ve Loukis 2009
	Çiçek	1,8-sineol	12.4	Kundakovic ve ark. 2007
	Çiçek+Yaprak	Kafur	32	Rustaiyan ve ark. 1998
	Toprak üstü	Kafur	19.1/19.7/39.6/41.3	Azaz ve ark. 2008; Ghani ve ark. 2008a,b; Turkmenoglu ve ark. 2015
<i>A. wilhelmsii</i>	Toprak üstü	Karvakrol	25.1	Javidnia ve ark. 2004
	Çiçek	Kafur	21.2	Azadbakht ve ark. 2003
	Yaprak	Kafur	24.1	Azadbakht ve ark. 2003
	Yaprak	Kafur	24.1	Azadbakht ve ark. 2003

Çizelge 2.2. *Achillea* türlerinden elde edilen seskiterpen laktonlar, diterpenler ve triterpenler

Bileşik	Bitki Türü	Kaynak
12,6α-guayanolitler (Seskiterpenler)		
11-epi-8-deasetilmatrikarin	<i>A. sibirica</i>	Kaneko ve ark. 1971
1-deoksi-1 α -peroksi-rupikolin A	<i>A. clavennae</i> <i>A. clypeolata</i> <i>A. crithmifolia</i>	Todorova ve ark. 1998; Stojanovic ve ark. 2005c
1-deoksi-1 α -peroksi-rupikolin B	<i>A. clavennae</i> <i>A. clypeolata</i> <i>A. crithmifolia</i>	Todorova ve ark. 1998; Stojanovic ve ark. 2005c
1 α ,4 α ,8 α -trihidroksi-5 α H,6 β H,7 α H-guaya-2(3),10(14),11(13)-trien-12,6 α -olit	<i>A. crithmifolia</i>	Chandler ve ark. 1982
1 α ,4 β -dihidroksi-5 α H,6 β ,7 α H-guaya-2(3),10(14),11(13)-trien-12,6 α -olit	<i>A. depressa</i>	Trifunovic ve ark. 2005
2 α ,8 α -dihidroksi-1 α H,5 α H,6 β ,7 α H,11 β -guaya-3(4),10(14)-dien-12,6 α -olit	<i>A. ceretanica</i>	Glasl ve ark. 1999
3 β -hidroksi-8 α -(2-hidroksimetil) akriloloksi-1 α H,5 α H,6 β H,7 α H-guaya-4(15),10(14), 11(13)-trien-12,6 α -olit	<i>A. fragrantissima</i>	Skocibusic ve ark. 2004
3 β -kloro-1 α ,2 α -epoksi-4 α ,10 α -dihidroksi-5 α H,6 β H,7 α H-guaya-11(13)-en-12,6 α -olit	<i>A. biebersteinii</i> <i>A. depressa</i> <i>A. ligustica</i> <i>A. santolina</i>	Trifunovic ve ark. 2005
3 β -kloro-1 α ,2 α -epoksi-4 α ,8 α ,10 α -trihidroksi-5 α H,6 β H,7 α H-guaya-11(13)-en-12,6 α -olit	<i>A. biebersteinii</i> <i>A. depressa</i> <i>A. ligustica</i> <i>A. santolina</i>	Trifunovic ve ark. 2005
3 β -kloro-1 β ,2 β -epoksi-4 α ,10 α -dihidroksi-5 α H,6 β H,7 α H-guaya-11(13)-en-12,6 α -olit	<i>A. ligustica</i>	Ahmed ve ark. 2003
5-hidroksilökodin	<i>A. santolina</i>	Balboul ve ark. 1997
8-deasetil-11,13-dehidromatrikarin	<i>A. setacea</i>	Kubelka ve ark. 1999
8-deasetil-4-epi-matrisin	<i>A. asplenifolia</i>	Kastner ve ark. 1992
8-deasetil-5 α -hidroksi-8-(tigloiloksi)matrikarin	<i>A. roseoalba</i>	Kubelka ve ark. 1999
8-deasetil-8-(tigloiloksi)matrisin	<i>A. roseoalba</i>	Kubelka ve ark. 1999
8-deasetil-8-tigloil-4-epi-matrisin	<i>A. asplenifolia</i> <i>A. collina</i>	Kubelka ve ark. 1999
8-deasetil-8 α -(angeloiloksi)-4-epi-matrisin	<i>A. asplenifolia</i>	Todorova ve ark. 2006
8-deasetilmatrikarin	<i>A. asiatica</i> <i>A. ceretanica</i> <i>A. collina</i> <i>A. santolina</i> <i>A. sibirica</i>	Kaneko ve ark. 1971; Balboul ve ark. 1997
8 α -(angeloiloksi)-11-epi-tannunolit C	<i>A. asplenifolia</i>	Todorova ve ark. 2006
8 α -(angeloiloksi)-1 α ,2 α ,4 α ,5 α -diepoksi-10 β -hidroksi-6 β H,7 α H,11 β H-guayan-12,6 α -olit	<i>A. asplenifolia</i>	Todorova ve ark. 2006
8 α -(angeloiloksi)-1 β ,2 β :4 β ,5 β -diepoksi-10 β -hidroksi-6 β H,7 α H,11 β H-12,6 α -guayanolit	<i>A. asiatica</i> <i>A. asplenifolia</i> <i>A. ceretanica</i> <i>A. collina</i> <i>A. roseoalba</i>	Glasl ve ark. 2001a, b

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Çizelge 2.2. *Achillea* türlerinden elde edilen seskiterpen laktonlar, diterpenler ve triterpenler (devam)

Bileşik	Bitki Türü	Kaynak
12,6α-guayanolitler (Seskiterpenler)		
8 α -(angeloiloksi)-2 α ,4 α ,10 β -trihidroksi-6 β H,7 α H,11 β H-guayi-1(5)-en-12,6 α -olit	<i>A. asiatica</i> <i>A. asplenifolia</i> <i>A. ceretanica</i> <i>A. collina</i> <i>A. roseoalba</i>	Glasl ve ark. 2001a, b
8 α -(angeloiloksi)-4 α ,10 β -dihidroksi-2-okso-6 β H,7 α H,11 β H-guayi-1(5)-en-12,6 α -olit	<i>A. asiatica</i> <i>A. asplenifolia</i> <i>A. ceretanica</i> <i>A. collina</i> <i>A. roseoalba</i>	Glasl ve ark. 2001a, b
8 α -(angeloiloksi)-4 α -metoksiguaya-1(10),2(3)-dien-12,6 α -olit	<i>A. asplenifolia</i>	Todorova ve ark. 2006
8 α -(angeloiloksi)-4 β -metoksiguaya-1(10),2(3)-dien-12,6 α -olit	<i>A. asplenifolia</i>	Todorova ve ark. 2006
8 α -(angeloiloksi) artabsin	<i>A. asistica</i> <i>A. asplenifolia</i> <i>A. ceretanica</i> <i>A. collina</i> <i>A. roseoalba</i>	Schroder ve ark. 1994; Kubelka ve ark. 1999; Glasl ve ark. 2001
8 α -(angeloiloksi) artabsin 1,4-endoperoksit	<i>A. millefolium</i>	Kubelka ve ark. 1999
8 α -(angeloiloksi) tannunolit B	<i>A. asplenifolia</i>	Todorova ve ark. 2006
8 α -(tigloiloksi) artabsin	<i>A. asistica</i> <i>A. asplenifolia</i> <i>A. ceretanica</i> <i>A. collina</i> <i>A. roseoalba</i>	Schroder ve ark. 1994; Kubelka ve ark. 1999; Glasl ve ark. 2001
8 α -(tigloiloksi) artabsin 1,4-endoperoksit	<i>A. millefolium</i>	Kubelka ve ark. 1999
8 α -asetoksi-2 α -hidroksi-1 α H, 5 α H, 6 β , 11 β -guaya-3(4),10(14)-dien-12,6 α -olit	<i>A. ceretanica</i>	Glasl ve ark. 1999
8 α -asetoksi-6-epi-tannunolit B	<i>A. asplenifolia</i>	Todorova ve ark. 2006
8 α -asetoksitanunolit B	<i>A. asplenifolia</i>	Todorova ve ark. 2006
8 α -hidroksitanapartin α -peroksit	<i>A. depressa</i>	Trifunovic ve ark. 2005
Akilleanon	<i>A. vermicularis</i>	Ahmad ve ark. 2005
Akillisin	<i>A. asplenifolia</i> <i>A. ceretanica</i> <i>A. collina</i> <i>A. millefolium</i> <i>A. roseoalba</i>	Banhnhu ve ark. 1979; Kubelka ve ark. 1999
Apressin	<i>A. depressa</i>	Tsankova ve ark. 1981
İzoapressin	<i>A. ligustica</i>	Bruno ve Herz 1988
Krisartemin A	<i>A. ligustica</i>	Bruno ve Herz 1988
Krisartemin B	<i>A. crithmifolia</i> <i>A. ligustica</i>	Bruno ve Herz 1988
Lökodin	<i>A. santolina</i>	Balboul ve ark. 1997
Matrikarin	<i>A. ceretanica</i> <i>A. collina</i> <i>A. ligustica</i>	Bruno ve Herz 1988; Kubelka ve ark. 1999
Rupikolin A	<i>A. clavennae</i> <i>A. clypeolata</i> <i>A. crithmifolia</i> <i>A. setacea</i>	Todorova ve ark. 1998; Kubelka ve ark. 1999; Stojanovic ve ark. 2005c

Çizelge 2.2. *Achillea* türlerinden elde edilen seskiterpen laktonlar, diterpenler ve triterpenler (devam)

Bileşik	Bitki Türü	Kaynak
12,6α-guayanolitler (Seskiterpenler)		
Rupikolin B	<i>A. clavennae</i> <i>A. clypeolata</i> <i>A. crithmifolia</i> <i>A. setacea</i>	Todorova ve ark. 1998; Kubelka ve ark. 1999; Stojanovic ve ark. 2005c
Rupikolin-A 3α,4α-epoksit	<i>A. clypeolata</i> <i>A. crithmifolia</i>	Todorova ve ark. 1998
Rupikolin-B 3α,4α-epoksit	<i>A. clypeolata</i> <i>A. crithmifolia</i>	Todorova ve ark. 1998
Tanapartin α-peroksit	<i>A. depressa</i>	Trifunovic ve ark. 2005
Vermikularon	<i>A. vermicularis</i>	Ahmad ve ark. 2005
Vermikulon	<i>A. vermicularis</i>	Ahmad ve ark. 2005
Nor-guayanolitler (Seskiterpenler)		
2α-kloro-izo-seko-tanapartolit	<i>A. ligustica</i>	Ahmad ve ark. 2003
3-dehidroksi-izo-seko-tanapartolit	<i>A. ligustica</i>	Ahmad ve ark. 2003
3-oksaakillisin	<i>A. asplenifolia</i> <i>A. ceretanica</i> <i>A. collina</i> <i>A. roseoalba</i>	Ochir ve ark. 1991; Kubelka ve ark. 1999
8-hidroksi-3-metoksi-izo-seko-tanapartolit	<i>A. ligustica</i>	Ahmad ve ark. 2003
8α-(angeloiloksi)-3-oksa-artabsin	<i>A. asplenifolia</i> <i>A. ceretanica</i> <i>A. collina</i>	Schroder ve ark. 1994; Kubelka ve ark. 1999
8α-(tigloiloksi)-3-oksa-artabsin	<i>A. asplenifolia</i> <i>A. ceretanica</i> <i>A. collina</i>	Schroder ve ark. 1994; Kubelka ve ark. 1999
Akilleppolit	<i>A. pseudoaleppica</i>	Appendino ve ark. 1993
Kritmifolit	<i>A. crithmifolia</i>	Chandler ve ark. 1982
12,8α-guayanolitler (Seskiterpenler)		
6α,9α-diasetoksi-4α-hidroksi-5αH,6βH,7αH,8βH,11αH-guaya-1(10),2(3)-dien-7,8α-olit	<i>A. asplenifolia</i>	Kastner ve ark. 1992
9α-asetoksi-4α-hidroksi-6α-tigloiloksi-5αH,6βH,7αH,8βH,11αH-guaya-1(10),2(3)-dien-7,8α-olit	<i>A. asplenifolia</i>	Kastner ve ark. 1992
9α-asetoksi-6α-angeloiloksi-4α-hidroksi-5αH,6βH,7αH,8βH,11αH-guaya-1(10),2(3)-dien-7,8α-olit	<i>A. asplenifolia</i>	Kastner ve ark. 1992
9α-asetoksi-6α-angeloiloksi-4β-hidroksi-5αH,6βH,7αH,8βH,11αH-guaya-1(10),2(3)-dien-7,8α-olit	<i>A. asplenifolia</i>	Kastner ve ark. 1992
1(10→9)-abeo-12,8α-guayanolitler (Seskiterpenler)		
11,12,13-trihidroksiödesm-4-en-3-on	<i>A. holosericea</i>	Ahmed ve ark. 2002
1β,3β-dihidroksiödesma-4(15),11(13)-dien-12,6α-olit	<i>A. crithmifolia</i>	Chandler ve ark. 1982
4-epi-arglanin	<i>A. pratensis</i>	Glasl ve ark. 1995
4α-hidroperoksi-4α-dehidroksiarglanin	<i>A. pratensis</i>	Glasl ve ark. 1995
1β,6α-Dihidroksi-4-ödesmon	<i>A. wilsoniana</i>	Yang ve ark. 2005
7α-Hidroksikarissin	<i>A. clypeolata</i>	Todorova ve Tsankova 1999
3α-Dehidroksi-3α-hidroperoksiklipoetriol	<i>A. clypeolata</i>	Todorova ve Tsankova 1999
3-oksoödesma-4,11-dien-13-oik asit	<i>A. fragrantissima</i>	Ahmed ve ark. 1990

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Çizelge 2.2. *Achillea* türlerinden elde edilen seskiterpen laktonlar, diterpenler ve triterpenler (devam)

Bileşik	Bitki Türü	Kaynak
1β-Asetoksi-4(15)-ödemsen-5α,11,12,13-tetraol	<i>A. holosericea</i>	Ahmed ve ark. 2002
7α-Hidroksiizopterokarpolon	<i>A. clypeolata</i>	Todorova ve Tsankova 1999
Akrifolit	<i>A. chrysocoma</i> <i>A. crithmifolia</i> <i>A. depressa</i>	Trifunovic ve ark. 2005
Arglanin	<i>A. pratensis</i>	Glasl ve ark. 1995
Artekalin	<i>A. ligustica</i>	Ahmad ve ark. 2003
Ligustolit A	<i>A. ligustica</i>	Ahmad ve ark. 2003
Ligustolit B	<i>A. ligustica</i>	Ahmad ve ark. 2003
Ödesm-4(15)-en-3α,7α,11-triol (Klipetriol)	<i>A. clypeolata</i>	Todorova ve ark. 1998
Ödesm-4(15)-ene-1β,6α-diol	<i>A. fragrantissima</i>	Skocibusic ve ark. 2004
Reynosin	<i>A. depressa</i>	Trifunovic ve ark. 2005
Santamarin	<i>A. pratensis</i>	Glasl ve ark. 1995
Tauremisin	<i>A. distans</i> <i>A. fragrantissima</i> <i>A. pratensis</i>	Glasl ve ark. 1995; Kubelka ve ark. 1999
Germakranlar (Seskiterpenler)		
(4E,10E)-3-[(2-metilbütirol)oksi]germakra-4(5),10(1)-dien-12,6α-olite	<i>A. wilsoniana</i>	Yang ve ark. 2005
(4E,10E)-9β-hidroksi-3-[(2-metilbütirol)oksi]germakra-4(5),10(1)-dien-12,6α-olite	<i>A. wilsoniana</i>	Yang ve ark. 2005
13-asetoksi-3β-[(2-metilbütirol)oksi]germakra-1(10)E,4E,7(11)-trien-12,6α-olite	<i>A. asplenifolia</i>	Todorova ve ark. 2006
13-asetoksi-3β-izovaleroyloksigermakra-1(10)E,4E,7(11)-trien-12,6α-olite	<i>A. asplenifolia</i>	Todorova ve ark. 2006
13-hidroksi-3β-(2-metilbütiroloksi)germakra-1(10)E,4E,7(11)-trien-12,6α-olite	<i>A. asplenifolia</i>	Todorova ve ark. 2006
13-hidroksi-3β-izovaleroiloksigermakra-1(10)E,4E,7(11)-trien-12,6α-olite	<i>A. asplenifolia</i>	Todorova ve ark. 2006
1β,10α-epoksi-3β,9β-diasetoksi-11α,13-dihidrokokostunolite	<i>A. crithmifolia</i>	Milosavljevic ve ark. 1987
1β,10β-epoksidihidropartenolite	<i>A. micrantha</i>	Rustaiyan ve ark. 1987
1β-O-asetilageratriol	<i>A. ageratum</i>	Kijjoa ve ark. 1999
3β-(2-metilbütiroloksi)-8α-hidroksi-11αH,13-dihidrokokostunolite	<i>A. asplenifolia</i>	Todorova ve ark. 2006
3β-(izovaleroiloksi)-8α-hidroksi-11αH,13-dihidrokokostunolite	<i>A. asplenifolia</i>	Todorova ve ark. 2006
3β,9α-diasetoksi-6βH,7αH,9βH-germakra-1(10),4-dien-12,6α-olite	<i>A. crithmifolia</i>	Chandler ve ark. 1982
3β,9β-diasetoksi-13-hidroksigermakra-1(10),4,7(11)-trien-12,6α-olite	<i>A. santolina</i>	Balboul ve ark. 1997
3β,9β-diasetoksigermakra-1(10),4,11(13)-trien-12,6α-olite	<i>A. santolina</i>	Balboul ve ark. 1997
5β-(tigloiloksi)akillifolin	<i>A. distans</i>	Kubelka ve ark. 1999
Ageratriol	<i>A. ageratum</i>	Garanti ve ark. 1972

Çizelge 2.2. *Achillea* türlerinden elde edilen seskiterpen laktonlar, diterpenler ve triterpenler (devam)

Bileşik	Bitki Türü	Kaynak
9β-O-asetilageratriol	<i>A. ageratum</i>	Vieira ve ark. 1997
1β-O-asetilageratriol	<i>A. ageratum</i>	Kijjoa ve ark. 1999
Tri-O-asetilageratriol	<i>A. ageratum</i>	Vieira ve ark. 1997
(5R*,7S*,9S*)-5,9-Dihidroksigermakra-4(15),10(14),11(13)-trien-1-one	<i>A. ageratum</i>	Vieira ve ark. 1997
(1R*,5R*,7S*,9S*,10S*)-9-Asetoksi-1,10-Epoksigermakra-4(15),11(13)-dien-5-ol	<i>A. ageratum</i>	Vieira ve ark. 1997
(1R*,5R*,7S*,9S*,10S*)-1,10-Epoksigermakra-4(15),11(13)-diene-5,9-diol	<i>A. ageratum</i>	Vieira ve ark. 1997
7α H,11α H-Germakra-5,10(14)-diene-1 β,4a-diol	<i>A. pannonica</i>	Kubelka ve ark. 1999
Akillolit A	<i>A. fragrantissima</i>	Segal ve ark. 1987
Akillolit B	<i>A. fragrantissima</i>	Segal ve ark. 1987
Artabin	<i>A. pseudoaleppica</i>	Appendino ve ark. 1993
Ridentin	<i>A. depressa</i>	Trifunovic ve ark. 2005
Sintenin	<i>A. pseudoaleppica</i>	Hatam ve ark. 1992
Bisabolanolar (Seskiterpenler)		
7β -Acetoxy-12-hydroxybisabola-2,10E-dien-4-one	<i>A. cretica</i>	Bruno ve ark. 1996
7β,12-Dihydroxy-4-oxobisabola-2,9E-dien-13-oic acid	<i>A. cretica</i>	Bruno ve ark. 1996
7β,9,10-Trihydroxy-4-oxobisabola-2,11-dien-13-oic acid	<i>A. cretica</i>	Bruno ve ark. 1996
1α,7β,11-Trihydroxybisabola-2,9E-dien-4-one	<i>A. cretica</i>	Bruno ve ark. 1996
1α,7β,10-Trihydroxyisobisabola-2,11-dien-4-one	<i>A. cretica</i>	Bruno ve ark. 1996
1α,7β,10-Trihydroxybisabol-2,11-dien-4-one	<i>A. cretica</i>	Bruno ve ark. 1996
7β -Hydroxy-13-nor-bisabol-2,9E-diene-4,11-dione	<i>A. cretica</i>	Bruno ve ark. 1996
Diğer Seskiterpenler		
β -Elemen-9β -ol	<i>A. ageratum</i>	Grandi ve ark. 1972
7β -Hydroxy-11-oplopenone	<i>A. ageratum</i>	Kijjoa ve ark. 1999
3α,7α,11-Trihydroxycyperan-4-one	<i>A. clypeolata</i>	Todorova ve Tsankova 1999
	<i>A. millefolium</i>	Kubelka ve ark. 1999
α -Longipin-2-en-1-one	<i>A. pannonica</i>	Kastner ve ark. 1996; Fischer ve ark. 2001; Rauchensteiner ve ark. 2002; Werner ve ark. 2003
7β -Hydroxy-a-longipin-2-en-1-one	<i>A. millefolium</i>	Kubelka ve ark. 1999; Rauchensteiner ve ark. 2002
5-Hydroxy-5,6-seco-caryophyllen-6-one	<i>A. ligustica</i>	Ahmed ve ark. 2003
9-Hydroxyfarnesyl acetate	<i>A. pseudoaleppica</i>	Appendino ve ark. 1993
ω-Oksonerolidol	<i>A. aleppica</i>	Appendino ve ark. 1993

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Çizelge 2.2. *Achillea* türlerinden elde edilen seskiterpen laktonlar, diterpenler ve triterpenler (devam)

Bileşik	Bitki Türü	Kaynak
Diterpenler		
16α,17-epoksi-19-asetoksi-ent-kauran	<i>A. clypeolata</i>	Aljancic ve ark. 1996
16α,17-epoksi-3a-asetoksi-ent-kauran	<i>A. clypeolata</i>	Aljancic ve ark. 1996
16α,17-epoksi-ent-kauran	<i>A. clypeolata</i>	Aljancic ve ark. 1996
Triterpenler		
Akilleol A	<i>A. odorata</i>	Barrero ve ark. 1989
Akilleol B	<i>A. odorata</i>	Barrero ve ark. 1990

Çizelge 2.3. *Achillea* türlerinden elde edilen lignanlar

Bileşik	Bitki Türü	Kaynak
3'-demetoksiaskantin	<i>A. holosericea</i>	Ahmed ve ark. 2002
3'-demetoksiyangambin	<i>A. holosericea</i>	Ahmed ve ark. 2002
Askantin	<i>A. holosericea</i> <i>A. lingulata</i>	Ahmed ve ark. 2002; Stojanovic ve ark. 2005b
Epiaskantin	<i>A. holosericea</i> <i>A. lingulata</i>	Ahmed ve ark. 2002; Stojanovic ve ark. 2005b
Epiödesmin	<i>A. holosericea</i> <i>A. lingulata</i>	Ahmed ve ark. 2002; Stojanovic ve ark. 2005b
Episesartemin	<i>A. holosericea</i>	Ahmed ve ark. 2002
Epiyangambin	<i>A. holosericea</i>	Ahmed ve ark. 2002
İzo-3'-demetoksiyangambin	<i>A. holosericea</i>	Ahmed ve ark. 2002
Sesartemin	<i>A. cretica</i> <i>A. holosericea</i> <i>A. lingulata</i>	Bruno ve ark. 1996; Ahmed ve ark. 2002; Stojanovic ve ark. 2005b
Yangambin	<i>A. cretica</i> <i>A. holosericea</i> <i>A. lingulata</i>	Bruno ve ark. 1996; Ahmed ve ark. 2002; Stojanovic ve ark. 2005b

Çizelge 2.4. *Achillea* türlerinden elde edilen flavonoidler

Bileşik	Bitki Türü	Kaynak
3-metilbetuletol	<i>A. abrotanoides</i>	Valant-Vetschera ve Wollenweber 1996a,b, 2001
	<i>A. absinthoides</i>	
	<i>A. chamaemelifolia</i>	
	<i>A. clavennae</i>	
	<i>A. clypeolata</i>	
	<i>A. coarctata</i>	
	<i>A. erba-rotta</i>	
	<i>A. fraasii</i>	
	<i>A. moschata</i>	
	<i>A. multifida</i>	
5-hidroksi-3,6,7,3',4'-pentametoksiflavon	<i>A. pseudopectinata</i>	Ahmad ve ark. 1995; Valant-Vetschera ve Wollenweber 1996a, 2001
	<i>A. umbellata</i>	
	<i>A. abrotanoides</i>	
	<i>A. aegyptiaca</i>	
	<i>A. coarctata</i>	
5-hidroksi-3,6,7,4'-tetrametoksiflavon	<i>A. glaberrima</i>	Falk ve ark. 1975
	<i>A. santolina</i>	
5-hidroksi-3',4'-dimetoksiflavon-7-O-ramnozit	<i>A. millefolium</i>	Shafaghat ve ark. 2014
	<i>A. tenuifolia</i>	

Çizelge 2.4. *Achillea* türlerinden elde edilen flavonoidler (devam)

Bileşik	Bitki Türü	Kaynak
5-hidroksi-3'-metoksiflavon-4'-O-(pentenil-4-on)-7-O-(2''-(ramnozil)-ramnozit	<i>A. tenuifolia</i>	Shafaghat ve ark. 2014
6-demetoksi-kapillarisin	<i>A. ageratum</i>	Kijjoa ve ark. 1999
6-hidroksi-luteolin 7-O-β-D-glikozit	<i>A. millefolium</i>	Sevindik ve ark. 2015
6-hidroksikemferol-3,6,7,4-tetrametil eter	<i>A. abrotanoides</i>	Valant-Vetschera ve Wollenweber 1996a, 2001; Tuberoso ve ark. 2009
	<i>A. coarctata</i>	
	<i>A. depressa</i>	
	<i>A. ligustica</i>	
	<i>A. moschata</i>	
6-hidroksikemferol-3,6-dimetil eter	<i>A. ochroleuca</i>	Valant-Vetschera ve Wollenweber 1996a, 2001; Tuberoso ve ark. 2009
	<i>A. ageratifolia</i> subsp. <i>serbica</i>	
	<i>A. biebersteinii</i>	
	<i>A. cappadocica</i>	
	<i>A. chamaemelifolia</i>	
	<i>A. crithmifolia</i>	
	<i>A. ligustica</i>	
	<i>A. pachycephala</i>	
	<i>A. pindicola</i>	
Aksillarin	<i>A. pseudopectinata</i>	Valant-Vetschera ve Wollenweber 1996a, 2001
	<i>A. umbellata</i>	
	<i>A. biebersteinii</i>	
	<i>A. cappadocica</i>	
	<i>A. pachycephala</i>	
Apigenin	<i>A. thracica</i>	Guedon ve ark. 1993; Stojanovic 2005c; Innocenti ve ark. 2007; Tuberoso ve ark. 2009
	<i>A. umbellata</i>	
	<i>A. alpestris</i>	
	<i>A. ceretanum</i>	
	<i>A. clavennae</i>	
Apigenin 7-malonil- glukozit	<i>A. ligustica</i>	Guedon ve ark. 1993
	<i>A. millefolium</i>	
	<i>A. alpestris</i>	
Apigenin-7-O-rutinozit	<i>A. ceretanum</i>	Tuberoso ve ark. 2009
Apigenin-7-O-β-D-glukopiranozit	<i>A. ligustica</i>	Innocenti ve ark. 2007
Artemetin	<i>A. millefolium</i>	Falk ve ark. 1975
Desmetoksisentauridin	<i>A. holosericea</i>	Tzakou ve ark. 1995
Hispidulin	<i>A. alpestris</i>	Valant-Vetschera ve Wollenweber 1996a, 2001; Vieira ve ark. 1997
	<i>A. ageratifolia</i> subsp. <i>aizoon</i>	
	<i>A. ageratifolia</i> subsp. <i>serbica</i>	
	<i>A. ageratum</i>	
	<i>A. ochroleuca</i>	
İzoorientin	<i>A. pseudopectinata</i>	Marchart ve Kopp 2003
İzoorientin-7,3-dimetil eter	<i>A. setacea</i>	Valant ve ark.1980
İzoşaftozit	<i>A. cretica</i>	Marchart ve Kopp 2003, Tuberoso ve ark. 2009
	<i>A. ligustica</i>	
Kaseidin	<i>A. setacea</i>	Ahmad ve ark. 1995; Valant-Vetschera ve Wollenweber 1996a
	<i>A. biebersteinii</i>	
	<i>A. pachycephala</i>	
Kastisin	<i>A. abrotanoides</i>	Falk ve ark. 1975; Valant-Vetschera ve Wollenweber 1996a, 2001
	<i>A. coarctata</i>	
	<i>A. millefolium</i>	
Kersetin	<i>A. holosericea</i>	Tuberoso ve ark. 2009; Tzakou ve ark. 1995
	<i>A. ligustica</i>	

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Çizelge 2.4. *Achillea* türlerinden elde edilen flavonoidler (devam)

Bileşik	Bitki Türü	Kaynak
Kersetin-3,3'-dimetil eter	<i>A. holosericea</i>	Tzakou ve ark. 1995
Kersetin-3-metil eter	<i>A. holosericea</i>	Tzakou ve ark. 1995
Kozmosiin	<i>A. alpestris</i> <i>A. ceretanum</i> <i>A. ligustica</i> <i>A. millefolium</i>	Horhammer 1961; Guedon ve ark. 1993; Stojanovic ve ark. 2005b; Tuberoso ve ark. 2009
Krizoeriol	<i>A. holosericea</i>	Tzakou ve ark. 1995
Krizosplenetin	<i>A. biebersteinii</i> <i>A. clusiana</i> <i>A. nana</i>	Valant-Vetschera ve Wollenweber 1996a,b
Krizosplenol D	<i>A. ageratifolia</i> subsp. <i>ageratifolia</i> <i>A. ageratum</i> <i>A. biebersteinii</i> <i>A. clusiana</i> <i>A. gerberi</i> <i>A. maura</i> <i>A. nana</i> <i>A. ochroleuca</i>	Valant-Vetschera ve Wollenweber 1996a,b, 2001
Luteolin	<i>A. alpestris</i> <i>A. ceretanum</i> <i>A. holosericea</i> <i>A. ligustica</i> <i>A. millefolium</i>	Guedon ve ark. 1993; Tzakou ve ark. 1995; Innocenti ve ark. 2007; Tuberoso ve ark. 2009
Luteolin-4'-O-β-D-glukopiranozit	<i>A. millefolium</i>	Innocenti ve ark. 2007
Luteolin-4'-glukozit	<i>A. setacea</i>	Marchart ve Kopp 2003
Luteolin-7-malonil-glukozit	<i>A. alpestris</i> <i>A. ceretanum</i> <i>A. millefolium</i>	Guedon ve ark. 1993
Luteolin-7-O-glukozit	<i>A. ligustica</i>	Tuberoso ve ark. 2009
Luteolin-7-O-β-D-glukopiranozit	<i>A. millefolium</i>	Innocenti ve ark. 2007
Nepetin	<i>A. ageratifolia</i> subsp. <i>aizoon</i>	Valant-Vetschera ve Wollenweber 2001
Öpatolin	<i>A. santolina</i>	Balboul ve ark. 1997
Orientin	<i>A. setacea</i>	Marchart ve Kopp 2003
Pektolinarigenin	<i>A. pseudopectinata</i>	Valant-Vetschera ve Wollenweber 1996a
Penduletin	<i>A. ageratifolia</i> subsp. <i>ageratifolia</i> <i>A. ageratifolia</i> subsp. <i>aizoon</i> <i>A. ageratum</i> <i>A. biebersteinii</i> <i>A. cappadocica</i> <i>A. depressa</i> <i>A. gerberi</i> <i>A. nana</i> <i>A. ochroleuca</i> <i>A. pseudopectinata</i>	Valant-Vetschera ve Wollenweber 1996a,b, 2001; Trifunovic ve ark. 2005
Rutin	<i>A. ligustica</i> <i>A. millefolium</i>	Kaloshina ve Neshta 1973; Innocenti ve ark. 2007; Tuberoso ve ark. 2009
Salvigenin	<i>A. depressa</i> <i>A. ochroleuca</i>	Valant-Vetschera ve Wollenweber 1996a; Trifunovic ve ark. 2005
Santin	<i>A. ligustica</i>	Tuberoso ve ark. 2009

Çizelge 2.4. *Achillea* türlerinden elde edilen flavonoidler (devam)

Bileşik	Bitki Türü	Kaynak
Santoflavon	<i>A. santolina</i>	Ahmad ve ark. 1995
Sentaureidin	<i>A. abrotanoides</i>	Vetschera ve Wollenweber 1996a,b, 2001; Stojanovic 2005c
	<i>A. biebersteinii</i>	
	<i>A. cappadocica</i>	
	<i>A. clavennae</i>	
	<i>A. clypeolata</i>	
	<i>A. coarctata</i>	
	<i>A. erba-rotta</i>	
	<i>A. filipendulina</i>	
	<i>A. moschat</i>	
	<i>A. multifida</i>	
	<i>A. ochroleuca</i>	
	<i>A. pseudopectinata</i>	
Sinarozit	<i>A. rupestris</i>	Horhammer 1961
	<i>A. ceretanum</i>	
	<i>A. millefolium</i>	
Sirsiliol	<i>A. ageratum</i>	Valant-Vetschera ve Wollenweber 1996a; Vieira ve ark. 1997
	<i>A. depressa</i>	
Sirsimaritin	<i>A. depressa</i>	Balboul ve ark. 1997; Trifunovic ve ark. 2005
	<i>A. ochroleuca</i>	
	<i>A. santolina</i>	
Şaftozit	<i>A. ligustica</i>	Marchart ve Kopp 2003; Tuberoso ve ark. 2009
	<i>A. setacea</i>	
Visenin-2	<i>A. setacea</i>	Marchart ve Kopp 2003; Tuberoso ve ark. 2009
Viteksin	<i>A. setacea</i>	Marchart ve Kopp 2003

Çizelge 2.5. *Achillea* türlerinden elde edilen fenolik asitler

Bileşik	Bitki Türü	Kaynak
1,5-di-O-kafeoilkinik asit	<i>A. millefolium</i>	Fraisse ve ark. 2007
3,4-di-O-kafeoilkinik asit	<i>A. alexandri-regis</i>	Kundakovic ve ark. 2004
3,5-di-O-kafeoilkinik asit	<i>A. millefolium</i>	Fraisse ve ark. 2007, Giorgi ve ark. 2009, Innocenti ve ark. 2007
	<i>A. collina</i>	
4,5-di-O-kafeoilkinik asit	<i>A. collina</i>	Giorgi ve ark. 2009
Ferulik asit	<i>A. millefolium</i>	Wojdylo ve ark. 2007
Kafeik asit	<i>A. millefolium</i>	Wojdylo ve ark. 2007; Giorgi ve ark. 2009
	<i>A. collina</i>	
Klorojenik asit	<i>A. millefolium</i>	Fraisse ve ark. 2007; Innocenti ve ark. 2007; Benetis ve ark. 2008a,b,c; Giorgi ve ark. 2009; Raudonis ve ark. 2009
	<i>A. collina</i>	
Neoklorojenik asit	<i>A. millefolium</i>	Fraisse ve ark. 2007; Wojdylo ve ark. 2007
Sinnamik asit	<i>A. alexandri-regis</i>	Kundakovic ve ark. 2004

Çizelge 2.6. *Achillea* türlerindeki aminoasit türevleri

Bileşik	Bitki Türü	Kaynak
Kolin	<i>A. millefolium</i> <i>A. collina</i>	Mehlfuhrer ve ark. 1997
Betain	<i>A. millefolium</i> <i>A. collina</i>	Mehlfuhrer ve ark. 1997
Prolin	<i>A. millefolium</i> <i>A. collina</i>	Mehlfuhrer ve ark. 1997
Stakidrin	<i>A. millefolium</i> <i>A. collina</i>	Mehlfuhrer ve ark. 1997
Betonisin	<i>A. millefolium</i> <i>A. collina</i>	Mehlfuhrer ve ark. 1997

2.1.5. *Achillea* Türleri Üzerine Yapılan Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Achillea türleri üzerinde yapılan sayısız biyolojik aktivite çalışmaları birçok araştırmacı tarafından yapılmıştır. *Achillea* türlerinin; yara iyileştirici, antienflamatuvar, antipiretik, antidepresan, hipotansif, astrenjan, antiseptik, antimikrobiyal, diüretik, ekspektoran, antispermatojenik, antidiyabetik, antitümoral ve hepatoprotektif etkilerinin yanı sıra menstruasyon bozukluklarının tedavisinde kullanılışlarının ve böcek kovucu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Karamenderes 2002).

2.1.5.1. Antioksidan Etki

Alexandru ve arkadaşları yara iyileştirici olarak kullanılan *A. millefolium*'un su ve etanol ekstrelerinin toplam fenolik miktar tayinini Folin-Ciocalteu yöntemi, toplam flavonoid miktar tayinini $AlCl_3$ yöntemi ve radikal süpürücü etkisini ise DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali kullanılarak belirlemişlerdir. Etanol ekstresinin su ekstresinden daha aktif olduğu bulunmuştur (DPPH radikal süpürücü etki tayininde inhibisyon değeri $\%70.36 \pm 0.49$). Ayrıca, *A. millefolium*'un etanol ekstresinin DPPH radikal süpürücü etkisi ile toplam fenolik madde miktarı arasında bir korelasyon gözlemlendiği vurgulanmıştır (Alexandru ve ark. 2007). Başka bir çalışmada *A. millefolium* tohumlarının n-hekzan, diklorometan ve metanol ekstrelerinin DPH serbest radikal süpürücü etkileri incelenmiş ve sadece metanol ekstresinin zayıf etki gösterdiği belirtilmiştir (Kumarasamy ve ark. 2007).

Bir diğer çalışmada *A. millefolium*'un su ekstresinin antioksidan kapasitesi farklı yöntemlerle incelenmiş, radikal süpürücü etkiye süperoksit, hidroksil ve DPPH radikallerinin inhibisyonu üzerinden ESR (Elektron Spin Rezonans) metodu ile tayin edilmiş ve aktivite, E vitamini ve kersetin standartları ile karşılaştırılmış, ayrıca çalışılan

ekstrenin toplam fenolik madde miktarı da Folin-Ciocalteu yöntemi ile tespit edilmiştir. *A. millefolium* ekstresinin orta derece antioksidan kapasite gösterdiği ve bu sonucun ekstredeki toplam fenolik madde miktarı ile doğru orantılı olduğu bildirilmiştir (Trouillas ve ark. 2003).

Nickavar ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, 6 farklı *Achillea* türünün (*A. millefolium*, *A. tenuifolia*, *A. vermicularis*, *A. micrantha*, *A. filipendula*, ve *A. wilhelmsii*) etanol ekstresinin DPPH yöntemi ile serbest radikal süpürücü etkileri ve $AlCl_3$ yöntemi ile toplam flavonoid miktarları karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. *A. millefolium* ve *A. micrantha* türlerinin kaydadeğer radikal süpürücü etkiye sahip olduğu görülmüştür. İncelenen türler arasında en düşük aktiviteyi *A. wilhelmsii* göstermiştir. Toplam flavonoid miktarı bakımından ise *A. vermicularis* ve *A. wilhelmsii* en yüksek değeri gösterirken *A. tenuifolia*'nın en düşük değerde kaldığı belirtilmiştir (Nickavar ve ark. 2006).

A. millefolium'un metanol ve uçucu yağ ekstresinin antioksidan aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada, uçucu yağın DPPH radikalini kuvvetlice indirgediği ve Fe^{3+} -EDTA- H_2O_2 deoksiriboz sisteminde hidroksil radikal süpürücü etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca uçucu yağ ekstresi sıçan karaciğer homojenatında enzimatik olmayan lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği belirlenmiştir. Buna ek olarak, metanol ekstresinin suda çözünen fraksiyonunun da antioksidan etki gösterdiği ifade edilmiştir. Uçucu yağın antioksidan aktivite göstermesinin içerdiği bileşenlerin sinerjik etkisinden kaynaklanabileceği rapor edilmiştir (Candan ve ark. 2003).

Giorgi ve arkadaşlarının çalışmasında *A. collina*'nın kapitulum ve yapraklarından elde edilen infüzyonun antioksidan kapasitesi ve oksidatif strese karşı hücre koruyucu aktivitesi araştırılmış ve DPPH radikali yoluyla serbest radikal süpürücü etki, PC-12 hücrelerinde lipid peroksidasyon (LPO) ve hücre koruyucu aktivite tayin edilmiştir. En yüksek antioksidan ve hücre koruyucu etkinin yaprak infüzyonunda olduğu ve antioksidan kapasitenin toplam fenolik madde miktarı ile bir korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Giorgi ve ark. 2009). Yapılan bir diğer çalışmada ise *A. collina* ve *A. pannonica*'nın uçucu yağının DPPH radikal süpürücü ve lipid peroksidasyon etkileri incelenmiştir. *A. pannonica* uçucu yağı kuvvetli radikal süpürücü

etki gösterirken, *A. collina* uçucu yağı LPO deneyinde daha kuvvetli antioksidan etki göstermiştir (Bozin ve ark. 2008).

Al-Ismail ve arkadaşlarının yürüttüğü bir çalışmada *A. santolina*'nın etanol ekstresinin toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemiyle, indirgenme gücü de Oyaizu yöntemiyle ve serbest radikal süpürücü etkisi DPPH radikali üzerinden incelenmiştir. Toplam fenolik madde miktarı, indirgenme gücü ve DPPH radikal süpürücü aktivite arasında anlamlı bir korelasyon gözlenmiştir. Ekstrenin 2.00 µg/g derişimde çok yüksek antioksidan aktivite ve güçlü bir indirgenme gücü gösterdiği belirtilmiştir (Al-Ismail ve ark. 2007). *A. santolina*'nın su-etanol ekstresinin radikal süpürücü aktivitesinin incelendiği bir başka çalışmada, ekstrenin linoleik asit emülsiyon sisteminde, DPPH ve süperoksit radikallerini süpürücü etkiyle birlikte konsantrasyona bağlı olarak önemli inhibitör aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca hem $Fe^{2+} + H_2O_2 + EDTA$ ve $Fe^{2+} + H_2O_2$ hidroksil radikallerini süpürmesi bakımından ekstrenin kuvvetli radikal süpürücü etkiye sahip olduğu ve deoksiriboz degradasyon modelinde demir iyonları ile şelat oluşturabilme kapasitesine sahip olduğu vurgulanmıştır. Ekstrenin indirgenme gücü ile doğrusal bir korelasyon gösterdiği ve sıçan karaciğerinde doza bağlı olarak Fe^{2+} /askorbat ile indüklenmiş LPO'da tiyobarbitürik asit reaktif maddelerinin oluşumunu önlediği bildirilmiştir. Ayrıca serbest radikal ile indüklenmiş protein oksidasyonunun, ekstrenin eklenmesiyle anlamlı bir şekilde baskılandığı görülmüştür. Tüm bunlardan yola çıkarak *A. santolina*'nın antioksidan etki gösterdiği ve bu etkinin fenolik yapıdaki bileşiklerden dolayı olabileceği ifade edilmiştir (Ardestani ve Yazdanparast 2007).

Halk arasında diyabet tedavisinde kullanılan *A. fragrantissima*'nın sürgünlerinin sulu metanol ekstrelerinin radikal süpürücü etkileri DPPH ve ABTS (2,2-azino-bi-3-etilbenzotiyazolin-6 sülfonik asit) radikalleri üzerinden incelenmiştir. Her iki yöntemde de sulu metanol ekstrelerin düşük antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Antioksidan aktivite ile toplam fenolik madde miktarı arasında anlamlı bir korelasyon olduğu vurgulanmıştır (Al-Mustafa ve Al-Thunibat 2008).

Conforti ve arkadaşlarının yürüttüğü, *A. ligustica*'nın çiçekli kısımlarının metanol ekstresinin ve fraksiyonlarının karşılaştırmalı olarak radikal süpürücü aktivitesinin incelendiği bir çalışmada, DPPH radikaliye karşı metanol ekstresinin

kuvvetli süpürücü etki gösterdiği ve bu aktivitenin fenolik fraksiyondan kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Lipozomun lipit peroksidasyonunda fenolik fraksiyonun, total metanol ekstresine göre daha yüksek antioksidan etki gösterdiği belirtilmiştir (Conforti ve ark. 2005). Yapılan diğer bir çalışmada da, *A. ligustica*'nın çiçeklerinden ve vejetatif kısımlarından elde edilen uçucu yağın, antioksidan etkisi DPPH ile ABTS radikal süpürücü ve β -karoten yöntemi kullanılarak incelenmiş ve anlamlı antioksidan aktivite gösterdiği kaydedilmiştir (Maggi ve ark. 2009).

A. alexandri-regis'in etil asetat ve butanol ekstralarının antioksidan potansiyeli hidroksil ve süperoksit radikallerinin miktarları ölçülerek çalışılmıştır. Çalışılan tüm biyolojik sistemlerde (karaciğer homojenatı, hemolize kan, serum ve postmitokondriyal karaciğer fraksiyonu) etil asetat ekstresi, hidroksil radikali süpürücü aktivite gösterirken, butanol ekstresi yalnızca postmitokondriyal karaciğer fraksiyonunda aktif bulunmuştur. Her iki ekstreninde yalnızca hemolize kanda süperoksit radikal süpürücü etki gösterdiği kaydedilmiştir (Kundakovic ve ark. 2005).

A. biebersteinii'nin metanol ekstresi ve uçucu yağının *in vitro* koşullarda DPPH radikale karşı ve β -karoten-linoleik asit yöntemleri ile antioksidan kapasiteleri araştırılmış ve her iki yöntemde de ekstrenin uçucu yağdan daha yüksek antioksidan özellik gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca ekstrenin toplam fenolik madde miktarı, Folin-Ciocalteu yöntemiyle değerlendirilmiş ve antioksidan aktiviteyle fenolik madde miktarı arasında anlamlı bir ilişki görüldüğü bildirilmiştir (Bariş ve ark. 2006).

Geleneksel Türk tıbbında kullanılan 15 *Achillea* türünün (*A. clypeolata*, *A. schischkinii*, *A. teretifolia*, *A. coarctata*, *A. phrygia*, *A. crithmifolia*, *A. nobilis* subsp. *neilreichii*, *A. millefolium* subsp. *pannonica*, *A. biebersteinii*, *A. kotschy*, *A. nobilis* subsp. *spylea*, *A. setacea*, *A. falcata*, *A. grandifolia* ve *A. multifida*) infüzyonlarının insan eritrosit ve lökositlerinde H₂O₂ ile indüklenmiş oksidatif hasara karşı protektif etkileri araştırılmıştır. Katalaz (KAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) aktiviteleri, infüzyonun eritrosit ve lökositler üzerindeki LPO ve glutatyon (GSH) seviyelerinin etkileri belirlenmiştir. Sonuçlar tüm *Achillea* infüzyonlarının, eritrosit ve lökositlerin antioksidan enzim sistemleri üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. *A. falcata*'nın eritrositlerin KAT, GPx ve SOD enzim sistemleri üzerinde en aktif tür olduğu vurgulanmıştır. Bitki infüzyonları içerisinde lökosit enzim

sistemlerinde *A. crithmifolia* ve *A. nobilis* subsp. *neilreichii*, KAT üzerinde en yüksek aktiviteyi, *A. millefolium* subsp. *pannonica* SOD, *A. teretifolia* GPx ve *A. nobilis* subsp. *sipylea* LPO üzerinde en yüksek aktiviteyi göstermiştir (Konyalioglu ve Karamenderes 2005). Aynı grubun bir başka çalışmasında, aynı türlerin infüzyonlarının toplam antioksidan kapasitesi, OH radikal süpürücü etki ve H₂O₂ indirgeme gücü yöntemleri ile araştırılmıştır. Tüm infüzyonların antioksidan etkiye sahip olduğu belirtilirken, *A. millefolium* subsp. *pannonica*'nın α -tokoferolden daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirtilmiştir. *A. millefolium* subsp. *pannonica*'dan sonra en aktif bitkilerin *A. grandifolia*, *A. biebersteinii*, *A. schisckinii*, *A. nobilis* subsp. *neilreichii* olduğu rapor edilmiştir. Tüm sonuçların toplam flavonoid ve toplam fenol miktarları ile orantılı oldukları kaydedilmiştir (Konyalioglu ve Karamenderes 2004).

Tatlı ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, *A. wilhelmsii*'nin toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol ekstresinin DPPH, H₂O₂ ve O₂ radikallerini süpürücü etkinlikleri incelenmiş ve Cu²⁺ ile indüklenmiş *in vitro* LDL oksidasyonunu inhibe edici değerleri ölçülmüştür. Ekstrenin DPPH ve O₂ radikallerini süpürücü etki gösterdiği ve ayrıca Cu²⁺ ile indüklenmiş LDL oksidasyonunu inhibe ettiği kaydedilirken, H₂O₂ radikalini süpürücü aktivite göstermediği bildirilmiştir (Tatlı ve ark. 2009).

Beyşehir'den toplanan endemik *A. teretifolia* ile *A. nobilis* subsp. *neilreichii*'nin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın DPPH radikal süpürücü etki gösterdiği bildirilmiştir (Demirci ve ark. 2009).

2.1.5.2. Sitotoksik Etki

Aralarında *A. biebersteinii* ve *A. santolina*'nın da bulunduğu 67 tıbbi bitkinin etanol, kloroform ve sulu ekstrelerinin, hücre kültüründe antiproliferatif aktivitesi incelenmiştir. MCF7 meme adenokarsinom hücreleri üzerindeki sitotoksitesi Sülförodamin B (SRB) yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Bitkilerin yaprak ve çiçeklerinden elde edilen 50 µg/ml ekstreye 72 saat boyunca maruz bırakılan MCF7 hücrelerinin hayatta kalma yüzdeleri hesaplanmıştır. Bu değerler *A. biebersteinii* için % 81.64 ± 3.3 ve *A. santolina* için % 46.54 ± 4.00 olarak bulunmuştur. Özellikle *A. santolina*'nın etanol ekstresinin kuvvetli antiproliferatif aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Abu-Dahab ve Afifi 2007).

Asteraceae bitkilerinden seçilmiş olan 25 türün sulu ve organik ekstraktlarının MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromid] yöntemi ile HeLa insan servikal karsinoma hücreleri, A431 insan deri epidermoid karsinoma hücreleri ve MCF7 hücreleri üzerindeki antiproliferatif aktiviteleri araştırılmıştır. *A. collina*'nın toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstrenin de araştırıldığı çalışmada, hücre gruplarına 10 µg/mL oranında ekstre uygulanmış ve *A. collina*'nın yüksek ölçüde sitostatik ve sitotoksik aktivite gösterdiği kaydedilmiştir (Réthy ve ark. 2007).

Aralarında *A. millefolium*'un da bulunduğu bitki çayı olarak kullanılan 16 bitkinin sulu ekstraktları antiproliferatif özellikleri bakımından araştırılmıştır. Sitotoksik etki B16 fare melanoma hücrelerinde incelenmiş ve *A. millefolium* ekstresinin anlamlı antiproliferatif etki gösterdiği bildirilmiştir (Trouillas ve ark. 2003).

A. ageratum'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan hekzan ekstresinin Hep-2 insan larenks epidermoid karsinoma hücreleri ve McCoy hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi, Geran ve ark. tarafından tanımlanan metoda göre, Minimum Eagle's Medium (MEM) besiyerinde kültüre alınan hücrelerin tek katmanlı tabaka gelişiminin inhibisyonunun ölçülmesi yöntemiyle belirlenmiştir. Her iki hücre kültüründe de pozitif kontrol olan 6-merkaptopürin ile karşılaştırıldığında yüksek derecede büyüme inhibisyonu gözlenmiştir. Hekzan ekstresinden izole edilen α -amirinin hücreler üzerinde yüksek derecede büyüme inhibisyonu gösterdiği bildirilmiştir (Gomez ve ark. 2001).

A. millefolium'dan izole edilen flavonoid ve seskiterpenlerin insan tümör hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, bitkinin toprak üstü kısımlarından elde edilen *n*-hekzan, kloroform, su-metanol ve sulu ekstraktlarının HeLa, MCF7 ve A431 hücreleri üzerindeki aktiviteleri *in vitro* MTT yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Kloroform ekstresi, HeLa ve MCF7 hücreleri üzerinde en yüksek antiproliferatif aktivite gösterirken, A431 hücreleri üzerinde orta dereceli etki göstermiştir. Bitkinin toprak üstü kısımlarından izole edilen flavonoid ve seskiterpen bileşiklerinin arasında en etkili bileşenin bir flavonoid olan sentaureidin olduğu saptanmıştır. Sentaureidin özellikle HeLa ve MCF7 hücrelerinde, hücre büyümesini önemli derecede inhibe ettiği gözlenmiştir. Kastisin ve paulitin 3 hücre grubuna karşı oldukça etkili bulunduğu bildirilmiştir. Apigenin, luteolin ve izopaulitin ise 3 hücre grubu üzerinde orta dereceli aktivite gösterdiği bulunmuştur. Artemetin, psilostakin C,

desasetilmatrikarin ve sinteninin ise 3 hücre grubuna karşı da antiproliferatif etki göstermediği kaydedilmiştir (Csupor-Löffler ve ark. 2009). Haidara ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, *A. millefolium*'dan izole edilen bir flavonoid olan kastisinin tubulin bağlayıcı ajanlar gibi, p21'i indüklediği, Cdk1'i inhibe ettiği ve siklin A'yı baskıladığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak kastisinin G2/M büyümesini durdurmada ve apoptoziste etkin olan çok yönlü bir molekül olduğu bildirilmiştir (Haidara ve ark. 2006).

A. clavennae üzerinde yapılan sitotoksik aktivite çalışmasında toprak üstü kısımlarından guyanolit, bisabolen, flavonol, lignan ve kumarin yapısında 17 bileşik izole edilmiştir. Antiproliferatif aktivite, MTT yöntemi ile HeLa, K562 insan miyeloid lösemi hücreleri ve Fem-X insan melanoma hücrelerinde incelenmiştir. Guyanolitlerden 9 α -asetoksiartekanin ve apressin tüm hücre hatlarında anlamlı bir sitotoksik aktivite gösterirken, bisabolen yapısındaki indukumenon orta dereceli aktivite göstermiştir. En aktif bileşenin daha önceden de etkisi bilinen bir flavonol olan sentaureidin olduğu rapor edilmiştir (Trifunović ve ark. 2006).

Bazı doğal ve sentetik seskiterpenlerin sitotoksik aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, *A. falcata*'dan izole edilen sinteninin hücre kültüründe, A549 insan akciğer kanseri, MDA-MB-231 yüksek invazif meme kanseri, 1A9 ovaryum kanseri, HCT-8 ileoçekal kanseri, U87-MG gliyoblastoma, PC-3 prostat kanseri, KB nazofarenjeal kanseri ve KB-VIN P-glikoprotein çoklu ilaç dirençli nazofarenjeal kanseri ve MCF7 hücreleri üzerindeki etkisi araştırılmış ve sinteninin istatistiksel olarak anlamlı aktivite göstermediği bildirilmiştir (Bruno ve ark. 2005).

Achillea türlerinin uçucu yağları üzerinde yapılmış sitotoksik aktivite çalışmaları da mevcuttur:

Mascia Lopes ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, *A. millefolium*'un uçucu yağı, antitümoral özellikleri açısından incelenmiş ve farelerdeki peritoneal makrofajların yaşayabilirlikleri MTT yöntemi ile değerlendirilmiştir. Uçucu yağın makrofajları stimule ederek aşırı üretim olmaksızın H₂O₂ ve TNF- α üretimini sağladığı saptanmıştır. Bu etkinin azulenden kaynaklandığı belirtilmiş ve uçucu yağın makrofaj aktivasyonunu düzenlediği vurgulanmıştır (Mascia Lopes ve ark. 2005).

A. ligustica'nın çiçeklerinin ve vejetatif kısımlarından elde edilen uçucu yağın MTT yöntemi ile T98G insan gliyoblastoma hücreleri, A431 ve PC-3 insan tümör hücreleri ve B16-F1 fare melanoma hücreleri üzerinde anlamlı antiproliferatif etki gösterdiği bildirilmiştir (Maggi ve ark. 2009).

2.2. Antioksidanlar

Vücudumuzdaki ve besinlerdeki lipitler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler oksidasyona uğrayabilir ve canlı organizma için zararlı olabilecek oksidasyon ürünleri oluşturabilirler (Papas 1996). Bu durum yaygın olarak “Oksidatif Stres” şeklinde ifade edilir. Oksidatif stresin baş sorumluları reaktif oksijen ve azot türleridir (Çizelge 2.7) (Aruoma ve Cuppet 1997).

Çizelge 2.7.Reaktif Oksijen ve Azot Türleri

Reaktif Oksijen Türleri		Reaktif Azot Türleri	
Radikaller	Radikal Olmayanlar	Radikaller	Radikal Olmayanlar
Süperoksit ($O_2^{\bullet -}$)	Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	Azot Oksit ($NO^{\bullet}$)	Nitröz Asit (HNO_2)
Hidroksi ($HO^{\bullet}$)	Hipokloröz Asit ($HClO$)	Azot dioksit ($NO_2^{\bullet}$)	Nitrozil Katyonu (NO^+)
Peroksi ($RO_2^{\bullet}$)	Hipobromöz Asit ($HBrO$)		Nitroksi Anyonu (NO^-)
Alkoksit ($RO^{\bullet}$)	Ozon (O_3)		Diazot tetraoksit (N_2O_4)
Hidroperoksi ($HO_2^{\bullet}$)	Singlet Oksijen ($^1\Delta_g \ ^1O_2$)		Diazot trioksit (N_2O_3)
			Peroksinitrit anyonu ($ONOO^-$)
			Peroksinitröz Asit ($ONOOH$)
			Nitronyum Katyonu (NO_2^+)
			Alkilperoksi nitrit ($ROONO$)

Reaktif oksijen ve azot türleri insan vücudunda çeşitli şekillerde meydana gelirler:

- Hücrenin normal solunumu sırasında yan ürün olarak reaktif oksijen ve azot türleri oluşur.
- Süperoksit ve hidrojen peroksit miktarı, bazı biyomoleküllerin (adrenalin, dopamin, tetrahidrofolat, sitokrom P450 ve elektron transport zincirlerinin bazı bileşikleri) oksijen tarafından doğrudan oksidasyonu ile artabilir (Fridovich 1986, Halliwell 1994).

- Vücudumuz, doğal ve insan kaynaklı radyasyona maruz kalabilir. Yüksek enerjili elektromagnetik ışın, suyu parçalayabilir ve hidroksi radikali oluşturur (Von-Sonntag 1987).

Reaktif oksijen ve azot türleri dışarıdan da organizmaya alınabilirler. Sigara dumanının ana bileşiği $\text{NO}_2^\bullet$ 'dir. $\text{NO}_2^\bullet$ 'in sigara olefinleri ile reaksiyona girmesiyle karbon merkezli radikallerin oluştuğu düşünülmektedir. Ayrıca sigara içimi nötrofilleri aktive ederek dolaylı olarak serbest radikal üretimini artırmaktadır (Papas 1996).

Yabancı organizmalara karşı koruyucu görev yapan fagositler (nötrofiller, monositler, makrofajlar, eosinofiller) yabancı organizmayı öldürmek için süperoksit ve hidrojen peroksitüretirler. Bu önemli savunma sisteminin bozukluğu, doku hasarıyla sonuçlanan aşırı fagosit aktivitesinin eşlik ettiği romatoid artirit ve iltihaplı bağırsak hastalığı gibi bazı hastalıklara sebep olur (Moncada ve ark. 1991, Babior ve Woodman 1990, Anggård 1994).

Oksidasyon, radikalik zincir reaksiyonları üzerinden yürür. Radikaller eşleşmemiş elektronlarını eşleştirme eğiliminde oldukları için özellikle gevşek bağlı elektronları koparırlar. Bu özellikleri, radikallerin kimyasal olarak aktif olmalarını sağlar ve bunların organizmadaki varlığı biyomoleküllerin modifikasyonuna sebep olur.

Reaktif oksijen ve azot türleri DNA bazlarını hasara uğratarak mutasyona sebep olur. $\text{O}_2^{\bullet-}$ (Anggård 1994, Aruoma ve ark. 1989), $\text{OH}^\bullet$ (Takeuchi ve ark. 1994, Floyd ve ark. 1986), ve ONOO^- (Floyd ve ark. 1988, Yermilov ve ark. 1995) DNA hasarının sebebi olarak bilinir. DNA hasarı kanserden sorumlu olan baş faktördür (Guyton ve Kensler 1993). Hücrede DNA tamir mekanizmaları mevcut olmasına rağmen bu mekanizmalar bazen yetersiz kalabilirler.

Antioksidanlar, oksidasyonu başlangıç ve/veya gelişme basamağında önleyen veya geciktiren maddelerdir. Canlı organizmalarda antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin bulunması yaşam için önemli bir ihtiyaçtır. Antimutajenik, antikarsinogenik, yaşlanmayı geciktirici gibi birçok etki canlılardaki antioksidan özellikteki maddelerden kaynaklanır (Cook ve Samman 1996). Antioksidan maddelerin eksikliğinde reaktif oksijen ve azot türleri kanser, diyabet, kireçlenme, parkinson, AIDS, beyin ve kalp hastalıkları gibi birçok hastalığın ortaya çıkmasına sebep olurlar (Packer ve Cadenas 2002).

Doğal kaynaklı antioksidanlar, bitkilerde bulunan fenolik bileşikler (tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler), azotlu bileşikler (alkaloitler, klorofil türevleri, proteinler, aminler), organik asitler ve karotenoitlerdir (Larson 1988, Hudson 1990). Sistein, metiyonin, histidin, triptofan ve lizin (Taylor ve Richardson 1980) gibi aminoasitler ile sülfürlerce zengin olan tiyoredoksin (Buchanan ve ark. 1994) proteini de antioksidan özellik gösterirler.

Birçok epidemiyolojik çalışma bol meyve-sebze tüketiminin kalp-damar ve kanser hastalıklarını azalttığını ortaya koymuştur (Hertog ve ark. 1993, Stampfer ve ark. 1993). Sebze ve meyvelerin bu özellikleri içerdikleri antioksidan maddelere (askorbik asit, tokoferoller, karotenoitler, flavonoidler) dayandırılmaktadır. Örneğin yeşil çay yaprakları (-)-epikateşin, (-)-epikateşin gallat, (-)-epigallokateşin ve (-)-epigallokateşin gallat içerirler (Amarowicz ve Shahidi 1996, Ho ve ark. 1997) ve antihipertansif (Henry ve Stephens-Larson 1984), antioksidatif (Ho ve ark. 1992), antiaterosklerotik (Hertog ve ark. 1993, Luo ve ark. 1997), antikarsinojenik (Luo ve ark. 1997, Wang ve ark. 1994) gibi etkilere sahiptirler. Kateşinler metal iyonlarını bağlayıcı ve oksijen radikalini tutucu antioksidanlar olarak tanınırlar (Husain ve ark. 1987; Chen ve ark. 1990).

Diğer taraftan sentetik antioksidanlar gıdaların bozunmasını önlemek ve raf ömrünü uzatmak için kullanılmaktadırlar. Günümüzde BHA (bütillenmiş hidroksi-anisol), BHT (bütillenmiş hidroksitoluen), PG (propil gallat) ve TBHQ (*t*-bütillhidrokinon) en çok kullanılan sentetik antioksidanlardır. Ancak sentetik antioksidanlar ve oluşturdıkları yan ürünlerin çeşitli hastalıklara yol açabileceğini ortaya koyan çalışmalar vardır (Yamazaki ve ark. 2007; Tepe ve ark. 2007). Bu nedenle doğal kaynaklardan, sentetik antioksidanların yerini tutabilecek yeni antioksidan maddelerin bulunmasına yönelik çalışmalar giderek önem kazanmış ve bu alanda yapılan araştırmalar artmıştır.

2.2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar, reaksiyon mekanizmalarına göre birincil ve ikincil antioksidanlar olarak ikiye ayrılırlar. Bazı antioksidanlar ise birden fazla aktivite mekanizması gösterirler ve bunlar çok fonksiyonlu antioksidanlar olarak adlandırılırlar (Reische ve ark. 2002).

2.2.1.1. Birincil Antioksidanlar

Birincil antioksidanlar (tip-1 veya zincir kırıcı antioksidanlar) otooksidasyonun başlangıç aşamasını erteleyen veya engelleyen ya da otooksidasyonun ileri aşamasını yarıda kesen serbest radikal alıcılarıdır. Bir lipit (alkil) radikali ($R^\bullet$) oluşturmak için, doymamış yağdan α -metilenik hidrojen ayrıldığında otooksidasyon başlar (Reische ve ark. 2002).



Oluşan lipit radikali çok reaktiftir, ilerleyen aşamalarda peroksi radikali ($ROO^\bullet$) oluşturmak için oksijenle reaksiyona girer (Reische ve ark. 2002).



Reaksiyonun ilerleyen aşamalarında peroksi radikalleri lipitle reaksiyona girerek hidroperoksit ve yeni bir kararsız lipit radikali oluştururlar (Reische ve ark. 2002).



Daha sonra bu lipit radikali başka peroksi radikali oluşturmak üzere oksijen ile reaksiyona girecektir. Bu oksidatif mekanizma kendiliğinden katalizlenir ve böylece otooksidasyon devam eder (Reische ve ark. 2002).



Hidroperoksitler ($ROOH$) kararsızdırlar ve bozunarak radikaller oluştururlar. Bu da reaksiyonun hızlanmasına neden olur (Reische ve ark. 2002).



Birincil antioksidanlar (AH) lipit radikali ($R^\bullet$) ve peroksi radikalleriyle ($ROO^\bullet$) reaksiyona girerler ve onları daha kararlı, radikal olmayan ürünlere çevirirler. Birincil antioksidanlar lipit radikallerine hidrojen atomları verirler ve lipit türevleri ile antioksidan radikaller meydana getirirler ($A^\bullet$). Hidrojen verici olarak birincil antioksidanlar peroksi radikallerine lipitlerden daha çok ilgi gösterirler. Bu yüzden otooksidasyon reaksiyonunda oluşan peroksi ($ROO^\bullet$) ve oksil ($RO^\bullet$) serbest radikalleri

birincil antioksidanlar tarafından giderilirler. Antioksidanlar lipid radikalleriyle doğrudan da etkileşebilirler (Reische ve ark. 2002).



Hidrojenin verilmesiyle oluşan antioksidan radikali lipidlerle çok az reaksiyona girer. Oksijen veya lipidlerle antioksidan radikalinin reaksiyonu çok yavaş olduğundan reaksiyon hızı azalır. Kararlı rezonans hibritler oluşturmak için fenol halkasının çevresindeki ortaklanmamış elektronun delokalizasyonu ile antioksidan radikali kararlı hale getirilir. Antioksidan radikaller peroksi, oksi ve diğer antioksidan radikaller ile sonlandırma reaksiyonlarına katılabilme yeteneğine sahiptirler (Reische ve ark. 2002).



Katı ve sıvı yağlarda antioksidan dimerlerin oluşumu göze çarpar ve bu oluşum fenolik antioksidan radikallerin kolayca sonlandırma reaksiyonlarına uğradığını gösterir. Antioksidan dimerler, radikal olmayan şekillerinde ne kadar uzun süre kalırlarsa otokatalitik serbest radikal zincir mekanizmasını o kadar etkili şekilde durdururlar (Reische ve ark. 2002).

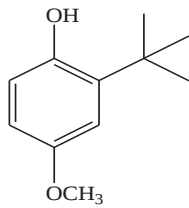
Otooksidasyonun başlangıcından önce, antioksidanların tüketildiği ve serbest radikallerin olduğu indüksiyon zamanı olmalıdır. Bu yüzden birincil antioksidanlar, otooksidasyon basamakları meydana gelmeden oksidasyonun indüksiyon ve başlangıç aşamalarında ilave edilirlse daha etkili olurlar (Reische ve ark. 2002).

Radikal gidermeye ilaveten birincil antioksidanlar, hidroperoksitleri hidroksi bileşiklerine indirgeyebilirler. Bununla beraber birincil antioksidanların esas antioksidatif mekanizması radikal gidermedir (Reische ve ark. 2002).

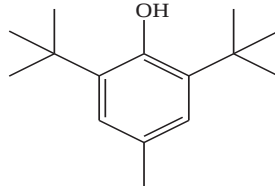
Birincil antioksidanlar, çeşitli halka sübstitüsyonlarına sahip mono veya polihidroksi fenollerdir. Fenoldeki hidroksil grubuna göre orto ve para konumuna

elektron veren grupların sübstitüsyonundan oluşan indüktif etki bileşiğin antioksidan aktivitesini artırır. Fenolik antioksidanlar, hidroksil grubunun elektron yoğunluğunu arttırarak onun reaktifliğini azaltır. Hidroksil grubuna göre para konumunda etil veya bütıl grupların sübstitüsyonu, antioksidan aktiviteyi arttırır. Bununla beraber sterik engelleme nedeniyle para pozisyonlardaki uzun zincir veya dallanmış alkil gruplarının varlığı antioksidan etkiyi azaltabilir. Orto pozisyonlardaki dallanmış alkil gruplarının sübstitüsyonları kararlı rezonans yapılar oluşturarak fenolik antioksidanın etkisini arttırırlar ve antioksidan radikalının reaksiyonlara katılma yeteneğini azaltırlar (Reische ve ark. 2002).

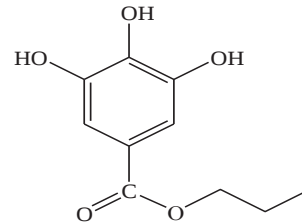
Sentetik birincil antioksidanlara örnek olarak bütillenmiş hidroksianisol, bütillenmiş hidroksitoluen, propil gallat ve *t*-bütıl hidrokinon verilebilir (Şekil 2-1). Tokoferoller ve karotenoitler doğal kaynaklı birincil antioksidanlardır (Reische ve ark. 2002).



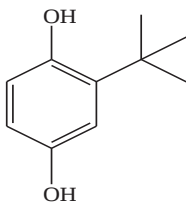
Bütillenmiş hidroksianisol



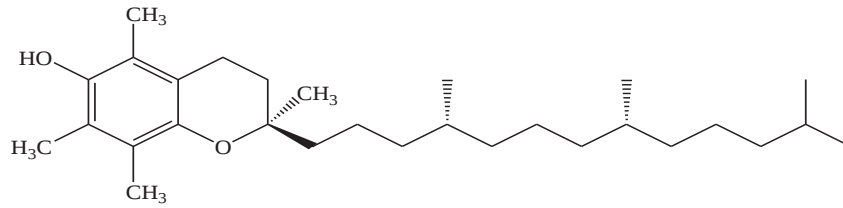
Bütillenmiş hidroksitoluen



Propil gallat



t-Bütıl hidrokinon



α-Tokoferol (Vitamin E)

Şekil 2.1. Birincil Antioksidanlar

2.2.1.2. İkincil Antioksidanlar

İkincil (tip-2 veya koruyucu antioksidanlar) antioksidanlar çok çeşitli reaksiyon mekanizmalarına sahiptirler. Bu antioksidanlar oksidasyon hızını yavaşlatırlar, fakat serbest radikalleri daha kararlı ürünlere dönüştürmezler. İkincil antioksidanlar prooksidan metallerle kelat yapabilirler ve onları deaktive edebilirler, hidroksiperoksitlerin radikal olmayan türlere parçalanmasını sağlayabilirler, singlet

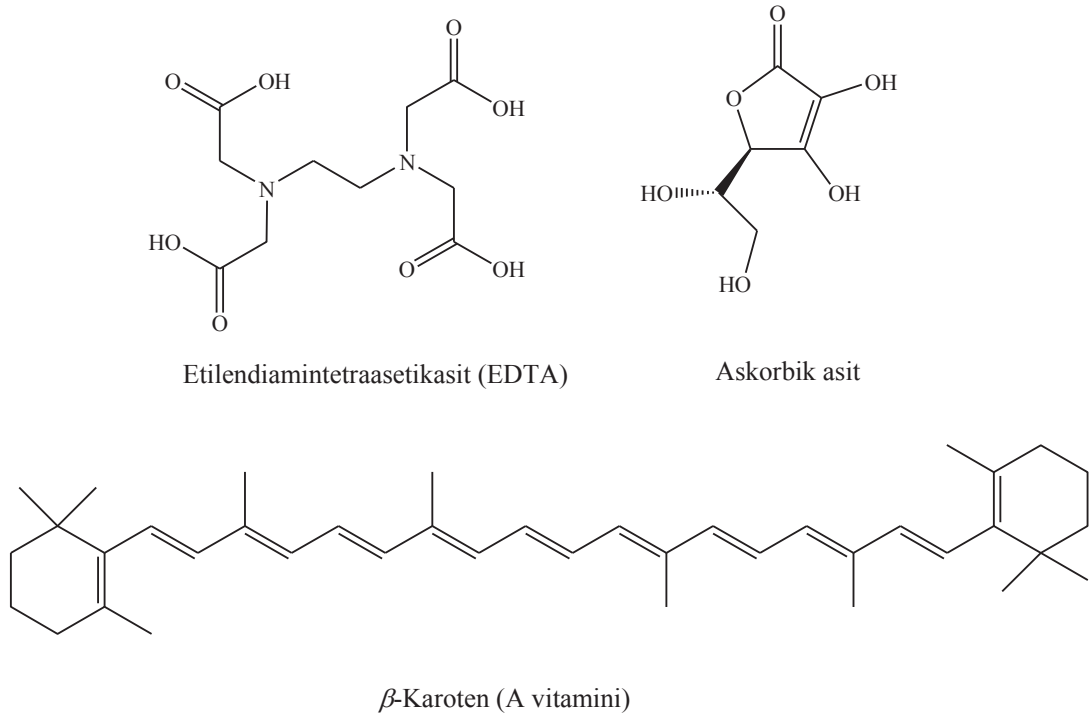
oksijeni deaktifte edebilirler, ultraviyole radyasyonu absorbe edebilirler veya oksijen giderici olarak davranabilirler. Bu antioksidanlar, genellikle birincil antioksidanların aktivitesini arttırlar. Sitrik asit, askorbik asit, askorbil palmitat, lesitin, tartarik asit, EDTA ve β -karoten ikincil antioksidanlara örnek olarak verilebilir (Şekil 2-2) (Reische ve ark. 2002).

İkincil antioksidanlar en önemli etki mekanizmalarına göre başlıca üç gruba ayrılabilirler (Reische ve ark. 2002) :

- **Kelat Yapıcılar:** Sitrik asit, fosforik asit, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), tartarik asit

- **Oksijen Gidericiler ve İndirgeme Ajanları:** Askorbik asit, askorbil palmitat, eritorbik asit, sodyum eritorbat, sülfidler.

- **Singlet Oksijen Gidericiler:** Karotenoitler (β -Karoten, likopen ve lutein)



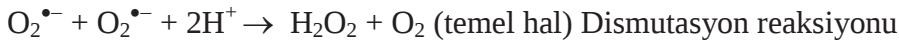
Şekil 2.2. İkincil Antioksidanlar

Antioksidanlar, enzimler (Katalaz, Glutasyon peroksidaz, Süperoksit Dismutaz (SOD), doğal kaynaklı ve sentetik antioksidanlar olarak da sınıflandırılabilirler (Halliwell ve Gutteridge 1989).

Katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri hidrojen peroksidin uzaklaştırılmasında görev alırlar.



SOD, dismutasyon reaksiyonunu katalizler ve süperoksidin uzaklaştırılmasını sağlar;



2.2.2. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Antioksidan aktivitenin tayin edilmesi amacıyla kullanılan yöntemlerden bazıları şunlardır:

- CUPRAC (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) yöntemi (Apak ve ark. 2004).
- FRAP (Demir (III) iyonu indirgeme antioksidan gücü) yöntemi (Benzie ve Strain 1996).
- Folin Ciocalteu yöntemi (Singleton ve ark. 1999).
- TRAP (Toplam radikal tutma parametresi) yöntemi (Wayner ve ark. 1985).
- Luminol yöntemi (Whitehead ve ark.1992).
- DCFH-DA (Diklorofloresin-diasetat) yöntemi (Valkonen ve Kuusi 1997).
- Fikoeritrin (PE) esaslı yöntemler (Ghiselli ve ark. 1995).
- Krosin yöntemi (Tubaro ve ark.1998).
- DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi (Blois 1958).
- ORAC (Oksijen radikal absorbans kapasitesi) yöntemi (Prior ve Cao 1999).
- TOSC (Toplam oksiradikal süpürme kapasitesi) yöntemi (Winston ve ark.1998).
- Siklik voltametri yöntemi (Kohen ve ark. 1999).

- β -Karoten renk açılım yöntemi (Miller 1971).
- Süperoksit anyon radikali giderim aktivitesi yöntemi (Liu ve ark. 1997).
- ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi (Re ve ark. 1999).
- Metal bağlama yöntemi (Dinis ve ark. 1994).

2.3. Alzheimer Hastalığı

Alman psikiyatrist Aloist Alzheimer tarafından 1906 yılında tanımlanmış olan Alzheimer hastalığı (AH), yaşlılardaki primer dejeneratif demansın en sık görülen formudur. Demans, bilinci açık bir insanın günlük yaşamını etkileyecek derecede zihinsel ve sosyal uyum yeteneğinin azalması durumudur (Karaman 2002). Alzheimer hastalığında en erken semptom, genellikle hafıza kaybının progresyonudur. Başlangıçta bu hafıza kaybını yaşlılığa bağlı unutkanlıktan ayırmak güç olabilir. Ancak unutkanlığı olanlar bu durumun farkındadır ve günlük yaşam aktiviteleri minimal düzeyde etkilenir (Akalin 2003). Yeni bilgilerin hemen unutulması, yakın geçmişi hatırlayamamak, buna karşılık uzak geçmişi çok iyi hatırlamak önemli bir özelliktir. Alzheimer hastalarında konuşma bozukluğu siktir, cümle kurmakta zorlanırlar. Hastalık ilerledikçe bellek problemleri artar. Zamanla kişisel bakımlarını yapamaz hale gelirler, psikiyatrik semptomlar başlar ve hasta yatağa bağımlı kalır (Akalin 2003; Payao ve ark. 1994, Yamantürk 2000). Alzheimer hastalığı, beyindeki öğrenme ve hafıza ile alakalı bölümlerde kolinerjik nöronların kaybıyla bağlantılı olarak nörofibrillerin düğümlenmesi ve amiloitlerin oluşumu olarak tanımlanır. Kolinerjik çekirdek doku bozulması, kolinerjik sinir iletimini azaltmaktadır. Ard arda gelen doku bozulmaları artan toksisiteye bağlı olarak hafıza kaybıyla sonuçlanan geri dönüşümsüz fonksiyon bozukluklarına neden olmaktadır. Alzheimerlı hastalarda beynin neokorteks ve hipokampus gibi yüksek mental fonksiyonlarından sorumlu bölgelerinde beyin hücreleri üzerinde patolojik bir protein birikimi görülür. Bu protein birikimi β -amiloit plaklarıdır.

2.3.1. Asetilkolinesteraz (AChE) ve Butirilkolinesteraz (BChE) İnhibitörleri

Normal erişkin beyinde AChE yaygın olarak bulunurken, BChE sınırlı miktarlarda bulunmaktadır (Appleyard 1992). Asetilkolinesteraz enzimi uyarılabilen tüm

dokularda bulunurken, butirilkolinesteraz enzimi ise merkezi ve periferel sinir sistemi, karaciğer ve plazmada bulunmaktadır (Hartman 2010).

Kolinesteraz inhibitörleri Alzheimer hastalığının ilk ilaç tedavisi olarak Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (US Food and Drug Administration, FDA) tarafından kanıtlanmıştır. Alzheimer hastalarındaki tedavi edici etkileri 6 ile 36 hafta arasındaki tedavi süresince incelenmiş ve bilişsel fonksiyonlarındaki artış gözlenmiştir (Mohs ve ark. 2001; Raskind ve ark. 2004). Kolinestereazların, hastalığı engelleyici ve nörolojik olarak koruyucu etkisinden dolayı, hastalığın ilk safhalarında da nörotoksisiteyi ve fonksiyonel komplikasyonları engellemesi Alzheimer hastalığının tedavisinde umut olmuştur.

2.3.2. Kolinesteraz İnhibitörlerinin Alzheimer Hastalığındaki Mekanizması

Kolinesteraz inhibitörleri, asetilkolinesteraz enziminin neden olduğu asetilkolin sinir taşıyıcılarının yıkımını engeller. Alzheimerlı hastaların kolinerjik sinirlerinde asetilkolin miktarı azalır. Kolinerjik sinir hücrelerinin kaybı bilişsel olarak tehlike yaratmaktadır. Asetilkolin enzimi beta-amiloit denilen plakaların oluşumunu destekler, bu plakalar ise asetilkolinesteraz enziminin bozunumunu azaltır (Rees ve ark. 2003; Hu ve ark. 2003). Amiloit, çeşitli klinik bozukluklarda vücudun birçok doku ve organlarında hücreler arasında depolanan anormal bir proteindir.

Bu protein dallanmayan fibrillerden yapılmıştır ve beta kıvrımlı tabaka yapısı gösterir. β -Amiloit, 21. kromozomda kodlanan transmembran protein olan APP (Amiloit Prekürsör Protein)'nin sekretaz enzimiyle kesilmesi sonucu oluşur. APP amiloit diziliminde valin yerine izolösin, glisin yerine fenilalanin değişiminden dolayı mutasyona sebep olmakta bu da β -amiloit depolanmasında etkili olmaktadır.

Bu enzimler α -sekretaz, β -sekretaz, γ -sekretaz enzimleridir. Hastalıkta α - ve β -sekretaz enzim aktiviteleri arasındaki dengenin β -sekretaz enzim lehine gelişmesi nöronal dejenerasyona sebep olmaktadır (Simon 2001). Rees ve Birmijoin, asetilkolinesterazın β -amiloit ile direkt olarak etkileşebildiğinden bu peptit çözünen plakalar içinde kümelenme imkânı bulur, buna uygun şekilde düzenlenen kolinestereaz inhibitörleri hastalığın ilerlemesini inhibe ederek bulgusal yararlar sağladığını idda etmektedirler (Standridge 2004). Birçok veriye dayanarak, bu araştırmacıların hipotezi; asetilkolinesteraz inhibisyonunun amiloit başlatıcı proteini (APP) üreterek, sinir

hücrelerini koruyan bir sürecin başlamasını sağlamaktır (Standridge 2004). Kısacası amiloitler beyin hücreleri arasındaki haberleşmeyi önler ve beyin hücrelerinin yavaş yavaş ölmesine neden olurlar (Auld ve ark. 2002).

Alzheimer hastalarında β -amiloit üretimi sağlıklı bir birey ile aynı olmakla birlikte, β -amiloitlerin dışarı atılmasında sorun yaşanmaktadır. Normal olarak β -amiloitler hücrenin dışına çıktığı zaman erir, ancak bazen erimesi mümkün olmayan ve adına “fibril” denilen birikintiler oluştururlar. Bu fibriller birbirine yapışarak plakalar haline gelir. Her insan yaşlandıkça plaka üretir. Gerçek sorun, bu plakaların iltihaplanması ile sonuçlanan reaksiyonları tetiklemesidir. Beyin, genel olarak, enfeksiyonlarla mücadele ederken serbest radikal denilen toksik ajanlar üretir. İşte bu fibriller de benzer reaksiyonlara zemin hazırlar. Nöronun küresel gövdesi, akson denilen ince uzantılarla kaplıdır. Bunlar diğer hücrelerle bağlantı kurmaya yarar. Adına mikrotüp denilen içyapıların çevresinde oluşan uzantılar, dolaşım sistemi olarak görev yapar, besinleri taşır ve kimyasal mesajları iletir. Bu sistemi, adına tau denilen bir çeşit yapışkanlı protein bir arada tutar. Tau molekülleri, mikrotüplerin kenarlarına sıkıca yapışır. Alzheimer söz konusu olduğunda, tau molekülleri ayrılır ve kendiliğinden düğümler oluşturur. Bu durumda mikrotüpler parçalara ayrılır ve nöronlar ölür (Lanari ve ark. 2006).

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu oksidatif stres, hücre tahribatıyla sonuçlanan biyomoleküllerin oksitlenmesine neden olur (Piazzzi ve ark. 2008). Toksik β -amiloitlerin yavaş yavaş birikimi, sürekli oksidatif stres ve benzeri olaylarla birleştiğinde nöronlarda yapısal bozukluğa neden olur. Bu süreç, fonksiyonel aksaklıklara, kavramsal ve davranışsal bozukluklara ve hatta ölüme neden olabilmektedir. Beyindeki β -amiloit birikimini hızlandıran patofizyolojik durumlar Alzheimer riskini arttırmaktadır (Hartman 2010). Sonuç olarak, oksidatif stres Alzheimer hastalığının ilk adımlarından biri olup, hastalıkta patojenik bir rol oynama durumuna sahiptir (Piazzzi ve ark. 2008).

Beyinde nöronlar arasında veya bir nöron ile başka bir (tür) hücre arasında iletişimi sağlayan kimyasallara “nörotransmitter” denir. Sinir sistemi boyunca sinirsel sinyaller bu kimyasal taşıyıcılar yardımıyla iletilir. Alzheimer hastalığında rol oynayan iki ana nörotransmitter vardır.

Asetilkolin nörotransmitter: Dokulardaki bilgiyi veya başka sinirlerdeki bilgiyi taşıyan asetilkolin görevini yaptıktan sonra asetilkolinesteraz isimli enzim tarafından parçalanır. Bir sonraki bilgi aktarımı için yeniden asetilkolin üretmek gerekir. Asetilkolin, Alzheimer hastalarında yeterince üretilmemektedir. Asetilkolini parçalayan asetilkolinesteraz enziminin frenlenmesi ile Alzheimer hastalığının ilerlemeyeceği düşünülmektedir (Orhan ve ark. 2007).

Glutamat: Sinir hücrelerinde % 70 oranında bulunur. Görevi, öğrenme ve hafızadır. Alzheimer hastalarında glutamat çok aşırı şekilde salgılanır ve bu durum sinir hücrelerinin tahrip olmasına sebep olur. Glutamat salgılanması frenlenirse sinir hücrelerinin ölümünün yavaşlayacağı ve Alzheimer hastasının sağlık durumunun kötüleşmeyeceği düşünülmektedir (Orhan ve ark. 2007).

Alzheimer hastalığında kullanılan iki önemli tedavi seçeneği “kolinesteraz inhibitörler” ve “N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonistleridir”. Kolinesteraz inhibitörleri, bellek ve düşünce ile ilgili bir nörotransmitter olan asetilkolinin parçalanmasını önlemeye yardımcı olurlar (Hartman 2010). NMDA reseptör antagonistleri ise öğrenme ve bellek fonksiyonları açısından önem taşıyan bir transmitter olan glutamat’ı düzenleyici etkiye sahiptir (Hartman 2010).

2.4. Bitkisel Metabolitler

Bilinen birçok tıbbi biyolojik aktivitenin sorumlusu tabiatta bulunan doğal bitkilerdir. Şifalı bitkiler, yeni ilaçlar ve kişisel sağlık ürünlerinin ana kaynağını oluşturmaktadır (Ivanova ve ark. 2005). Tıbbi amaçlı kullanılan bitkilerin tarihçesi muhtemelen insanlık tarihi kadar eskidir. Çeşitli aktif fitobileşiklerin bu yeşil fabrikalardan ekstraksiyon ve karakterizasyonu, bazı yüksek aktivite profili ilaçların doğumuna yol açmıştır (Mandal ve ark. 2007). Artan miktardaki kanıtlar, bitkilerde bulunan sekonder metabolitlerin insan sağlığı ve beslenmesi konusunda kritik bir rol oynadığını gösteriyor.

Bitkiler canlı organizmalar olduklarından, bu organizmanın yaşaması için gereken madde ve enerjiyi sağlayan kimyasal reaksiyonların tamamı metabolizmayı oluşturur. Bitkiler, genel olarak primer ve sekonder metabolitler olarak sınıflandırılan geniş bir yelpazede organik bileşikler sentezlerler. Primer metabolitler, fotosentez, solunum, büyüme ve gelişme ile ilgili temel rolleri olan bileşiklerdir. Bu bileşiklere

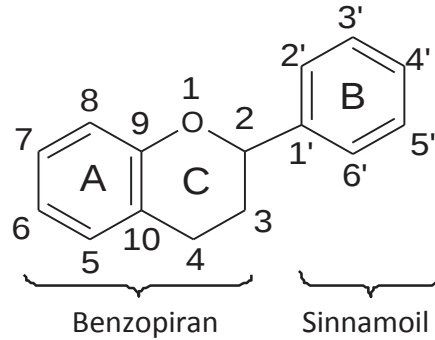
örnek olarak fitosteroller, açıl lipitler, nükleotitler, aminoasitler, karbonhidratlar ve proteinler verilebilir. Bazı bitkilerde şaşırtıcı derecede yüksek konsantrasyonlarda birikebilen diğer fitokimyasallar ise sekonder metabolitlerdir. Yapısal olarak pek çok farklılıklar gösteren sekonder metabolitler kemotaksonomik çalışmalarda tanısal olabilecek şekilde bitki dünyasında dağılım gösterirler (Croteau ve ark. 2000, Dewick 2002) Sekonder metabolitler, biyosentetik kökenleri dikkate alınırsa, fenolik bileşikler, terpenoidler, azot içeren alkalotidler ve kükürt içeren bileşikler olarak dört ana gruba ayrılırlar.

Çizelge 2.8. Fenolik bileşiklerin yapı iskeleti

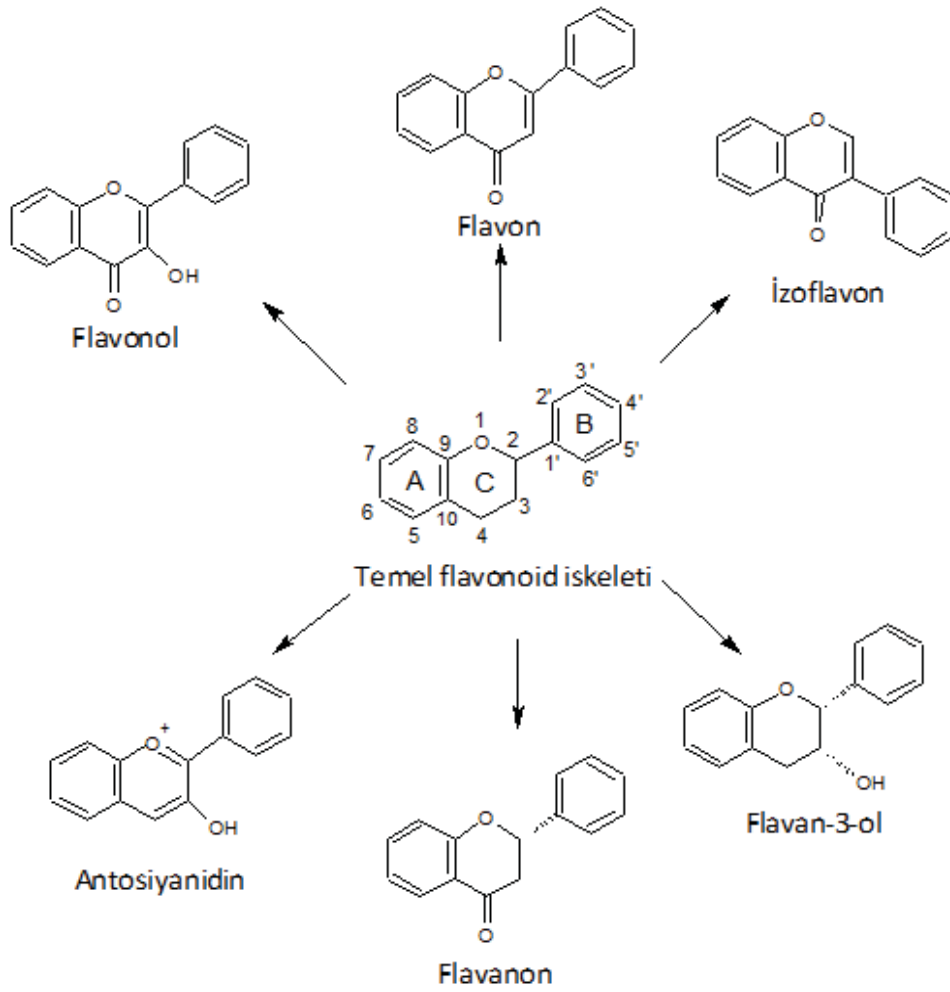
C sayısı	İskelet	Sınıflandırma	Örnek
7	C ₆ -C ₁	Fenolik asitler	Gallik asit
8	C ₆ -C ₂	Asetofenonlar	Gallasetofenon
8	C ₆ -C ₂	Fenilasetik asitler	p-hidroksifenil-asetik asit
9	C ₆ -C ₃	Hidroksisinnamik asitler	p-kumarik asit
9	C ₆ -C ₃	Kumarinler	Eskuletin
10	C ₆ -C ₄	Naftokinonlar	Juglone
13	C ₆ -C ₁ - C ₆	Ksantonlar	Mangiferin
14	C ₆ -C ₂ - C ₆	Stilbenler	Resveratrol
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoidler	Apigenin
18	(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanlar	Pinoresinol

2.4.1. Flavonoidler

Flavonoidler, üçlü karbon köprüsüyle iki aromatik halkanın birleştiği polifenolik bileşiklerdir. Bu bileşikler, bitki dünyasında bulunan fenoliklerin en kalabalık sınıfıdır (Harborne 1993). “Flavonoid” terimi genellikle 15 karbon atomu bulunan, C₆-C₃-C₆ karbon iskeletini (Şekil 2.3) içeren geniş bir doğal ürün sınıfını veya özellikle de fenilbenzopiran iskeletine sahip bileşikleri tanımlamada kullanılır.

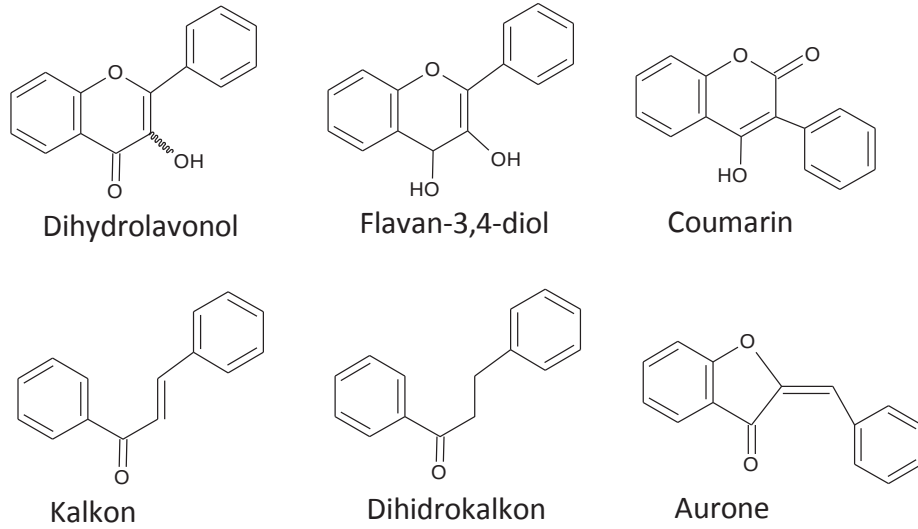


Şekil 2.3. Flavonoidlerin benzopiran (A-C) ve sinnaoil halkası



Şekil 2.4. Major flavonoidlerin genel iskelet yapıları

Flavon, flavonol, flavon-3-ol, izoflavon, flavonon ve antosiyanidin grupları (Şekil 2.4) flavonoidlerin ana alt sınıflarını oluşturur. Bunların yanı sıra, bitkilerde nispeten çok daha az bulunan dihidroflavonol, flavan-3,4-diol, kumarin, kalkon, dihidrokalkon ve auron grupları (Şekil 2.5) minör bileşenlerdir.

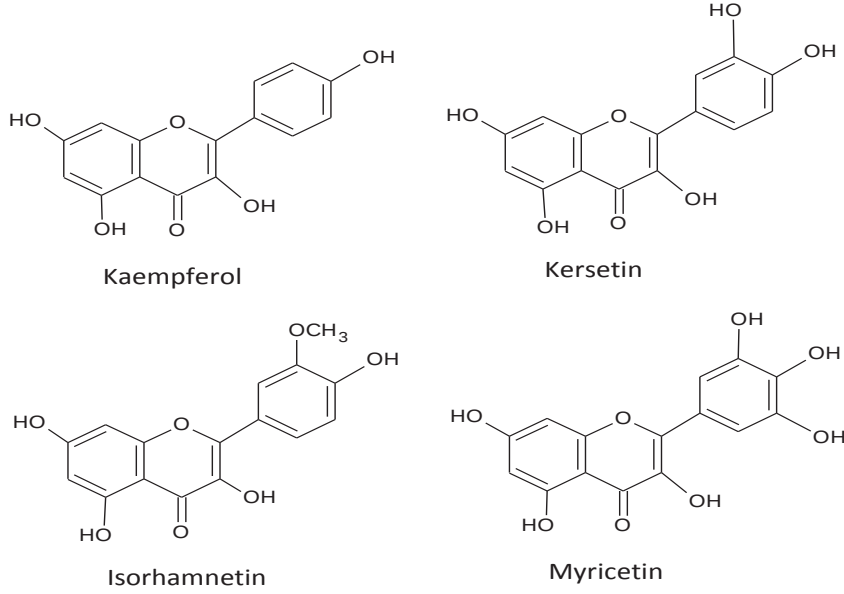


Şekil 2.5. Minör flavonoidlerin yapıları

Temel flavonoid iskeleti birçok bağlı gruba sahip olabilir. Hidroksil grupları genellikle 4', 5 ve 7 pozisyonlarına bağlanırlar. Flavonoidler, bitkilerde çoğu zaman glikozitli yapılarıyla bulunurlar. Flavonoidlere bağlı şeker ve hidroksil grupları bu bileşiklerin sudaki çözünürlüklerini artırır.

2.4.1.1. Flavonoller

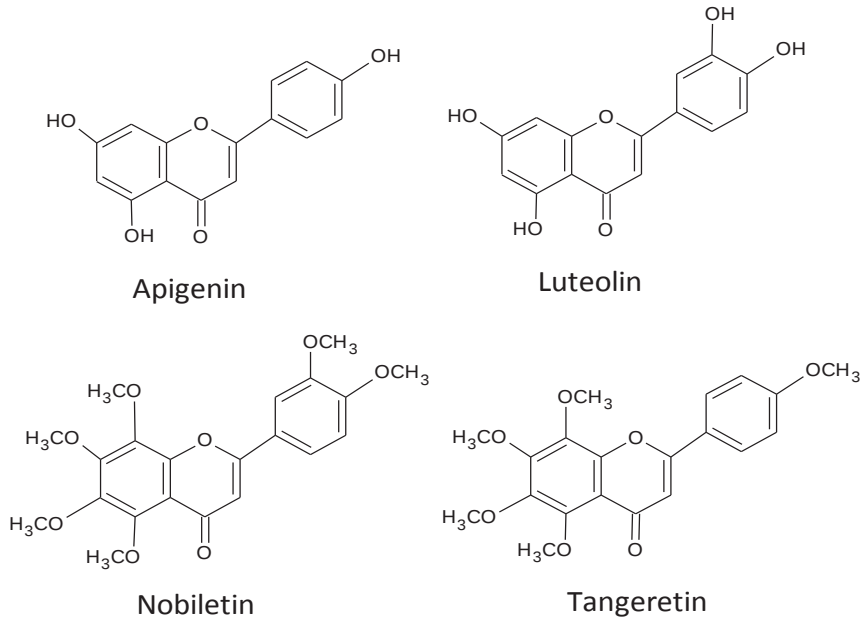
Bitki dünyasının tamamına dağılmış olan (mantarlar ve algler hariç) flavonoller, tartışmasız olarak flavonoidlerin en yaygınlarıdır. Flavonollerin yapısal varyasyonları ve dağılımı oldukça fazladır. Myricetin, kersetin, isorhamnetin ve kaempferol en sık rastlanan flavonol aglikonları olup (Şekil 2.6) genellikle O-glikozitleri şeklinde bulunurlar. Ayrıca azaleatin, fisetin, galangin, rhamnetin, gossypetin, kaempferide, morin, natsudaïdain, pachypodol ve rhamnazin gibi nadir aglikonlarda vardır. Konjugasyon sıklıkla C halkasının 3 pozisyonunda meydana gelir ancak yer değiştirmeler karbon halkasının 5, 7, 4', 3' ve 5' pozisyonlarında görülebilirler. Aglikon sayıları sınırlı olmasına rağmen, sadece kaempferolün 200'den fazla farklı şeker konjugasyonu vardır (Strack ve Wray 1992).



Şekil 2.6. Flavonol aglikonları: Kaempferol, kersetin, isorhamnetin, myricetin.

2.4.1.2. Flavonlar

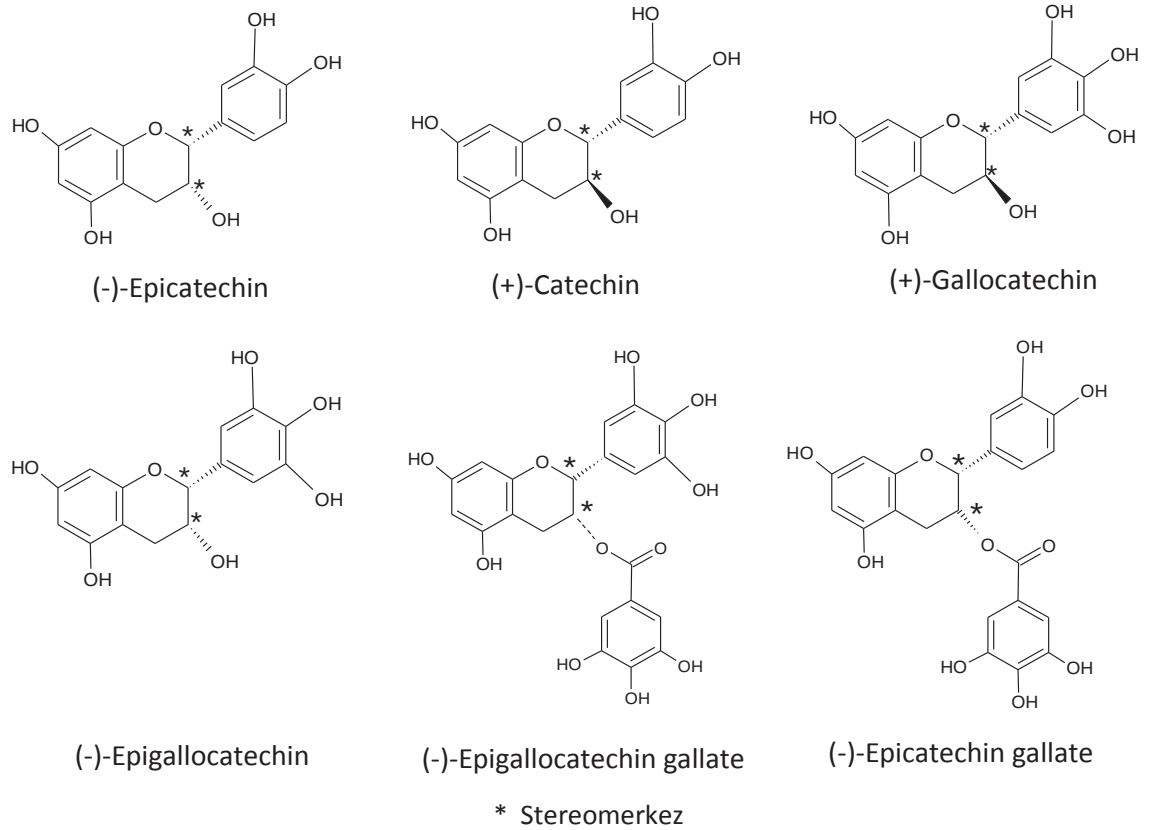
Flavon bileşikleri yapısal olarak flavonollere çok benzerler. Luteolin ve apigenin gibi flavonların A ve C halka süstitüsyonlarına sahip olmasına karşın, C3 pozisyonunda hidroksil eksikliği vardır (Şekil 2.7). Ayrıca, flavonlar hidroksilasyon, metilasyon, O- ve C- alkilasyonu ve glikozilasyon gibi birçok süstitüsyon yapabilirler. Buna ek olarak bazı türlerde nobiletin ve tangeretin gibi polimetoksillenmiş flavonlar da bulunmuştur (Gaitan ve ark. 1989).



Şekil 2.7. Apigenin ve luteolin flavonları ile polimetoksillenmiş nobiletin ve tangeretin

2.4.1.3. Flavan-3-oller

Çay, kakao ve üzüm gibi bitkilerde oldukça fazla bulunan flavan-3-ol bileşikleri antioksidan, antikarsinojen, kalp ve sinir koruyucu, antimikrobiyal ve antiviral etki gibi birçok sağlık faydalarının olduğu belirlenmiştir. (-)-Epikateşin, (+)-kateşin, (+)-gallokateşin, (-)-epigallokateşin, (-)-epigallokateşin gallat ve (-)-epikateşin gallat (Şekil 2.8) en yaygın flavan-3-ol monomer bileşikleridir. Flavan-3-oller, basit monomerler olan (+)-kateşin ve izomeri (-)-epikateşinden başlayarak oligomerik ve polimerik proantosiyanidinlere (yağunlaştırılmış tanenler olarak da bilinirler) kadar çeşitlilik gösteren flavonoidler içindeki en karmaşık alt sınıftırlar. Düzlemsel moleküller olan flavonlar, flavonoller ve antosiyanidinlerin aksine, flavan-3-oller, proantosiyanidinler ve flavanonlar heterosiklik C- halkasında doymuş C3 elementini içerdiğinden düzlemsel değildir (Clifford 1986).

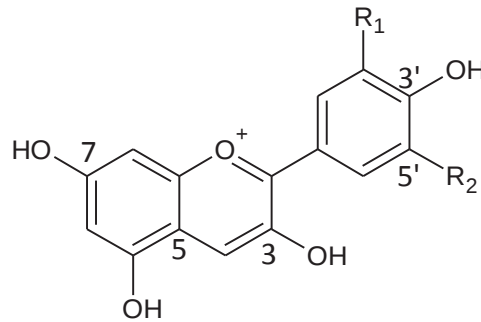


Şekil 2.8. Flavan-3-ol molekül yapılarından bazıları

2.4.1.4. Antosiyanidinler

Antosiyanidinler, temelde konjuge türevleri olan antosiyanınler gibi bitki dünyasında geniş bir dağılım gösterirler. Özellikle bitkilerin meyve ve çiçek

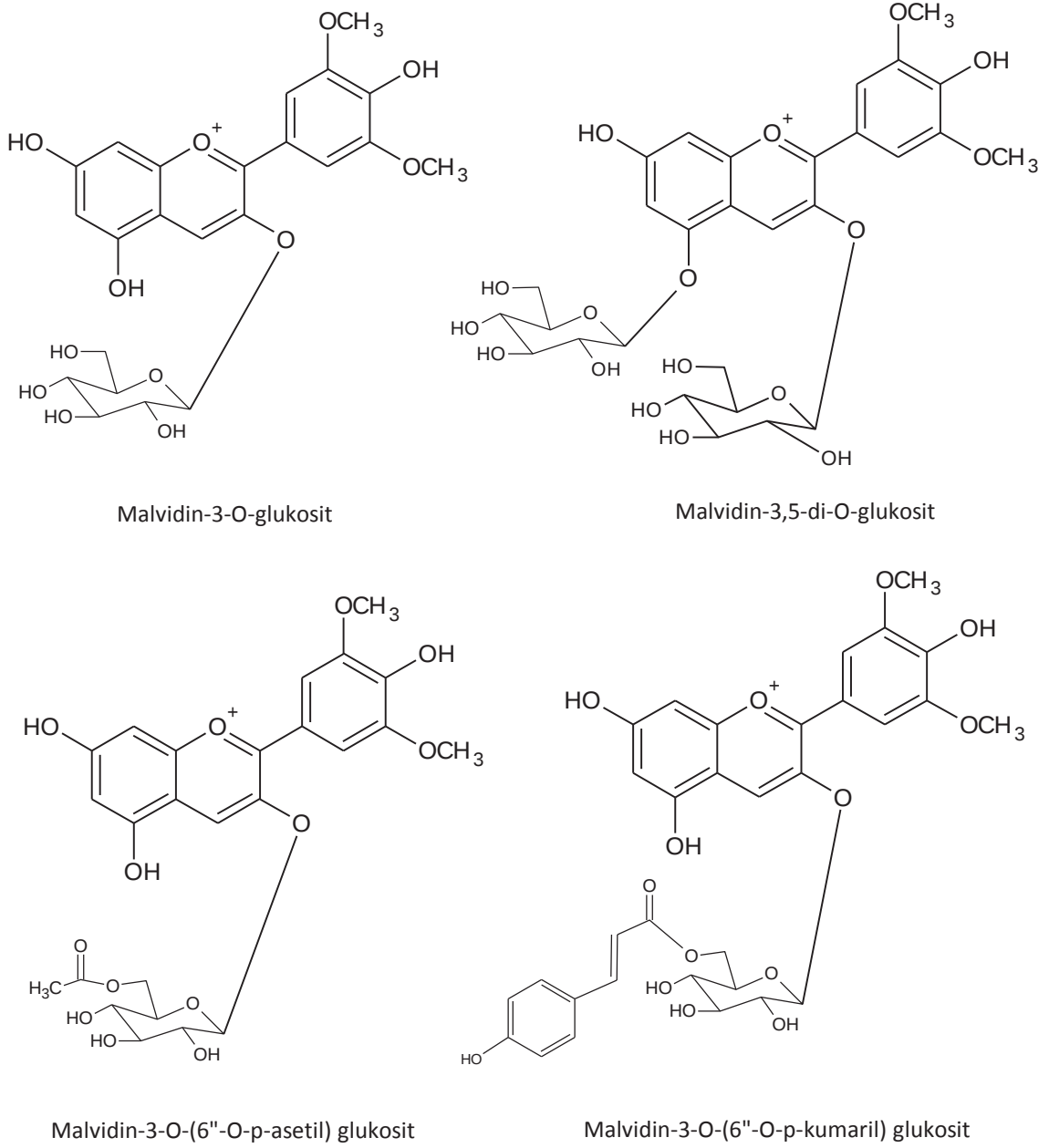
dokularında kırmızı, mavi ve mor renklerin sorumlusu olarak bulunurlar. Ayrıca, bitkilerin yaprak, kök, tohum ve köklerinde de bulunurlar. Antosiyanidinler, yaprak mezofil hücrelerini gölgeleyerek bitkileri aşırı ışıktan korudukları gibi, polenleyici böcekleri çekmek gibi önemli bir görevleri de vardır. Pelargonidin, siyanidin, delfinidin, peonidin, petunidin ve malvidin (Şekil 2.9) en yaygın antosiyanidinlerdir. Bu bileşikler bitki dokusunda antosiyanin olarak bilinen şeker konjügelere olarak bulunurlar. Antosiyaninler ayrıca, hidroksisinnamatlar ve malik asit ve asetik asit gibi organik asitlerle de konjüge yapılar oluştururlar. Konjügasyon sıklıkla C3 karbonunda (Şekil 2.10) gerçekleşir ancak 3,5,7,3' ve 5' nolu karbonlarda da gerçekleşebilir (Oliveira 2010).



Antosiyanidin	R ₁	R ₂	M.A.
Pelargonidin	H	H	271
Siyanidin	OH	H	287
Delfinidin	OH	OH	303
Peonidin	OCH ₃	H	301
Petunidin	OCH ₃	OH	317
Malvidin	OCH ₃	OCH ₃	331

Şekil 2.9. Genel antosiyanidin yapıları

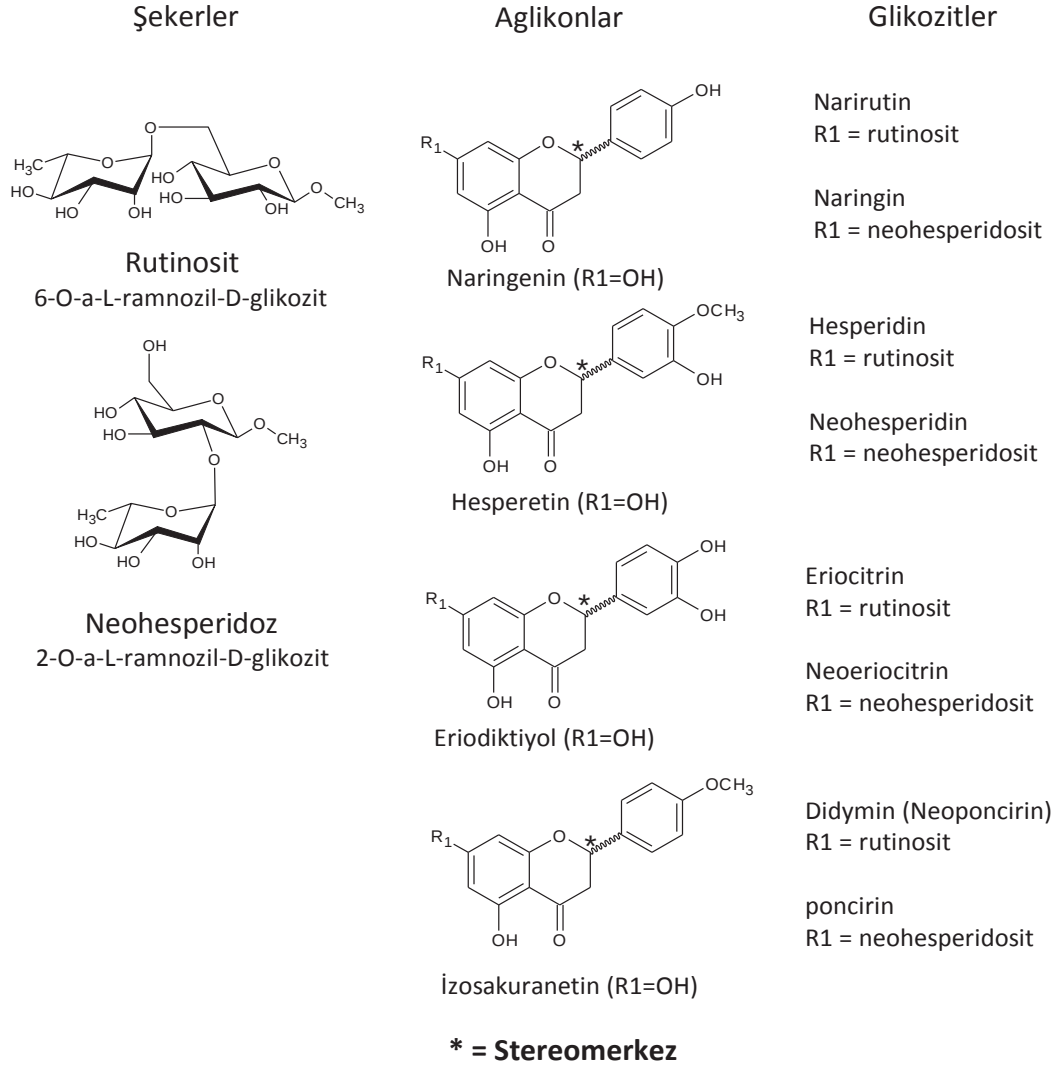
(M.A.: Molekül Ağırlığı)



Şekil 2.10. Farklı tiplerde malvidin-3-O-glikozit konjuge yapıları

2.4.1.5. Flavanonlar

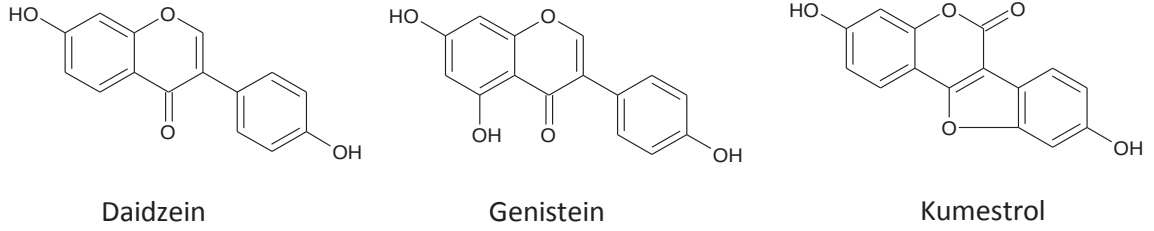
Flavanonlar, başta *Compositae*, *Leguminosae* ve *Rutaceae* olmak üzere yaklaşık 42 bitki ailesinde bulunurlar. Bitkinin türüne göre toprak altı ve toprak üstü olmak üzere bütün kısımlarda bulunabilirler. Flavanonlar arasında naringenin, hesperetin ve glikozitleri (Şekil 2.11) sıklıkla bitkilerde karşılaşılan önemli bileşiklerdir (Iwashina 2000).



Şekil 2.11. Bazı yaygın flavanon aglikonları ve glikozitleri

2.4.1.6. İzoflavonlar

İzoflavonların karakteristik özelliği B halkalarının C2 karbonundan ziyade C3 karbonuna bağlı olmasıdır. Bu flavonoidler baklagiller familyasında özellikle de soya fasülyesinde oldukça fazla bulunur. Önemli izoflavonoidlerden olan genistein, daidzein ve coumestrol (Şekil 2.12) fitoöstrojenler olarak adlandırılır çünkü otlayan hayvanların üremesini olumsuz bir şekilde etkilerler. Bu yüzden otlayan hayvanların baklagil yemlerinden uzak durması sağlanmalıdır. Ayrıca izoflavonların antitümör, anti-menapozal osteoporoz ve anti-aging gibi sayısız fizyolojik özelliklere sahip oldukları belirlenmiştir (Zhang 2012; Boucher 2013).



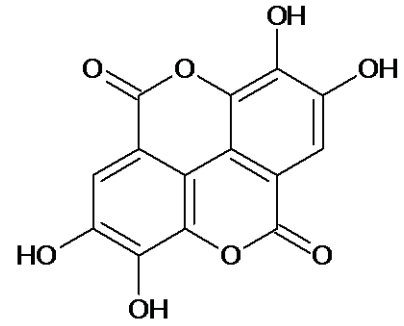
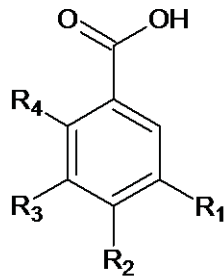
Şekil 2.12. Önemli izoflavonoidler olan daidzein, genistein ve kumestrol

2.4.2. Fenolik asitler

Fenolik asitler bitki dünyasının ana fenolik sınıflarından biri olup genel olarak hidroksibenzoik asitler ve hidroksisinnamik asitler olarak iki gruba ayrılırlar.

2.4.2.1. Hidroksibenzoik asitler

Hidroksibenzoik asitler C₆-C₁ genel iskelet yapısında sahip olup doğrudan benzoik asitten türemişlerdir. Hidroksibenzoik asit türevi olan bileşikler aromatik halkanın hidroksillenme ve metillenmesi ile farklılık gösterirler. salisilik, syringic, vanilik, gallik, p-hidroksibenzoik, protokateşik, gentisik ve ellagic asitler (Şekil 2.13) bitkilerde en çok bulunan hidroksibenzoik asitlerdir (Yang ve ark. 2001).



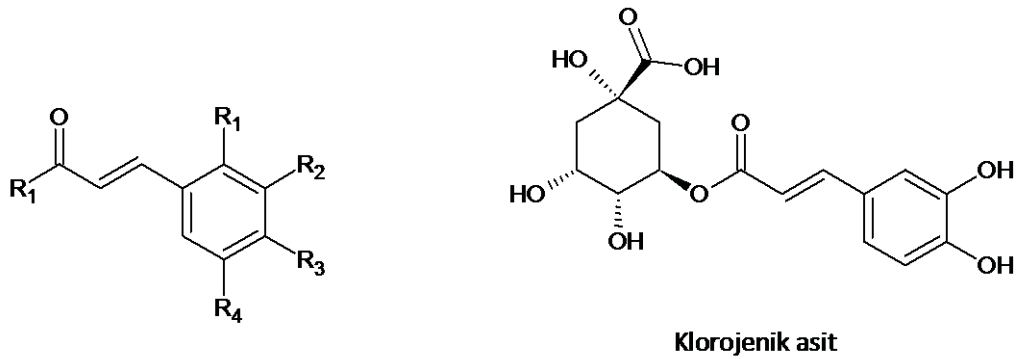
Ellagic asit

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
P-hidroksibenzoik asit	H	OH	H	H
Salisilik asit	H	H	H	OH
Protokateşik asit	OH	OH	H	H
Gentisik asit	OH	H	H	OH
Vanilik asit	OCH ₃	OH	H	H
Gallik asit	OH	OH	OH	H
Syringic asit	OCH ₃	OH	OCH ₃	H

Şekil 2.13. Doğada en çok bulunan hidroksibenzoik asitler

2.4.2.2. Hidroksisinnamik asitler

C6-C3 iskelet yapısına sahip olan hidroksisinnamik asitler bitkilerde esterler ve glikozitler gibi birçok konjüge formda bulunurlar. Sennamik asitler, fenil-propanoidler, kumarinler, lignanlar, izoflavonoidler, stilbenler, auronlar, antosiyanidinler, spermidinler ve tanenlerin üretildiği biyosentetik yolda üretilirler (Vogt 2010). Bu sekonder metabolitler, bitkilerin büyümesi, gelişimi, üremesi ve hastalıklara karşı direncinde anahtar bir fizyolojik rol oynarlar (Ververidis ve ark. 2007; Solecka 1997). Hidroksisinnamik asit türevleri arasında p-kumarik, ferulik, kafeik, sinapik ve klorojenik asitler (Şekil 2.14) doğada en yaygın olanlarıdır.

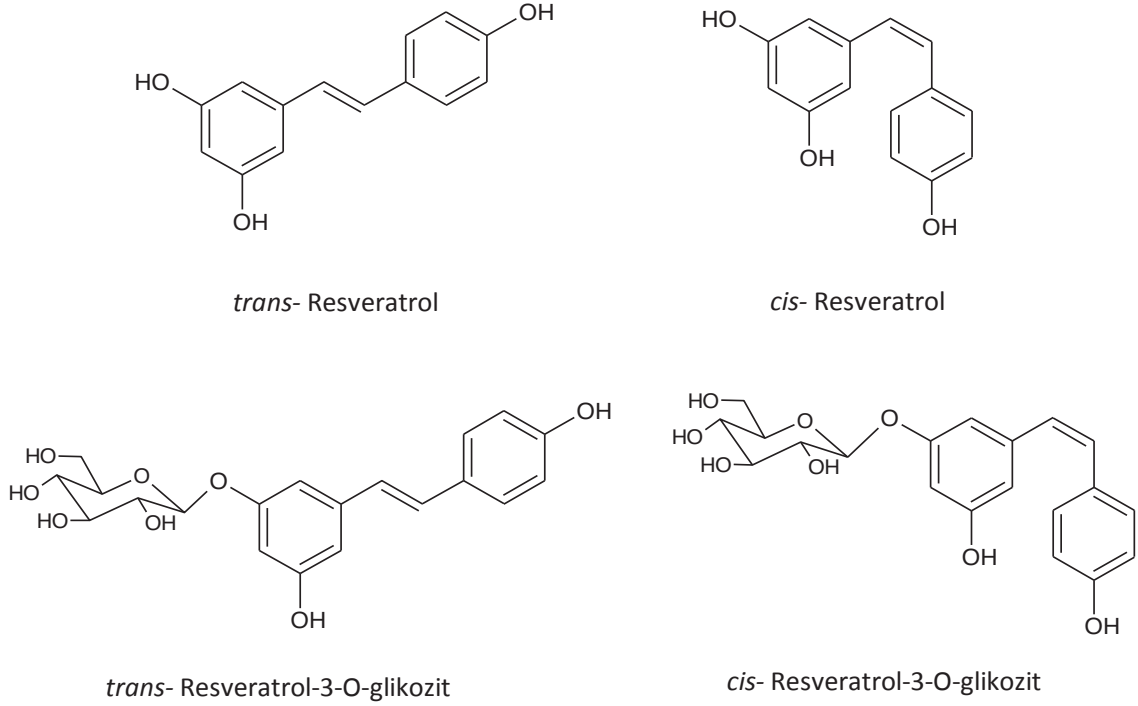


Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Sennamik asit	H	H	H	H
o-kumarik asit	OH	H	H	H
m-kumarik asit	H	OH	H	H
p-kumarik asit	H	H	OH	H
Kafeik asit	H	OH	OH	H
Ferulik asit	H	OCH ₃	OH	H
Sinapik asit	H	OCH ₃	OH	OCH ₃

Şekil 2.14. Doğada en çok bulunan hidroksisinnamik asitler

2.4.3. Stilbenler

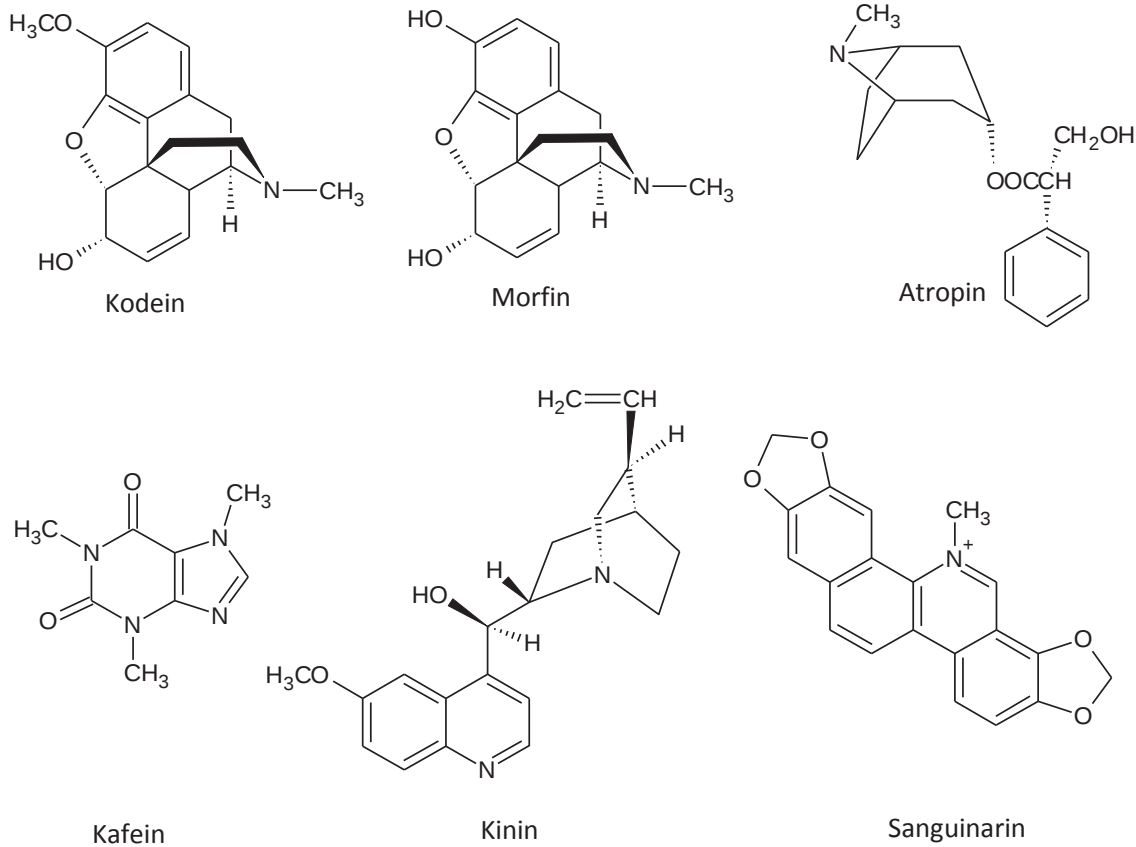
C6-C2-C6 yapısında sahip olan stilben ailesinin üyeleri de flavonoidler gibi polifenolik bileşiklerdir. Stilbenler, bitkiler tarafından mantar, bakteri ve viral patojenlerin saldırısına karşı üretilen fitoaleksindir. En önemli ve yaygın stilben reveratrol'dür. *Cis* ve *trans* izomerleri halinde bulunabilen resveratrol (Şekil 2.15), bitki dokusunda genellikle piseid ve polidatin olarak da bilinen *trans*-resveratrol-3-O-glikozit formunda bulunur (Kimura ve ark. 1985).



Şekil 2.15. Stilbenlerin yapıları: *trans*- ve *cis*- resveratrol ile glükozitleri

2.4.4. Alkaloidler

Alkaloidler, moleküllerinde sekonder, tersiyer ve kuarterner azot atomları içeren farmakolojik olarak aktif bitkisel sekonder metabolitlerdir. Bitkilerin yüzde 20'sinde bulunurlar ve otçullar ile patojenlere karşı savunmada kullanılırlar. Alkaloidlerin insanlar tarafından zehir olarak veya ilaç olarak kullanımı 3000 yıl öncesine kadar dayanır. Afyon (Papaver) bitkisinden elde edilen alkaloidler (morfin, kodein, ...) tanımlanan ilk farmakolojik olarak aktif azot içeren bazik bileşiklerdir. Buna ek olarak, kodein ve morfinin yanında atropin, kafein, kinin ve sanguinarin (Şekil 2.16) gibi bitkisel kaynaklı alkaloidler modern tıpta kullanılmaktadır (Hartmann 1991, Kutchen 1995).



Şekil 2.16. Önemli bazı bitkisel alkaloidlerin molekül yapıları

2.4.5. Fenolik Bileşiklerin Biyosentezi

Flavonoidlerin, stilbenlerin ve fenolik asitlerin biyosentezi temel olarak şikimat, fenilpropanoid ve flavonoid yollarına (Şekil 2.17 ve Şekil 2.18) dayanan karmaşık bir ağı içerir (Crozier ve ark. 2006).

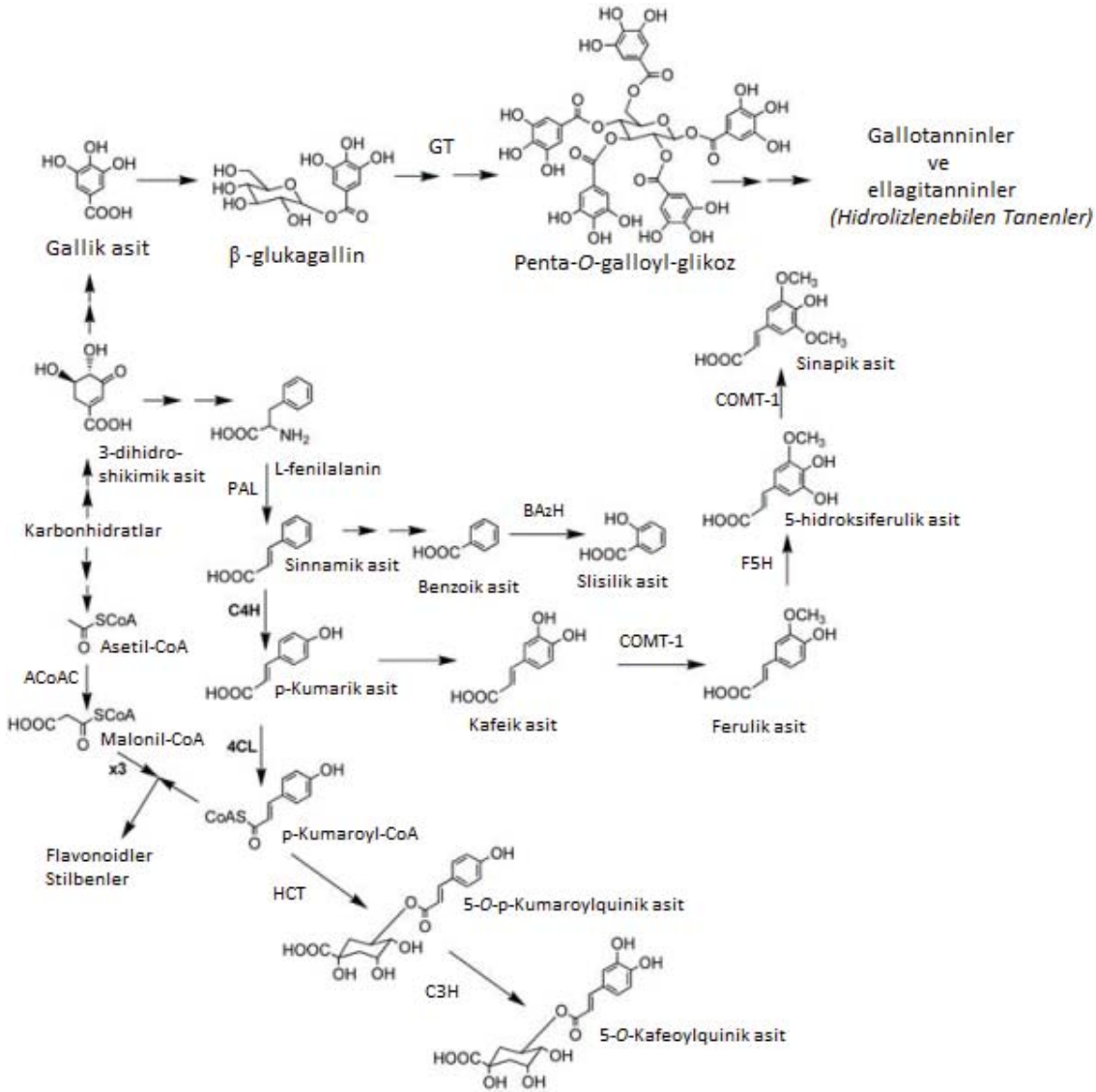
Gallik asit temel olarak şikimik asit yoluyla 3-dehidroşikimik asitten (Şekil 2.17) oluşur. Meşe yapraklarından elde edilen ekstratlar üzerinde yapılan enzim çalışmaları göstermiştir ki, gallik asit β-glukogalline dönüştürülür. β-glukogallin ise birçok galloilasyon basamaklarından sonra penta-O-galloil-glikoza dönüştürülür. Önemli bir ara ürün olan penta-O-galloil-glikozdan gallotanninler, ellagitanninler ve hidrolizlenebilen tanenler sentezlenir.

Fotosentez ürünlerinin kaderi 3-dehidroşikimik asidin L-fenilalanin'e dönüşmesiyle fenilpropanoid yoluna girer (Şekil 2.17). Fenilalanin amonyum-liyaz bu ana biyolojik yolda ilk basamağı katalize ederek L-fenilalanin'i sinamik aside dönüştürür. Sinamik asit ise sinamat-4-hidroksilazın katalizlemesi ile *p*-kumarik aside

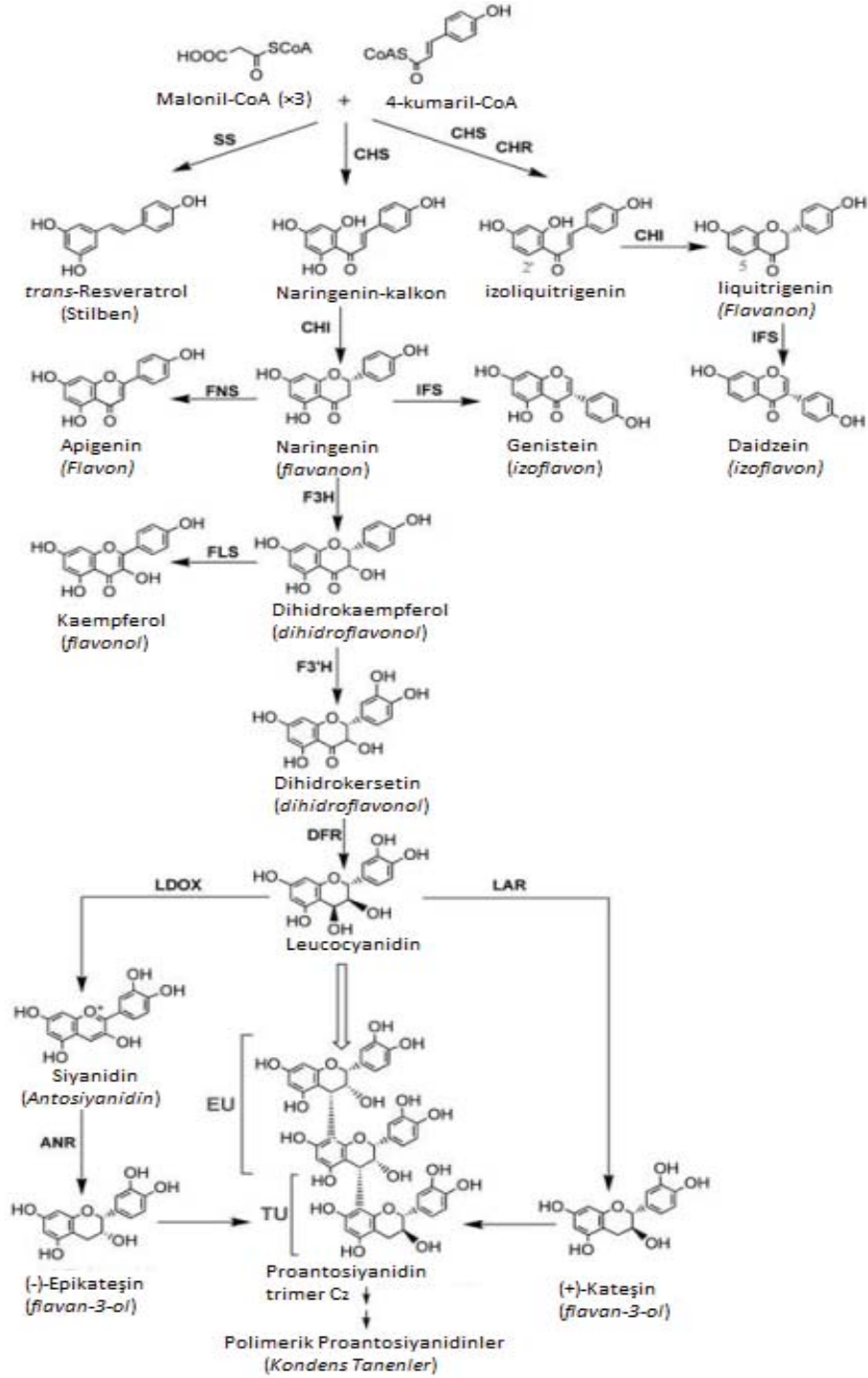
dönüşür. *p*-Kumarik asit de *p*-kumarat: CoA ligaz ile *p*-kumaroil-CoA'ya metabolize olur. Sinnaik asit ayıca benzoik ve salisilik asitlere metabolize olurken, *p*-kumarik asit de bir dizi hidroksilasyon ve metilasyon reaksiyonları sonucu kafeik, ferulik, 5-hidroksiferulik ve sinapik asitlere dönüşür. Sinapik ve ferulik asitler, ligninlerin öncü (precursor) molekülleridir (Hoffman ve ark. 2004). *p*-Kumaroil-CoA, ayrıca flavonoid ve stilbenlerin biyosentezi için de önemli bir ara üründür.

C₆-C₃-C₆ flavonoid yapısı (Şekil 2.3) iki farklı biyosentez yolunun ürünüdür (Şekil 2.16). Köprü ve aromatik B halkası *p*-kumaril-CoA'dan sentezlenen bir fenilpropanoid birimi içerir. A halkasının altı karbonu malonik asit yoluyla üç asetat biriminin kondenzasyonu ile oluşur (Şekil 2.3). Bu iki parçanın kaynaşması *p*-kumaril-CoA ile üç malonil CoA parçasının (herbiri kalkon sintaz (CHS)'ın katalizlediği bir reaksiyonda ikişer C atomu verir) kademeli kondenzasyonunu içerir. Bu reaksiyonun ürünü naringenin kalkon'dur. İzoliquiritigenin oluşumu NADPH-bağlı bir enzim olan ve CHS ile etkileşen kalkon redüktaz ile katalize edilir (Şekil 2.18).

Flavonoid biyosentez yolunda bir sonraki basamak, kalkon izomeraz (CHI) katalizörlüğünde naringenin-kalkon'un naringenin'e stereospesifik dönüşümüdür. Bakliyatla CHI, izoliquiritigenin'nin liquiritigenin'e dönüşümünü de katalize eder (Forkmann ve Heller 1999). Substrat molekülündeki molekül içi hidrojen bağından dolayı, naringenin-kalkon'un naringenin'e izomerizasyonu, izoliquiritigenin'nin liquiritigenin'e izomerizasyonundan daha hızlıdır. Flavonoid biyosentetik yolunda naringenin merkezi bir ara ürün olup, bu noktadan sonra bu ana yol; izoflavonlar, flavononlar, flavonollar, flavan-3-oller ve antosiyanidinler gibi farklı flavonoid sınıflarının üretimini doğuran ara yollara ayrılır.



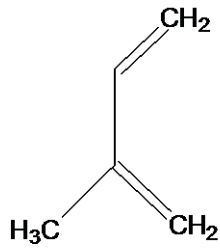
Şekil 2.17. Hidrolizlenebilen tanenler, hidroksibenzoik asitler, hidroksisinnamatlar ve 5-kafeoylkinik asidin biyosentezindeki ana biyolojik yollar ve anahtar enzimlerin şeması. Enzim kısaltmaları: PAL, fenilalanin amonyum liyaz; BA2H, benzoik asit-2-hidroksilaz; C4H, sinnamat-4-hidroksilaz; COMT-1, kafeik/5-hidroksiferulik asit O-metiltransferaz; 4CL, p-kumarat:CoA ligaz; F5H, ferulat-5-hidroksilaz; GT, galloyltransferaz; ACoAC, asetilCoA karboksilaz (Crozier ve ark. 2006).



Şekil 2.18. Stilbenler ve flavonoidlerin biyosentezindeki ana biyolojik yollar ve anahtar enzimlerin şeması. Enzim kısaltmaları: SS, stilben sintaz; CHS, kalkon sintaz; CHR, kalkon redüktaz; CHI, kalkon izomeraz; IFS, izoflavan sintaz; FNS, flavon sintaz; FLS, flavonol sintaz; DFR, dihidroflavanol 4-redüktaz; ANS, antosiyanidin 4-redüktaz; F3H, flavanone 3-hidroksilaz; F3'H, flavonol 3'-hidroksilaz; LAR, leucosiyanidin 4-redüktaz; LDOX, leucosiyanidin deoksijenaz; ANR, antosiyanidin redüktaz; EU, uzatma birimleri; TU, terminal birim (Crozier ve ark. 2006).

2.4.6. Terpenler

Terpenler, bir diğer adıyla izoprenoidler, en çok farklılık gösteren bitkisel metabolitler olup bitkilerde oldukça yaygındır. Terpen bileşikleri, bitki dokularında çoğunlukla serbest halde, glikozitli yapıda, organik esterleri halinde veya proteinlerle birleşmiş olarak bulunurlar (Sönmez 1995). İzopren molekülünün kondensasyonu ile terpen bileşikleri oluşur. Şekil 2.19, izoprenoid molekülünün yapısını ve karbon sayısına göre terpenlerin sınıflandırılmasını göstermektedir.



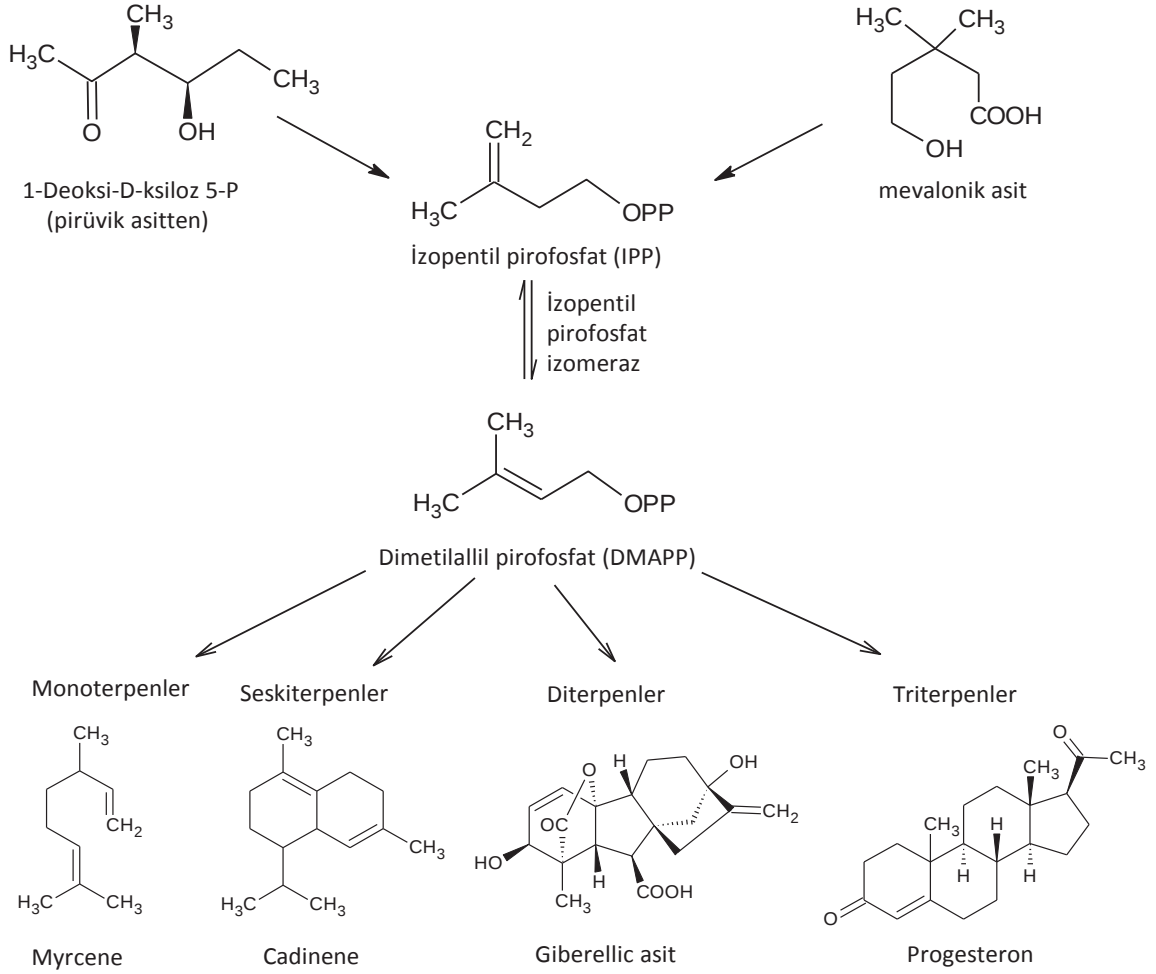
İzopren Molekülü
(C₅H₈)

n	Adı	Bulunuşu
10	Monoterpen	Uçucu yağlar
15	Seskiterpen	Uçucu yağlar, reçineler
20	Diterpen	Reçineler, acı maddeler
25	Sesterterpen	Reçineler, acı maddeler
30	Triterpen	Reçineler, acı maddeler
40	Tetraterpen	Yeşil dokular, kökler, meyveler
100-	Politerpen	Lateksler, kökler

Şekil 2.19 İzoprenoid molekülünün yapısı ve karbon sayısına göre terpenlerin sınıflandırılması

2.4.6.1. Terpenlerin Biyosentezi

Terpenlerin ana iskeleti beş karbonlu izopren birimlerinden oluşur. Yapısında izopren birimi bulunan bileşiklere izoprene benzeyen anlamına gelen izoprenoit ismi verilmiştir. IPP (izopentil pirofosfat) and DMAPP (dimetilallil pirofosfat) birçok terpen sınıfının biyosentezinde temel taşlardır. İzopentil pirofosfat izomeraz enzimi, bir metal iyonu varlığında IPP ve DMAPP arasındaki reaksiyonu katalize ederek geranilpirofosfat (GPP), farnesilpirofosfat (FPP), geranilgeranilpirofosfat (GGPP) ve skualen oluşturur. Terpenlerin biyosentezine ait basit şematik bir gösterim Şekil 2.20'de verilmiştir (Dewick 2009).



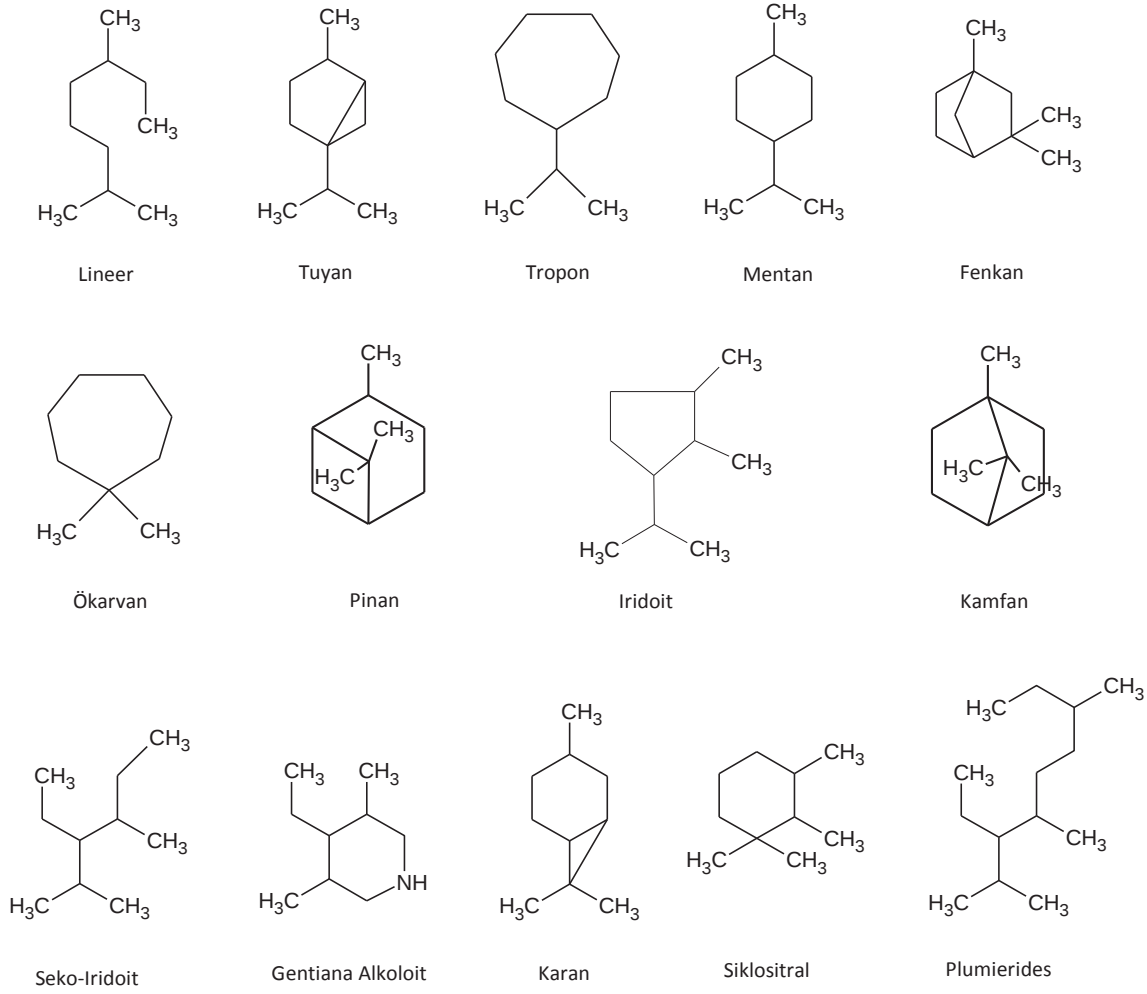
Şekil 2.20. Terpenlerin biyosentezine genel bir yaklaşım şeması

Terpenleri fiziksel özelliklerine göre iki sınıfa ayırabiliriz:

1. Uçucu Terpenler: Uçucu yağlar olarak da bilinen ve su buharıyla sürüklenebilen küçük moleküllü terpenlerdir.
2. Uçucu Olmayan Terpenler: Daha büyük moleküllere sahip olan bu terpenler bazı seskiterpenler, diterpenler, sesterterpenler, triterpenler ve

2.4.6.2. Monoterpenler

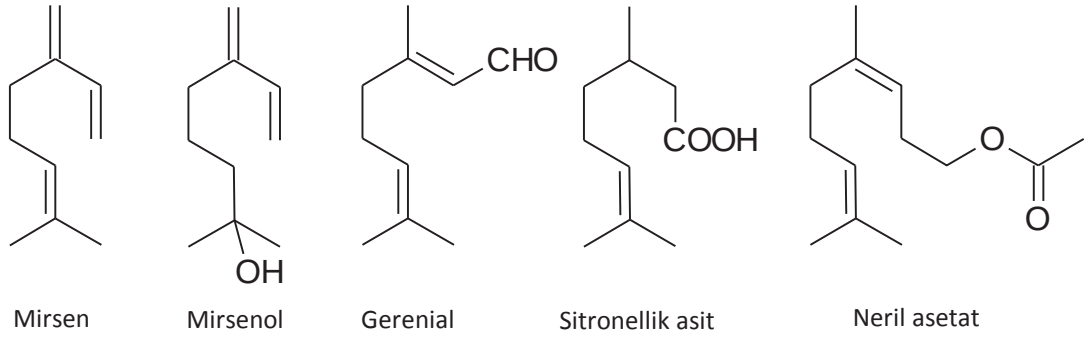
Monoterpenler 10 karbonlu olup bitki aleminde yaygın olarak bulunan uçucu bileşiklerdir. Parfüm ve gıda maddelerinde koku verici olarak kullanılan monoterpenler antifungal, antibakteriyal, antioksidan ve antikanser etkilere sahiptirler. Monoterpenler taşıdıkları ana iskelete göre sınıflandırılırlar, doğada çok bulunan bazı monoterpen iskeletleri Şekil 2.21'de gösterilmiştir (Devon ve Scott 1972).



Şekil 2.21. Doğadaki majör monoterpen iskeletleri

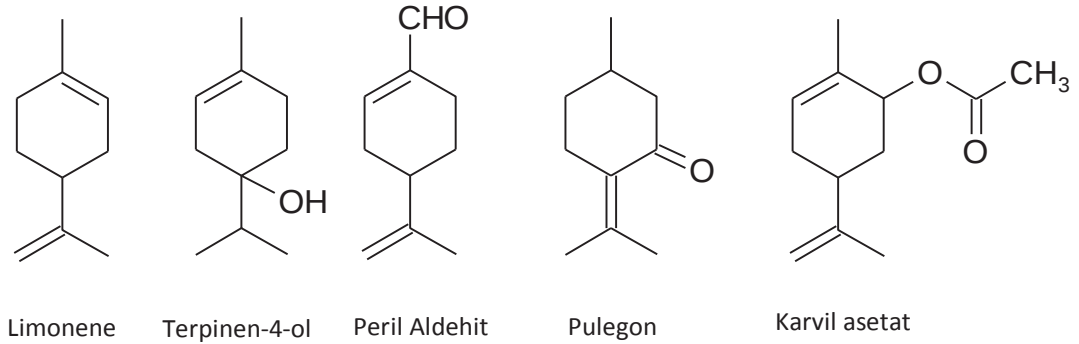
Monoterpenleri başlıca 3 grup altında toplayabiliriz:

- Asıklık monoterpenler: Düz zincirli olup çift bağ taşıyabilirler. Asimetrik karbon atomları bulunduklarından optikçe aktiftirler. Hidrokarbon olanlarına mirsen, alkol grubu taşıyanlarına mirsenol, aldehit grubu taşıyanlarına geranial, asit grubu taşıyanlarına sitronellik asit ve ester grubu taşıyanlarına neril asetat örnek olarak verilebilir (Şekil 2.22).



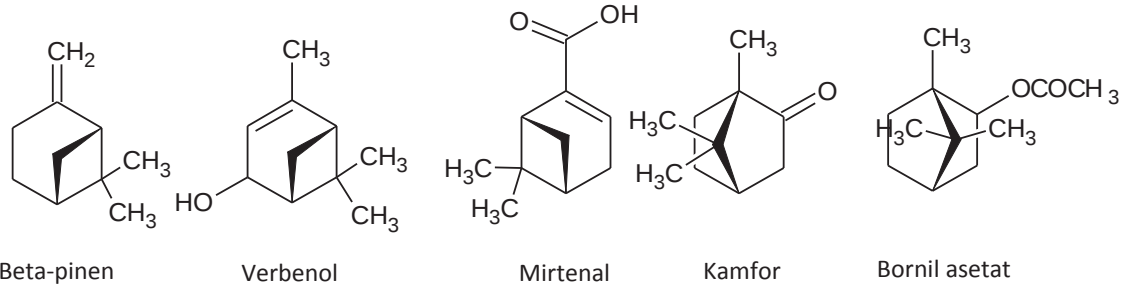
Şekil 2.22. Asiklik monoterpenler

- Monosiklik monoterpenler: Çift bağ ve bir halka bulundururlar. Hidrokarbon olanlarına limonen, alkol grubu taşıyanlarına terpinen-4-ol, aldehit grubu taşıyanlarına peril aldehit, keton grubu taşıyanlarına pulegon, ester grubu taşıyanlarına karvil asetat örnek olarak verilebilir (Şekil 2.23).



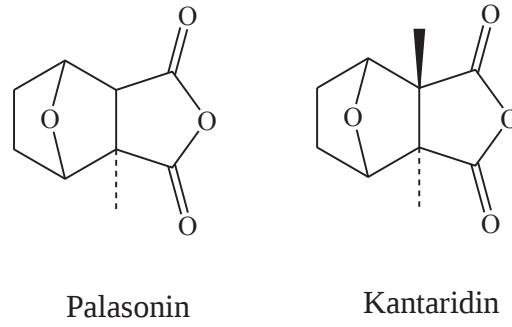
Şekil 2.23. Monosiklik monoterpenler

- Bisiklik monoterpenler: İki halka ve çift bağ taşırlar. Hidrokarbonlarına β -pinen, alkol grubu taşıyanlarına verbenol, aldehit grubu taşıyanlarına mirtenal, keton grubu taşıyanlarına kamfor, ester grubu taşıyanlarına bornil asetat örnek olarak verilebilir (Şekil 2.24).



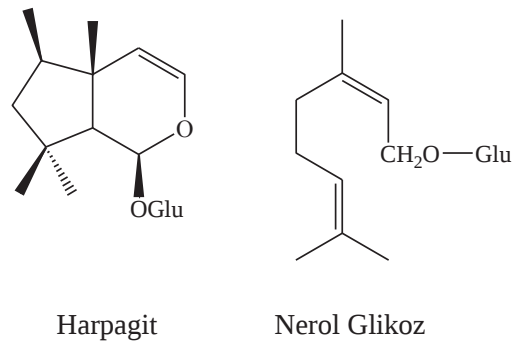
Şekil 2.24. Bisiklik monoterpenler

- Trisiklik monoterpenler: Üçlü halka taşırlar, palasonin ve kantaridin örnek olarak verilebilir (Şekil 2.25).



Şekil 2.25. Trisiklik monoterpenler

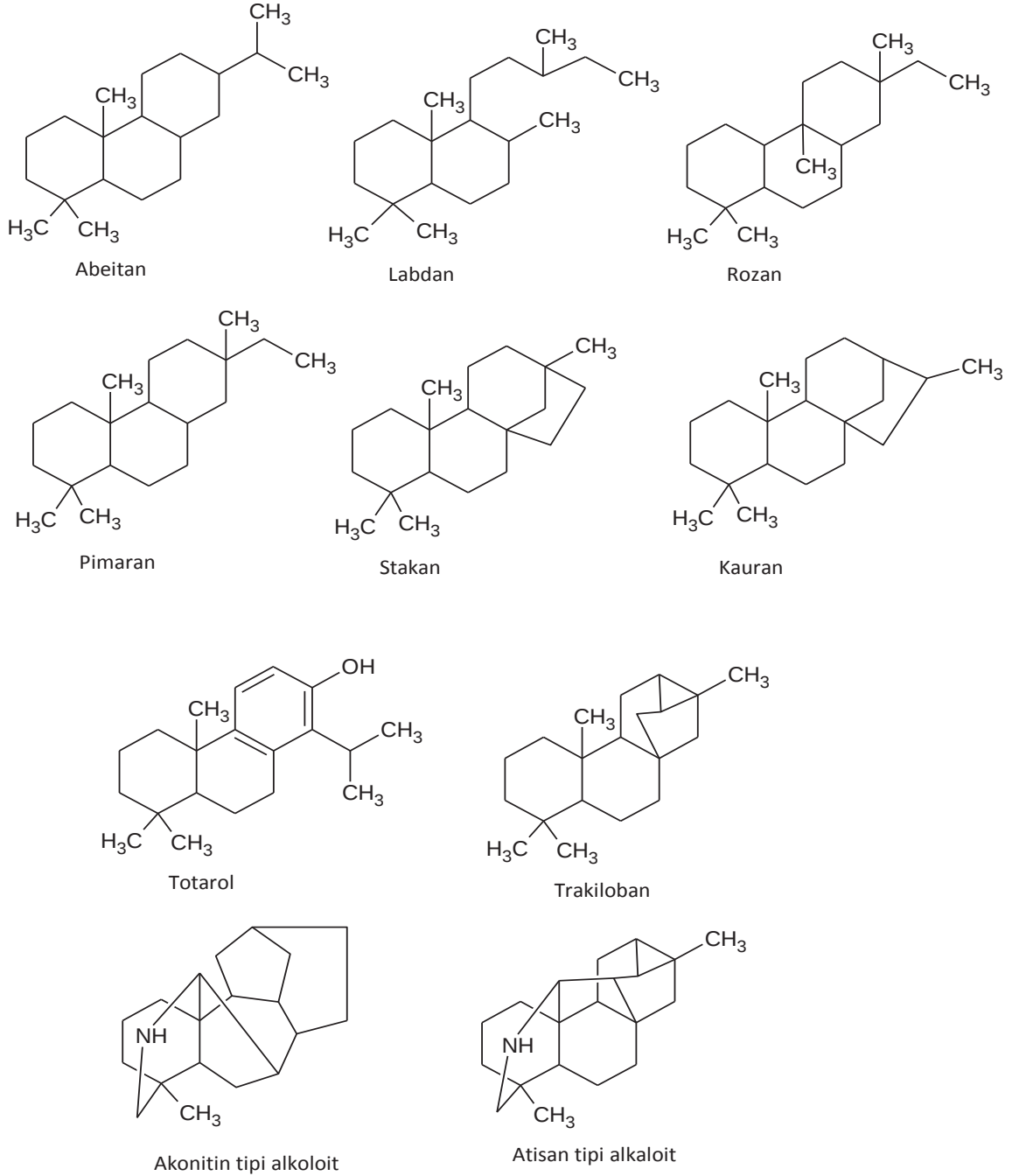
- Monoterpen glikozitlere örnek olarak harpagit ve nerol glikoz verilebilir (Şekil 2.26).



Şekil 2.26. Monoterpen glikozitler

2.4.6.3. Diterpenler

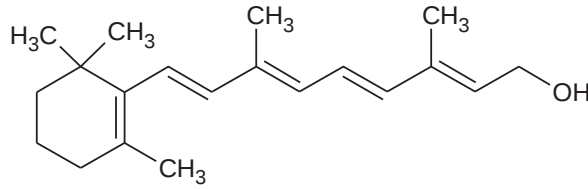
Dört tane izopren molekülünden oluşan, çeşitli farmakolojik etkilere sahip olan diterpenler 20 karbonlu olup bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan bileşiklerdir. Diterpenler taşıdıkları ana iskelete göre sınıflandırılırlar. Doğada en çok bulunan bazı diterpen iskeletleri Şekil 2.27’de gösterilmiştir.



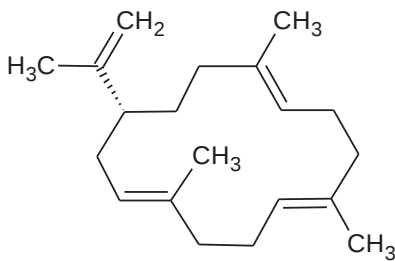
Şekil 2.27. Doğada yaygın bulunan diterpen iskeletleri

Çeşitli biyolojik aktiviteye sahip olan diterpenlerin oksijenli türevleri kimyasal yapılarına göre şu şekilde gruplandırılabilir:

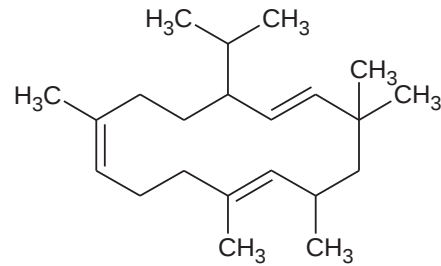
- Asiklik diterpenler: Doğada nadir olarak bulun bu bileşiklere geranilgeraniol, 1,3-*cis*-fitadien ve fitol örnek olarak verilebilir (Devon ve Scott 1972).
- Monosiklik diterpenler: En çok bilinenlerden biri A₁ vitaminidir (Retinol) (Şekil 2.28). Retinol bitkilerde bulunmaz, omurgalı hayvan organizmasında karotenoitlerin ikiye bölünmesi ile oluşan bir bileşiktir. *Pinus albicaulis* oleoresininin içeriğinde bulunan cembren ve tütünde bulunan 4,8,13-*duvatrien*1-1,3-*diol* monosiklik diterpenlere örnek olarak verilebilir (Şekil 2.28) (Geissman ve Crout 1969).
- Bisiklik diterpenlere manool ve sclareol örnek olarak verilebilir (Şekil 2.55).
- Trisiklik diterpenlere karnosik asit örnek verilebilir (Şekil 2.29) (Geissman ve Crout 1969).
- Tetrasiklik diterpenlere stachen ve beyerol örnek olarak verilebilir (Şekil 2.29) (Geissman ve Crout 1969).
- Pentasiklik diterpenlere örnek olarak trakiloban (Şekil 2.29) verilebilir (Geissman ve Crout 1969).



Vitamin A₁ (Retinol)

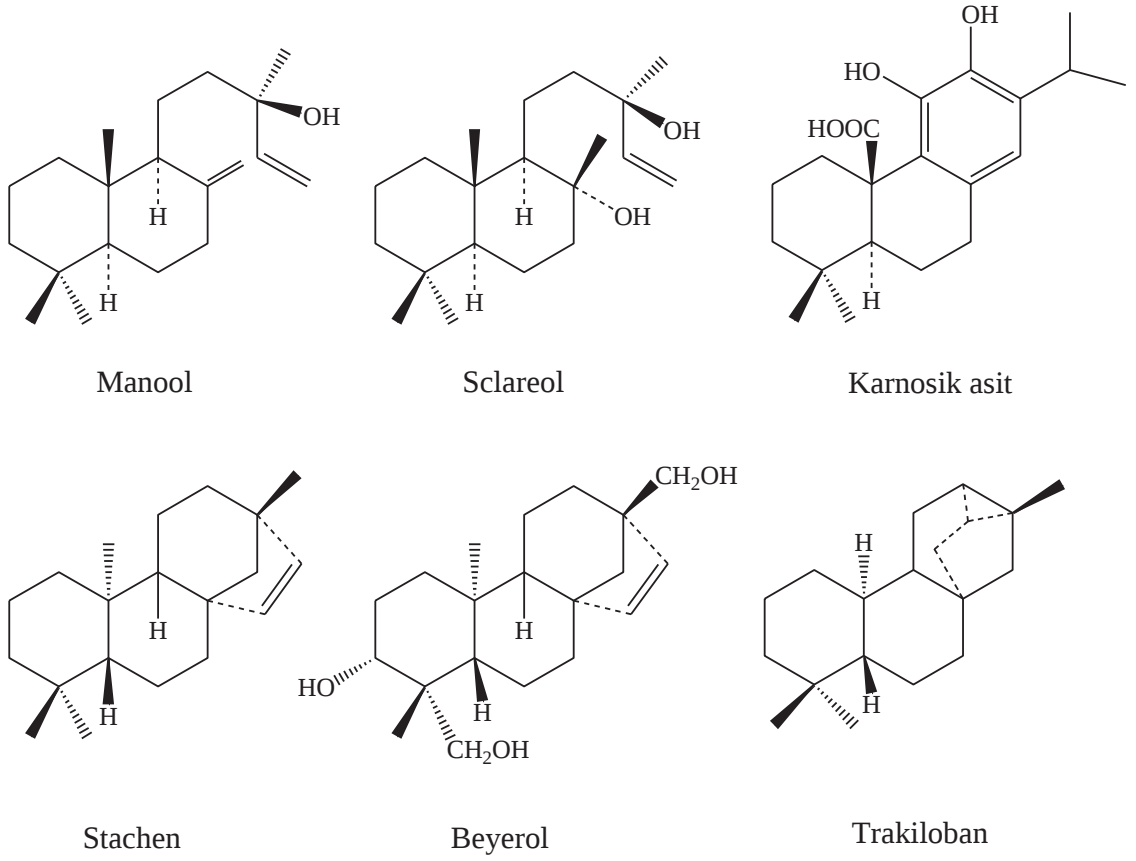


Cembren A



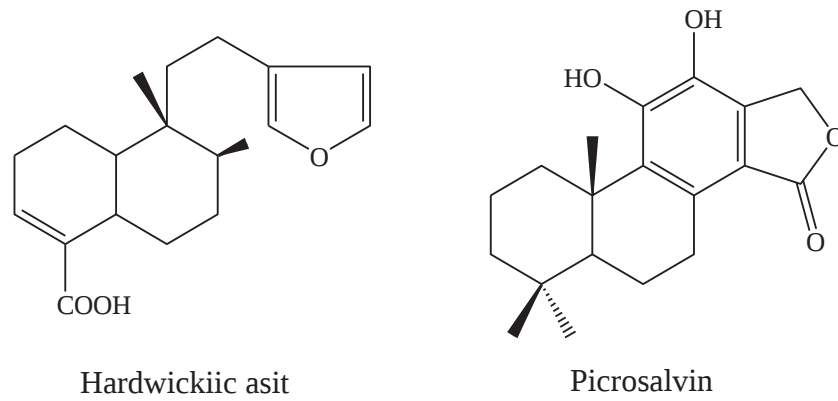
4,8,13-*duvatrien*1-1,3-*diol*

Şekil 2.28. Monosiklik diterpenler



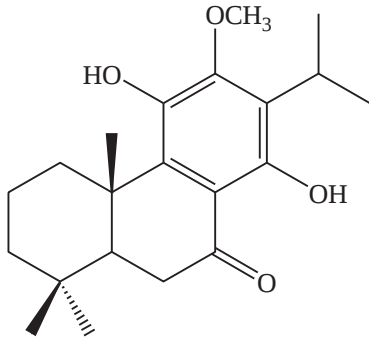
Şekil 2.29. Bisiklik, trisiklik, tetrasiklik ve pentasiklik diterpenler

- Lakton ya da furan halkası içeren diterpenlere örnek olarak hardwickiic asit ve picrosalvin verilebilir (Şekil 2.30) (Geissman ve Crout 1969).

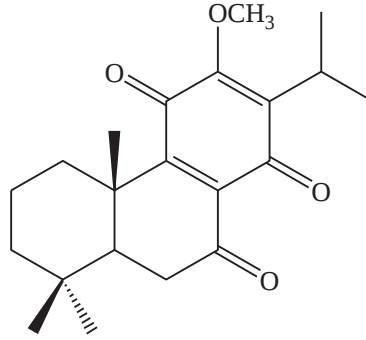


Şekil 2.30. Lakton ya da Furan Halkası İçeren Diterpenler

- Aromatik (inuroyleanol) ve kinoit (7-okso-royleanon-12-metil eter) yapıdaki diterpenlere örnekler Şekil 2.31’de verilmiştir (Kabouche ve ark. 2007).



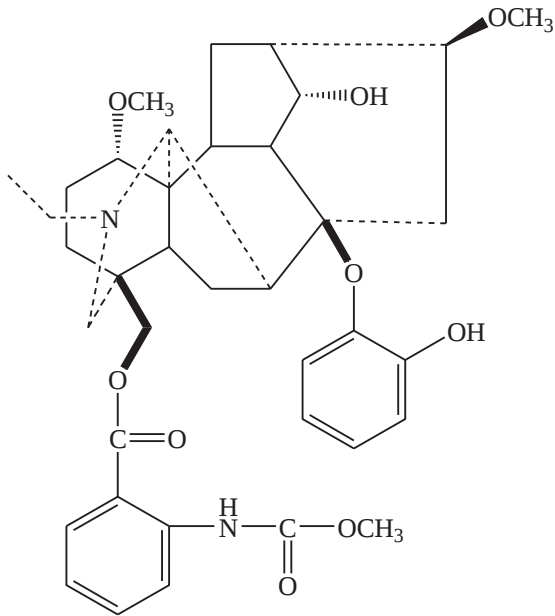
İnuroyleanol



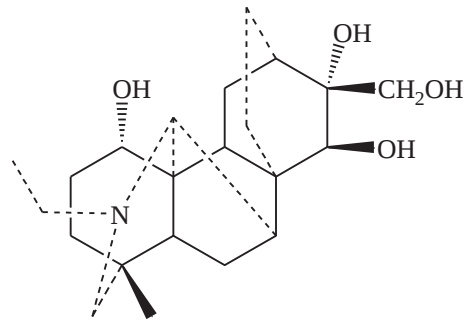
7-Okso-royleanon-12-metil eter

Şekil 2.31. Aromatik ve kinoit yapıdaki diterpenler

- Bitkilerde diterpenlerin oksijenli türevlerinin yanında yan zincirde ya da halka içinde azot atomu ihtiva eden ve “Diterpen Alkaloitler” olarak bilinen 19 ya da 20 karbonlu bileşikler bulunmaktadır. Şekil 2.32’de diterpen alkaloitlere örnek verildi (Kolak ve ark. 2006).



Linearilobin

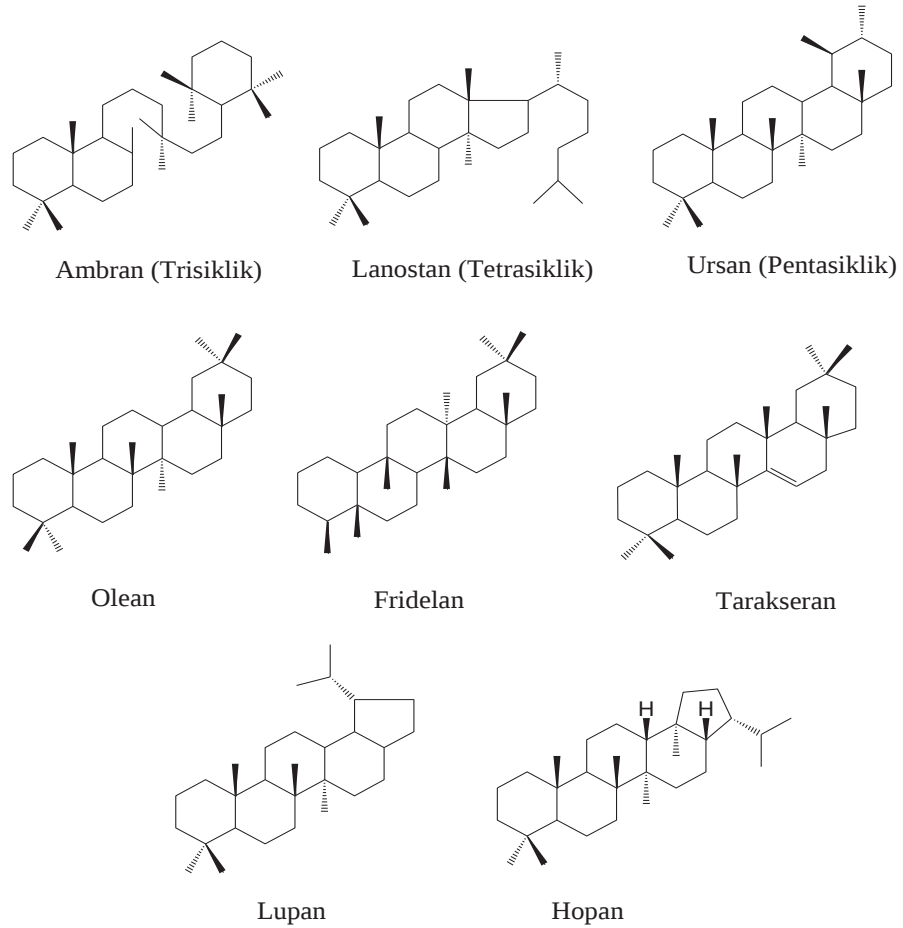


Cochlearenin

Şekil 2.32. Diterpen Alkaloitler

2.4.6.4. Triterpenler

Triterpenler altı izopren biriminden oluşmuş olup 30 karbonlu halkalı yapıya sahiptirler. Bitkilerde serbest halde veya triterpenik saponinler olarak adlandırılan glikozitleri halinde bulunabilirler. Serbest triterpenler, asit, alkol, aldehit, keton, epoksi ve lakton gruplarından bir ya da birkaçını aynı molekülde taşıyabilirler. Doğal triterpenik bileşiklerin iskelet yapıları Şekil 2.33'de verilmiştir. Bu bileşiklerin taşıdıkları halka sayısı ve fonksiyonel gruplar da isimlendirilmelerinde etkindir. Triterpen bileşikleri taşıdıkları halka sayılarına göre trisiklik, tetrasiklik ve pentasiklik olarak üç grupta toplanmaktadır. Hiç süstitüent taşımayanlarına ise triterpen hidrokarbonlar denir.



Şekil 2.33. Triterpen iskeletleri

2.5. Bitkilerin Sekonder Metabolitlerinin Belirlenmesinde Kullanılan Önemli Analitik Teknikler

İnsanlık tarihi boyunca, bitkisel doğal ürünler araştırılmış ve sayısız hastalığın tedavisinde kullanılmışlardır. Bu bağlamda en üretken kaynaklar olan tıbbi bitkiler, ilaç keşfi için hedef bileşikler bulmak üzere taranacak yüzlerce molekül içerirler (McChesney ve ark. 2007; Huang ve ark. 2004). Genellikle, bir bitki yüzlerce kimyasal bileşen içermesine karşın sadece birkaç bileşeni biyoaktif olur (Li ve ark. 2011). Bu yüzden, klinik araştırmalarının güvenilirlik ve tekrarlanabilirliğinden emin olmak ve farmakolojik fayda ve zarar perspektifinden kalite kontrolü artırmak için, tıbbi bitkilerin bütün biyoaktif bileşenlerinin belirlenip ölçülmesi gereklidir. Halbuki, botanik ekstrelerin kompleks ve değişken içerikleri tıbbi bitkilerin kimyasal kompozisyonunun belirlenmesinde kullanılan ayırma ve belirleme yöntemleri için zorluklar oluşturmuştur (Marston ve Hostettmann 2009).

Kromatografi, birbirine yakın özellikteki madde karışımlarını ayırmak için kullanılan etkili bir ayırma ve saflaştırma yöntemidir. Genel olarak tanımlamak gerekirse kromatografi, bir karışımın sabit bir faz üzerinde, hareketli bir çözücü yardımıyla, karışımı oluşturan bileşiklerin farklı hareketleri sonucu bileşenlerine ayrılması olarak tanımlanır. Kromatografide sabit ve hareketli olmak üzere iki faz vardır. Sabit faz katı ve sıvı hareketli faz sıvı ve gaz olabilir. Ayırımı istenen karışım hareketli faz yardımıyla sabit faz üzerinden geçirilir. Karışımı oluşturan bileşikler sabit faz tarafından farklı ölçüde tutulması nedeniyle her bir bileşik sistemi farklı zamanlarda terk eder. Böylece bileşikleri birbirinden ayırmak, tanımak ve ayrı ayrı toplamak olasıdır. Kromatografi türlerinin detaylarına girmeden gerekli bilgiler verilecektir.

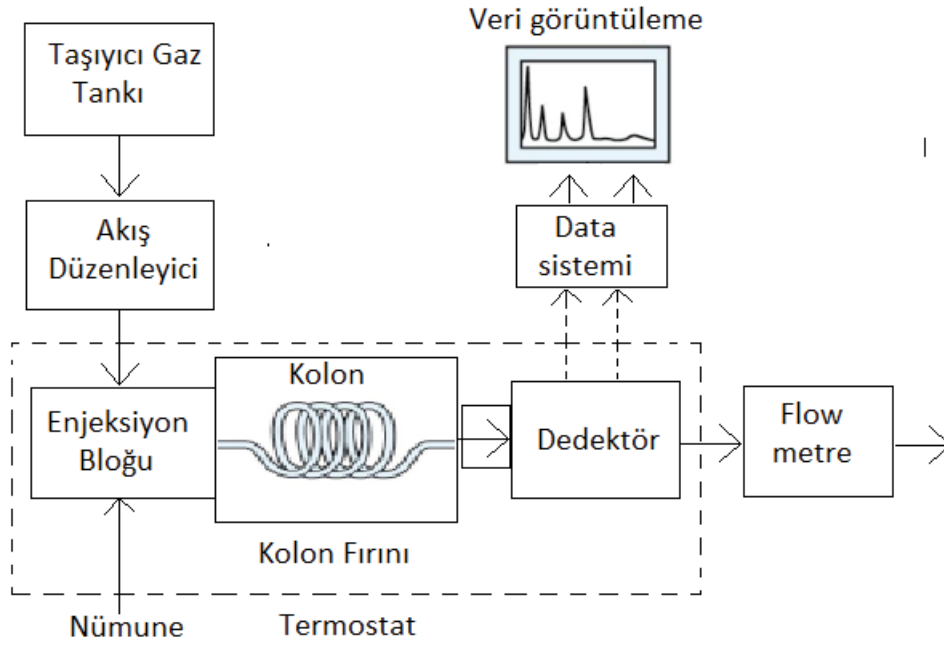
Ayırma açısından, modern kromatografik yöntemler doğal ürünlerin analizinde oldukça etkindirler (Hazra ve ark. 2004; Oleszek ve Bialy 2006; Hisiger ve Jolicoeur 2007; Wang ve ark. 2004; Sticher 2008; Zhao ve Jiang 2010; Ong 2004; Li ve ark. 2005). Bitkilerin metabolik taranmasında ince tabaka kromatografisi (TLC ve HP-TLC), gaz kromatografisi (GC), kapiler elektroforez (CE), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC, UHPLC) yöntemleri kullanılmıştır (Sherma 2006; Mariott ve ark. 2001; Ganzera 2008; Gotti 2011; Marston 2007).

2.5.1. İnce Tabaka Kromatografisi (TLC)

İnce tabaka kromatografisi (TLC) bir katı-sıvı adsorpsiyon kromatografisidir. Bu yöntemde sabit faz, çeşitli boyutlardaki cam plakalar üzerine ince bir tabaka halinde sıvanmış katı adsorban maddedir. Adsorban madde olarak kolon kromatografisinde kullanılan tüm katılar (alümina, silikajel, selüloz vb.) kullanılabilir. TLC yönteminde hareketli fazın sabit faz üzerinde ilerleyişi, aşağıdan yukarıya doğru olur ve çözücü, kılcallık etkisi ile içerisine daldırılan ince tabaka plakası üzerinde yürür. Bu işlem sırasında, plakanın alt kesimlerine önceden damlalıkla damlatılmış olan karışımı da farklı hızlarla (bileşenlerin polaritelerine bağlı olarak) sürükler. HPTLC ise, tabakalardaki partikül boyutunun daha küçük olduğu, daha hassas, tekrarlanabilirliği daha iyi ve ayırımın daha iyi sağlandığı otomatize olmuş bir TLC türüdür. TLC analiz sonucunu bir imaj olarak bize sunan tek kromatografi türüdür. Ayrıca, TLC örneğin bütün bileşenlerinin kromatogramda olduğu tek yöntemdir (Reich ve Schibli 2007).

2.5.2. Gaz Kromatografisi (GC)

Gaz kromatografisi (GC) bitkilerdeki terpenler gibi uçucu ve termal olarak dayanıklı bileşenlerin analizinde sıklıkla tercih edilen bir analitik ayırma yöntemidir. Sıvı kromatografisi yöntemleri ise polar ve az-polar bileşenlerin analizinde tercih sebebidir. Gaz kromatografisinde diğer kromatografi türlerinde olduğu gibi ayrışmaları istenen maddelerle hareketli faz arasında herhangi bir etkileşim söz konusu değildir. Hareketli faz olarak He, Ar ve N₂ gibi inert gazlar kullanılır ve vazifesi maddeleri sürüklemektir. Gaz halindeki analitler ise uçuculuklarına göre farklı hızlarda ilerleyerek dedektöre ulaşırlar. Bitkilerin uçucu (esansiyel) yağlarının kompozisyonu çoğunlukla gaz kromatografisi yöntemleri kullanılarak analiz edilir. Ayrıca yağ asitleri gibi uçucu olmayan bileşenler de türevlendirilerek uçucu hale getirilip GC yöntemleri ile analiz edilirler.



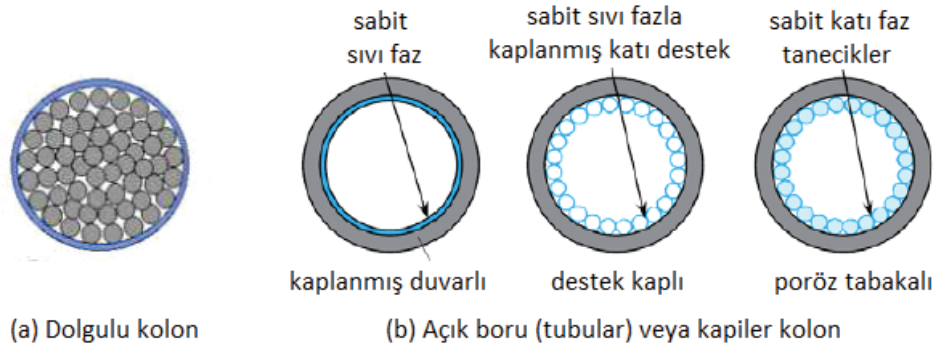
Şekil 2.34. Gaz kromatografi cihazının şematik gösterimi

Gaz kromatografisinde, gaz halindeki bir mobil faz yine gaz halinde olan analitleri sabit faz içeren ince ve uzun bir kolon boyunca taşır. Yukarıdaki şekilde (Şekil 2.34) görüldüğü gibi, uçucu olan bir nümune kendisini buharlaştıracak olan ısıtılan bir blok üzerinden enjekte edilir. Nümune kolon boyunca He, Ar, N₂, veya H₂ gibi bir mobil faz aracılığıyla kolon boyunca sürüklenir ve ayrılan analitler, çıktısının bir bilgisayar üzerinde görüntülediği dedektöre doğru akarlar.

Taşıyıcı gaz kimyasal olarak inert olmalıdır. Gaz seçimi genellikle kullanılan dedektöre göre değişkenlik gösterir. Ayrıca, taşıyıcı gaz sistemi su ve diğer safsızlıkların sisteme ulaşmaması için bir moleküler elek içerir. Optimum kolon etkinliği için enjekte edilen numune miktarı çok olmamalı ve hızlı bir şekilde kolona buhar olarak gitmelidir. Fazla miktardaki nümunenin yavaş enjeksiyonu bant genişlemesine ve çözünürlüğün azalmasına yola açar. En çok kullanılan enjeksiyon metodu, nümuneyi kauçuk bir septum üzerinden kolonun hemen başında bulunan hızlı buharlaştırıcıya enjekte edildiği metottur.

Gaz kromatografisinde açık boru (tabular) veya kapiler kolonlar ve dolgulu (packed) kolonlar olarak iki tip kolon kullanılır (Şekil 2.35). Kapiler kolonlar, kapiler tüpten (0.3-0.5 mm iç çap) yapılmış ve içi 1 mikrolitre kadar kalınlıkta sıvı ile

kaplanmış kolonlardır. Kapiler kolonlardaki basınç düşüşü ihmal edilebilir düzeyde olduğundan bu tip kolonlar çok uzundur (10-100 m veya daha fazla). Dolgulu kolonlar iç çapı 1-8 mm aralığındaki cam veya metal tüplerden yapılır; uzunlukları 2-20 m olabilir. Bunlar katlanmış veya sarımlar şeklindedir, böylece termostat içine sığabilecek boyutlara getirilmişlerdir.



Şekil 2.35. Dolgulu ve kapiler kolon tipleri

Gaz kromatografisinde kullanılabilen birçok dedektör tipi mevcuttur. Her dedektör farklı bir seçicilik sunar. Kütle spektrometre (MS), alev iyonlaştırma (FID), ısı iletkenlik (TCD), elektron yakalama (ECD), Azot-fosfor, alev fotometrik (FPD), foto-iyonizasyon (PID) ve Hall elektrolitik iletkenlik dedektörleri en çok kullanılan dedektörlerdir. Bitki sekonder metabolitlerinin kalitatif ve kantitatif analizlerinde ise en çok kütle spektrometre (MS) ve alev iyonlaştırma (FID) dedektörleri kullanılır. Uçucu (esansiyel) yağların tayininde GC-MS, yağ asitleri tayininde ise GC-FID ve GC-MS cihazları kullanılır.

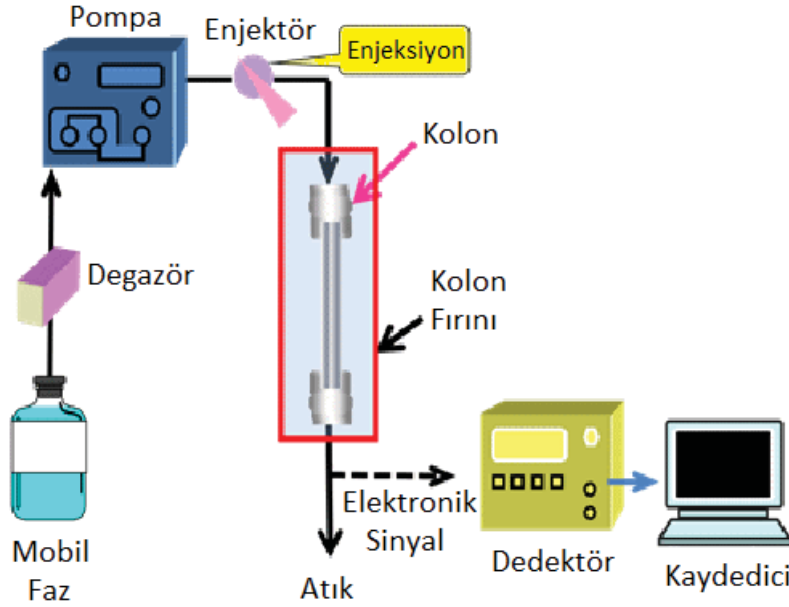
2.5.3. HPLC teknikleri

Kromatografik analitik tekniklerin birçoğunda, nümune içindeki farklı bileşenlerin fiziko-kimyasal özelliklerindeki farklılıklara göre ayırım gerçekleştirilir. Genellikle, analitlerin ayırımdan hemen sonra (on-line) dedekte edildiği sürekli (continuous) teknikler kullanılır. Bu tekniklerin en çok kullanılanı HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) tekniğidir.

Sıvı kromatografisi, numune bileşenlerinin bir sıvı mobil faz ve bir katı durgun faz (yüksek yüzey alanına sahip küçük gözenekli partiküller içeren) arasında dağıldığı bir ayırım tekniğidir. GC'nin aksine HPLC'de durgun fazla güçlü bir şekilde etkileşen numune molekülleri kromatografik sistem boyunca daha uzun sürelerde dolaşır ve daha

uzun alıkonma zamanına sahip olurlar. LC (sıvı kromatografi) ayırımında, hareketli (mobil) faz pompadan kromatografik kolona doğru aspire edilir. Numunenin kolona girmesiyle, analitler durgun fazda farklı oranlarda zaman geçirir ve iki faz arasında farklı oranlarda dağılım gösterirler. Kolonun sonundan elüe olan her bir analit dedektöre ulaşır ve bir şekilde ölçülebilir olan bir sinyal üretirler. Oluşan sinyalin intensite ve süresi analitin miktarı ve doğasıyla alakalıdır. Genel olarak, sinyal amplifiye edilir (yükseltilir) ve elektronik bir entegratör (analiti tanımlayıp miktarını tayin etmek için kromatogram üreten bir bilgisayar) tarafından kaydedilir.

HPLC ekipmanı marka ve modelden bağımsız olarak bir dizi önemli kısımları içerir: pompa, enjektör, kromatografik kolon, termostatl kolon fırını, dedektör ve veri toplama sistemi. HPLC cihazının temel ekipman şeması Şekil 2.36’de gösterilmiştir.



Şekil 2.36. Temel HPLC ekipman şeması

Geleneksel olarak, LC kolonlarının (durgun faz) oldukça polar (silika v.b.) ve hareketli fazın apolar (hegzan v.b.) olduğu moda “normal-faz” sıvı kromatografisi denir. Bu modda analitlerin polariteleri arttıkça alıkonma zamanları artar. Eğer mobil fazın polaritesi artırılırsa alıkonma zamanı azalır. Bu kromatografik mod, apolar veya az polar flavonoid aglikonlarının ayırımı için kullanışlı olabilir.

Günümüzde ise analitlerin analitik ve preparatif ayırımları için en çok kullanılan teknik “ters-faz” sıvı kromatografisidir. Bu teknikte, hareketli faz durgun fazdan daha polar olup analitlerin elüsyon sırasını belirler. Hidrofobik moleküller için daha uzun

olan alıkonma zamanı, hareketli faza daha apolar çözümler ekledikçe azalır. Numune moleküllerinin hidrofobikliği pH'a bağlı olduğu için, formik asit, asetik asit ve trifloroasetik asit gibi maddeler hareketli faza eklenebilir. Asit eklemenin etkisi uygulamaya göre değişir ancak genellikle ayrımı olumlu yönde etkiler (Perrin and Dempsey 1974; Snyder and Kirkland 1997).

Bitkilerin biyoaktif sekonder metabolitlerinin birçoğu polar karakterli olduğu için, C₈ (n-oktil) veya daha çok C₁₈ (n-oktadesil) gibi hidrokarbonlarla modifiye edilmiş kolonların kullanıldığı ters faz kromatografisi ile ayrılırlar. Elüsyon ise asetronitril veya metanol gibi polar organik çözümlerin su ile beraber olduğu mobil fazlar ile gerçekleştirilir.

HPLC kolonlarında, küçük ve aynı boyutlardaki partiküllere sahip dolgu materyalinin kullanılması sonucu gelen daha iyi seçicilik ve yüksek basınçlı akış, hem daha yüksek ayırma gücü hem de daha hızlı analizlere olanak sağlamıştır. Son zamanlarda UHPLC (ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi) tekniğinin ortaya çıkmasıyla sıvı kromatografisinde büyük gelişmeler olmuştur. Bu teknik sayesinde, 2 µm veya daha küçük boyuttaki partikül boyutu ve çok yüksek basınçlarda (1300 bara kadar) çalışan pompa sistemleri ile daha kısa analiz süresi, yüksek pik etkinliği ve yüksek ayırma gücüne ulaşılır (Zotou 2012).

2.5.3.1. HPLC ile beraber kullanılan dedektörler

HPLC cihazına UV dedektör, Diod-array dedektör (DAD), Refraktif indeks dedektörü (RID), Floresan dedektör, Elektrik iletkenlik dedektörü, Elektrokimyasal dedektör, Buharlaştırılabilir ışık saçılmalı dedektör (ELSD), ve kütle spektrometre (MS) dedektörü gibi farklı tipte dedektörler bağlanıp kullanılmaktadır (Skoog ve ark. 1996). Bununla birlikte fitokimyasalların kalitatif ve kantitatif analizlerinde UV-visible ve MS dedeksiyon sistemleri günümüzde HPLC ile birlikte en çok kullanılanlardır.

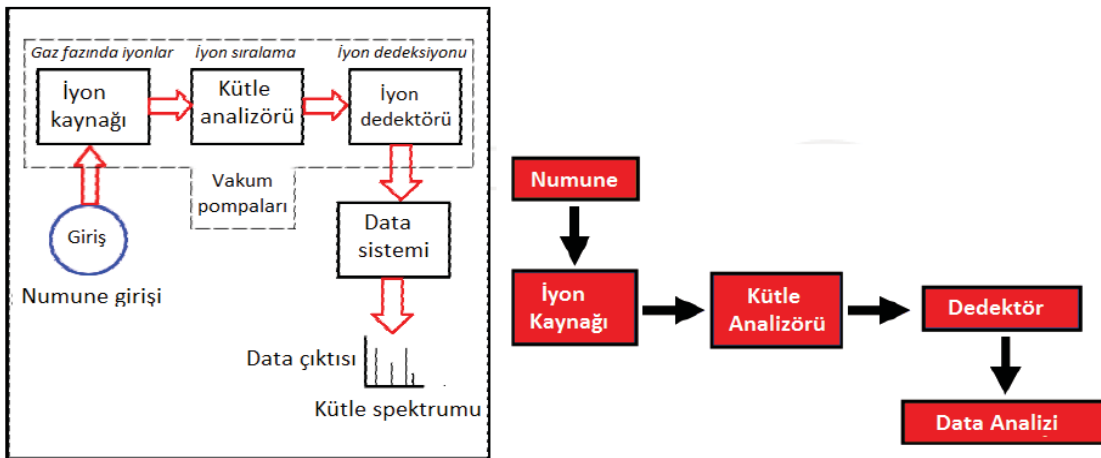
UV-visible temelli dedektörler, kolondan gelen hareketli fazın içerisinde aktığı küçük bir sıvı akış hücresi içerirler. UV ışık hücrenin içinden geçer ve UV foto-dedektöre çarpar. UV absorban dedektörleri numuneyi bozmazlar ve sadece ışık kaynağının dalga boyundaki radyasyonu absorbe eden maddelere karşı cevap verebilirler. İki farklı türde dalgaboyu dedektörü vardır: sabit ve çoklu dalgaboyu dedektörleri. İlki ışın dalgaboyunun değiştirilmesine izin vermezken, diğeri analiti

belirlemek için kısa bir dalgaboyu aralığını tarayabilir. Çoklu dalgaboyu dedektörlerinin hassasiyeti sabit dalgaboyululara göre daha kötü olmasına karşın esneklik avantajı vardır. Çözelti içerisindeki birçok bileşik elektromanyetik spektrumun UV-visible bölgesindeki ışığı absorplayabilir. Bu yüzden bu dedektörler evrensel dedektörler olarak düşünülebilir. UV-görünür bölge spektroskopisi bize molekül yapısı hakkında bilgi veremez ve belli bir desen olmayınca tam olarak bir aydınlatma sağlayamaz. Ancak bize bileşiklerin bağlı olduğu sınıflar hakkında bilgi verir. Zira her molekül sınıfının karakteristik absorpsiyon bantları vardır. Bu yüzden, kütle spektrometresi gibi tekniklere ihtiyaç vardır.

2.5.4. LC-MS Teknikleri

Kütle spektrometresi (MS), yapı aydınlatılması, organik, biyoorganik ve organometalik bileşiklerin doğrulanması ve çevre, farmasötik, adli tıp, gıda ve diğer bilimlerde miktersal analiz için sıklıkla kullanılmaktadır. MS dedektörleri bilinmeyen maddelerin yapısal tayini ve doğrulanması için geniş ölçüde kullanılırlar (Watson ve Sparkman 2007; Chiu ve Muddiman 2008).

MS dedektörleri (Şekil 2.37) elektrik ve/veya manyetik kuvvet alanlarını kullanarak iyonları kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayıran optik cihazlardır. MS mantığını özetlemek istersek; numuneden iyonları oluşturmak, iyonları m/z oranlarına göre ayırtmak ve iyonların bolluğunu ölçmektir. Kütle spektrometre dedektörleri nötr moleküllerin kütlelerini doğrudan ölçemezler. Molekülü iyonlaştırarak iyonun kütle/yük (m/z) oranını ölçerler.

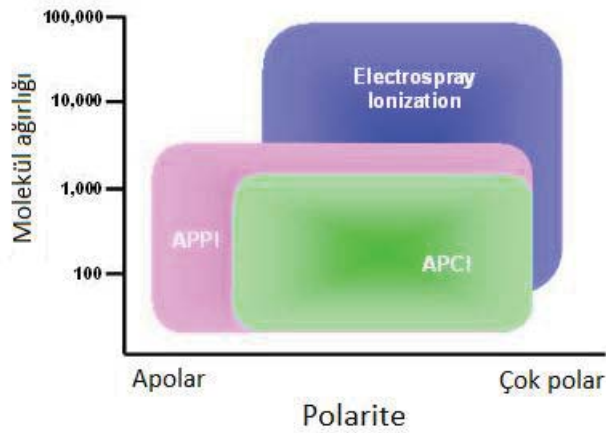


Şekil 2.37. Kütle spektrometre cihazlarının şematik diyagramı

Kütle spektrometre cihazları üç temel birimden oluşur: numune moleküllerini gaz fazındaki iyonlara dönüştüren bir **iyon kaynağı**; iyonları elektromanyetik alan uygulayarak kütlelerine göre sıralayan **kütle analizörü**; ve her bir iyonun miktarını hesaplayan bir **dedektör**. Kütle spektrometre tekniği hem kalitatif hem de kantitatif amaçla kullanılabilir.

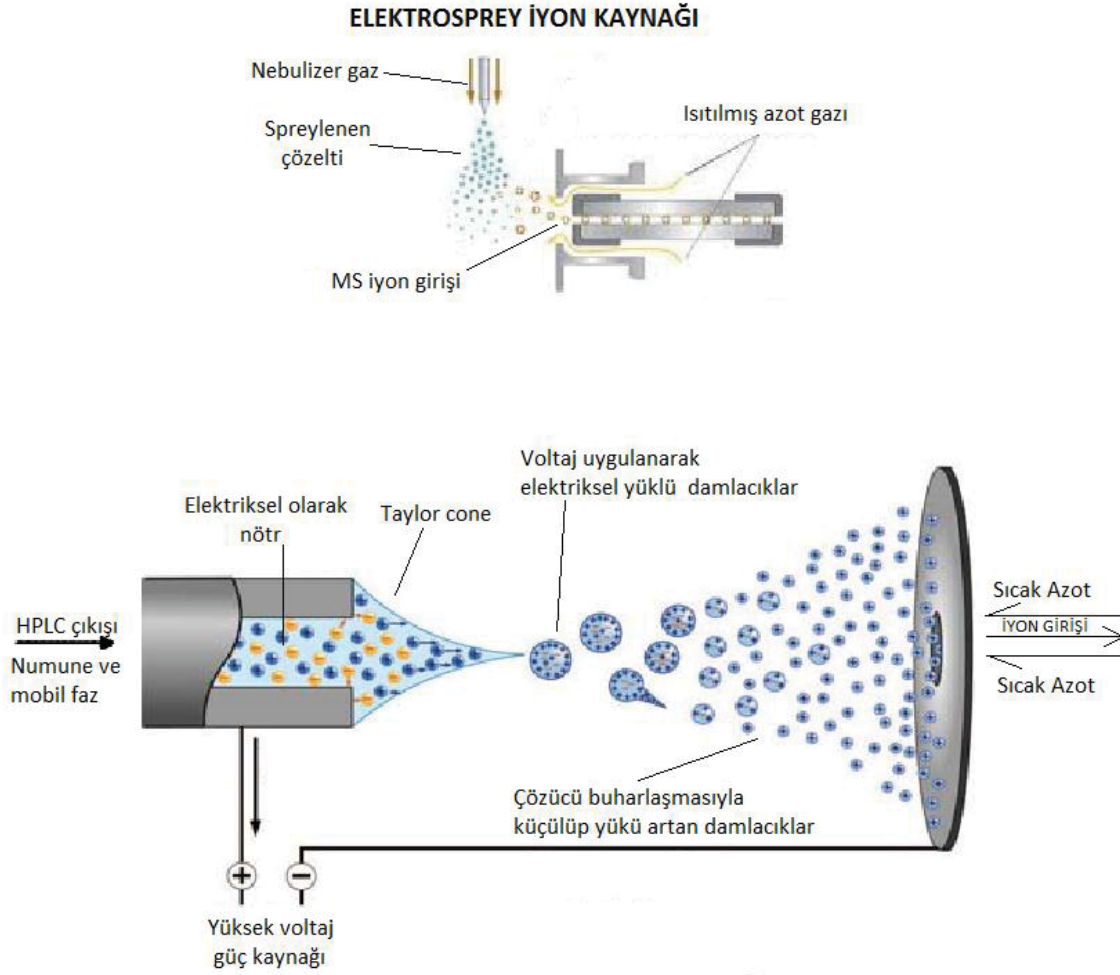
2.5.4.1. İyon Kaynağı

LC-MS cihazlarında HPLC kolonunda kromatografik ayrımı gerçekleştirilen analit molekülleri önce kütle spektrometresinin iyon kaynağına gelirler. Bu bölümde, analit molekülleri pozitif veya negatif yüklü gaz halindeki iyonlara dönüştürülür. Fitokimyasalların analizinde kullanılan ana iyon kaynakları elektrosprey iyonlaştırma (ESI) (Hvattum ve Ekeberg 2003; Parejo ve ark. 2004), atmosferik-basınç kimyasal iyonlaştırma (APCI) (Wolfender ve ark. 2000; De Rijke ve ark. 2003), hızlı atom bombardımanı (FAB) (Ma ve ark. 2001; Cuyckens ve ark. 2002) ve matris-destekli lazer-desorpsiyon (MALDI) (Fulcrand ve ark. 2008) 'dur (Şekil 2.38). Bu arayüzler, katı veya sıvı numuneye farklı yollarla enerji sağlarlar. Böylece buharlaşmadan kaçınılarak gaz iyonları doğrudan oluşturulur ve ardından bileşiklerin iyonlaşması sağlanır. APCI iyon kaynağı küçük molekül ağırlıklı az polar ve apolar bileşiklerin tespitinde kullanılır. MALDI ise özel bir yumuşak iyonlaştırma kaynağı olup çoğunlukla proteinler, peptitler ve polisakkaritler gibi büyük organik moleküller için uygulanır. Ayrıca, APPI (atmosferik basınç fotoiyonizasyon) kaynağı da apolar bileşikler için kullanılan nadir iyonlaştırma tekniklerinden biridir.



Şekil 2.38. Farklı iyonlaştırma tekniklerinin uygulama spektrumu

Bu iyonlaştırma kaynakları arasında LC-MS cihazlarında en popüler ve yaygın olanı ESI (Şekil 2.39) tekniğidir. ESI'a gelen çözelti halindeki numune üzerine 3-5 kV yüksek voltaj uygulanan bir kapiler tüpten geçirilir. Kapiler tüpün etrafından nebulizer gaz (N_2) geçirilir ve çözelti kapiler tüpün iğne gibi olan ucundan spreylenir.



Şekil 2.39. ESI iyon kaynağı ve elektrosprey iyonlaştırma teorisi şeması

ESI kapiler tüpüne uygulanan yüksek voltaj, HPLC den gelen elektriksiz olarak nötr sıvının Taylor Cone adı verilen ve ucunda negatif ve pozitif iyonlarla zenginleşmiş bir yapıyı oluşturmaya neden olur. Taylor Cone'un ucundan elektriksiz alan sayesinde yüklü damlacıklar oluşur. Kütle spektrometre girişinin etrafından dışarı çıkan sıcak azot yardımıyla yüklü damlacıklar buharlaşarak küçülür. Çözücü buharlaştıkça, damlacıktaki yüzey gerilimi artık üzerindeki yükü barındıramayacak hale gelir (Rayleigh limiti) ve

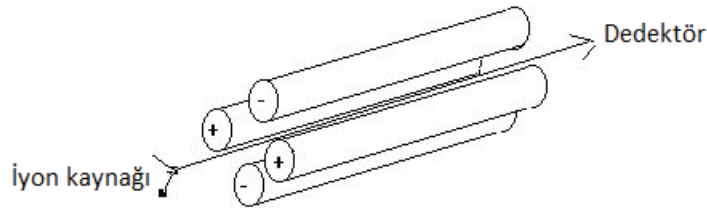
“Kolomb patlaması” meydana gelir ve damlacık parçalanır ve yüklü iyonlar serbest halde kalarak kütle spektrometresine girerler (Chiu ve Muddimann 2008).

2.5.4.2. Kütle Analizörü

Bu kısım iyonların kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayrılıp sıralandığı birimdir. Bu yüzden iyon kaynağı kütle spektrometresinin “kalbi” sayılan kütle analizörüne bağlanmıştır. Kütle analizörleri elektrik ve manyetik alanları kullanarak iyonları üretildiği yerden bir sinyal oluşturmak üzere dedektöre ulaştırır. İyonların hareket ve ayrıştırılması elektrik ve manyetik alanlara bağlı olduğundan sadece kütle değil kütle/yük oranı önemlidir. Kütle analizörleri, iyonların yeterli miktarda ve kaybolmadan dedektöre ulaşması için yüksek vakum altında çalışırlar.

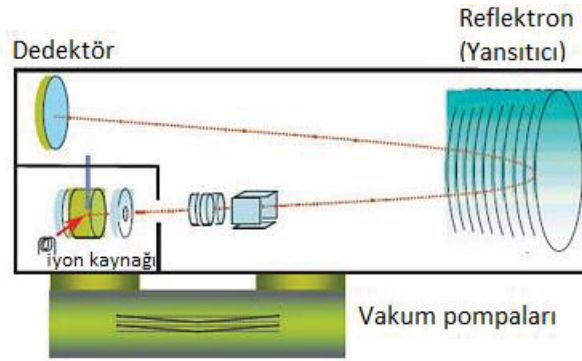
Piyasada HPLC sistemlerine bağlı kütle spektrometrelerinde kullanılan tekli kuadrupol (MS), üçlü kuadrupol (MS/MS), uçuş zamanlı (TOF), iyon tuzağı (IT), manyetik sektör ve Fourier transform iyon siklotron rezonans (FT-ICR) gibi farklı kütle analizörleri kullanılmaktadır. Kütle analizörlerinin seçimi, uygulama, fiyat ve istenilen performans kriterlerine göre değişir. Herbirinin avantaj ve dezavantajları vardır (Jennings ve Dolnikowski 1990).

Kuadrupol kütle analizörleri (Şekil 2.40) birbirine paralel olarak dizili dört çubuktan oluşur. Analit iyonları bu diktörtgen şeklinde dizili çubukların merkezine doğru yönlendirilir. Çubuklara RF ve DC voltajları uygulanarak elektromanyetik alanlar oluşturulur. Bu elektromanyetik alanlar hangi kütle/yük oranına sahip iyonların belirlenen zamanda kuadrupol filtresinden geçeceğini belirler. Kuadrupoller en basit ve en ucuz kütle analizörleridir. Kuadrupol kütle analizörleri taramalı (scan) ve seçilmiş iyon görüntüleme (SIM) olmak üzere iki modda da çalışabilirler. Taramalı modda kütle analizörü belli bir kütle/yük aralığını tararken SIM modunda kütle analizörü sadece belirli m/z oranlarını belirler.



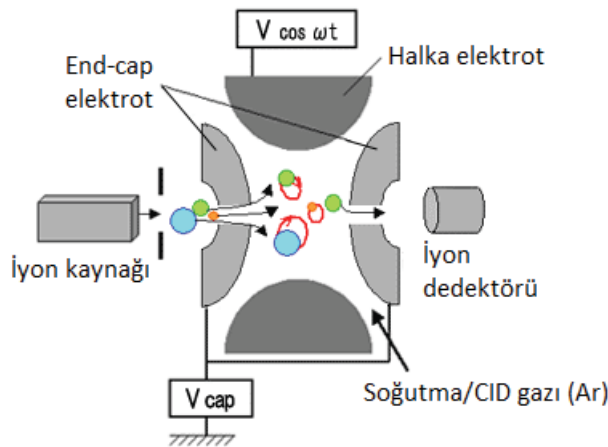
Şekil 2.40. Kuadrupol kütle analizörü

Uçuş zamanlı (TOF) kütle analizörlerinde (Şekil 2.41), tüm iyonlara aynı anda eş elektromanyetik kuvvet uygulanır ve iyonların uçuş tüpü boyunca hızlanmaları sağlanır. Hafif iyonlar daha hızlı seyahat ederek dedektöre önce ulaşırlar. Böylece, iyonların kütle/yük oranları dedektöre varış zamanlarına göre belirlenir. TOF kütle analizörleri geniş bir kütle aralığına sahiptir ve kütle çözünürlükleri ve hassasiyetleri kuadropollerden çok daha iyidir.



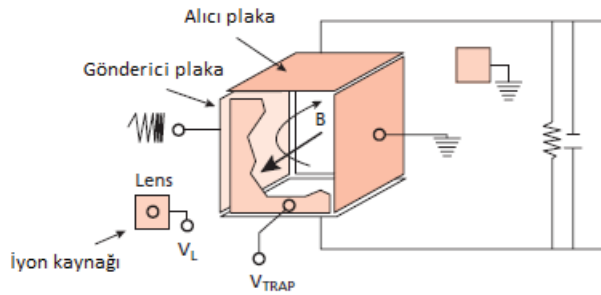
Şekil 2.41. Uçuş zamanlı (TOF) kütle analizörü

Bir iyon tuzağı (Ion trap (IT)) kütle analizörü (Şekil 2.42) birlikte iyon tuzağı haznesini oluşturan dairesel bir halka elektrot ile iki uç kapaktan (end-cap) oluşur. Hazneye giren iyonlar elektromanyetik alanlar yardımıyla burada hapsolünürler. Bir başka elektromanyetik alan uygulanarak iyonlar seçici olarak tuzaktan çıkarılabilirler. İyon tuzakları başka bir ek analizöre ihtiyaç duymadan çok aşamalı kütle spektrometre deneyleri yapabilme avantajına sahiptirler (Farmer ve McDowell 1963).



Şekil 2.42. İyon tuzağı (IT) kütle analizörü (Shimadzu 2015)

Bir FT-ICR (Fourier dönüşüm-iyon siklotron rezonans) kütle analizörü (Şekil 2.43) bir başka tür tuzak analizördür. Hazneye giren iyonlar kuvvetli elektriksel ve manyetik alanlar ile dairesel yörüngelerde hapsedilir. RF elektrik alanıyla uyarılınca, iyonlar zamana bağlı bir akım üretirler. Bu akım Fourier dönüşüm ile iyonların kütle/yük oranlarına tekabül eden orbital frekanslarına çevrilir. FT-ICR analizörleri geniş bir kütle aralıklarına sahip olup çok yüksek kütle çözünürlüğüne sahiptirler ancak en pahalı kütle analizörleridir.



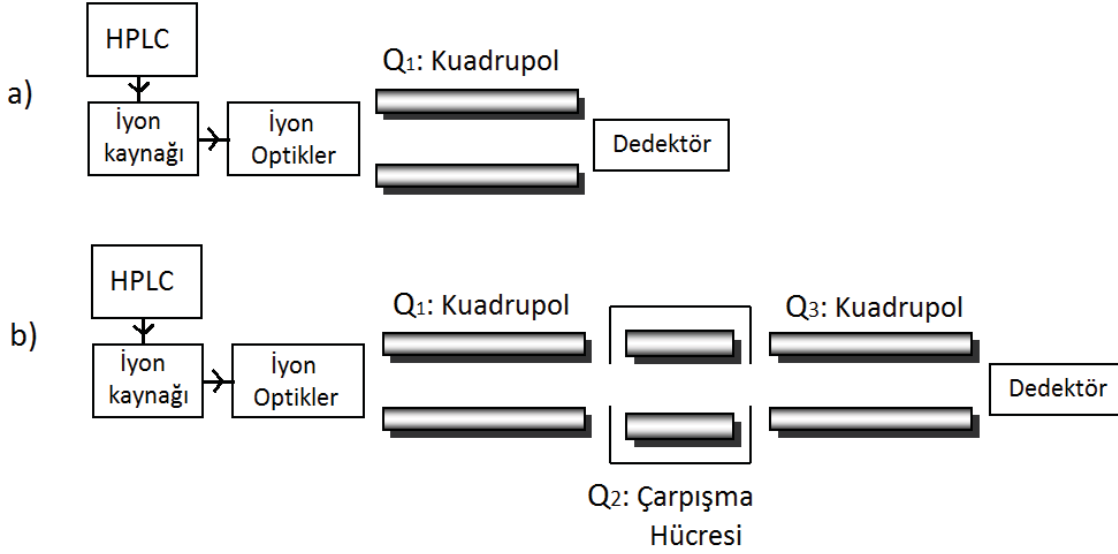
Şekil 2.43. FT-ICR kütle analizörü (Lemière 2001)

2.5.4.3. LC-MS/MS (Sıvı kromatografisi tandem kütle spektrometresi)

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile birleşen LC-MS (tekli kuadrupol) ve özellikle de LC-MS/MS (üçlü kuadrupol) cihaz sistemleri (Şekil 2.44) bütün organik bileşikler gibi bitkilerin sekonder metabolitlerinin kalitatif ve kantitatif analizlerinde en çok kullanılan tekniklerdendir. LC-MS cihazı ile HPLC kolonunda belli bir ayırmadan geçen analitlerin ana iyon (parent ion) da denilen moleküler iyonlarını belirleyerek bileşenlerin nicel veya nitel analizleri yapılır. Ancak, birçok fitokimyasal aynı molekül ağırlığına sahip olduğundan LC-MS cihazı tarafından belirlenen m/z oranları da aynı çıkmaktadır. Kromatografik olarak da ayrılamayan bazı moleküllerin tam olarak doğrulanması bu yöntemle mümkün olmamaktadır. Tekli kuadrupol LC-MS sistemine göre daha sofistike cihaz tasarımlarından olan LC-MS/MS sistemleri bu sorunu ortadan kaldırarak molekül ağırlığı ve kromatografik alıkonma zamanı aynı olan moleküllerin dahi nicel ve nitel analizini mümkün kılmaktadır (Vogesser ve Kirchhoff 2011).

Tekli kuadrupol sistemleri sadece bir kütle kuadrupol filtresi içerirken üçlü kuadrupol sistemleri üç kuadrupol içerirler. LC-MS/MS hibrit cihazında Q1 ve Q3

kuadropoller kütte filtresi görevi yaparken Q2 çarpışma hücresi olarak görev yapar. Kuadropoller taramalı veya filtreli modda kullanılabilirler. Kütte taraması sırasında DC ve RF voltajları uygulanarak tam taramalı kütte spektrumları elde edilir. Bu tip spektrumlar tipik olarak kalitatif data analizleri için kullanılırlar. Halbuki, kuadropol taramasının hassasiyeti az ve düşük hıza sahiptir. Bu yüzden, kantitatif çalışmalarda kuadropoller filtreli modda çalıştırılırlar.



Şekil 2.44. a) Tekli kuadropol (LC-MS) ve b) üçlü kuadropol (LC-MS/MS) cihaz şemaları

Bir tekli kuadropol MS cihazı en seçici olarak Seçilmiş İyon Görüntüleme (Selected Ion Monitoring (SIM)) modunda kullanılır. Bu modda kuadropole sabit DC ve RF voltajları uygulanarak sadece bir iyonun geçmesi sağlanır ve farklı m/z oranına sahip iyonlar atılır.

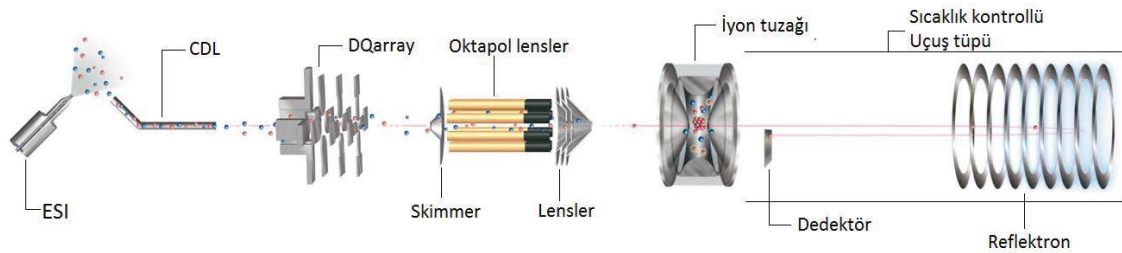
Üçlü kuadropol (MS/MS) cihazının tekli kuadropolden en önemli üstünlüğü Çoklu Reaksiyon Görüntüleme (Multiple Reaction Monitoring (MRM)) modunda çalışabiliniyor olmasıdır. MRM modu kantitatif analizlerde sinyal/gürültü oranını ciddi biçimde düşürerek yüksek hassasiyet ve seçicilik sağlamaktadır. MRM modunda ilk kuadropol (Q1) ilgili moleküler iyonu (parent ion) filtreler. İyon kaynağında üretilen ve farklı m/z oranına sahip iyonlar Q1'i geçemezler. Çarpışma hücresi olan ikinci kuadropol (Q2), Q1'den gelen moleküler iyonun inert bir gaz olan Ar ile çarpıştırılarak karakteristik parçalanma ürünü iyonlar oluşturması için optimize edilir. Bu işleme çarpışmaya bağlı ayrışma anlamına gelen Collision Induced Dissociation (CID) denir. Oluşturulan ürün iyonlar (product ions), sadece belirlenen iyonların geçmesine izin

verildiği üçüncü kuadropole (Q3) aktarılırlar. Q2’de oluşan diğer bütün parçalanma ürünü iyonlar dedektöre ulaşmadan filtrelenip dışarı atılırlar. Böylelikle, LC-MS/MS cihazında MRM modu çifte kütle filtresi gibi çalışarak gürültüyü olağanüstü biçimde azaltarak seçicilik ve hassasiyeti artırır.

2.5.4.4. LCMS IT-TOF hibrit cihaz sistemi

TOF-MS cihazlarının en önemli niteliklerinden biri bilinmeyen maddelerin tayininde kullanılabilen moleküler iyon ve parçalanma ürünlerinin elementel kompozisyonunu veren tam kütle ölçümüdür (molekül ağırlığının virgülden sonra dördüncü basamağa kadar doğru ölçümü). TOF-MS cihazları yüksek hızda tarama yapabilir ve yüksek kütle çözünürlüğüne sahiptirler. Ancak MS^n kabiliyetleri yoktur. IT-MS cihazları ise özellikle çoklu fragmentasyon (MS^n) özelliği sayesinde moleküllerin yapısal tayininde çok önemli bir rol oynarlar. Ancak IT-MS cihazları düşük çözünürlüğe sahiptirler (genellikle 1 Da).

Son zamanların en önemli ve sofistike LC-MS cihaz tasarımlarından biri olan UHPLC IT-TOF-MS (yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile birleşik hibrit iyon tuzaklı/uçuş zamanlı kütle spektrometresi) cihazı (Şekil 2.45) hem TOF-MS hem de IT-MS lerden çok daha yüksek hassasiyet ve doğruluğa sahiptir. Bu eşsiz özelliğinin nedeni doğal ürünlerin IT sayesinde MS^n modunda çoklu taraması ile TOF sayesinde tam kütle ölçümlerinin eş zamanlı olarak yapılabilmesidir (Lacorte ve Fernandez-Alba 2006; Liu ve ark. 2011; Liang ve ark. 2010).



Şekil 2.45. Hibrit IT-TOF/MS kütle spektrometresinin iç dizayn şeması (Shimadzu 2009)



Şekil 2.46. LCMS IT-TOF yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresinin fotoğrafı

HPLC ile IT-MS ve TOF-MS cihazlarının beraber kullanılması birçok alanda özellikle de bitkisel sekonder metabolitlerin analizinde yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. LCMS IT-TOF (Şekil 2.46) sisteminin bu alanda kullanımı son yıllarda dünyada hızla artmış olup fitokimyasal analizde önümüzdeki yıllarda baskın rol oynayacağını söyleyebiliriz. Çizelge 2.9’da LCMS IT-TOF cihazı ile yapılmış fitokimyasalların analizlerine ilişkin bilimsel çalışmaların bir özeti verilmiştir.

Çizelge 2.9. LCMS IT-TOF cihazı ile yapılmış bazı fitokimyasal çalışmalar

Analitler	Matriks	Kaynak
4-N-alkilamitler	<i>Spilanthes acmella</i>	Mbeunkui ve ark. 2011
39’den fazla bileşik	<i>Fructus corni</i>	Cao ve ark. 2011
Moscalitin ve gigantol dahil 18 fenolik bileşik	<i>Dendrobium</i>	Zhou ve ar. 2010
Rutaecarpine ve iki tane türevi	Standart bileşikler	Wang ve ark. 2010
5 lignan bileşeni	<i>Schisandra</i> lignanları, ekstre ve rat plazması	Liang ve ark. 2010
30 ginsenosit ve 20 lignan	Shengmai enjeksiyonu	Zheng ve ark. 2009
Proantosiyanidin	Yaban mersini yaprağı	Takeshita ve ark. 2009
Pregnan glikozitleri	<i>Cynanchum auriculatum</i>	Qi ve ark. 2009
Resveratrol, polidatin, emodin-8-O-glikozit, resveratrol, torachryson-8-O-glikozit, emodin-1-O-glikozit, torakrison-8-O-(60-asetil) glikozit, physcion-8-O-glikozit, physcion-8-O-(60-asetil) glikozit andemodin	<i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc	Dong ve ark. 2009
25 antosiyanin	Yaban mersini	Barnes ve ark. 2009
Astragali Radix’in ana bileşenleri	43 <i>Astragali Radix</i> örneği	Tanaka ve ark. 2008
Hedeflenmemiş bileşenler de dahil 87 bileşik	<i>Mai-Luo-Ning</i> enjeksiyonu	Hao ve ark. 2008
Sesamin ve gmelinol	Standart bileşikler	Yan ve ark. 2007
Silkristin A ve B, silidianin, silibin A ve B, izosilibin A ve B	<i>Silybum marianum</i>	Shibano ve ark. 2007
Podofillotoksin ve onun 4’-demetil-4β-süstitü türevleri	Standart bileşikler	Li ve ark. 2007a
Puerarin	Standart bileşik	Li ve ark. 2007b

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Bitkisel Materyal

Achillea L. cinsine ait Türkiye'nin farklı yerlerinden 14 farklı alt türün (*A. biebersteinii* Afan, *A. coarctata* Poir., *A. kotschy* subsp. *kotschy*, *A. lycaonica* Boiss. et Heldr., *A. millefolium* L. subsp. *millefolium* L., *A. schischkinii* Sosn., *A. setacea* Waldst. et Kit. *A. sintenisii* Hub.-Mor., *A. wilhelmsii* C. Koch subsp. *wilhelmsii*, *A. teretifolia* Willd., *A. goniocephala* Boiss. et Bal., *A. nobilis* L. subsp. *neilreichii* (Kerner) Formanek ve *A. spinulifolia* Fenzl ex Boiss. ve *A. monocephala* Boiss. & Balansa) toprak üstü ve toprak altı kısımları toplanmıştır. Kurutulmuş bitki örnekleri Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu (HUEF), Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Herbaryumu (HEF) ve İstanbul Üniversitesi Herbaryumu'nda (ISTE) saklanmaktadır. Bitkilerin herbaryum kayıtları ve toplanma yer ve zamanlarına ilişkin bilgiler çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. *Achillea* türlerinin herbaryum kayıtları

<i>Achillea</i> Türü	Toplanma Yeri	Toplanma Zamanı	Herbaryum Numarası
<i>A. biebersteinii</i>	A4 Ankara: Beytepe Kampüsü, ormana giden yol, 39° 52' 40''K, 32° 43' 49''D, 992 m	Haziran 2014	HUEF 14053
<i>A. coarctata</i>	B5 Nevşehir: Nevşehir'den Aksaray'a, Camiören Köyü'ne 2 km kala, 38° 30' 15''K, 34° 23' 19''D, 1220 m	Temmuz 2014	HEF 15093
<i>A. kotschy</i> subsp. <i>kotschy</i>	B6 Yozgat: Akdağmadeni, Kızılcaova Köyü'nün üstü, Nalbant Tepesi, 39° 31' 14''K, 36° 01' 20''D, 2000 m	Temmuz 2014	HUEF 14044
<i>A. lycaonica</i>	B6 Sivas: Ulaş, Ziyarettepe, 39° 32' 44''K, 37° 02' 11''D, 1450 m	Temmuz 2014	HEF 15095
<i>A. millefolium</i> subsp. <i>millefolium</i>	B6 Yozgat: Akdağmadeni, Karababa Dağı, Çeçialan Köyü güneyi, 39° 32' 27''K, 36° 06' 60''D, 1880 m	Temmuz 2014	HUEF 14047
<i>A. schischkinii</i>	B6 Sivas: Şerefiye, Karabayır Geçişi, 40° 09' 50''K, 37° 50' 53''D, 1925 m	Temmuz 2014	HEF 15097
<i>A. setacea</i>	B6 Sivas: Zara, Avşar Köyü, Arapça yakını 39° 58' 48''K, 37° 45' 09''D, 1300 m	Haziran 2014	HUEF 14046
<i>A. sintenisii</i>	B6 Sivas: Ulaş, Ziyarettepe, 39° 33' 41''K, 37° 00' 52''D, 1430 m	Temmuz 2014	HUEF 14056

Çizelge 3.1. *Achillea* türlerinin herbaryum kayıtları (Devam)

<i>Achillea</i> Türü	Toplanma Yeri	Toplanma Zamanı	Herbaryum Numarası
<i>A. wilhelmsii</i> subsp. <i>wilhelmsii</i>	C5 Niğde: Ovacık Köyü, Ovacık-Çamardı Yolu, 38° 06' 07''K, 34° 49' 17''D, 1350 m	Temmuz 2014	HUEF 14050
<i>A. teretifolia</i>	B3 Afyon: Şuhut, Tekke köyü civarı, 1340 m	Temmuz 2014	HUEF 14055
<i>A. gonioccephala</i>	C5 Niğde: Çamardı, Yelatan Köyü çıkışı, baz istasyonu altındaki yamaçlar, 1410 m	Haziran 2014	HUEF 09889
<i>A. nobilis</i>	A3 Bilecik: Pazaryeri, Küçükemal Mesire yeri, Gölete giderken, yol kenarı, 850 m	Haziran 2014	HUEF 09865
<i>A. spinulifolia</i>	C5 Niğde: Ankara-Pozantı Yolu, 19. Km, Maden Köyü sokağından 1 km yukarı, 37° 30' 41''K, 34° 44' 22''D, 1019m	Haziran 2014	HUEF 09887
<i>A. monocephala</i>	B5 Nevşehir-Ürgüp yolu, 38°38' 08''K, 34° 53' 18''D, 1179m	Mayıs 2014	ISTE 107581

3.2. Kimyasal Standartlar ve Çözücüler

3.2.1. Antioksidan Tayin Yöntemlerinde Kullanılan Kimyasallar

β -Karoten, linoleik asit, kersetin, pirokatekol, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), 2,6-di-*t*-bütil-1-hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), DTNB (5,5-ditiyobis-(2-nitro benzoik asit)), nikotinamid adenindinükleotit (NADH), fenazin-meta sülfat (PMS), nitroblutetrazolyum (NBT), asetilkolinesteraz, butirilkolinesteraz, α -tokoferol, potasyum peroksi disülfat ($K_2S_2O_8$), ABTS ve bakır (II) klorür, Tween-40, kloroform, diklorometan, metanol, etanol, alüminyum nitrat, potasyum asetat, galantamin hidrobromür, neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) Sigma-Aldrich firmasından (St. Louis); asetiltiyokolin iyodür, Folin-Ciocalteu reaktifi (Applichem), butiriltiyokolin iyodür (Fluka), sodyum karbonat, amonyum asetat, sodyum hidrojen fosfat ve sodyum dihidrojen fosfat Riedel-de-Haen firmasından temin edildi. Kullanılan kimyasal maddeler ve tüm çözücüler analitik saflıktadır.

3.2.2. Antikanser (Antiproliferatif Aktivite) Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar ve Organizmalar

Tripsin EDTA (%25) (Sigma), Penicilin streptomycin solüsyonu (Sigma), Fetal bovine serum (heat inactivated) (Sigma), Dulbecco's modified eagle's medium-high glucose (DMEM) (Sigma), HeLa (insan servikal karsinoma hücreleri).

3.2.3. LC-MS/MS Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar

p-Kumarik asit, *o*-kumarik asit, gallik asit, kafeik asit, vanilik asit, salisilik asit, kinik asit, 4-hidroksi benzoik asit, ferulik asit, klorojenik asit, rozmarinik asit, protokateşik asit, sinnamik asit, sinapinik asit, fumarik asit, malik asit, syringic asit, vanilin, kumarin, pirokatekol, fisetin, hesperetin, naringenin, rutin, kesretin, kamferol, mirisetin, kersitrin, luteolin, apigenin, krisin, hesperidin, likiritigenin, izokersitrin, apigetrin, roifolin, nikotiflorin, formik asit, amonyum format, asetonitril, ultrasaf su.

3.3. Cihazlar ve Diğer Gereçler

- LC-MS/MS (Shimadzu LCMS 8040 model)
- LC-MS-IT-TOF (Shimadzu)
- Rotaevaporator (Büchi, İsviçre)
- Otomatik pipetler (10-100 µL, 100-1000 µL, 500-5000 µL) (Eppendorf, Almanya)
- Hassas terazi (Scaltec SBA 31)
- pH-metre (Thermo, Amerika Birleşik Devletleri)
- Jeio-Tech ultrasonik banyo (Kore)
- Ultra saf su cihazı (Sartorius, Arium Pro, Almanya)
- Vortex (LMS Co. LTD, Japonya)

3.4. Ekstrelerin Hazırlanışı

Antioksidan testleri için kullanılan ekstreler hazırlanırken her bitkiden 10'ar gram alınarak etanol (50 mL, 3×8 saat) ile masere edildi. Süzme ve çözücü buharlaştırma işlemlerinden sonra elde edilen ham ekstreler etanolde çözülerek 4000 mg/kg derişimde 4'er mL çözeltiler hazırlandı.

Antikanser çalışması için ekstre hazırlanırken çalışılan her bitkiden 10'ar gram alınarak metanol:kloroform (1:1) (50 mL, 3×8 saat) ile masere edildi. Süzme ve çözücü buharlaştırma işlemlerinden sonra elde edilen ham ekstreler DMSO'da çözülerek 1000 mg/kg derişimde 4'er mL çözeltiler hazırlandı.

LC-MS/MS ve LC-MS-IT-TOF analizleri için iki farklı yöntemle ekstreler hazırlandı. İlk yöntemde, her bitkiden 10'ar gram alınarak etanol (50 mL, 3×8 saat) ile masere edildi. Süzme ve çözücü buharlaştırma işlemlerinden sonra elde edilen ham ekstreler asetonitrilde çözülerek 1000 mg/kg derişimde 2'şer mL çözeltiler hazırlandı. İkinci yöntemde, her bitkiden 10'ar gram alınarak metanol:kloroform (1:1) (50 mL, 3×8 saat) ile masere edildi. Süzme ve çözücü buharlaştırma işlemlerinden sonra elde edilen ham ekstreler asetonitril'de çözülerek 1000 mg/kg derişimde 2'şer mL çözeltiler hazırlandı. Cihazlara verilmeden ekstre çözeltileri 0.22 µm şırınga ucu filtreden geçirilerek HPLC viallerine aktarıldı.

3.5. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit İçeriklerinin Belirlenmesi

3.5.1. Toplam Fenolik Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler

% 2'lik Sodyum karbonat çözeltisinin hazırlanması: 2 g Na_2CO_3 100 mL'lik balon jojeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile hacmine tamamlandı.

Folin-Ciocalteu Fenol Reaktifi (Fosfotungistik-fosfomolibdik asit + CuSO_4) satın alındığı şekilde kullanıldı.

3.5.2. Toplam Flavonoit Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler

% 10'luk Alüminyum nitrat çözeltisinin hazırlanması: 1.76 g $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 10 mL'lik balon jojeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile balonun hacmine tamamlandı.

1 M Potasyum asetat çözeltisinin hazırlanması: 0.96 g CH_3COOK 10 mL'lik balon jojeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile balonun hacmine tamamlandı.

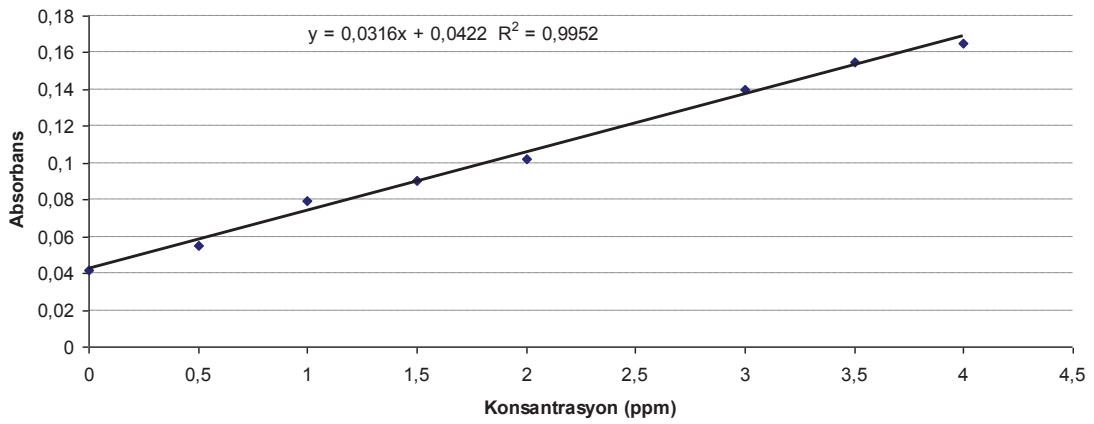
3.5.3. Toplam Fenolik Miktar Tayin Yöntemi

Ekstrelerin toplam fenolik içerikleri Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak pirokatekole eşdeğer olarak belirlendi (Slinkard ve Singleton 1977). 100 ppm'lik pirokatekol çözeltisi hazırlandı ve bu çözeltiden 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 µL alınarak hacimleri distile su ile 184 µL'ye tamamlandı. Achillea türlerinin etanol ekstrelerinin 1000 ppm konsantrasyonda çözeltileri hazırlandı. Bir miligram ekstre içeren örnek

çözeltilerinden 4 µL alındı, distile su ile 184 µL' ye tamamlandı. Pirokatekol çözeltileri ve örneklerle 4 µL Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ve 3 dk sonra %2'lik Na₂CO₃ çözeltisinden 12 µL ilave edildi. Karışım 2 saat süresince oda sıcaklığında bekletildi ve örneklerin absorbansları 760 nm'de okundu. Ekstrelerin toplam fenolik içerikleri standart pirokatekol grafiğinden (Şekil 3-1) elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlendi:

$$\text{Absorbans} = 0.0316(\mu\text{g}) + 0.0422 \quad (R^2: 0.9952)$$

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı.



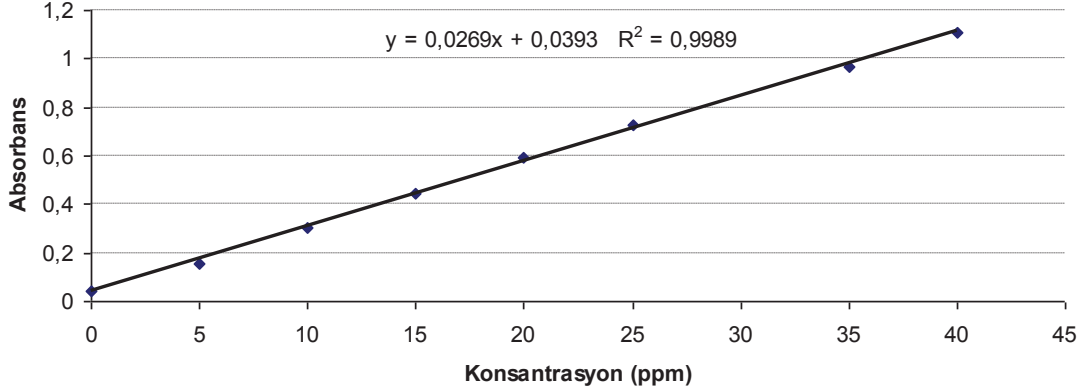
Şekil 3.1. Pirokatekolün Ölçü Grafiği

3.5.4. Toplam Flavonoit Miktar Tayin Yöntemi

Hazırlanan ekstrelerin toplam flavonoit içerikleri kersetine eşdeğer olarak alüminyum nitrat metodu ile belirlendi (Moreno ve ark. 2000). 1000 ppm'lik kersetin çözeltisi hazırlandı ve bu çözeltiden 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 µL alınarak hacimleri %80'lik etanol ile 192 µL'ye tamamlandı. 1 M'lık 4 µL potasyum asetat eklendi ve bir dakika sonra 4 µL % 10'luk alüminyum nitrat ilave edildi. 40 dakika inkübasyon süresinden sonra 415 nm'de mikropłaka reader ile absorbansları okundu. Aynı şekilde Achillea türlerinin etanol ekstrelerinin tek konsantrasyonda (1000 ppm) hazırlanan çözeltilerinin de absorbans değerleri okundu. Ekstrelerin toplam flavonoit içerikleri, standart kersetin grafiğinden (Şekil 3-2) elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlendi:

$$\text{Absorbans} = 0.0269(\mu\text{g}) + 0.0393 \quad (R^2 : 0.9989)$$

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı.



Şekil 3.2. Kersetinin Ölçü Grafiği

3.6. Antioksidan Testleri

3.6.1. β -Karoten Renk Açılım Yönteminde Kullanılan Çözelti

β -Karoten reaktifinin hazırlanması: 0.2 mg β -Karoten 1 mL kloroformda çözülerek bir balona aktarıldı. Üzerine 200 μ L Tween-40 ve 20 μ L linoloik asitten ilave edilip karıştırıldı. Vakum altında kloroform uçurulduktan sonra üzerine daha önceden oksijen ile doyurulmuş 50 mL su ilave edildi ve kuvvetlice çalkalandı.

3.6.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözelti

0.1 mM DPPH çözeltisinin hazırlanması: 4 mg DPPH tartılarak 100 mL etil alkolde çözüldü.

3.6.3. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözelti

7 mM ABTS katyon radikalının hazırlanması: 19.2 mg ABTS tartılarak 5 mL suda çözüldü. Üzerine toz halinde 3.3 mg potasyum peroksi disülfat ($K_2S_2O_8$) eklenip karıştırıldı. Karanlıkta oda sıcaklığında 12-16 saat beklendi. Bekleme süresi sonunda çözelti kullanılmaya başlamadan önce absorpsiyonu ~ 0.70 olacak şekilde seyreltilti.

3.6.4. CUPRAC Yönteminde Kullanılan Çözeltiler

10 mM Bakır (II) klorür dihidrat çözeltisinin hazırlanması: 42.62 mg $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılarak 25 mL suda çözöldü.

1 M Amonyum asetat tamponunun hazırlanması: 1.927 g NH_4OAc tartılarak 25 mL suda çözöldü, pH= 7'ye ayarlandı.

7,5 mM Neokuproin çözeltisinin hazırlanması: 76.6 mg neokuproin tartılarak 50 mL % 96'lık alkolde çözöldü.

3.6.5. Antikolinesteraz Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltiler

0,1 M NaH_2PO_4 Çözeltisinin hazırlanması: 1.56 g NaH_2PO_4 tartılıp 100 mL distile suda çözöldü.

0,1 M Na_2HPO_4 Çözeltisinin hazırlanması: 3.556 g Na_2HPO_4 tartılıp 200 mL distile suda çözöldü.

0,1 M pH=8 Tampon çözeltisinin hazırlanması: 94.7 mL Na_2HPO_4 ve 5.3 mL NaH_2PO_4 çözeltilerinden alındıktan sonra 100 mL distile su eklenerek hazırlandı.

0,1 M pH=7 Tampon çözeltisinin hazırlanması: 3.9 mL NaH_2PO_4 ve 6.1 mL Na_2HPO_4 çözeltilerinden alınarak 10 mL distile su eklenerek hazırlandı.

5 mM DTNB Çözeltisinin hazırlanması: 16 mg 5,5-ditiyobis(2-nitro benzoik asit) (DTNB) 1 mL pH=7 tampon çözeltisinde ve 7.5 mg NaHCO_3 1 mL pH=7 tampon çözeltisinde çözöldükten sonra iki çözelti karıştırıldı. Hazırlanan bu çözelti karışımı, 2 mL pH=7 tampon çözeltisi ile 4 mL'ye tamamlandı. Kullanma aşamasında 4 mL pH=8 tampon çözeltisi ilave edildi. .

7.1 mM Asetiltiyokolin iyodür (AcI): 32.8 mg AcI alınarak, 8 mL distile su eklendi. Kullanma aşamasında 8 mL pH=8 tamponu ile hacmi 16 mL'ye tamamlandı.

0,79 mM Butiriltiyokolin iyodür (BuI): 4 mg BuI alınarak, 8 mL distile su eklendi. Kullanma aşamasında 8 mL pH=8 tamponu ile hacmi 16 mL'ye tamamlandı.

Asetilkolinesteraz enziminin hazırlanması: 1.17 mg (498.3498 U) AChE enzimi alınarak 5 mL pH=8 tampon çözeltisinde çözöldü ve 1'er mL'lik beş bölüme ayrıldı. Her biri için 99.66996 U/mL'lik konsantrasyon sağlanmış oldu ve 1 mL'lik stoklar da 125 μL 'lik 8 eşit bölüme ayrıldı (0,09966996 U/ μL). 125 μL 'lik enzim çözeltisine 460

μL pH=8 tampon çözeltisi eklendi ($0.021297 \text{ U}/\mu\text{L}$) . $585 \mu\text{L}$ çözelti $25 \mu\text{L}$ 'ik 23 tane küçük eppendorf tüplere doldurularak daha sonra kullanılmak üzere derin dondurucuda bekletildi. Stok çözeltiler kullanılmadan önce pH=8 tampon çözeltisiyle $2150 \mu\text{L}$ 'ye tamamlanır ($2,476 \times 10^{-4} \text{ U}/\mu\text{L}$).

Butirilkolinesteraz enziminin hazırlanması: 1 mg (11.4 U) BChE enzimi alınarak 5 mL pH=8 tampon çözeltisinde çözüldü ($2.28 \text{ U}/\text{mL}$). Bu çözeltiden $300 \mu\text{L}$ 'lik stoklar oluşturulup küçük şişelere dolduruldu ve daha sonra kullanılmak üzere derin dondurucuda bekletildi ($0.00228 \text{ U}/\mu\text{L}$). Stok çözeltiler kullanılmadan önce $1850 \mu\text{L}$ pH=8 tampon çözeltisinden eklenerek kullanıma hazır hale getirilir ($3.1813 \times 10^{-4} \text{ U}/\mu\text{L}$).

3.6.6. Standart Çözeltilerinin Hazırlanması

1000 ppm Kersetin çözeltisinin hazırlanması: 25.8 mg kersetin 25 mL etil alkolde çözülerek 1000 ppm 'lik konsantrasyonda kersetin çözeltisi hazırlandı.

100 ppm Pirokatekol çözeltisinin hazırlanması: 10 mg pirokatekol 100 mL su ile çözülerek 100 ppm 'lik pirokatekol çözeltisi hazırlandı.

1000 ppm BHT (2,6-di-t-bütil-1-hidroksitoluen) çözeltisinin hazırlanması: 10 mg BHT 10 mL etanol içinde çözülerek 1000 ppm 'lik BHT çözeltisi hazırlandı. Ayrıca 2500 ppm 'lik çözelti de hazırlandı.

1000 ppm BHA (2- t-bütil-4-hidroksianisol) çözeltisinin hazırlanması: 10 mg BHA 10 mL etanolde çözülerek 1000 ppm 'lik BHA çözeltisi hazırlandı. Ayrıca 2500 ppm 'lik çözelti de hazırlandı.

1000 ppm α -Tokoferol çözeltisinin hazırlanması: % 97'lik 10.31 mg α -tokoferol 10 mL etanolde çözülerek 1000 ppm 'lik α -tokoferol çözeltisi hazırlandı. Ayrıca 2500 ppm 'lik çözelti de hazırlandı.

2500 ppm Gallik asit çözeltisinin hazırlanması: 25 mg gallik asit 10 mL etanolde çözülerek 2500 ppm 'lik gallik asit çözeltisi hazırlanmış olur.

4000 μM Galantamin çözeltisinin hazırlanması: 2.3 mg galantamin 2 mL etanolde çözülerek galantamin çözeltisi hazırlanmış olur.

3.6.7. Antioksidan Tayin Yöntemleri

Antioksidan aktivite tayini için çalışılan 14 *Achillea* bitki türünün metanol ekstraktlarının β -karoten-linoleik asit test sistemi ile toplam antioksidan aktivitesi, DPPH serbest radikal giderim, ABTS katyon radikal giderim ve CUPRAC yöntemleri ile aktiviteleri tayin edildi. Bütün yöntemlerin grafiklerindeki konsantrasyonlar reaksiyon karışımındaki son konsantrasyonlardır.

3.6.7.1. β -Karoten-Linoleik Asit Yöntemi (Toplam Antioksidan Aktivite Tayini)

β -Karoten-linoleik asit test sistemi, linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerin inhibisyonunun ölçülmesine dayanmaktadır (Dapkevicius ve ark. 1998). *Achillea* türlerinin etanol ekstraktlarının 10 miligramı 10 mL etanolde çözülerek stok çözeltileri hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 2, 5, 10 ve 20 μ L alınarak distile su ile hacimleri 40 μ L'ye tamamlandı ve üzerlerine β -karoten-linoleik asit çözeltisinden her bir örneğe 160 μ L ilave edilir edilmez mikropilaka reader ile başlangıç absorbansları 490 nm'de ölçüldü. Hazırlanan çözeltiler 50 °C'de 120 dakika bekletildi (Miller 1971). Bu süre sonunda absorbanslar tekrar ölçüldü. β -Karotenin renk açılım oranı aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$$R = \ln (a/b)/t$$

ln: Doğal logaritma

a: Başlangıç absorbansı

b: İnkübasyonundan sonraki absorbans

t: Zaman (dakika)

Toplam antioksidan aktivite, kontrole göre % inhibisyon olarak aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam Antioksidan Aktivite (\%İnhibisyon)} = [(R_{\text{kontrol}} - R_{\text{örnek}}) / R_{\text{kontrol}}] \times 100$$

R_{kontrol} : Kontrolün renk açılım oranı

$R_{\text{örnek}}$: Örneğin renk açılım oranı

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı. Standart olarak BHT, BHA ve α -Toc kullanıldı.

3.6.7.2.DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) Serbest Radikal Giderim Yöntemi

Ekstrelerin serbest radikal giderim aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak belirlendi (Blois 1958). Achillea türlerinin etanol ekstralarının 10 mg'ı 10 mL etanolde çözülerek stok çözeltileri hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 2, 5, 10 ve 20 μ L alınarak etanol ile hacimleri 40 μ L'ye tamamlandı ve üzerlerine 0.1 mM DPPH çözeltisinden 160 μ L ilave edildi. Hazırlanan çözeltilerin oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika inkübasyondan sonra 517 nm'de absorbansları ölçüldü. Elde edilen bu absorbans değerlerinden % inhibisyon değerleri hesaplandı. Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. Serbest radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

A: Absorbans

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı. Standart olarak BHT, BHA ve α -Toc kullanıldı.

3.6.7.3.ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi

Ekstrelerin ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) kullanılarak belirlendi (Re ve ark. 1999). Achillea türlerinin etanol ekstralarının 10 mg'ı 10 mL etanolde çözülerek stok çözeltileri hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 2, 5, 10 ve 20 μ L alınarak etanol ile hacimleri 40 μ L'ye tamamlandı ve üzerlerine 7 mM ABTS katyon radikali çözeltisinden 160 μ L ilave edildi. Reaksiyon karanlıkta 6 dakika bekletildikten sonra 734 nm'de absorbansları ölçüldü. Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. ABTS katyon radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı. Standart olarak α -Toc, BHT ve (+)-Cat kullanıldı.

3.6.7.4. CUPRAC Yöntemi

CUPRAC yönteminde, örneklerdeki antioksidan bileşikler varlığında Cu(II)-Neokuproin (Nc) kompleksi, renkli Cu(I)-Nc kelatına indirgenir ve bu kelatın 450 nm’de absorbansı ölçülür. Hazırlanan örnekler ve standartların üzerine, son konsantrasyonları 10, 25, 50, 100 µg/mL olacak şekilde Cu (II), neokuproin ve NH₄OAc tamponu ilave edildi ve 1 saat sonra 450 nm’de absorbans ölçüldü (Apak ve ark. 2004). Örneklerin absorbans değerleri standartlara karşı değerlendirildi.

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı. Standart olarak BHT, BHA ve α-Toc kullanıldı.

3.6.8. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi

Asetilkolinin AChE tarafından tiyokoline parçalandıktan sonra, tiyokolinin sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunu vermek üzere 5,5’-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile reaksiyon verdiği kolorimetrik bir yöntem olan Ellman metodu, 96 kuyucuklu mikrolakalarda gerçekleştirildi (Ellman ve ark. 1961).

3.6.8.1. AChE Aktivite Testi

Asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi için enzim olarak asetilkolinesteraz enzimi, substrat olarak ise asetiltiyokolin iyodür kullanılmaktadır. Sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunun konsantrasyonu 412 nm’de mikrolaka reader ile ölçülmektedir. Mikrolakadaki kuyucuklara 130 µL fosfat tamponu (pH =8), ekstrelerin etanol içinde 4000 ppm konsantrasyonda hazırlanan çözeltilerinden 10 µL ve enzim çözeltisinden 20 µL koyuldu. Bu çözelti 10 dakika süre ile 25°C de inkübe edildi. 10 dakika sonra 20 µL DTNB reaktifi ve substrat (asetiltiyokolin iyodür) ilave edildi. Standart olarak galantamin kullanıldı. Mikrolaka ELISA okuyucuya yerleştirilerek 412 nm dalga boyunda absorbans okundu. AChE aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı.

3.6.8.2. BChE aktivite testi

AChE aktivite testinde uygulanan yöntem kullanıldı. Farklı olarak butirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi için enzim olarak at serumundan elde edilen butirilkolinesteraz enzimi, substrat olarak ise butiriltiyokolin iyodür kullanıldı. BChE aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı.

3.6.8.3. İstatistik Hesaplamalar

Antioksidan ve antikolinesteraz aktivite sonuçlarında elde edilen veriler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verildi. Sonuçlar Student's t-testine göre % 95 güven sınırları içinde bulundu. Anlamlılık sınırı olarak $p < 0.05$ kabul edildi. En küçük kareler yönteminin kullanıldığı doğrusal regresyon analizi eğim, intersept ve korelasyon katsayılarının değerlendirilmesiyle yapıldı.

3.7. Antikanser (Antiproliferatif Aktivite) Testleri

Achillea ekstrelerinin antikanser (antiproliferatif aktivite) özellikleri HeLa hücreleri (insan rahim kanseri hücresi) üzerinde bir gerçek zamanlı hücre analizörü (xCELLigence) ile test edildi. Uygulanan xCELLigence sisteminde, çalışılan *Achillea* ekstrelerinin, kontrol ve ortam grubunun ölçümleri için tek kullanımlık E-Plate 96 kullanılmıştır. E-plate 96 plakalarına yapışan hücreler empedans farkına neden olarak ölçümler gerçekleştirilmiştir.

Ortam olarak kullanılan ve % 10 fetal bovine serum ve %2 Streptomisin-Penisilin içeren DMEM, 37 °C'de inkübatörde (%5 CO₂) bekletilmiştir. E-plate 96 kuyucuklarının her birine 100 µL ortam eklenerek inkübatöre konulmuştur. Ardından E-plate 96 plakaları xCELLigence istasyonuna konularak 1 dakika boyunca background empedans ölçümleri yapılmıştır. Daha sonra, her hücre süspansiyonunun 50 µL'si ortam içeren kuyucuklara konularak 20 000 HeLa hücresi/mL şeklinde ayarlanmıştır. Hücrelerin E-plate 96 kuyucuklarına tutunması için plakalar steril kabinde oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Son olarak HeLa hücreleri 3 saat boyunca her 10 dakikada bir bağlanma, büyüme ve proliferasyon için E- Plate 96 'nın dahili sensör

elektrot dizileri ile gözlemlenmiştir. DMSO'da çözünmüş *Achillea* metanol-kloroform ekstreleri 50, 100 ve 250 µg/mL konsantrasyonlara ayarlanarak plaka kuyucuklarına eklenmiş ve son hacim 200 µl'ye ayarlanmıştır. Ardından plakalar hemen inkübatöre konularak 48 saat boyunca her 10 dakikada bir gözlemlenmiştir. Testler üçer defa tekrar edilmiştir.

3.8. LC-MS/MS Cihazı ve Kromatografik Şartlar

37 Fitokimyasalın kalitatif ve kantitatif analizinde kullanılan LC-MS/MS sistemi; Shimadzu Neexera model UHPLC cihazı ile Shimadzu LCMS 8040 model üçlü kuadrupol kütle spektrometre cihazının birleşiminden oluşmaktadır. Kullanılan sıvı kromatografi sistemi LC-30 AD model gradient pompa, DGU-20A3R model degazer, CTO-10ASvp model kolon fırını ve SIL-30AC model oto örnekleyiciden oluşmaktadır. Kromatografik ayırım, Inertsil ODS-4 model C18 (100 mm×2,1 mm, 2µm) kolonda gerçekleştirilmiştir. Analiz sırasında kolon fırını 35 °C'ye ayarlanmıştır. Elüsyon gradiyentinde hareketli faz A için ultrasaf su ve hareketli faz B için asetonitril kullanılmıştır. Ayrıca, daha iyi bir kromatografik ayırım ve iyonlaştırmayı kolaylaştırmak için su fazına 10 mM amonyum format ve % 0,1 formik asit eklenmiştir. Analitlerin optimum ayırımının gerçekleşmesi için yapılan pek çok denemenin ardından en uygun UHPLC gradiyent profili 5-20% B (0-10 dk), 20% B (10-22 dk), 20-50% B (22-36 dk), 95% B (36-40), 5% B (40-50 dk) şeklinde optimize edilmiştir. Hareketli faz akış hızı 0,25 mL/dk ve enjeksiyon hacmi 4 µL olarak belirlenmiştir.

Üçlü kuadrupol kütle spektrometresi hem negatif hem de pozitif modda çalışan bir ESI (elektrosprey iyonlaştırma) kaynağı ile donanımlıdır. LC-ESI-MS/MS verileri cihazda kayıtlı olan by LabSolutions (Shimadzu, Kyoto, Japonya) yazılımı ile toplanarak işlenmiştir. Analitlerin miktarsal tayini için cihaz ile MRM (multiple reaction monitoring) modunda çalışılmış ve moleküler (parent) iyonlar bir veya iki parçalanma ürünü (product ions) (ilki kantitatif amaçlı diğeri kalitatif amaçlı kullanılmıştır) ile kombine edilmiştir. Kütle spektrometresinde optimize edilen diğer parametreler şunlardır: ara yüz (interface) sıcaklığı; 350 °C, DL sıcaklığı; 250 °C, heat block sıcaklığı; 400 °C, nebulizer gaz (N₂) akışı; 3 L/dk ve kurutma gazı (N₂) sıcaklığı; 15 L/dk.

3.9. LCMS IT-TOF Cihazı ve Kromatografik Şartlar

Çalışılan 14 *Achillea* türünün kloroform-metanol (1:1) ekstralarının fitokimyasal içeriğinin kalitatif olarak taranması için Shimadzu LCMS IT-TOF cihazı kullanılmıştır. Bu hibrit cihaz sistemi UHPLC ile yüksek çözünürlüklü bir kütle spektrometresi olan IT-TOF- MS sisteminden oluşmaktadır. Shimadzu marka UHPLC sistem donanımı, bir gradiyent pompa (LC-20AD), bir oto örnekleyici (SIL-20AC), bir gaz giderici (DGU-20A3), bir iletişim modülü (CBM-20A) ve bir kolon fırını (CTO-20AC) içermektedir.

Kromatografik ayırım Shim-pack FC-ODS (150×2 mm) kolon ile akış hızının 0.2 mL/dk ve kolon sıcaklığının 40 °C olduğu şartlarda gerçekleştirilmiştir. Enjeksiyon hacmi 4µL olarak belirlenmiştir. Ayırım gerçekleştirilirken A (% 0.1 formik asit içeren ultra saf su) ve B (% 100 asetonitril) hareketli fazlarıyla gradiyent elüsyon yapılmıştır. Uygulanan gradiyent, 0-5 dk (% 7.5 B), 5-40 dk (% 7.5-65 B), 40-60 dk (% 65-80 B), 60-70 dk (% 95 B) ve 70-83 dk (% 7.5 B) şeklinde belirlenmiştir.

Hibrit IT-TOF-MS yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi hem pozitif hem de negatif modda çalışan ESI iyonlaştırma kaynağı ile donanmıştır. Optimize edilmiş MS şartları şöyledir: + ve - iyon modu; nebulizer gaz (N₂), 1.5 L/dk; kurutma gazı (N₂) basıncı, 100 kPa; CDL sıcaklığı, 200 °C; heat block sıcaklığı, 200 °C; dedektör voltajı, 1.63 kV; elektrosprey voltajı, -4.5 kV; kütle aralığı, *m/z* 100-1000 (MS1); TOF bölme basıncı, 1.4×10⁻⁴Pa; IT basıncı 1.8×10⁻⁴Pa ve iyon birikme zamanı 30 msan. Data toplama ve analizler LCMS Solution Version 3.41(Shimadzu, Japonya) yazılımı ile gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. LC-MS/MS ile 37 Fitokimyasal Maddenin Tanımlanması ve Kantitatif Analizi

Tez çalışmasının bu kısmında, çalışılan *Achillea* türlerinin LC-MS/MS cihazı ile toprak altı ve toprak üstü kısımlarının hem etanol hem de metanol-kloroform (1:1) ekstraktlarının sekonder metabolit profilleri çıkarıldı. LC-MS/MS çalışmasında 37 adet fitokimyasal standart maddenin kalitatif ve kantitatif analizi için çok kapsamlı bir metot hazırlanarak validasyon çalışmaları yapıldı.

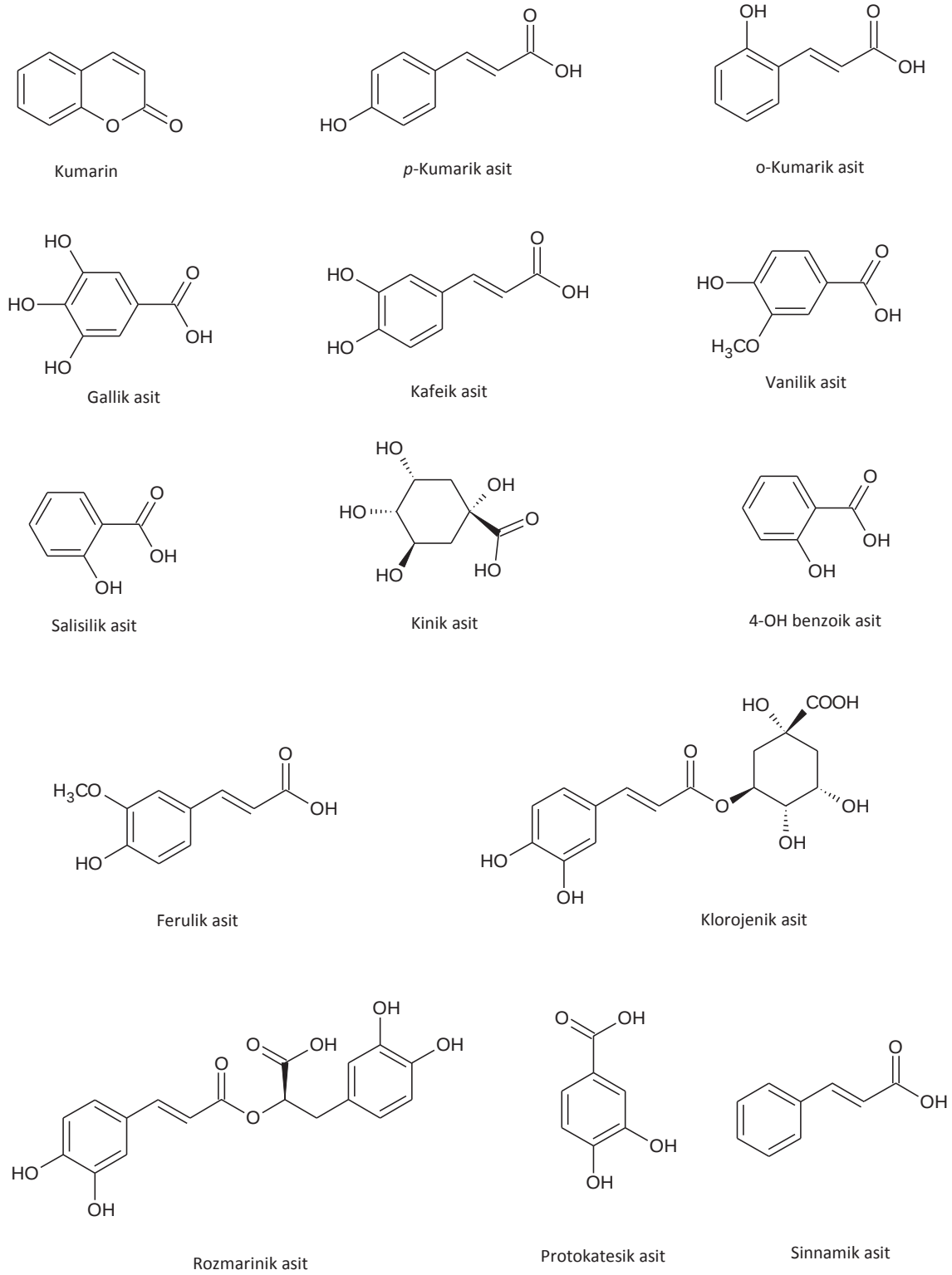
LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler (alınma zamanı (RT), ana (parent) iyonlar: standard bileşiklerin moleküler iyonları (m/z oranı), belirleme katsayısı (R^2), bağıl standart sapma (RSD), belirleme ve tayin alt sınırları (LOD/LOQ ($\mu\text{g/L}$)), 95% güven seviyesinde bağıl standart belirsizlik ($k=2$) (U (%)) çizelge 4.1'de verilmiştir.

LC-MS/MS metodunda kullanılan kimyasallar ve sınıfları şunlardır:

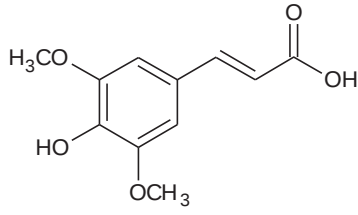
- **Fenolik asitler (15 adet):** p-kumarik asit, o-kumarik asit, gallik asit, kafeik asit, vanilik asit, salisilik asit, 4-hidroksi benzoik asit, ferulik asit, klorojenik asit, rozmarinik asit, protokateşik asit, sinnamik asit, sinapinik asit, sirinjik asit, pirokatekol.
- **Flavonoidler (17 adet):** fisetin, hesperetin, naringenin, rutin, kersetin, kamferol, mirisetin, kersitrin, luteolin, apigenin, krisin, hesperidin, likiritigenin, izokersitrin, apigetrin, roifolin, nikotiflorin.
- **Fenolik olmayan organik asitler (3 adet):** kinik asit, malik asit, fumarik asit.
- **Fenolik aldehit (1 adet):** vanilin.
- **Benzopiran (1 adet):** kumarin.

LC-MS/MS metodunda çalışılan 37 kimyasalın molekül yapıları Şekil 4.1'de verilmiştir.

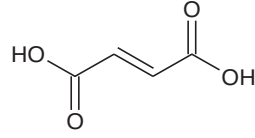
Şekil 4.1. LC-MS/MS metodunda kullanılan fitokimyasalların molekül yapıları



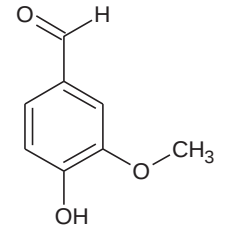
Şekil 4.2. LC-MS/MS metodunda kullanılan fitokimyasalların molekül yapıları (Devam)



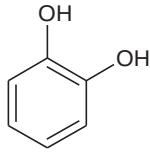
Sinapinik asit



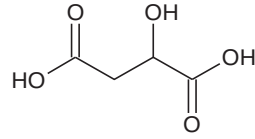
Fumarik asit



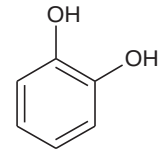
Vanilin



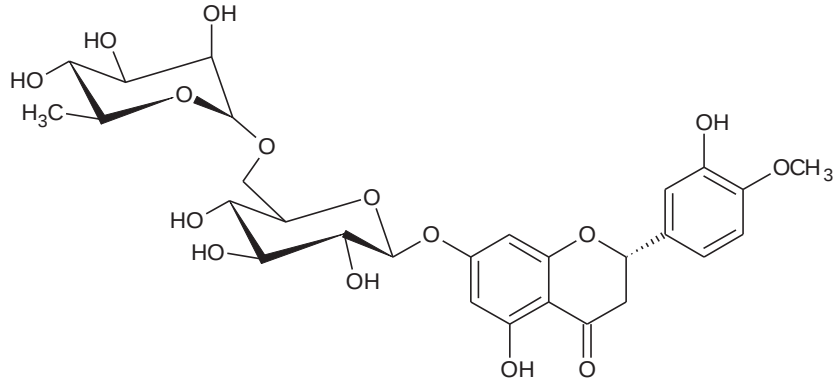
Pirokatekol



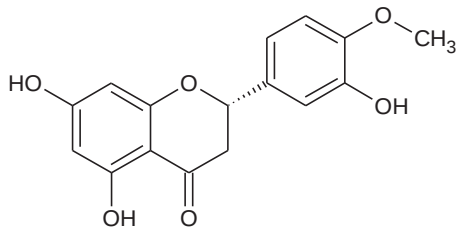
Malik asit



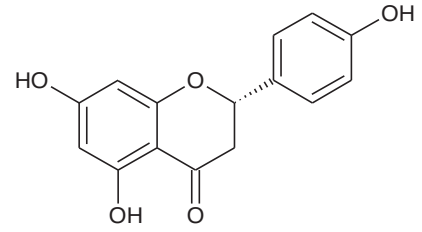
Sirinjik asit



Hesperidin

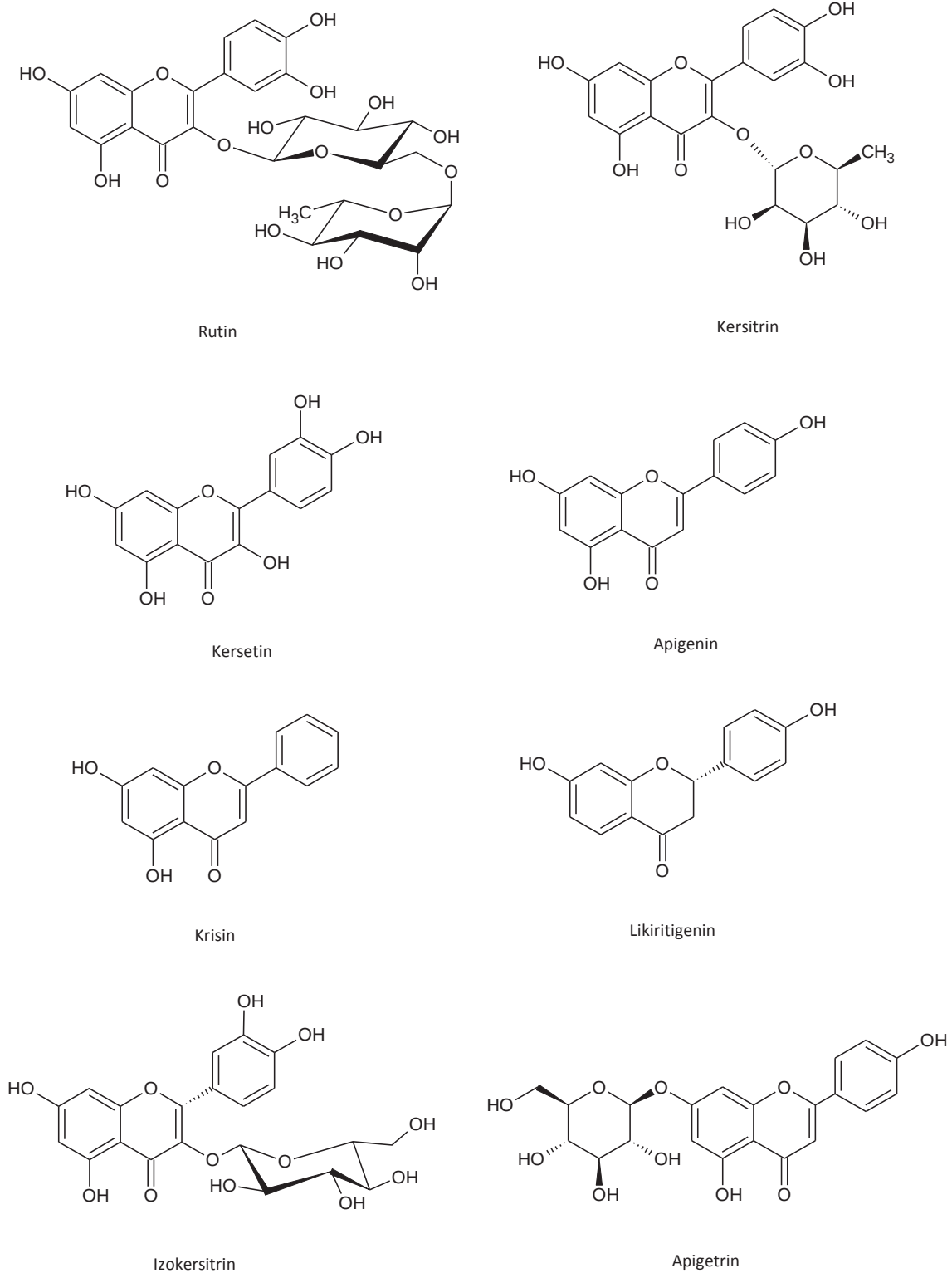


Hesperetin

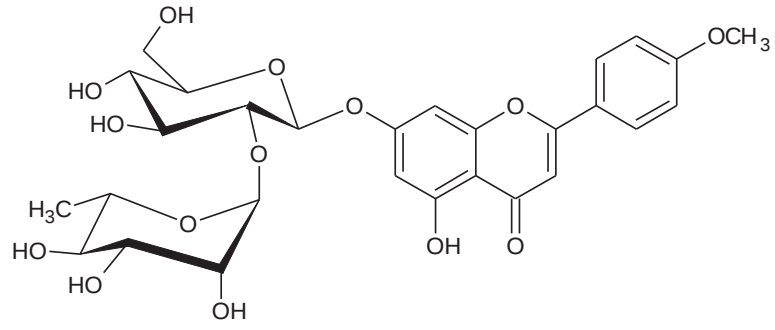


Naringenin

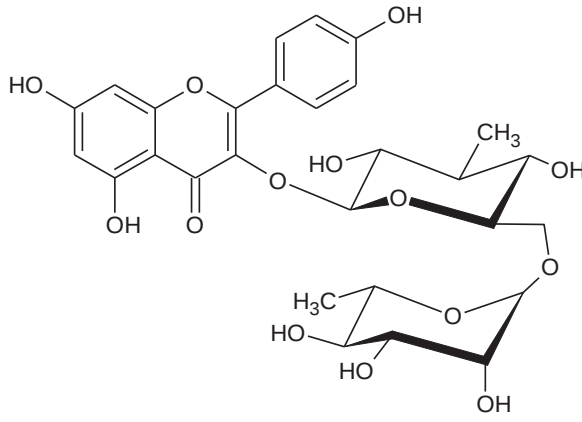
Şekil 4.3. LC-MS/MS metodunda kullanılan fitokimyasalların molekül yapıları (Devam)



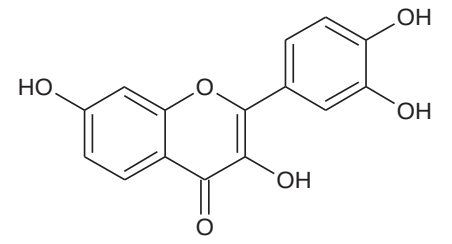
Şekil 4.4. LC-MS/MS metodunda kullanılan fitokimyasalların molekül yapıları (Devam)



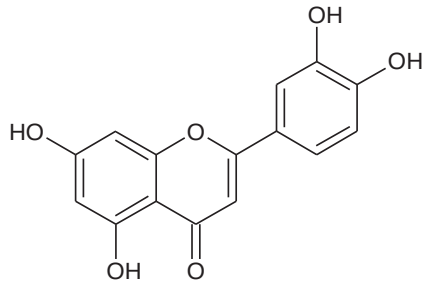
Roifolin



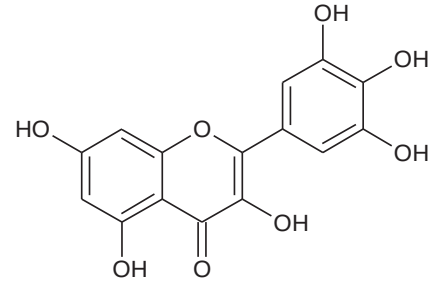
Nikotiflorin



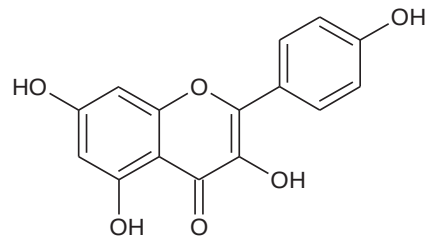
Fisetin



Luteolin



Mirisetin



Kamferol

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çizelge 4.1. LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler (^aRT: Altkonma zamanı, ^bAna iyon(*m/z*):Standard bileşiklerin moleküler iyonları (*m/z* oranı), ^cR²: Belirleme katsayısı, ^dRSD: Bağlı standart sapma, ^eLOD/LOQ (µg/L): Belirleme sınırı/Tayin sınırı, ^fU (%): 95% güven seviyesinde bağlı standart belirsizlik (*k*=2))

No	Analitler	RT ^a	Ana İyon(m/z) ^b	Parçalanma İyonları	İyon Modu	Kalibrasyon Denklemi	R ^{2c}	RSD% ^d		Lineerite		LOD/LOQ (µg/L) ^e	Geri Kazanım (%)	
								Aynı Gün	Farklı Günler	Aralığı (µg/L)	Aynı Gün		Farklı Günler	U ^f
1	Kumarin	17.40	147.05	91.0-103.2	Poz	y=33.64x-89700	0.994	0.01306	0.01239	1000-20000	0.99947	208.4/228.4	1.00081	0.0237
2	Hesperidin	12.67	610.90	303.1-465.1	Poz	y=1340.27x-43769	0.998	0.00945	0.01126	25-1000	1.01733	3.4/4.2	1.01263	0.0262
3	p-Kumarik asit	11.53	162.95	119.3-93.3	Neg	y=3199.20x+13002	0.992	0.01820	0.01727	25-1000	1.00617	7.3/9.1	1.01224	0.0516
4	o-kumarik asit	15.45	162.95	119.4-93.3	Neg	y=1219.34x-10915	0.999	0.02730	0.02566	25-1000	0.98344	24.4/31.1	0.99061	0.0513
5	Gallik asit	3.00	168.85	125.2-79.2	Neg	y=226.76x+38152	0.998	0.01601	0.01443	250-10000	1.00004	95.5/106.9	1.00454	0.0282
6	Kafeik asit	8.80	178.95	135.2-134.3	Neg	y=3963.32x+178156	0.998	0.01454	0.01469	25-1000	1.00917	18.4/22.4	0.98826	0.0354
7	Vanilik asit	8.57	166.90	152.3-108.3	Neg	y=35.84x-12097	0.999	0.00528	0.00619	1000-20000	1.00093	122.2/139.7	1.04095	0.0508
8	Salisilik asit	11.16	136.95	93.3-65.3	Neg	y=5286.26x+309192	0.989	0.01016	0.01242	25-1000	1.00989	5.0/6.5	0.99013	0.0329
9	Kinik asit	1.13	190.95	85.3-93.3	Neg	y=41.06x+10671	0.996	0.00259	0.00274	250-10000	1.00288	75.8/79.4	0.98778	0.0082
10	4-OH-benzoik asit	7.39	136.95	93.3-65.3	Neg	y=409.03x+112079	0.998	0.01284	0.01538	250-10000	0.99662	33.2/38.1	1.00058	0.0289
11	Ferulik asit	12.62	192.95	178.3	Neg	y=80.45x-31782	0.997	0.00708	0.00619	250-10000	0.99987	36.6/42.0	1.00289	0.0494
12	Klorojenik asit	7.13	353.15	191.2	Neg	y=781.36x-18697	0.998	0.00058	0.00076	25-1000	1.00806	6.2/8.1	0.99965	0.0069
13	Rozmarinik asit	14.54	359.00	161.2-197.2	Neg	y=909.67x-201692	0.994	0.02014	0.01751	100-5000	0.99206	6.6/8.8	1.03431	0.0713
14	Protokatesik asit	4.93	152.95	108.3	Neg	y=297.75x+30590	0.995	0.01236	0.01296	100-5000	0.99404	28.2/31.4	1.01070	0.0411
15	Sinamik asit	25.61	147.00	103.15-77.3	Neg	y=9.06x-12403	0.996	0.00648	0.00816	5000-20000	1.00051	821.8/859.7	0.99927	0.0143
16	Sinapinik asit	12.66	222.95	208.3-149.2	Neg	y=141.96x-73294	0.992	0.01446	0.01517	250-10000	1.00164	78.7/86.1	0.99962	0.0281
17	Fumarik asit	1.48	115.00	71.4	Neg	y=64.99x-11592	0.997	0.00536	0.00460	100-5000	0.99748	28.1/34.5	0.99867	0.0124
18	Vanilin	10.87	151.00	136.3-92.2	Neg	y=446.10x+70934	0.998	0.00696	0.00793	250-10000	0.99679	44.3/53.1	0.99611	0.0280

Çizelge 4.1. LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler (Devam)

No	Analitler	RT ^a	Ana İyon(m/z) ^b	Parçalanma İyonları	İyon Modu	Kalibrasyon Denklemi	R ^{2c}	RSD% ^d		Lineerite Arahğı (µg/L)	LOD/LOQ (µg/L) ^e	Geri Kazanım (%)		U ^f
								Aynı Gün	Farklı Günler			Aynı Gün	Farklı Günler	
19	Pirokatekol	6.48	109.00	108.35-91.3	Neg	y=30.61x+14735	0.996	0.01313	0.01339	1000-20000	261.1/278.4	0.99987	0.99936	0.0235
20	Malik asit	1.23	133.00	115.2-71.3	Neg	y=316.95x-42041	0.999	0.00477	0.00527	250-10000	55.3/67.5	1.01266	0.99836	0.0113
21	Sirinjik asit	9.02	196.95	182.2-167.3	Neg	y=42.33x-52547	0.996	0.01049	0.01345	1000-20000	212.5/233.3	0.99922	0.99977	0.0238
22	Hesperetin	31.76	300.95	164.2-136.2	Neg	y=876.67x+48916	0.997	0.03209	0.02605	25-1000	5.6/6.9	0.98850	0.99435	0.0562
23	Naringenin	30.68	270.95	151.2-119.3	Neg	y=4315.1x+178410	0.995	0.02054	0.02019	25-1000	5.4/6.4	0.99883	1.01002	0.0521
24	Rutin	12.61	609.05	300.1-271.1	Neg	y=561.91x-16879	0.997	0.00473	0.00624	25-1000	5.5/6.5	1.00994	0.98017	0.0159
25	Kersetin	28.17	300.90	151.2-179.2	Neg	y=1198.48x+480562	0.990	0.01589	0.01360	100-5000	23.3/28.9	0.98470	1.00103	0.0543
26	Kersitrin	16.41	447.15	301.1-255.1	Neg	y=339.39x+38910	0.999	0.01528	0.02320	100-5000	22.0/25.2	0.99726	1.00620	2.0079
27	Apigenin	31.43	268.95	117.3-151.2	Neg	y=4548.36x+295252	0.990	0.02304	0.02204	25-1000	5.4/6.3	1.01444	1.01331	0.0650
28	Krisin	36.65	252.95	143.3-119.4	Neg	y=2032.13x+95593	0.993	0.00490	0.00630	25-1000	5.4/6.2	1.00338	1.00437	2.0083
29	Likiritigenin	25.62	254.95	119.3-135.1	Neg	y=2384.96x+59141	0.996	0.01849	0.01738	25-1000	5.5/6.6	1.00333	0.99957	0.0341
30	İzokersitrin	13.42	463.00	300.1-271.1	Neg	y=803.23x+4981	0.999	0.00682	0.00515	25-1000	5.4/6.3	1.00594	1.00722	0.0133
31	Apigetrin	16.59	431.00	268.2-239.2	Neg	y=1775.55x+91121	0.993	0.01797	0.01607	25-1000	5.4/6.1	1.01394	1.00419	0.0597
32	Roifolin	16.11	577.05	269.2-211.1	Neg	y=237.15x+11887	0.999	0.00747	0.01528	100-5000	23.1/27.9	1.01046	1.01739	0.0941
33	Nikotiflorin	14.68	593.05	285.1-255.2	Neg	y=498.38x+79274	0.991	0.00737	0.00875	100-5000	22.4/25.5	1.02558	1.00970	0.0276
34	Fisetin	19.30	284.95	135.2-121.3	Neg	y=547.46x+274791	0.991	0.00557	0.00820	250-10000	54.4/61.4	0.99877	1.00031	0.0148
35	Luteolin	28.27	284.75	133.2-151.2	Neg	y=3272.65x+150557	0.997	0.00575	0.00696	25-1000	5.4/6.5	1.00772	0.99524	0.0174
36	Mirisetin	18.72	317.00	179.2-151.3	Neg	y=583.55x+205727	0.999	0.00652	0.00711	250-10000	53.2/57.2	0.99982	1.00042	0.0126
37	Kamiferol	31.88	284.75	255.1-117.3	Neg	y=26.29x+87558	0.992	0.01436	0.01070	1000-20000	206.6/214.3	0.99971	0.99851	0.0209

4.1.1. LC-MS/MS Metod Validasyon Parametreleri

Metodun performans özellikleri standart çözeltiler, standart ekleme (spike) yapılmış ve yapılmamış numuneler uygulanarak belirlenmiştir. Bu amaçla metod validasyonu kapsamında doğrusalılık (lineerite), gerçeklik (geri kazanım), kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik), belirleme ve tayin alt sınırı (LOD/LOQ) ile bağlı standart belirsizlik ($U = 95\%$ güven seviyesinde ($k=2$)) parametreleri değerlendirilmiştir. Validasyon çalışmalarına ilişkin parametreler çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

4.1.2. Doğrusallık (Lineerite)

37 adet fitokimyasal standart maddenin kalitatif ve kantitatif analizini gerçekleştirmek için gruplandırma yapılarak 5 farklı konsantrasyon aralığında (Çizelge 4.2) kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. LC-MS/MS metodundaki standartların lineer aralığının belirlenmesi için 3 tekrarlı 6 noktalı kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Kalibrasyon eğrilerine ait denklemler ve belirleme katsayıları (R^2) çizelge 4.1'de gösterilmiştir. Analitlerin kalibrasyon grafikleri Ek 1-4'te verilmiştir.

Çizelge 4.2. Standart maddeler için kullanılan kalibrasyon noktalarının derişimleri ($\mu\text{g/L}$)

Grup	Analitler	Kalib-1	Kalib-2	Kalib-3	Kalib-4	Kalib-5	Kalib-6
1	Hesperidin, p-kumarik asit, o-kumarik asit, kafeik asit, salisilik asit, klorojenik asit, hesperetin, naringenin, rutin, apigenin, krisin, likiritigenin, izokersitrin, apigenin, luteolin.	25	50	100	250	500	1000
2	Rozmarinik asit, protokateşik asit, fumarik asit, kersetin, kersitrin, roifolin, nikotiflorin.	100	250	500	1000	2500	5000
3	Gallik asit, kinik asit, 4-OH-benzoik asit, ferulik asit, sinapinik asit, vanilin, malik asit, fisetin, mirisetin	250	500	1000	2500	5000	10000
4	Kumarin, pirokatekol, vanilik asit, sirinjik asit, kamferol.	1000	2500	5000	10000	15000	20000
5	Sinamik asit	5000	7500	10000	12500	15000	20000

4.1.3. Gerçeklik (Geri Kazanım) ve Kesinlik (Tkrarlanabilirlik)

Metodun gerçeklik ve kesinlik çalışmaları, seçilen bir *Achillea* ekstresine aynı günde altı defa ve farklı günler içerisinde (3 farklı günde) altışar defa üç farklı konsantrasyonda (düşük, orta ve yüksek) her standardın kalibrasyonuna göre standart ekleme yapılarak gerçekleştirilmiştir. Aynı gün ve farklı günlerde yapılan çalışmalar

sonucunda, gerçeklik ve kesinliği belirlemek üzere geri kazanım ve % RSD değerleri bulunmuştur (Çizelge 4.1). Ayrıca gerçeklik ve kesinlik çalışmalarına ilişkin datalar Ek 61-168’de verilmiştir.

4.1.4. Belirleme ve Tayin Alt Sınırları (LOD/LOQ)

LC-MS/MS metodunda kullanılan standartların belirleme (LOD) ve tayin (LOQ) alt sınırlarının tespit edilmesinde analit içermeyen bir ekstreden hazırlanan 10 eş örneğe standardın sinyal verdiği en düşük derişimde standart ekleme yapılarak cihaza enjekte edilmiştir. LOD ve LOQ değerleri aşağıdaki eşitliklere göre hesaplanmıştır (Çizelge 4.1):

$$\text{LOD} = \text{Ortalama} + 3 \times \text{Standart Sapma}$$

$$\text{LOQ} = \text{Ortalama} + 10 \times \text{Standart Sapma}$$

Ayrıca LOD ve LOQ çalışmalarına ilişkin datalar Ek 5’te verilmiştir.

4.1.5. Bağlı Standart Belirsizlik (U^{95})

Analitlerin standart bağlı belirsizlikleri EURACHEM Guide’a göre gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik çalışmalarıyla belirlenmiştir (EURACHEM CITAC Guide, 2004). Herbir analit için yapılan belirsizlik çalışmalarının detayları Ek 61-168’de gösterilmiştir.

4.1.6. LC-MS/MS ile Çalışılan *Achillea* Türlerindeki Fitokimyasalların Kantitatif Analizi

14 *Achillea* türünün fitokimyasal madde içerikleri (kalitatif ve kantitatif olarak) LC-MS/MS cihazında validasyon çalışmaları yapılan metot ile belirlendi. Çalışılan türlerin tüm ekstrelerinin fenolik asitlerce ve birçok ekstrenin flavonoidlerce zengin olduğu görülmektedir. Bu türlerin hem etanol hem de metanol-kloroform (1:1) ekstreleri analiz edildi. Sonuçlar, Çizelge 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.8, 4.9, 4.10 ve 4.11’de verilmiştir.

4.1.6.1. Metanol-Kloroform (1:1) Ekstrelerinin İncelenmesi

Achillea türleri incelendiğinde genel olarak fenolik asit bakımından toprak altı ekstresinin toprak üstü kısmına göre daha zengin, flavonoidler açısından ise bunun tam tersi olduğu görülmektedir. Çalışılan *Achillea* türlerinin toprak altı ve toprak üstü

kısımlarının metanol-kloroform (1:1) ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analizine ilişkin sonuçlar aşağıda değerlendirilmiştir. Verilen miktarlar µg analit/g ekstre cinsindendir.

A. monocephala'nın toprak altı ve toprak üstü kısımlarında kinik asit (sırasıyla 29136.17 ve 14652.8), fumarik asit (sırasıyla 12986.93 ve 3430.83), klorojenik asit (sırasıyla 22666.9 ve 8213.09) ve vanilik asit (sırasıyla 1811.78 ve 1468.81) kayda değer miktardadır. Bunun yanında *A. monocephala*'nın toprak altı ekstresinde dikkate değer miktarda kafeik asit (2358.22) vardır. Ayrıca bu türün toprak üstü kısımlarında luteolin (1134.82) ve apigenin (2211.27) flavonoidleri göze çarpmaktadır.

A. nobilis türünün toprak altı ve toprak üstü kısımlarında da, kinik asit (sırasıyla 26301.69 ve 11475.37), malik asit (sırasıyla 6203.86 ve 8087.27), klorojenik asit (sırasıyla 31983.8 ve 12561.5) ve kafeik asit (toprak altı: 2862.66) kayda değer miktardadır. Bunun yanında *A. nobilis*'in toprak üstü kısımlarında apigetrin (330.45), kesretin (295.99), luteolin (876.26) ve apigenin (1495.44) flavonoidleri göze çarpmaktadır.

A. goniocephala türünün toprak altı ve toprak üstü kısımlarına bakacak olursak, kinik (sırasıyla 5460.06 ve 6693.52), malik (sırasıyla 1560.67 ve 2890.53), klorojenik (sırasıyla 7662.71 ve 5569.28) ve vanilik asitler (sırasıyla 7662.71 ve 2319.19) önemli miktardadır. Ayrıca bu türün toprak üstü kısmında rutin(2906.9), hesperidin (1244.77), izokersitrin (763.22) ve luteolin (588.32) kayda değer miktardadırlar.

A. sintenisii türünün toprak altı ve toprak üstü kısımlarında önemli miktarda bulunan fenolik bileşenler şunlardır: kinik asit (sırasıyla 4999.64 ve 2149.06), fumarik asit (sırasıyla 2295.12 ve 1211.81), klorojenik asit (sırasıyla 2790.66 ve 1840.88) ve vanilik asit (sırasıyla 3543.48 ve 902.58). Ayrıca bu türün toprak üstü kısmında luteolin (774.64) ve apigenin (444.85) flavonoidleri göze çarpmaktadır.

A. coarctata türünün toprak altı ve toprak üstü kısımlarına bakılacak olursa, kinik (sırasıyla 11403.52 ve 14375.68), malik (sırasıyla 7063.26 ve 7260.8), fumarik asit (sırasıyla 2503.21 ve 2370.24), klorojenik (sırasıyla 13803.1 ve 6803.31) ve vanilik asitler (sırasıyla 2360.13 ve 1034.98) önemli miktardadır. Ayrıca bu türün toprak üstü kısmında rutin (5410.5), hesperidin (2775.2), izokersitrin (523.22) ve luteolin (561.32) kayda değer miktardadırlar.

A. kotschy türünün toprak altı ve toprak üstü kısımları incelendiğinde, kinik (sırasıyla 27039.16 ve 22933.86), malik (sırasıyla 9154.24 ve 9326.51), klorojenik (sırasıyla 51065.9 ve 13651.9) asitler önemli miktardadırlar. Bununla birlikte bu türün toprak üstü kısmında rutin (2334.74), hesperidin (1026.07), izokersitrin (1912.14), apigetrin (3472.24), luteolin (1492.34) ve apigenin (1629.36) flavonoidleri göze çarpmaktadır.

A. millefolium türünün toprak altı ve toprak üstü kısımlarında da, kinik (sırasıyla 8892.92 ve 11313.68), malik (sırasıyla 7767.44 ve 12945.44), fumarik (sırasıyla 2303.34 ve 2650.24) ve klorojenik (sırasıyla 8044.43 ve 7254.8) asitler ile rutin (sırasıyla 5526.96 ve 5477.93), hesperidin (sırasıyla 1772.42 ve 2018.19), izokersitrin (sırasıyla 784.6 ve 716.58), apigetrin (sırasıyla 1070.94 ve 999.49), luteolin (sırasıyla 1300.12 ve 1279.92) ve apigenin (sırasıyla 400.14 ve 469.11) flavonoidleri kayda değer miktardadırlar.

A. lycaonica türü incelenecek olursa kinik (toprak altı; 15166.66), malik (toprak altı; 2821.72, toprak üstü; 8572.75), klorojenik (toprak altı; 12682.7, toprak üstü; 2424.83), vanilik (toprak altı; 2123.72) ve kafeik asitler (toprak altı; 1641.72) dikkate değer orandadırlar.

A. wilhelmsii türünün toprak altı ve toprak üstü kısımlarına bakılacak olursa, kinik (sırasıyla 16249.27 ve 5376.98), malik (sırasıyla 4561.66 ve 4035.27) ve klorojenik (sırasıyla 18429.4 ve 5793.79) asitler önemli miktarda vardır.

A. spinulifolia türünün toprak altı ve toprak üstü kısımları incelendiğinde, kinik (sırasıyla 16857.29 ve 8070.33), malik (sırasıyla 2574.58 ve 5120.19), fumarik (sırasıyla 3205.79 ve 1994.04), klorojenik (sırasıyla 20553.6 ve 5776.53) ve vanilik asitler (sırasıyla 4120.21 ve 1869.63) ve toprak altı kısmında vanilin (1400.22) kayda değer miktarda mevcuttur. Bununla birlikte bu türün toprak üstü kısmında rutin (2198.4), hesperidin (898.41), izokersitrin (1291.28), luteolin (721.5) ve naringenin (579.73) flavonoidleri önemli miktarda vardır.

A. teretifolia türünün toprak altı ve toprak üstü kısımlarında kinik (sırasıyla 10191.81 ve 11571.33), malik (sırasıyla 8410.86 ve 6123.28), fumarik (sırasıyla 2326.74 ve 1486.88), klorojenik (sırasıyla 12360.7 ve 15762.9) ve vanilik asitler (toprak altı kısmında; 3603.33) ve vanilin (toprak altı kısmında; 2186.15) önemli

miktardadırlar. Ayrıca flavonoidlerden toprak üstünde rutin (819.92), luteolin (299.14) ve kamferol (454.23) kayda değer miktardadır.

A. biebersteinii türünün toprak altı ve toprak üstü kısımları incelendiğinde malik (sırasıyla 5111.99 ve 4907.9) ve klorojenik (sırasıyla 6061.5 ve 1478.15) asitler göze çarpmaktadır. Ayrıca türün toprak üstü kısmında flavonoidlerden izokersitrin (685.37), apigetrin (958.82), luteolin (2251.62) ve apigenin (1634.49) önemli miktarda bulunmuştur.

A. setacea türünün toprak altı ve toprak üstü kısımlarına bakılacak olursa, kinik (sırasıyla 14375.78 ve 12155.59), malik (sırasıyla 9189.34 ve 10163.53), klorojenik asitler (sırasıyla 13098.7 ve 4816.38) önemli miktarda bulunmuştur. Ayrıca bu türün toprak üstü kısmında rutin (4031.24), hesperidin (1447.11), izokersitrin (787.75), apigetrin (551.64), luteolin (1137.08) ve apigenin (441.06) kayda değer miktardadırlar.

A. schischkinii türünün toprak altı ve toprak üstü kısımları incelenecek olursa kinik (sırasıyla 20558.16 ve 15654.68), malik (sırasıyla 3417.5 ve 3392.77), fumarik (sırasıyla 2103.42 ve 2024.28), klorojenik (sırasıyla 11536.5 ve 12430.3) ve vanilik asitler (sırasıyla 3707.74 ve 1273.18) kayda değer miktarda bulunmuşlardır. Ayrıca bu türün toprak üstü kısmında rutin (2350.23), hesperidin (927.43), izokersitrin (1305.29) ve luteolin (1476.68) flavonoidler dikkate değer miktardadır.

Çizelge 4.3. *Achillea* türlerinin metanol-kloroform ekstratlarının LC-MS-MS ile kantitatif analizi (Fitokimyasallar numaralarla belirtilmiştir. 1: Kinik asit, 2: Malik asit, 3: Fumarik asit, 4: Gallik asit, 5: Protokateşik asit, 6: Pirokatekol, 7: Klorojenik asit, 8: 4-OH-benzoik asit, 9: Vanilik asit, 10: Kafeik asit) (Derişim birimi: µg analit/g ekstre)

Tür (Toprak Üstü)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>A. schischkinii</i>	15654.68	3392.77	2024.28	-	191.78	-	12430.30	-	1273.18	262.25
<i>A. setacea</i>	12155.59	10163.53	2397.59	-	145.98	-	4816.38	-	1381.24	176.90
<i>A. biebersteinii</i>	1384.85	4907.9	1305.23	-	366.82	-	1478.15	-	1094.19	145.28
<i>A. teretifolia</i>	11571.33	6123.28	1486.88	-	100.43	-	15762.9	-	374.45	123.18
<i>A. spinulifolia</i>	8070.33	5120.19	1994.04	-	209.29	-	5776.53	-	1869.63	251.32
<i>A. wilhelmsii</i>	5376.98	4035.27	1025.46	-	69.60	-	5793.79	-	473.88	98.09
<i>A. lycaonica</i>	1948.37	8572.75	1424.11	-	53.14	-	2424.83	-	676.59	70.90
<i>A. millefolium</i>	11313.68	12945.44	2650.24	-	202.02	-	7254.80	-	1008.75	127.98
<i>A. kotschy</i>	22933.86	9326.51	1841.59	-	324.40	-	13651.9	-	642.81	220.87
<i>A. coarctata</i>	14375.68	7260.80	2370.24	-	232.82	-	6803.31	-	1034.98	99.77
<i>A. sintenisii</i>	2149.06	1139.53	1211.81	-	51.040	-	1840.88	-	902.58	45.71
<i>A. gonioccephala</i>	6693.52	2890.53	1809.80	-	198.38	-	5569.28	-	2319.19	498.51
<i>A. nobilis</i>	11475.37	8087.27	1586.90	-	148.75	-	12561.50	-	382.60	378.58
<i>A. monocephala</i>	14652.80	881.48	3430.83	-	319.98	-	8213.09	-	1468.81	216.58

Çizelge 4.3. (Devam)

Tür (Toprak Altı)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>A. schischkinii</i>	20558.16	3417.500	2103.42	-	260.29	-	11536.50	-	3707.74	979.79
<i>A. setacea</i>	14375.78	9189.34	1988.06	-	80.75	-	13098.70	-	2192.97	269.03
<i>A. biebersteinii</i>	2057.53	5111.99	1972.19	-	278.88	-	6061.50	-	2208.59	148.63
<i>A. teretifolia</i>	10191.81	8410.86	2326.74	-	275.30	-	12360.70	-	3603.33	221.46
<i>A. spinulifolia</i>	16857.29	2574.58	3205.79	-	320.03	-	20553.60	-	4120.21	833.49
<i>A. wilhelmsii</i>	16249.27	4561.66	1043.30	-	123.77	-	18429.40	-	1338.4	141.18
<i>A. lycaonica</i>	15166.66	2821.72	1664.18	-	146.48	-	12682.70	-	2123.72	1641.72
<i>A. millefolium</i>	8892.92	7767.44	2303.34	-	180.72	-	8044.43	-	1163.32	128.85
<i>A. kotschy</i>	27039.16	9154.24	1936.10	-	200.18	-	51065.90	-	976.08	257.18
<i>A. coarctata</i>	11403.52	7063.26	2503.21	-	211.04	-	13803.10	-	2360.13	90.29
<i>A. sintenisii</i>	4999.64	1273.00	2295.12	-	130.98	-	2790.66	-	3543.48	267.71
<i>A. goniocephala</i>	5460.06	1560.67	1988.42	-	231.31	-	7662.71	-	4780.55	692.84
<i>A. nobilis</i>	26301.69	6203.86	1072.60	-	107.48	-	31983.80	-	794.46	2862.66
<i>A. monocephala</i>	29136.17	1184.15	12986.93	-	409.41	-	22666.90	-	1811.78	2358.22

Çizelge 4.4. *Achillea* türlerinin metanol-kloroform ekstralarının LC-MS-MS ile kantitatif analizi (Fitokimyasallar numaralarla belirtilmiştir. 11: Sirinjik asit, 12: Vanilin, 13: Salisilik asit, 14: p-kumarik asit, 15: Rutin, 16: Ferulik asit, 17: Sinapinik asit, 18: Hesperidin, 19: İzokersitrin, 20: Rozmarinik asit) (Derişim birimi: µg analit/g ekstre)

Tür (Toprak Üstü)	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
<i>A. schischkinii</i>	-	448.01	199.72	67.47	2350.23	131.08	-	927.43	1305.29	70.72
<i>A. setacea</i>	-	239.68	126.08	23.56	4031.24	-	-	1447.11	787.75	-
<i>A. biebersteinii</i>	-	236.73	173.95	29.97	39.16	-	-	23.98	685.37	-
<i>A. teretifolia</i>	-	140.45	60.54	27.79	819.92	-	-	293.04	245.92	-
<i>A. spinulifolia</i>	-	385.05	154.51	29.97	2198.4	-	-	898.41	1291.28	-
<i>A. wilhelmsii</i>	-	99.37	129.95	13.58	106.32	-	-	66.52	215.32	-
<i>A. lycaonica</i>	-	128.48	63.98	13.16	10.76	-	-	6.35	13.45	-
<i>A. millefolium</i>	-	160.86	207.32	29.12	5477.93	89.84	-	2018.19	716.58	-
<i>A. kotschy</i>	-	150.70	286.90	26.59	2334.74	-	-	1026.07	1912.14	-
<i>A. coarctata</i>	-	113.60	234.04	18.96	5410.50	-	-	2775.20	523.22	-
<i>A. sintenisii</i>	-	281.21	38.82	69.07	265.04	-	-	184.62	44.12	-
<i>A. goniocephala</i>	-	997.89	221.38	89.65	2906.90	-	-	1244.77	763.22	-
<i>A. nobilis</i>	-	90.29	103.61	25.63	14.64	-	-	5.75	104.97	-
<i>A. monocephala</i>	-	144.67	80.45	13.55	7.29	101.10	-	-	15.31	-
Tür (Toprak Altı)										
<i>A. schischkinii</i>	-	1198.67	77.69	254.49	141.87	347.38	-	86.27	28.72	-
<i>A. setacea</i>	-	372.40	139.46	37.36	74.85	118.27	-	46.18	50.25	-
<i>A. biebersteinii</i>	-	383.98	113.78	98.55	10.42	-	-	6.24	159.97	-
<i>A. teretifolia</i>	-	2186.15	158.76	122.00	115.36	-	-	57.27	41.57	-
<i>A. spinulifolia</i>	-	1400.22	332.14	165.25	349.97	173.09	-	174.57	145.77	-
<i>A. wilhelmsii</i>	-	328.39	23.30	137.65	52.94	46.49	-	32.30	29.49	-
<i>A. lycaonica</i>	-	456.51	17.35	193.20	105.56	142.26	-	63.52	111.69	-
<i>A. millefolium</i>	-	166.66	119.14	25.11	5526.96	-	-	1772.42	784.6	-
<i>A. kotschy</i>	-	202.67	116.35	105.75	100.48	-	-	55.80	98.37	-
<i>A. coarctata</i>	-	422.10	100.81	69.90	885.40	235.63	-	439.69	178.58	-
<i>A. sintenisii</i>	-	1758.78	49.52	226.05	302.45	-	-	116.81	113.27	-
<i>A. goniocephala</i>	-	1384.91	66.82	290.67	193.37	188.59	-	114.60	79.27	-
<i>A. nobilis</i>	-	264.44	80.83	91.05	44.50	-	-	24.66	23.67	-
<i>A. monocephala</i>	-	463.23	160.88	370.18	30.59	-	-	15.84	16.57	-

Çizelge 4.5. *Achillea* türlerinin metanol-kloroform ekstralarının LC-MS-MS ile kantitatif analizi (Fitokimyasallar numaralarla belirtilmiştir. 21: Nikotiflorin, 22: o-kumarik asit, 23: Roifolin, 24: Kersitrin, 25: Apigetrin, 26: Kumarin, 27: Mirisetin, 28: Fisetin, 29: Sinnamik asit) (Derişim birimi: µg analit/g ekstre)

Tür (Toprak Üstü)	21	22	23	24	25	26	27	28	29
<i>A. schischkinii</i>	238.22	-	-	-	72.17	-	-	-	-
<i>A. setacea</i>	104.27	-	-	-	551.64	-	-	-	-
<i>A. biebersteinii</i>	15.42	-	-	-	958.82	-	-	-	-
<i>A. teretifolia</i>	77.80	-	-	-	7.66	-	-	-	-
<i>A. spinulifolia</i>	70.35	-	-	-	9.30	-	-	-	-
<i>A. wilhelmsii</i>	-	-	-	-	7.18	-	-	-	-
<i>A. lycaonica</i>	-	-	-	-	6.17	-	-	-	-
<i>A. millefolium</i>	122.09	-	-	-	999.49	-	-	-	-
<i>A. kotschy</i>	87.34	-	-	-	3472.24	-	-	-	-
<i>A. coarctata</i>	253.17	-	-	-	47.75	-	-	-	-
<i>A. sintenisii</i>	62.49	-	-	-	106.10	-	-	-	-
<i>A. goniocephala</i>	186.44	-	-	-	34.42	-	-	-	-
<i>A. nobilis</i>	-	-	-	-	330.45	-	-	-	-
<i>A. monocephala</i>	-	-	-	-	171.86	-	-	-	-
Tür (Toprak Altı)									
<i>A. schischkinii</i>	-	-	-	-	11.72	-	-	-	-
<i>A. setacea</i>	-	-	-	-	30.10	-	-	-	-
<i>A. biebersteinii</i>	-	-	-	-	17.87	-	-	-	-
<i>A. teretifolia</i>	14.91	-	-	-	11.93	-	-	-	-
<i>A. spinulifolia</i>	-	-	-	-	6.31	-	-	-	-
<i>A. wilhelmsii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. lycaonica</i>	-	-	-	-	36.55	-	-	-	-
<i>A. millefolium</i>	119.07	-	-	-	1070.94	-	-	-	-
<i>A. kotschy</i>	-	-	-	-	53.23	-	-	-	-
<i>A. coarctata</i>	30.56	-	-	-	1.92	-	-	-	-
<i>A. sintenisii</i>	79.68	-	-	-	20.16	-	-	-	-
<i>A. goniocephala</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. nobilis</i>	-	-	-	-	12.92	-	-	-	-
<i>A. monocephala</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Çizelge 4.6. *Achillea* türlerinin metanol-kloroform ekstralarının LC-MS-MS ile kantitatif analizi (Fitokimyasallar numaralarla belirtilmiştir30: Likiritigenin, 31: Kersetin, 32: Luteolin, 33: Naringenin, 34: Apigenin, 35: Hesperetin, 36: Kamferol, 37: Krisin) (Derişim birimi: µg analit/g ekstre)

Tür (Toprak Üstü)	30	31	32	33	34	35	36	37
<i>A. schischkinii</i>	-	154.50	1476.68	157.02	112.16	52.99	-	-
<i>A. setacea</i>	-	145.86	1137.08	13.61	441.06	6.90	-	123.26
<i>A. biebersteinii</i>	-	510.68	2251.62	39.69	1634.49	5.82	42.98	5.10
<i>A. teretifolia</i>	-	177.27	299.14	17.69	58.72	-	454.23	-
<i>A. spinulifolia</i>	-	153.90	721.50	579.73	33.31	111.16	-	-
<i>A. wilhelmsii</i>	-	16.15	119.33	-	12.75	-	-	-
<i>A. lycaonica</i>	-	7.58	208.39	-	14.51	-	-	-
<i>A. millefolium</i>	-	54.63	1279.92	-	469.11	-	-	-

Çizelge 4.6. *Achillea* türlerinin metanol-kloroform ekstralarının LC-MS-MS ile kantitatif analizi (Devam)

Tür (Toprak Üstü)	30	31	32	33	34	35	36	37
<i>A. kotschy</i>	-	335.58	1492.34	22.35	1629.36	3.44	-	-
<i>A. coarctata</i>	-	208.41	561.32	9.53	84.52	6.47	-	-
<i>A. sintenisii</i>	-		774.64	12.96	444.85	6.97	-	-
<i>A. goniocephala</i>	-	118.39	588.32	32.05	51.38	38.85	-	-
<i>A. nobilis</i>	-	295.99	876.26	12.30	1495.44	7.30	77.89	-
<i>A. monocephala</i>	-	54.41	1134.82	23.72	2211.27	9.55	-	-
Tür (Toprak Altı)								
<i>A. schischkinii</i>	-	-	54.25	-	7.29	-	-	-
<i>A. setacea</i>	-	-	36.79	-	13.55	-	-	12.69
<i>A. biebersteinii</i>	-	108.58	69.25	-	35.01	-	-	-
<i>A. teretifolia</i>	-	-	39.88	-	15.32	-	-	-
<i>A. spinulifolia</i>	-	5.08	107.84	-	10.07	-	-	-
<i>A. wilhelmsii</i>	-	-	10.36	-	3.29	-	-	-
<i>A. lycaonica</i>	-	17.50	134.63	-	67.01	-	-	-
<i>A. millefolium</i>	-	131.02	1300.12	-	400.14	-	-	-
<i>A. kotschy</i>	-	24.40	29.28	-	25.15	-	-	-
<i>A. coarctata</i>	-	-	29.11	-	6.31	-	-	-
<i>A. sintenisii</i>	-	10.62	339.16	9.88	48.86	7.71	-	-
<i>A. goniocephala</i>	-	-	45.34	12.77	3.69	-	-	-
<i>A. nobilis</i>	-	38.16	143.08	-	390.77	-	-	-
<i>A. monocephala</i>	-	-	41.75	-	12.83	-	-	-

4.1.6.2. Etanol Ekstrelerinin İncelenmesi

Achillea türleri incelendiğinde incelenen fitokimyasallardan bazılarının metanol-kloroform (1:1) bazılarının da etanol ekstresinde çok çıktığı gözlemlenmiştir. Çalışılan *Achillea* türlerinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarının etanol ekstralarının LC-MS/MS ile kantitatif analizine ilişkin sonuçlar aşağıda değerlendirilmiştir. Verilen miktarlar µg analit/g ekstre cinsindendir.

A. monocephala'nın toprak üstü ve toprak altı kısımlarında kinik (sırasıyla 10996.89 ve 33190.45), fumarik (sırasıyla 5105.82 ve 9390.42), klorojenik (sırasıyla 12733.6 ve 25990.9), vanilik (sırasıyla 1812.55 ve 1750.77) ve kafeik asitler (toprak üstü: 2674.49) kayda değer miktardadır. Ayrıca bu türün toprak üstü kısımlarında luteolin (2343.39) ve apigenin (5205.2) flavonoidleri göze çarpmaktadır.

A. nobilis türünün toprak üstü ve toprak altı kısımlarında da, kinik asit (sırasıyla 10354.27 ve 8024.03), malik asit (sırasıyla 3613.71 ve 6984.96) ve klorojenik asitler (sırasıyla 21303.1 ve 46407) kayda değer miktardadır. Bunun yanında *A. nobilis*'in toprak üstü kısımlarında rutin (2440), hesperidin (511.66), izokersitrin (2234.09), kersetin (621.45) ve luteolin (563.37) flavonoidleri göze çarpmaktadır.

A. gonioccephala türünün toprak üstü ve toprak altı kısımlarına bakacak olursak, kinik (sırasıyla 8945.28 ve 4749.99), malik (sırasıyla 3268.45 ve 1025.9), klorojenik (sırasıyla 13663.8 ve 5440.9) ve vanilik asitler (sırasıyla 1321.29 ve 5376.57) önemli miktardadır. Ayrıca bu türün toprak üstü kısmında rutin (5961.2), hesperidin (1859.84), izokersitrin (2053.51) ve luteolin (830.08) kayda değer miktardadırlar.

A. sintenisii türünün toprak üstü ve toprak altı kısımlarında önemli miktarda bulunan fenolik bileşenler şunlardır: kinik asit (sırasıyla 2689.41 ve 6335.38), klorojenik asit (sırasıyla 3085.73 ve 2474.77) ve toprak altı kısmında vanilik asit (1982.04) ve vanilin (1707.28). Ayrıca türün toprak üstü kısmında rutin (650.31), luteolin (1395.23) ve apigenin (608.18) flavonoidleri göze çarpmaktadır.

A. coarctata türünün toprak üstü ve toprak altı kısımlarına bakılacak olursa, kinik (sırasıyla 14353.52 ve 13087.58), malik (sırasıyla 6787.14 ve 6835.89), klorojenik (sırasıyla 11455.5 ve 20212.4) ve vanilik asitler (sırasıyla 1076.59 ve 1221.54) ile rutin (sırasıyla 11120.52 ve 1248.82) önemli miktardadır. Ayrıca bu türün toprak üstü kısmında hesperidin (3949.89), izokersitrin (1262.16) kersetin (1081.84) ve luteolin (854.07) kayda değer miktardadırlar.

A. kotschyi türünün toprak üstü ve toprak altı kısımları incelendiğinde, kinik (sırasıyla 15784.55 ve 22706.73), malik (sırasıyla 5343.31 ve 3474.18), klorojenik (sırasıyla 24257.9 ve 55812.2) asitler önemli miktardadırlar. Bununla birlikte bu türün toprak üstü kısmında rutin (4018.88), hesperidin (1210.77), izokersitrin (3535.16), apigetrin (5358.4), kersetin (591.84), luteolin (1518.62) ve apigenin (2167.55) flavonoidleri göze çarpmaktadır.

A. millefolium türünün toprak üstü ve toprak altı kısımlarında da, kinik (sırasıyla 8960.77 ve 8287.72), malik (sırasıyla 10067.45 ve 5514.18) ve klorojenik (sırasıyla 11249.7 ve 11406.9) asitler kayda değer miktardadırlar. Ayrıca bu türün toprak üstü kısmında rutin (7696.17), hesperidin (2245.19), izokersitrin (1328.87), apigetrin (1464.77), luteolin (1497.72) ve apigenin (419.53) flavonoidleri dikkate değer miktardadırlar.

A. lycaonica türü incelenecek olursa kinik (toprak altı; 7695.4), malik (toprak üstü; 7056.43, toprak üstü; 8572.75), klorojenik (toprak altı; 9030.99, toprak üstü;

4978.32) ve kafeik asitler (toprak altı; 1396.22) ile luteolin (toprak üstü; 480.52) dikkate değer orandadırlar.

A. wilhelmsii türünün toprak üstü ve toprak altı kısımlarına bakılacak olursa, kinik (sırasıyla 16163.94 ve 15776.34), malik (sırasıyla 11038.45 ve 3722.71) ve klorojenik (sırasıyla 18354.7 ve 15483.6) asitler önemli miktarda vardır.

A. spinulifolia türünün toprak üstü ve toprak altı kısımları incelendiğinde, kinik (sırasıyla 6720.17 ve 17631.42), klorojenik (sırasıyla 10670.5 ve 28277.8) ve vanilik asitler (sırasıyla 1609 ve 2481.97) ve toprak altı kısmında vanilin (1278.91) kayda değer miktarda mevcuttur. Bununla birlikte bu türün toprak üstü kısmında rutin (3383.97), hesperidin (1309.23), izokersitrin (2241.42), luteolin (727.23) ve naringenin (328.63) flavonoidleri önemli miktarda vardır.

A. teretifolia türünün toprak üstü ve toprak altı kısımlarında kinik (sırasıyla 6194.91 ve 7643.08), malik (sırasıyla 3405.83 ve 4000.83), klorojenik (sırasıyla 5646.06 ve 15820.3) ve vanilik asitler (toprak altı kısmında; 2035.01) önemli miktardadırlar. Ayrıca flavonoidlerden toprak üstü ve toprak altı kısımlarında rutin (sırasıyla 672.56 ve 672.12), izokersitrin (sırasıyla 635.42 ve 672.12), kersetin (sırasıyla 4432.36 ve 9085.56), toprak üstü kısmında luteolin (2613.32) kayda değer miktardadır.

A. biebersteinii türünün toprak üstü ve toprak altı kısımları incelendiğinde malik (sırasıyla 3040.6 ve 3536.3), klorojenik (sırasıyla 1874.46 ve 7533.31) asitler göze çarpmaktadır. Ayrıca türün toprak üstü kısmında flavonoidlerden izokersitrin (918.84), apigetrin (1599.57), kersetin (662.56), luteolin (2535.41) ve apigenin (1496.74) önemli miktarda bulunmuştur.

A. setacea türünün toprak üstü ve toprak altı kısımlarına bakılacak olursa, kinik (sırasıyla 10067.71 ve 8023.43), malik (sırasıyla 5812.82 ve 6192.07), klorojenik asitler (sırasıyla 7435.26 ve 15923.7) önemli miktarda bulunmuştur. Ayrıca bu türün toprak üstü kısmında rutin (7461.23), hesperidin (2562.7), izokersitrin (1162.85), apigetrin (1098.25), luteolin (1824.69) ve apigenin (523.16) kayda değer miktardadırlar.

A. schischkinii türünün toprak üstü ve toprak altı kısımları incelenecek olursa kinik (sırasıyla 38293.02 ve 24116.77), malik (sırasıyla 9990.55 ve 3007.55) ve klorojenik (sırasıyla 17894.4 ve 21860.6) kayda değer miktarda bulunmuşlardır. Ayrıca bu türün toprak üstü kısmında rutin (1108.34), hesperidin (441.85), izokersitrin

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

(1167.57) kersetin (515.66) ve luteolin (1930.59) flavonoidler dikkate değer miktardadır.

Tüm ekstreler (14 *Achillea* türünün toprak üstü ve toprak üstü kısımlarının etanol ile metanol-kloroform (1:1) ekstreleri) dikkate alındığında her bir analitin miktarının en çok olduğu ekstre aşağıda çizelge 4.7.'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. Analitlerin miktarının (µg analit/g ekstre) en çok bulunduğu ekstreler (TÜ: Toprak üstü, TA: Toprak altı)

No	Analit	Miktarı en çok olan tür	Ekstre	Miktar
1	Kumarin*	-	-	-
4	o-kumarik asit	-	-	-
5	Gallik asit	-	-	-
10	4-OH-benzoik asit	-	-	-
15	Sinamik asit	-	-	-
16	Sinapinik asit	-	-	-
19	Pirokatekol	-	-	-
21	Sirinjik asit	-	-	-
26	Kersitrin	-	-	-
29	Likiritigenin	-	-	-
32	Roifolin	-	-	-
34	Fisetin	-	-	-
36	Mirisetin	<i>A. teretifolia</i>	Etanol-TA	21.15
22	Hesperetin	<i>A. spinulifolia</i>	MeOH-CHCl ₃ -TÜ	111.16
13	Rozmarinik asit	<i>A. schischkinii</i>	MeOH-CHCl ₃ -TÜ	70.72
28	Krisin	<i>A. setacea</i>	Etanol-TÜ	196.68
8	Salisilik asit	<i>A. spinulifolia</i>	MeOH-CHCl ₃ -TA	332.14
11	Ferulik asit	<i>A. schischkinii</i>	MeOH-CHCl ₃ -TA	347.38
3	p-Kumarik asit	<i>A. monocephala</i>	MeOH-CHCl ₃ -TA	370.18
37	Kamferol	<i>A. teretifolia</i>	MeOH-CHCl ₃ -TÜ	454.23
14	Protokateşik asit	<i>A. biebersteinii</i>	Etanol-TÜ	451.93
23	Naringenin	<i>A. spinulifolia</i>	MeOH-CHCl ₃ -TÜ	579.73
33	Nikotiflorin	<i>A. goniocephala</i>	Etanol-TÜ	615.97
18	Vanilin	<i>A. teretifolia</i>	MeOH-CHCl ₃ -TA	2186.15
35	Luteolin	<i>A. teretifolia</i>	Etanol-TÜ	2613.32
6	Kafeik asit	<i>A. nobilis</i>	MeOH-CHCl ₃ -TA	2862.66
31	Apigetrin	<i>A. kotschy</i>	MeOH-CHCl ₃ -TÜ	3472.24
30	İzokersitrin	<i>A. kotschy</i>	Etanol-TÜ	3535.16
2	Hesperidin	<i>A. coarctata</i>	Etanol-TÜ	3949.89
27	Apigenin	<i>A. monocephala</i>	Etanol-TÜ	5205.2
7	Vanilik asit	<i>A. goniocephala</i>	Etanol-TA	5376.57
25	Kersetin	<i>A. teretifolia</i>	Etanol-TA	9085.56
24	Rutin	<i>A. coarctata</i>	Etanol-TÜ	11120.52
20	Malik asit	<i>A. millefolium</i>	MeOH-CHCl ₃ -TÜ	12945.44
17	Fumarik asit	<i>A. monocephala</i>	MeOH-CHCl ₃ -TA	12986.93
9	Kinik asit	<i>A. schischkinii</i>	Etanol-TÜ	38293.02
12	Klorojenik asit	<i>A. kotschy</i>	Etanol -TA	55812.20

Çizelge 4.8. *Achillea* türlerinin etanol ekstraktlarının LC-MS-MS ile kantitatif analizi (Fitokimyasallar numaralarla belirtilmiştir. 1: Kinik asit, 2: Malik asit, 3: Fumarik asit, 4: Gallik asit, 5: Protokateşik asit, 6: Pirokatekol, 7: Klorojenik asit, 8: 4-OH-benzoik asit, 9: Vanilik asit, 10: Kafeik asit) (Derişim birimi: µg analit/g ekstre)

Tür (Toprak Altı)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>A. schischkinii</i>	24116.77	3007.55	1121.66	-	214.30	-	21860.60	-	1981.17	2414.94
<i>A. setacea</i>	8023.43	6192.07	1412.62	-	93.59	-	15923.70	-	1802.89	341.94
<i>A. biebersteinii</i>	1794.30	3536.30	1488.68	-	213.47	-	7533.31	-	1622.97	179.23
<i>A. teretifolia</i>	7643.08	4000.83	1100.88	-	361.12	-	15820.30	-	2035.01	599.27
<i>A. spinulifolia</i>	17631.42	971.22	1727.79	-	254.85	-	28277.80	-	2481.97	1305.97
<i>A. wilhelmsii</i>	15776.34	3722.71	702.62	-	67.91	-	15483.60	-	443.61	105.02
<i>A. lycaonica</i>	7695.40	1730.38	859.52	-	92.22	-	9030.99	-	581.47	1396.22
<i>A. millefolium</i>	8287.72	5514.18	1444.08	-	55.73	-	11406.90	-	1188.17	301.18
<i>A. kotschy</i>	22706.73	3474.18	1016.95	-	116.90	-	55812.20	-	489.77	237.59
<i>A. coarctata</i>	13087.58	6835.89	1101.26	-	92.05	-	20212.40	-	1221.54	210.12
<i>A. sintenisii</i>	6335.38	494.55	1395.23	-	78.07	-	2474.77	-	1982.04	637.12
<i>A. goniocephala</i>	4749.99	1025.90	1293.00	-	-	-	5440.90	-	5376.57	511.03
<i>A. nobilis</i>	8024.03	6984.96	897.76	-	101.40	-	46407.00	-	1401.27	189.10
<i>A. monocephala</i>	33190.45	1547.07	9390.42	-	373.31	-	25990.9	-	1750.77	2674.49
Tür (Toprak Üstü)										
<i>A. schischkinii</i>	38293.02	9990.55	1443.39	-	412.13	-	17894.40	-	476.06	345.60
<i>A. setacea</i>	10067.71	5812.82	1333.00	-	129.66	-	7435.26	-	948.37	232.09
<i>A. biebersteinii</i>	1373.68	3040.60	954.07	-	451.93	-	1874.46	-	648.84	129.70
<i>A. teretifolia</i>	6194.91	3405.83	1442.57	-	326.67	-	5646.06	-	1278.64	265.26
<i>A. spinulifolia</i>	6720.17	2799.63	1348.42	-	228.39	-	10670.50	-	1609.00	302.89
<i>A. wilhelmsii</i>	16163.94	11038.45	2011.01	-	213.91	-	18354.70	-	438.23	202.82
<i>A. lycaonica</i>	2509.40	7056.43	803.66	-	86.75	-	4978.32	-	429.91	105.31
<i>A. millefolium</i>	8960.77	10067.45	1216.86	-	144.03	-	11249.70	-	348.86	231.22
<i>A. kotschy</i>	15784.55	5343.31	1097.50	-	343.84	-	24257.90	-	599.11	307.11
<i>A. coarctata</i>	14353.52	6787.14	1637.13	-	305.15	-	11455.50	-	1076.59	183.14
<i>A. sintenisii</i>	2689.41	694.04	747.29	-	73.12	-	3085.73	-	812.19	165.22
<i>A. goniocephala</i>	8945.28	3268.45	1240.63	-	204.23	-	13663.80	-	1321.29	309.86
<i>A. nobilis</i>	10354.27	3613.71	1097.80	-	178.77	-	21303.10	-	703.49	160.83
<i>A. monocephala</i>	10996.89	502.04	5105.82	-	351.29	-	12733.60	-	1812.55	314.21

Çizelge 4.9. *Achillea* türlerinin etanol ekstraktlarının LC-MS-MS ile kantitatif analizi (Fitokimyasallar numaralarla belirtilmiştir. 11: Sirinjik asit, 12: Vanilin, 13: Salisilik asit, 14: p-kumarik asit, 15: Rutin, 16: Ferulik asit, 17: Sinapinik asit, 18: Hesperidin, 19: İzokersitrin, 20: Rozmarinik asit) (Derişim birimi: µg analit/g ekstre)

Tür (Toprak Altı)	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
<i>A. schischkinii</i>	-	904.02	34.85	297.71	173.82	328.95	-	101.15	50.60	-
<i>A. setacea</i>	-	603.78	105.80	40.26	87.36	-	-	49.06	42.91	-
<i>A. biebersteinii</i>	-	459.70	63.56	57.32	-	-	-	-	151.37	-
<i>A. teretifolia</i>	-	411.97	140.82	46.87	672.12	-	-	292.88	635.42	-
<i>A. spinulifolia</i>	-	1278.91	175.50	134.08	310.40	-	-	205.20	149.50	-
<i>A. wilhelmsii</i>	-	204.90	14.57	83.81	32.38	-	-	21.42	23.53	-

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çizelge 4.9. (Devam)

Tür (Toprak Altı)	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
<i>A. lycaonica</i>	-	207.01	7.56	134.79	5.80	-	-	6.89	42.06	-
<i>A. millefolium</i>	-	333.23	42.35	33.85	115.18	-	-	89.77	62.08	-
<i>A. kotschy</i>	-	160.26	48.99	55.32	115.36	-	-	73.81	90.11	-
<i>A. coarctata</i>	-	305.83	51.37	75.31	1248.82	170.29	-	723.13	151.00	-
<i>A. sintenisii</i>	-	1707.28	30.89	197.77	152.32	44.66	-	104.91	38.71	39.14
<i>A. goniocephala</i>	-	1573.02	-	222.83	135.74	-	-	112.92	53.96	-
<i>A. nobilis</i>	-	377.04	58.62	35.85	50.44	72.52	-	21.91	106.99	-
<i>A. monocephala</i>	-	470.67	141.51	264.32	11.48	78.56	-	6.47	6.26	-
Tür (Toprak Üstü)										
<i>A. schischkinii</i>	-	110.24	149.32	63.74	1108.34	129.06	-	441.85	1167.57	78.98
<i>A. setacea</i>	-	184.19	83.16	12.20	7461.23	-	-	2562.70	1162.85	-
<i>A. biebersteinii</i>	-	132.27	78.95	17.86	61.09	-	-	28.42	918.84	-
<i>A. teretifolia</i>	-	156.50	152.64	12.7	672.56	-	-	236.06	773.75	-
<i>A. spinulifolia</i>	-	239.41	96.83	21.41	3383.97	-	-	1309.23	2241.42	-
<i>A. wilhelmsii</i>	-	70.84	240.36	15.74	359.92	-	-	106.59	727.40	-
<i>A. lycaonica</i>	-	61.15	41.33	14.78	39.22	-	-	14.35	48.55	-
<i>A. millefolium</i>	-	67.19	80.75	17.09	7696.17	-	-	2245.19	1328.87	-
<i>A. kotschy</i>	-	81.37	140.89	20.45	4018.88	-	-	1210.77	3535.16	11.02
<i>A. coarctata</i>	-	140.16	221.09	26.54	11120.52	-	-	3949.89	1262.16	-
<i>A. sintenisii</i>	-	237.22	29.62	101.32	650.31	-	-	275.10	114.27	-
<i>A. goniocephala</i>	-	376.14	209.88	35.95	5961.20	-	-	1859.84	2053.51	-
<i>A. nobilis</i>	-	121.05	164.24	-	2440.00	-	-	511.66	2234.09	-
<i>A. monocephala</i>	-	155.99	75.91	18.48	25.23	119.08	-	8.36.00	44.29	-

Çizelge 4.10. *Achillea* türlerinin etanol ekstraktlarının LC-MS-MS ile kantitatif analizi (Fitokimyasallar numaralarla belirtilmiştir. 21: Nikotiflorin, 22: o-kumarik asit, 23: Roifolin, 24: Kersitrin, 25: Apigetrin, 26: Kumarin, 27: Mirisetin, 28: Fisetin, 29: Sinnamik asit, 30: Likiritigenin, 31: Kersetin, 32: Luteolin, 33: Naringenin, 34: Apigenin, 35: Hesperetin, 36: Kamferol, 37: Krisin) (Derişim birimi: µg analit/g ekstre)

Tür (Toprak Altı)	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
<i>A. schischkinii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. setacea</i>	-	-	-	-	12.13	-	-	-	-	-
<i>A. biebersteinii</i>	-	-	-	-	13.35	-	-	-	-	-
<i>A. teretifolia</i>	-	-	-	-	-	-	21.15	-	-	-
<i>A. spinulifolia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. wilhelmsii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. lycaonica</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. millefolium</i>	-	-	-	-	29.74	-	-	-	-	-
<i>A. kotschy</i>	-	-	-	-	57.06	-	-	-	-	-
<i>A. coarctata</i>	26.63	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. sintenisii</i>	58.67	-	-	-	9.50	-	-	-	-	-
<i>A. goniocephala</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. nobilis</i>	-	-	-	-	3.59	-	-	-	-	-
<i>A. monocephala</i>	-	-	-	-	8.30	-	-	-	-	-

Çizelge 4.10. *Achillea* türlerinin etanol ekstraktlarının LC-MS-MS ile kantitatif analizi (Devam)

Tür (Toprak Üstü)	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
<i>A. schischkinii</i>	93.93	-	-	-	44.24	-	-	-	-	-
<i>A. setacea</i>	169.15	-	-	-	1098.25	-	-	-	-	-
<i>A. biebersteinii</i>	27.64	-	-	-	1599.57	-	-	-	-	-
<i>A. teretifolia</i>	17.51	-	-	-	19.11	-	-	-	-	-
<i>A. spinulifolia</i>	125.07	-	-	-	19.89	-	-	-	-	-
<i>A. wilhelmsii</i>	-	-	-	-	19.37	-	-	-	-	-
<i>A. lycaonica</i>	-	-	-	-	15.58	-	-	-	-	-
<i>A. millefolium</i>	163.74	-	-	-	1464.77	-	-	-	-	-
<i>A. kotschy</i>	176.95	-	-	-	5358.40	-	-	-	-	-
<i>A. coarctata</i>	429.16	-	-	-	85.51	-	-	-	-	-
<i>A. sintenisii</i>	183.77	-	-	-	160.86	-	-	-	-	-
<i>A. goniocephala</i>	615.97	-	-	-	123.16	-	-	-	-	-
<i>A. nobilis</i>	67.42	-	-	-	42.74	-	-	-	-	-
<i>A. monocephala</i>	-	-	-	-	475.01	-	-	-	-	-

Çizelge 4.11. *Achillea* türlerinin etanol ekstraktlarının LC-MS-MS ile kantitatif analizi (Fitokimyasallar numaralarla belirtilmiştir. 31: Kersetin, 32: Luteolin, 33: Naringenin, 34: Apigenin, 35: Hesperetin, 36: Kamferol, 37: Krisin) (Derişim birimi: µg analit/g ekstre)

Tür (Toprak Altı)	31	32	33	34	35	36	37
<i>A. schischkinii</i>	27.14	88.07	-	-	-	-	-
<i>A. setacea</i>	14.44	63.88	-	10.78	-	-	36.32
<i>A. biebersteinii</i>	285.05	46.75	-	25.71	-	-	-
<i>A. teretifolia</i>	9085.56	190.56	121.98	14.99	52.83	51.75	-
<i>A. spinulifolia</i>	41.84	92.20	-	-	-	-	-
<i>A. wilhelmsii</i>	-	8.52	-	-	-	-	-
<i>A. lycaonica</i>	9.84	55.38	-	25.05	-	-	-
<i>A. millefolium</i>	18.34	64.33	-	12.43	-	-	-
<i>A. kotschy</i>	75.44	19.90	-	26.76	-	-	-
<i>A. coarctata</i>	204.86	39.30	-	12.46	-	-	-
<i>A. sintenisii</i>	40.72	275.17	-	42.56	-	-	-
<i>A. goniocephala</i>	-	39.31	11.78	-	-	-	-
<i>A. nobilis</i>	31.75	23.13	-	-	-	-	-
<i>A. monocephala</i>	-	76.69	-	170.81	-	-	-

Çizelge 4.11. (Devam)

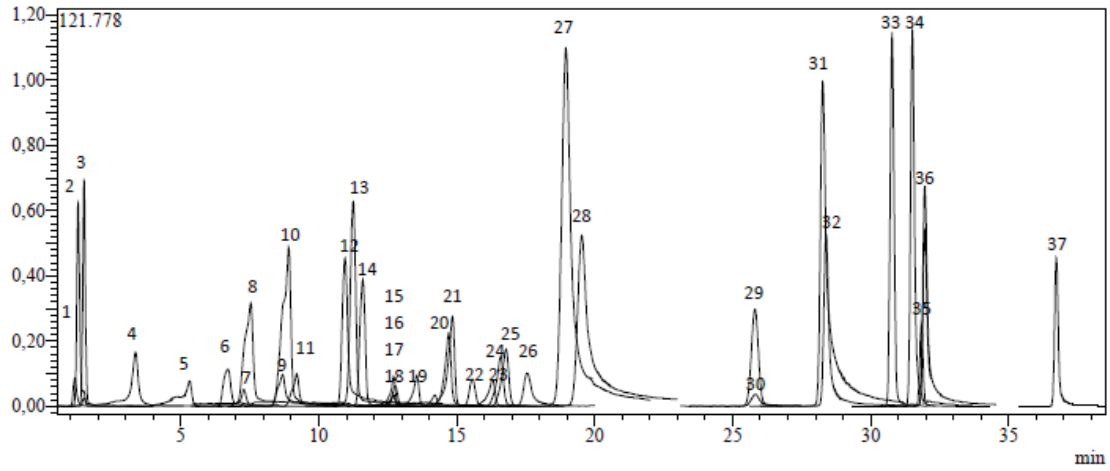
Tür (Toprak Üstü)	31	32	33	34	35	36	37
<i>A. schischkinii</i>	515.66	1930.59	199.56	85.67	78.49	45.46	1.37
<i>A. setacea</i>	153.39	1824.69	24.00	523.16	-	22.05	196.68
<i>A. biebersteinii</i>	662.56	2535.41	26.80	1496.74	-	40.47	7.45
<i>A. teretifolia</i>	4432.36	2613.32	69.14	33.92	37.70	-	-
<i>A. spinulifolia</i>	229.67	727.23	328.63	19.53	90.30	-	-
<i>A. wilhelmsii</i>	38.48	359.44	-	20.05	-	-	-
<i>A. lycaonica</i>	26.08	480.52	-	33.42	-	-	-
<i>A. millefolium</i>	307.29	1497.72	-	419.53	7.07	25.20	-
<i>A. kotschy</i>	591.84	1518.62	27.78	2167.55	-	25.07	-
<i>A. coarctata</i>	1081.84	854.07	16.92	172.33	15.49	36.16	-
<i>A. sintenisii</i>	52.36	1395.23	9.64	608.18	6.86	-	-
<i>A. goniocephala</i>	302.98	830.08	35.34	67.58	47.74	-	-
<i>A. nobilis</i>	621.45	563.37	-	26.05	8.09	-	-
<i>A. monocephala</i>	138.55	2343.39	89.14	5205.20	39.22	-	-

4.1.7. LC-MS/MS Metodundaki Analitlerin Kalibrasyon Grafikleri

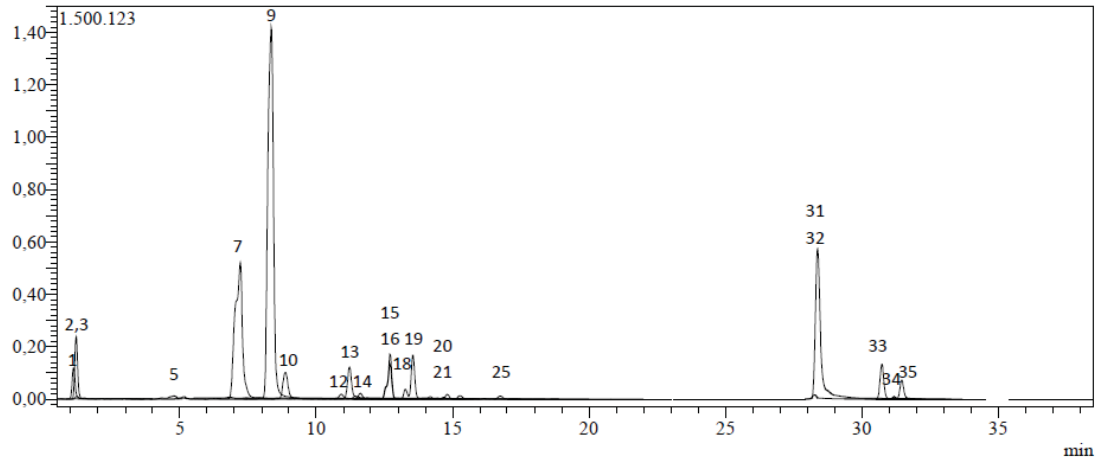
37 adet fitokimyasal standart maddenin LC-MS/MS metodu ile kalitatif ve kantitatif analizini gerçekleştirmek üzere 6 noktalı kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Kalibrasyon eğrilerine ait grafikler, denklemler ve belirleme katsayıları (R^2) Ek 1-4'te gösterilmiştir.

4.1.8. LC-MS/MS Analizine İlişkin Standart ve Numune Kromatogramları

Çalışılan *Achillea* türlerinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarının hem etanol hem de metanol-kloroform (1:1) ekstraktlarının LC-MS/MS metodu ile taranmasına ilişkin kromatogramlar şekil 4.5-4.6 ve ek 5-59' da gösterilmiştir. Aşağıda sadece örnek olarak kalibrasyon noktası 3 ve *A. schischkinii*'nin toprak üstü $\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$ ekstresinin kromatogramları verilmiştir.



Şekil.4.5. Kalibrasyon noktası 3'ün standart kromatogramı



Şekil.4.6. *A. schischkinii*'nin toprak üstü $\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$ ekstresinin standart kromatogramı

4.1.9. LC-MS/MS Metot Validasyon Çalışmaları

Metodun performans özelliklerinin belirlenmesi için kapsamlı validasyon çalışmaları yapılmıştır (Çizelge 4.1). Bu amaçla metot validasyonu kapsamında doğrusalılık (lineerite), gerçeklik (geri kazanım), kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik), belirleme ve tayin alt sınırı (LOD/LOQ) ile bağlı standart belirsizlik (U= 95% güven seviyesinde (k=2) parametreleri değerlendirilmiştir. Metodun gerçeklik ve kesinlik çalışmaları, seçilen bir *Achillea* ekstresine aynı günde altı defa ve farklı günler içerisinde (3 farklı günde) altışar defa üç farklı konsantrasyonda (düşük, orta ve yüksek) her standardın kalibrasyonuna göre standart ekleme yapılarak gerçekleştirilmiştir. Aynı gün ve farklı günlerde yapılan çalışmalar sonucunda, gerçeklik ve kesinliği belirlemek üzere geri kazanım ve RSD (bağıl standart sapma) değerleri bulunmuştur. Standartların belirleme (LOD) ve tayin (LOQ) alt sınırlarının tespit edilmesinde belirlenen bir ekstreden hazırlanan 10 eş örneğe standardın sinyal verdiği en düşük derişimde standart ekleme yapılarak cihaza enjekte edilmiştir. Analitlerin standart bağıl belirsizlikleri (U⁹⁵) EURACHEM Guide'a göre gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik çalışmalarıyla belirlenmiştir. Validasyon çalışmalarında kullanılan bazı eşitlikler aşağıdaki verilmiştir. Aşağıda (Çizelge 4.12-4.14) sadece kumarin için validasyon çalışmalarının detayları (gerçeklik, kesinlik ve belirsizlik) verilmiştir. Diğer fitokimyasallara ilişkin validasyon çalışmaları çizelgeler halinde ek 61- 168 'de verilmiştir.

$$\text{Ortalama } (\bar{x}) = (x_1 + x_2 \dots x_n) / n$$

$$\text{Standart Sapma } \sigma = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}$$

$$\text{RSD} = \text{Standart sapma} / \text{Ortalama}$$

$$\text{Geri Kazanım} = 100 \times \text{Bulunan miktar} / \text{standart ekleme yapılan miktar}$$

$$\% \text{ Geri Kazanım} = \text{Geri kazanım} / 100$$

$$\text{LOD} = \text{Ortalama} + 3 \times \text{Standart Sapma}$$

$$\text{LOQ} = \text{Ortalama} + 10 \times \text{Standart Sapma}$$

Çizelge 4.12. Kumarin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort.:ortalama, Std.:standart sapma)

Kumarin	Spike yok	Düşük spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (10000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün	0	976	97.60	0.98	5004	100.08	1.00	9932	99.32	0.99
	0	1013	101.30	1.01	5066	101.32	1.01	10181	101.81	1.02
	0	974	97.40	0.97	5083	101.66	1.02	9907	99.07	0.99
	0	969	96.90	0.97	4967	99.34	0.99	10078	100.78	1.01
	0	1005	100.50	1.01	4975	99.50	1.00	10118	101.18	1.01
	0	989	98.90	0.99	5060	101.20	1.01	10118	101.18	1.01
	Ort.	987.67	98.77	0.99	5025.83	100.52	1.01	10055.67	100.56	1.01
Std		17.974	1.797	0.018	50.141	1.003	0.010	110.791	1.108	0.011
RSD		0.018	0.018	0.018	0.010	0.010	0.010	0.011	0.011	0.011
Farklı Günler (1)	0	1017	101.70	1.02	5001	100.02	1.00	10102	101.02	1.01
	0	1001	100.10	1.00	4987	99.74	1.00	9914	99.14	0.99
	0	987	98.70	0.99	4989	99.78	1.00	10150	101.50	1.02
	0	1011	101.10	1.01	4966	99.32	0.99	9997	99.97	1.00
	0	1025	102.50	1.03	5021	100.42	1.00	10133	101.33	1.01
	0	996	99.60	1.00	5066	101.32	1.01	10185	101.85	1.02
	0	976	97.60	0.98	4989	99.78	1.00	10020	100.20	1.00
Farklı Günler (2)	0	1010	101.00	1.01	4930	98.60	0.99	10073	100.73	1.01
	0	967	96.70	0.97	5051	101.02	1.01	10155	101.55	1.02
	0	971	97.10	0.97	5008	100.16	1.00	10036	100.36	1.00
	0	1016	101.60	1.02	5006	100.12	1.00	9887	98.87	0.99
	0	1006	100.60	1.01	5002	100.04	1.00	9905	99.05	0.99
	0	1020	102.00	1.02	4990	99.80	1.00	9905	99.05	0.99
	0	983	98.30	0.98	5015	100.30	1.00	9913	99.13	0.99
Farklı Günler (3)	0	1020	102.00	1.02	5042	100.84	1.01	9929	99.29	0.99
	0	975	97.50	0.98	5073	101.46	1.01	9995	99.95	1.00
	0	980	98.00	0.98	5025	100.50	1.01	9955	99.55	1.00
	0	1019	101.90	1.02	5067	101.34	1.01	9926	99.26	0.99
	F.G.Ort.	998.89	99.89	1.00	5012.67	100.25	1.00	10010.00	100.10	1.00
	F.G.Std	19.662	1.966	0.020	37.270	0.745	0.007	100.712	1.007	0.010
	F.G.RSD	0.020	0.020	0.020	0.007	0.007	0.007	0.010	0.010	0.010
Gen.Ort	0	996.08	99.61	1.00	5015.96	100.32	1.00	10021.42	100.21	1.00
Gen.Std	0	19.509	1.951	0.020	40.090	0.802	0.008	102.827	1.028	0.010
Gen.RSD	0	0.020	0.020	0.020	0.008	0.008	0.008	0.010	0.010	0.010
RSD (Pool)	0.011755429									

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çizelge 4.13. Kumarin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G.K.Çal. (mg/L)	%Ortalama Geri Kazanım	Analiz Son.st.Sap.	% Geri Alma St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Kumarin	1000	1.00	19.51	0.02	0.02	24
	50000	1.00	40.09	0.01	0.01	24
	10000	1.00	102.83	0.01	0.01	24
ort		1.00		0.01	0.01	n=72
karakök n:						8.4852814
Standard belirsizlik (ort (%geri alma std. sap.)/karekök n):						0.0014853

Çizelge 4.14. Kumarin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	(RSD _{pool}) 0.0118	(RSD _{pool} /1) 0.0118 (c)
Gerçeklik	(ort(% ort. geri kazanım)) 1.000472222 (a)	(Standard belirsizlik) 0.0014853 (b)	(b/a) 0.001484599 (d)
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik u(P _{op})/P _{op}			(Karekök (c ² +d ²) 0.0118 (e)
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			(2×e) 0.0237

4.2. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid Miktar Tayin Sonuçları

Çalışılan *Achillea* türlerinin etanol ekstrelerinin toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlenerek çizelge 4.15'te verilmiştir. Ekstreler içerisinde *A. nobilis*'in toprak altı ekstresinin toplam fenolik miktarının (282.97 ± 3.14 μg pirokatekole eşdeğer/mg ekstre) en yüksek olduğu belirlenirken, *A. biebersteinii*'nin toplam fenolik miktarının (36.30 ± 1.0 μg pirokatekole eşdeğer/mg ekstre) en az olduğu belirlenmiştir. Toplam flavonoid miktarına gelirse, *A. schischkinii*'nin toprak altı ekstresinin toplam flavonoid içeriğinin (35.36 ± 0.54 μg kersetine eşdeğer/mg ekstre) en fazla, *A. wilhelmsii*'nin toprak altı ekstresinin toplam flavonoid içeriğinin (11.15 ± 0.47 μg kersetine eşdeğer/mg ekstre) ise en az olduğu görülmüştür. *A. biebersteinii*, *A. setacea* ve *A. schischkinii* türlerinde toprak üstü kısımların toplam fenolik içerikleri toprak altı kısımlarından daha yüksek iken diğer türlerde toprak altı kısımların toplam fenolik içerikleri toprak üstü kısımlarından daha yüksek çıkmıştır. Ayrıca, *A. monocephala*, *A. sintenisii*, *A. coarctata*, *A. biebersteinii*, *A. setacea*, *A. schischkinii* türlerinde toprak altı ekstrelerinin toplam flavonoit içerikleri toprak üstü ekstrelerinininkinden yüksek iken, diğer türlerde toprak üstü ekstrelerinin toplam flavonoit içerikleri toprak altı ekstrelerinininkinden daha yüksek olduğu görülmüştür. Buna ek olarak, tüm ekstrelerde fenolik içeriğin flavonoit içeriğine oranla daha zengin olduğu belirlendi.

Çizelge 4.15. Ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoid içerikleri^a

Ekstreler	Kısım	Toplam Fenolik (μg pirokatekole eşdeğer)/mg Ekstre ^b	Toplam Flavonoit (μg kersetine eşdeğer)/mg Ekstre ^c
<i>A. monocephala</i>	T.A. ^d	255.95 $\pm$ 3.51	20.26 $\pm$ 0.56
<i>A. monocephala</i>	T.Ü. ^e	139.73 $\pm$ 0.56	17.50 $\pm$ 0.09
<i>A. nobilis</i>	T.A.	282.97 $\pm$ 3.14	22.23 $\pm$ 0.11
<i>A. nobilis</i>	T.Ü.	151.89 $\pm$ 1.91	24.77 $\pm$ 0.71
<i>A. goniocephala</i>	T.A.	132.97 $\pm$ 1.91	11.99 $\pm$ 0.32
<i>A. goniocephala</i>	T.Ü.	123.51 $\pm$ 1.82	16.95 $\pm$ 0.55
<i>A. sintenisii</i>	T.A.	108.65 $\pm$ 0.73	14.33 $\pm$ 0.15
<i>A. sintenisii</i>	T.Ü.	97.39 $\pm$ 1.69	13.18 $\pm$ 0.25
<i>A. coarctata</i>	T.A.	173.51 $\pm$ 1.91	16.26 $\pm$ 0.16
<i>A. coarctata</i>	T.Ü.	128.92 $\pm$ 1.82	14.29 $\pm$ 0.25
<i>A. kotschy</i>	T.A.	260.00 $\pm$ 3.38	20.22 $\pm$ 0.79
<i>A. kotschy</i>	T.Ü.	180.27 $\pm$ 1.28	25.87 $\pm$ 0.67
<i>A. millefolium</i>	T.A.	127.57 $\pm$ 0.76	12.70 $\pm$ 0.34
<i>A. millefolium</i>	T.Ü.	123.51 $\pm$ 0.24	18.27 $\pm$ 0.75

Çizelge 4.15. Ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoid içerikleri^a (Devam)

Ekstreler	Kısım	Toplam Fenolik (μg pirokatekole eşdeğer)/mg Ekstre ^b	Toplam Flavonoit (μg kersetine eşdeğer)/mg Ekstre ^c
<i>A. lycaonica</i>	T.A.	105.95±0.91	12.08±0.77
<i>A. lycaonica</i>	T.Ü.	80.27±1.38	13.42±0.25
<i>A. wilhelmsii</i>	T.A.	135.68±1.36	11.15±0.47
<i>A. wilhelmsii</i>	T.Ü.	110.00±2.38	15.70±0.20
<i>A. spinulifolia</i>	T.A.	154.59±3.54	14.14±0.35
<i>A. spinulifolia</i>	T.Ü.	124.86±1.73	16.65±0.97
<i>A. teretifolia</i>	T.A.	184.32±2.27	14.15±0.65
<i>A. teretifolia</i>	T.Ü.	146.49±1.37	18.35±0.33
<i>A. biebersteinii</i>	T.A.	36.30±1.03	21.26±0.28
<i>A. biebersteinii</i>	T.Ü.	111.35±1.91	16.43±0.32
<i>A. setacea</i>	T.A.	42.13±0.13	25.10±0.12
<i>A. setacea</i>	T.Ü.	134.32±1.83	18.39±0.42
<i>A. schischkinii</i>	T.A.	95.34±1.37	35.36±0.54
<i>A. schischkinii</i>	T.Ü.	110.00±1.-10	14.89±0.29

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir.

b: Pirokatekole eşdeğer fenolik içerik. ($y=0.0185x + 0.0283$ $R^2=0.9906$)

c: Kersetine eşdeğer flavonoit içerik. ($y=0.039x + 0.0041$ $R^2=0.9959$)

d: Toprak üstü

e: Toprak altı

4.3. Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları

Achillea cinsinin çalışılan 14 alt türünün toprak altı ve toprak üstü ekstrelerinin 4 farklı yöntemle (β -karoten renk açılımı, DPPH serbest radikali giderim aktivitesi, ABTS katyon radikali giderim aktivitesi ve CUPRAC yöntemleriyle) antioksidan aktiviteleri belirlendi. Tüm antioksidan aktivite yöntemlerinde standart olarak α -TOC, BHT, BHA kullanıldı. β -karoten renk açılımı yöntemine göre tüm ekstrelerin kayda değer aktivite göstermediği belirlenmiştir. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemine göre, en yüksek aktiviteyi *A. nobilis* toprak altı (12.23 ± 0.24), *A. monocephala* toprak altı (16.85 ± 0.60) ve *A. kotschyi* toprak altı (12.88 ± 0.45) ve toprak üstü (27.58 ± 0.15) ekstreleri göstermiştir. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemine göre en yüksek aktiviteleri *A. kotschyi* toprak altı (<10) ve toprak üstü (13.19 ± 0.97), *A. monocephala* toprak altı (<10) ve toprak üstü (22.14 ± 0.80), *A. nobilis* toprak altı (<10) ve toprak üstü (22.16 ± 0.01) ile *A. coarctata* toprak altı (22.36 ± 0.03) ekstreleri göstermiştir. Bu ekstreler hemen hemen α -tocopherol kadar veya daha iyi aktivite göstermişlerdir. Hem DPPH hem de ABTS yöntemlerinde aktivite gösteren türlerin toprak altı kısımlarının toprak üstü kısımlarından daha aktif olduğu belirlenmiştir. β -karoten, DPPH ve ABTS yöntemlerine göre antioksidan aktivite sonuçları çizelge 4.16'de verilmiştir.

Çizelge 4.16. Ekstrelerin β -Karoten, DPPH ve ABTS yöntemlerine göre antioksidan aktiviteleri

Ekstreler	Kısım	IC ₅₀ Değerleri ^a		
		β -Karoten-linoleik asit	DPPH Serbest Radikal	ABTS Katyon Radikal
<i>A. monocephala</i>	T.U. ^b	102.64±0.81	56.27±0.48	22.14±0.80
<i>A. monocephala</i>	T.A. ^c	59.41±1.16	16.85±0.60	<10
<i>A. nobilis</i>	T.U.	64.51±3.94	32.24±1.44	22.16±0.01
<i>A. nobilis</i>	T.A.	109.53±0.55	12.23±0.24	<10
<i>A. goniocephala</i>	T.U.	141.42±0.09	58.05±0.81	34.78±0.47
<i>A. goniocephala</i>	T.A.	48.42±0.25	76.23±0.49	31.93±0.05
<i>A. sintenisii</i>	T.U.	69.63±0.63	101.32±1.47	56.36±1.07
<i>A. sintenisii</i>	T.A.	210.99±1.14	109.54±0.32	39.51±0.22
<i>A. coarctata</i>	T.U.	118.43±0.99	72.09±0.59	36.40±0.08
<i>A. coarctata</i>	T.A.	123.56±1.99	44.91±1.44	22.36±0.03
<i>A. kotschyi</i>	T.U.	113.43±1.79	27.58±0.15	13.19±0.97
<i>A. kotschyi</i>	T.A.	113.00±2.13	12.88±0.45	<10
<i>A. millefolium</i>	T.U.	53.59±0.29	64.61±0.70	31.61±0.38
<i>A. millefolium</i>	T.A.	185.56±3.27	62.22±0.40	31.35±0.97
<i>A. lycaonica</i>	T.U.	68.30±0.93	254.41±3.60	112.16±1.02
<i>A. lycaonica</i>	T.A.	92.54±1.14	71.96±0.22	28.32±0.92
<i>A. wilhelmsii</i>	T.U.	55.19±0.86	89.07±2.39	40.99±0.61
<i>A. wilhelmsii</i>	T.A.	144.78±4.10	57.25±0.63	26.51±0.62
<i>A. spinulifolia</i>	T.U.	239.62±3.13	67.86±2.84	29.64±0.52
<i>A. spinulifolia</i>	T.A.	84.88±1.32	53.56±0.51	19.35±0.44
<i>A. teretifolia</i>	T.U.	95.73±1.01	59.19±1.28	33.52±0.11
<i>A. teretifolia</i>	T.A.	126.63±2.27	57.92±0.88	26.02±1.07
<i>A. biebersteinii</i>	T.U.	84.55±1.69	100.93±2.70	44.45±0.75
<i>A. biebersteinii</i>	T.A.	116.11±1.71	80.83±0.24	30.11±0.01
<i>A. setacea</i>	T.U.	54.70±0.65	70.50±0.22	54.13±0.56
<i>A. setacea</i>	T.A.	192.09±3.51	44.91±1.44	30.26±0.69
<i>A. schischkinii</i>	T.U.	71.93±0.78	68.31±0.55	31.63±0.67
<i>A. schischkinii</i>	T.A.	100.75±1.02	37.21±0.72	17.38±0.44
BHA	-	1.5±0.01	7.88±0.20	17.59±0.10
α -TOC	-	2.1±0.10	16.30±0.79	9.88±0.23
BHT	-	1.3±0.03	58.86±0.50	12.29±0.67

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir.

b: Toprak üstü

c: Toprak altı

CUPRAC antioksidan tayin yönteminde dört farklı derişimde (10, 25, 50, 100 μ g/mL) çalışıldı. Bu yöntemle göre *A. nobilis* toprak altı (3.675±0.13), *A. kotschyi* toprak altı (3.547±0.039) ve toprak üstü (2.007±0.030), *A. monocephala* toprak altı (2.850±0.289), *A. coarctata* toprak altı (2.114±0.101) ekstreleri en fazla aktiviteyi göstermişlerdir. Ayrıca tüm türlerde toprak altı kısımları toprak üstü kısımlarından daha aktif olduğu görülmüştür. CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktivite sonuçları çizelge 4.17'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.17. Ekstrelerin CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktiviteleri^a

Ekstreler	Kısım	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL
<i>A. monocephala</i>	T.A. ^b	0.419±0.019	0.900±0.056	1.409±0.015	2.850±0.289
<i>A. monocephala</i>	T.Ü. ^c	0.212±0.012	0.367±0.028	0.642±0.070	1.137±0.125
<i>A. nobilis</i>	T.A.	0.533±0.037	1.123±0.114	1.975±0.118	3.675±0.130
<i>A. nobilis</i>	T.Ü.	0.258±0.005	0.518±0.093	0.934±0.123	1.742±0.011
<i>A. goniocephala</i>	T.A.	0.229±0.004	0.382±0.021	0.646±0.034	1.122±0.076
<i>A. goniocephala</i>	T.Ü.	0.188±0.006	0.360±0.074	0.507±0.031	1.045±0.077
<i>A. sintenisii</i>	T.A.	0.212±0.014	0.327±0.010	0.573±0.028	0.963±0.034
<i>A. sintenisii</i>	T.Ü.	0.164±0.003	0.293±0.004	0.384±0.016	0.746±0.104
<i>A. coarctata</i>	T.A.	0.302±0.018	0.628±0.050	1.084±0.029	2.114±0.101
<i>A. coarctata</i>	T.Ü.	0.183±0.012	0.298±0.031	0.513±0.022	0.918±0.071
<i>A. kotschy</i>	T.A.	0.552±0.020	1.040±0.028	1.792±0.088	3.547±0.039
<i>A. kotschy</i>	T.Ü.	0.326±0.009	0.638±0.003	1.296±0.315	2.007±0.030
<i>A. millefolium</i>	T.A.	0.222±0.008	0.416±0.010	0.709±0.031	1.351±0.012
<i>A. millefolium</i>	T.Ü.	0.207±0.007	0.373±0.006	0.636±0.026	1.161±0.073
<i>A. lycaonica</i>	T.A.	0.186±0.003	0.311±0.004	0.519±0.024	0.913±0.037
<i>A. lycaonica</i>	T.Ü.	0.138±0.010	0.198±0.007	0.320±0.028	0.516±0.024
<i>A. wilhelmsii</i>	T.A.	0.221±0.007	0.414±0.014	0.700±0.035	1.212±0.086
<i>A. wilhelmsii</i>	T.Ü.	0.170±0.002	0.300±0.007	0.526±0.031	0.855±0.058
<i>A. spinulifolia</i>	T.A.	0.292±0.015	0.498±0.021	0.950±0.065	1.624±0.100
<i>A. spinulifolia</i>	T.Ü.	0.211±0.004	0.386±0.016	0.652±0.033	1.205±0.110
<i>A. teretifolia</i>	T.A.	0.248±0.014	0.455±0.007	1.030±0.301	1.426±0.012
<i>A. teretifolia</i>	T.Ü.	0.234±0.012	0.457±0.019	0.711±0.015	1.317±0.104
<i>A. biebersteinii</i>	T.A.	0.186±0.006	0.324±0.013	0.591±0.038	1.046±0.030
<i>A. biebersteinii</i>	T.Ü.	0.172±0.007	0.272±0.005	0.472±0.066	0.823±0.073
<i>A. setacea</i>	T.A.	0.234±0.010	0.442±0.014	0.784±0.100	1.363±0.106
<i>A. setacea</i>	T.Ü.	0.211±0.014	0.429±0.030	0.699±0.092	1.071±0.028
<i>A. schischkinii</i>	T.A.	0.291±0.020	0.625±0.031	1.000±0.075	1.943±0.072
<i>A. schischkinii</i>	T.Ü.	0.211±0.025	0.377±0.012	0.716±0.056	1.176±0.092
α-TOC		0.491±0.065	1.117±0.098	1.887±0.045	3.637±0.184
BHA		0.205±0.014	0.365±0.027	0.616±0.029	1.171±0.110
BHT		0.628±0.045	1.286±0.081	2.084±0.114	3.851±0.147

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapası olarak verilmiştir.

b: Toprak üstü

c: Toprak altı

4.4. Ekstrelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları

Antikolinesteraz aktivite sonuçlarına göre (Çizelge 4.18) test edilen ekstreler arasında en yüksek aktiviteyi hem bütirikolinesteraz hem de asetilkolinesteraz enzim inhibisyonunda *A. monocephala*'nın toprak üstü ekstresi (sırasıyla 39.73±1.51, 19.60±0.44) göstermiştir. Asetilkolinesteraz enzim inhibisyonu aktivitesinde sadece *A. monocephala* toprak altı ve toprak üstü, *A. lycaonica* toprak altı ve *A. sintenisii* toprak üstü ekstreleri aktivite göstermişlerdir. Ayrıca, aktivite gösteren türlerden *A. monocephala*, *A. nobilis*, *A. goniocephala*, *A. sintenisii*, *A. millefolium*, *A. teretifolia* ve *A. biebersteinii* türlerinde toprak üstü kısımların antikolinesteraz aktiviteleri toprak altı

kısımlarinkinden daha yüksek iken diğer türlerde toprak altı kısımların antikolinesteraz aktiviteleri toprak üstü kısımlarinkinden daha yüksek çıkmıştır.

Çizelge 4.18. Ekstrelerin antikolinesteraz aktivite sonuçları^a

Ekstreler	Kısım	AChE(%İnhibisyon)	BChE (%İnhibisyon)
<i>A. monocephala</i>	T.A. ^d	9.56±0.17	35.98±1.06
<i>A. monocephala</i>	T.Ü. ^e	19.60±0.44	39.73±1.51
<i>A. nobilis</i>	T.A.	AD	AD
<i>A. nobilis</i>	T.Ü.	AD	23.64±0.26
<i>A. goniocephala</i>	T.A.	AD	6.15±0.05
<i>A. goniocephala</i>	T.Ü.	AD	13.14±0.96
<i>A. sintenisii</i>	T.A.	AD	17.54±0.66
<i>A. sintenisii</i>	T.Ü.	7.36±0.21	30.88±1.91
<i>A. coarctata</i>	T.A.	AD	13.20±0.37
<i>A. coarctata</i>	T.Ü.	AD	4.83±0.02
<i>A. kotschy</i>	T.A.	AD	14.69±0.91
<i>A. kotschy</i>	T.Ü.	AD	AD
<i>A. millefolium</i>	T.A.	AD	AD
<i>A. millefolium</i>	T.Ü.	AD	9.30±0.18
<i>A. lycaonica</i>	T.A.	11.19±0.18	14.54±1.97
<i>A. lycaonica</i>	T.Ü.	AD	1.95±0.08
<i>A. wilhelmsii</i>	T.A.	AD	AD
<i>A. wilhelmsii</i>	T.Ü.	AD	AD
<i>A. spinulifolia</i>	T.A.	AD	4.15±0.07
<i>A. spinulifolia</i>	T.Ü.	AD	AD
<i>A. teretifolia</i>	T.A.	AD	AD
<i>A. teretifolia</i>	T.Ü.	AD	11.90±0.81
<i>A. biebersteinii</i>	T.A.	AD	23.94±0.87
<i>A. biebersteinii</i>	T.Ü.	AD	26.84±0.01
<i>A. setacea</i>	T.A.	AD	AD
<i>A. setacea</i>	T.Ü.	AD	AD
<i>A. schischkinii</i>	T.A.	AD	2.25±0.07
<i>A. schischkinii</i>	T.Ü.	AD	AD
Galantamin^d		76.08 ± 0.39	76.52 ± 0.41

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir (200 µg/mL).

b: Toprak üstü, c: Toprak altı, d: Standart madde, A.D.: Aktif değil

4.5. Ekstrelerin Sitotoksik (Antikanser) Aktivite sonuçları

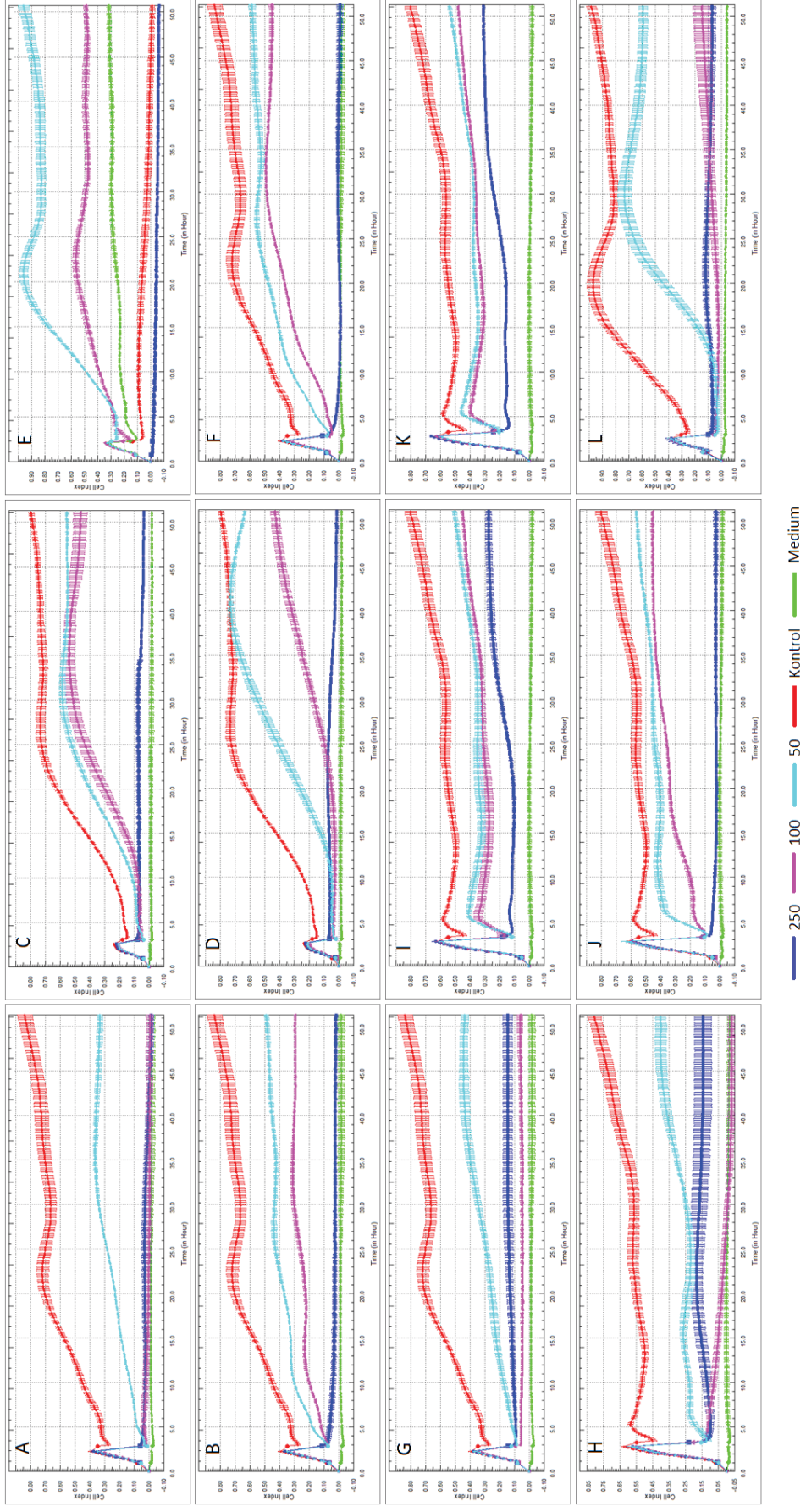
Tezin bu kısmında çalışılan 14 farklı *Achillea* türünün kloroform-metanol (1:1) ekstralarının 50-100 ve 250 µg/mL derişimlerde HeLa hücreleri üzerindeki sitotoksik (antikanser) aktivitesi incelenmiştir. HeLa hücrelerinin *Achillea* ekstraları ile proliferasyonuna ait xCELLigence gerçek zamanlı görüntüleme sonuçları şekil 4.7-4.9'te verilmiş, testlerin hücre indeks değerleri çizelge 4.19-4.22'te gösterilmiştir. Analizde çıkan birtakım sorunlardan dolayı sadece *A. biebersteinii* türünün sitotoksik etkisine bakılamamıştır. Çalışılan *Achillea* ekstralarının tamamı derişime bağlı olarak önemli ölçüde sitotoksik aktivite göstermiştir. Uygulanan ekstre derişimleri azaldıkça gösterilen aktivite de azalmıştır. 250 µg/mL derişimde en yüksek sitotoksik aktiviteleri

A. goniocephala toprak üstü (-0.009), *A. millefolium* toprak üstü (-0.0059), *A. wilhelmsii* toprak üstü (-0.0146), *A. spinulifolia* toprak altı (-0.03) ve toprak üstü (-0.02) ve *A. schischkinii* toprak üstü (-0.0034) ekstreleri gösterirken, en düşük aktiviteleri *A. lycaonica* toprak altı (0.2266), *A. kotschy* toprak altı (0.1609), *A. sintenisii* toprak üstü (0.1559) ve *A. teretifolia* toprak altı (0.1487) ekstreleri göstermişlerdir. Ayrıca *A. monocephala*, *A. nobilis*, *A. goniocephala*, *A. coarctata*, *A. kotschy*, *A. millefolium*, *A. lycaonica*, *A. wilhelmsii*, *A. teretifolia*, *A. setacea* ve *A. schischkinii* türlerinin toprak üstü ekstrelerinin (sırasıyla 0.0274, 0.0678, -0.009, 0.0262, 0.0965, -0.0059, 0.0040, -0.0146, 0.0709, 0.0355 ve -0.0034) sitotoksik aktiviteleri toprak altı ekstrelerinininkinden (0.0337, 0.0709, 0.0813, 0.1065, 0.1609, 0.1274, 0.2266, 0.0674, 0.1487, 0.0535, 0.1094) daha iyi çıkmıştır. *A. sintenisii*'nin toprak üstü (0.1559) ve toprak altı (0.1065) ekstreleri benzer ve çok iyi olmayan aktivite gösterirken, *A. spinulifolia*'nın toprak üstü (-0.02) ve toprak altı (-0.03) ekstreleri benzer ve çok iyi aktivite göstermişlerdir.

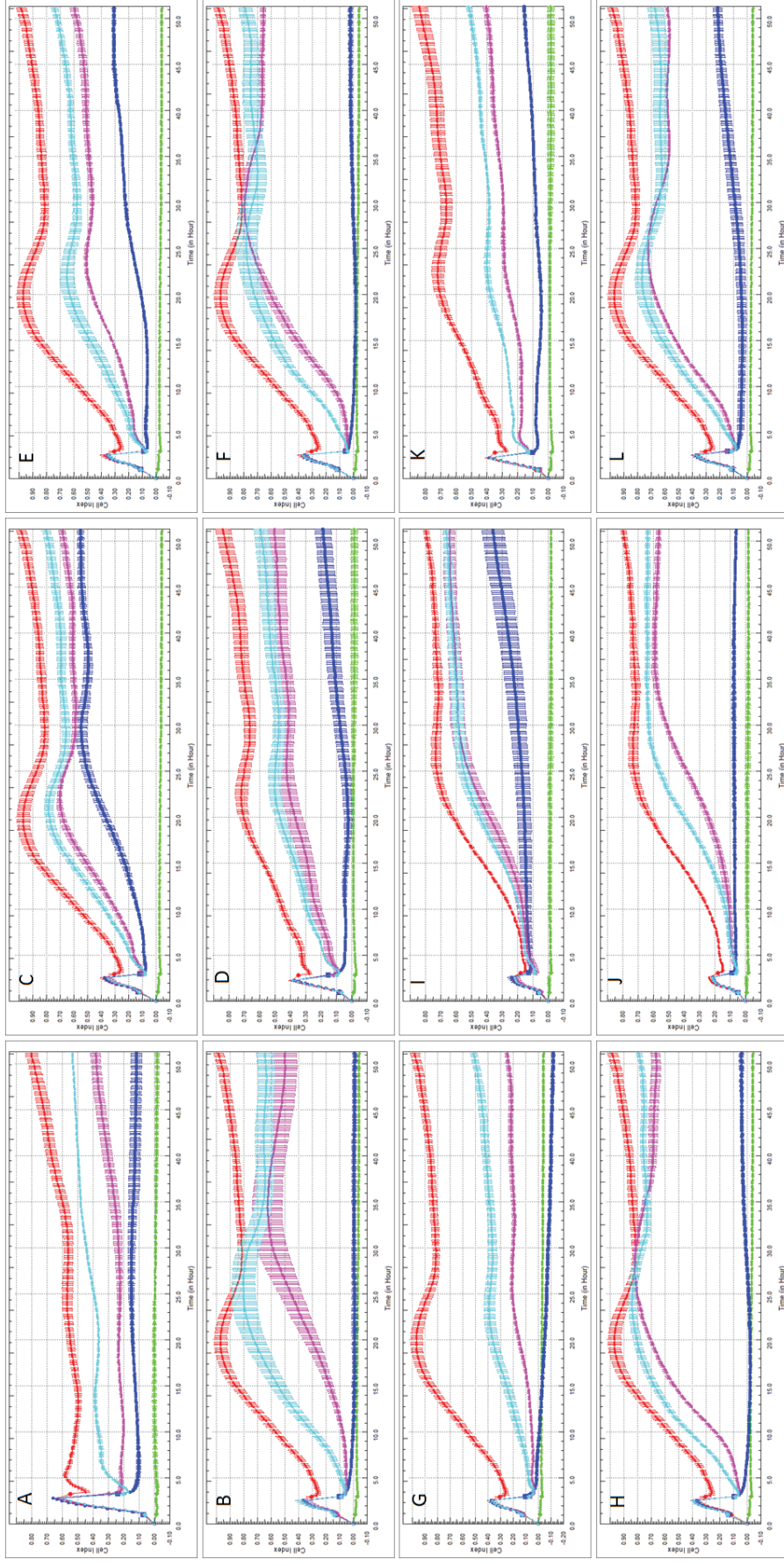
Çizelge 4.19. Çalışılan *Achillea* kloroform-metanol ekstralarının HeLa hücreleri üzerinde uygulanan sitotoksik testlerinin 12, 24, 36 ve 48 saat sonraki hücre indeks değerleri

Ekstre	Kısım	250 µg/mL				100 µg/mL				50 µg/mL			
		12 saat	24 saat	36 saat	48 saat	12 saat	24 saat	36 saat	48 saat	12 saat	24 saat	36 saat	48 saat
<i>A. monocephala</i>	T.A. ^d	0.0337	0.0318	0.0089	-0.0142	0.2314	0.0043	-0.0005	-0.0021	0.3241	0.3097	0.3597	0.3325
<i>A. monocephala</i>	T.Ü. ^e	0.0274	0.0278	0.0256	0.0209	0.0150	0.2834	0.3051	0.2979	0.1871	0.4382	0.4451	0.4899
<i>A. nobilis</i>	T.A.	0.0709	0.1842	0.2573	0.3619	0.1654	0.5588	0.616	0.648	0.2397	0.5702	0.6219	0.6635
<i>A. nobilis</i>	T.Ü.	0.0678	0.0755	0.0783	0.0633	0.0342	0.4492	0.5917	0.5663	0.1271	0.6027	0.637	0.6362
<i>A. gonioccephala</i>	T.A.	0.0813	0.0356	0.0086	-0.0119	0.2277	0.2858	0.2880	0.3084	0.4591	0.5193	0.4812	0.4819
<i>A. gonioccephala</i>	T.Ü.	-0.009	0.0061	0.0045	-0.0064	0.3069	0.4666	0.4739	0.4556	0.4055	0.5533	0.5454	0.5865
<i>A. sintenisii</i>	T.A.	0.1179	0.1425	0.1472	0.1487	0.0509	0.0514	0.0564	0.0656	0.2249	0.3108	0.4281	0.435
<i>A. sintenisii</i>	T.Ü.	0.1559	0.1728	0.147	0.1429	0.0540	0.0065	-0.025	-0.026	0.2618	0.2281	0.3522	0.3971
<i>A. coarctata</i>	T.A.	0.1065	0.1664	0.2576	0.2776	0.2782	0.319	0.3743	0.4534	0.3237	0.3482	0.4069	0.507
<i>A. coarctata</i>	T.Ü.	0.0262	0.0289	0.0293	0.0278	0.3055	0.3762	0.4483	0.4561	0.4048	0.4494	0.4926	0.5655
<i>A. kotschyi</i>	T.A.	0.1609	0.2163	0.2952	0.3111	0.3142	0.3596	0.4152	0.4837	0.3469	0.376	0.4388	0.5408
<i>A. kotschyi</i>	T.Ü.	0.0965	0.107	0.0786	0.068	0.0250	0.063	0.1054	0.1473	0.1749	0.6906	0.6219	0.58
<i>A. millefolium</i>	T.A.	0.1274	0.1523	0.1299	0.1186	0.2269	0.2297	0.2996	0.3867	0.3814	0.419	0.4926	0.5327
<i>A. millefolium</i>	T.Ü.	-0.0059	-0.0059	-0.0049	-0.0119	0.1727	0.5114	0.5874	0.4921	0.5380	0.7822	0.6349	0.6335
<i>A. lycanica</i>	T.A.	0.2266	0.5196	0.4938	0.5393	0.5022	0.6035	0.5976	0.6732	0.6059	0.6534	0.6788	0.7861
<i>A. lycanica</i>	T.Ü.	0.0040	0.0578	0.1289	0.1887	0.2926	0.4257	0.4635	0.5076	0.3674	0.485	0.528	0.5918
<i>A. wilhelmsii</i>	T.A.	0.0674	0.1986	0.2593	0.3013	0.3191	0.4743	0.5014	0.5882	0.4729	0.5753	0.6073	0.726
<i>A. wilhelmsii</i>	T.Ü.	-0.0146	-0.0029	0.0019	0.0213	0.408	0.7631	0.662	0.6472	0.5665	0.7548	0.7193	0.7726
<i>A. spinulifolia</i>	T.A.	-0.03	-0.0707	0.0994	-0.1174	0.0831	0.2052	0.2104	0.2491	0.2465	0.3619	0.4022	0.5048
<i>A. spinulifolia</i>	T.Ü.	-0.02	-0.0025	0.033	0.0415	0.5259	0.8055	0.6785	0.6537	0.6630	0.8001	0.7342	0.7731
<i>A. teretifolia</i>	T.A.	0.1487	0.0745	0.0506	0.0374	0.2524	0.4794	0.5311	0.4645	0.3003	0.5581	0.553	0.5546
<i>A. teretifolia</i>	T.Ü.	0.0709	0.0653	0.0302	0.0159	0.1567	0.1318	0.3113	0.4367	0.2357	0.4708	0.7215	0.6311
<i>A. setacea</i>	T.A.	0.0535	0.0768	0.1057	0.1579	0.1922	0.2932	0.3521	0.4078	0.2930	0.3883	0.4383	0.5162
<i>A. setacea</i>	T.Ü.	0.0355	0.0685	0.1513	0.2113	0.5166	0.6985	0.5671	0.5729	0.6074	0.6788	0.6217	0.6584
<i>A. schischkinii</i>	T.A.	0.1094	0.0833	0.0734	0.0768	0.3982	0.4562	0.4310	0.4537	0.5026	0.5425	0.5301	0.5880
<i>A. schischkinii</i>	T.Ü.	-0.0034	-0.0084	0.0065	0.0134	0.4734	0.7858	0.6279	0.5953	0.6330	0.7416	0.6645	0.6938

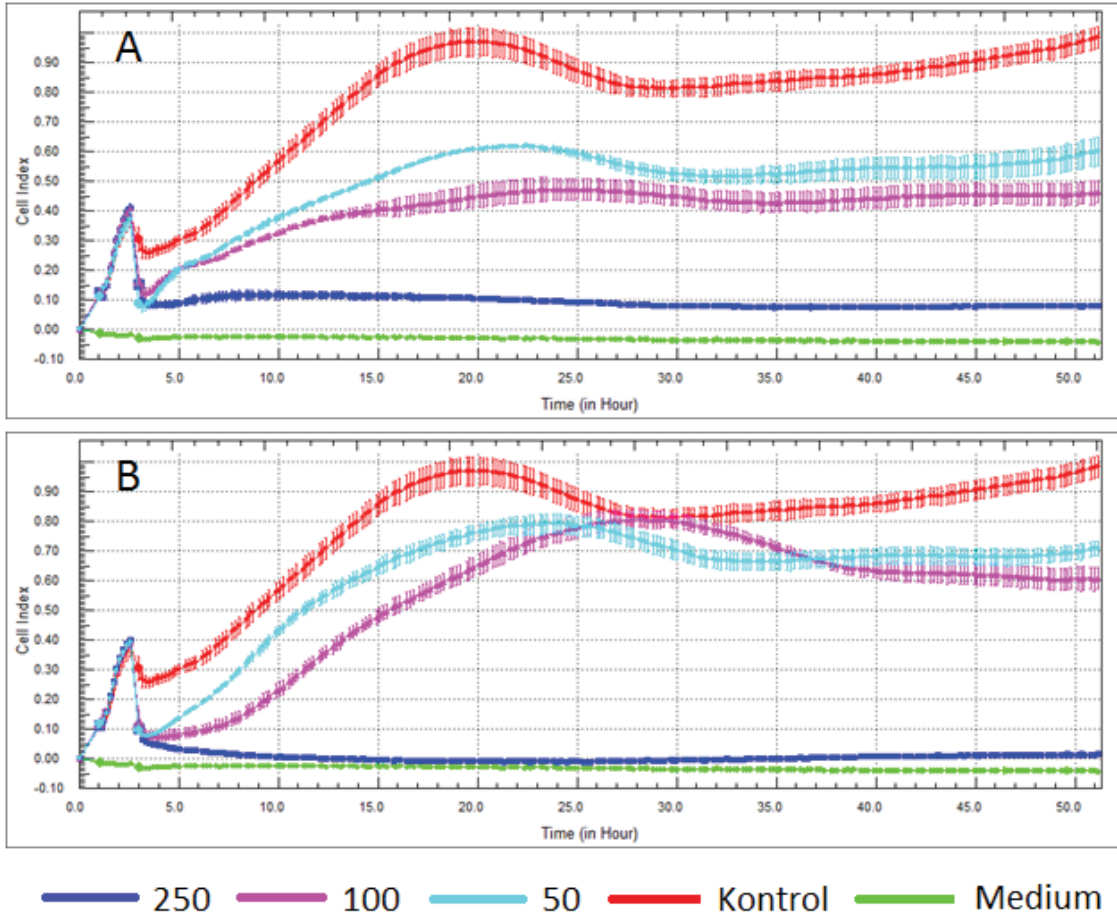
4. BULGULAR VE TARTIŞMA



Şekil 4.7. Çalışılan *Achillea* türlerinin $\text{CHCl}_3\text{:MeOH}$ (1:1) ekstralarının sitotoksik aktiviteleri (A: *A. Monocephala* (Toprak altı), B: *A. Monocephala* (Toprak üstü), C: *A. Nobilis* (Toprak altı), D: *A. Nobilis* (Toprak üstü), E: *A. Gonioccephala* (Toprak üstü), F: *A. Gonioccephala* (Toprak altı), G: *A. Sinenisii* (Toprak altı), H: *A. Sinenisii* (Toprak üstü), I: *A. Coarctata* (Toprak altı), J: *A. Coarctata* (Toprak üstü), K: *A. Kotschy* (Toprak altı), L: *A. Kotschy* (Toprak üstü))



Şekil 4.8. Çalışılan *Achillea* türlerinin $\text{CHCl}_3\text{:MeOH}$ (1:1) ekstraktının sitotoksik aktiviteleri (A: *A. Millefolium* (Toprak üstü), B: *A. Millefolium* (Toprak altı), C: *A. Millefolium* (Toprak üstü), D: *A. Lycaonica* (Toprak üstü), E: *A. Lycaonica* (Toprak altı), F: *A. Wilhelmsii* (Toprak üstü), G: *A. Wilhelmsii* (Toprak altı), H: *A. Spinulifolia* (Toprak üstü), I: *A. Teretifolia* (Toprak üstü), J: *A. Teretifolia* (Toprak altı), K: *A. Setacea* (Toprak üstü), L: *A. Setacea* (Toprak altı))



Şekil 4.9. Çalışılan *Achillea* türlerinin CHCl_3 :MeOH (1:1) ekstralarının sitotoksik aktiviteleri (A: *A. schischkinii* (Toprak altı), B: *A. schischkinii* (Toprak üstü))

4.6. LC-MS IT-TOF ile *Achillea* Türlerinin Fitokimyasal İçeriğinin Taranması

Çalışılan 14 *Achillea* türünün kloroform-metanol (1:1) ekstraları LC-MS IT-TOF cihazında optimize edilen kapsamlı 83 dakikalık bir metotla analiz edilerek genel fitokimyasal profili belirlenmiştir. Analitik metot ve cihazın parametreleri metot kısmında verildiğinden burada yalnızca sonuçlar üzerinde durulacaktır. Çalışılan türlerde farklı sınıflardan 89 farklı sekonder metabolit tespit edilmiştir. Molekül formülleri tespit edilen fitokimyasalların tahmini isimleri, alıkonma zamanları, tespit edilen iyon formları, ölçülen ve beklenen (teorik) m/z değerleri (tam kütle olarak verilmiştir), ppm cinsinden kütle hataları ve izotop skorları çizelge 4.23 ve 4.24'de verilmiştir. LC-MS IT-TOF taramasına ait kromatogramlar (TIC) ise ek 169-176'da verilmiştir.

Tespit edilen bileşenlerin molekül formülleri belli olmakla birlikte tahmin edilen bileşiklerden bir veya daha fazlası çizelgelerde analit kolonunun altında verilmişlerdir. Achillea türlerinin sitotoksik aktivitelerinin çok yüksek çıkması ve tahmin edilen bileşiklerin birçoğunun biyoaktif olması analiz sonuçlarını doğrular niteliktedir. Taranan bu bileşenlerden (4) $C_{10}H_{14}O_{10}$, (5) $C_{23}H_{20}O_{10}$, (8) $C_{21}H_{26}O_{10}$, (22-Cyanarine) $C_{25}H_{24}O_{12}$, (54- Palmitik asit) $C_{16}H_{32}O_2$, (55- Hydroxystearic acid) $C_{18}H_{36}O_3$, (57) $C_{15}H_{22}O_4$, (58-pentametillenmiş flavonol) $C_{20}H_{20}O_8$, (59) $C_{24}H_{30}O_6$, (61-Stearic acid) $C_{18}H_{36}O_2$, (66-Arachidic acid) $C_{20}H_{40}O_2$, (72- Linolenyl alcohol) $C_{18}H_{32}O$, (73-Docosadienoic acid) $C_{22}H_{40}O_2$, (78- Oleic acid) $C_{18}H_{34}O_2$, (80- Cinnamyl linolenate) $C_{27}H_{38}O_2$, (81- Erucyl alcohol) $C_{24}H_{44}O$, (82) $C_{22}H_{44}O_6$, (83) $C_{22}H_{38}O$ hemen hemen tüm ekstrelerde varlık göstermişlerdir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çizelge 4.20. Çalışılan *Achillea* türlerinin LC-MS IT-TOF ile kalitatif analizi sonucu molekül formülleri tespit edilen adları tahmin edilen sekonder metabolitler (RT: Alıkönme zamanı)

No	Analit	RT	Formül	İyon	Ölçülen m/z	Beklenen m/z	Fark (ppm)	İzotop Skor
1	Sirinjik acid	1.69	C ₉ H ₁₀ O ₅	M ⁺	198.0529	198.0523	3.03	46.39
2	Unknown	1.70	C ₁₃ H ₂₄ O ₁₁	[M+H] ⁺	357.1415	357.1391	6.72	69.18
3	9-Hydroxy-7-oxo-7H-furo[3,2-g]chromen-4-yl β-D-glucopyranoside	1.73	C ₁₇ H ₁₆ O ₁₀	[M+H] ⁺	381.0832	381.0816	4.20	71.02
4	Unknown	1.75	C ₁₀ H ₁₄ O ₁₀	[M-H] ⁻	293.0491	293.0514	-7.85	31.73
5	2',5,6',7-tetraacetoxyflavanone, (-)-ECG-3"-O-Me, (-)-ECG-4"-O-Me,	1.76	C ₂₃ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	455.1005	455.0984	4.61	36.00
6	2,3,4-Tri-O-acetylpentanic acid, 1-methylpentane-1,1,2,2,3-pentacarboxylic acid	1.85	C ₁₁ H ₁₄ O ₁₀	[M-H] ⁻	305.0490	305.0514	-7.87	58.14
7	3-(β-D-Glucopyranosyloxy)-4-hydroxybenzoic acid	2.26	C ₁₃ H ₁₆ O ₉	[M-H] ⁻	315.0711	315.0722	-3.49	84.94
8	Unknown	11.50	C ₂₁ H ₂₆ O ₁₀	[M+H] ⁺	439.1619	439.1599	4.55	74.39
9	Brevifolin carboxylic acid	12.05	C ₁₃ H ₈ O ₈	[M-H] ⁻	291.0116	291.0146	-10.31	77.60
10	Chlorogenic acid	13.20	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	353.0867	353.0878	-3.12	63.34
11	Lariciresinol, Triptolide	13.90	C ₂₀ H ₂₄ O ₆	[M+NH ₄] ⁺	378.1896	378.1911	-3.97	80.51
12	Tuberonic acid glucoside	14.00	C ₁₈ H ₂₈ O ₉	[M-H] ⁻	387.1661	387.1661	0.00	75.01
13	Eurycomanol, Bruceine D	14.00	C ₂₀ H ₂₆ O ₉	[M+H] ⁺	411.1625	411.1650	-6.08	85.60
14	Methyl 1-(2-Carboxyphenyl)-2,3,4-tri-O-acetyl-β-D-glucopyranuronate	17.20	C ₂₀ H ₂₂ O ₁₂	[M+H] ⁺	455.1160	455.1184	-5.27	47.49
15	Unknown	17.40	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₁	[M+NH ₄] ⁺	538.2301	538.2283	3.34	94.65
16	Alboside II	17.60	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₃	[M-H] ⁻	565.1903	565.1927	-4.25	65.90
17	Anthracin, Isochailulactone, Pyramidin H,	17.74	C ₂₂ H ₂₂ O ₇	[M+H] ⁺	399.1407	399.1438	-7.77	82.15
18	Isofraxidin, Umckalin, Cytogenin	18.00	C ₁₁ H ₁₀ O ₅	[M+H] ⁺	223.0601	223.0601	0.00	55.42
19	6,7-dihydroxy-9-[4-(2,3,6,7-tetrahydroxyxanthene-9-ylidene)cyclohexa-2,5-dien-1-ylidene]xanthene-2,3-dione	18.10	C ₃₂ H ₁₈ O ₁₀	[M-H] ⁻	561.0838	561.0827	1.96	54.10
20	Yatein, Melafolone, Furaquinocin G	18.60	C ₂₂ H ₂₄ O ₇	[M+H] ⁺	401.1588	401.1595	-1.74	74.53
21	3,4-Dicaffeoyl-1,5-quinolactone	18.83	C ₂₅ H ₂₂ O ₁₁	[M+H] ⁺	499.1266	499.1235	6.21	89.52
22	Cyanarine (1,5-Dicaffeoylquinic acid)	19.10	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	[M-H] ⁻	515.1210	515.1195	2.91	84.10
23	Jasmonic acid	19.70	C ₁₂ H ₁₈ O ₃	[M+NH ₄] ⁺	228.1597	228.1594	1.31	58.81
24	herbacetin 8-(3"-O-acetylxyloside), tectorigenin-7-O-β-D-glucuronide, diosmentin-7-O-β-D-glucuronopyranoside, Kaempferol 3-methyl ether 7-glucuronide, Gomphrenol 3-glucoside	19.80	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₂	[M+H] ⁺	477.1041	477.1028	2.72	92.28
25	Quassin, isopetalic acid, schisandrin A, Pseudolaric Acid A,	20.20	C ₂₂ H ₂₈ O ₆	[M+NH ₄] ⁺	406.2228	406.2224	0.98	97.14
26	Azalein, Tectoridin	20.30	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	[M-H] ⁻	461.1073	461.1089	-3.47	67.96
27	Unknown	20.50	C ₃₃ H ₂₀ O ₁₀	[M+HCOO] ⁻	621.1041	621.1038	0.48	20.84
28	Fumarprotocetraric acid	20.70	C ₂₂ H ₁₆ O ₁₂	[M-H] ⁻	471.0547	471.0569	-4.67	80.46
29	Tracheloside, Eucommin A	20.70	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₂	[M-H] ⁻	549.1952	549.1978	-4.73	91.26
30	Unknown	21.40	C ₁₅ H ₂₄ O ₄	[M+NH ₄] ⁺	286.2020	286.2013	2.45	100.00

Çizelge 4.20. (Devam)

N o	Analit	RT	Formül	İyon	Ölçülen m/z	Beklenen m/z	Fark (ppm)	İzotop Skor
31	Unknown	21.40	C ₂₀ H ₂₆ O ₅	[M+NH ₄] ⁺	364.2142	364.2118	6.59	91.77
32	Absciscic acid, Judaicin (sesquiterpene)	21.80	C ₁₅ H ₂₀ O ₄	[M+NH ₄] ⁺	282.1708	282.17	2.84	92.63
33	methyl 2,3,4-tri-O-acetyl-6-O-triphenyl-methyl-α-D-glucopyranoside	22.80	C ₃₂ H ₃₄ O ₉	[M-H] ⁻	561.2160	561.2130	5.35	81.89
34	Germacrone, Nootkatone, Rotundone, α-Vetivone	22.9	C ₁₅ H ₂₂ O	[M+H] ⁺	219.1736	219.1743	-3.19	54.14
35	Unknown	23.60	C ₁₆ H ₂₂ O ₇	[M-H] ⁻	325.1294	325.1293	0.31	87.40
36	Unknown	23.60	C ₁₉ H ₂₂ O ₉	[M-H] ⁻	393.1163	393.1191	-7.12	92.38
37	Luteollin	24.10	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	[M-H] ⁻	285.0422	285.0405	5.96	93.92
38	Unknown	24.10	C ₁₉ H ₁₂ O ₁₀	[M-H] ⁻	399.0335	399.0358	-5.76	58.56
39	Isorhamnetin, rhamnetin, nepetin, azaleatin, tamarixetin	24.30	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	[M-H] ⁻	315.0509	315.051	-0.32	99.68
40	Unknown	24.30	C ₂₀ H ₁₄ O ₁₁	[M-H] ⁻	429.0422	429.0463	-9.56	89.33
41	Unknown	25.50	C ₂₁ H ₁₆ O ₁₂	[M-H] ⁻	459.0546	459.0569	-5.01	46.06
42	Apigenin	26.90	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	269.0468	269.0455	4.83	52.54
43	Saintopin, topopyrone C, versicolorin A, daphnoretine	26.90	C ₁₈ H ₁₀ O ₇	[M+HCOO] ⁻	383.0391	383.0409	-4.70	59.92
44	Chrysoeriol, Diosmetin, Kaempferide, Pratensein, Psi-tectorigenin, Tectorigenin	27.30	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	299.0556	299.0561	-1.67	85.07
45	Laccaic acid	27.40	C ₂₀ H ₁₄ O ₁₀	[M-H] ⁻	413.0481	413.0514	-7.99	64.94
46	Unknown	27.70	C ₂₈ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	443.0582	443.0561	4.74	94.12
47	Cirsiliol. Eupalitin. Morelosin, Ombuin, Rhamnazin, Tricin	27.80	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	[M-H] ⁻	329.0668	329.0667	0.30	69.29
48	Chicoric acid	28.90	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₂	[M-H] ⁻	473.0719	473.0725	-1.27	85.86
49	Centaureidin, Arcapillin, Irogenin, Jaceidin	29.30	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	[M+H] ⁺	361.0910	361.0918	-2.22	94.92
50	Cirsimaritin	31.00	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	[M+H] ⁺	315.0876	315.0863	4.13	82.30
51	Unknown	31.00	C ₂₁ H ₁₆ O ₁₀	[M-H] ⁻	427.0646	427.0671	-5.85	67.39
52	Unknown	32.10	C ₁₈ H ₂₀ O ₄	M ⁺	300.1361	300.1356	1.67	28.45
53	Ayanin, Cirsilineol, Eupatilin, Santin, Scillavone A, Usnic acid	32.60	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	[M+H] ⁺	345.0956	345.0969	-3.77	61.52
54	Palmitic asit	34.80	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	[M+NH ₄] ⁺	274.2744	274.2741	1.09	83.57
55	Hydroxystearic acid	35.15	C ₁₈ H ₃₆ O ₃	[M+NH ₄] ⁺	318.3015	318.3003	3.77	91.58
56	Ethylene glycol hydroxystearate	35.50	C ₂₀ H ₄₀ O ₄	[M+NH ₄] ⁺	362.3258	362.3265	-1.93	82.95
57	Unknown	36.30	C ₁₅ H ₂₂ O ₄	[M-H] ⁻	265.1474	265.1445	10.94	48.99
58	Combretol, Artemetin, Marionol, Umuhengerin	37.20	C ₂₀ H ₂₀ O ₈	[M+H] ⁺	389.1251	389.1231	5.14	69.17
59	unknown	37.78	C ₂₄ H ₃₀ O ₆	[M+H] ⁺	415.2130	415.2115	3.61	95.51
60	Absinthin, Lepidolide	38.70	C ₃₀ H ₄₀ O ₆	[M+NH ₄] ⁺	514.3161	514.3163	-0.39	100.00
61	Stearic acid	40.60	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	[M+NH ₄] ⁺	302.3078	302.3054	7.94	83.18
62	Asbestinin-13, Bellericagenin B, Platicodigenin, Cucurbitacin II b, Verrucoside, Imperialine	41.30	C ₃₀ H ₄₈ O ₇	M ⁺	520.3395	520.3395	0.00	88.84
63	Unknown	41.80	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₁	[M+H] ⁺	425.1998	425.2017	-4.47	89.91
64	26-hydroxybrassinolide, Pladienolide A	43.10	C ₂₈ H ₄₈ O ₇	M ⁺	496.3405	496.3395	2.01	78.58
65	Unknown	45.60	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	[M+H] ⁺	295.2264	295.2268	-1.35	51.84
66	Arachidic acid	46.90	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	[M+NH ₄] ⁺	330.3380	330.3367	3.94	50.93

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çizelge 4.20. (Devam)

No	Analit	RT	Formül	İyon	Ölçülen m/z	Beklenen m/z	Fark (ppm)	İzotop Skor
67	Hydroxydocosanoic acid	47.10	C ₂₂ H ₄₄ O ₃	[M+NH ₄] ⁺	374.3641	374.3629	3.21	80.47
68	Erucic acid	48.80	C ₂₂ H ₄₂ O ₂	[M+NH ₄] ⁺	356.3539	356.3523	4.49	79.95
69	Sophoraflavanone G, Nymphaeol A, diplacone	49.80	C ₂₅ H ₂₈ O ₆	[M+H] ⁺	425.1976	425.1959	4.00	93.11
70	Unknown	49.80	C ₃₅ H ₃₂ O ₇	[M+H] ⁺	565.2214	565.2221	-1.24	66.82
71	Unknown	50.40	C ₃₁ H ₄₂ O ₉	[M+NH ₄] ⁺	576.3195	576.3167	4.86	50.00
72	Linolenyl alcohol	61.04	C ₁₈ H ₃₂ O	[M+NH ₄] ⁺	282.2793	282.2791	0.71	78.51
73	Docosadienoic acid	61.30	C ₂₂ H ₄₀ O ₂	[M+NH ₄] ⁺	354.3365	354.3367	-0.56	57.64
74	Unknown	64.20	C ₂₂ H ₄₂ O ₄	[M-H] ⁻	381.2998	381.3010	-3.15	66.82
75	Scortechinone	64.50	C ₃₄ H ₄₀ O ₉	[M+H] ⁺	593.2761	593.2745	2.70	95.95
76	Unknown	64.70	C ₂₅ H ₄₆ O ₄	[M-H] ⁻	409.3319	409.3323	-0.98	92.69
77	Unknown	65.30	C ₂₇ H ₅₀ O ₄	[M-H] ⁻	437.3624	437.3636	-2.74	76.77
78	Oleic acid. Elaidic acid	66.00	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	[M-H] ⁻	281.2475	281.2486	-3.91	59.93
79	9-ocatadecanal	66.21	C ₁₈ H ₃₄ O	[M+NH ₄] ⁺	284.2957	284.2948	3.17	91.25
80	Cinnamyl linolenate	66.89	C ₂₇ H ₃₈ O ₂	[M-H] ⁻	393.2796	393.2799	-0.76	30.18
81	Erucyl alcohol	66.90	C ₂₄ H ₄₄ O	[M+NH ₄] ⁺	366.3744	366.3730	3.82	87.82
82	Unknown	66.90	C ₂₂ H ₄₄ O ₆	[M-H] ⁻	403.3056	403.3065	-2.23	60.84
83	Unknown	67.20	C ₂₂ H ₃₈ O	[M+NH ₄] ⁺	336.3262	336.3261	0.300	99.01
84	Unknown	67.70	C ₂₂ H ₄₂ O	[M+NH ₄] ⁺	340.3576	340.3574	0.59	77.90
85	Food orange 7	68.60	C ₃₂ H ₄₄ O ₂	[M-H] ⁻	459.3245	459.3269	-5.23	96.57
86	Lignoceric acid	70.10	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	[M-H] ⁻	367.3563	367.3582	-5.17	65.06
87	Cholesteryl methylcarbonate	72.20	C ₂₉ H ₄₈ O ₃	[M-H] ⁻	443.3525	443.3531	-1.35	71.18
88	Ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one	72.60	C ₂₈ H ₄₀ O	[M+H] ⁺	393.3139	393.3152	-3.31	54.67
89	Daucosterol	73.76	C ₃₅ H ₆₀ O ₆	[M+HCOO] ⁻	621.4385	621.4372	2.09	99.03

Çizelge 4.21. Çalışılan *Achillea* ekstrelerinde LC-MS IT-TOF ile kalitatif analiz sonucu tespit edilen sekonder metabolitler (TÜ: Toprak üstü, TA: Toprak altı) (a: *A. monocephala*-TA, b: *A. monocephala*-TÜ, c: *A. nobilis*-TA, ç: *A. gonioccephala*-TA, e: *A. gonioccephala*-TÜ, f: *A. sintenisii*-TA, g: *A. sintenisii*-TÜ, ğ: *A. coarctata*-TA, h: *A. coarctata*-TÜ, i: *A. kotschyi*-TA, j: *A. kotschyi*-TÜ, k: *A. millefolium*-TA, l: *A. millefolium*-TÜ, m: *A. lycanica*-TA, n: *A. lycanica*-TÜ, o: *A. wilhelmsii*-TA, ö: *A. wilhelmsii*-TÜ, p: *A. spinulifolia*-TA, r: *A. spinulifolia*-TÜ, s: *A. teretifolia*-TA, ş: *A. teretifolia*-TÜ, t: *A. biebersteinii*-TA, u: *A. biebersteinii*-TÜ, ü: *A. setacea*-TA, v: *A. setacea*-TÜ, y: *A. schischkinii*-TA, z: *A. schischkinii*-TÜ.

No	Analit	Formül	a	b	c	ç	d	e	f	g	ğ	h	i	j	k	l	m	n	o	ö	p	r	s	ş	t	u	ü	v	y	z
1	Syringic acid	C ₉ H ₁₀ O ₅	✓		✓	✓	✓				✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
2	Unknown	C ₁₃ H ₂₄ O ₁₁					✓					✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓			✓	✓	✓	✓	✓	✓		
3	9-Hydroxy-7-oxo-7H-furo[3,2-g]chromen-4-yl β-D-glucopyranoside	C ₁₇ H ₁₆ O ₁₀	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓						✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
4	Unknown	C ₁₀ H ₁₄ O ₁₀	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
5	2',5,6',7-tetraacetoxylavanone, (-)-ECG-3"-O-Me, (-)-ECG-4"-O-Me,	C ₂₃ H ₂₀ O ₁₀	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
6	2,3,4-Tri-O-acetyl-pentanic acid, 1-methylpentane-1,1,2,2,3-pentacarboxylic acid	C ₁₁ H ₁₄ O ₁₀	✓										✓																	
7	3-(β-D-Glucopyranosyloxy)-4-hydroxybenzoic acid	C ₁₃ H ₁₆ O ₉	✓	✓	✓	✓							✓		✓				✓								✓			
8	Unknown	C ₂₁ H ₂₆ O ₁₀	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓				✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓
9	brevifolin carboxylic acid	C ₁₃ H ₈ O ₈	✓		✓		✓		✓		✓						✓			✓										
10	Chlorogenic acid	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	✓		✓	✓	✓	✓			✓		✓		✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓							
11	Lariciresinol, Triptolide	C ₂₀ H ₂₄ O ₆					✓																							
12	Tuberonic acid glucoside	C ₁₈ H ₂₈ O ₉				✓							✓			✓														
13	Eurycomanol, Bruceine D	C ₂₀ H ₂₆ O ₉		✓		✓						✓		✓	✓	✓			✓							✓		✓		
14	Methyl 1-(2-Carboxyphenyl)-2,3,4-tri-O-acetyl-β-D-glucopyranuronate	C ₂₀ H ₂₂ O ₁₂	✓																											
15	Unknown	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₁			✓																									
16	Alboside II	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₃				✓		✓														✓		✓					✓	✓
17	Anthriscin, Isochailactone, Pyramidatin H,	C ₂₂ H ₂₂ O ₇	✓		✓		✓		✓		✓						✓		✓	✓	✓	✓	✓							
18	Isofraxidin, Umckalin, Cytogenin	C ₁₁ H ₁₀ O ₅					✓		✓		✓		✓				✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓							

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çizelge 4.21. (Devam)

No	Analit	Formül	a	b	c	ç	d	e	f	g	ğ	h	i	j	k	l	m	n	o	ö	p	r	s	ş	t	u	ü	v	y	z
19	6,7-dihidroxy-9-[4-(2,3,6,7-tetrahydroxyxanthene-9-ylidene)cyclohexa-2,5-dien-1-ylidene]xanthene-2,3-dione	C ₃₂ H ₁₈ O ₁₀	✓		✓		✓					✓		✓		✓				✓		✓				✓		✓		✓
20	Yatein, Melafolone, Furaquinocin G	C ₂₂ H ₂₄ O ₇	✓				✓	✓	✓	✓							✓				✓									✓
21	3,4-Dicaffeoyl-1,5-quinolactone	C ₂₅ H ₂₂ O ₁₁	✓		✓						✓		✓						✓		✓				✓					
22	Cyanarine(1,5-Dicaffeoylquinic acid)	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓			✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
23	Jasmonic acid	C ₁₂ H ₁₈ O ₃																											✓	
24	Herbacetin 8-(3"-O-acetylxyloside), tectorigenin-7-O-β-D-glucuronide, diosmentin-7-O-β-D-glucuronopyranoside, Kaempferol 3-methyl ether 7-glucuronide, Gomphrenol 3-glucoside	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₂				✓																								
25	Quassin, isoapetalic acid, schisandrin A, PseudolaricAcid A,	C ₂₂ H ₂₈ O ₆				✓																								
26	Azalein, Tectoridin	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁				✓																								✓
27	Unknown	C ₃₃ H ₂₀ O ₁₀	✓																					✓						
28	Fumarprotocetraric acid	C ₂₂ H ₁₆ O ₁₂	✓				✓		✓						✓						✓									
29	tracheloside, Eucommin A	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₂					✓							✓	✓													✓		
30	Unknown	C ₁₅ H ₂₄ O ₄	✓																											
31	Unknown	C ₂₀ H ₂₆ O ₅			✓																									
32	Absciscic acid, Judaicin (sesquiterpene)	C ₁₅ H ₂₀ O ₄				✓																								
33	methyl 2,3,4-tri-O-acetyl-6-O-triphenyl-methyl-α-D-glucopyranoside	C ₃₂ H ₃₄ O ₉	✓																											
34	Germacrone, Nootkatone, Rotundone, a-Vetivone	C ₁₅ H ₂₂ O	✓					✓	✓	✓																				
35	Unknown	C ₁₆ H ₂₂ O ₇				✓																								
36	Unknown	C ₁₉ H ₂₂ O ₉			✓	✓																								
37	Luteollin	C ₁₅ H ₁₀ O ₆		✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓						✓				✓		✓		✓
38	Unknown	C ₁₉ H ₁₂ O ₁₀		✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓				✓				✓		✓		✓

Çizelge 4.21. (Devam)

No	Analit	Formül	a	b	c	ç	d	e	f	g	ğ	h	i	j	k	l	m	n	o	ö	p	r	s	ş	t	u	ü	v	y	z
39	Isorhamnetin, rhamnetin, nepetin, azaleatin, tamarixetin	$C_{16}H_{12}O_7$		✓		✓																								
40	Unknown	$C_{20}H_{14}O_{11}$		✓		✓				✓					✓															
41	Unknown	$C_{21}H_{16}O_{12}$		✓		✓						✓														✓				
42	Apigenin	$C_{15}H_{10}O_5$		✓		✓				✓				✓												✓				
43	Saintopin, topopyrone C, versicolorin A, daphnoretine	$C_{18}H_{12}O_7$		✓		✓				✓				✓												✓				
44	Chrysoeriol, Diosmetin, Kaempferide, Pratensein, Psitectorigenin, Tectorigenin,	$C_{16}H_{12}O_6$		✓		✓																								
45	Laccaic acid	$C_{20}H_{14}O_{10}$		✓		✓																			✓					
46	Unknown	$C_{28}H_{12}O_6$		✓		✓									✓										✓					
47	Cirsiliol, Eupalitin, Morelosin, Ombuin, Rhamnazin, Tricin	$C_{17}H_{14}O_7$		✓		✓									✓															
48	Chicoric acid	$C_{22}H_{18}O_{12}$		✓		✓						✓																		
49	Centaureidin, Arcapillin, Irigenin, Jaceidin	$C_{18}H_{16}O_8$		✓		✓						✓		✓											✓					
50	Cirsimaritin	$C_{17}H_{14}O_6$		✓		✓			✓	✓					✓			✓		✓					✓			✓		
51	Unknown	$C_{21}H_{16}O_{10}$		✓		✓			✓	✓					✓					✓						✓				
52	Unknown	$C_{18}H_{20}O_4$				✓																								
53	Ayanin, Cirsilineol, Eupalitin, Santin, Scillavone A, Usnic acid	$C_{18}H_{16}O_7$				✓																								
54	Palmitic asit	$C_{16}H_{32}O_2$	✓		✓		✓		✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓			✓		
55	Hydroxystearic acid	$C_{18}H_{36}O_3$	✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓			✓		
56	Ethylene glycol hydroxystearate	$C_{20}H_{40}O_4$	✓		✓												✓		✓											
57	Unknown	$C_{15}H_{22}O_4$		✓		✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓	
58	Combretol, Artemetin, Marionol, Umuhengerin	$C_{20}H_{20}O_8$					✓	✓	✓	✓	✓	✓			✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓			✓	✓	
59	unknown	$C_{24}H_{30}O_6$	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çizelge 4.21. (Devam)

No	Analit	Formül	a	b	c	ç	d	e	f	g	ğ	h	i	j	k	l	m	n	o	ö	p	r	s	ş	t	u	ü	v	y	z
60	Absinthin, Lepidolide	C ₃₀ H ₄₀ O ₆			✓																									
61	Stearic acid	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
62	asbestinin-13, Bellericagenin B, Platycodigenin, Cucurbitacin IIb, Verrucoside, Imperialine,	C ₃₀ H ₄₈ O ₇			✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓				✓		✓		✓					
63	Unknown	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₁					✓		✓										✓		✓		✓						✓	
64	26-hydroxybrassinolide, PLADIENOLIDE A	C ₂₈ H ₄₈ O ₇				✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓	✓	✓	✓	✓
65	Unknown	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	✓	✓			✓	✓		✓			✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓		✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
66	Arachidic acid	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	✓		✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
67	Hydroxydocosanoic acid	C ₂₂ H ₄₄ O ₃	✓							✓																				
68	Erucic acid	C ₂₂ H ₄₂ O ₂	✓		✓												✓		✓		✓		✓							
69	Sophoraflavanone G, NYMPHAEOL A, diplacone	C ₂₅ H ₂₈ O ₆	✓		✓		✓	✓	✓	✓	✓		✓				✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓	✓
70	Unknown	C ₃₅ H ₃₂ O ₇	✓		✓		✓		✓				✓				✓		✓		✓		✓							✓
71	Unknown	C ₃₁ H ₄₂ O ₉	✓		✓		✓		✓		✓		✓				✓		✓		✓		✓						✓	✓
72	Linolenyl alcohol	C ₁₈ H ₃₂ O	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
73	Docosadienoic acid	C ₂₂ H ₄₀ O ₂	✓	✓			✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓							✓		✓	✓
74	Unknown	C ₂₃ H ₄₂ O ₄		✓						✓																				
75	Scortechinone	C ₃₄ H ₄₀ O ₉		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
76	Unknown	C ₂₅ H ₄₆ O ₄		✓	✓	✓		✓		✓					✓						✓				✓	✓		✓		✓
77	Unknown	C ₂₇ H ₅₀ O ₄		✓											✓															
78	Oleic acid, Elaidic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
79	9-ocatadecanal	C ₁₈ H ₃₄ O	✓		✓		✓		✓		✓		✓								✓		✓		✓					
80	Cinnamyl linolenate	C ₂₇ H ₃₈ O ₂	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
81	Erucyl alcohol	C ₂₄ H ₄₄ O		✓		✓		✓		✓				✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓			✓	✓
82	Unknown	C ₂₂ H ₄₄ O ₆	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
83	Unknown	C ₂₂ H ₃₈ O	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Çizelge 4.21. (Devam)

No	Analit	Formül	a	b	c	ç	d	e	f	g	ğ	h	i	j	k	l	m	n	o	ö	p	r	s	ş	t	u	ü	v	y	z
84	Unknown	$C_{22}H_{42}O$		✓		✓		✓		✓				✓		✓		✓		✓									✓	✓
85	Food orange 7	$C_{32}H_{44}O_2$		✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓	✓	✓
86	Lignoceric acid	$C_{24}H_{48}O_2$				✓		✓		✓		✓		✓				✓		✓										
87	Cholesteryl methylcarbonate	$C_{29}H_{48}O_3$		✓		✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓		✓			✓	✓	✓	✓		✓		✓					
88	Ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one	$C_{28}H_{40}O$		✓																										
89	Daucosterol	$C_{35}H_{60}O_6$	✓	✓	✓		✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓		✓		✓	✓	✓	✓

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu doktora tez çalışmasında Asteraceae familyasına ait olan 14 *Achillea* türünün (*A. biebersteinii* Afan, *A. coarctata* Poir., *A. kotschy* subsp. *kotschy*, *A. lycaonica* Boiss. et Heldr., *A. millefolium* L. subsp. *millefolium* L., *A. schischkinii* Sosn., *A. setacea* Waldst. et Kit., *A. sintenisii* Hub.-Mor., *A. wilhelmsii* c. Koch subsp. *wilhelmsii*, *A. teretifolia* Willd., *A. goniocephala* Boiss. et Bal., *A. nobilis* L. subsp. *neilreichii* (Kerner) Formanek, *A. spinulifolia* Fenzl ex Boiss. ve *A. monocephala* Boiss. & Balansa) toprak altı ve toprak üstü kısımları hazırlanan ekstreleri kimyasal içerik ve biyolojik aktivite açısından detaylı bir şekilde incelenmiştir.

Çalışılan türlerin metanol-kloroform ekstrelerinin major sekonder metabolitleri LCMS IT-TOF cihazı ile taranmıştır. Ayrıca LC-MS/MS ile hem etanol hem de metanol-kloroform ekstrelerindeki 37 fitokimyasalın (15 fenolik asit, 17 flavonoid, 3 fenolik olmayan organik asit, 1 fenolik aldehit ve 1 Benzopiran) kalitatif ve kantitatif analizine ait metot validasyonu yapılarak ekstrelerdeki miktarları belirlenmiştir. Ayrıca, çalışılan *Achillea* bitki ekstrelerinin toplam fenolik ve toplam flavonoid içeriği belirlendikten sonra DPPH serbest radikal giderim aktivitesi, ABTS katyon radikali giderim aktivitesi, β -Karoten lipid peroksidasyon test sistemi ve CUPRAC bakır indirgeme kapasitesi yöntemleriyle antioksidan aktiviteleri ve Ellman yöntemi ile antikolinesteraz etkileri belirlendi. Tez çalışmasının önemli bir kısmında da *Achillea* türlerinin toprak üstü ve toprak altı kısımlarının metanol-kloroform (1:1) ekstrelerinin HeLa hücrelerine karşı antikanserojen aktivitelerini incelenmiştir.

Çalışılan 14 *Achillea* türünün toprak altı ve toprak üstü kısımlarının kloroform-metanol ekstrelerinin LC-MS IT-TOF ile taranması sonucu farklı sınıflardan 89 farklı sekonder metabolit tespit edilmiştir. Bu bileşenlerden yirmiyeye yakını, çalışılan tüm türlerde tespit edilmiştir. Bu durum, bu bileşenlerin *Achillea* türlerinin kemotaksonomik çalışmaları açısından büyük önem arz etmektedir. Bu veriler genel olarak *Achillea* türleri ile çalışacak bilim insanlarına yol gösterici olacaktır.

Ekstreler içerisinde *A. nobilis*, *A. monocephala* ve *A. kotschy*'nin toprak altı ekstresinin toplam fenolik miktarlarının (sırasıyla 282.97 ± 3.14 , 255.95 ± 3.51 ve 260.00 ± 3.38 μg pirokatekole eşdeğer/mg ekstre) en yüksek, *A. schischkinii*'nin toprak

altı ekstresinin toplam flavonoid içeriğinin (35.36 ± 0.54 µg kersetine eşdeğer/mg ekstre) ise en fazla olduğu görülmüştür. Bu arada genel olarak *A. kotschyi*, *A. nobilis* ve *A. monocephala*'nin toplam fenolik ve flavonoid içerik bakımından zengin olduğu tespit edilmiştir.

LC-MS/MS ile 37 fitokimyasalın kalitatif ve kantitatif analizine ilişkin geliştirilen ve validasyonu yapılan metotla bitkilerin toprak altı ve toprak üstü kısımlarının etanol ve kloroform-metanol ekstralarının analizleri yapılmıştır. LC-MS/MS sonuçlarına göre *A. kotschyi* ve *A. nobilis* 'in toprak altı etanol ekstralarında klorojenik asit (sırasıyla 55812.20 ve 46407.00 µg/g ekstre), *A. schischkinii*'nin toprak üstü etanol ekstresinde kinik asit (38293.02 µg/g ekstre), *A. monocephala*'nın toprak altı metanol-kloroform, toprak altı ve toprak üstü etanol ekstralarında fumarik asit (sırasıyla 12986.93, 9390.42 ve 5105.82 µg/g ekstre), *A. millefolium*'un toprak üstü metanol-kloroform ekstresinde malik asit (12945.44µg/g ekstre), *A. coarctata*, *A. millefolium* ve *A. setacea* 'nın toprak üstü etanol ekstresinde rutin (sırasıyla 11120.52, 7696.17 ve 7461.23 µg/g ekstre) ve hesperidin (sırasıyla 3949.89, 2245.19 ve 2562.70 µg/g ekstre), *A. teretifolia*'nın toprak altı ve toprak üstü etanol ekstralarında kersetin (sırasıyla 9085.56, 4432.36 µg/g ekstre), *A. goniocephala*'nın toprak altı etanol ekstresinde vanilik asit (5376.57 µg/g ekstre), *A. monocephala*, *A. kotschyi*'nin toprak üstü etanol ve *A. kotschyi*'nin toprak üstü metanol-kloroform ekstralarında apigenin (sırasıyla 5205.2, 2167.55 ve 1629.36 µg/g ekstre), *A. kotschyi*, *A. spinulifolia*, *A. nobilis* ve *A. goniocephala*'nın toprak üstü etanol ekstresinde izokersitrin (sırasıyla 3535.16, 2241.42, 2234.09 ve 2053.51 µg/g ekstre), *A. kotschyi*'nin toprak üstü etanol ve metanol-kloroform ekstralarında apigetrin (sırasıyla 5358.40 ve 3472.24 µg/g ekstre), *A. nobilis*'in toprak altı metanol-kloroform ekstresinde kafeik asit (2862.66 µg/g ekstre), *A. teretifolia*, *A. biebersteinii* ve *A. monocephala*'nın toprak üstü etanol ekstresinde luteolin (sırasıyla 2613.32, 2535.41 ve 2343.39 µg/g ekstre) kayda değer miktarda bulunmuştur.

Genel olarak çalıştığımız türlerden toplam fenolik ve flavonoid içerik bakımından zengin olan türlerin LC-MS/MS taramasında da benzer sonuçlar elde edilmiştir. LC-MS/MS sonuçlarımıza göre kinik, malik, fumarik, klorojenik ve vanilik asitler ile rutin, hesperidin, izokersitrin, apigetrin, luteolin ve apigenin flavonoidlerinin

çalıştığımız türlerin tümünde veya çoğunluğunda kayda değer miktarda olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca 17 bileşenin çalıştığımız tüm türlerde varlık gösterdiği belirlenmiştir. Bu bileşenlerin *Achillea* türlerinin kemotaksonomik sınıflandırılmasında kullanılabileceğini söyleyebiliriz.

β -karoten renk açılımı yöntemine göre tüm ekstrelerimizin düşük ve orta seviyede aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu yöntemde en çok en aktif ekstreler *A. goniocephala* toprak üstü (48.42 ± 0.25), *A. millefolium* toprak üstü (53.59 ± 0.29), *A. setacea* toprak üstü (54.70 ± 0.65) ve *A. wilhelmsii* toprak altı (55.19 ± 0.86) olduğu belirlenmiştir.

Genel olarak çalışılan *Achillea* türlerinin iyi seviyede DPPH serbest radikali giderim aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir. DPPH yöntemine göre, en yüksek aktiviteyi *A. nobilis* (IC_{50} : 12.23 ± 0.24), *A. kotschy* (12.88 ± 0.45) ve *A. monocephala*'nın ($16,85 \pm 0,60$) toprak altı ekstreleri göstermiştir. Bunun yanında çalışılan *Achillea* türlerinin genel olarak ABTS katyon radikali giderim yönteminde de çok iyi aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. Bu yöntemde en yüksek aktiviteyi, *A. monocephala* toprak altı (<10), *A. nobilis* toprak altı (<10) ve *A. kotschy*'nin toprak altı (<10) ekstreleri göstermiştir. Bu ekstreler hemen hemen α -tocopherol kadar veya daha iyi aktivite göstermişlerdir. CUPRAC antioksidan tayin yöntemine göre ise *A. monocephala* toprak altı (2.850 ± 0.289), *A. nobilis* toprak altı (3.675 ± 0.13), *A. coarctata* toprak altı (2.114 ± 0.101) ve *A. kotschy*'nin toprak altı (3.547 ± 0.039) ekstreleri BHT'ye yakın (3.637 ± 0.184) veya daha iyi aktivite göstermişlerdir.

Aynı türlerin hem ABTS hem de DPPH yöntemlerinde en yüksek aktiviteyi gösterdikleri göze çarpmaktadır. Bu türlerin bu yüksek aktiviteleri yüksek total fenolik ve flavonoid içerikleri ile paralellik göstermektedir. Bu sonuçlara, LC-MS/MS verileri ışığında detaylı bir şekilde bakıldığında bu yüksek aktivitenin antioksidan potansiyeline sahip olan ve bu türlerde fazlaca bulunan klorojenik, kafeik, p-kumarik ve protokateşik asitlerin yanı sıra, kesretin, apigenin, rutin ve luteolin gibi flavonoidlerden kaynaklanıyor olabileceğini söyleyebiliriz.

Antikolinesteraz aktivite sonuçlarına göre tüm ekstreler arasında en yüksek aktiviteyi hem bütirilkolinesteraz hem de asetilkolinesteraz enzim inhibisyonunda *A. monocephala*'nın toprak üstü ekstresi (sırasıyla 39.73 ± 1.51 , 19.60 ± 0.44) göstermiştir.

Ekstrelerin HeLa hücreleri üzerindeki sitotoksik (antikanser) aktivite testleri sonucunda *Achillea* türlerinin tamamı önemli ölçüde sitotoksik aktivite göstermiştir. En yüksek sitotoksik aktiviteleri *A. goniocephala* toprak üstü (-0.009), *A. millefolium* toprak üstü (-0.0059), *A. wilhelmsii* toprak üstü (-0.0146), *A. spinulifolia* toprak altı (-0.03) ve toprak üstü (-0.02) ve *A. schischkinii* toprak üstü (-0.0034) ekstreleri gösterirken, en düşük aktiviteleri *A. lycaonica* toprak altı (0.2266), *A. kotschy* toprak altı (0.1609), *A. sintenisii* toprak üstü (0.1559) ve *A. teretifolia* toprak altı (0.1487) ekstreleri göstermişlerdir. Ayrıca, *A. monocephala*, *A. nobilis*, *A. coarctata* türlerinin de çok yüksek sitotoksik aktivite gösterdiği anlaşılmıştır.

Literatürde, çalışılan *Achillea* türleri üzerine pek çok irili ufaklı çalışma vardır. Ancak 14 türün kapsamlı bir şekilde incelenmesi gerçekleştirilmemiştir. Ayrıca, *Achillea* türlerinin LC-MS IT-TOF ile metabolik taranması ilk defa gerçekleştirilmiş olup, bu tezde çalışılan *A. monocephala*, *A. goniocephala*, *A. sintenisii*, *A. spinulifolia*, *A. teretifolia* ve *A. schischkinii* türleri üzerine LC-MS/MS ile yapılan fitokimyasal tarama bir ilk olma özelliği taşımaktadır. Bu açıdan bu tez çalışmasının literatüre önemli bir katkı sağlaması ve gelecekte *Achillea* cinsi üzerinde çalışacak bilim insanlarına ışık tutması beklenmektedir.

Sonuç olarak, çok yüksek antioksidan ve sitotoksik aktivite gösteren *A. monocephala*, *A. nobilis* ve *A. coarctata* türlerinin daha detaylı olarak kimyasal açıdan incelenmesi ve aktif bileşiklerin izole edilerek yapılarının aydınlatılması faydalı olacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Aboutabl, E.A., Soliman, F.M., El-Zalabani, S.M. 1986. Essential oil of *Achillea fragrantissima* (Forssk.) Sch. Bip. **Scientia Pharmaceutica**, 54 (1): 37-41.
- Abu-Dahab, R., Afifi, F. 2007. Antiproliferative activity of selected medicinal plants of Jordan against a breast adenocarcinoma cell line (MCF7). **Scientia Pharmaceutica**, 75 (3): 121-136.
- Agnihotri, V.K., Lattoo, S.K., Thappa, R.K., Kaul, P., Qazi, G.N., Dhar, A.K. et al. 2005. Chemical variability in the essential oil components of *Achillea millefolium* Agg. from different Himalayan habitats (India). **Planta Medica**, 71 (3): 280-283.
- Ahmad, V.U., Farooq, U., Hussain, J., Farmanullah, Abbasi, M.A., Jassbi, A.R. ve diğerleri. 2005. Three new sesquiterpene hemiacetals from *Achillea vermicularis*. **Natural Product Research**, 19 (6): 551-559.
- Ahmad, V.U., Khan, M.A., Baqai, F.T., Tareen, R.B. 1995. Santoflavone, a 5-Deoxyflavonoid from *Achillea santolina*. **Phytochemistry**, 38 (5): 1305-1307.
- Ahmed A. A., J. Jakupovk, A. A. Seifel-din, Melek F. R. 1990. Irregular oxygenated monoterpenes from *Achillea fragrantissima*, **Phytochemistry**, 29 (4): 1322-1324.
- Ahmed, A.A., Gati, T., Hussein, T.A., Ali, A.T., Tzakou, O.A., Couladis, M.A. et al. 2003. Ligustolide A and B, two novel sesquiterpenes with rare skeletons and three 1,10-seco-guaianolide derivatives from *Achillea ligustica*. **Tetrahedron**, 59 (21): 3729-3735.
- Ahmed, A.A., Mahmoud, A.A., Ali, E.T., Tzakou, O., Couladis, M., Mabry, T.J. et al. 2002. Two highly oxygenated eudesmanes and 10 lignans from *Achillea holosericea*. **Phytochemistry**, 59 (8): 851-856.
- Akalın, H.Ü. 2003. Alzheimer hastalarının lenfositlerinde rRNA ifadenmesinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Akkol, E.K., Koca, U., Pesin, I., Yilmazer, D. 2009. "Evaluation of the wound healing potential of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae) by *in vivo* excision and incision models". **eCAM.**, 22:1-7 .
- Alexandru, V., Balan, M., Gaspar, A., Craciunescu, O., Moldovan, L. 2007. Studies on the antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Romanian medicinal plants used for wound healing. **Romanian Biotechnological Letters**, 12 (6): 3467-3472.
- Al-Ismail, K., Herzallah, S.M., Rustom, A.S. 2007. Antioxidant activities of some edible wild Mediterranean plants. **Italian Journal of Food Science**, 19 (3): 287-296.

- Aljancic, I., Macura, S., Juranic, N., Andjelkovic, S., Randjelovic, N., Milosavljevic, S. 1996. Diterpenes from *Achillea clypeolata*. **Phytochemistry**, 43 (1): 169-171.
- Al-Mustafa, A.H., Al-Thunibat, O.Y. 2008. Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. **Pak J Biol Sci**, 11 (3): 351-358.
- Amarowicz, R. ve Shahidi, F. 1996. A rapid chromatographic method for separation of individual, catechins for green tea. **Food Research International**, 29: 71-76.
- Amin, G., Sourmaghi, M.H.S., Azizzadeh, M., Yassa, N., Asygar, T. 2008. Seasonal Variation of the Essential Oil Composition of Cultivated Yarrow in Tehran-Iran. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, 11 (6): 628-633.
- Anggård, E. 1994. Nitric oxide: Mediator, murderer and medicine. **The Lancet**, 343 (8907): 1199-1206.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. 2004. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamin C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52: 7970-7981.
- Appendino, G., Jakupovic, J., Ozen, H.C., Schuster, N. 1993. A seco-bis-norguaianolide from *Achillea pseudoaleppica*. **Phytochemistry**, 34 (4): 1171-1172.
- Applequist, W.L., Moerman, D.E. 2011. Yarrow (*Achillea millefolium* L.) : A neglected panacea? A review of ethnobotany, bioactivity, and biomedical research, **Econ. Bot.**, 65 (2): 209–225 .
- Appleyard, M.E. 1992. Secreted acetylcholinesterase: non-classical aspects of a classical enzyme. **Trends in Neurosciences**, 15: 485-490.
- Arabacı, T. 2006. Türkiye’de Yetişen *Achillea* L. (Asteraceae) Cinsinin Revizyonu, Doktora Tezi. İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Arabacı, T., Budak, U., 2009. *Achillea hamzaoglu* (Asteraceae), a new species from Turkey. **Annales Botanici Fennici**, 46 (5): 459-463.
- Ardestani, A., Yazdanparast, R. 2007. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. **Food Chemistry**, 104 (1): 21-29.
- Arituluk, Z.C. 2010. Tefenni (Burdur) Florası ve Halk İlaçları, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.

- Aruoma, O.I., Cuppett, S.L. 1997. *Antioxidant Methodology in vivo and in vitro Concept*. AOCS Press, Sayfa: 241. Illinois: Champaign.
- Aruoma, O.I., Halliwell, B. ve Dizdaroğlu, M. 1989. Iron ion-depended modification of bases in DNA by the superoxide radical-generating system hypoxanthine/xanthine oxidase. ***The Journal of Biological Chemistry***, 264: 13024-13028.
- Auld, D.S., Kornecook, T.J., Bastianetto, S. ve Qirion, R. 2002. Alzheimer's disease and the basal forebrain cholinergic system: relations to β -amyloid peptides, cognition, and treatment strategies. ***Progress in Neurobiology***, 68: 209-245.
- Azadbakht, M., Morteza-Semnani, K., Khansari, N. 2003. The essential oil composition of *Achillea wilhelmsii* C. Koch leaves and flowers. ***Fashnamah-i Giyahan-i Daruyi***, 2(6): 55-59.
- Azaz, A.D., Arabaci, T., Sangun, M.K. 2009. Essential Oil Composition and Antimicrobial Activities of *Achillea biserrata* M. Bieb. and *Achillea salicifolia* Besser subsp salicifolia Collected in Turkey. ***Asian Journal of Chemistry***, 21 (4): 3193-3198.
- Azaz, A.D., Arabaci, T., Sangun, M.K., Yildiz, B. 2008. Composition and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of *Achillea wilhelmsii* C. Koch. and *Achillea lycaonica* Boiss & Heldr. ***Asian Journal of Chemistry***, 20 (2): 1238-1244.
- Azizi, M., Chizzola, R., Ghani, A., Oroojalian, F. 2010. Composition at Different Development Stages of the Essential Oil of Four *Achillea* Species Grown in Iran. ***Nat. Prod. Commun.***, 5 (2): 283-290.
- Babior, B.M., Woodman, R.C. 1990. Chronic granulomatous disease. ***Seminars in Hematology***, 27: 247-259.
- Bader, A., Flamini, G., Cioni, P.L., Morelli, I. 2003. Essential oil composition of *Achillea santolina* L. and *Achillea biebersteinii* Afan. collected in Jordan. ***Flavour and Fragrance Journal***, 18 (1): 36-38.
- Bader, A., Panizzi, L., Cioni, P.L., Flamini, G. 2007. *Achillea ligustica*: composition and antimicrobial activity of essential oils from the leaves, flowers and some pure constituents. ***Central European Journal of Biology***, 2 (2): 206-212.
- Balboul, B.A.A.A., Ahmed, A.A., Otsuka, H., Bando, M., Kido, M., Takeda, Y. 1997. A guaianolide and a germacranolide from *Achillea santolina*. ***Phytochemistry***, 46 (6): 1045-1049.
- Banerjee, S.K., Bonde, C.G. 2011. Total phenolic content and antioxidant activity of extracts of *Bridelia Retusa Spreng* Bark: Impact of dielectric constant and geographical location. ***J. Med. Plants Res.*** 5: 817-822.

- Banhnhu, C., Gacsbaitz, E., Radics, L., Tamas, J., Ujszaszy, K., Verzarpetri, G. 1979. Achillicin - 1st Proazulene from *Achillea millefolium*. **Phytochemistry**, 18 (2): 331-332.
- Bariş, Ö., Güllüce, M., Şahin, F., Özer, H., Kiliç, H., Özkan, H. et al. 2006. Biological activities of the essential oil and methanol extract of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae). **Turkish Journal of Biology**, 30 (2): 65-73.
- Barnes, J.S., Nguyen, H.P., Shen, S., et al. 2009. General method for extraction of blueberry anthocyanins and identification using high performance liquid chromatography–electrospray ionization-ion trap-time of flight-mass spectrometry, **J. Chromatogr. A** 1216 : 4728–4735.
- Barrero, A.F., Alvarezmanzaneda, E.J., Alvarezmanzaneda, R. 1989. Achilleol-a - a New Monocyclic Triterpene Skeleton from *Achillea odorata* L. **Tetrahedron Letters**, 30 (25): 3351-3352.
- Barrero, A.F., Manzaneda, R.E.A., Manzaneda, R.R.A., Arseniyadis, S., Guittet, E. 1990. Achilleol B: A new tricyclic triterpene skeleton from *Achillea odorata* L. **Tetrahedron**, 46 (24): 8161-8168.
- Baser, K.H., Demirci, B., Demirci, F., Kocak, S., Akinci, C., Malyer, H. et al. 2002. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea multifida*. **Planta Medica**, 68 (10): 941-943.
- Baser, K.H.C., Demirci, B., Duman, H. 2001. Composition of the essential oils of two endemic species from Turkey: *Achillea lycaonica* and *A-ketenoglui*. **Chemistry of Natural Compounds**, 37 (3): 245-252.
- Baser, K.H.C., Demirci, B., Kaiser, R., Duman, H. 2000. Composition of the essential oil of *Achillea phrygia* Boiss. et Ball. **Journal of Essential Oil Research**, 12 (3): 327-329.
- Baytop, A. 1998. Farmasötik Botanik, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, Sayfa: 359.
- Baytop, T. 1999. Bitkileri ile Tedavi İlaveli 2. Baskı, *Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul, Sayfa: 81-177.
- Beliveau R., Gingras D. 2004. Green tea: prevention and treatment of cancer by nutraceuticals. **The Lancet** 365: 1021–1022.
- Benedek, B., Kopp, B. 2007. *Achillea millefolium* L. s.l. Revisited: Recent Findings Confirm the Traditional Use, *Wien Med. Wochensh* 157: 312-314.

- Benetis, R., Radušienė, J., Jakštas, V., Janulis, V., Malinauskas, F. 2008a. Development of an RP-HPLC method for the analysis of phenolic compounds in *Achillea millefolium* L. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, 31 (4): 596-610.
- Benetis, R., Radušienė, J., Jakštas, V., Janulis, V., Puodziuniene, G., Milasius, A. 2008b. Quantitative HPLC determination of phenolic compounds in yarrow. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, 42 (3): 153-156.
- Benetis, R., Radušienė, J., Janulis, V. 2008c. Variability of phenolic compounds in flowers of *Achillea millefolium* wild populations in Lithuania. **Medicina-Lithuania**, 44 (10): 775-781.
- Benzie, I. F. F. ve Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, 239: 70-76.
- Bezic, N., Skocibusic, M., Dunkic, V., Radonic, A. 2003. Composition and antimicrobial activity of *Achillea clavennae* L. essential oil. **Phytotherapy Research**, 17 (9): 1037-1040.
- Bicchi, C., Frattini, C., Cantamessa, L., Poggio, L. 1988. On the composition of *Achillea abrotanoides* (Vis.) Vis. essential oil. **Flavour and Fragrance Journal**, 3 (3) : 101-104.
- Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products. Part I: Chemical diversity, impacts on plant biology and human health. **Biotech. J.**, 2: 1214–1234.
- Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, 181: 1199-1200.
- Bocevskaja, M., Sovova, H. 2007. Supercritical CO₂ extraction of essential oil from yarrow. **Journal of Supercritical Fluids**, 40 (3): 360-367.
- Boskovic, Z., Radulovic, N., Stojanovic, G. 2005. Essential oil composition of four *Achillea* species from the balkans and its chemotaxonomic significance. **Chemistry of Natural Compounds**, 41 (6): 674-678.
- Boucher B.A., Cotterchio M., Anderson L.N., Kreiger N., Kirsh V.A., Thompson L.U. 2013. Use of isoflavone supplements is associated with reduced postmenopausal breast cancer risk. **Int J Cancer**.132:1439–1450.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Bogavac, M., Suvajdzic, L., Simin, N., Samojlik, I. ve diğerleri. 2008. Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of *Achillea collina* Becker ex Heimerl s.l. and *A. pannonica* Scheele essential oils. **Molecules**, 13 (9): 2058-2068.
- Bremer, K. 1994. *Asteraceae: Cladistics & Classification*, Timber Press, Oregon.

- Bremer, K. ve Humphries, C., J. 1993. Generic Monograph of the Asteraceae - Anthemideae. **Bulletin of the Natural History Museum Botany Series**, 23 (2): 71-177.
- Bruno, M., Bondi, M. L., Paternostro M. P., Arnold N. A., Dfaz J. G., Herz W. 1996. Bisabolenes from *Achillea cretica*. **Phytochemistry**, 42 (3): 737-740.
- Bruno, M., Herz, W. 1988. Guaianolides and other constituents of *Achillea ligustica*. **Phytochemistry**, 27 (6): 1871-1872.
- Bruno, M., Rosselli, S., Maggio, A., Raccuglia, R.A., Bastow, K.F., Wu, C.C. et al. 2005. Cytotoxic activity of some natural and synthetic sesquiterpene lactones. **Planta Medica**, 71 (12): 1176-1178.
- Buchanan, B.B., Schurmann, P., Decottignies, P.T., Lozano, R.M. 1994. Perspectives in biochemistry and biophysics: thioredoxin: a multifunctional regulatory protein with a bright future in tecnology and medicine. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 314: 257-260.
- Bulatovic, V.M., Savikin-Fodulovic, K.P., Menkovic, N.R., Grubisic, D.V., Dokovic, D.D., Vajs, V.E. (1997). Essential Oil of *Achillea corabensis* (Heimerl) Micevski. **Journal of Essential Oil Research**, 9 (5), 537-540.
- Campbell J.K., Canene-Adams K., Lindshield B.L., Boileau T.W., Clinton S.K., Erdman Jr. J.W. 2004. Tomato phytochemicals and prostate cancer risk. **J. Nutr.** 134: 3486–3492.
- Candan, F., Ünlü, M., Tepe, B., Deferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A., Akpulat, H. A. 2003. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium subsp. millefolium* Afan. (Asteraceae). **J. Etnopharmacol.**, 87: 215-220 .
- Cao, G., Zhang, C., Zhang, Y., et al., 2011. Global detection and identification of components from crude and processed traditional Chinese medicine by liquid chromatography connected with hybrid ion trap and time-of-flight-mass spectrometry. **J. Sep. Sci.**, 34 (15): 1845-1852.
- Chalchat, J.C., Petrovic, S.D., Maksimovic, Z.A., Gorunovic, M.S. 2005. Aromatic plants of yugoslavia. III. Chemical composition of essential oils of *Achillea abrotanoides* (Vis.) vis., *A-clypeolata* Sibth. & Sm., *A-depressa* Janka and *A-stricta* schleicher et Koch. **Journal of Essential Oil Research**, 17 (5) : 549-552.
- Chandler, R.F., Hooper, S.N., Harvey, M.J. 1982. Ethnobotany and phytochemistry of yarrow, *Achillea millefolium*, Compositae. **Economic Botany**, 36 (2): 203-223.
- Chen, Y., Zheng, R., Zhongjian, J., Yong, J. 1990. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. **Free Radicals Biology & Medicine**, 9: 19-21.

- Chialva, F., Monguzzi, F., Manitto, P., Akgul, A. 1993. Essential oil constituents of *Achillea biebersteinii* Afan. **J. Essent. Oil Res.**, 5 (1) : 87-88.
- Chiu, C.M., Muddiman, D.C. 2008. What is Mass Spectrometry?, American Society for Mass Spectrometry, <http://www.asms.org/whatisms>.
- Clifford, M.N. 1986. Phenol–protein interactions and their possible significance for astringency. In G.G. Birch and M.G. Lindley (eds), *Interaction of Food Components*. Elsevier Applied Science, pp. 143–164. London.
- Conforti, F., Loizzo, M.R., Statti, G.A., Menichini, F. 2005. Comparative radical scavenging and antidiabetic activities of methanolic extract and fractions from *Achillea ligustica* ALL. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, 28 (9): 1791-1794.
- Cook, N.C. ve Saman, S. 1996. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, 7: 66-76.
- Cragg, G.M., Newman, D.J. 2001. Natural product drug discovery in the next millennium. **Pharm Biol.** 39(Supplement): 8–17.
- Cragg, G.M., Newman, D.J. 2005a. Biodiversity: A continuing source of novel drug leads. **Pure. Appl. Chem.** 77: 7–24.
- Cragg, G.M., Newman, D.J. 2005b. International collaboration in drug discovery and development from natural sources. **Pure. Appl. Che.** 77: 1923–1942.
- Cragg, G.M., Newman, D.J., Snader, K. 1997. Natural products in drug discovery and development. **Journal of Natural Products**, 60: 52–60.
- Cronquist, A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants, Columbia University Press, NewYork, 1021-1028.
- Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G. 2000. Natural products (secondary metabolites. In B.B. Buchanan, W. Gruissem and R.L. Jones (eds), *Biochemistry and Molecular Biology of Plant*. American Society of Plant Physiologists, pp. 1250–1318. Rockville, MD.
- Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H. 2006. *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in Human Diet*. Blackwell Publishing, 14-15, United Kingdom.
- Csupor-Löffler, B., Hajdu, Z., Zupko, I., Rethy, B., Falkay, G., Forgo, P. et al. 2009. Antiproliferative effect of flavonoids and sesquiterpenoids from *Achillea millefolium* s.l. on cultured human tumour cell lines. **Phytotherapy Research**, 23 (5): 672-676.

- Cuong B. N., Eszter G. B., Lajos R., Jozsef T., Kalman U., Gizella V. P. 1979. Achillicin, the first proazulene from *Achillea millefolium*. **Phytochemistry**, 18, 331.
- Cuyckens, F., Shahat, A. A., Pieters, L. and Claeys, M. 2002. Direct stereochemical assignment of hexose and pentose residues in flavonoid O-glycosides by fast atom bombardment and electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, 37: 1272-1279.
- Çakılcıoğlu, U., Türkoğlu, İ., Kürşat, M., 2007. Harput (Elazığ) ve Çevresinin Etnobotanik Özellikleri. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*.
- Çakılcıoğlu, U., Şengün, M.T., Türkoğlu, I., 2010. An ethnobotanical survey of medicinal plants of Yazikonak and Yurtbaşı districts of Elazığ province, Turkey. **Journal of Medicinal Plant Research**, 4 (7): 567-572.
- Çelik, N., Akpulat, H.A., 2008. *Achillea sivasica* (Asteraceae: Sect. Babounya (DC.) O. Hoffm.), a new species from Inner Anatolia, Turkey. **Kew Bulletin**, 63 (3): 485-489.
- Dapkevicius A., Venskutonis, R., van Beek T.A. ve Linssen J.P.H., 1998. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 77: 140-146.
- Davis, P.H. 1975. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, *Edinb. Un. Press*, Sayfa 224-252. Edinburgh.
- Davis, P.H., Mill, R.R., Tan, K. 1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. (supplement 1), *Edinb. Un. Press*, Edinburgh.
- De La Puerta, R., Sáenz, M.T., Garcia, M.D. 1996. Antibacterial activity and composition of the volatile oil from *Achillea ageratum* L.. **Phytotherapy Research**, 10 (3) : 248-250.
- De Rijke, E., Zappey, H., Ariese, F., Gooijer, C. and Brinkman, U. A. T. 2003. Liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization and electrospray ionization mass spectrometry of flavonoids with triple-quadrupole and ion-trap instruments. **Journal of Chromatography A**, 984: 45-58.
- Demirci, B., Tabanca, N., Wedge, D.E., Khan, S.I., Khan, I.A., Aytac, Z. et al. 2009a. Chemical Composition and Biological Activities of Four *Achillea* Essential Oils from Turkey. **Planta Medica**, 75 (4): 420-421.
- Demirci, F., Demirci, B., Gurbuz, I., Yesilada, E., Baser, K.H.C., 2009b. Characterization and Biological Activity of *Achillea teretifolia* Willd. and *A. nobilis* L. subsp *neilreichii* (Kerner) Formanek Essential Oils. **Turkish Journal of Biology**. 33 (2): 129-136.

- Devon, T. K., Scott, A. I. 1972. Terpenes. İçinde: Handbook of Naturally Occurring Compounds, *Academic Press*, Sayfa: 5-200. New York and London
- Dewick P. M. 2009. Medicinal Natural Products, A Biosynthetic Approach, Wiley, 167-169. England.
- Dewick, P. M. 1997. Chapter 2. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, England.
- Dewick, P.M. 2002. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach, 2nd edn., John Wiley and Sons, West Sussex, England.
- Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C. ve Almeida, L. M. 1994. Action of phenolic derivatives as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 315: 161-169.
- Dixon R.A., Ferreira D. 2002. Genistein. *Phytochemistry* 60: 205–211.
- Dogan, B., Duran, A., Hakkı, E. 2009. “Numerical analyses of Wild *Jurinea* spp. (Asteraceae) in Turkey”. *Bangladesh J. Bot.*, 38 (1): 47-53 .
- Dong, J., Wang, H., Wan, L., et al., 2009. Identification and determination of major constituents in *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. by high performance liquid chromatography/electrospray ionization-ion trap-time-of-flight mass spectrometry. *Se Pu*, 27: 425–430.
- Donmez, E., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M. 2005. Composition of the essential oil of *Achillea schischkinii* Sosn. (Asteraceae) from Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 17 (5): 575-576.
- Duman, H., 2000. *Achillea* L. Flora of Turkey and the East Aegean Islands (c. 11, s. 158-159): Edinburgh University Press.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherstone, R.M. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7: 88-95.
- El-Shazly, A.M., Hafez, S.S., Wink, M. 2004. Comparative study of the essential oils and extracts of *Achillea fragrantissima* (Forssk.) Sch. Bip. and *Achillea santolina* L. (Asteraceae) from Egypt. *Pharmazie*, 59 (3): 226-230.

Eugster, P. 2014. Strategies for High Resolution Profiling of Natural Extracts: UHPLC-MS and Physicochemical Approaches for Early Metabolite Identification. pHd Thesis, Science Faculty, Geneva. 33.

EURACHEM CITAC Guide CG4. 2004. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 3rd ed.; Ellison, S. L. R., Williams, A., Eds.; available from www.eurachem.org.

Falk, A.J., Smolenski, S.J., Bauer, L., Bell, C.L. 1975. Isolation and identification of three new flavones from *Achillea millefolium* L. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 64 (11): 1838-1842.

Farmer, J. B, McDowell, C. A. 1963. In Mass Spectrometry, McGraw-Hill, 10-11. New York.

Feizbakhsh, A., Tehrani, M.S., Rustaiyan, A., Masoudi, S. 2003. Composition of the essential oil of *Achillea albicaulis* CA Mey. **Journal of Essential Oil Research**, 15 (1) : 21-22.

Filippi, J.J., Lanfranchi, D.A., Prado, S., Baldovini, N., Meierhenrich, U.J. 2006. Composition, enantiomeric distribution, and antibacterial activity of the essential oil of *Achillea ligustica* All. from Corsica. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54 (17): 6308-6313.

Fischer, U., Vetter, S., Novak, J., Glasl, S., Saukel, J., Franz, C. 2001. Inheritance of the sesquiterpenes longipinenone and hydroxy-longi-pinenone within the *Achillea millefolium* complex (Compositae). **Plant Breeding**, 120: 251-254.

Fleisher, Z., Fleisher, A. 1993. Volatiles of *Achillea fragrantissima* (Forssk.) Sch. Bip. Aromatic plants of the Holy Land and the Sinai. Part XI. **Journal of Essential Oil Research**, 5 (2): 211-214.

Floyd, R.A., Watson, J.J., Haris, J., West, M. ve Wong, P.K. 1986. Formation of 8-hydroxydeoxyguanosine, hydroxyl free radical adduct of DNA in granulocytes exposed to tumor promoter, tetradecanoylphorbolacetate. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 137: 841-846.

Floyd, R.A., West, M.S., Eneff, K.L., Hogsett, W.E. ve Tingey, D.T. 1988:. Hydroxyl free radical mediated formation of 8-hydroxyguanine in isolated DNA. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 262: 266-272.

Forkmann, G. and Heller, W. 1999. Polyketides and other secondary metabolites including fatty acids and their derivatives. In D. Barton, K. Nakanishi and O.Meth-Cohn (eds), *Comprehensive Natural Products Biochemistry*. Sankawa, Elsevier, Amsterdam, pp. 713–747.

- Fraisse, D., Carnat, A., Viala, D., Pradel, P., Besle, J.M., Coulon, J.B. et al. 2007. Polyphenolic composition of a permanent pasture: Variations related to the period of harvesting. ***Journal of the Science of Food and Agriculture***, 87 (13): 2427-2435.
- Fridovich, I. 1986. Superoxide dimutases. ***Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology***, 58: 61-97.
- Fulcrand, H. L. N., Mane, C., Preys, S. B., Mazerolles, G. R., Bouchut, C., Mazauric, J.-P., Souquet, J.-M., Meudec, E., Li, Y., Cole, R. B., Cheynier, V. R. 2008. Direct mass spectrometry approaches to characterize polyphenol composition of complex samples. ***Phytochemistry***, 69: 3131-3138.
- Gaitan, E., Lindsay, R.H., Reichert, R.D. et al. 1989 Antithyroidic and gioterogenic effects of millet: role of C-glycosylflavones. ***J. Clin. Endocrinol. Metab.***, 68: 707–714.
- Ganzer, M. 2008. Quality control of herbal medicines by capillary electrophoresis: potential, requirements and applications. ***Electrophoresis*** 29: 3489–3503.
- Garanti L., Marchesini A., Pagnoni U. M., Trave R. 1972. *Tetrahedron Lett.*, 15: 1397.
- Geissman, T.A., Crout, D.H.G. 1969. *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism*. Freeman, Cooper and Company, Sayfalar: 4, 137-166, 217, 241, 291, 293, 300,305, 309. California.
- Ghani, A., Azizi, M., Hassanzadeh-Khayyat, M., Pahlavanpour, A.A. 2008a. Essential Oil Composition of *Achillea eriophora*, *A. nobilis*, *A. biebersteinii* and *A. wilhelmsii* from Iran. ***Journal of Essential Oil Bearing Plants***, 11 (5): 460-467.
- Ghani, A., Azizi, M., Khayyat, M.H., Pahlavanpour, A.A. 2008b. Analyzing essential oils of two wild populations of *Achillea wilhelmsii* Koch. *Maj. Ulum-i va Fnoon Kishavarzi va Manabi-i Tabi-i Danishgah-i Sanati-i Isfahan*, 12(45 B): 581Persian-589Persian, 590 English.
- Ghani, A., Azizi, M., Pahlavanpour, A.A., Hassanzadeh-Khayyat, M. (2009). Comparative study on the essential oil content and composition of *Achillea eriophora* DC. in field and wild conditions. ***Journal of Medicinal Plants***, 8 (30).
- Ghasemi, Y., Khalaj, A., Mohagheghzadeh, A., Khosaravi, A. (2008). Composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea eriophora*. ***Chemistry of Natural Compounds***, 44 (5), 663-665.
- Ghiselli, A., Serafini, M., Maiani, G., Azzini, E. ve Ferro-Luzzi, A. 1995. A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. ***Free Radical Biology and Medicine***, 18: 29-36.

- Giorgi, A., Bombelli, R., Luini, A., Speranza, G., Cosentino, M., Lecchini, S. ve diğerleri. 2009a. Antioxidant and cytoprotective properties of infusions from leaves and inflorescences of *Achillea collina* becker ex rchb. **Phytotherapy Research**, 23 (4): 540-545.
- Giorgi, A., Mingozi, M., Madeo, M., Speranza, G., Cocucci, M. 2009b. Effect of nitrogen starvation on the phenolic metabolism and antioxidant properties of yarrow (*Achillea collina* Becker ex Rchb.). **Food Chemistry**, 114 (1): 204-211.
- Glasl, S., Gunbilig, D., Narantuya, S., Werner, I., Jurenitsch, J. 2001a. Combination of chromatographic and spectroscopic methods for the isolation and characterization of polar guaianolides from *Achillea asiatica*. **Journal of Chromatography A**, 936 (1-2): 193-200.
- Glasl, S., Kastner, U., Baumann, A., Robien, W., Jurenitsch, J., Kubelka, W. 1995. Eudesmanolides from *Achillea pratensis*. **Phytochemistry**, 38 (1): 159-161.
- Glasl, S., Presser, A., Gunbilig, D., Werner, I., Narantuya, S., Haslinger, E. et al. 2001b. Highly hydroxylated guaianolides of *Achillea asiatica* and Middle European *Achillea* species. **Phytochemistry**, 58 (8): 1189-1194.
- Glasl, S., Presser, A., Werner, I., Wawrosch, C., Kastner, U., Jurenitsch, J. et al. 1999. Two proazulenes from *Achillea ceretanica* Sennen. **Phytochemistry**, 50 (4): 629-631.
- Gogus, F., Ozel, M.Z., and Lewis, A.C., 2006. Extraction of essential oils of leaves and flowers of *Achillea monocephala* by superheated water. **Flavour and Fragrance Journal**. 21 (1): 122-128.
- Gomez, M.A., Garcia, M.D., Saenz, M.T., Ahumada, M.C., Aznar, J. 2001. Cytostatic activity of *Achillea ageratum* against cultured Hep-2 and McCoy cells. **Pharm. Biol. (Lisse, Neth.)**, 39 (1): 79-81.
- Gotti R. 2011. Capillary electrophoresis of phytochemical substances in herbal drugs and medicinal plants, **J. Pharm. Biomed. Anal.** 55: 775-801.
- Grandi R., Marchesini A., Pagnoni U. M., Trave R. 1972. β -elemen-9 β -ol from *Achillea ageratum*. **Phytochemistry**, 11, 3363.
- Guedon, D., Abbe, P., Lamaison, J.L. 1993. Leaf and Flower Head Flavonoids of *Achillea millefolium* L Subspecies. **Biochemical Systematics and Ecology**, 21 (5): 607-611.
- Guo, Y., P., Ehrendorfer, F., Samuel, R., 2004. Phylogeny and Systematics of *Achillea* (Asteraceae - Anthemideae) Inferre from nrITS and Plastid trnL-F DNA Sequences. **Taxon**, 53 (3): 657-672.

- Guyton, K.Z. ve Kensler, T.W. 1993. Oxidative mechanism in carcinogenesis. **British Medical Bulletin**, 49: 523-544.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Baser, K.H.C. 2000. "Flora of Turkey and the EastAegean Islands. (supplement 2)", *Edinb. Un. Press*, Edinburgh, 158-159.
- Gürhan, G., Ezer, N., 2004. Halk Arasında Hemoroit Tedavisinde Kullanılan Bitkiler-I. **Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi**, 24 (1): 37-55.
- Haidara, K., Zamir, L., Shi, Q.-W., Batist, G. 2006. The flavonoid Casticin has multiple mechanisms of tumor cytotoxicity action. **Cancer Lett. (Amsterdam, Neth.)**, 242 (2): 180-190.
- Halliwell, B. 1994. Free radicals and antioxidants: A personal view. **Nutrition Reviews**, 52: 253-265.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. 1989. *Free Radicals in Biology and Medicine*. (2nd ed.), Clarendon Press, pp. 543. Oxford.
- Hanlidou, E., Kokkalou, E., Kokkini, S. 1992a. Volatile constituents of *Achillea grandifolia*. **Planta Medica**, 58(1): 105-107.
- Hanlidou, E., Kokkini, S., Kokkalou, E. 1992b. Volatile Constituents of *Achillea abrotanoides* in Relation to Their Infrageneric Variation. **Biochemical Systematics and Ecology**, 20 (1) : 33-40.
- Hao, H., Cui, N., Wang, G., et al., 2008. Global detection and identification of nontarget components from herbal preparations by liquid chromatography hybrid ion trap time-of-flight mass spectrometry and a strategy. **Anal. Chem.** 80 : 8187–8194.
- Harborne, J. B. 1998. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Chapman and Hall, 3rd ed, London,.
- Harborne, J.B. 1993. *The Flavonoids: Advances in Research Since 1986*. Chapman & Hall, London.
- Hartman, R. E., 2010. Actions of Bioactive Phytochemicals in Cell Function and Alzheimer's Disease Pathology. Cadenas, E and Packer, L. (Eds.) *Micronutrients and Brain Health*. Taylor & Francis Group.
- Hartmann T. 1991. Alkaloids in herbivores: *Their interaction with secondary plant metabolites*, vol 1, 2nd edition (Academic Press, San Diego), 9.
- Hatam, N.A.R., Yousif, N.J., Porzel, A., Seifert, K. 1992. Sesquiterpene lactones from *Achillea micrantha*. **Phytochemistry**, 31(6): 2160-2162.

- Haziri, A.I., Aliaga, N., Ismaili, M., Govori-Odai, S., Leci, O., Faiku, F. et al. 2010. Secondary metabolites in essential oil of *Achillea millefolium* (L.) growing wild in east part of Kosova. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 6 (1): 32-34.
- Hazra, B., Sarma, M.D., Sanyal, U. 2004. Separation methods of quinonoid constituents of plants used in oriental traditional medicines, *J. Chromatogr. B*, 812: 259–275.
- Henry, J.P., Stephens-Larson, P. 1984. Reduction of chronic psychosocial hypertension in mice by decaffeinated tea. *Hypertension*, 6: 437-444.
- Hertog, M.G.L., Feskens, E.J.M., Hollman, P.C.H., Katan, M.B. ve Kromhout, D. 1993. Dietary antioxidant flavonoids and the risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study. *The Lancet*, 342: 1007-1011.
- Hisiger, S., Jolicoeur, M., 2007. Analysis of *Cathaaranthus roseus* alkaloids by HPLC, *Phytochem. Rev.* 6: 207–234.
- Ho, C.T., Chen, Q., Shi-Zhang, K.Q. ve Rosen, R.T. 1992. Antioxidative effect of polyphenol extract prepared from various Chinese teas. *Preventive Medicine*, 21: 520-525.
- Ho, C-T., Chen, C-W., Wanasundara, U.N. ve Shahidi, F. 1997 Natural antioxidants from tea. *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects and Applications*. Champaign IL: AOCS Press, pp. 213-223.
- Hoffman, L., Maury, S., Martz, F. et al. 2004. Silencing of hydroxycinnamoyl-coenzyme A shikimate/quinic acid hydroxycinnamoyltransferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *PlantCell*, 16: 1446–1465.
- Horhammer, L. 1961. Über den qualitativen flavonogehalt von arzneipflanzen im hinblick auf ihre spasmolytische wirkung. *Congr. Sci. Farm. Conf. Commun.*, 21, 578.
- Hu, W., Gray, N.W. ve Brimijoin, S. 2003. Amyloid-beta increases acetylcholinesterase expression in neuroblastoma cells by reducing enzyme degradation. *Journal of Neurochemistry*, 86: 470-478.
- Huang, X.D., Kong, L., Li, X., Chen X.G., Guo, M., Zou, H.F. 2004. Strategy for analysis and screening of bioactive compounds in traditional Chinese medicines, *J. Chromatogr. B* 812: 71–84.
- Huber-Morath, A. 1975. “*Achillea* L.”, In: Davis P., H., Ed., *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edinburgh University Press, Edinburgh, 5: 224-252.

- Hudson, B.J.F. 1990. *Food Antioxidants*. Elsevier Applied Science pp.: 1-316. London and New York.
- Husain, S.R., Cillard, J. ve Cillard, P. 1987. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry*, 26: 2489-2491.
- Hvattum, E. and Ekeberg, D. 2003. Study of the collision-induced radical cleavage of flavonoid glycosides using negative electrospray ionization tandem quadrupole mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 38: 43-49.
- Innocenti, G., Vegeto, E., Dall'Acqua, S., Ciana, P., Giorgetti, M., Agradi, E. et al. 2007. In vitro estrogenic activity of *Achillea millefolium* L. *Phytomedicine*, 14 (2-3): 147-152.
- Iscan, G., Kirimer, N., Kurkcuoglu, M., Arabaci, T., Kupeli, E., Baser, K.H.C. 2006. Biological activity and composition of the essential oils of *Achillea schischkinii* Sosn. and *Achillea aleppica* DC. subsp. *aleppica*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (1) : 170-173.
- Ivanova D., Geroval D., Chervenkov T., Yankova T. 2005. Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 96: 145-150.
- Iwashina, T. 2000. The structure and distribution of the flavonoids in plants. *Journal of Plant Research*, 113: 287-299.
- Jaimand, K., Rezaee, M.B., Mozaffarian, V. 2006. Chemical constituents of the leaf and flower oils from *Achillea millefolium* ssp. *elbursensis* Hub.-Mor. from Iran rich in chamazulene. *Journal of Essential Oil Research*, 18 (3): 293-295.
- Jansen, R.K., Palmer, J.D. 1987. "A chloroplast DNA inversion marks an ancient evolutionary split in the sunflower family (Asteraceae)". *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 84:5818-5822.
- Javidnia, K., Miri, R., Sadeghpour, H. 2004. Composition of the volatile oil of *Achillea wilhelmsii* C. Koch from Iran. *Daru*, 12 (2): 63-66.
- Jennings, K.R., Dolnikowski, G.G. 1990. Mass analyzers. *Methods in Enzymology*, Vol.193: 37-61, ISSN:0076-6879.
- Judzientiene, A., Mockute, D. 2005. Composition of inflorescence and leaf essential oils of *Achillea millefolium* L. with white, pink and deep pink flowers growing wild in vilnius (Eastern lithuania). *Journal of Essential Oil Research*, 17 (6): 664-667.
- Judzientiene, A., Mockute, D. 2010. Essential oil composition of two yarrow taxonomic forms. *Central European Journal of Biology*, 5 (3): 346-352.

- Kabouche, A., Kabouche, Z., Öztürk, M., Kolak, U., Topçu, G. 2007. Antioxidant abietane diterpenoids from *Salvia barrelieri*. **Food Chemistry**, 102: 1281-1287.
- Kalinkina, G.I., Berezovskaya, T.P. 1974. Essential Oil of *Achillea asiatica*. **Khimiya Prirodnikh Soedinenii**, (5): 672-672.
- Kaloshina, N., Neshta, I. 1973. Flavonoids of *Achillea millefolium*. **Chemistry of Natural Compounds**, 9 (2): 261-261.
- Kaneko, H., Naruto, S., Takahashi, S. 1971. Sesquiterpenes of *Achillea sibirica*. **Phytochemistry**, 10 (12): 3305-3306.
- Karaman, Y. 2002. Alzheimer Hastalığı ve Diğer Demanslar, pp. 90-210, Kayseri.
- Karamenderes, C. 2002. *Achillea* L. Cinsinin Millefolium Seksiyonu Üzerinde Farmasötik Botanik Yönünden Araştırmalar. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir.
- Karamenderes, C., Yavasoglu, N.U.K., Zeybek, U. 2007. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Achillea nobilis* L. subsp. *sipylea* and subsp. *neilreichii*. **Chemistry of Natural Compounds**, 43 (5): 632-634.
- Kastner U., Jurenitsch J., Glasl S., Follrich B., Gavanelli A., Schroeder H., Schubert-Zsilavecz M., Schmidt W., Haslinger E., Kubelka W. 1996. Longipinen- und Achillifolin-Derivate aus *Achillea millefolium*-Typ DIS A. **Pharmazie**, 51, 503-505.
- Kastner, U., Jurenitsch, J., Glasl, S., Baumann, A., Robien, W., Kubelka, W. 1992. Proazulenes from *Achillea asplenifolia*. **Phytochemistry**, 31 (12): 4361-4362.
- Kijjoo, A., Vieira, L.M., Pereira, J.A., Silva, A.M.S., Herz, W. 1999. Further constituents of *Achillea ageratum*. **Phytochemistry**, 51 (4): 555-558.
- Kimura, Y., Okuda, H., Arichi, S. 1985. Effects of stilbenes on arachidonate metabolism in leukocytes. **Biochim. Biophys. Acta**, 834: 275-278.
- Kohen, R., Beit-Yannai, E., Berry, E. M. ve Tirosh, O. 1999. Overall low molecular weight antioxidant activity of biological fluids and tissues by cyclic voltammetry. **Methods in Enzymology**, 300: 285-296.
- Kolak, U., Öztürk, M., Özgökçe, F., Ulubelen, A. 2006. Norditerpene alkaloids from *Delphinium linearilobum* and antioxidant activity. **Phytochemistry**, 67: 2170-2175.
- Konakchiev, A., Todorova, M., Mikhova, B., Vitkova, A., Najdenski, H., Duddeck, H. 2006. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from two *Achillea collina* Becker. **C. R. Acad. Bulg. Sci.**, 59 (5): 505-510.

- Konyalioglu, S., Karamenderes, C. 2004. Screening of total flavonoid, phenol contents and antioxidant capacities of some *Achillea* L. species growing in Turkey. **Acta Pharmaceutica Turcica**, 46 (3): 163-170.
- Konyalioglu, S., Karamenderes, C. 2005 The protective effects of *Achillea* L. species native in Turkey against H₂O₂-induced oxidative damage in human erythrocytes and leucocytes. **Journal of Ethnopharmacology**, 102 (2): 221-227.
- Kordali, S., Cakir, A., Akcin, T.A., Mete, E., Akcin, A., Aydin, T. et al. 2009. Antifungal and herbicidal properties of essential oils and n-hexane extracts of *Achillea gypsicola* Hub-Mor. and *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae). **Industrial Crops and Products**, 29 (2-3): 562-570.
- Kotan, R., Cakir, A., Dadasoglu, F., Aydin, T., Cakmakci, R., Ozer, H. et al. 2010. Antibacterial activities of essential oils and extracts of Turkish *Achillea*, *Satureja* and *Thymus* species against plant pathogenic bacteria. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 90 (1): 145-160.
- Kovacevic, N.N., Ristic, M.S., Tasic, S.R., Menkovic, N.A.R., Grubisic, D.V., Dokovic, D.D. 2005. Comparative study of essential oil of three *Achillea* species from Serbia. **Journal of Essential Oil Research**, 17 (1): 57-60.
- Kubelka, W., Kastner, U., Glasl, S., Saukel, J., Jurenitsch, J. 1999. Chemotaxonomic relevance of sesquiterpenes within the *Achillea millefolium* group. **Biochemical Systematics and Ecology**, 27 (4): 437-444.
- Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., Milos, M. 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. **Food Chemistry**, 85: 633–640.
- Kultur, S., 2007. Medicinal plants used in Kirklareli Province (Turkey). **Journal of Ethnopharmacology**, 111 (2): 341-364.
- Kumarasamy, Y., Byres, M., Cox, P.J., Jaspars, M., Nahar, L., Sarker, S.D. 2007. Screening seeds of some Scottish plants for free radical scavenging activity. **Phytotherapy Research**, 21 (7): 615-621.
- Kundakovic, T., Dukic, N.M., Kovacevic, N. 2005. Free radical scavenging activity of *Achillea alexandri-regis* extracts. **Fitoterapia**, 76 (6): 574-576.
- Kundakovic, T., Fokialakis, N., Kovacevic, N., Chinou, I. 2007. Essential oil composition of *Achillea lingulata* and *A. umbellata*. **Flavour and Fragrance Journal**, 22 (3): 184-187.
- Kundakovic, T., Fokialakis, N., Magiatis, P., Kovacevic, N., Chinou, I. 2004. Triterpenic derivatives of *Achillea alexandri-regis* Bornm. & Rudski. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 52 (12): 1462-1465.

Kutchen T. M. 1995. Alkaloid biosynthesis- the basis for metabolite engineering of medicinal plant, **The Plant Cell**, 7: 1059.

Küpeli, E., Orhan, İ., Küsmenoğlu, Ş., Yeşilada, E. 2007. "Evaluation of Antiinflammatory and antinociceptive activity of five anatolian *Achillea* species", **Turkish J. Pharm. Sci.**, 4 (2): 89-99 .

Kürkçüoğlu, M., Demirci, B., Tabanca, N., Özek, T., Başer, K.H.C. (2003). The essential oil of *Achillea falcata* L. **Flavour and Fragrance Journal**, 18 (3), 192-194.

Küsmenoglu, S., Baser, K.H.C., Ozek, T., Harmandar, M., Goekalp, Z. 1995. Constituents of the essential oil of *Achillea biebersteinii* Afan. **J. Essent. Oil Res.**, 7 (5): 527-528.

Lacorte, S. ve Fernandez-Alba, A.R., 2006. Time of flight mass spectrometry applied to the liquid chromatographic analysis of pesticides in water and food, **Mass Spectrometry Rev.**, 25 (6): 866-880.

Lanari, A., Silvestrelli, G., Tomassoni, D., Pametti, L. 2006. Neurotransmitter deficits in behavioural and psychological symptoms of Alzheimer's disease. **Mechanism of Ageing and Development**, 127: 158–165.

Larson, R.A. 1988. The antioxidants of higher plants. **Phytochemistry**, 27: 969-978.

Lazarevic, J., Radulovic, N., Zlatkovic, B., Palic, R. (2010). Composition of *Achillea distans* Willd. subsp *distans* root essential oil. **Natural Product Research**, 24 (8), 718-731.

Lee Y.K., Bone N.D., Streg A.K., Jelinek D.F., Kay N.E., 2004. VEGF receptor phosphorylation status and apoptosis is modulated by a green tea component, epigallocatechin-3- gallate (EGCG) in B cell chronic lymphocytic leukemia, **Blood** 104: 788–794.

Lemière, F. 2001. Mass Analysers for LC-MS, Guide to LC-MS, Chapter 2, Dept of Chemistry, University of Antwerp, Belgium

Li, H., Wan, L., Hashi, Y., et al., 2007a. Fragmentation study of a 8-C- glycosyl isoflavone, puerarin, using electrospray ion trap time-of-flight mass spectrometry at high resolution, **Rapid Commun. Mass Spectrom.** 21 (b) : 2497–2504.

Li, Q., Yan, G., Ge, T. 2007b. A fragmentation study of podophyllotoxin and its 40-demethyl-4beta-substituted derivatives by electrospray ionization ion-trap time-of-flight tandem mass spectrometry, **Rapid Commun. Mass Spectrom.** 21 (a) : 2843–2852.

Li, S.P., Zhao, J., Yang, B. 2011. Strategies for quality control of Chinese medicines, **J. Pharm. Biomed. Anal.** 55: 802–809.

- Li, W., Chen, Z., Liao, Y.P., Liu, H.W. 2005. Separation methods for toxic components in traditional Chinese medicines, ***Anal. Sci.*** 21: 1019–1029.
- Liang, Y., Hao, H., Kang, A., et al. 2010. Qualitative and quantitative determination of complicated herbal components by liquid chromatography hybrid ion trap time-of-flight mass spectrometry and a relative exposure approach to herbal pharmacokinetics independent of standards, ***J. Chromatogr. A***, 1217 : 4971–4979.
- Liu, F., Ooi, V.E., Chang, S.T. 1997. Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts. ***Life Sciences***, 60 (10): 763-771.
- Liu, Z.Y., Zhou, X.N., Zhang, H.H., et al. 2011. An integrated method for degradation products detection and characterization using hybrid ion trap/time-of-flight mass spectrometry and data processing techniques: application to study of the degradation products of danofloxacin under stressed conditions, ***Anal. Bioanal. Chem.***, 399 : 2475–2486.
- Luo, M., Kannar, K., Wahlqvist, M.L., O'Brien, R.C. 1997. Inhibition of LDL oxidation by green tea extract. ***The Lancet***, 349: 360–361.
- Ma, Y. L., Cuyckens, F., Heuvel, H. V. D. and Claeys, M. 2001. Mass spectrometric methods for the characterisation and differentiation of isomeric O-diglycosyl flavonoids. ***Phytochemical Analysis***, 12: 159- 165.
- Maffei, M., Chialva, F., Codignola, A. (1989). Essential oils and chromosome numbers from Italian *Achillea* species. ***Journal of essential oil research***, 1 (2): 57-64.
- Maffet, M., Germano, F., Doglia, G., Chiava, F. 1993. Essential oils, chromosome numbers and karyotypes from Italian *Achillea* species. Part II. ***Journal of Essential Oil Research***, 5 (1): 61-70.
- Maggi, F., Bramucci, M., Cecchini, C., Coman, M.M., Cresci, A., Cristalli, G. et al. 2009. Composition and biological activity of essential oil of *Achillea ligustica* All. (Asteraceae) naturalized in central Italy: Ideal candidate for anti-cariogenic formulations. ***Fitoterapia***, 80 (6): 313-319.
- Magiatis, P., Skaltsounis, A.L., Chinou, I., Haroutounian, S.A. 2002. Chemical composition and in-vitro antimicrobial activity of the essential oils of three Greek *Achillea* species. ***Zeitschrift Fur Naturforschung C-a Journal of Biosciences***, 57 (3-4): 287-290.
- Mandal V., Mohan Y., Hemalatha S. 2007. Microwave assisted extraction - an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. ***Pharmacognosy Reviews*** 1: 7-18.

- Marchart, E., Kopp, B. 2003. Capillary electrophoretic separation and quantification of flavone-O- and C-glycosides in *Achillea setacea* W. et K. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, 792 (2): 363-368.
- Marriott, P.J., Shellie R., Cornwell C. 2001. Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils, **J. Chromatogr. A.**, 936: 1–22.
- Marston, A. 2007. Role of advances in chromatographic techniques in phytochemistry, **Phytochemistry** 68: 2786–2798.
- Marston, A., Hostettmann, K. 2009. Natural product analysis over the last decades, **Planta Med.** 75: 672–682.
- Mascia Lopes, F.C., Benzatti, F.P., Mendonça Jordão Jr, C., Duarte Moreira, R.R., Carlos, I.Z. 2005. Effect of the essential oil of *Achillea millefolium* L. in the production of hydrogen peroxide and tumor necrosis factor- α in murine macrophages. **Revista Brasileira de Ciencias Farmaceuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 41 (3): 401-405.
- Mbeunkui, F., Grace, M.H., Lategan, C., et al., 2011. Isolation and identification of antiplasmodial N-alkylamides from *Spilanthes acmella* flowers using centrifugal partition chromatography and ESI-IT-TOF-MS, **J. Chromatogr. B** 879 : 1886–1892.
- McChesney, J.D., Venkataraman, S.K., Henri, J.T. 2007. Plant natural products: back to the future or into extinction? **Phytochemistry** 68: 2015–2022.
- Mehlfuhrer, M., Troll, K., Jurenitsch, J., Auer, H., Kubelka, W. 1997. Betaines and free proline within the *Achillea millefolium* group. **Phytochemistry**, 44 (6): 1067-1069.
- Miller, H.E. 1971. A simplified method for the evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, 48: 91.
- Milosavljevic, S., Aljancic, I., Macura, S., Milinkovic, D., Stefanovic, M. 1987. **Phytochemistry**, 43, 4125.
- Mohs, R.C., Doody, R.S., Morris, J.C., Ieni, J.R., Rogers, S.L., Perdomo, C.A. ve ark. 2001. A 1-year, placebo-controlled preservation of function survival study of donepezil in AD patients published correction appears in Neurology. **Neurology**, 57: 481-488.
- Moncada, S, Palmer, R. ve Higgs, E. 1991. Nitric oxide physiology, pathophysiology and pharmacology. **Pharmacological Reviews**, 43: 109-142.
- Moreno, C.S., Park, S., Nelson, K., Ashby, D., Hubalek, F., Lane, W.S., & Pallas, D.C. 2000. WD40 repeat proteins striatin and S/G2 nuclear autoantigen are members of a novel family of

calmodulin-binding proteins that associate with protein phosphatase 2A, *Journal of Biological Chemistry*, 275 (8), 5257-5263.

Morteza-Semnani, K., Akbarzadeh, M., Moshiri, K. 2005. The essential oil composition of *Achillea biebersteinii* Afan. *J. Essent. Oil-Bear. Plants*, 8 (2): 200-203.

Mosayebi, M., Amin, G., Arzani, H., Azarnivand, H., Maleki, M., Shafaghat, A. 2008. Effect of habitat on essential oil of *Achillea filipendulina* L. in Iran. *Asian Journal of Plant Sciences*, 7 (8): 779-781.

Motl, O., Ochir, G., Kubeczka, K. 1990. Composition of *Achillea asiatica* Serg. Essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 5 (3): 153-155.

Muselli, A., Desjobert, J.M., Bernardini, A.F., Costa, J. 2007. Santolina alcohol as component of the essential oil of *Achillea ageratum* L. from Corsica Island. *Journal of Essential Oil Research*, 19 (4) : 319-322.

Muselli, A., Pau, M., Desjobert, J.M., Foddai, M., Usai, M., Costa, J. 2009. Volatile Constituents of *Achillea ligustica* All. by HS-SPME/GC/GC-MS. Comparison with Essential Oils Obtained by Hydrodistillation from Corsica and Sardinia. *Chromatographia*, 69 (5-6): 575-585.

Mustafaeva, S.D. (1991). Essential oil of *Achillea cuneatiloba*. *Chemistry of Natural Compounds*, 27 (2), 251-253.

Nemeth, E., Bernáth, J., Tarján, G. 2007. Quantitative and qualitative studies of essential oils of Hungarian *Achillea* populations. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 13 (1): 57-69.

Nemeth, E.Z., Tarjan, G., Bernath, J. 1993. Essential oil composition of *Achillea crithmifolia* W. et K. 1. Identification of chemovarieties grown in wild populations. *Journal of Essential Oil Research*, 5 (4): 349-357.

Newman, D.J., Cragg, G.M. 2007. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J. Nat. Prod.* 70: 461–477.

Nickavar, B., Kamalinejad, M., Haj-Yahya, M., Shafaghi, B. 2006. Comparison of the free radical scavenging activity of six Iranian *Achillea* species. *Pharmaceutical Biology*, 44 (3): 208-212.

Ochir, G., Buděšínský, M., Motl, O. 1991. 3-oxa-guaianolides from *Achillea millefolium*. *Phytochemistry*, 30 (12): 4163-4165.

- Oleszek, W., Bialy, Z. 2006. Chromatographic determination of plant saponins—an update (2002–2005), **J. Chromatogr. A**, 1112: 78–91.
- Oliveira, C., Amaro, L.F., Pinho, O., and Ferreira I. M. P. L. V. O. 2010. Cooked Blueberries: Anthocyanin and Anthocyanidin Degradation and Their Radical-Scavenging Activity. **J. Agric. Food Chem.**, 58 (16): 9006–9012
- Ong, E.S., 2004. Extraction methods and chemical standardization of botanicals and herbal preparations, **J. Chromatogr. B**, 812: 23–33.
- Orav, A., Arak, E., Raal, A. 2006. Phytochemical analysis of the essential oil of *Achillea millefolium* L. from various European Countries. **Natural Product Research**, 20 (12): 1082–1088.
- Orhan, İ., Kartal, M., Naz, Q., Ejaz, A., Yılmaz, G., Kan, Y. 2007. Antioxidant and anticholinesterase evaluation of selected Turkish *Salvia* species. **Food Chemistry**, 103: 1247–1254.
- Özen, H.Ç., Toker, Z., Clery, R.A., Owen, N.E. 2003. Composition of the Essential Oil of *Achillea pseudoaleppica* Hub.-Mor. **Journal of Essential Oil Research**, 15 (2): 96–97.
- Packer, L. ve Cadenoas E. 2002. *Oxidative Stress and Disease. Handbook of Antioxidants*. 2nd Edn., Marcel Dekker, pp. 5–8. New York, Basel, USA.
- Palid, R., Stojanovic, G., Naskovid, T., Ranelovid, N. 2003. Composition and antibacterial activity of *Achillea crithmifolia* and *Achillea nobilis* essential oils. **Journal of Essential Oil Research**, 15 (6), 434–437.
- Papas, A.M. 1996. Determinants of antioxidant status in humans. **Lipids**, 31, 77–82.
- Parejo, I., Jáuregui, O., Viladomat, F., Bastida, J. and Codina, C. 2004. Characterization of acylated flavonoid-O-glycosides and methoxylated flavonoids from *Tagetes maxima* by liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, 18: 2801–2810.
- Payao, S.L.M., Smith, M.A.C., Kormon-Borlotto, M.H., Toniolo, J. 1994. Investigation of the nucleolar organizer regions in Alzheimer’s disease. **Gerontology**, 40: 13–17.
- Perrin, D.D., Dempsey, B. 1974. *Buffers for pH and Metal Ion Control*, John Wiley, New York.
- Piazzzi, L., Cavalli, A., Colizzi, F., Belluti, F., Bartolini, M., Mancini, F. ve ark. 2008. Multi-target-directed coumarin derivatives: hAChE and BACE1 inhibitors as potential anti-Alzheimer compounds. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 18: 423–426.

- Popovic, M., Jakovlyevic, V., Bursac, M., Mitic, R., Raskovic, A., Kaaronovic, R. 2002. "Biochemical investigation of yarrow extracts (*Achilles millefolium* L.)", **Oxydation communications**, 25: 469-475 .
- Prior, R.L. ve Cao, G. 1999. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. **Free Radical Biology & Medicine**, 27: 1173-1181.
- Qi, L.W., Gu, X.J., Li, P., et al., 2009. Structural characterization of pregnane glycosides from *Cynanchum auriculatum* by liquid chromatography on a hybrid ion trap time-of-flight mass spectro- meter, **Rapid Commun. Mass Spectrom.** 23: 2151–2160.
- Rahimmalek, M., Tabatabaeb, B.E.S., Etemadi, N., Goli, S.A.H., Arzani, A., Zeinali, H. 2009. Essential oil variation among and within six *Achillea* species transferred from different ecological regions in Iran to the field conditions. **Industrial Crops and Products**, 29 (2-3): 348-355.
- Raskind, M.A., Peskind, E.R., Truyen, L., Kershaw, P. ve Damaraju, C.R.V. 2004. The cognitive benefits of galantamine are sustained for at least 36 months: A long-term extension trial. **Archives of Neurology**, 61: 252-256.
- Rauchensteiner F., Nejati S., Werner I., Glasl S., Saukel J., Jurenitsch J., Kubelka W., 2002. **Sci. Pharm.**, 70, 199.
- Raudonis, R., Jakstas, V., Burdulis, D., Benetis, R., Janulis, V. 2009. Investigation of contribution of individual constituents to antioxidant activity in herbal drugs using postcolumn HPLC method. **Medicina (Kaunas)**, 45 (5): 382-394.
- Raven, P. H., Evert, R. F., Eichhorn, S. E. 2005. Biology of Plants. W. H. Freeman and Company, 7th ed, New York.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, 26: 1231-1237.
- Rees, T., Hammond, P.I., Soreq, H., Younkin, S. ve Birimijoin, S. 2003. Acetylcholinesterase promotes beta-amyloid plaques in cerebral cortex. **Neurobiology of Aging**, 24: 777-787.
- Reich, E., Schibli, A., 2007. High-performance Thin-layer Chromatography for the Analysis of Medicinal Plants. Thieme Medical Publishers, Inc., New York.
- Reische, D.W., Lillard, D.A. ve Eitenmiller, R.R. 2002. Oxidation. *Food Lipids Chemistry, Nutrition and Biotechnology*, Marcel Dekker Inc., pp. 335-542. New York.

- Réthy, B., Csupor-Löffler, B., Zupkó, I., Hajdú, Z., Máthé, I., Hohmann, J. et al. 2007. Antiproliferative activity of Hungarian asteraceae species against human cancer cell lines. Part I. **Phytotherapy Research**, 21 (12): 1200-1208.
- Richardson, I. B., K., 1976. “*Achillea* L.”, In: Tutin, G. T., Heywood, V. H., Burges, N. A., Moore, D. M., Valentine, S. M., Webb, D. A., Eds., *Flora Europaea*, Cambridge University Press, Cambridge, 4, 159-165.
- Ristic, M., Sokovic, M., Grubisic, D., Kovacevic, N. 2004. Chemical analysis and antifungal activity of the essential oil of *Achillea atrata* L. **Journal of Essential Oil Research**, 16 (1) : 75-78.
- Rocha de Sant'Anna, J., Franco, C.C.d.S., Miyamoto, C.T., Cunico, M.M., Miguel, O.G., Cocco, L.C. et al. 2009. Genotoxicity of *Achillea millefolium* essential oil in diploid cells of *Aspergillus nidulans*. **Phytother. Res.**, 23 (2): 231-235.
- Rustaiyan, A., Komeilizadeh, H., Shariatpanahi, M.S., Jassbi, A.R., Masoudi, S. 1998. Comparative Study of the Essential Oils of Three *Achillea* Species from Iran. **Journal of Essential Oil Research**, 10 (2): 207-209.
- Rustaiyan, A., Sharif, Z., Tajarodi, A., Sadjadi, A.S. 1987. Sesquiterpene lactones from *Achillea micrantha*. **Phytochemistry**, 26 (10): 2856-2857.
- Sadyrbekov, D.T., Suleimenov, E.M., Tikhonova, E.V., Atazhanova, G.A., Tkachev, A.V., Adekenov, S.M. 2006. Component composition of essential oils from four species of the genus *Achillea* growing in Kazakhstan. **Chemistry of Natural Compounds**, 42 (3): 294-297.
- Saeidnia, S., Gohari, A.R., Mokhber-Dezfuli, N., Kiuchi, F. 2011. “A review on phytochemistry and medicinal properties of the genus *Achillea*”, **Daru**, 19 (3): 173- 186 .
- Saeidnia, S., Gohari, A.R., Yassa, N., Shafiee, A. (2005). Composition of the volatile oil of *Achillea conferta* DC. from Iran. **Daru**, 13 (1), 34-36.
- Saeidnia, S., Yassa, N., Rezaeipoor, R. 2004. Comparative investigation of the essential oils of *Achillea talagonica* boiss. and *A. millefolium*, chemical composition and immunological studies. **Journal of Essential Oil Research**, 16 (3): 262-265.
- Santoro, G.F., Cardoso, M.G., Guimarães, L.G.L., Mendonça, L.Z., Soares, M.J. 2007. Trypanosoma cruzi: Activity of essential oils from *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. and *Ocimum basilicum* L. on epimastigotes and trypomastigotes. **Experimental Parasitology**, 116 (3): 283-290.

- Schroder, H., Kastner, U., Gargula, K., Budesinsky, M., Haslinger, E., Jurenitsch, J. et al. 1994. Artabsin and 3-oxa-artabsin derivatives from *Achillea millefolium* species. **Phytochemistry**, 36 (6): 1449-1451.
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., Leblebici, E. 2000. "Tohumlu bitkiler sistematigi 6. baski", *Ege Üniversitesi Basımevi*, İzmir, 296.
- Segal, R., Dor, A., Duddeck, H., Snatzke, G., Rosenbaum, D., Kajtár, M. 1987. The sesquiterpene lactones from *Achillea fragrantissima*, I. Achillolide A and B, two novel germacranolides. **Tetrahedron**, 43 (18): 4125-4132.
- Senatore, F., Napolitano, F., Arnold, N.A., Bruno, M., Herz, W. 2005. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea falcata* L. (Asteraceae). **Flavour and Fragrance Journal**, 20 (3): 291-294.
- Sevindik, H.G., Güvenalp, Z., Yerdelen, K.Ö., Yuca, H., Demirezer, L.Ö., 2015. The discovery of potential anticholinesterase compounds from *Achillea millefolium* L., **Industrial Crops and Products**. 76: 873-879.
- Sezgin, A., 2005. Şuhut (Afyon) İlçesi'nde Kullanılan Halk İlaçları.Yüksek lisans tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- Sezik, E., Yeşilada, E., Honda, G., Takaishi, Y., Takeda, Y., Tanaka, T., 2001. Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in Central Anatolia. **Journal of Ethnopharmacology**, 75 (2-3): 95-115.
- Sezik, E., Yeşilada, E., Tabata, M., Honda, G., Takaishi, Y., Fujita, T. ve diğerleri., 1997. Traditional medicine in Turkey VIII. Folk medicine in east Anatolia; Erzurum, Erzincan, Agri, Kars, Iğdir provinces. **Economic Botany**, 51 (3): 195-211.
- Shafaghat, A. 2009. Composition and antibacterial activity of the volatile oils from different parts of *Achillea tenuifolia* Lam. from Iran. **Journal of Medicinal Plants**, 8 (31): 93-98.
- Shafaghat, A., Pirfarshi, F., Shafaghatlonbar, M., 2014. Luteolin derivatives and antimicrobial activity of *Achillea tenuifolia* Lam. methanol extract, **Industrial Crops and Products**. 62: 533-536.
- Shapiro G.I. 2004. Preclinical and clinical development of the cyclindependent kinase inhibitor flavopiridol, **Clin. Cancer Res.** 10: 4270–4275.
- Shawl, A.S., Srivastava, S.K., Syamasundar, K.V., Tripathi, S., Raina, V.K. 2002. Essential oil composition of *Achillea millefolium* L. growing wild in Kashmir, India. **Flavour and Fragrance Journal**, 17 (3): 165-168.

- Sherma, J. 2006. Planar chromatography, *Anal. Chem.* 78: 3841–3852.
- Shibano, M., Lin, A.S., Itokawa, H., et al., 2007. Separation and characterization of active flavonolignans of *Silybum marianum* by liquid chromatography connected with hybrid ion-trap and time-of-flight mass spectrometry (LC-MS/IT-TOF), *J. Nat. Prod.* 70:1424–1428.
- Sihamdzu Corporation, 2009. Accurate Mass Measurement of High Concentration Samples by LCMS-IT-TOF, Technical Report Volume 27, Shimadzu Corporation, International Marketing Division, Tokyo, Japan.
- Sihamdzu Corporation, 2015. Introduction to LC-MS Part 6, Technical Report, Eriřim: [http://www.shimadzu.com/an/lcms/support/intro/lib/lctalk/61/61intro.html]. Eriřim Tarihi: 02.05.2015
- Sikorski, Z.E. 2001. Chemical and Functional Properties of Food Components. CRC Press, 51, New York, NY.
- Simic, N., Palic, R., Randjelovic, V. 2005. Composition and antibacterial activity of *Achillea clypeolata* essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 20 (2): 127-130.
- Simic, N., Palic, R., Vajs, V., Milosavljevic, S., Djokovic, D. 2002. Composition and antibacterial activity of *Achillea asplenifolia* essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, 14 (1): 76-78.
- Simid, N., Andjelkovid, S., Palid, R., Vajs, V., Milosavljevid, S. 2000. Volatile constituents of *Achillea serbica* Nym. *Flavour and Fragrance Journal*, 15 (3): 141-143.
- Simon, L. 2001. Alzheimer hastlağında erken tanı ve tedavi. *Novartis*, İstanbul, pp. 1-74.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. ve Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Oxidants and Antioxidants*, 299: 152-178.
- Skocibusic, M., Bezic, N., Dunkic, V., Radonic, A. 2004. Antibacterial activity of *Achillea clavennae* essential oil against respiratory tract pathogens. *Fitoterapia*, 75 (7-8): 733-736.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A. 1998. Principles of Instrumental Analysis, 5th Edition, Saunders College Publishing, Philadelphia.
- Slinkard, K. ve Singleton, V. L. 1977. Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28: 49–55.

- Smelcerovic, A., Lamshoeft, M., Radulovic, N., Ilic, D., Palic, R. (2010). LC-MS Analysis of the Essential Oils of *Achillea millefolium* and *Achillea crithmifolia*. **Chromatographia**, 71 (1-2), 113-116.
- Snyder, L. R., Kirkland, J. J., Glajch, J. L. 1997. *Practical HPLC Method Development*, 2nd ed., Wiley-Interscience, New York .
- Solecka, D. 1997. Role of phenylpropanoid compounds in plant responses to different stress factors. **Acta Physiol. Plant**, 19: 257–268.
- Sökmen, A., Vardar-Ünlü, G., Polissiou, M., Daferera, D., Sökmen, M., Dönmez, E. 2003. Antimicrobial activity of essential oil and methanol extracts of *Achillea sintenisii* Hub. Mor. (Asteraceae). **Phytotherapy Research**, 17 (9): 1005-1010.
- Sönmez, U. 1995. *Salvia napifolia* Jacq. bitkisinden elde edilen yeni diterpenoit bileşiklerinin yapı araştırması. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Stampfer, M.J., Henneekens, C.H., Manson, J.E., Colditz, G.A., Rosner, B. ve Willet, W.C. 1993. Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women. **The New England Journal of Medicine**, 328: 1444-1449.
- Standridge, J.B. 2004. Pharmacotherapeutic approaches to the treatment of Alzheimer's disease. **Clinical Therapeutics**, 26: 615-630.
- Sticher, O. 2008. Natural product isolation, Nat. Prod. Rep. 25: 517–554.
- Stojanovic, G., Asakawa, Y., Palic, R., Radulovic, N. 2005a. Composition and antimicrobial activity of *Achillea clavennae* and *Achillea holosericea* essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, 20 (1): 86-88.
- Stojanovic, G., Hashimoto, T., Asakawa, Y., Palic, R. 2005b. Chemical composition of the *Achillea lingulata* extract. **Biochemical Systematics and Ecology**, 33 (2): 207-210.
- Stojanovic, G., Radulovic, N., Hashimoto, T., Palic, R. 2005. In vitro antimicrobial activity of extracts of four *Achillea* species: The composition of *Achillea clavennae* L. (Asteraceae) extract. **Journal of Ethnopharmacology**, 101 (1-3): 185-190.
- Strack, D., Wray V. 1992 Anthocyanins. In J.B. Harborne (ed.), *The Flavonoids: Advances in Research Since 1986*. Chapman & Hall, London, pp. 1–22.
- Tabanca, N., Ozek, T., Baser, K.H.C., Vural, M. 2004. Composition of the essential oil of *Achillea sieheana* Stapf and the enantiomeric distribution of camphor. **Journal of Essential Oil Research**, 16 (3): 180-181.

Tabata, M., Sezik, E., Honda, G., Yesilada, E., Fukui, H., Goto, K. ve diğ erleri., 1994. Traditional medicine in Turkey III. Folk medicine in East Anatolia, Van and Bitlis Provinces. **International Journal of Pharmacognosy**, 32 (1): 3-12.

Takeshita, M., Ishida, Y., Akamatsu, E., et al., 2009. Proanthocyanidin from blueberry leaves suppresses expression of subgenomic hepatitis C virus RNA, **J. Biol. Chem.** 284 : 21165–21176.

Takeuchi, T, Nakajima, M. ve Morimoto, K. 1994. Establishment of a human system that generates O₂^{•-} and induces 8-hydroxydeoxyguanosine, typical of oxidative DNA damage, by a tumor promoter. **Cancer Research**, 54: 5837-5840.

Tanaka, K., Tamura, T., Fukuda, S., et al., 2008. Quality evaluation of Astragali Radix using a multivariate statistical approach, **Phytochemistry** 69 : 2081–2087.

Tasic, S., Ristic, M., Menkovic, N., Kovacevic, N., Grubisic, D., Djokovic, D. 1998. Endemic plant species of Sara Mountain. VI. Essential oil of *Achillea chrysocoma*. **Journal of essential oil research**. 10 (3): 329-332.

Tatli, I.I., Sahpaz, S., Akkol, E.K., Martin-Nizard, F., Gressier, B., Ezer, N. et al. 2009. Antioxidant, anti-inflammatory, and antinociceptive activities of Turkish medicinal plants. **Pharmaceutical Biology**, 47 (9): 916-921.

Taylor, M.J. ve Richardson, T. 1980. Antioxidant activity of cysteine and protein sulfhydryls in a linoleate emulsion oxidized by hemoglobin, **Journal of Food Science**, 45: 1223-1227.

Tepe, B., Eminağ aoğ lu, O., Akpulat, H.A. ve Aydın, E. 2007. Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia verticillata* (L.) subsp. *verticillata* and *S. verticillata* (L.) subsp. *amasiaca* (Freyn & Bornm.) Bornm. **Food Chemistry**, 100: 985-989.

Thorne, R., F. 2000. The Classification and Geography of the Flowering Plants: Dicotyledons of the Class Angiospermae, **Bot. Rev.**, 66 (4): 441-647.

Todorova M.N., Tsankova, E. T. 1999. New sesquiterpenoids from *Achillea clypeolata*. **Phytochemistry**. 52, 1515-1518.

Todorova, M.N., Krasteva, M.L., Markova, M.M., Tsankova, E.T., Taskova, R.M., Peev, D.R. 1998. Terpenoids from *Achillea clypeolata*. **Phytochemistry**, 49 (8): 2371-2374.

Todorova, M.N., Mikhova, B., Trendafilova, A., Vitkova, A., Duddeck, H., Anchev, M. 2006. Sesquiterpene lactones from *Achillea asplenifolia*. **Biochemical Systematics and Ecology**, 34 (2): 136-143.

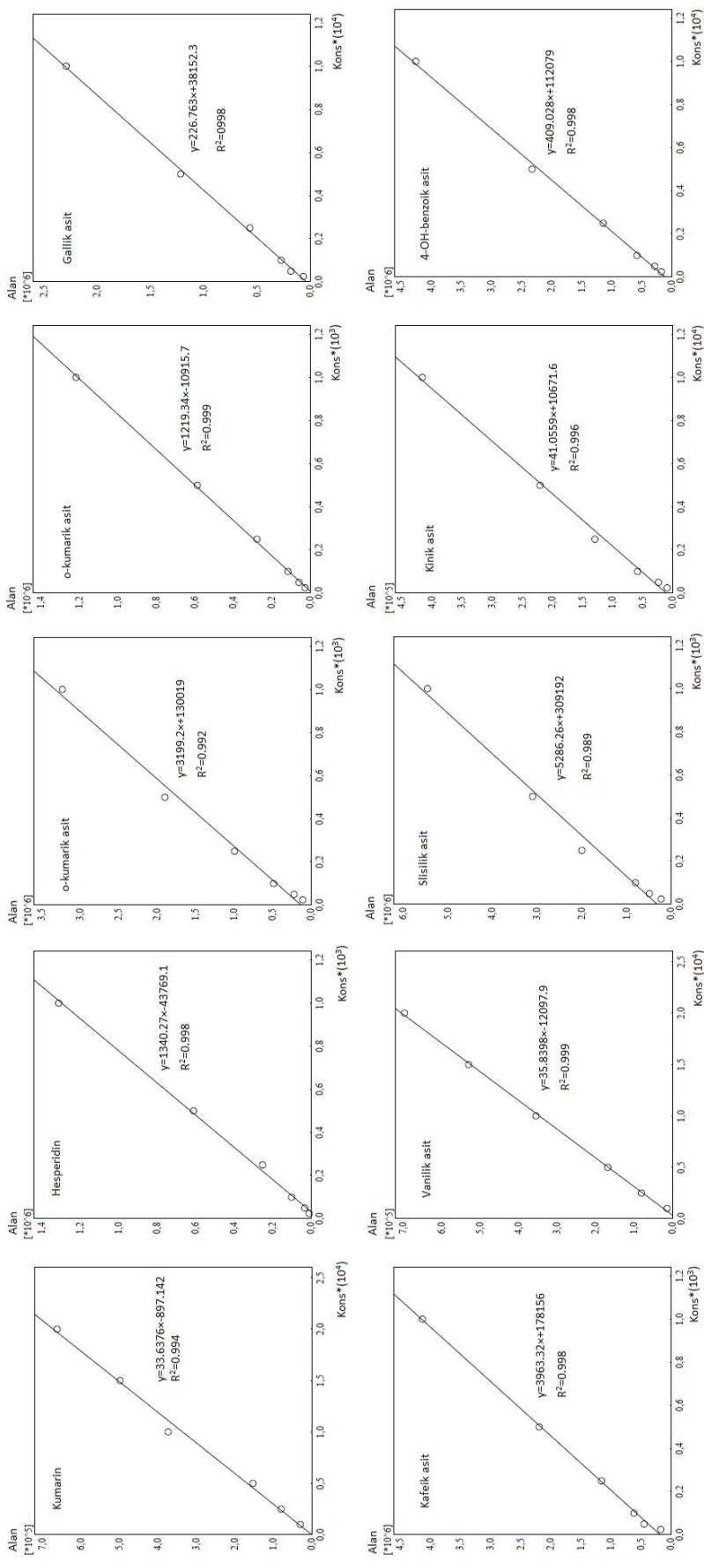
- Toker, Z., Ozen, H.C., Clery, R.A., Owen, N.E. 2003. Essential oils of two *Achillea* species from Turkey. **J. Essent. Oil Res.**, 15 (2): 100-101.
- Tournefort, J., P. 1703. Corollarium Institutionum Rei Herbariae, Paris.
- Trendafilova, A., Todorova, M., Vitkova, A. 2010. Essential Oil Composition of *Achillea clusiana* from Bulgaria. **Nat. Prod. Commun.**, 5 (1): 129-132.
- Trifunovic, S., Aljancic, I., Vajs, V., Macura, S., Milosavljevic, S. 2005. Sesquiterpene lactones and flavonoids of *Achillea depressa*. **Biochemical Systematics and Ecology**, 33 (3): 317-322.
- Trifunović, S., Vajs, V., Juranid, Z., Žižak, Z., Teševic, V., Macura, S. et al. 2006. Cytotoxic constituents of *Achillea clavennae* from Montenegro. **Phytochemistry**, 67 (9): 887-893.
- Trouillas, P., Calliste, C.A., Allais, D.P., Simon, A., Marfak, A., Delage, C. et al. 2003. Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas. **Food Chemistry**, 80 (3): 399-407.
- Tsankova, E., Kempe, U.J., Norin, T., Ognyanov, I. 1981. Aprestin, a guaianolide of the endoperoxide type from *Achillea depressa*. **Phytochemistry**, 20 (6): 1436-1438.
- Tubaro, F., Ghiselli, A., Rapuzzi, P., Maiorino, M., Ursini, F. 1998. Analysis of plasma antioxidant capacity by competition kinetics. **Free Radical Biology & Medicine**, 24: 1228-1234.
- Tuberoso, C.I., Montoro, P., Piacente, S., Corona, G., Deiana, M., Dessi, M.A. et al. 2009a. Flavonoid characterization and antioxidant activity of hydroalcoholic extracts from *Achillea ligustica* All. **J Pharm Biomed Anal**, 50 (3): 440-448.
- Tuberoso, C.I.G., Kowalczyk, A. 2009b. Chemical Composition of the Essential Oils of *Achillea millefolium* L Isolated by Different Distillation Methods. **Journal of Essential Oil Research**, 21 (2): 108-111.
- Tuberoso, C.I.G., Kowalczyk, A., Coroneo, V., Russo, M.T., Dessi, S., Cabras, P. 2005. Chemical composition and antioxidant, antimicrobial, and antifungal activities of the essential oil of *Achillea ligustica* All. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53 (26): 10148-10153.
- Turkmenoglu, F.P., Agar, O.T., Akaydin, G., Hayran, M. ve Demirci, B. 2015. Characterization of Volatile Compounds of Eleven *Achillea* Species from Turkey and Biological Activities of Essential Oil and Methanol Extract of *A. hamzaoglu* Arabacı & Budak, **Molecules**, 20 (6): 11432-11458.

- Tuzlacı, E., İşbilen, D.F.A., Bulut, G., 2010. Turkish folk medicinal plants, VIII: Lalapaşa (Edirne). **Marmara Pharmaceutical Journal**, 14: 47-52.
- Tuzlacı, E., Erol, M.K., 1999. Turkish folk medicinal plants. Part II: Eğirdir (Isparta). **Fitoterapia**, 70 (6): 593-610.
- Tzakou, O., Couladis, M., Milenkovic, M., Vucicevic, D., Kovacevic, N. 2009. Composition and Antimicrobial Activity of *Achillea coerctata* Essential Oils from Greece. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, 12 (5): 541-545.
- Tzakou, O., Couladis, M., Verykokidou, E., Loukis, A. 1995. Leaf Flavonoids of *Achillea ligustica* and *Achillea holosericea*. **Biochemical Systematics and Ecology**, 23 (5): 569-570.
- Tzakou, O., Loukis, A. 2009. Chemical composition of the essential oil of *Achillea umbellata* growing in Greece. **Natural Product Research**, 23 (3): 264-270.
- Tzakou, O., Loukis, A., Argyriadou, N. 1993. Volatile constituents of *Achillea crithmifolia* flowers from Greece. **Journal of Essential Oil Research**, 5 (3), 345-346.
- Tzakou, O., Loukis, A., Verykokidou, E., Roussis, V. 1995. Chemical constituents of the essential oil *Achillea ligustica* All. from Greece. **Journal of Essential Oil Research**, 7 (5): 549-550.
- Ünlü, M., Daferera, D., Dönmez, E., Polissiou, M., Tepe, B., Sökmen, A. 2002. "Compositions and the *in vitro* antimicrobial activities of the essential oils of *Achillea setacea* and *Achillea teretifolia* (Compositae)", **J. Ethnopharmacol.**, 83: 117- 121.
- Valant, K., Besson, E., Chopin, J. 1980. Isoorientin 7,3'-dimethyl ether, a new C-glycosylflavone from *Achillea cretica*. **Phytochemistry**, 19 (1): 156.
- Valant-Vetschera, K.M., Wollenweber, E. 1996a. Comparative analysis of leaf exudate flavonoids in *Achillea* subsect Filipendulinae. **Biochemical Systematics and Ecology**, 24 (5): 435-446.
- Valant-Vetschera, K.M., Wollenweber, E. 1996b. Leaf exudate flavonoids of *Achillea clusiana* Tausch and related species. **Biochemical Systematics and Ecology**, 24 (5): 477-478.
- Valant-Vetschera, K.M., Wollenweber, E. 2001. Exudate flavonoid aglycones in the alpine species of *Achillea* sect. Ptarmica: Chemosystematics of *A. moschata* and related species (Compositae-Anthemideae). **Biochemical Systematics and Ecology**, 29 (2): 149-159.
- Valkonen, M. ve Kuusi, T. 1997. Spectrophotometric assay for total peroxy radical-trapping antioxidant potential in human serum. **Journal of Lipid Research**, 38: 823-833.

- Ververidis, F., Trantas, E., Douglas, C., Vollmer, G., Kretzschmar, G., Panopoulos, N. 2007. Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products. Part I: Chemical diversity, impacts on plant biology and human health. *Biotechnology Journal*, 2 (10): 1214-1234.
- Vieira, L.M., Kijjoo, A., Pereira, J.A., Gedris, T.E., Herz, W. 1997. Germacranes and flavonoids from *Achillea ageratum*. *Phytochemistry*, 45 (1): 111-115.
- Vogeser, M., Kirchhoff, F. 2011. Progression in automation of LC-MS in laboratory medicine. *Clinical Biochemistry*, Vol.44, No.1, (January 2011), pp. (4-13), ISSN 0009-9120.
- Vogt, T. 2010. Phenylpropanoid biosynthesis. *Mol. Plant*, 3: 2–20.
- Von-Sonntag, C. 1987. *The Chemical Basis of Radiation Biology*, Taylor & Francis, pp. 15-49. London.
- Wang, B., Chu, W.Y., Li, Z., et al., 2010. Investigation on fragmentation pathways of rutaecarpine and its two derivatives using electro-spray ionization ion-trap time-of-flight tandem mass spectro-metry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 24 : 2781–2786.
- Wang, S.C., Tseng, T.Y., Huang, C.M., Tsai, T.H. 2004. Gardenia herbal active constituents: applicable separation procedures, *J. Chromatogr. B*, 812: 193–202.
- Watson, J.T., Sparkman, O.D. 2007. Introduction of Mass Spectrometry: Instrumentation, Applications and Strategies for Data Interpretation. (4th Eds), John Wiley & Sons Ltd, ISBN 978-0-470-51634-8, West Sussex, England
- Wayner, D.D.M., Burton, G.W., Ingold, K.U. ve Locke, S. 1985. Quantitative measurement of the total peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. *FEBS Letters*, 187: 33-37.
- Werner I., Glasl S., Presser A., Haslinger E. ve Jurenitsch J. 2003. Sesquiterpenes from *Achillea pannonica* Scheele. *Z Naturforsch C*. 58 (5-6): 303-307.
- Weyerstahl, P., Marschall, H., Seelmann, I., Rustaiyan, A. 1997. Constituents of the essential oil of *Achillea eriophora* DC. *Flavour and Fragrance Journal*, 12 (2), 71-78.
- Whitehead, T.P., Thorpe, G.H.G. ve Maxwell, S.R.J. 1992. Enhanced chemiluminescent assay for antioxidant capacity in biological fluids. *Analytica Chimica Acta*, 266: 265-277.
- Winston, G.W., Regoli, F., Dugas, A.J., Fong, J.H. ve Blanchard, K.A. 1998. A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. *Free Radical Biology and Medicine*, 24: 480-493.

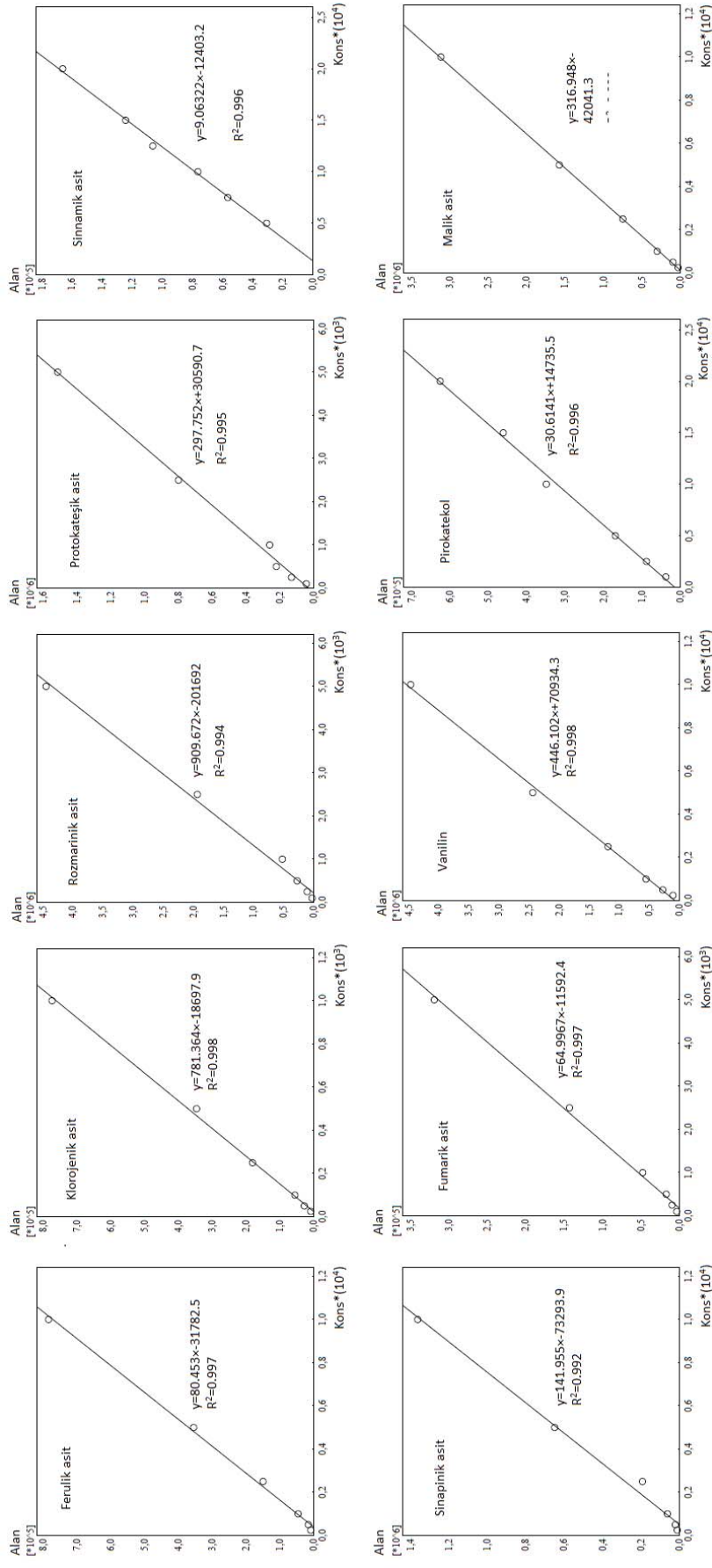
- Wojdylo, A., Oszmianski, J., Czemerys, R. 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. **Food Chem.**, 105 (3): 940-949.
- Wolfender, J. L., Waridel, P., Ndjoko, K., Hobby, K. R., Major, H. J. and Hostettmann, K. 2000. Evaluation of Q-TOF-MS/MS and multiple stage IT-MSⁿ for the dereplication of flavonoids and related compounds in crude plant extracts. **Analysis**, 28: 895-906.
- Yamantürk, P. 2000. Alzheimer Hastalığı, Sendrom, 12, 72-81.
- Yamazaki, E., Inagaki, M., Kurita, O. ve Inoue, T. 2007. Antioxidant activity of Japanese pepper (*Zanthoxylum piperitum*) fruit. **Food Chemistry**, 100: 171-177.
- Yan, G., Li, Q., Tan, H., et al. 2007. Electrospray ionization ion-trap time-of-flight tandem mass spectrometry of two furofurans: sesamin and gmelinol, **Rapid Commun. Mass Spectrom.**, 21 : 3613–3620.
- Yang, C. S., Landau, J. M., Huang, M. T., Newmark, H. L. 2001. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. **Annual Review of Nutrition**, 21: 381-406.
- Yang, M., Li, J.X., Li, X., Jia, Z.J. 2005. Sesquiterpenes and other constituents from *Achillea wilsoniana*. **Pharmazie**, 60 (7): 554-558.
- Yermilov, V., Rubio, J., Ohshima, H. 1995. Formation of 8-nitroguanine in DNA treated with peroxynitrite in vitro and its rapid removal from DNA by depurination. **FEBS Letters**, 376: 207-210.
- Zhang Y.F., Kang H.B., Li B.L., Zhang R.M. 2012. Positive effects of soy isoflavone food on survival of breast cancer patients in China. **Asian Pac J Cancer Prev.**, 13: 479–482.
- Zhao, H.Y., Jiang, J.G. 2010. Application of chromatography technology in the separation of active components from nature derived drugs, **Mini Rev. Med. Chem.**, 10: 1223–1234.
- Zheng, C., Hao, H., Wang, X., et al., 2009. Diagnostic fragment-ion- based extension strategy for rapid screening and identification of serial components of homologous families contained in traditional Chinese medicine prescription using high-resolution LC–ESI–IT–TOF/MS: Shengmai injection as an example, **J. Mass Spectrom.**, 44 : 230–244.
- Zhou, J., Xu, Z., Kong, H., et al., 2010. Comparison of phenolic components among different species of *Dendrobium* (Shihu fengdou) and determination of their active components-moscatilin and gigantol, **Se Pu**, 28 : 566–571.
- Zotou, A. 2012, An overview of recent advances in HPLC instrumentation, *Central European Journal of Chemistry*, 10 (3): 554-569.

EKLER

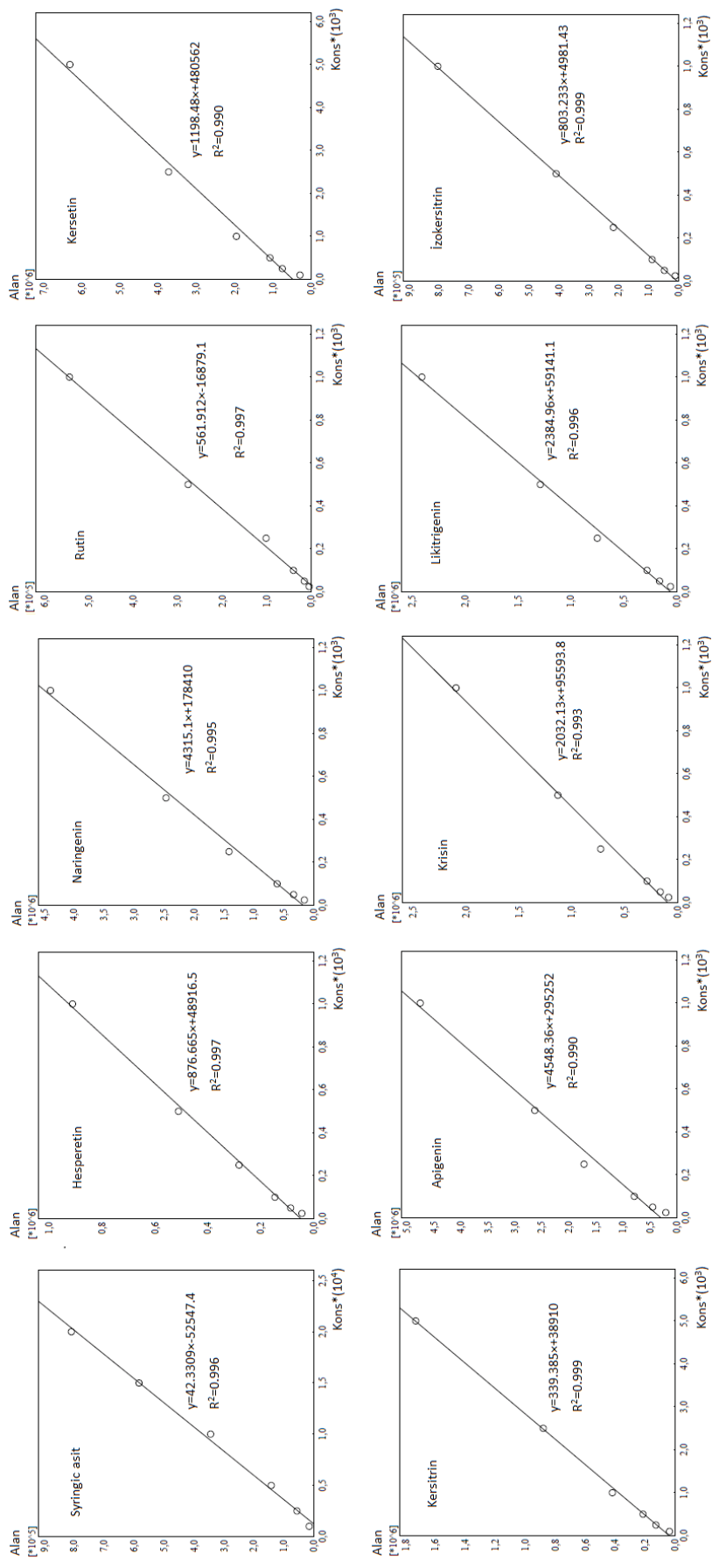


Ek 1. LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon grafikleri

EKLER

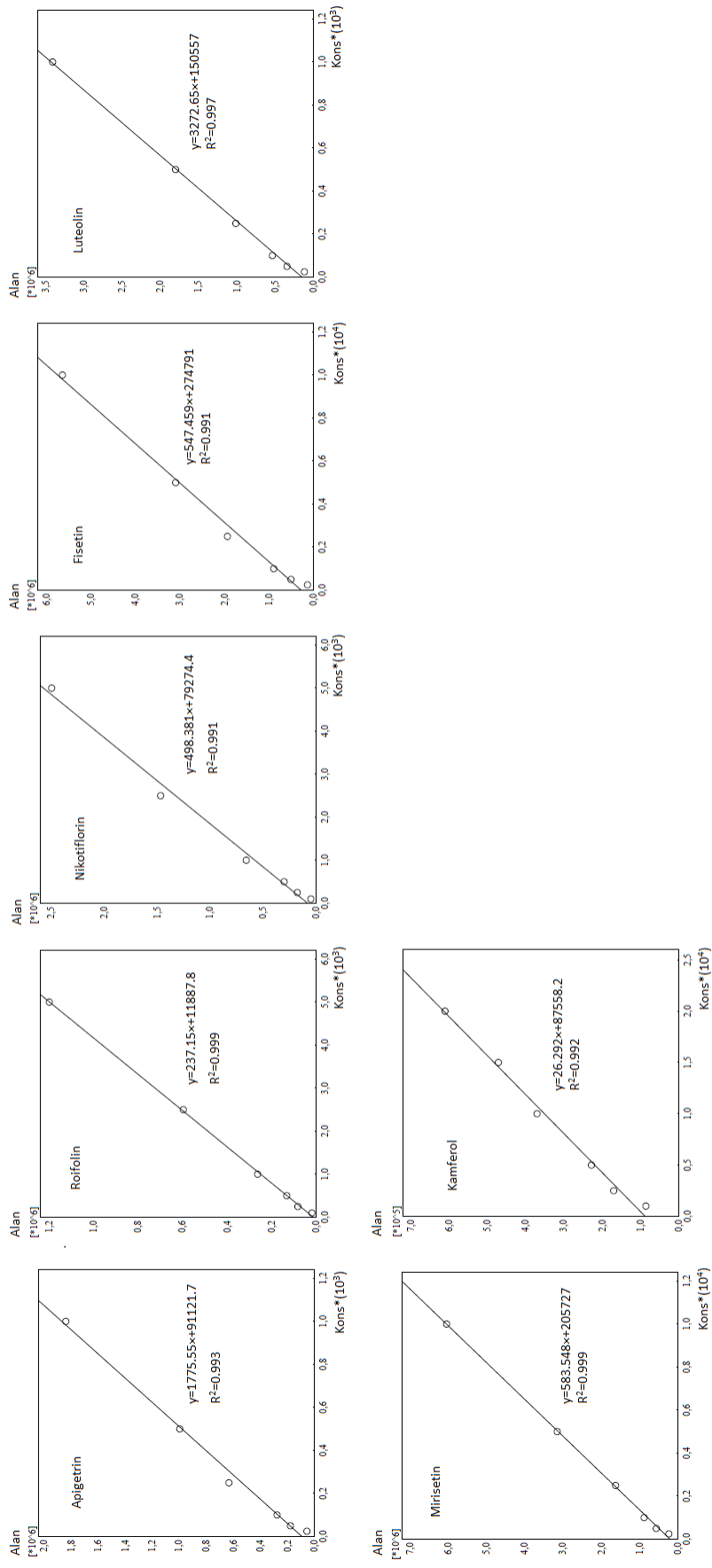


Ek 2. LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon grafikleri (Devam)



Ek 3. LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon grafikleri (Devam)

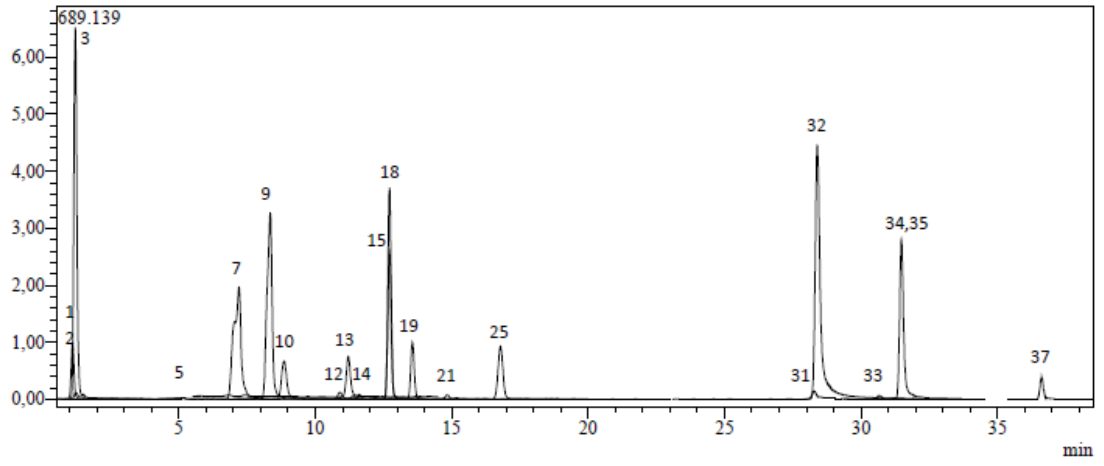
EKLER



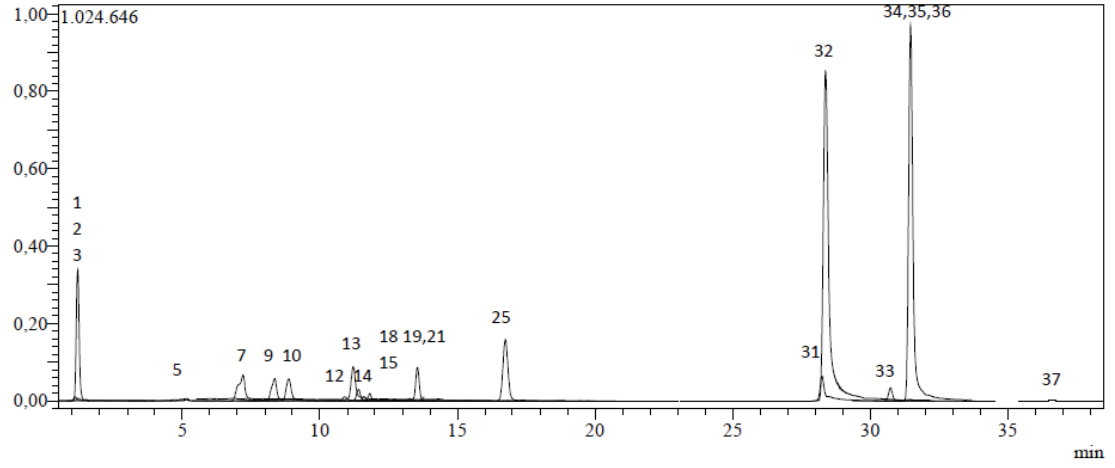
Ek 4. LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon grafikleri (Devam)

Ek 5. LC-MS/MS metodunda kullanılan standartların belirleme (LOD) ve tayin (LOQ) alt sınırlarının belirlenmesi çalışması

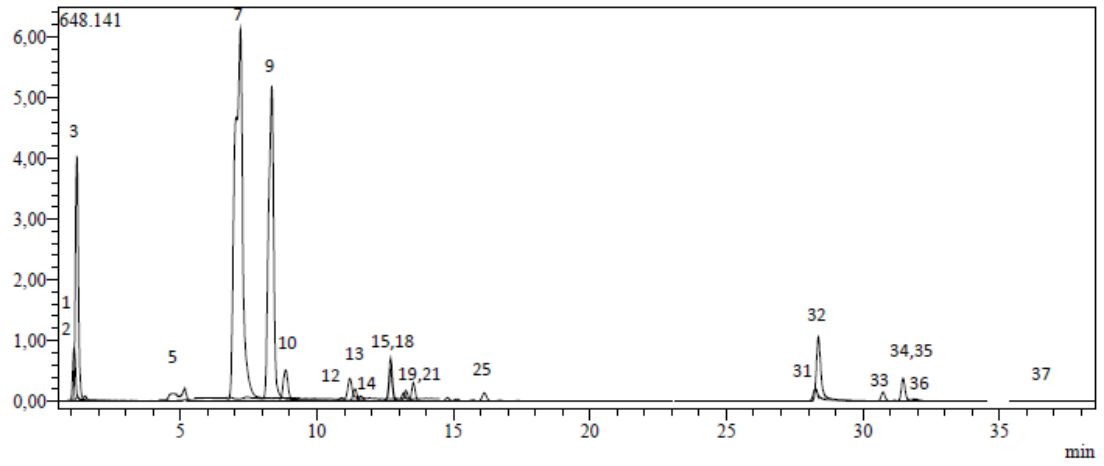
No	Analit	1.Okuma	2.Okuma	3.Okuma	4.Okuma	5.Okuma	6.Okuma	7.Okuma	8.Okuma	9.Okuma	10.Okuma	ort	std	rsd	lod	loq
1	Kumarin	196.13	204.45	200.87	197.08	197.64	203.28	201.97	197.33	201.11	199.74	199.96	2.84	0.01	208.49	228.38
2	Hesperidin	3.12	2.98	2.88	3.23	3.19	3.08	3.11	3.16	2.99	3.15	3.09	0.11	0.04	3.41	4.17
3	p-kumarik asit	6.54	6.78	6.45	6.98	6.80	6.48	6.45	6.65	6.25	6.17	6.56	0.25	0.04	7.31	9.07
4	o-kumarik asit	20.22	21.33	19.87	22.33	21.68	20.89	21.45	23.07	21.68	22.16	21.47	0.96	0.04	24.36	31.10
5	Gallik asit	88.65	90.78	89.23	91.45	89.69	88.69	89.56	93.15	92.55	91.86	90.56	1.63	0.02	95.45	106.85
6	Kafeik asit	15.75	17.65	16.02	16.69	16.91	17.23	17.14	16.87	16.67	16.36	16.73	0.57	0.03	18.44	22.43
7	Vanilik asit	112.36	115.55	117.45	111.45	113.32	115.86	116.69	118.12	115.23	111.14	114.72	2.50	0.02	122.21	139.70
8	Salisilik asit	4.15	4.78	4.13	4.25	4.65	4.29	4.45	4.31	4.19	4.22	4.34	0.22	0.05	5.00	6.53
9	Kimik asit	74.36	73.83	73.21	74.12	75.03	74.56	73.98	73.75	74.65	74.00	74.19	0.52	0.01	75.75	79.41
10	4-OH-benzoik asit	30.12	31.56	30.83	30.65	31.45	31.73	32.15	31.69	30.25	30.87	31.13	0.68	0.02	33.18	37.95
11	Ferulik asit	33.25	33.86	34.26	33.75	34.68	35.45	35.15	33.21	34.65	34.78	34.30	0.77	0.02	36.61	42.00
12	Klorojenik asit	5.12	5.35	5.18	5.69	5.81	5.13	5.46	5.02	5.65	5.23	5.36	0.28	0.05	6.19	8.11
13	Rozmarinik asit	5.31	5.45	5.80	6.13	6.06	5.82	5.33	5.45	5.25	5.78	5.64	0.32	0.06	6.60	8.84
14	Protokateşik asit	26.24	27.51	26.83	26.45	26.63	27.33	27.14	27.49	26.54	26.78	26.89	0.45	0.02	28.24	31.39
15	Sinamik asit	812.13	807.25	795.65	798.45	805.56	803.85	807.32	81.69	810.11	809.26	805.51	5.42	0.01	821.77	859.73
16	Sinapnik asit	74.21	75.68	73.98	76.35	76.12	77.03	74.66	75.14	75.48	76.81	75.55	1.05	0.01	78.71	86.08
17	Fumarik asit	24.33	24.82	25.65	26.12	25.34	26.47	25.22	24.89	23.90	26.74	25.35	0.91	0.04	28.09	34.49
18	Vanilin	38.24	39.63	40.22	39.21	41.36	40.55	41.18	41.56	42.02	41.88	40.59	1.25	0.03	44.34	53.09
19	Pirokatekol	253.14	255.36	249.65	249.88	252.22	256.63	254.74	255.16	256.33	253.23	253.63	2.48	0.01	261.06	278.39
20	Malik asit	48.25	48.63	49.13	51.21	50.69	49.88	48.03	49.89	52.55	53.03	50.13	1.73	0.03	55.33	67.47
21	Syringic asit	197.78	199.16	205.35	204.26	205.85	202.17	204.77	206.29	205.96	204.46	203.61	2.96	0.01	212.50	233.25
22	Hesperetin	4.89	4.93	5.23	5.14	5.36	4.81	5.03	5.11	5.27	5.21	5.10	0.18	0.04	5.64	6.89
23	Naringenin	5.12	5.02	5.19	4.94	4.99	5.21	5.18	5.07	4.85	4.88	5.05	0.13	0.03	5.44	6.35
24	Rutin	5.09	5.12	5.23	5.18	4.87	4.91	4.93	5.22	5.06	4.86	5.05	0.14	0.03	5.48	6.49
25	Kersetin	19.87	21.13	21.36	19.75	20.85	20.45	20.65	21.46	21.89	22.01	20.96	0.79	0.04	23.33	28.87
26	Kersitrin	20.23	20.78	20.35	21.06	20.45	21.18	19.86	20.26	21.03	21.08	20.63	0.46	0.02	22.00	25.19
27	Apigenin	4.81	4.95	4.79	5.03	5.09	4.96	4.86	4.77	5.12	5.09	4.95	0.13	0.03	5.35	6.28
28	Krisin	5.13	5.06	5.11	5.23	5.18	5.16	4.99	5.14	5.21	4.89	5.11	0.10	0.02	5.42	6.16
29	Likiritigenin	4.82	4.85	4.81	4.89	5.12	5.24	5.06	5.01	5.12	5.21	5.01	0.16	0.03	5.50	6.63
30	İzokersitrin	4.93	4.87	4.85	5.08	5.17	5.22	5.05	5.16	5.01	4.94	5.03	0.13	0.03	5.42	6.33
31	Apigetrin	4.98	5.16	5.24	5.12	5.07	4.88	4.96	5.13	5.08	5.11	5.07	0.11	0.02	5.39	6.13
32	Roifolin	20.30	20.15	21.25	21.37	20.89	20.49	20.56	21.45	22.44	21.34	21.02	0.69	0.03	23.09	27.91
33	Nikotiflorin	20.35	20.89	21.16	20.47	21.13	21.65	21.48	21.59	21.03	20.88	21.06	0.44	0.02	22.38	25.45
34	Fisetin	53.50	52.56	51.15	51.48	51.23	50.87	50.68	51.26	49.87	51.12	51.37	1.00	0.02	54.39	61.42
35	Luteolin	4.70	4.82	4.88	4.91	4.97	5.13	5.05	5.11	5.07	5.16	4.98	0.15	0.03	5.43	6.48
36	Mirisetin	52.13	51.32	52.56	50.88	51.67	51.26	51.33	52.17	50.99	51.11	51.54	0.57	0.01	53.24	57.21
37	Kamferol	205.40	202.45	203.19	204.08	203.75	204.44	201.89	202.25	203.22	202.69	203.34	1.09	0.01	206.61	214.25



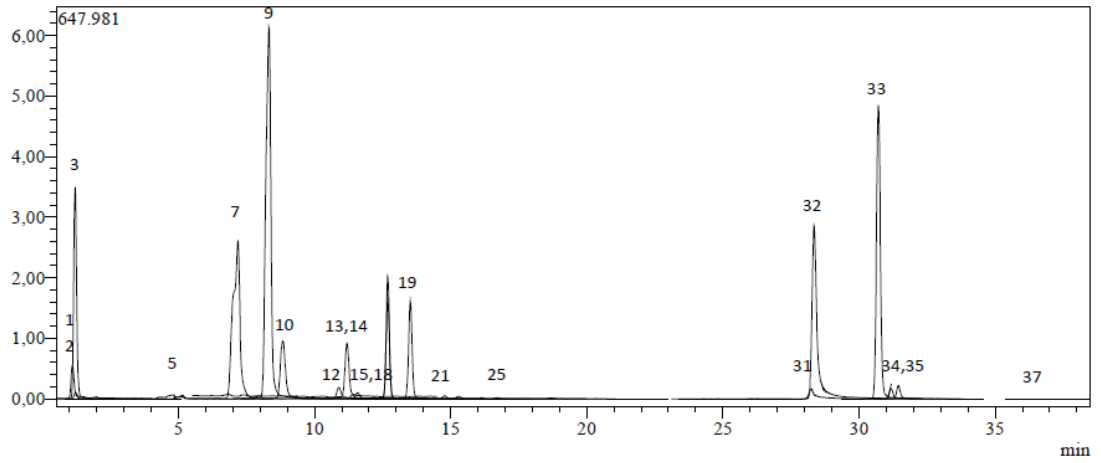
Ek 6. *A. setacea*'nin toprak üstü CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



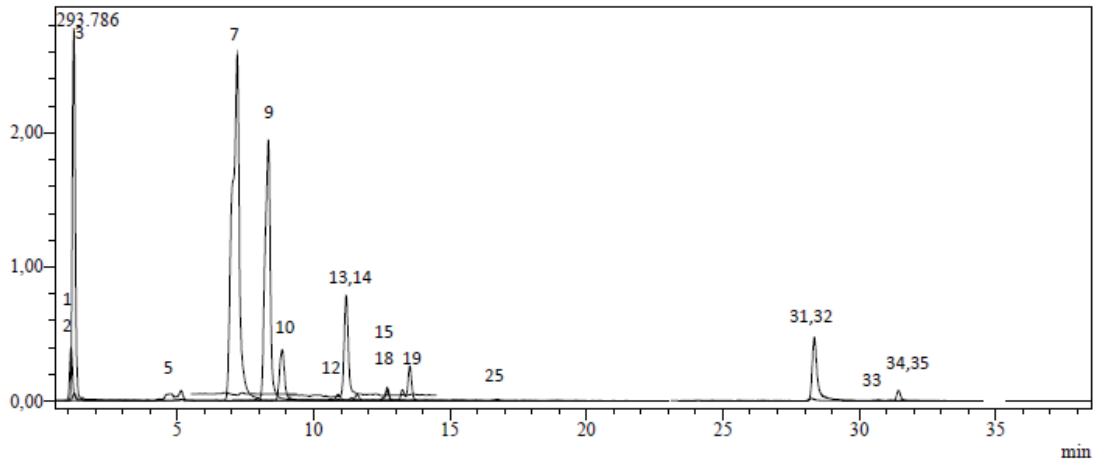
Ek 7. *A. biebersteinii*'nin toprak üstü CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



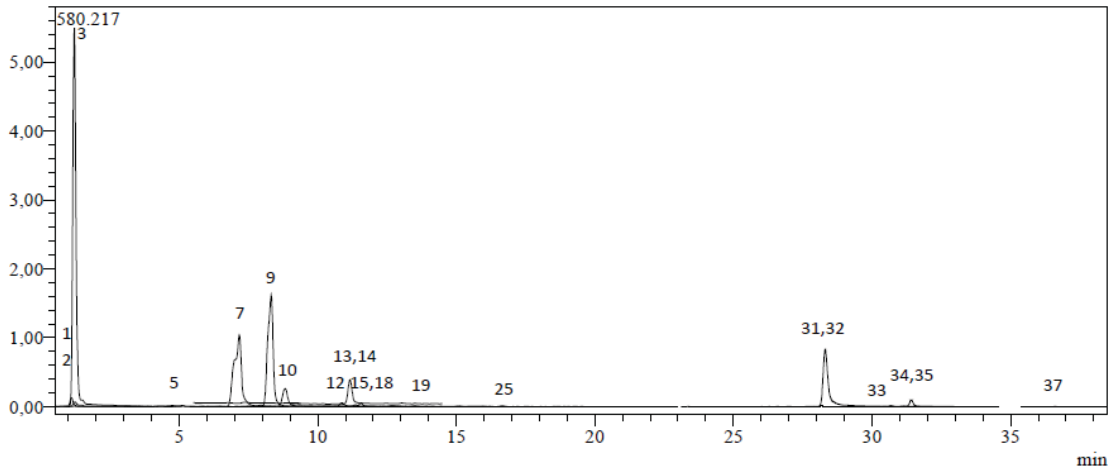
Ek 8. *A. teretifolia*'nin toprak üstü CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



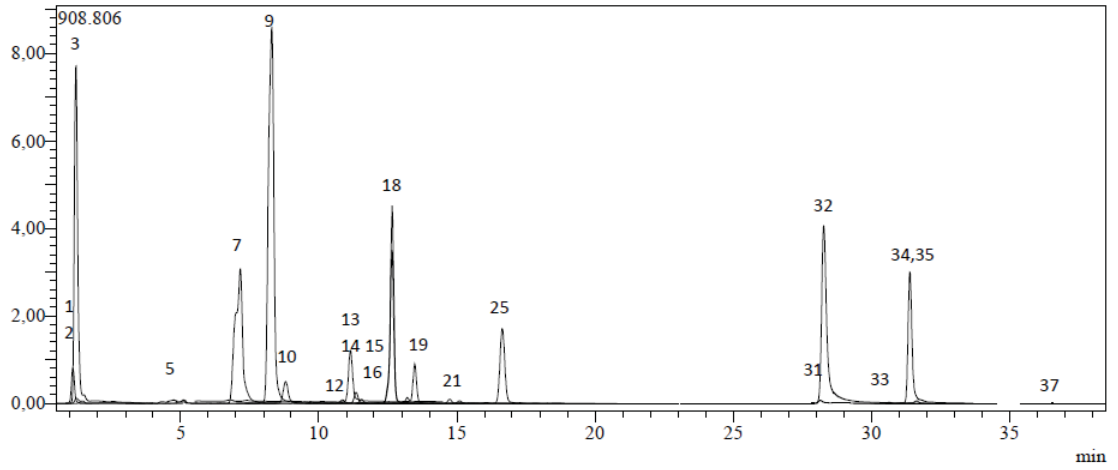
Ek 9. *A. spinulifolia*'nin toprak üstü CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



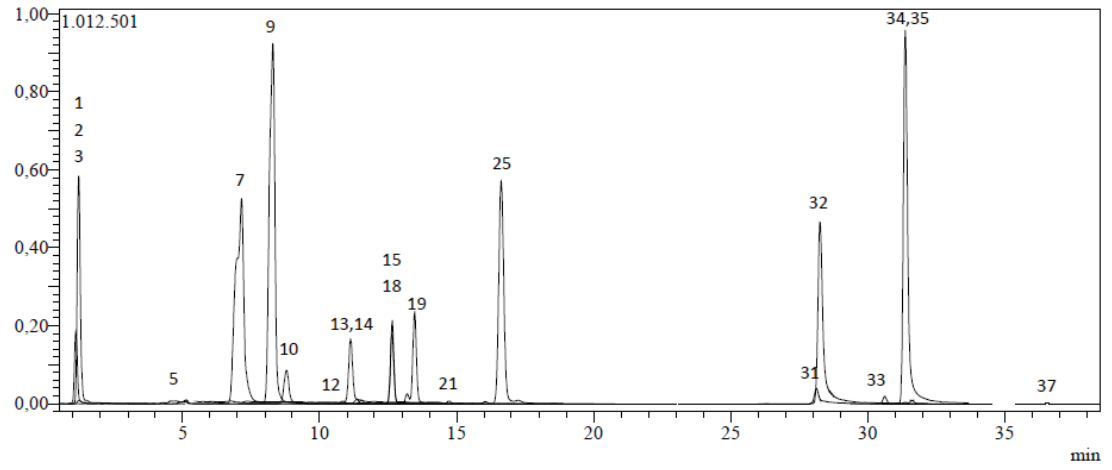
Ek 10. *A. wilhelmsii*'nin toprak üstü CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



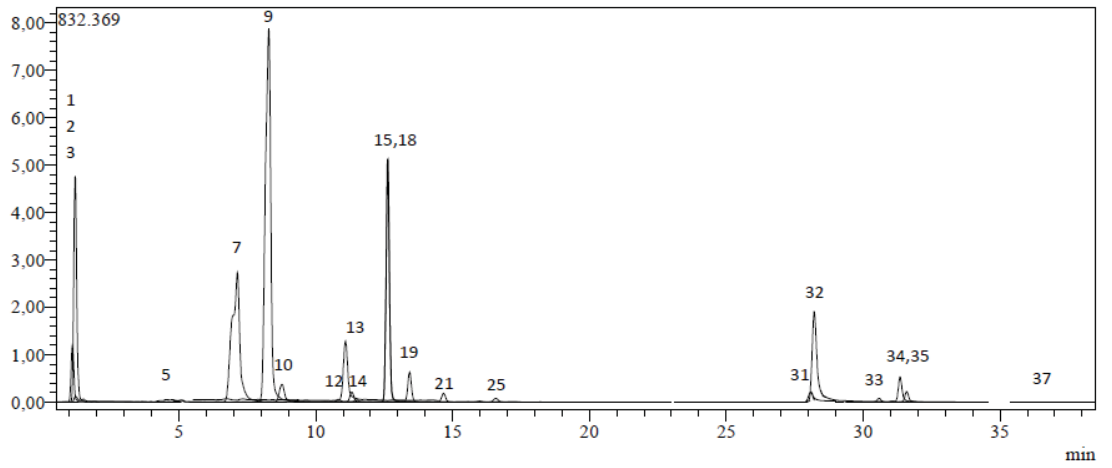
Ek 11. *A. lycanica*'nin toprak üstü CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



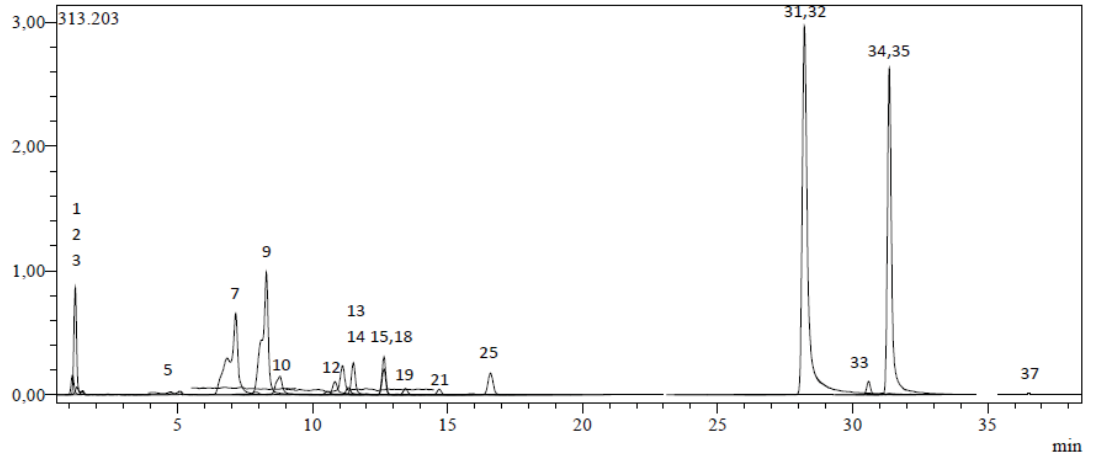
Ek 12. *A. millefolium*'un toprak üstü CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



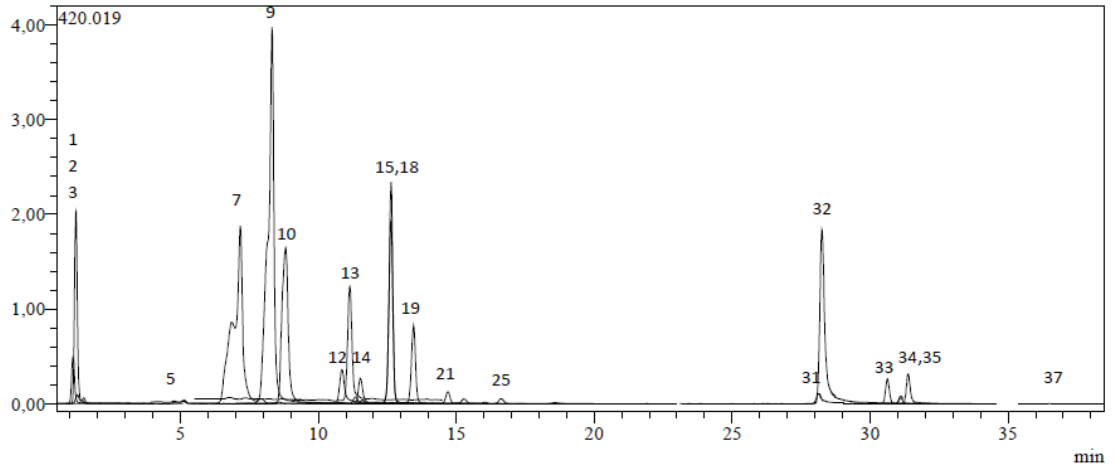
Ek 13. *A. kotschy*'nin toprak üstü CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



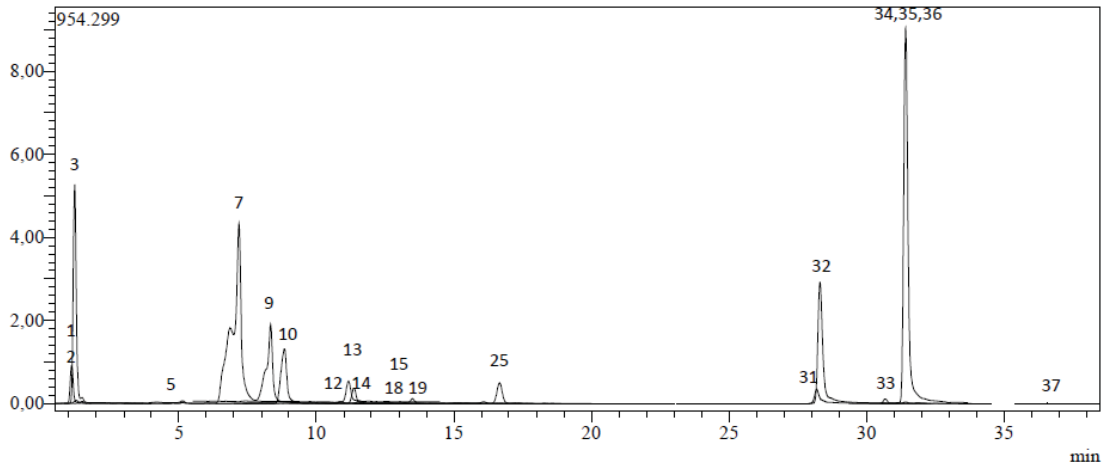
Ek 14. *A. coarctata*'nın toprak üstü CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



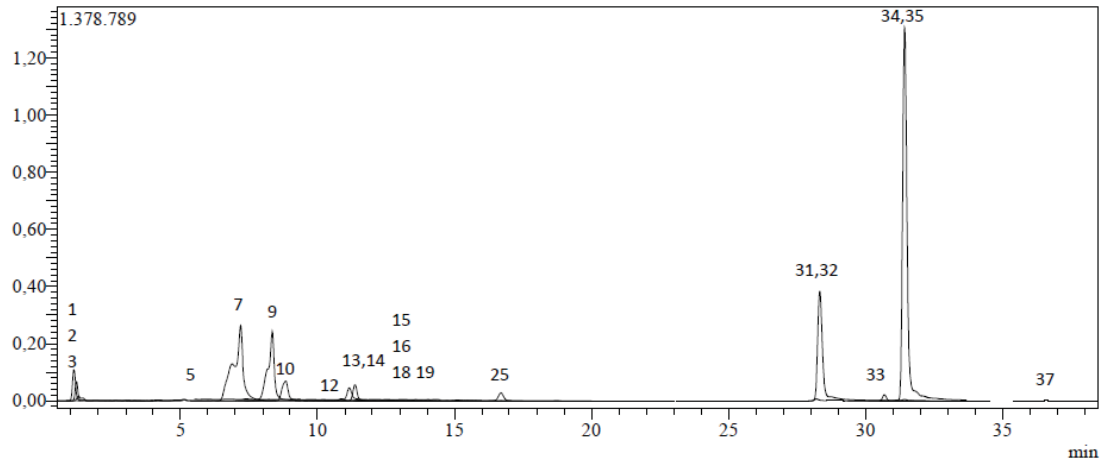
Ek 15. *A. sintenisii*'nin toprak üstü CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



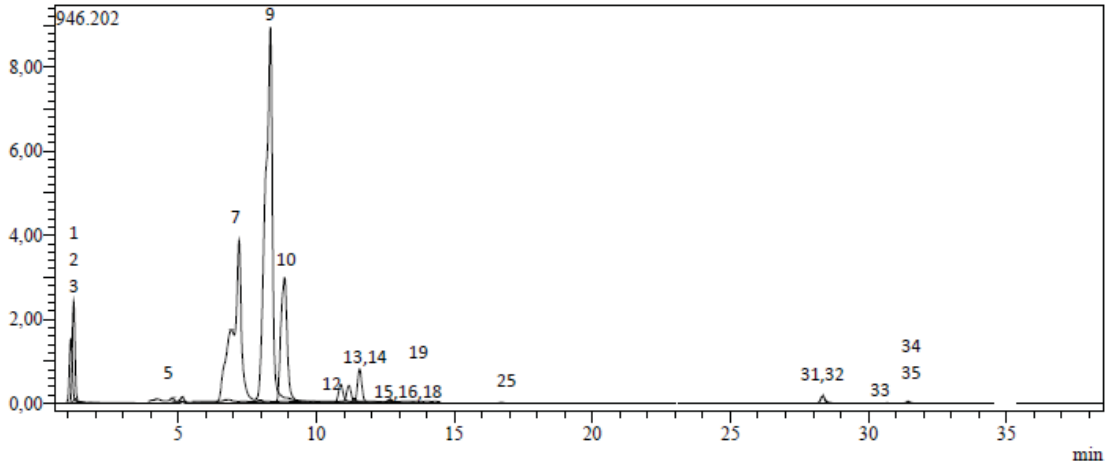
Ek 16. *A. goniocephala*'nın toprak üstü CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



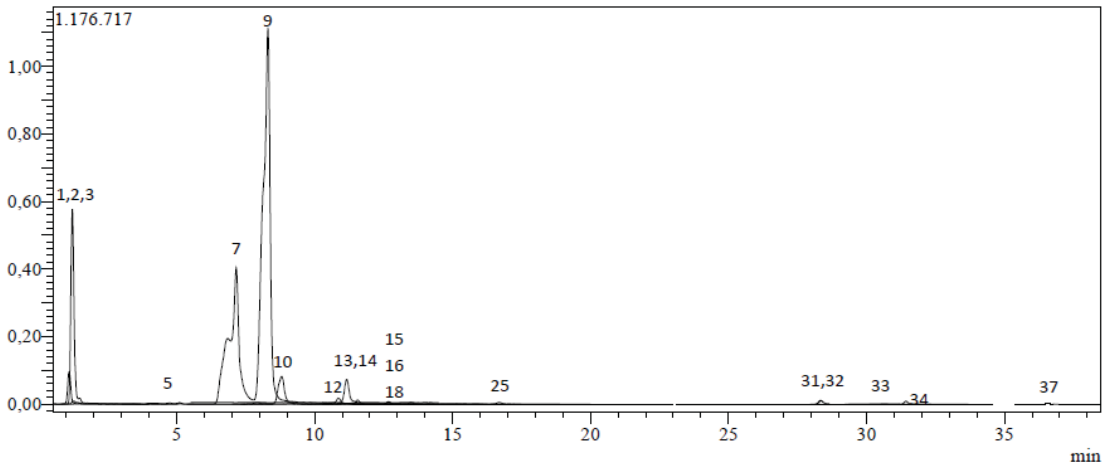
Ek 17. *A. nobilis*'in toprak üstü CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



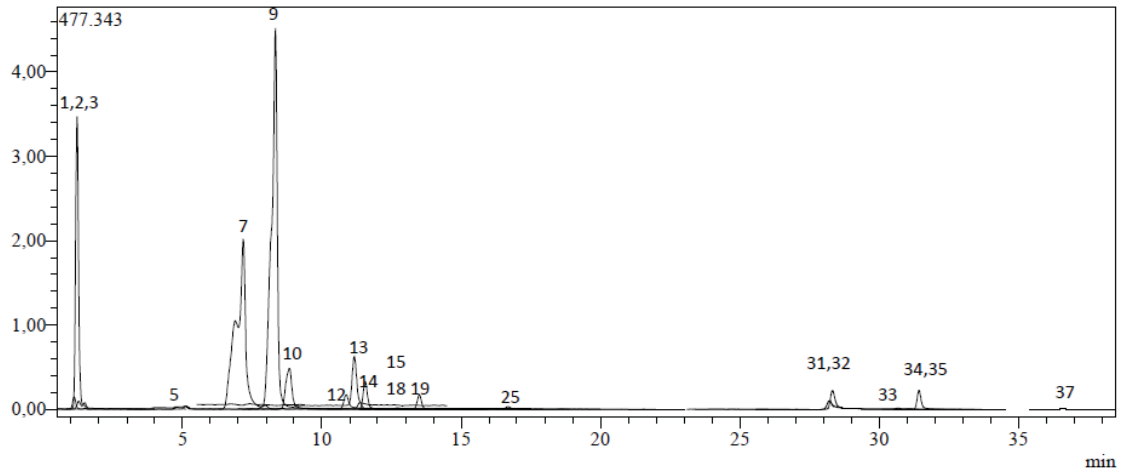
Ek 18. *A. monocephala*'nın toprak üstü CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



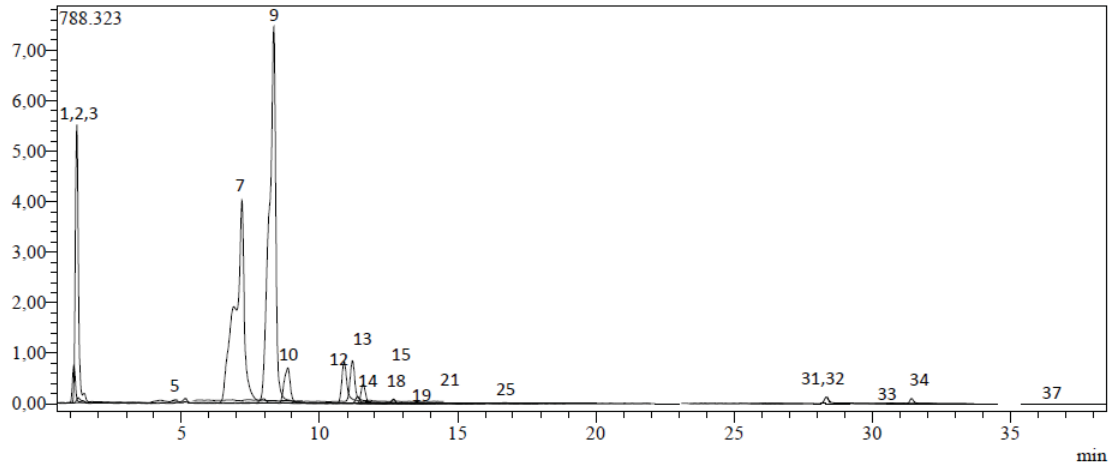
Ek 19. *A. schischkinii*'nin toprak altı CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



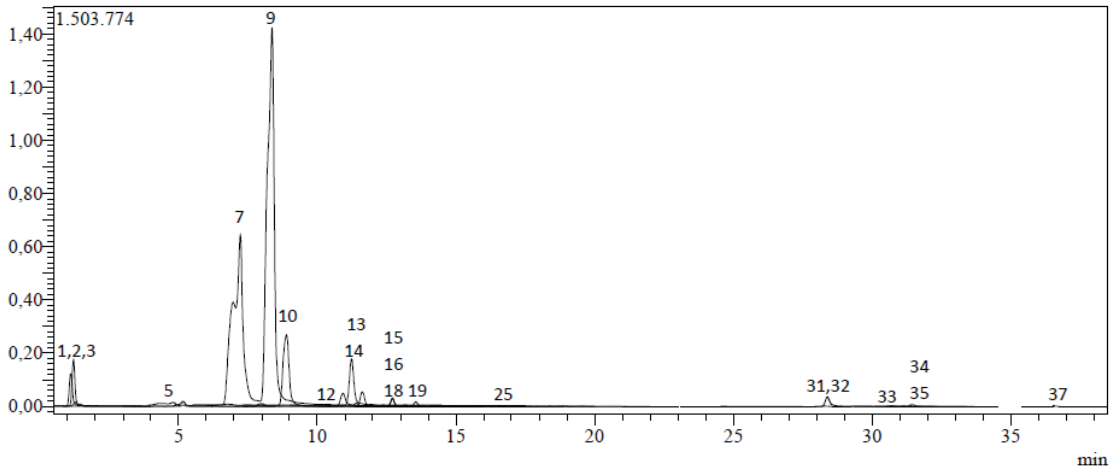
Ek 20. *A. setacea*'nın toprak altı CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



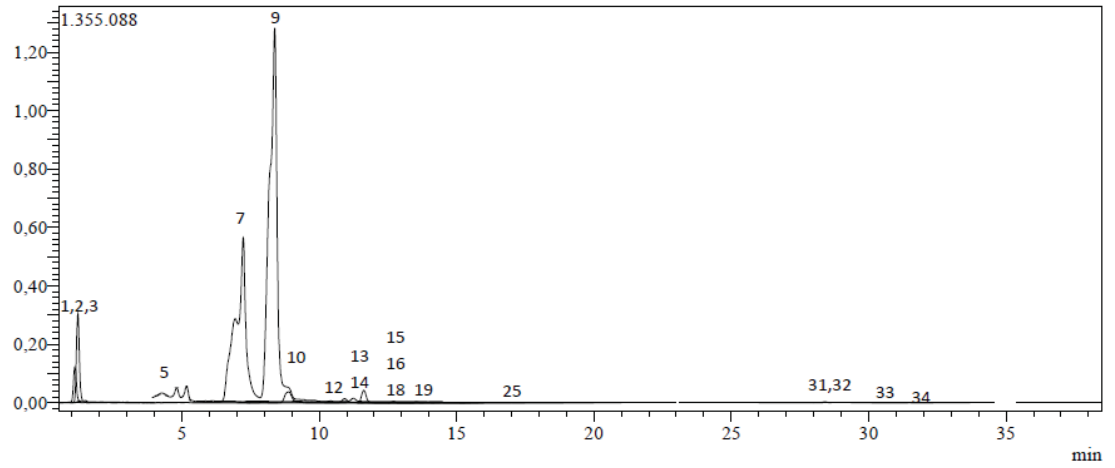
Ek 21. *A. biebersteinii*'nin toprak altı CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



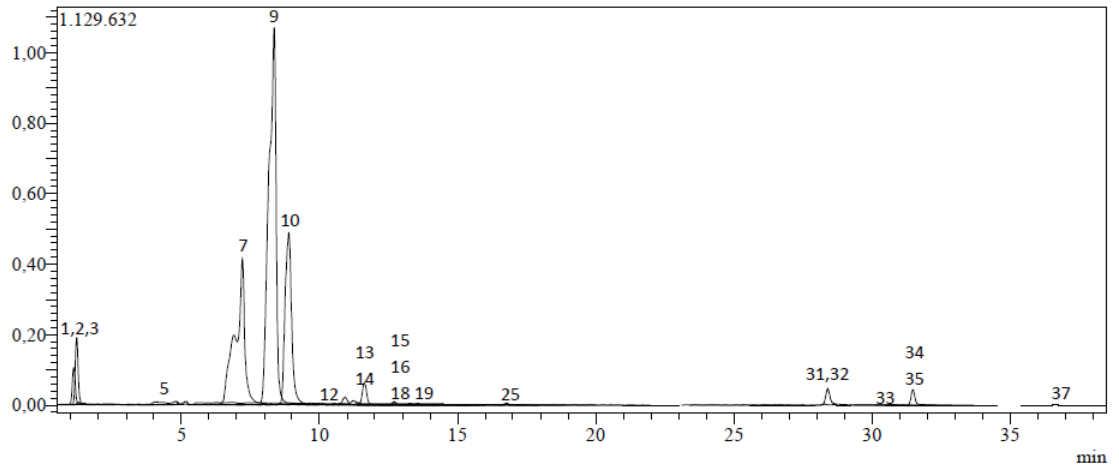
Ek 22. *A. teretifolia*'nın toprak altı CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



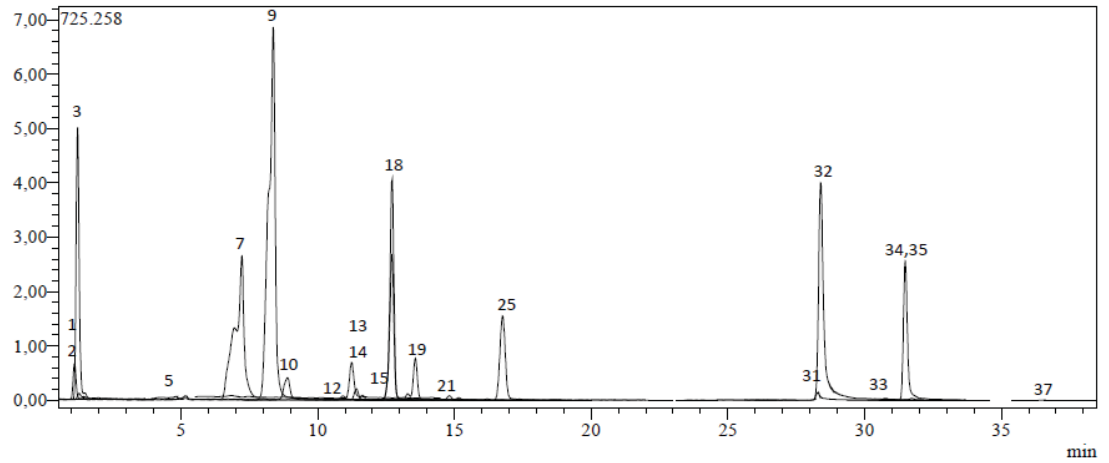
Ek 23. *A. spinulifolia*'nın toprak altı CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



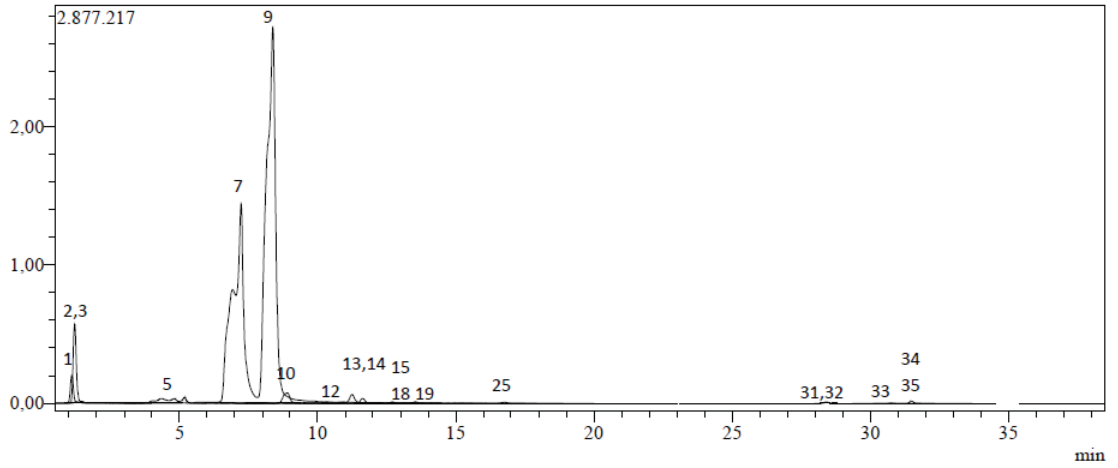
Ek 24. *A. wilhelmsii*'nin toprak altı CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



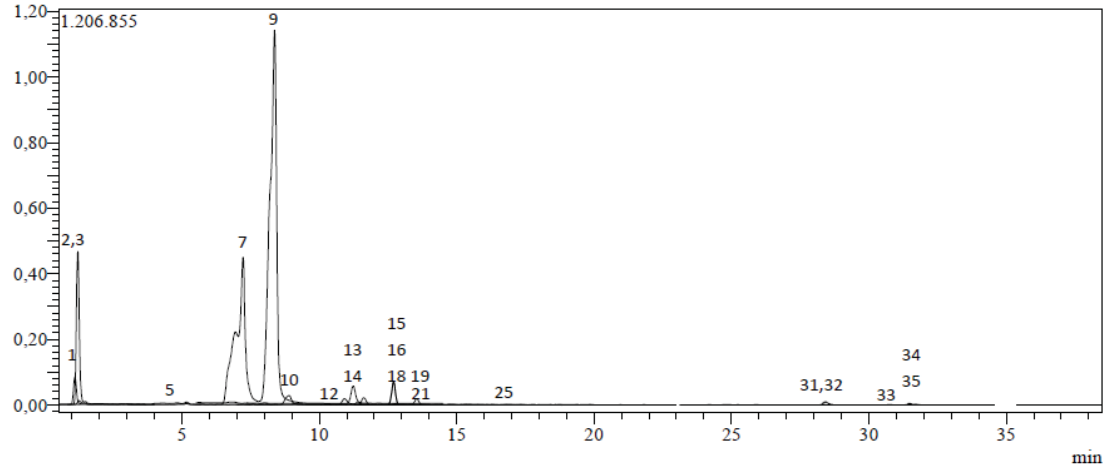
Ek 25. *A. lycanica*'nın toprak altı CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



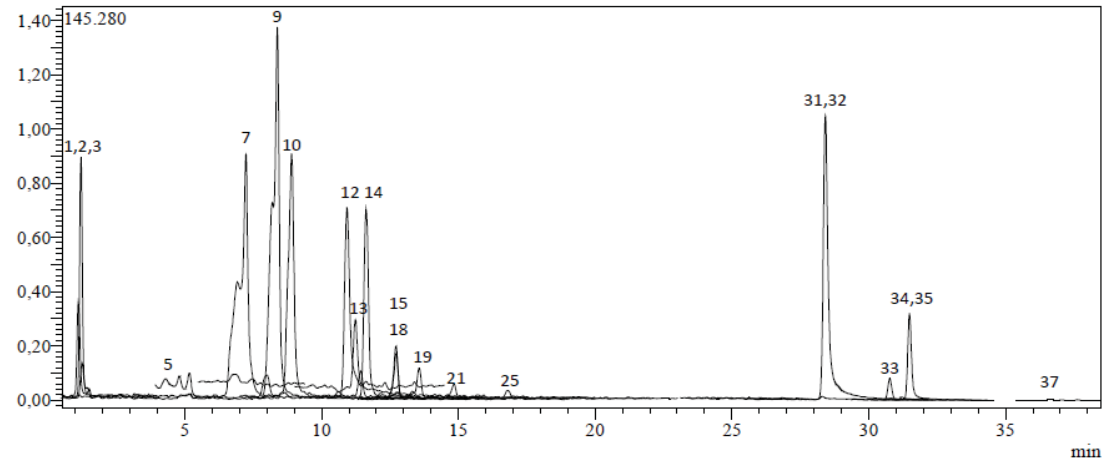
Ek 26. *A. millefolium*'un toprak altı CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



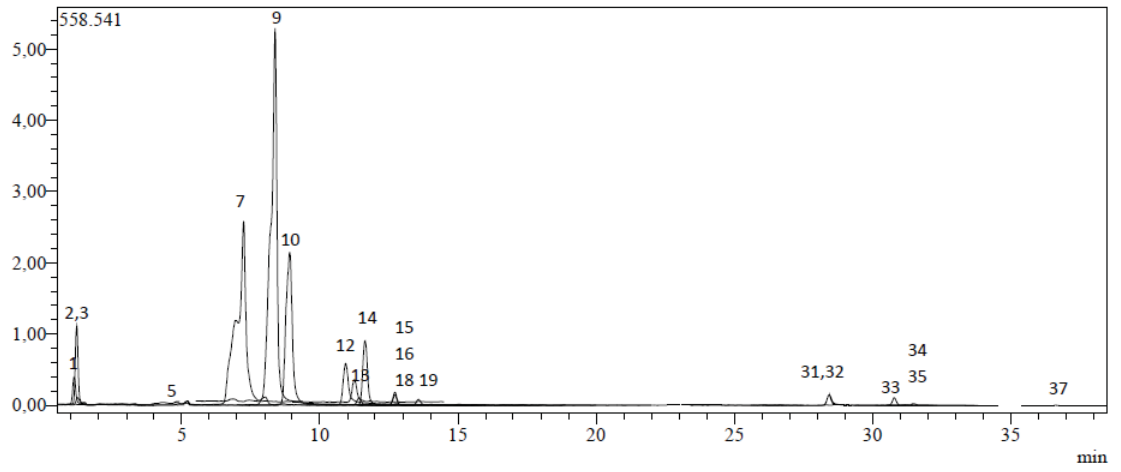
Ek 27. *A. kotschyi*'nin toprak altı CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



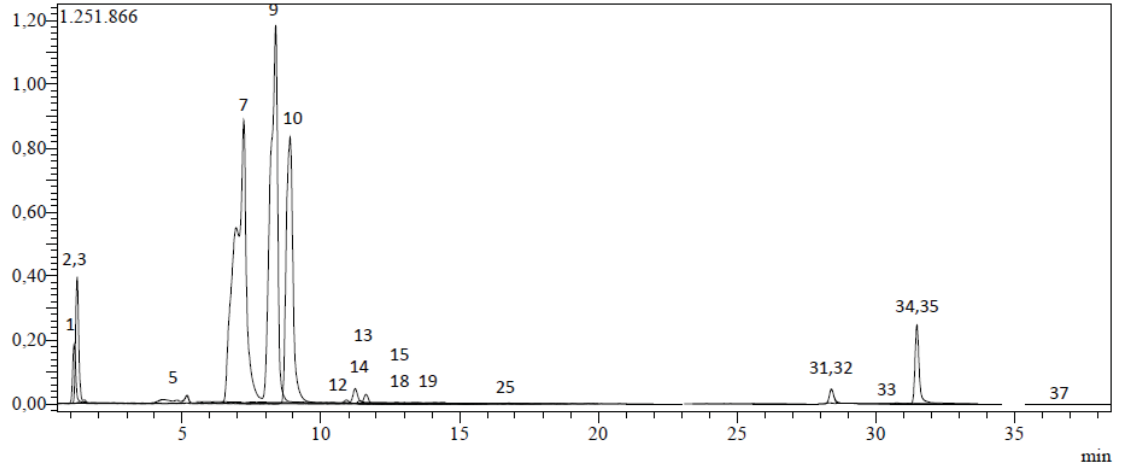
Ek 28. *A. coarctata*'nın toprak altı CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



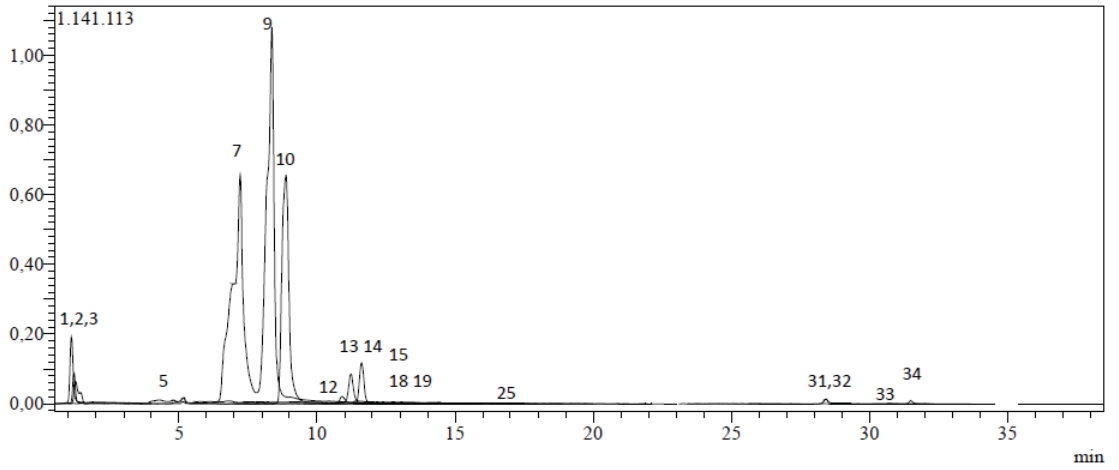
Ek 29. *A. sintenisii*'nin toprak altı CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



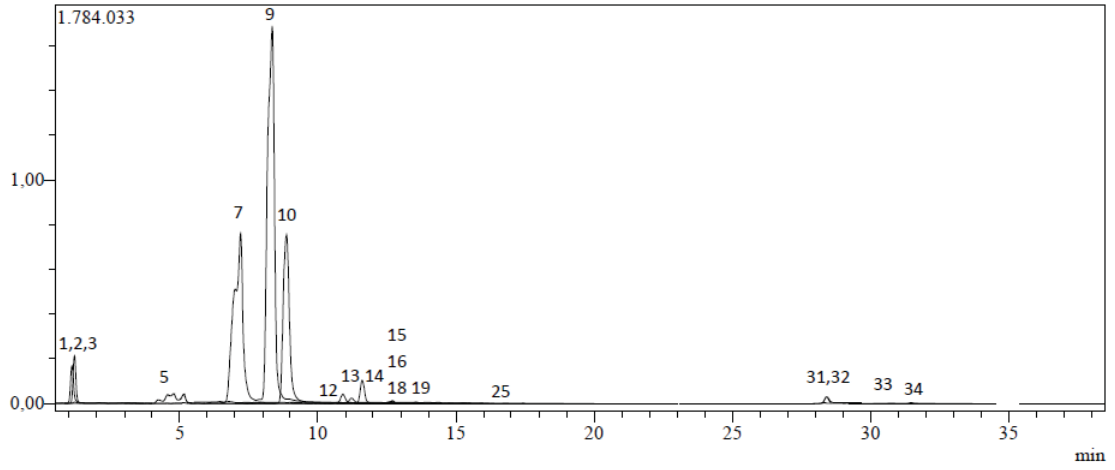
Ek 30. *A. goniocephala*'nın toprak altı CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



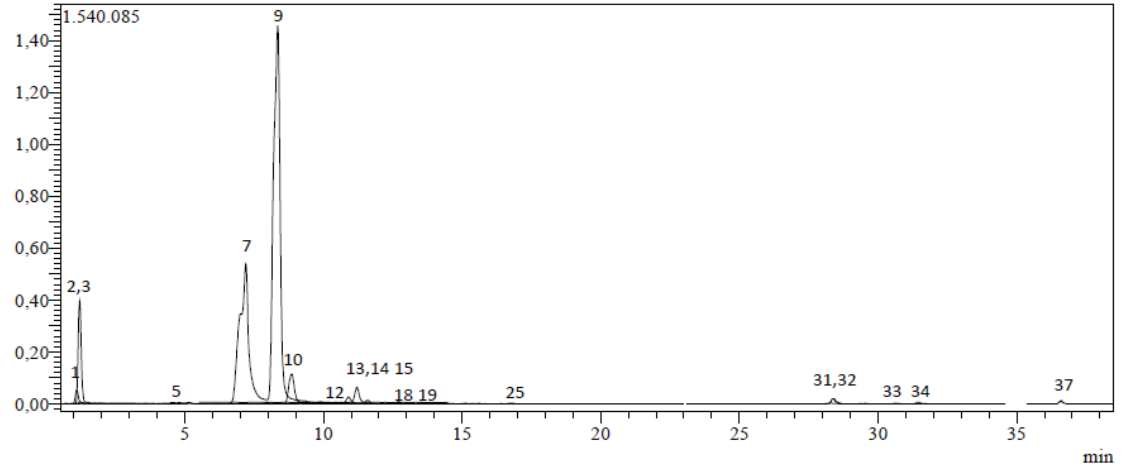
Ek 31. *A. nobilis*'in toprak altı CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



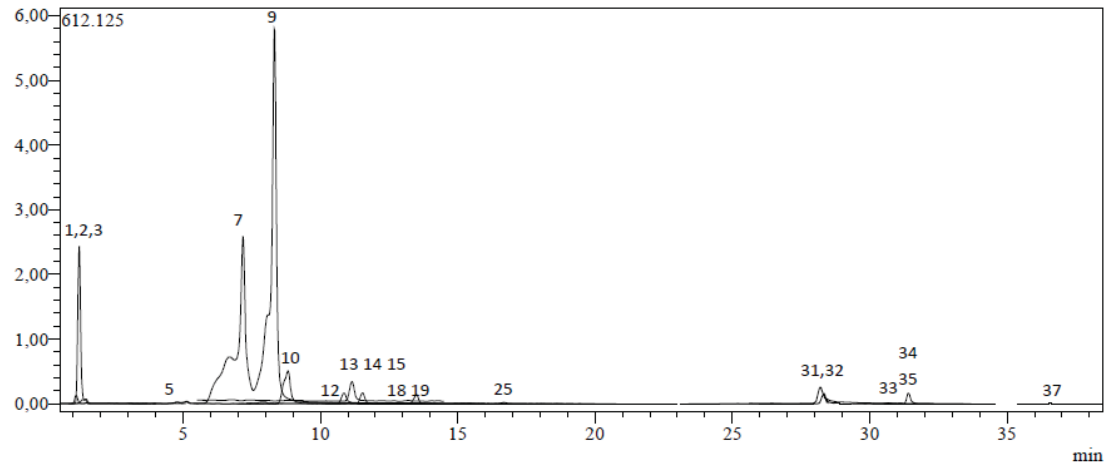
Ek 32. *A. monocephala*'nın toprak altı CHCl_3 -MeOH ekstresinin standart kromatogramı



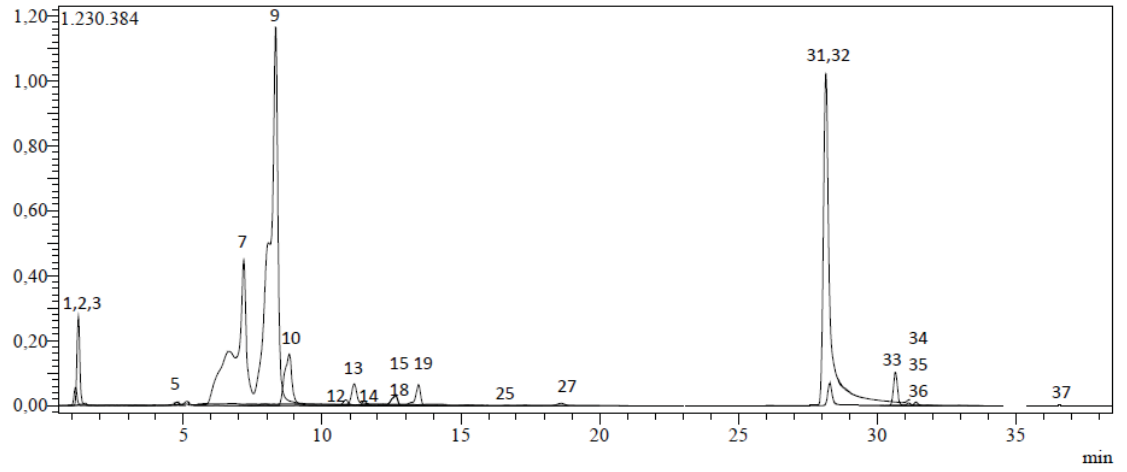
Ek 33. *A. schischkinii*'nin toprak altı etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



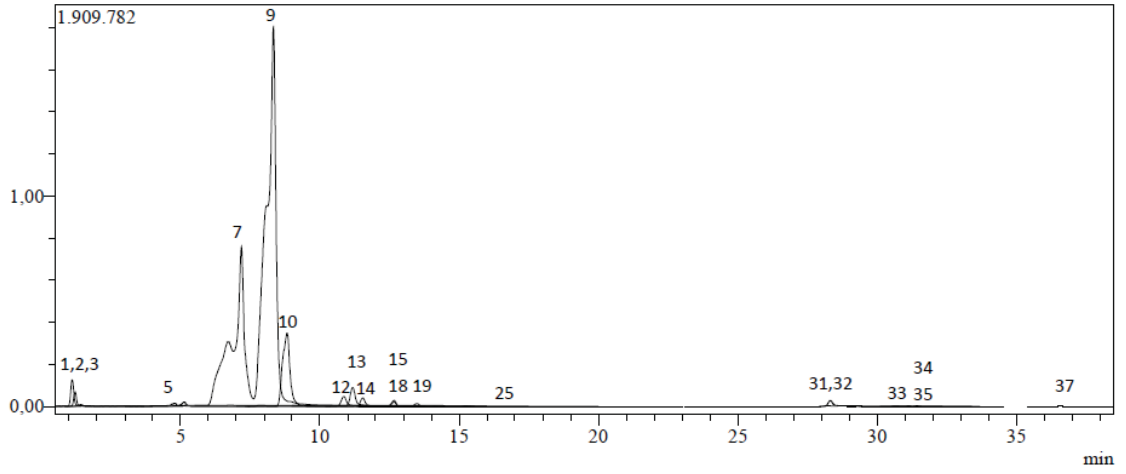
Ek 34. *A. setacea*'nin toprak altı etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



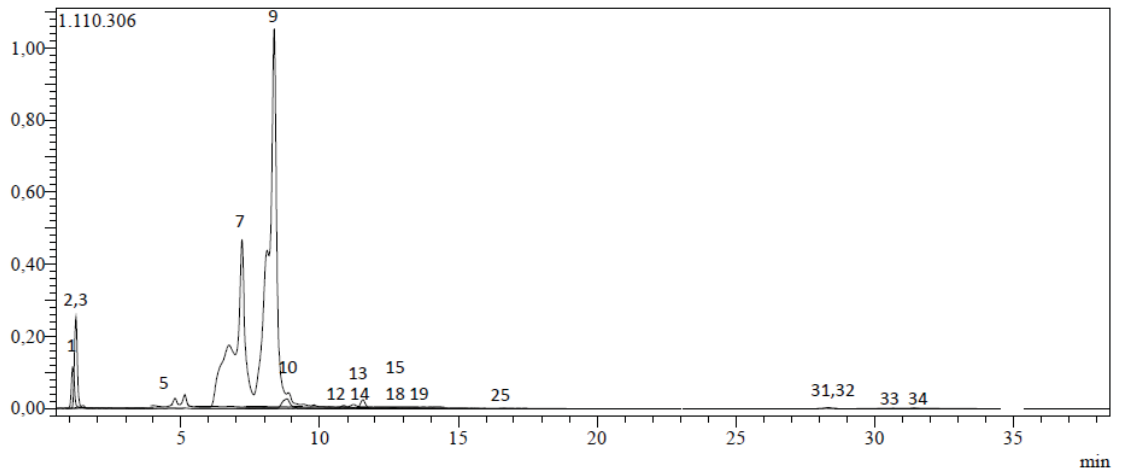
Ek 35. *A. biebersteinii*'nin toprak altı etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



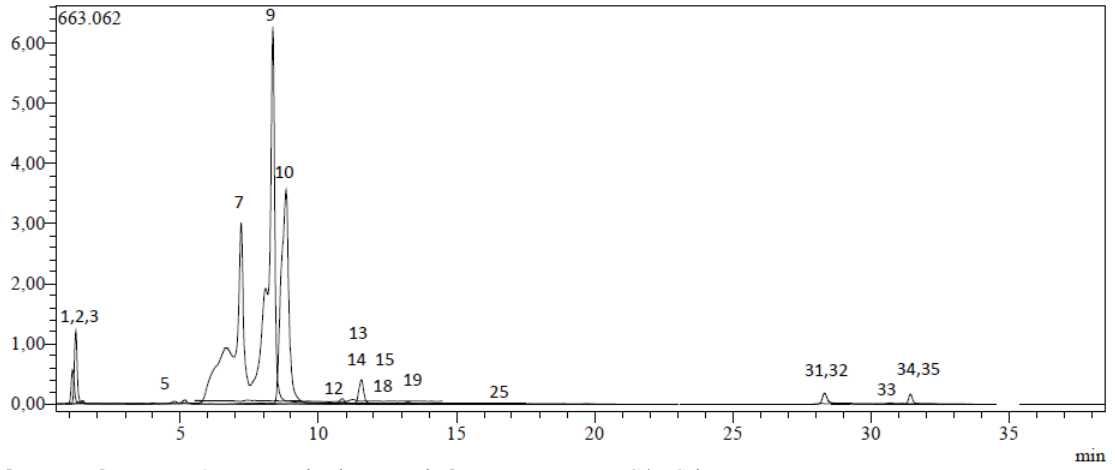
Ek 36. *A. teretifolia*'nin toprak altı etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



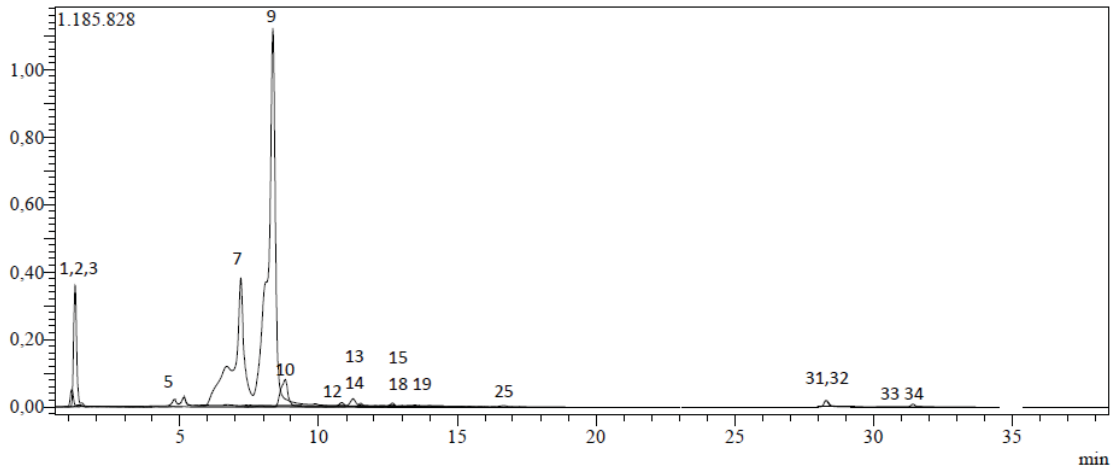
Ek 37. *A. spinulifolia*'nin toprak altı etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



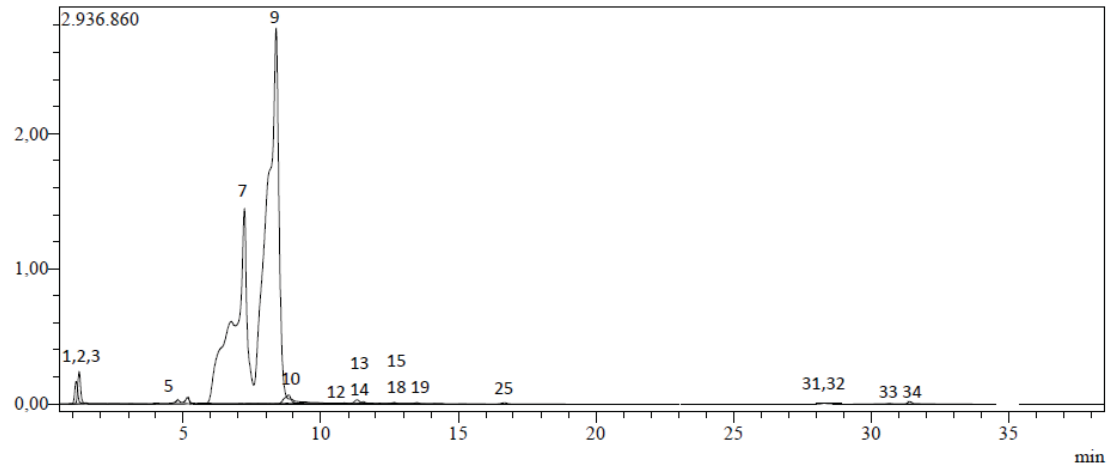
Ek 38. *A. wilhelmsii*'nin toprak altı etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



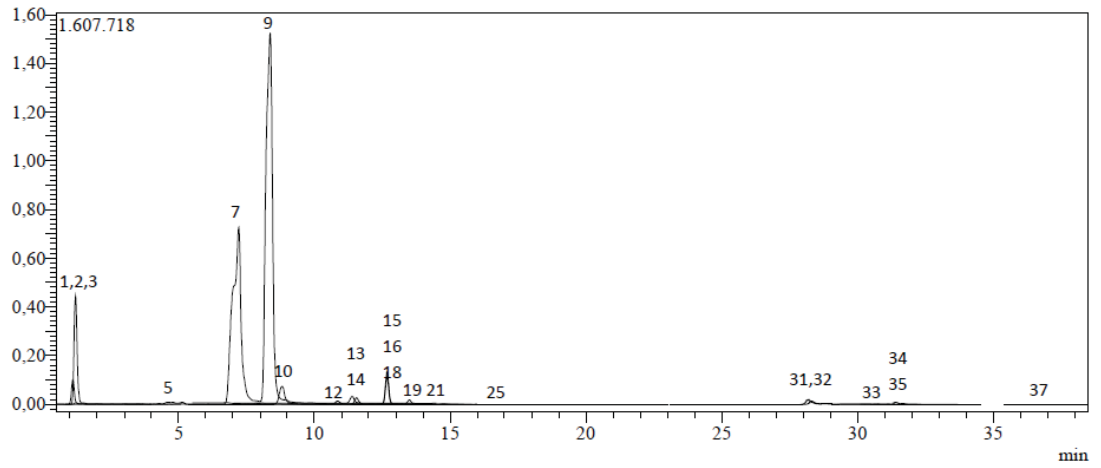
Ek 39. *A. lycaonica*'nin toprak altı etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



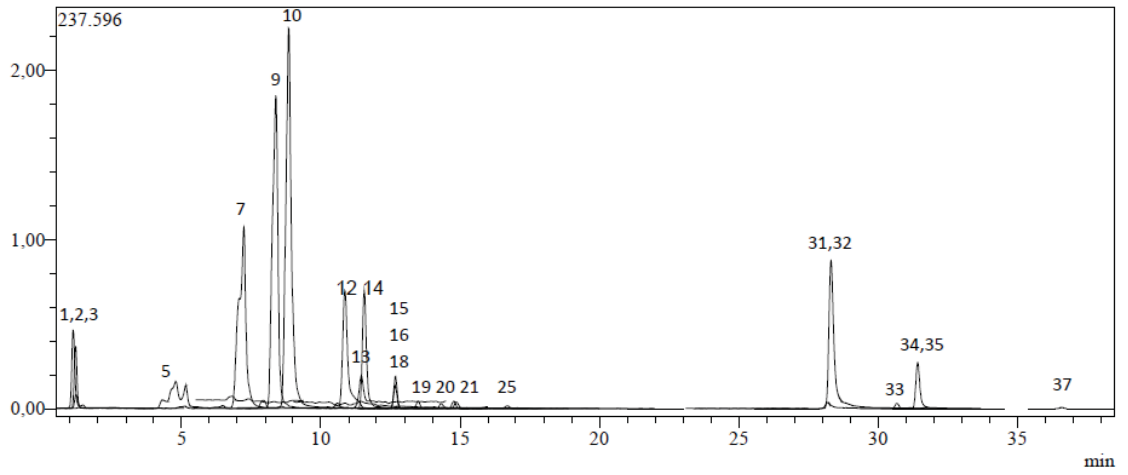
Ek 40. *A. millefolium*'un toprak altı etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



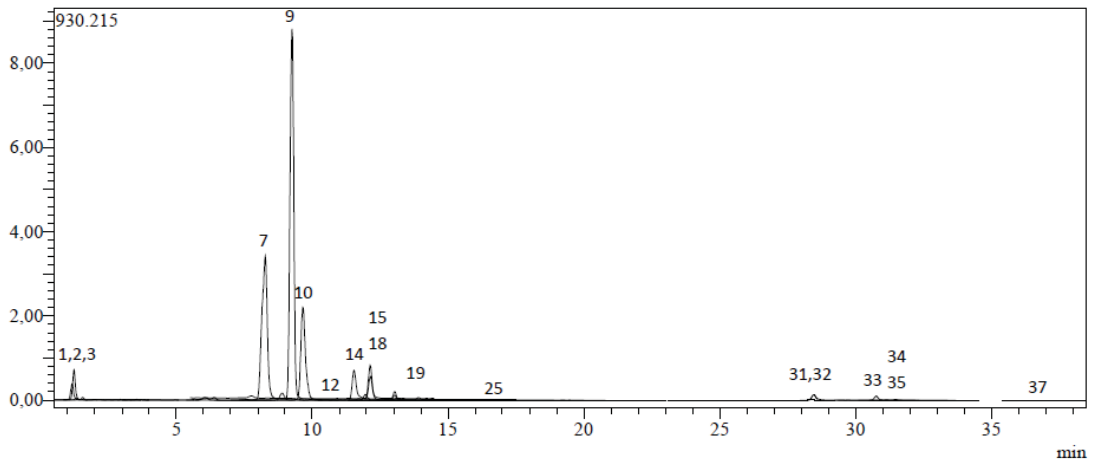
Ek 41. *A. kotschy*'nin toprak altı etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



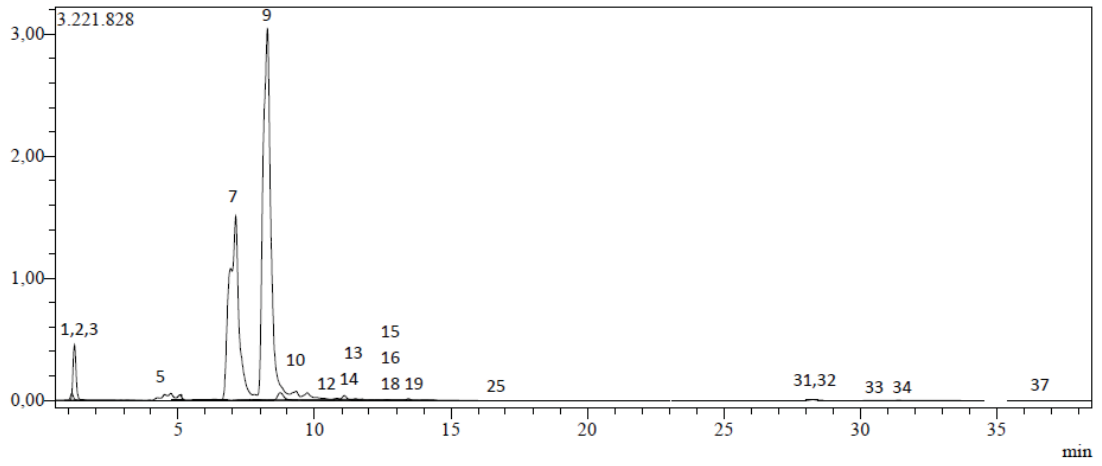
Ek 42. *A. coarctata*'nin toprak altı etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



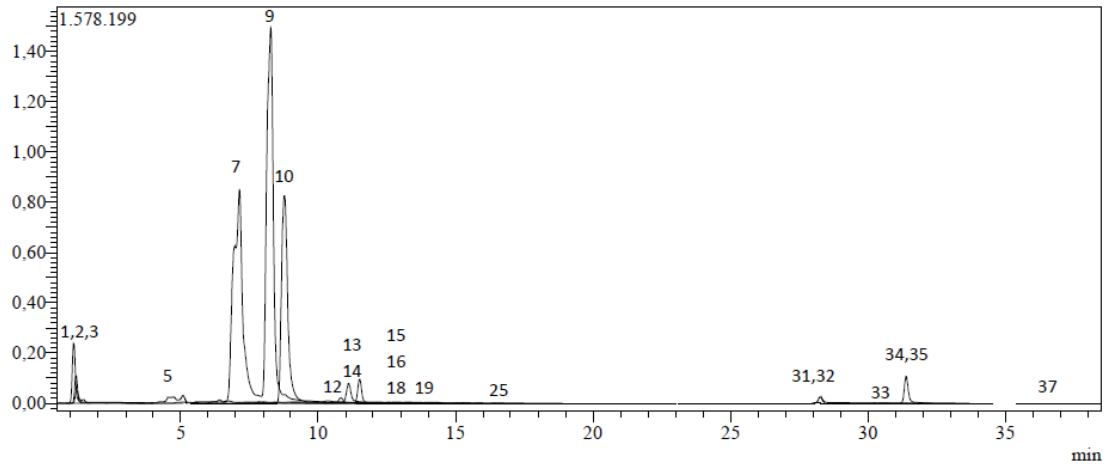
Ek 43. *A. sintenisii*'nin toprak altı etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



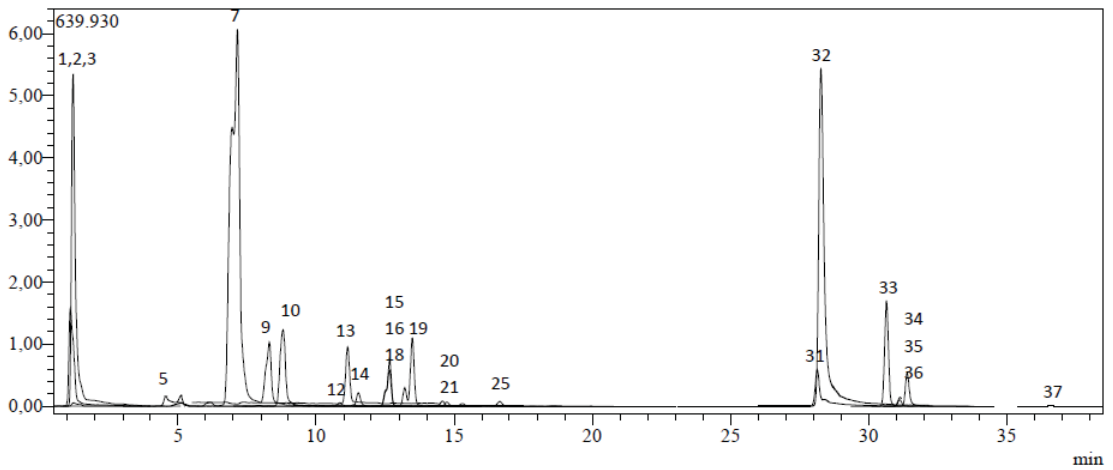
Ek 44. *A. goniocephala*'nin toprak altı etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



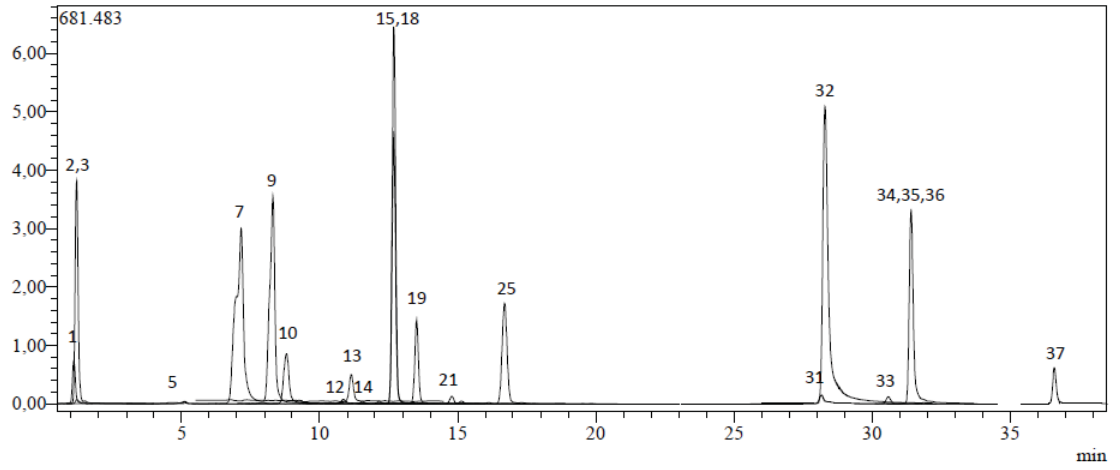
Ek 45. *A. nobilis*'in toprak altı etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



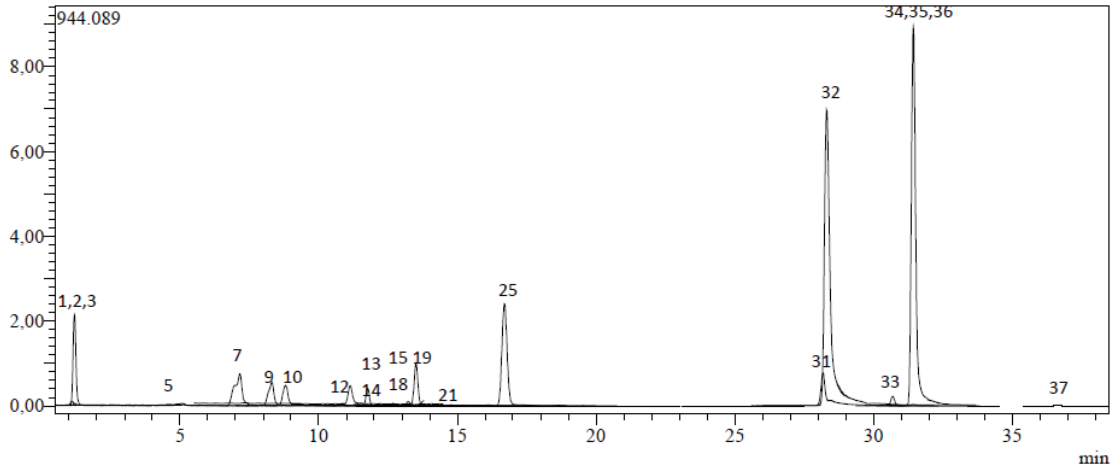
Ek 46. *A. monocephala*'nın toprak altı etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



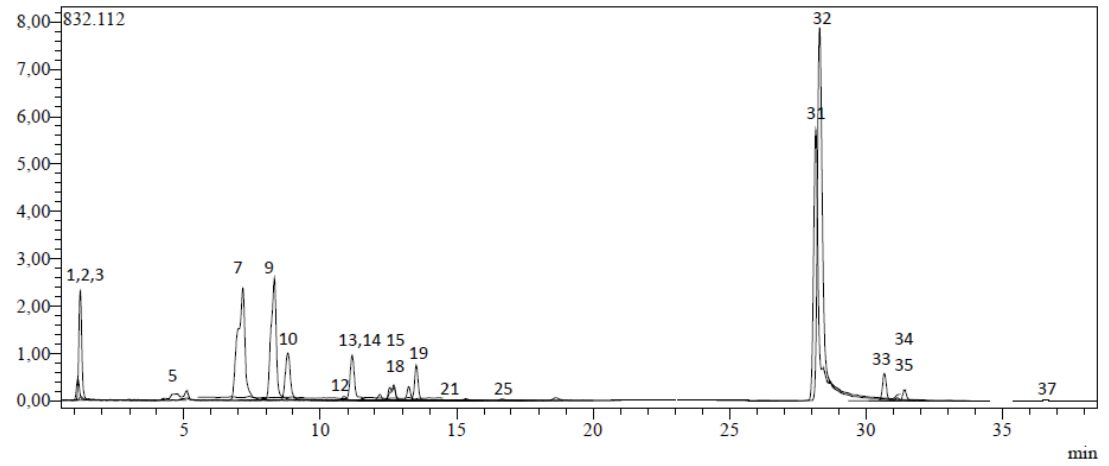
Ek 47. *A. schischkinii*'nin toprak üstü etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



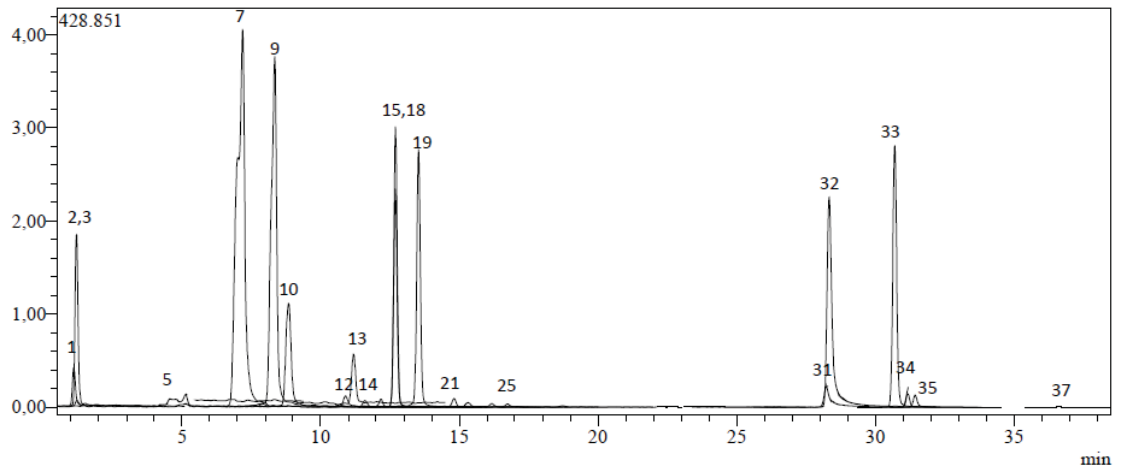
Ek 48. *A. setacea*'nın toprak üstü etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



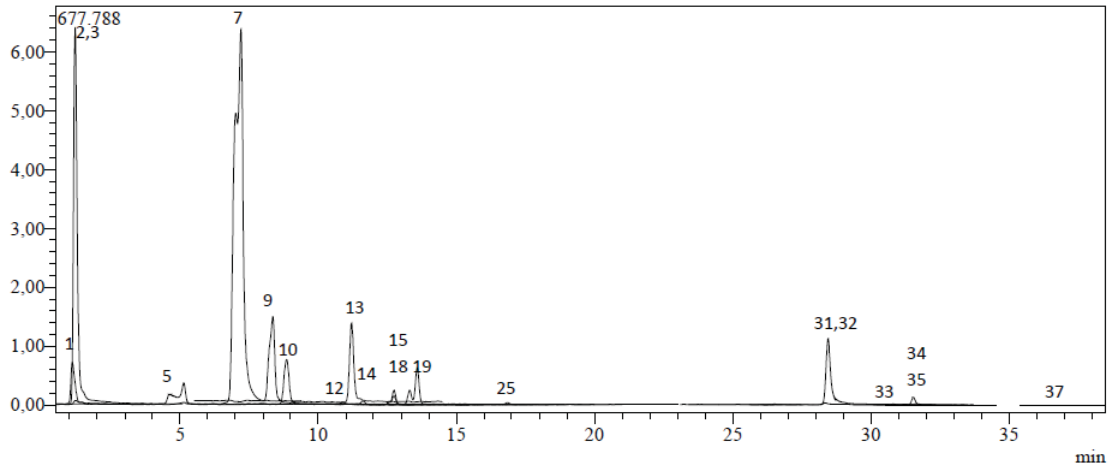
Ek 49. *A. biebersteinii*'nin toprak üstü etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



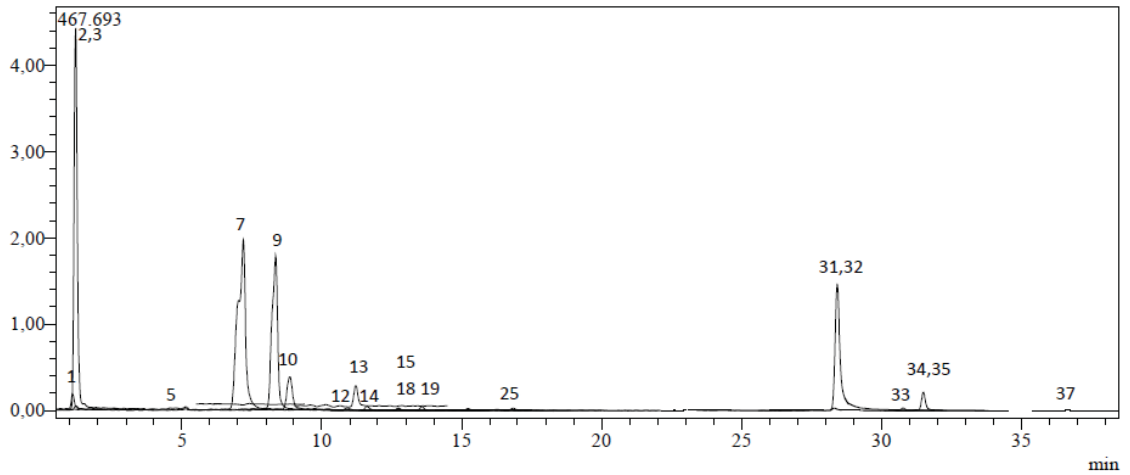
Ek 50. *A. teretifolia*'nın toprak üstü etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



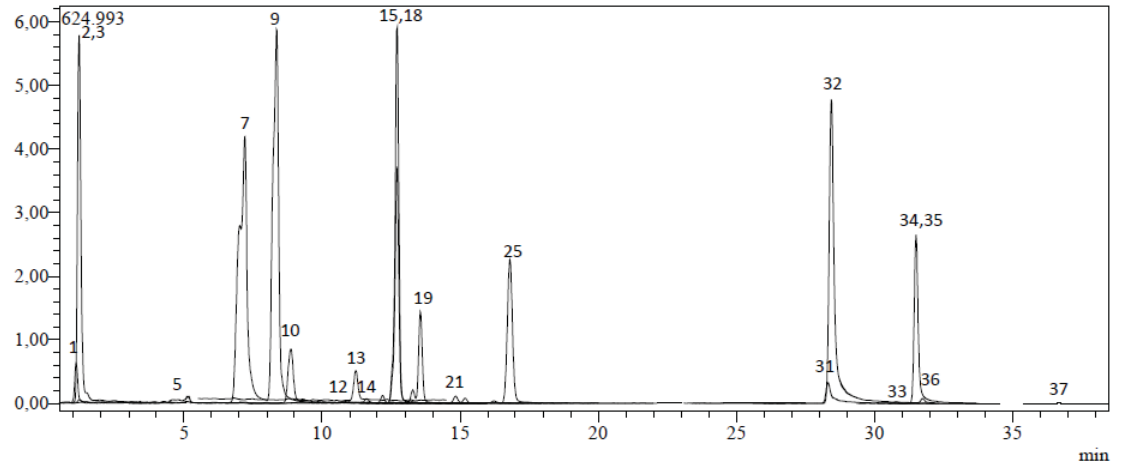
Ek 51. *A. spinulifolia*'nin toprak üstü etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



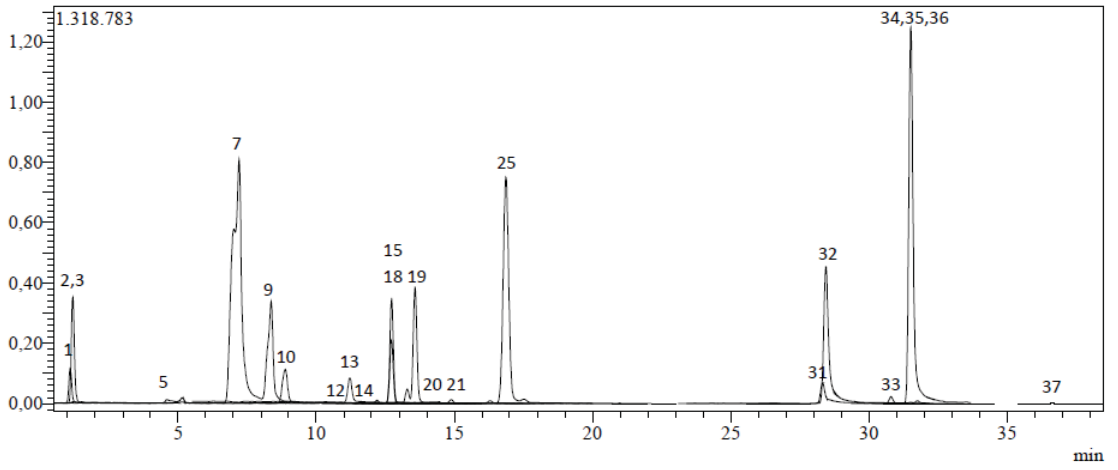
Ek 52. *A. wilhelmsii*'nin toprak üstü etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



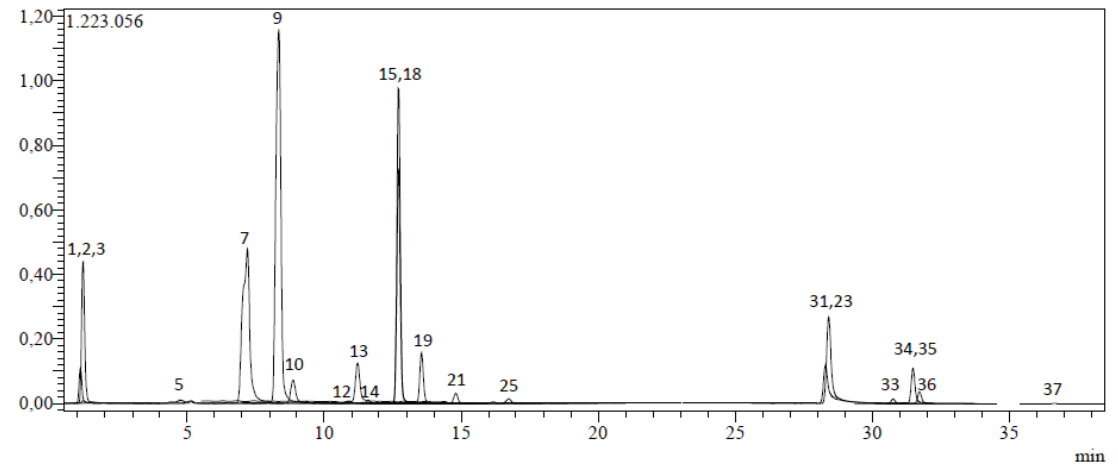
Ek 53. *A. lycanica*'nin toprak üstü etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



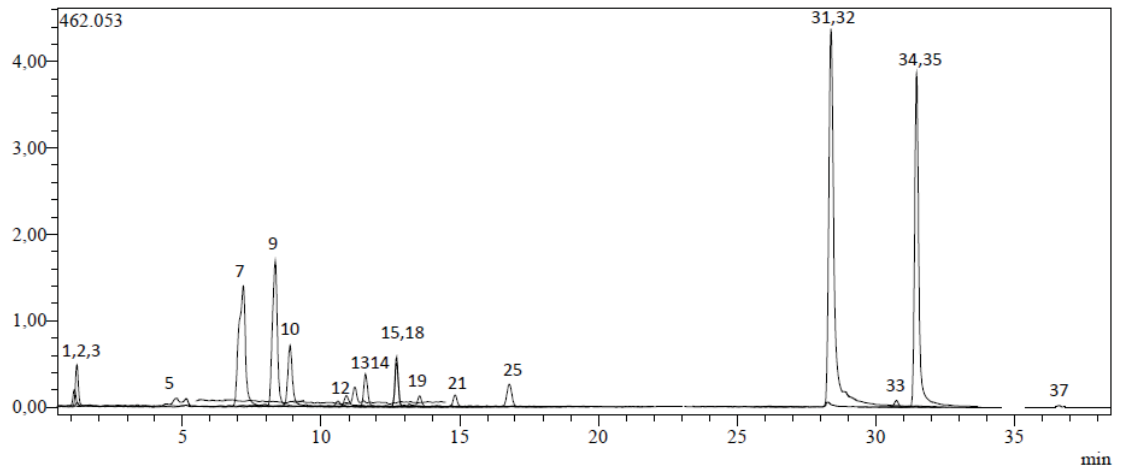
Ek 54. *A. millefolium*'un toprak üstü etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



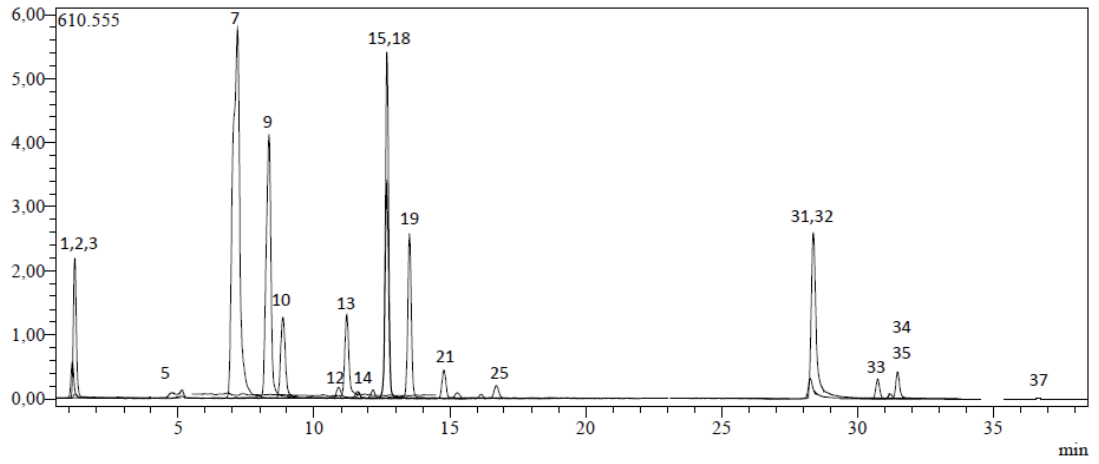
Ek 55. *A. kotschy*'nin toprak üstü etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



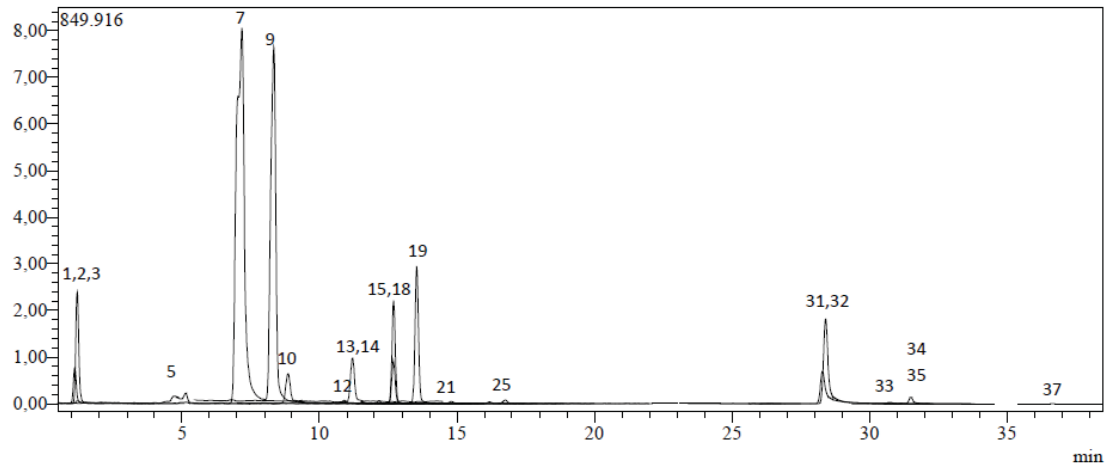
Ek 56. *A. coarctata*'nın toprak üstü etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



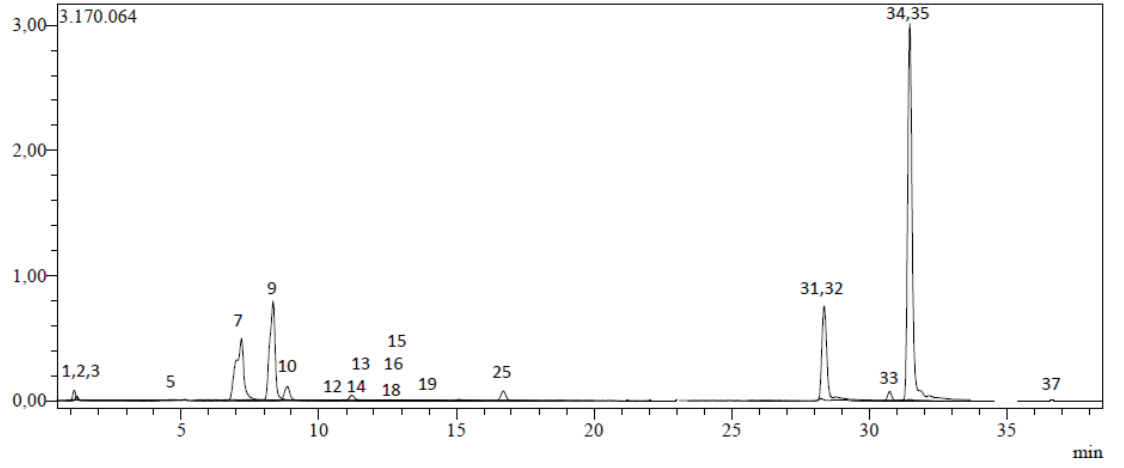
Ek 57. *A. sintenisii*'nin toprak üstü etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



Ek 58. *A. gonioccephala*'nın toprak üstü etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



Ek 59. *A. nobilis*'in toprak üstü etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



Ek 60. *A. monocephala*'nın toprak üstü etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı

Ek 61. Hesperidin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Hesperidin	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün	902	994	93.83	0.94	1410	101.97	1.02	1881	98.08	0.98
	903	1000	99.83	1.00	1405	100.97	1.01	1868	96.78	0.97
	902	1008	107.83	1.08	1414	102.77	1.03	1916	101.58	1.02
	895	1000	99.83	1.00	1409	101.77	1.02	1981	108.08	1.08
	895	1003	102.83	1.03	1412	102.37	1.02	1938	103.78	1.04
	904	1006	105.83	1.06	1410	101.97	1.02	1911	101.08	1.01
	900.17	1001.83	101.67	1.02	1410.00	101.97	1.02	1915.83	101.57	1.02
Ort.	900.17	1001.83	101.67	1.02	1410.00	101.97	1.02	1915.83	101.57	1.02
Std	4.070	4.997	4.997	0.050	3.033	0.607	0.006	40.652	4.065	0.041
RSD	0.005	0.005	0.049	0.049	0.002	0.006	0.006	0.021	0.040	0.040
Farklı Günler (1)	903	1005	104.39	1.04	1424	104.68	1.05	1934	103.34	1.03
	904	1005	104.39	1.04	1404	100.68	1.01	1908	100.74	1.01
	910	995	94.39	0.94	1410	101.88	1.02	1956	105.54	1.06
	896	995	94.39	0.94	1424	104.68	1.05	1886	98.54	0.99
	900	1000	99.39	0.99	1422	104.28	1.04	1887	98.64	0.99
	906	1004	103.39	1.03	1407	101.28	1.01	1999	109.84	1.10
	910	999	98.39	0.98	1422	104.28	1.04	1992	109.14	1.09
Farklı Günler (2)	906	996	95.39	0.95	1406	101.08	1.01	1896	99.54	1.00
	893	1000	99.39	0.99	1421	104.08	1.04	1942	104.14	1.04
	893	995	94.39	0.94	1412	102.28	1.02	1878	97.74	0.98
	907	997	96.39	0.96	1407	101.28	1.01	1867	96.64	0.97
	901	1003	102.39	1.02	1418	103.48	1.03	1904	100.34	1.00
	899	1007	106.39	1.06	1410	101.88	1.02	1889	98.84	0.99
	893	997	96.39	0.96	1413	102.48	1.02	1858	95.74	0.96
Farklı Günler (3)	893	998	97.39	0.97	1425	104.88	1.05	1857	95.64	0.96
	903	1005	104.39	1.04	1419	103.68	1.04	1870	96.94	0.97
	894	1006	105.39	1.05	1420	103.88	1.04	1990	108.94	1.09
	900	1001	100.39	1.00	1414	102.68	1.03	1876	97.54	0.98
F.G.Ort.	900.61	1000.44	99.83	1.00	1415.44	102.97	1.03	1910.50	100.99	1.01
F.G.Std	5.932	4.176	4.176	0.042	7.014	1.403	0.014	47.080	4.708	0.047
F.G.RSD	0.007	0.004	0.042	0.042	0.005	0.014	0.014	0.025	0.047	0.047
Gen. Ort	900.50	1000.79	100.29	1.00	1414.08	102.72	1.03	1911.83	101.13	1.01
Gen. Std	5.445	4.324	4.356	0.044	6.646	1.315	0.013	44.756	4.477	0.045
Gen. RSD	0.006	0.004	0.043	0.043	0.005	0.013	0.013	0.023	0.044	0.044
RSD (Pool)	0.012503468									

Ek 62. Hesperidin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	%Ortalama Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Alma St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	100	1.00	4.32	0.044	0.004	24
Hesperidin	500	1.03	6.65	0.013	0.005	24
	1000	1.01	44.76	0.045	0.023	24
ort		1.01		0.034	0.011	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0039865

Ek 63. Hesperidin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0125	0.0125
Gerçeklik	1.013805556	0.00398652	0.0039322
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0131
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0262

Ek 64. *p*-Kumarik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort.:ortalama, Std.:standart sapma)

<i>p</i> -Kumarik asit	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	
Ort.	69	167	101.33	1.01	565	99.87	1.00	1076	101.03	1.01	
	67	163	97.33	0.97	570	100.87	1.01	1078	101.23	1.01	
	69	162	96.33	0.96	577	102.27	1.02	1082	101.63	1.02	
	64	160	94.33	0.94	574	101.67	1.02	1056	99.03	0.99	
	62	175	109.33	1.09	564	99.67	1.00	1055	98.93	0.99	
	63	171	105.33	1.05	571	101.07	1.01	1064	99.83	1.00	
	65.67	166.33	100.67	1.01	570.17	100.90	1.01	1068.50	100.28	1.00	
	Std	3.077	5.785	5.785	0.058	5.037	1.007	0.010	11.726	1.173	0.012
	RSD	0.047	0.035	0.057	0.057	0.009	0.010	0.010	0.011	0.012	0.012
	Farklı Günler (1)	68	173	107.89	1.08	580	102.98	1.03	1086	102.09	1.02
66		168	102.89	1.03	562	99.38	0.99	1068	100.29	1.00	
65		170	104.89	1.05	576	102.18	1.02	1070	100.49	1.00	
65		171	105.89	1.06	580	102.98	1.03	1056	99.09	0.99	
60		172	106.89	1.07	568	100.58	1.01	1084	101.89	1.02	
69		161	95.89	0.96	560	98.98	0.99	1073	100.79	1.01	
Farklı Günler (2)	66	173	107.89	1.08	562	99.38	0.99	1072	100.69	1.01	
	67	161	95.89	0.96	564	99.78	1.00	1059	99.39	0.99	
	64	164	98.89	0.99	569	100.78	1.01	1077	101.19	1.01	
	62	162	96.89	0.97	573	101.58	1.02	1058	99.29	0.99	
	67	160	94.89	0.95	566	100.18	1.00	1084	101.89	1.02	
	64	162	96.89	0.97	569	100.78	1.01	1068	100.29	1.00	
Farklı Günler (3)	63	164	98.89	0.99	570	100.98	1.01	1071	100.59	1.01	
	66	174	108.89	1.09	569	100.78	1.01	1087	102.19	1.02	
	68	172	106.89	1.07	568	100.58	1.01	1083	101.79	1.02	
	62	172	106.89	1.07	579	102.78	1.03	1056	99.09	0.99	
	64	164	98.89	0.99	561	99.18	0.99	1056	99.09	0.99	
	66	169	103.89	1.04	565	99.98	1.00	1087	102.19	1.02	
F.G.Ort.	65.11	167.33	102.22	1.02	568.94	100.77	1.01	1071.94	100.68	1.01	
F.G.Std	2.374	4.982	4.982	0.050	6.430	1.286	0.013	11.507	1.151	0.012	
F.G.RSD	0.036	0.030	0.049	0.049	0.011	0.013	0.013	0.011	0.011	0.011	
Gen. Ort	65.25	167.08	101.83	1.02	569.25	100.80	1.01	1071.08	100.58	1.01	
Gen. Std	2.507	5.081	5.108	0.051	6.031	1.203	0.012	11.405	1.144	0.011	
Gen. RSD	0.038	0.030	0.050	0.050	0.011	0.012	0.012	0.011	0.011	0.011	
RSD (Pool)	0.025622774										

Ek 65. *p*-Kumarik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	%Ortalama Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Alma St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
<i>p</i> -Kumarik asit	100	1.02	5.08	0.051	0.030	24
	500	1.01	6.03	0.012	0.011	24
	1000	1.01	11.41	0.011	0.011	24
ort		1.01		0.025	0.017	n=72
					karakök n:	8.485281
					Standard belirsizlik:	0.002929

Ek 66. *p*-Kumarik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0256	0.0256
Gerçeklik	1.0107222	0.0029287	0.0028976
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0258
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0516

Ek 67. o-Kumarik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

o-Kumarik asit	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün	0	105	105.00	1.05	491	98.20	0.98	1014	101.40	1.01
	0	94	94.00	0.94	500	100.00	1.00	977	97.70	0.98
	0	93	93.00	0.93	491	98.20	0.98	978	97.80	0.98
	0	94	94.00	0.94	486	97.20	0.97	1017	101.70	1.02
	0	102	102.00	1.02	488	97.60	0.98	1015	101.50	1.02
	0	94	94.00	0.94	488	97.60	0.98	993	99.30	0.99
	0	97.00	97.00	0.97	490.67	98.13	0.98	999.00	99.90	1.00
	0	5.138	5.138	0.051	4.967	0.993	0.010	18.794	1.879	0.019
	0	0.053	0.053	0.053	0.010	0.010	0.010	0.019	0.019	0.019
	0	98	98.00	0.98	509	101.80	1.02	986	98.60	0.99
Farklı Günler (1)	0	96	96.00	0.96	509	101.80	1.02	1004	100.40	1.00
	0	102	102.00	1.02	485	97.00	0.97	982	98.20	0.98
	0	100	100.00	1.00	485	97.00	0.97	982	98.20	0.98
	0	102	102.00	1.02	493	98.60	0.99	1002	100.20	1.00
	0	101	101.00	1.01	505	101.00	1.01	975	97.50	0.98
Farklı Günler (2)	0	92	92.00	0.92	488	97.60	0.98	999	99.90	1.00
	0	92	92.00	0.92	490	98.00	0.98	1020	102.00	1.02
	0	92	92.00	0.92	486	97.20	0.97	986	98.60	0.99
	0	94	94.00	0.94	495	99.00	0.99	986	98.60	0.99
	0	96	96.00	0.96	500	100.00	1.00	1019	101.90	1.02
Farklı Günler (3)	0	101	101.00	1.01	488	97.60	0.98	1000	100.00	1.00
	0	94	94.00	0.94	503	100.60	1.01	989	98.90	0.99
	0	101	101.00	1.01	507	101.40	1.01	983	98.30	0.98
	0	102	102.00	1.02	502	100.40	1.00	1019	101.90	1.02
	0	96	96.00	0.96	504	100.80	1.01	1019	101.90	1.02
Farklı Günler (4)	0	100	100.00	1.00	503	100.60	1.01	1001	100.10	1.00
	0	107	107.00	1.07	485	97.00	0.97	1007	100.70	1.01
	0	98.11	98.11	0.98	496.50	99.30	0.99	997.72	99.77	1.00
	0	4.310	4.310	0.043	9.031	1.806	0.018	14.816	1.482	0.015
	0	0.044	0.044	0.044	0.018	0.018	0.018	0.015	0.015	0.015
Gen. Ort	0	97.83	97.83	0.98	495.04	99.01	0.99	998.04	99.80	1.00
Gen. Std	0	4.440	4.440	0.044	8.503	1.701	0.017	15.471	1.547	0.015
Gen. RSD	0	0.045	0.045	0.045	0.017	0.017	0.017	0.016	0.016	0.016
RSD (Pool)	0.025468619									

Ek 68. o-Kumarik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	%Ortalama Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
o-Kumarik asit	100	0.98	4.44	0.044	0.045	24
	500	0.99	8.50	0.017	0.017	24
	1000	1.00	15.47	0.015	0.016	24
ort		0.99		0.026	0.026	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0030199

Ek 69. o-Kumarik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0255	0.0255
Gerçeklik	0.988819444	0.003019861	0.003054006
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0257
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0513

Ek 70. Gallik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Gallik asit	Spike Yok	Düşük spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (10000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün	0	518	103.60	1.04	4971	99.42	0.99	9890	98.90	0.99
	0	510	102.00	1.02	4958	99.16	0.99	9864	98.64	0.99
	0	499	99.80	1.00	5069	101.38	1.01	9875	98.75	0.99
	0	499	99.80	1.00	4941	98.82	0.99	10135	101.35	1.01
	0	509	101.80	1.02	5062	101.24	1.01	9867	98.67	0.99
	0	481	96.20	0.96	5004	100.08	1.00	10046	100.46	1.00
	Ort.	502.67	100.53	1.01	5000.83	100.02	1.00	9946.17	99.46	0.99
Std	0	12.848	2.570	0.026	54.227	1.085	0.011	115.640	1.156	0.012
RSD	0	0.026	0.026	0.026	0.011	0.011	0.011	0.012	0.012	0.012
Farklı Günler (1)	0	517	103.40	1.03	5053	101.06	1.01	10155	101.55	1.02
	0	514	102.80	1.03	5026	100.52	1.01	10077	100.77	1.01
	0	500	100.00	1.00	4947	98.94	0.99	10118	101.18	1.01
	0	512	102.40	1.02	5083	101.66	1.02	9979	99.79	1.00
	0	490	98.00	0.98	4914	98.28	0.98	10113	101.13	1.01
	0	505	101.00	1.01	5000	100.00	1.00	10117	101.17	1.01
	0	484	96.80	0.97	4948	98.96	0.99	10064	100.64	1.01
Farklı Günler (2)	0	510	102.00	1.02	5048	100.96	1.01	10191	101.91	1.02
	0	481	96.20	0.96	4984	99.68	1.00	10021	100.21	1.00
	0	487	97.40	0.97	4982	99.64	1.00	10052	100.52	1.01
	0	507	101.40	1.01	5027	100.54	1.01	10026	100.26	1.00
	0	516	103.20	1.03	5060	101.20	1.01	10198	101.98	1.02
	0	495	99.00	0.99	4987	99.74	1.00	10104	101.04	1.01
	0	509	101.80	1.02	4969	99.38	0.99	10181	101.81	1.02
Farklı Günler (3)	0	498	99.60	1.00	4977	99.54	1.00	9919	99.19	0.99
	0	515	103.00	1.03	4938	98.76	0.99	9853	98.53	0.99
	0	513	102.60	1.03	5062	101.24	1.01	9950	99.50	1.00
	0	516	103.20	1.03	4946	98.92	0.99	10050	100.50	1.01
	F.G.Ort.	503.83	100.77	1.01	4997.28	99.95	1.00	10064.89	100.65	1.01
	F.G.Std	11.982	2.396	0.024	50.074	1.001	0.010	95.590	0.956	0.010
	F.G.RSD	0.024	0.024	0.024	0.010	0.010	0.010	0.009	0.009	0.009
Gen. Ort	0	503.54	100.71	1.01	4998.17	99.96	1.00	10035.21	100.35	1.00
Gen. Std	0	11.927	2.385	0.024	49.950	0.999	0.010	111.438	1.114	0.011
Gen. RSD	0	0.024	0.024	0.024	0.010	0.010	0.010	0.011	0.011	0.011
RSD (Pool)	0.014002222									

Ek 71. Gallik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	Ortalama % Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	500	1.01	11.93	0.024	0.024	24
Gallik asit	5000	1.00	49.95	0.010	0.010	24
	10000	1.00	111.44	0.011	0.011	24
ort		1.00		0.015	0.015	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0017673

Ek 72. Gallik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığındayapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0140	0.0140
Gerçeklik	1.0034125	0.001767309	0.001761299
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0141
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0282

Ek 73. Kafeik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

	Kafeik asit	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün		266	374	112.67	1.13	762	100.13	1.00	1265	100.37	1.00
		252	369	107.67	1.08	767	101.13	1.01	1238	97.67	0.98
		259	359	97.67	0.98	767	101.13	1.01	1271	100.97	1.01
		268	355	93.67	0.94	769	101.53	1.02	1247	98.57	0.99
		258	356	94.67	0.95	755	98.73	0.99	1246	98.47	0.98
		265	372	110.67	1.11	757	99.13	0.99	1278	101.67	1.02
	Ort.	261.33	364.17	102.83	1.03	762.83	100.30	1.00	1257.50	99.62	1.00
Std		6.055	8.472	8.472	0.085	5.811	1.162	0.012	16.009	1.601	0.016
RSD		0.023	0.023	0.082	0.082	0.008	0.012	0.012	0.013	0.016	0.016
Farklı Günler (1)		265	358	94.06	0.94	763	99.81	1.00	1254	99.01	0.99
		270	368	104.06	1.04	751	97.41	0.97	1234	97.01	0.97
		258	361	97.06	0.97	764	100.01	1.00	1273	100.91	1.01
		268	362	98.06	0.98	753	97.81	0.98	1279	101.51	1.02
		271	356	92.06	0.92	752	97.61	0.98	1274	101.01	1.01
		270	369	105.06	1.05	752	97.61	0.98	1253	98.91	0.99
		269	372	108.06	1.08	772	101.61	1.02	1271	100.71	1.01
Farklı Günler (2)		267	365	101.06	1.01	771	101.41	1.01	1267	100.31	1.00
		263	357	93.06	0.93	752	97.61	0.98	1240	97.61	0.98
		263	351	87.06	0.87	774	102.01	1.02	1263	99.91	1.00
		258	372	108.06	1.08	775	102.21	1.02	1248	98.41	0.98
		264	372	108.06	1.08	753	97.81	0.98	1252	98.81	0.99
		266	352	88.06	0.88	758	98.81	0.99	1259	99.51	1.00
		262	354	90.06	0.90	768	100.81	1.01	1250	98.61	0.99
Farklı Günler (3)		260	371	107.06	1.07	775	102.21	1.02	1280	101.61	1.02
		257	358	94.06	0.94	764	100.01	1.00	1272	100.81	1.01
		251	352	88.06	0.88	764	100.01	1.00	1255	99.11	0.99
		269	351	87.06	0.87	755	98.21	0.98	1263	99.91	1.00
F.G.Ort.		263.94	361.17	97.22	0.97	762.00	99.61	1.00	1260.39	99.64	1.00
F.G.Std		5.493	7.906	7.906	0.079	8.944	1.789	0.018	13.174	1.317	0.013
F.G.RSD		0.021	0.022	0.081	0.081	0.012	0.018	0.018	0.010	0.013	0.013
Gen. Ort		263.29	361.92	98.63	0.99	762.21	99.78	1.00	1259.67	99.64	1.00
Gen. Std		5.622	7.972	8.244	0.082	8.161	1.659	0.017	13.624	1.356	0.014
Gen. RSD		0.021	0.022	0.084	0.084	0.011	0.017	0.017	0.011	0.014	0.014
RSD (Pool)		0.017123138									

Ek 74. Kafeik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K.Çal. (mg/L)	Ortalama % Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	100	0.99	7.97	0.082	0.022	24
Kafeik asit	500	1.00	8.16	0.017	0.011	24
	1000	1.00	13.62	0.014	0.011	24
ort		0.99		0.038	0.015	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0044229

Ek 75. Kafeik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0171	0.0171
Gerçeklik	0.99348611	0.004422921	0.004451921
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0177
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0354

Ek 76. Vanilik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Vanilik asit	Spike yok	Düşük spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (10000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün	93	1088	99.50	1.00	5065	99.44	0.99	10093	100.00	1.00
	88	1088	99.50	1.00	5075	99.64	1.00	10125	100.32	1.00
	87	1099	100.60	1.01	5149	101.12	1.01	10131	100.38	1.00
	97	1096	100.30	1.00	5100	100.14	1.00	10076	99.83	1.00
	99	1100	100.70	1.01	5063	99.40	0.99	10080	99.87	1.00
	94	1099	100.60	1.01	5137	100.88	1.01	10038	99.45	0.99
	93.00	1095.00	100.20	1.00	5098.17	100.10	1.00	10090.50	99.98	1.00
Ort.	4.775	5.586	0.559	0.006	37.333	0.747	0.007	34.390	0.344	0.003
Std	0.051	0.005	0.006	0.006	0.007	0.007	0.007	0.003	0.003	0.003
RSD	100	1100	110.00	1.10	5114	102.28	1.02	10097	100.97	1.01
Farklı Günler (1)	97	1092	109.20	1.09	5134	102.68	1.03	10199	101.99	1.02
	92	1092	109.20	1.09	5068	101.36	1.01	10159	101.59	1.02
	94	1089	108.90	1.09	5059	101.18	1.01	10025	100.25	1.00
	86	1093	109.30	1.09	5104	102.08	1.02	10147	101.47	1.01
	98	1086	108.60	1.09	5136	102.72	1.03	10165	101.65	1.02
	85	1080	108.00	1.08	5109	102.18	1.02	10176	101.76	1.02
Farklı Günler (2)	95	1080	108.00	1.08	5136	102.72	1.03	10063	100.63	1.01
	93	1085	108.50	1.09	5063	101.26	1.01	10177	101.77	1.02
	93	1081	108.10	1.08	5145	102.90	1.03	10161	101.61	1.02
	90	1098	109.80	1.10	5055	101.10	1.01	10102	101.02	1.01
	87	1082	108.20	1.08	5110	102.20	1.02	10174	101.74	1.02
Farklı Günler (3)	90	1098	109.80	1.10	5055	101.10	1.01	10020	100.20	1.00
	94	1083	108.30	1.08	5149	102.98	1.03	10106	101.06	1.01
	98	1096	109.60	1.10	5149	102.98	1.03	10087	100.87	1.01
	91	1092	109.20	1.09	5060	101.20	1.01	10123	101.23	1.01
	87	1082	108.20	1.08	5114	102.28	1.02	10178	101.78	1.02
	86	1091	109.10	1.09	5147	102.94	1.03	10142	101.42	1.01
F.G.Ort.	92.00	1088.89	108.89	1.09	5105.94	102.12	1.02	10127.83	101.28	1.01
F.G.Std	4.602	6.703	0.670	0.007	36.349	0.727	0.007	53.502	0.535	0.005
F.G.RSD	0.050	0.006	0.006	0.006	0.007	0.007	0.007	0.005	0.005	0.005
Gen. Ort	92.25	1090.42	106.72	1.07	5104.00	101.62	1.02	10118.50	100.95	1.01
Gen. Std	4.561	6.877	3.895	0.039	35.936	1.143	0.011	51.435	0.755	0.008
Gen. RSD	0.049	0.006	0.036	0.036	0.007	0.011	0.011	0.005	0.007	0.007
RSD (Pool)	0.025297562									

Ek 77. Vanilik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	%Ortalama Geri Kazanım	Analiz Son.st.Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Vanilik asit	1000	1.07	6.88	0.039	0.006	24
	5000	1.02	35.94	0.011	0.007	24
	10000	1.01	51.44	0.008	0.005	24
ort		1.03		0.019	0.006	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0022756

Ek 78. Vanilik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0253	0.0253
Gerçeklik	1.030947222	0.002275639	0.002207328
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0254
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0508

Ek 79. Salisilik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Salisilik asit	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Ort.	190	301	105.00	1.05	695	99.80	1.00	1190	99.40	0.99
	207	304	108.00	1.08	704	101.60	1.02	1184	98.80	0.99
	192	296	100.00	1.00	706	102.00	1.02	1205	100.90	1.01
	196	295	99.00	0.99	698	100.40	1.00	1208	101.20	1.01
	195	294	98.00	0.98	699	100.60	1.01	1198	100.20	1.00
	196	301	105.00	1.05	696	100.00	1.00	1175	97.90	0.98
	196.00	298.50	102.50	1.03	699.67	100.73	1.01	1193.33	99.73	1.00
Std	5.899	4.037	4.037	0.040	4.412	0.882	0.009	12.707	1.271	0.013
RSD	0.030	0.014	0.039	0.039	0.006	0.009	0.009	0.011	0.013	0.013
Farklı Gün	202	300	98.56	0.99	706	100.91	1.01	1201	99.96	1.00
	198	292	90.56	0.91	695	98.71	0.99	1186	98.46	0.98
	202	300	98.56	0.99	697	99.11	0.99	1215	101.36	1.01
	198	307	105.56	1.06	698	99.31	0.99	1194	99.26	0.99
	201	292	90.56	0.91	693	98.31	0.98	1213	101.16	1.01
	202	296	94.56	0.95	695	98.71	0.99	1181	97.96	0.98
	204	306	104.56	1.05	696	98.91	0.99	1209	100.76	1.01
Farklı Günler (1)	206	306	104.56	1.05	694	98.51	0.99	1188	98.66	0.99
	201	296	94.56	0.95	707	101.11	1.01	1217	101.56	1.02
	201	297	95.56	0.96	709	101.51	1.02	1208	100.66	1.01
	205	307	105.56	1.06	690	97.71	0.98	1198	99.66	1.00
	205	293	91.56	0.92	704	100.51	1.01	1217	101.56	1.02
	207	305	103.56	1.04	708	101.31	1.01	1200	99.86	1.00
	195	302	100.56	1.01	700	99.71	1.00	1180	97.86	0.98
Farklı Günler (2)	193	297	95.56	0.96	699	99.51	1.00	1220	101.86	1.02
	203	299	97.56	0.98	696	98.91	0.99	1198	99.66	1.00
	201	291	89.56	0.90	691	97.91	0.98	1199	99.76	1.00
	202	296	94.56	0.95	696	98.91	0.99	1213	101.16	1.01
	F.G.Ort.	201.44	299.00	97.56	0.98	698.56	99.42	1202.06	100.06	1.00
	F.G.Std	3.634	5.456	5.456	0.055	5.873	1.175	12.735	1.273	0.013
	F.G.RSD	0.018	0.018	0.056	0.056	0.008	0.012	0.011	0.013	0.013
Gen. Ort	200.08	298.88	98.79	0.99	698.83	99.75	1.00	1199.88	99.98	1.00
Gen. Std	4.809	5.059	5.507	0.055	5.475	1.235	0.012	13.033	1.253	0.013
Gen. RSD	0.024	0.017	0.056	0.056	0.008	0.012	0.012	0.011	0.013	0.013
RSD (Pool)										
0.016151245										

Ek 80. Salisilik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	%Ortalama Geri Kazanım	Analiz Son. St.Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	100	0.99	5.06	0.055	0.017	24
Salisilik asit	500	1.00	5.47	0.012	0.008	24
	1000	1.00	13.03	0.013	0.011	24
ort		1.00		0.027	0.012	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0031409

Ek 81. Salisilik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0162	0.0162
Gerçeklik	0.9950694	0.003140874	0.003156437
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0165
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0329

Ek 82. Kinik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Kinik asit	Spike Yok	Düşük spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (10000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
	15627	16144	98.37	0.98	20601	98.98	0.99	25732	100.80	1.01
	15686	16145	98.57	0.99	20587	98.70	0.99	25660	100.08	1.00
	15693	16187	106.97	1.07	20720	101.36	1.01	25796	101.44	1.01
	15628	16114	92.37	0.92	20692	100.80	1.01	25582	99.30	0.99
	15677	16160	101.57	1.02	20607	99.10	0.99	25769	101.17	1.01
	15602	16186	106.77	1.07	20614	99.24	0.99	25616	99.64	1.00
	15652.17	16156.00	100.77	1.01	20636.83	99.69	1.00	25692.50	100.40	1.00
Ort.										
Std	37.849	27.950	5.590	0.056	55.025	1.101	0.011	86.306	0.863	0.009
RSD	0.002	0.002	0.055	0.055	0.003	0.011	0.011	0.003	0.009	0.009
	15666	16129	93.23	0.93	20614	99.02	0.99	25504	98.41	0.98
	15655	16139	95.23	0.95	20646	99.66	1.00	25523	98.60	0.99
	15605	16114	90.23	0.90	20611	98.96	0.99	25537	98.74	0.99
	15704	16135	94.43	0.94	20587	98.48	0.98	25621	99.58	1.00
	15709	16160	99.43	0.99	20590	98.54	0.99	25689	100.26	1.00
	15691	16127	92.83	0.93	20706	100.86	1.01	25682	100.19	1.00
	15674	16180	103.43	1.03	20588	98.50	0.99	25795	101.32	1.01
	15666	16150	97.43	0.97	20628	99.30	0.99	25559	98.96	0.99
	15604	16136	94.63	0.95	20738	101.50	1.02	25689	100.26	1.00
	15688	16178	103.03	1.03	20667	100.08	1.00	25790	101.27	1.01
	15703	16117	90.83	0.91	20574	98.22	0.98	25719	100.56	1.01
	15649	16180	103.43	1.03	20587	98.48	0.98	25710	100.47	1.00
	15689	16197	106.83	1.07	20720	101.14	1.01	25576	99.13	0.99
	15694	16169	101.23	1.01	20671	100.16	1.00	25501	98.38	0.98
	15639	16109	89.23	0.89	20718	101.10	1.01	25696	100.33	1.00
	15628	16181	103.63	1.04	20677	100.28	1.00	25503	98.40	0.98
	15609	16149	97.23	0.97	20702	100.78	1.01	25603	99.40	0.99
	15658	16115	90.43	0.90	20619	99.12	0.99	25532	98.69	0.99
F.G.Ort.	15662.83	16148.06	97.04	0.97	20646.83	99.68	1.00	25623.83	99.61	1.00
F.G.Std	34.665	27.601	5.520	0.055	54.136	1.083	0.011	99.291	0.993	0.010
F.G.RSD	0.002	0.002	0.057	0.057	0.003	0.011	0.011	0.004	0.010	0.010
Gen. Ort	15660.17	16150.04	97.98	0.98	20644.33	99.68	1.00	25641.00	99.81	1.00
Gen. Std	34.955	27.299	5.659	0.057	53.329	1.063	0.011	99.140	1.007	0.010
Gen. RSD	0.002	0.002	0.058	0.058	0.003	0.011	0.011	0.004	0.010	0.010
RSD (Pool)		0.002713956								

Ek 83. Kinik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	%Ortalama Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	500	0.98	27.30	0.057	0.002	24
Kinik asit	5000	1.00	53.33	0.011	0.003	24
	10000	1.00	99.14	0.010	0.004	24
ort		0.99		0.026	0.003	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0030362

Ek 84. Kinik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0027	0.0027
Gerçeklik	0.9915556	0.00303625	0.003062107
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0041
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0082

Ek 85. 4-OH-benzoik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

p-OH benzoik- asit	Spike yok	Düşük spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (10000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Ort.	0	495	99.00	0.99	4998	99.96	1.00	10124	101.24	1.01
	0	498	99.60	1.00	4940	98.80	0.99	9860	98.60	0.99
	0	503	100.60	1.01	4939	98.78	0.99	10102	101.02	1.01
	0	511	102.20	1.02	4920	98.40	0.98	10092	100.92	1.01
	0	482	96.40	0.96	4981	99.62	1.00	9995	99.95	1.00
	0	488	97.60	0.98	5014	100.28	1.00	10094	100.94	1.01
	0	496.17	99.23	0.99	4965.33	99.31	0.99	10044.50	100.45	1.00
	0	10.381	2.076	0.021	37.607	0.752	0.008	100.820	1.008	0.010
	0	0.021	0.021	0.021	0.008	0.008	0.008	0.010	0.010	0.010
	0	515	103.00	1.03	4915	98.30	0.98	10146	101.46	1.01
Std	0	518	103.60	1.04	5030	100.60	1.01	9997	99.97	1.00
	0	517	103.40	1.03	5009	100.18	1.00	9888	98.88	0.99
	0	485	97.00	0.97	5000	100.00	1.00	10128	101.28	1.01
	0	489	97.80	0.98	5042	100.84	1.01	10041	100.41	1.00
	0	492	98.40	0.98	4991	99.82	1.00	9858	98.58	0.99
	0	482	96.40	0.96	5044	100.88	1.01	10142	101.42	1.01
	0	513	102.60	1.03	4981	99.62	1.00	9868	98.68	0.99
	0	482	96.40	0.96	5032	100.64	1.01	9863	98.63	0.99
	0	516	103.20	1.03	4926	98.52	0.99	10096	100.96	1.01
	0	505	101.00	1.01	4978	99.56	1.00	9859	98.59	0.99
RSD	0	483	96.60	0.97	5039	100.78	1.01	9990	99.90	1.00
	0	491	98.20	0.98	4915	98.30	0.98	10100	101.00	1.01
	0	500	100.00	1.00	5003	100.06	1.00	9924	99.24	0.99
	0	505	101.00	1.01	5010	100.20	1.00	9941	99.41	0.99
	0	509	101.80	1.02	5036	100.72	1.01	10002	100.02	1.00
	0	507	101.40	1.01	4948	98.96	0.99	10041	100.41	1.00
	0	511	102.20	1.02	5057	101.14	1.01	10116	101.16	1.01
	0	501.11	100.22	1.00	4997.56	99.95	1.00	10000.00	100.00	1.00
	0	13.217	2.643	0.026	45.587	0.912	0.009	106.288	1.063	0.011
	0	0.026	0.026	0.026	0.009	0.009	0.009	0.011	0.011	0.011
Gen. Ort	0	499.88	99.98	1.00	4989.50	99.79	1.00	10011.13	100.11	1.00
Gen. Std	0	12.543	2.509	0.025	45.239	0.905	0.009	104.629	1.046	0.010
Gen. RSD	0	0.025	0.025	0.025	0.009	0.009	0.009	0.010	0.010	0.010
RSD (Pool)		0.014327234								

Ek 86. 4-OH-benzoik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G.K.Çal. (mg/L)	%Ortalama Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	500	1.00	12.54	0.025	0.025	24
4 OH benzoik asit	5000	1.00	45.24	0.009	0.009	24
	10000	1.00	104.63	0.010	0.010	24
ort		1.00		0.015	0.015	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0017519

Ek 87. 4-OH-benzoik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0143	0.0143
Gerçeklik	0.9995875	0.001751941	0.001752664
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0144
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0289

Ek 88. Ferulik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

	Ferulik asit	Spike Yok	Düşük spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (10000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün		133	630	99.87	1.00	5186	101.11	1.01	10201	100.70	1.01
		127	624	98.67	0.99	5106	99.51	1.00	10163	100.32	1.00
		125	623	98.47	0.98	5129	99.97	1.00	10121	99.90	1.00
		132	623	98.47	0.98	5179	100.97	1.01	10095	99.64	1.00
		130	639	101.67	1.02	5140	100.19	1.00	10121	99.90	1.00
		137	634	100.67	1.01	5104	99.47	0.99	10159	100.28	1.00
	Ort.	130.67	628.83	99.63	1.00	5140.67	100.20	1.00	10143.33	100.13	1.00
Std		4.320	6.676	1.335	0.013	35.234	0.705	0.007	38.187	0.382	0.004
RSD		0.033	0.011	0.013	0.013	0.007	0.007	0.007	0.004	0.004	0.004
Farklı Günler (1)		137	640	102.33	1.02	5100	99.43	0.99	10159	100.31	1.00
		123	629	100.13	1.00	5188	101.19	1.01	10129	100.01	1.00
		127	635	101.33	1.01	5141	100.25	1.00	10193	100.65	1.01
		124	620	98.33	0.98	5120	99.83	1.00	10124	99.96	1.00
		133	632	100.73	1.01	5163	100.69	1.01	10214	100.86	1.01
		125	624	99.13	0.99	5189	101.21	1.01	10220	100.92	1.01
		125	623	98.93	0.99	5194	101.31	1.01	10133	100.05	1.00
Farklı Günler (2)		138	631	100.53	1.01	5198	101.39	1.01	10194	100.66	1.01
		136	622	98.73	0.99	5159	100.61	1.01	10130	100.02	1.00
		122	622	98.73	0.99	5162	100.67	1.01	10218	100.90	1.01
		120	631	100.53	1.01	5129	100.01	1.00	10179	100.51	1.01
		138	625	99.33	0.99	5136	100.15	1.00	10148	100.20	1.00
		132	632	100.73	1.01	5137	100.17	1.00	10202	100.74	1.01
		125	628	99.93	1.00	5155	100.53	1.01	10181	100.53	1.01
Farklı Günler (3)		137	626	99.53	1.00	5130	100.03	1.00	10217	100.89	1.01
		128	630	100.33	1.00	5110	99.63	1.00	10107	99.79	1.00
		120	634	101.13	1.01	5194	101.31	1.01	10176	100.48	1.00
		120	621	98.53	0.99	5169	100.81	1.01	10116	99.88	1.00
	F.G.Ort.	128.33	628.06	99.94	1.00	5154.11	100.52	1.01	10168.89	100.41	1.00
	F.G.Std	6.695	5.546	1.109	0.011	30.586	0.612	0.006	38.768	0.388	0.004
	F.G.RSD	0.052	0.009	0.011	0.011	0.006	0.006	0.006	0.004	0.004	0.004
Gen. Ort		128.92	628.25	99.87	1.00	5150.75	100.44	1.00	10162.50	100.34	1.00
Gen. Std		6.185	5.705	1.147	0.011	31.571	0.636	0.006	39.442	0.397	0.004
Gen. RSD		0.048	0.009	0.011	0.011	0.006	0.006	0.006	0.004	0.004	0.004
RSD (Pool)		0.024682048									

Ek 89. Ferulik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	%Ortalama Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	500	1.00	5.70	0.011	0.009	24
Ferulik asit	5000	1.00	31.57	0.006	0.006	24
	10000	1.00	39.44	0.004	0.004	24
ort		1.00		0.007	0.006	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0008565

Ek 90. Ferulik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0247	0.0247
Gerçeklik	1.002130556	0.000856492	0.000854671
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0247
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0494

Ek 91. Klorojenik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

	Klorojenik asit	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	
Ort.	Aynı Gün	12436	12525	95.00	0.95	12923	98.60	0.99	13448	101.80	1.02	
		12437	12529	99.00	0.99	12937	101.40	1.01	13453	102.30	1.02	
		12422	12540	110.00	1.10	12926	99.20	0.99	13452	102.20	1.02	
		12432	12529	99.00	0.99	12937	101.40	1.01	13448	101.80	1.02	
		12428	12521	91.00	0.91	12940	102.00	1.02	13431	100.10	1.00	
		12425	12537	107.00	1.07	12938	101.60	1.02	13441	101.10	1.01	
		12430.00	12530.17	100.17	1.00	12933.50	100.70	1.01	13445.50	101.55	1.02	
		Std	6.033	7.167	7.167	0.072	7.120	1.424	0.014	8.264	0.826	0.008
		RSD	0.000	0.001	0.072	0.072	0.001	0.014	0.014	0.001	0.008	0.008
			12439	12521	91.22	0.91	12921	98.24	0.98	13444	101.42	1.01
Farklı Günler (1)	12439	12534	104.22	1.04	12929	99.84	1.00	13428	99.82	1.00		
	12434	12526	96.22	0.96	12920	98.04	0.98	13419	98.92	0.99		
	12424	12523	93.22	0.93	12922	98.44	0.98	13406	97.62	0.98		
	12426	12538	108.22	1.08	12921	98.24	0.98	13401	97.12	0.97		
	12420	12532	102.22	1.02	12948	103.64	1.04	13452	102.22	1.02		
	12422	12535	105.22	1.05	12927	99.44	0.99	13443	101.32	1.01		
Farklı Günler (2)	12432	12526	96.22	0.96	12938	101.64	1.02	13442	101.22	1.01		
	12433	12528	98.22	0.98	12923	98.64	0.99	13436	100.62	1.01		
	12424	12525	95.22	0.95	12932	100.44	1.00	13452	102.22	1.02		
	12433	12526	96.22	0.96	12932	100.44	1.00	13415	98.52	0.99		
	12434	12536	106.22	1.06	12930	100.04	1.00	13418	98.82	0.99		
	12423	12529	99.22	0.99	12941	102.24	1.02	13420	99.02	0.99		
Farklı Günler (3)	12437	12522	92.22	0.92	12935	101.04	1.01	13430	100.02	1.00		
	12427	12529	99.22	0.99	12936	101.24	1.01	13460	103.02	1.03		
	12424	12530	100.22	1.00	12933	100.64	1.01	13440	101.02	1.01		
	12433	12533	103.22	1.03	12939	101.84	1.02	13420	99.02	0.99		
	12432	12531	101.22	1.01	12946	103.24	1.03	13437	100.72	1.01		
	F.G.Ort.	12429.78	12529.11	99.33	0.99	12931.83	100.41	1.00	13431.28	100.15	1.00	
F.G.Std	6.054	4.934	4.934	0.049	8.570	1.714	0.017	16.527	1.653	0.017		
F.G.RSD	0.000	0.000	0.050	0.050	0.001	0.017	0.017	0.001	0.017	0.017		
Gen. Ort	12429.83	12529.38	99.54	1.00	12932.25	100.48	1.00	13434.83	100.50	1.01		
Gen. Std	5.917	5.420	5.412	0.054	8.115	1.621	0.016	16.010	1.597	0.016		
Gen. RSD	0.000	0.000	0.054	0.054	0.001	0.016	0.016	0.001	0.016	0.016		
RSD (Pool)		0.000746251										

Ek 92. Klorojenik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	Ortalama % Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Klorojenik asit	100	0.9954	5.4199	0.0541	0.0004	24
	500	1.0048	8.1147	0.0162	0.0006	24
	1000	1.0050	16.0100	0.0160	0.0012	24
ort		1.0018		0.0288	0.0008	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0033905

Ek 93. Klorojenik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0007	0.0007
Gerçeklik	1.00175	0.003390465	0.003384542
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0035
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0069

Ek 94. Rozmarinik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Rozmarinik asit	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	
Ort.	Aynı Gün	77	174	97.50	0.98	1083	100.65	1.01	5087	100.21	1.00
		78	184	107.50	1.08	1080	100.35	1.00	5112	100.71	1.01
		76	179	102.50	1.03	1064	98.75	0.99	5119	100.85	1.01
		79	171	94.50	0.95	1065	98.85	0.99	5074	99.95	1.00
		76	168	91.50	0.92	1103	102.65	1.03	5133	101.13	1.01
		73	165	88.50	0.89	1061	98.45	0.98	5134	101.15	1.01
	76.50	173.50	97.00	0.97	1076.00	99.95	1.00	5109.83	100.67	1.01	
	Std	2.074	7.064	7.064	0.071	16.025	1.602	0.016	24.555	0.491	0.005
	RSD	0.027	0.041	0.073	0.073	0.015	0.016	0.016	0.005	0.005	0.005
	Farklı Günler (1)	72	174	102.61	1.03	1089	101.76	1.02	5055	99.67	1.00
76		189	117.61	1.18	1050	97.86	0.98	5096	100.49	1.00	
65		184	112.61	1.13	1066	99.46	0.99	5055	99.67	1.00	
73		176	104.61	1.05	1061	98.96	0.99	5108	100.73	1.01	
66		181	109.61	1.10	1103	103.16	1.03	5143	101.43	1.01	
67		175	103.61	1.04	1086	101.46	1.01	5096	100.49	1.00	
72		170	98.61	0.99	1104	103.26	1.03	5137	101.31	1.01	
70		186	114.61	1.15	1064	99.26	0.99	5146	101.49	1.01	
73		186	114.61	1.15	1063	99.16	0.99	5124	101.05	1.01	
68		185	113.61	1.14	1084	101.26	1.01	5050	99.57	1.00	
Farklı Günler (2)	79	185	113.61	1.14	1073	100.16	1.00	5070	99.97	1.00	
	76	187	115.61	1.16	1073	100.16	1.00	5101	100.59	1.01	
	73	182	110.61	1.11	1057	98.56	0.99	5057	99.71	1.00	
	66	178	106.61	1.07	1070	99.86	1.00	5050	99.57	1.00	
	73	173	101.61	1.02	1088	101.66	1.02	5146	101.49	1.01	
	76	176	104.61	1.05	1063	99.16	0.99	5063	99.83	1.00	
	69	186	114.61	1.15	1083	101.16	1.01	5115	100.87	1.01	
	71	182	110.61	1.11	1081	100.96	1.01	5071	99.99	1.00	
	F.G.Ort.	71.39	180.83	109.44	1.09	1075.44	100.41	1.00	5093.50	100.44	1.00
	F.G.Std	3.987	5.670	5.670	0.057	15.256	1.526	0.015	35.642	0.713	0.007
F.G.RSD	0.056	0.031	0.052	0.052	0.014	0.015	0.015	0.007	0.007	0.007	
Gen. Ort	72.67	179.00	106.33	1.06	1075.58	100.29	1.00	5097.58	100.50	1.00	
Gen. Std	4.219	6.718	8.057	0.081	15.097	1.523	0.015	33.500	0.662	0.007	
Gen. RSD	0.058	0.038	0.076	0.076	0.014	0.015	0.015	0.007	0.007	0.007	
RSD (Pool)	0.035422765										

Ek 95. Rozmarinik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	Ortalama % Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Rozmarinik asit	100	1.0633	6.7179	0.0806	0.0375	24
	1000	1.0029	15.0965	0.0152	0.0140	24
	5000	1.0050	33.5001	0.0066	0.0066	24
ort		1.0237		0.0341	0.0194	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0040231

Ek 96. Rozmarinik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0354	0.0354
Gerçeklik	1.0237444	0.004023097	0.003929786
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0356
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0713

Ek 97. Protokatesik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Protokatesik asit	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Ort.	195	289	91.00	0.91	1207	100.90	1.01	5150	99.04	0.99
	196	302	104.00	1.04	1197	99.90	1.00	5224	100.52	1.01
	205	302	104.00	1.04	1196	99.80	1.00	5177	99.58	1.00
	201	303	105.00	1.05	1192	99.40	0.99	5167	99.38	0.99
	191	288	90.00	0.90	1178	98.00	0.98	5220	100.44	1.00
	200	297	99.00	0.99	1188	99.00	0.99	5214	100.32	1.00
	198.00	296.83	98.83	0.99	1193.00	99.50	1.00	5192.00	99.88	1.00
	4.980	6.795	6.795	0.068	9.716	0.972	0.010	31.324	0.626	0.006
	0.025	0.023	0.069	0.069	0.008	0.010	0.010	0.006	0.006	0.006
	191	305	112.50	1.13	1190	99.75	1.00	5215	100.45	1.00
Farklı Günler (1)	190	286	93.50	0.94	1202	100.95	1.01	5193	100.01	1.00
	193	300	107.50	1.08	1185	99.25	0.99	5206	100.27	1.00
	189	301	108.50	1.09	1194	100.15	1.00	5173	99.61	1.00
	201	300	107.50	1.08	1202	100.95	1.01	5164	99.43	0.99
	189	294	101.50	1.02	1215	102.25	1.02	5151	99.17	0.99
	196	299	106.50	1.07	1179	98.65	0.99	5157	99.29	0.99
Farklı Günler (2)	186	299	106.50	1.07	1199	100.65	1.01	5203	100.21	1.00
	201	285	92.50	0.93	1198	100.55	1.01	5213	100.41	1.00
	194	304	111.50	1.12	1207	101.45	1.01	5195	100.05	1.00
	190	291	98.50	0.99	1189	99.65	1.00	5225	100.65	1.01
	192	284	91.50	0.92	1180	98.75	0.99	5167	99.49	0.99
	187	303	110.50	1.11	1205	101.25	1.01	5193	100.01	1.00
Farklı Günler (3)	197	292	99.50	1.00	1197	100.45	1.00	5192	99.99	1.00
	204	286	93.50	0.94	1203	101.05	1.01	5216	100.47	1.00
	183	303	110.50	1.11	1179	98.65	0.99	5168	99.51	1.00
	195	284	91.50	0.92	1197	100.45	1.00	5206	100.27	1.00
	187	301	108.50	1.09	1204	101.15	1.01	5216	100.47	1.00
	192.50	295.39	102.89	1.03	1195.83	100.33	1.00	5191.83	99.99	1.00
F.G.Std	5.691	7.632	7.632	0.076	10.308	1.031	0.010	22.992	0.460	0.005
F.G.RSD	0.030	0.026	0.074	0.074	0.009	0.010	0.010	0.004	0.005	0.005
Gen. Ort	193.88	295.75	101.88	1.02	1195.13	100.13	1.00	5191.88	99.96	1.00
Gen. Std	5.937	7.314	7.504	0.075	10.032	1.061	0.011	24.577	0.494	0.005
Gen. RSD	0.031	0.025	0.074	0.074	0.008	0.011	0.011	0.005	0.005	0.005
RSD (Pool)	0.020261936									

Ek 98. Protokateşik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	Ortalama % Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Protokateşik asit	100	1.0188	7.3144	0.0750	0.0247	24
	1000	1.0013	10.0317	0.0106	0.0084	24
	5000	0.9996	24.5770	0.0049	0.0047	24
ort		1.0065		0.0302	0.0126	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0035588

Ek 99. Protokateşik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0203	0.0203
Gerçeklik	1.006533333	0.003558773	0.003535674
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0206
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0411

Ek 100. Sinnamik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Sinamik asit	Spike yok	Düşük spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (10000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (20000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün	0	4999	99.98	1.00	10046	100.46	1.00	20031	100.16	1.00
	0	5031	100.62	1.01	9882	98.82	0.99	20103	100.52	1.01
	0	5002	100.04	1.00	10090	100.90	1.01	20058	100.29	1.00
	0	4959	99.18	0.99	9971	99.71	1.00	20005	100.03	1.00
	0	5017	100.34	1.00	9904	99.04	0.99	19897	99.49	0.99
	0	4974	99.48	0.99	10135	101.35	1.01	20106	100.53	1.01
	0	4997.00	99.94	1.00	10004.67	100.05	1.00	20033.33	100.17	1.00
	0	26.676	0.534	0.005	102.266	1.023	0.010	77.637	0.388	0.004
	0	0.005	0.005	0.005	0.010	0.010	0.010	0.004	0.004	0.004
	0	4969	99.38	0.99	9971	99.71	1.00	19816	99.08	0.99
Farklı Günler (1)	0	4904	98.08	0.98	9940	99.40	0.99	19914	99.57	1.00
	0	5034	100.68	1.01	10139	101.39	1.01	20090	100.45	1.00
	0	4935	98.70	0.99	10131	101.31	1.01	19990	99.95	1.00
	0	5087	101.74	1.02	10069	100.69	1.01	20169	100.85	1.01
	0	4923	98.46	0.98	10010	100.10	1.00	20131	100.66	1.01
	0	4916	98.32	0.98	10117	101.17	1.01	20136	100.68	1.01
	0	5049	100.98	1.01	10081	100.81	1.01	19915	99.58	1.00
	0	4996	99.92	1.00	10037	100.37	1.00	20030	100.15	1.00
	0	4928	98.56	0.99	10103	101.03	1.01	20114	100.57	1.01
	0	4954	99.08	0.99	9863	98.63	0.99	20012	100.06	1.00
Farklı Günler (2)	0	4943	98.86	0.99	10113	101.13	1.01	20058	100.29	1.00
	0	4956	99.12	0.99	9965	99.65	1.00	19931	99.66	1.00
	0	4945	98.90	0.99	9877	98.77	0.99	20067	100.34	1.00
	0	4964	99.28	0.99	9934	99.34	0.99	19976	99.88	1.00
	0	4946	98.92	0.99	10043	100.43	1.00	20102	100.51	1.01
	0	5013	100.26	1.00	10141	101.41	1.01	20083	100.42	1.00
	0	4918	98.36	0.98	10120	101.20	1.01	19853	99.27	0.99
	0	4965.56	99.31	0.99	10036.33	100.36	1.00	20021.50	100.11	1.00
	0	50.752	1.015	0.010	91.596	0.916	0.009	102.529	0.513	0.005
	0	0.010	0.010	0.010	0.009	0.009	0.009	0.005	0.005	0.005
Farklı Günler (3)	0	4973.42	99.47	0.99	10028.42	100.28	1.00	20024.46	100.12	1.00
	0	47.455	0.949	0.009	93.118	0.931	0.009	95.434	0.477	0.005
	0	0.010	0.010	0.010	0.009	0.009	0.009	0.005	0.005	0.005
	0	4965.56	99.31	0.99	10036.33	100.36	1.00	20021.50	100.11	1.00
	0	50.752	1.015	0.010	91.596	0.916	0.009	102.529	0.513	0.005
	0	0.010	0.010	0.010	0.009	0.009	0.009	0.005	0.005	0.005
	0	4973.42	99.47	0.99	10028.42	100.28	1.00	20024.46	100.12	1.00
	0	47.455	0.949	0.009	93.118	0.931	0.009	95.434	0.477	0.005
	0	0.010	0.010	0.010	0.009	0.009	0.009	0.005	0.005	0.005
	0	4965.56	99.31	0.99	10036.33	100.36	1.00	20021.50	100.11	1.00
RSD (Pool)		0.007070668								

Ek 101. Sinnamik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	Ortalama % Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Sinamik asit	5000	0.9947	47.4552	0.0095	0.0095	24
	10000	1.0028	93.1179	0.0093	0.0093	24
	20000	1.0012	95.4336	0.0048	0.0048	24
ort		0.9996		0.0079	0.0079	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0009261

Ek 102. Sinnamik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığındayapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0071	0.0071
Gerçeklik	0.9995826	0.000926094	0.000926481
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0071
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0143

Ek 103. Sinapinik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Sinapinik Asit	Spike Yok	Düşük spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (10000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün	0	490	98.00	0.98	5068	101.36	1.01	10144	101.44	1.01
	0	499	99.80	1.00	4916	98.32	0.98	10056	100.56	1.01
	0	484	96.80	0.97	5049	100.98	1.01	10197	101.97	1.02
	0	513	102.60	1.03	4940	98.80	0.99	10012	100.12	1.00
	0	508	101.60	1.02	5020	100.40	1.00	9989	99.89	1.00
	0	493	98.60	0.99	5065	101.30	1.01	10041	100.41	1.00
	0	497.83	99.57	1.00	5009.67	100.19	1.00	10073.17	100.73	1.01
	0	11.053	2.211	0.022	65.947	1.319	0.013	80.631	0.806	0.008
	0	0.022	0.022	0.022	0.013	0.013	0.013	0.008	0.008	0.008
	0	480	96.00	0.96	4912	98.24	0.98	10045	100.45	1.00
Farklı Günler (1)	0	503	100.60	1.01	5055	101.10	1.01	9911	99.11	0.99
	0	518	103.60	1.04	4992	99.84	1.00	9880	98.80	0.99
	0	501	100.20	1.00	5072	101.44	1.01	9915	99.15	0.99
	0	492	98.40	0.98	4976	99.52	1.00	9992	99.92	1.00
	0	495	99.00	0.99	5036	100.72	1.01	9885	98.85	0.99
Farklı Günler (2)	0	487	97.40	0.97	4961	99.22	0.99	10154	101.54	1.02
	0	488	97.60	0.98	5065	101.30	1.01	9915	99.15	0.99
	0	509	101.80	1.02	5069	101.38	1.01	10180	101.80	1.02
	0	496	99.20	0.99	5007	100.14	1.00	9962	99.62	1.00
	0	512	102.40	1.02	4973	99.46	0.99	10182	101.82	1.02
Farklı Günler (3)	0	517	103.40	1.03	4991	99.82	1.00	9993	99.93	1.00
	0	483	96.60	0.97	5040	100.80	1.01	10108	101.08	1.01
	0	510	102.00	1.02	5031	100.62	1.01	10122	101.22	1.01
	0	487	97.40	0.97	4946	98.92	0.99	9988	99.88	1.00
	0	503	100.60	1.01	4969	99.38	0.99	9876	98.76	0.99
F.G.Ort.	0	499.78	99.96	1.00	5001.17	100.02	1.00	9990.78	99.91	1.00
F.G.Std	0	12.100	2.420	0.024	49.378	0.988	0.010	114.023	1.140	0.011
F.G.RSD	0	0.024	0.024	0.024	0.010	0.010	0.010	0.011	0.011	0.011
Gen. Ort	0	499.29	99.86	1.00	5003.29	100.07	1.00	10011.38	100.11	1.00
Gen. Std	0	11.641	2.328	0.023	52.552	1.051	0.011	111.135	1.111	0.011
Gen. RSD	0	0.023	0.023	0.023	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011
RSD (Pool)	0.013938894									

Ek 104. Sinapinik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	%Ortalama Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Sinapinik Asit	500	0.9986	11.6413	0.0233	0.0233	24
	5000	1.0007	52.5518	0.0105	0.0105	24
	10000	1.0011	111.1352	0.0111	0.0111	24
ort		1.0001		0.0150	0.0150	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0017641

Ek 105. Sinapinik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0139	0.0139
Bias	1.000126389	0.001764093	0.00176387
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0141
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0281

Ek 106. Fumarik asit aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Fumarik asit	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	
Aynı Gün	2017	2127	102.33	1.02	3001	97.63	0.98	7012	99.75	1.00	
	2021	2127	102.33	1.02	3036	101.13	1.01	7006	99.63	1.00	
	2016	2132	107.33	1.07	3009	98.43	0.98	7011	99.73	1.00	
	2018	2116	91.33	0.91	3015	99.03	0.99	6971	98.93	0.99	
	2037	2114	89.33	0.89	3050	102.53	1.03	7100	101.51	1.02	
	2039	2129	104.33	1.04	3034	100.93	1.01	6986	99.23	0.99	
	Ort.	2024.67	2124.17	99.50	0.99	3024.17	99.95	1.00	7014.33	99.79	1.00
	Std	10.482	7.360	7.360	0.074	18.734	1.873	0.019	44.956	0.899	0.009
	RSD	0.005	0.003	0.074	0.074	0.006	0.019	0.019	0.006	0.009	0.009
	Farklı Günler (1)	2026	2116	88.39	0.88	3041	101.34	1.01	7015	99.75	1.00
2024		2114	86.39	0.86	3013	98.54	0.99	7054	100.53	1.01	
2023		2129	101.39	1.01	3004	97.64	0.98	6958	98.61	0.99	
2031		2117	89.39	0.89	3020	99.24	0.99	6983	99.11	0.99	
2029		2124	96.39	0.96	3003	97.54	0.98	7021	99.87	1.00	
2028		2130	102.39	1.02	3045	101.74	1.02	6969	98.83	0.99	
2040		2130	102.39	1.02	3003	97.54	0.98	7013	99.71	1.00	
Farklı Günler (2)		2033	2125	97.39	0.97	3039	101.14	1.01	7000	99.45	0.99
		2010	2137	109.39	1.09	3043	101.54	1.02	7011	99.67	1.00
		2039	2133	105.39	1.05	3027	99.94	1.00	7060	100.65	1.01
	2039	2126	98.39	0.98	3027	99.94	1.00	7030	100.05	1.00	
Farklı Günler (3)	2014	2140	112.39	1.12	3044	101.64	1.02	6969	98.83	0.99	
	2024	2134	106.39	1.06	3001	97.34	0.97	7036	100.17	1.00	
	2012	2134	106.39	1.06	3035	100.74	1.01	7022	99.89	1.00	
	2040	2117	89.39	0.89	3040	101.24	1.01	7005	99.55	1.00	
	2028	2139	111.39	1.11	3018	99.04	0.99	7068	100.81	1.01	
	2021	2121	93.39	0.93	3017	98.94	0.99	7015	99.75	1.00	
	2036	2132	104.39	1.04	3035	100.74	1.01	7069	100.83	1.01	
F.G.Ort.	2027.61	2127.67	100.06	1.00	3025.28	99.77	1.00	7016.56	99.78	1.00	
F.G.Std	9.432	8.139	8.139	0.081	15.785	1.578	0.016	33.280	0.666	0.007	
F.G.RSD	0.005	0.004	0.081	0.081	0.005	0.016	0.016	0.005	0.007	0.007	
Gen. Ort	2026.88	2126.79	99.92	1.00	3025.00	99.81	1.00	7016.00	99.78	1.00	
Gen. Std	9.557	7.945	7.797	0.078	16.146	1.616	0.016	35.482	0.709	0.007	
Gen. RSD	0.005	0.004	0.078	0.078	0.005	0.016	0.016	0.005	0.007	0.007	
RSD (Pool)	0.004750085										

Ek 107. Fumarik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	Ortalama % Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	100	0.9992	7.9454	0.0780	0.0037	24
Fumarik asit	1000	0.9981	16.1461	0.0162	0.0053	24
	5000	0.9978	35.4818	0.0071	0.0051	24
ort		0.9984		0.0337	0.0047	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0039764

Ek 108. Fumarik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0048	0.0048
Bias	0.9983722	0.003976386	0.00398287
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0062
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0124

Ek 109. Vanilin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Vanilin	Spike Yok	Düşük spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (10000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün	444	955	100.33	1.00	5407	99.07	0.99	10480	100.27	1.00
	462	958	100.93	1.01	5451	99.95	1.00	10454	100.01	1.00
	454	935	96.33	0.96	5410	99.13	0.99	10467	100.14	1.00
	459	958	100.93	1.01	5475	100.43	1.00	10451	99.98	1.00
	463	932	95.73	0.96	5449	99.91	1.00	10410	99.57	1.00
	438	961	101.53	1.02	5436	99.65	1.00	10484	100.31	1.00
	453.33	949.83	99.30	0.99	5438.00	99.69	1.00	10457.67	100.04	1.00
Ort.	453.33	949.83	99.30	0.99	5438.00	99.69	1.00	10457.67	100.04	1.00
Std	10.231	12.828	2.566	0.026	26.107	0.522	0.005	26.868	0.269	0.003
RSD	0.023	0.014	0.026	0.026	0.005	0.005	0.005	0.003	0.003	0.003
Farklı Günler (1)	452	934	97.33	0.97	5464	100.33	1.00	10444	99.97	1.00
	465	930	96.53	0.97	5468	100.41	1.00	10394	99.47	0.99
	432	949	100.33	1.00	5432	99.69	1.00	10432	99.85	1.00
	449	934	97.33	0.97	5404	99.13	0.99	10421	99.74	1.00
	457	936	97.73	0.98	5406	99.17	0.99	10497	100.50	1.00
	440	925	95.53	0.96	5490	100.85	1.01	10422	99.75	1.00
	454	921	94.73	0.95	5458	100.21	1.00	10397	99.50	0.99
Farklı Günler (2)	432	948	100.13	1.00	5410	99.25	0.99	10492	100.45	1.00
	451	946	99.73	1.00	5488	100.81	1.01	10476	100.29	1.00
	456	938	98.13	0.98	5410	99.25	0.99	10489	100.42	1.00
	431	956	101.73	1.02	5453	100.11	1.00	10506	100.59	1.01
	436	953	101.13	1.01	5424	99.53	1.00	10417	99.70	1.00
	459	956	101.73	1.02	5465	100.35	1.00	10386	99.39	0.99
	451	960	102.53	1.03	5458	100.21	1.00	10485	100.38	1.00
Farklı Günler (3)	438	964	103.33	1.03	5463	100.31	1.00	10390	99.43	0.99
	446	945	99.53	1.00	5485	100.75	1.01	10389	99.42	0.99
	453	929	96.33	0.96	5491	100.87	1.01	10467	100.20	1.00
	450	922	94.93	0.95	5457	100.19	1.00	10419	99.72	1.00
F.G.Ort.	447.33	941.44	98.82	0.99	5451.44	100.08	1.00	10440.17	99.93	1.00
F.G.Std	10.175	13.391	2.678	0.027	29.965	0.599	0.006	42.341	0.423	0.004
F.G.RSD	0.023	0.014	0.027	0.027	0.005	0.006	0.006	0.004	0.004	0.004
Gen. Ort	448.83	943.54	98.94	0.99	5448.08	99.99	1.00	10444.54	99.96	1.00
Gen. Std	10.311	13.494	2.603	0.026	29.107	0.595	0.006	39.267	0.388	0.004
Gen. RSD	0.023	0.014	0.026	0.026	0.005	0.006	0.006	0.004	0.004	0.004
RSD (Pool)	0.013919141									

Ek 110. Vanilin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	%Ortalama Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Vanilin	500	0.9894	13.4939	0.0260	0.0143	24
	5000	0.9999	29.1069	0.0060	0.0053	24
	10000	0.9996	39.2672	0.0039	0.0038	24
ort		0.9963		0.0120	0.0078	n=72
karakök n:						8.4852814
Standard belirsizlik:						0.0014091

Ek 111. Vanilin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0139	0.0139
Gerçeklik	0.996279167	0.001409066	0.001414328
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0140
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0280

Ek 112. Pirokatekol için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Pirokatekol	Spike yok	Düşük spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (10000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün	0	971	97.10	0.97	4987	99.74	1.00	9886	98.86	0.99
	0	986	98.60	0.99	4962	99.24	0.99	10167	101.67	1.02
	0	1017	101.70	1.02	4934	98.68	0.99	10048	100.48	1.00
	0	999	99.90	1.00	5062	101.24	1.01	9941	99.41	0.99
	0	1007	100.70	1.01	4928	98.56	0.99	10185	101.85	1.02
	0	1009	100.90	1.01	5024	100.48	1.00	10065	100.65	1.01
	Ort.	998.17	99.82	1.00	4982.83	99.66	1.00	10048.67	100.49	1.00
Std		16.952	1.695	0.017	52.545	1.051	0.011	119.088	1.191	0.012
RSD		0.017	0.017	0.017	0.011	0.011	0.011	0.012	0.012	0.012
Farklı Günler (1)	0	1025	102.50	1.03	4940	98.80	0.99	10133	101.33	1.01
	0	1006	100.60	1.01	4918	98.36	0.98	9893	98.93	0.99
	0	1018	101.80	1.02	4942	98.84	0.99	9923	99.23	0.99
	0	974	97.40	0.97	4917	98.34	0.98	10148	101.48	1.01
	0	992	99.20	0.99	4986	99.72	1.00	9929	99.29	0.99
	0	981	98.10	0.98	5027	100.54	1.01	9919	99.19	0.99
	0	976	97.60	0.98	5036	100.72	1.01	10046	100.46	1.00
Farklı Günler (2)	0	1025	102.50	1.03	4969	99.38	0.99	9904	99.04	0.99
	0	989	98.90	0.99	4994	99.88	1.00	9881	98.81	0.99
	0	987	98.70	0.99	4992	99.84	1.00	9875	98.75	0.99
	0	985	98.50	0.99	4938	98.76	0.99	10157	101.57	1.02
	0	1024	102.40	1.02	4952	99.04	0.99	9939	99.39	0.99
	0	1022	102.20	1.02	5086	101.72	1.02	9971	99.71	1.00
	0	988	98.80	0.99	5006	100.12	1.00	10119	101.19	1.01
Farklı Günler (3)	0	1009	100.90	1.01	5054	101.08	1.01	10166	101.66	1.02
	0	992	99.20	0.99	5065	101.30	1.01	10142	101.42	1.01
	0	983	98.30	0.98	5073	101.46	1.01	10125	101.25	1.01
	0	987	98.70	0.99	4957	99.14	0.99	10048	100.48	1.00
	F.G.Ort.	997.94	99.79	1.00	4991.78	99.84	1.00	10017.67	100.18	1.00
	F.G.Std	18.041	1.804	0.018	54.525	1.091	0.011	111.960	1.120	0.011
	F.G.RSD	0.018	0.018	0.018	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011
Gen. Ort	0	998.00	99.80	1.00	4989.54	99.79	1.00	10025.42	100.25	1.00
Gen. Std	0	17.408	1.741	0.017	53.041	1.061	0.011	111.964	1.120	0.011
Gen. RSD	0	0.017	0.017	0.017	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011
RSD (Pool)		0.011640326								

Ek 113. Pirokatekol için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	%Ortalama Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Pirokatekol	1000	0.9980	17.4081	0.0174	0.0174	24
	5000	0.9979	53.0406	0.0106	0.0106	24
	10000	1.0025	111.9642	0.0112	0.0112	24
ort		0.9995		0.0131	0.0131	n=72
karakök n:						8.4852814
Standard belirsizlik:						0.0015404

Ek 114. Pirokatekol için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0116	0.0116
Gerçeklik	0.999483333	0.00154042	0.001541216
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0117
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0235

Ek 115. Malik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Malik asit	Spike yok	Düşük spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (10000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	
Ort.	Aynı Gün	3416	3940	109.90	1.10	8392	100.03	1.00	13428	100.38	1.00
		3363	3901	102.10	1.02	8435	100.89	1.01	13377	99.87	1.00
		3387	3915	104.90	1.05	8413	100.45	1.00	13332	99.42	0.99
		3391	3911	104.10	1.04	8459	101.37	1.01	13407	100.17	1.00
		3393	3877	97.30	0.97	8358	99.35	0.99	13311	99.21	0.99
		3393	3906	103.10	1.03	8366	99.51	1.00	13466	100.76	1.01
		3390.50	3908.33	103.57	1.04	8403.83	100.27	1.00	13386.83	99.96	1.00
Std	16.920	20.471	4.094	0.041	39.423	0.788	0.008	58.690	0.587	0.006	
RSD	0.005	0.005	0.040	0.040	0.005	0.008	0.008	0.004	0.006	0.006	
Farklı Günler (1)	3361	3872	95.40	0.95	8384	99.78	1.00	13329	99.34	0.99	
	3406	3872	95.40	0.95	8375	99.60	1.00	13309	99.14	0.99	
	3406	3917	104.40	1.04	8367	99.44	0.99	13427	100.32	1.00	
	3401	3881	97.20	0.97	8444	100.98	1.01	13395	100.00	1.00	
	3388	3852	91.40	0.91	8445	101.00	1.01	13460	100.65	1.01	
	3367	3851	91.20	0.91	8459	101.28	1.01	13324	99.29	0.99	
	3398	3916	104.20	1.04	8355	99.20	0.99	13480	100.85	1.01	
Farklı Günler (2)	3375	3892	99.40	0.99	8384	99.78	1.00	13418	100.23	1.00	
	3407	3908	102.60	1.03	8389	99.88	1.00	13333	99.38	0.99	
	3406	3888	98.60	0.99	8460	101.30	1.01	13382	99.87	1.00	
	3397	3872	95.40	0.95	8459	101.28	1.01	13446	100.51	1.01	
	3392	3912	103.40	1.03	8439	100.88	1.01	13450	100.55	1.01	
	3405	3910	103.00	1.03	8369	99.48	0.99	13335	99.40	0.99	
	3389	3882	97.40	0.97	8454	101.18	1.01	13399	100.04	1.00	
Farklı Günler (3)	3405	3933	107.60	1.08	8460	101.30	1.01	13351	99.56	1.00	
	3409	3921	105.20	1.05	8375	99.60	1.00	13408	100.13	1.00	
	3399	3911	103.20	1.03	8361	99.32	0.99	13366	99.71	1.00	
	3399	3856	92.20	0.92	8346	99.02	0.99	13465	100.70	1.01	
	F.G.Ort.	3395.00	3891.44	99.29	0.99	8406.94	100.24	1.00	13393.17	99.98	1.00
	F.G.Std	14.180	25.521	5.104	0.051	43.445	0.869	0.009	54.684	0.547	0.005
	F.G.RSD	0.004	0.007	0.051	0.051	0.005	0.009	0.009	0.004	0.005	0.005
Gen. Ort	3393.88	3895.67	100.36	1.00	8406.17	100.25	1.00	13391.58	99.98	1.00	
Gen. Std	14.656	25.066	5.146	0.051	41.651	0.833	0.008	54.470	0.544	0.005	
Gen. RSD	0.004	0.006	0.051	0.051	0.005	0.008	0.008	0.004	0.005	0.005	
RSD (Pool)	0.005028562										

Ek 116. Malik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	%Ortalama Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Malik asit	500	1.0036	25.0663	0.0515	0.0064	24
	5000	1.0025	41.6514	0.0083	0.0050	24
	10000	0.9998	54.4697	0.0054	0.0041	24
ort		1.0019		0.0217	0.0052	n=72
karakök n:						8.4852814
Standard belirsizlik:						0.0025623

Ek 117. Malik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0050	0.0050
Gerçeklik	1.0019375	0.002562339	0.002557384
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0056
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0113

Ek 118. Syringic asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

	Syringic asit	Spike yok	Düşük spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (10000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün	0	0	978	97.80	0.98	4937	98.74	0.99	10121	101.21	1.01
	0	0	986	98.60	0.99	5049	100.98	1.01	10146	101.46	1.01
	0	0	991	99.10	0.99	5069	101.38	1.01	10174	101.74	1.02
	0	0	989	98.90	0.99	5082	101.64	1.02	9914	99.14	0.99
	0	0	967	96.70	0.97	5054	101.08	1.01	10003	100.03	1.00
	0	0	991	99.10	0.99	4974	99.48	0.99	10151	101.51	1.02
	Ort.		983.67	98.37	0.98	5027.50	100.55	1.01	10084.83	100.85	1.01
Std			9.501	0.950	0.010	58.154	1.163	0.012	103.207	1.032	0.010
RSD			0.010	0.010	0.010	0.012	0.012	0.012	0.010	0.010	0.010
Farklı Günler (1)	0	0	984	98.40	0.98	4966	99.32	0.99	9895	98.95	0.99
	0	0	1013	101.30	1.01	5072	101.44	1.01	10109	101.09	1.01
	0	0	991	99.10	0.99	5078	101.56	1.02	10103	101.03	1.01
	0	0	1021	102.10	1.02	5059	101.18	1.01	10058	100.58	1.01
	0	0	969	96.90	0.97	4983	99.66	1.00	9915	99.15	0.99
	0	0	980	98.00	0.98	5064	101.28	1.01	10097	100.97	1.01
	0	0	1026	102.60	1.03	5027	100.54	1.01	9969	99.69	1.00
Farklı Günler (2)	0	0	968	96.80	0.97	4928	98.56	0.99	9896	98.96	0.99
	0	0	979	97.90	0.98	4918	98.36	0.98	9973	99.73	1.00
	0	0	997	99.70	1.00	5003	100.06	1.00	10179	101.79	1.02
	0	0	997	99.70	1.00	5025	100.50	1.01	9883	98.83	0.99
	0	0	981	98.10	0.98	5045	100.90	1.01	10131	101.31	1.01
	0	0	1023	102.30	1.02	5035	100.70	1.01	9878	98.78	0.99
	0	0	971	97.10	0.97	4962	99.24	0.99	10139	101.39	1.01
Farklı Günler (3)	0	0	1018	101.80	1.02	4976	99.52	1.00	10034	100.34	1.00
	0	0	981	98.10	0.98	5066	101.32	1.01	10120	101.20	1.01
	0	0	996	99.60	1.00	4996	99.92	1.00	10075	100.75	1.01
	0	0	1016	101.60	1.02	5012	100.24	1.00	9884	98.84	0.99
	F.G.Ort.	0	995.06	99.51	1.00	5011.94	100.24	1.00	10018.78	100.19	1.00
	F.G.Std	0	19.875	1.987	0.020	48.977	0.980	0.010	106.109	1.061	0.011
	F.G.RSD	0	0.020	0.020	0.020	0.010	0.010	0.010	0.011	0.011	0.011
Gen. Ort	0	0	992.21	99.22	0.99	5015.83	100.32	1.00	10035.29	100.35	1.00
Gen. Std	0	0	18.356	1.836	0.018	50.552	1.011	0.010	107.197	1.072	0.011
Gen. RSD	0	0	0.019	0.019	0.019	0.010	0.010	0.010	0.011	0.011	0.011
RSD (Pool)	0.011810488										

Ek 119. Syringic asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	%Ortalama Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Syringic asit	1000	0.9922	18.3563	0.0184	0.0185	24
	5000	1.0032	50.5523	0.0101	0.0101	24
	10000	1.0035	107.1973	0.0107	0.0107	24
ort		0.9996		0.0131	0.0131	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0015394

Ek 120. Syringic asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0118	0.0118
Gerçeklik	0.999634722	0.001539392	0.001539954
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0119
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0238

Ek 121. Hesperetin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Hesperetin	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün	0	93	93.00	0.93	502	100.40	1.00	1017	101.70	1.02
	0	101	101.00	1.01	491	98.20	0.98	994	99.40	0.99
	0	98	98.00	0.98	486	97.20	0.97	1010	101.00	1.01
	0	92	92.00	0.92	486	97.20	0.97	988	98.80	0.99
	0	107	107.00	1.07	504	100.80	1.01	1016	101.60	1.02
	0	93	93.00	0.93	507	101.40	1.01	976	97.60	0.98
	0	97.33	97.33	0.97	496.00	99.20	0.99	1000.17	100.02	1.00
Ort.	0	5.888	5.888	0.059	9.445	1.889	0.019	16.738	1.674	0.017
Std	0	0.060	0.060	0.060	0.019	0.019	0.019	0.017	0.017	0.017
RSD	0	95	95.00	0.95	497	99.40	0.99	976	97.60	0.98
Farklı Günler (1)	0	96	96.00	0.96	503	100.60	1.01	991	99.10	0.99
	0	94	94.00	0.94	495	99.00	0.99	1019	101.90	1.02
	0	105	105.00	1.05	493	98.60	0.99	979	97.90	0.98
	0	96	96.00	0.96	509	101.80	1.02	981	98.10	0.98
	0	103	103.00	1.03	495	99.00	0.99	991	99.10	0.99
	0	102	102.00	1.02	502	100.40	1.00	1005	100.50	1.01
	0	107	107.00	1.07	504	100.80	1.01	997	99.70	1.00
Farklı Günler (2)	0	94	94.00	0.94	491	98.20	0.98	1014	101.40	1.01
	0	107	107.00	1.07	498	99.60	1.00	991	99.10	0.99
	0	93	93.00	0.93	503	100.60	1.01	984	98.40	0.98
	0	104	104.00	1.04	487	97.40	0.97	1003	100.30	1.00
	0	93	93.00	0.93	492	98.40	0.98	977	97.70	0.98
	0	102	102.00	1.02	485	97.00	0.97	983	98.30	0.98
	0	97	97.00	0.97	488	97.60	0.98	1020	102.00	1.02
Farklı Günler (3)	0	102	102.00	1.02	504	100.80	1.01	984	98.40	0.98
	0	103	103.00	1.03	503	100.60	1.01	998	99.80	1.00
	0	99	99.00	0.99	486	97.20	0.97	1012	101.20	1.01
	0	99.56	99.56	1.00	496.39	99.28	0.99	994.72	99.47	0.99
F.G.Ort.	0	4.866	4.866	0.049	7.277	1.455	0.015	14.547	1.455	0.015
F.G.Std	0	0.049	0.049	0.049	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015
F.G.RSD	0	99.00	99.00	0.99	496.29	99.26	0.99	996.08	99.61	1.00
Gen. Ort	0	5.099	5.099	0.051	7.653	1.531	0.015	14.937	1.494	0.015
Gen. Std	0	0.052	0.052	0.052	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015
Gen. RSD	0	0.052	0.052	0.052	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015
RSD (Pool) 0.02790806										

Ek 122. Hesperetin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	%Ortalama Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Hesperetin	100	0.9900	5.0990	0.0510	0.0515	24
	500	0.9926	7.6527	0.0153	0.0154	24
	1000	0.9961	14.9373	0.0149	0.0150	24
ort		0.9929		0.0271	0.0273	n=72
karakök n:						8.4852814
Standard belirsizlik:						0.0031911

Ek 123. Hesperetin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0279	0.0279
Bias	0.992888889	0.003191128	0.003213983
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0281
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0562

Ek 124. Naringenin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Naringenin	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün	158	265	112.00	1.12	657	100.80	1.01	1126	97.30	0.97
	145	247	94.00	0.94	674	104.20	1.04	1179	102.60	1.03
	154	251	98.00	0.98	667	102.80	1.03	1137	98.40	0.98
	152	255	102.00	1.02	655	100.40	1.00	1146	99.30	0.99
	156	248	95.00	0.95	647	98.80	0.99	1162	100.90	1.01
	153	248	95.00	0.95	648	99.00	0.99	1127	97.40	0.97
	153.00	252.33	99.33	0.99	658.00	101.00	1.01	1146.17	99.32	0.99
Ort.	4.472	6.861	6.861	0.069	10.658	2.132	0.021	20.913	2.091	0.021
Std	0.029	0.027	0.069	0.069	0.016	0.021	0.021	0.018	0.021	0.021
RSD	162	264	109.00	1.09	673	103.60	1.04	1157	100.20	1.00
Farklı Günler (1)	151	253	98.00	0.98	643	97.60	0.98	1133	97.80	0.98
	164	262	107.00	1.07	642	97.40	0.97	1136	98.10	0.98
	165	262	107.00	1.07	670	103.00	1.03	1172	101.70	1.02
	148	247	92.00	0.92	668	102.60	1.03	1141	98.60	0.99
	152	245	90.00	0.90	671	103.20	1.03	1183	102.80	1.03
	156	264	109.00	1.09	646	98.20	0.98	1158	100.30	1.00
	159	264	109.00	1.09	671	103.20	1.03	1190	103.50	1.04
Farklı Günler (2)	152	250	95.00	0.95	669	102.80	1.03	1151	99.60	1.00
	146	250	95.00	0.95	642	97.40	0.97	1186	103.10	1.03
	146	253	98.00	0.98	667	102.40	1.02	1131	97.60	0.98
	163	253	98.00	0.98	652	99.40	0.99	1143	98.80	0.99
	156	265	110.00	1.10	663	101.60	1.02	1184	102.90	1.03
	152	255	100.00	1.00	671	103.20	1.03	1165	101.00	1.01
	157	259	104.00	1.04	653	99.60	1.00	1147	99.20	0.99
Farklı Günler (3)	159	264	109.00	1.09	674	103.80	1.04	1152	99.70	1.00
	152	254	99.00	0.99	670	103.00	1.03	1161	100.60	1.01
	150	256	101.00	1.01	643	97.60	0.98	1145	99.00	0.99
	155.00	256.67	101.67	1.02	660.44	101.09	1.01	1157.50	100.25	1.00
F.G.Ort.	6.039	6.490	6.490	0.065	12.515	2.503	0.025	18.922	1.892	0.019
F.G.Std	0.039	0.025	0.064	0.064	0.019	0.025	0.025	0.016	0.019	0.019
F.G.RSD	154.50	255.58	101.08	1.01	659.83	101.07	1.01	1154.67	100.02	1.00
Gen. Ort	5.665	6.711	6.514	0.065	11.901	2.371	0.024	19.617	1.941	0.019
Gen. Std	0.037	0.026	0.064	0.064	0.018	0.023	0.023	0.017	0.019	0.019
Gen. RSD	RSD (Pool) 0.025727409									

Ek 125. Naringenin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	%Ortalama Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Naringenin	100	1.0108	6.7109	0.0651	0.0263	24
	500	1.0107	11.9006	0.0237	0.0180	24
	1000	1.0002	19.6174	0.0194	0.0170	24
ort		1.0072		0.0361	0.0204	n=72
karakök n:						8.4852814
Standard belirsizlik:						0.0042526

Ek 126. Naringenin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0257	0.0257
Bias	1.007222222	0.00425256	0.004222067
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0261
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0521

Ek 127. Rutin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

	Rutin	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün		2342	2456	105.67	1.06	2874	104.73	1.05	3319	96.87	0.97
		2346	2451	100.67	1.01	2838	97.53	0.98	3327	97.67	0.98
		2360	2452	101.67	1.02	2857	101.33	1.01	3342	99.17	0.99
		2359	2465	114.67	1.15	2858	101.53	1.02	3362	101.17	1.01
		2353	2453	102.67	1.03	2850	99.93	1.00	3300	94.97	0.95
		2342	2453	102.67	1.03	2829	95.73	0.96	3343	99.27	0.99
	Ort.	2350.33	2455.00	104.67	1.05	2851.00	100.13	1.00	3332.17	98.18	0.98
	Std	8.165	5.177	5.177	0.052	15.925	3.185	0.032	21.628	2.163	0.022
	RSD	0.003	0.002	0.049	0.049	0.006	0.032	0.032	0.006	0.022	0.022
		2351	2459	106.94	1.07	2830	95.59	0.96	3307	95.49	0.95
Farklı Günler (1)		2364	2458	105.94	1.06	2830	95.59	0.96	3315	96.29	0.96
		2361	2448	95.94	0.96	2830	95.59	0.96	3347	99.49	0.99
		2354	2440	87.94	0.88	2823	94.19	0.94	3390	103.79	1.04
		2352	2459	106.94	1.07	2860	101.59	1.02	3328	97.59	0.98
		2345	2451	98.94	0.99	2878	105.19	1.05	3365	101.29	1.01
		2346	2443	90.94	0.91	2822	93.99	0.94	3395	104.29	1.04
Farklı Günler (2)		2341	2445	92.94	0.93	2828	95.19	0.95	3384	103.19	1.03
		2349	2445	92.94	0.93	2831	95.79	0.96	3312	95.99	0.96
		2348	2447	94.94	0.95	2830	95.59	0.96	3351	99.89	1.00
		2353	2444	91.94	0.92	2822	93.99	0.94	3332	97.99	0.98
		2348	2442	89.94	0.90	2843	98.19	0.98	3307	95.49	0.95
		2357	2445	92.94	0.93	2867	102.99	1.03	3331	97.89	0.98
Farklı Günler (3)		2352	2446	93.94	0.94	2873	104.19	1.04	3313	96.09	0.96
		2364	2449	96.94	0.97	2823	94.19	0.94	3348	99.59	1.00
		2347	2452	99.94	1.00	2869	103.39	1.03	3360	100.79	1.01
		2364	2463	110.94	1.11	2843	98.19	0.98	3305	95.29	0.95
		2341	2446	93.94	0.94	2866	102.79	1.03	3364	101.19	1.01
	F.G.Ort.	2352.06	2449.00	96.94	0.97	2842.67	98.12	0.98	3341.89	98.98	0.99
	F.G.Std	7.424	6.651	6.651	0.067	20.176	4.035	0.040	29.766	2.977	0.030
	F.G.RSD	0.003	0.003	0.069	0.069	0.007	0.041	0.041	0.009	0.030	0.030
	Gen. Ort	2351.63	2450.50	98.87	0.99	2844.75	98.63	0.99	3339.46	98.78	0.99
	Gen. Std	7.471	6.750	7.084	0.071	19.225	3.877	0.039	27.840	2.773	0.028
	Gen. RSD	0.003	0.003	0.072	0.072	0.007	0.039	0.039	0.008	0.028	0.028
RSD (Pool)		0.005762979									

Ek 128. Rutin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	%Ortalama Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	100	0.9887	6.7502	0.0708	0.0028	24
Rutin	500	0.9863	19.2246	0.0388	0.0068	24
	1000	0.9878	27.8396	0.0277	0.0083	24
ort		0.9876		0.0458	0.0059	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0053955

Ek 129. Rutin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0058	0.0058
Bias	0.987611111	0.005395483	0.005463165
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0079
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0159

Ek 130. Kersetin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Kersetin	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün	150	247	93.17	0.93	1121	96.72	0.97	5156	100.04	1.00
	159	261	107.17	1.07	1131	97.72	0.98	5122	99.36	0.99
	148	245	91.17	0.91	1140	98.62	0.99	5180	100.52	1.01
	151	259	105.17	1.05	1165	101.12	1.01	5165	100.22	1.00
	151	245	91.17	0.91	1152	99.82	1.00	5146	99.84	1.00
	164	246	92.17	0.92	1134	98.02	0.98	5177	100.46	1.00
	153.83	250.50	96.67	0.97	1140.50	98.67	0.99	5157.67	100.08	1.00
Ort.	6.242	7.423	7.423	0.074	15.783	1.578	0.016	21.621	0.432	0.004
Std	0.041	0.030	0.077	0.077	0.014	0.016	0.016	0.004	0.004	0.004
RSD	146	262	108.44	1.08	1161	100.74	1.01	5191	100.75	1.01
Farklı Günler (1)	152	248	94.44	0.94	1139	98.54	0.99	5158	100.09	1.00
	156	255	101.44	1.01	1139	98.54	0.99	5179	100.51	1.01
	156	246	92.44	0.92	1150	99.64	1.00	5164	100.21	1.00
	160	258	104.44	1.04	1149	99.54	1.00	5112	99.17	0.99
	150	263	109.44	1.09	1145	99.14	0.99	5133	99.59	1.00
Farklı Günler (2)	152	248	94.44	0.94	1158	100.44	1.00	5169	100.31	1.00
	146	257	103.44	1.03	1170	101.64	1.02	5191	100.75	1.01
	164	253	99.44	0.99	1145	99.14	0.99	5135	99.63	1.00
	165	248	94.44	0.94	1137	98.34	0.98	5114	99.21	0.99
	158	261	107.44	1.07	1165	101.14	1.01	5152	99.97	1.00
Farklı Günler (3)	145	251	97.44	0.97	1157	100.34	1.00	5111	99.15	0.99
	145	260	106.44	1.06	1156	100.24	1.00	5160	100.13	1.00
	147	258	104.44	1.04	1164	101.04	1.01	5167	100.27	1.00
	161	255	101.44	1.01	1120	96.64	0.97	5136	99.65	1.00
	144	244	90.44	0.90	1147	99.34	0.99	5132	99.57	1.00
	152	263	109.44	1.09	1162	100.84	1.01	5140	99.73	1.00
	165	247	93.44	0.93	1146	99.24	0.99	5117	99.27	0.99
F.G.Ort.	153.56	254.28	100.72	1.01	1150.56	99.70	1.00	5147.83	99.89	1.00
F.G.Std	7.334	6.341	6.341	0.063	12.406	1.241	0.012	26.140	0.523	0.005
F.G.RSD	0.048	0.025	0.063	0.063	0.011	0.012	0.012	0.005	0.005	0.005
Gen. Ort	153.63	253.33	99.71	1.00	1148.04	99.44	0.99	5150.29	99.93	1.00
Gen. Std	6.946	6.670	6.702	0.067	13.700	1.374	0.014	25.012	0.500	0.005
Gen. RSD	0.045	0.026	0.067	0.067	0.012	0.014	0.014	0.005	0.005	0.005
RSD (Pool) 0.02694194										

Ek 131. Kerasetin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	%Ortalama Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Kerasetin	100	0.9971	6.6703	0.0670	0.0263	24
	1000	0.9944	13.7001	0.0137	0.0119	24
	5000	0.9993	25.0121	0.0050	0.0049	24
ort		0.9969		0.0286	0.0144	n=72
karakök n:						8.4852814
Standard belirsizlik:						0.003369

Ek 132. Kerasetin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0269	0.0269
Bias	0.996944444	0.00336897	0.003379296
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0272
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0543

Ek 133. Kersitrin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Kersitrin	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Ort.	0	95	95.00	0.95	1006	100.60	1.01	4962	99.24	0.99
	0	100	100.00	1.00	998	99.80	1.00	5084	101.68	1.02
	0	101	101.00	1.01	1004	100.40	1.00	4947	98.94	0.99
	0	99	99.00	0.99	982	98.20	0.98	4949	98.98	0.99
	0	98	98.00	0.98	1009	100.90	1.01	5082	101.64	1.02
	0	101	101.00	1.01	998	99.80	1.00	5044	100.88	1.01
	0	99.00	99.00	0.99	999.50	99.95	1.00	5011.33	100.23	1.00
Std	0	2.280	2.280	0.023	9.628	0.963	0.010	66.029	1.321	0.013
RSD	0	0.023	0.023	0.023	0.010	0.010	0.010	0.013	0.013	0.013
Aynı Gün	0	104	104.00	1.04	1002	100.20	1.00	4992	99.84	1.00
	0	94	94.00	0.94	986	98.60	0.99	5024	100.48	1.00
	0	104	104.00	1.04	996	99.60	1.00	5073	101.46	1.01
	0	105	105.00	1.05	995	99.50	1.00	5062	101.24	1.01
	0	94	94.00	0.94	984	98.40	0.98	5052	101.04	1.01
	0	106	106.00	1.06	1020	102.00	1.02	4972	99.44	0.99
	0	93	93.00	0.93	994	99.40	0.99	4958	99.16	0.99
Farklı Günler (1)	0	107	107.00	1.07	987	98.70	0.99	5029	100.58	1.01
	0	104	104.00	1.04	984	98.40	0.98	5005	100.10	1.00
	0	99	99.00	0.99	1003	100.30	1.00	4996	99.92	1.00
	0	107	107.00	1.07	1010	101.00	1.01	5050	101.00	1.01
	0	103	103.00	1.03	1017	101.70	1.02	5058	101.16	1.01
	0	103	103.00	1.03	1013	101.30	1.01	4933	98.66	0.99
	0	95	95.00	0.95	1011	101.10	1.01	4931	98.62	0.99
Farklı Günler (2)	0	106	106.00	1.06	1003	100.30	1.00	5079	101.58	1.02
	0	102	102.00	1.02	1003	100.30	1.00	5000	100.00	1.00
	0	106	106.00	1.06	990	99.00	0.99	5061	101.22	1.01
	0	98	98.00	0.98	977	97.70	0.98	5023	100.46	1.00
	0	101.67	101.67	1.02	998.61	99.86	1.00	5016.56	100.33	1.00
	0	4.863	4.863	0.049	12.505	1.250	0.013	46.411	0.928	0.009
	0	0.048	0.048	0.048	0.013	0.013	0.013	0.009	0.009	0.009
F.G.RSD	0	0.048	0.048	0.048	0.013	0.013	0.013	0.009	0.009	0.009
Gen. Ort	0	101.00	101.00	1.01	998.83	99.88	1.00	5015.25	100.31	1.00
Gen. Std	0	4.472	4.472	0.045	11.657	1.166	0.012	50.450	1.009	0.010
Gen. RSD	0	0.044	0.044	0.044	0.012	0.012	0.012	0.010	0.010	0.010
RSD (Pool)		0.023441337								

Ek 134. Kersitrin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	%Ortalama Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Kersitrin	100	1.0100	4.4721	0.0447	0.0443	24
	1000	0.9988	11.6569	0.0117	0.0117	24
	5000	1.0031	50.4504	0.0101	0.0101	24
ort		1.0040		0.0222	0.0220	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0026111

Ek 135. Kersitrin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	1.0040	1.0040
Bias	1.003961111	0.002611124	0.002600822
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik u(P _{op})/P _{op}			1.0040
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			2.0079

Ek 136. Apigenin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Apigenin	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün	105	209	98.83	0.99	617	101.37	1.01	1094	98.38	0.98
	113	205	94.83	0.95	617	101.37	1.01	1118	100.78	1.01
	109	220	109.83	1.10	604	98.77	0.99	1114	100.38	1.00
	111	212	101.83	1.02	625	102.97	1.03	1137	102.68	1.03
	112	224	113.83	1.14	611	100.17	1.00	1144	103.38	1.03
	111	202	91.83	0.92	622	102.37	1.02	1134	102.38	1.02
	Ort.	110.17	212.00	101.83	1.02	616.00	101.17	1.01	1123.50	101.33
	Std	2.858	8.556	8.556	0.086	7.589	1.518	0.015	18.458	1.846
	RSD	0.026	0.040	0.084	0.084	0.012	0.015	0.015	0.016	0.018
		117	208	96.44	0.96	606	98.89	0.99	1145	103.34
Farklı Günler (1)	120	218	106.44	1.06	602	98.09	0.98	1149	103.74	1.04
	113	211	99.44	0.99	607	99.09	0.99	1139	102.74	1.03
	110	225	113.44	1.13	614	100.49	1.00	1114	100.24	1.00
	106	206	94.44	0.94	607	99.09	0.99	1149	103.74	1.04
	105	208	96.44	0.96	624	102.49	1.02	1126	101.44	1.01
	118	207	95.44	0.95	624	102.49	1.02	1121	100.94	1.01
Farklı Günler (2)	119	224	112.44	1.12	621	101.89	1.02	1120	100.84	1.01
	107	213	101.44	1.01	624	102.49	1.02	1104	99.24	0.99
	105	224	112.44	1.12	605	98.69	0.99	1123	101.14	1.01
	106	202	90.44	0.90	616	100.89	1.01	1100	98.84	0.99
	116	218	106.44	1.06	607	99.09	0.99	1094	98.24	0.98
	107	205	93.44	0.93	608	99.29	0.99	1102	99.04	0.99
Farklı Günler (3)	119	212	100.44	1.00	605	98.69	0.99	1095	98.34	0.98
	105	222	110.44	1.10	617	101.09	1.01	1107	99.54	1.00
	105	224	112.44	1.12	623	102.29	1.02	1116	100.44	1.00
	110	215	103.44	1.03	601	97.89	0.98	1091	97.94	0.98
	120	222	110.44	1.10	621	101.89	1.02	1124	101.24	1.01
	F.G.Ort.	111.56	214.67	103.11	1.03	612.89	100.27	1.00	1117.72	100.62
F.G.Std	6.070	7.662	7.662	0.077	8.373	1.675	0.017	18.755	1.875	0.019
F.G.RSD	0.054	0.036	0.074	0.074	0.014	0.017	0.017	0.017	0.019	0.019
Gen. Ort	111.21	214.00	102.79	1.03	613.67	100.49	1.00	1119.17	100.80	1.01
Gen. Std	5.421	7.791	7.722	0.077	8.138	1.653	0.017	18.455	1.855	0.019
Gen. RSD	0.049	0.036	0.075	0.075	0.013	0.016	0.016	0.016	0.018	0.018
RSD (Pool)		0.032208397								

Ek 137. Apigenin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	Ortalama % Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Apigenin	100	1.0279	7.7907	0.0772	0.0364	24
	500	1.0049	8.1383	0.0165	0.0133	24
	1000	1.0080	18.4548	0.0185	0.0165	24
ort		1.0136		0.0374	0.0221	n=72
karakök n:						8.4852814
Standard belirsizlik:						0.0044114

Ek 138. Apigenin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0322	0.0322
Bias	1.013597222	0.004411367	0.00435219
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0325
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0650

Ek 139. Krisin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Krisin	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün	1.12	102	100.97	1.01	503	100.39	1.00	1007	100.60	1.01
	0.97	101	99.97	1.00	503	100.39	1.00	1002	100.10	1.00
	0.94	103	101.97	1.02	503	100.39	1.00	1000	99.90	1.00
	1.22	101	99.97	1.00	500	99.79	1.00	1004	100.30	1.00
	0.98	101	99.97	1.00	505	100.79	1.01	1006	100.50	1.00
	0.93	101	99.97	1.00	500	99.79	1.00	1004	100.30	1.00
	1.03	101.50	100.47	1.00	502.33	100.26	1.00	1003.83	100.28	1.00
Ort.	0.117	0.837	0.837	0.008	1.966	0.393	0.004	2.563	0.256	0.003
Std	0.114	0.008	0.008	0.008	0.004	0.004	0.004	0.003	0.003	0.003
Farklı Günler (1)	1.08	101	99.92	1.00	501	99.98	1.00	1006	100.49	1.00
	1.11	101	99.92	1.00	503	100.38	1.00	1009	100.79	1.01
	1.03	103	101.92	1.02	502	100.18	1.00	1003	100.19	1.00
	1.05	100	98.92	0.99	502	100.18	1.00	1001	99.99	1.00
	1.14	101	99.92	1.00	500	99.78	1.00	1009	100.79	1.01
	1.16	102	100.92	1.01	502	100.18	1.00	1003	100.19	1.00
	1.06	103	101.92	1.02	502	100.18	1.00	1004	100.29	1.00
Farklı Günler (2)	1.02	100	98.92	0.99	505	100.78	1.01	1001	99.99	1.00
	1.16	103	101.92	1.02	505	100.78	1.01	1007	100.59	1.01
	1.10	103	101.92	1.02	505	100.78	1.01	1010	100.89	1.01
	1.09	103	101.92	1.02	503	100.38	1.00	1009	100.79	1.01
Farklı Günler (3)	1.17	103	101.92	1.02	504	100.58	1.01	1001	99.99	1.00
	0.99	102	100.92	1.01	500	99.78	1.00	1004	100.29	1.00
	0.97	103	101.92	1.02	504	100.58	1.01	1000	99.89	1.00
	1.08	102	100.92	1.01	500	99.78	1.00	1007	100.59	1.01
	1.02	100	98.92	0.99	505	100.78	1.01	1001	99.99	1.00
	1.09	100	98.92	0.99	501	99.98	1.00	1006	100.49	1.00
	1.13	101	99.92	1.00	502	100.18	1.00	1006	100.49	1.00
F.G.Ort.	1.08	101.72	100.64	1.01	502.56	100.30	1.00	1004.83	100.38	1.00
F.G.Std	0.059	1.227	1.227	0.012	1.790	0.358	0.004	3.276	0.328	0.003
F.G.RSD	0.055	0.012	0.012	0.012	0.004	0.004	0.004	0.003	0.003	0.003
Gen. Ort	1.07	101.67	100.60	1.01	502.50	100.29	1.00	1004.58	100.35	1.00
Gen. Std	0.078	1.129	1.127	0.011	1.794	0.359	0.004	3.092	0.309	0.003
Gen. RSD	0.073	0.011	0.011	0.011	0.004	0.004	0.004	0.003	0.003	0.003
RSD (Pool)	0.037192511									

Ek 140. Krisin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	Ortalama % Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Krisin	100	1.0060	1.1293	0.0113	0.0111	24
	500	1.0029	1.7937	0.0036	0.0036	24
	1000	1.0035	3.0916	0.0031	0.0031	24
ort		1.0041		0.0060	0.0059	n=72
karakök n:						8.4852814
Standard belirsizlik:						0.0007051

Ek 141. Krisin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	1.0041	1.0041
Bias	1.004125972	0.000705078	0.00070218
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik u(P_{op})/P_{op}			1.0041
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			2.0083

Ek 142. Likiritigenin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Likiritigenin	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün	0	95	95.00	0.95	505	101.00	1.01	1011	101.10	1.01
	0	99	99.00	0.99	497	99.40	0.99	1009	100.90	1.01
	0	101	101.00	1.01	492	98.40	0.98	1015	101.50	1.02
	0	103	103.00	1.03	505	101.00	1.01	1018	101.80	1.02
	0	105	105.00	1.05	503	100.60	1.01	1000	100.00	1.00
	0	99	99.00	0.99	495	99.00	0.99	993	99.30	0.99
	0	100.33	100.33	1.00	499.50	99.90	1.00	1007.67	100.77	1.01
	0	3.502	3.502	0.035	5.577	1.115	0.011	9.459	0.946	0.009
	0	0.035	0.035	0.035	0.011	0.011	0.011	0.009	0.009	0.009
	0	97	97.00	0.97	503	100.60	1.01	1016	101.60	1.02
Farklı Günler (1)	0	98	98.00	0.98	501	100.20	1.00	1020	102.00	1.02
	0	102	102.00	1.02	493	98.60	0.99	978	97.80	0.98
	0	96	96.00	0.96	502	100.40	1.00	992	99.20	0.99
	0	98	98.00	0.98	505	101.00	1.01	1008	100.80	1.01
	0	101	101.00	1.01	502	100.40	1.00	1014	101.40	1.01
Farklı Günler (2)	0	101	101.00	1.01	492	98.40	0.98	1017	101.70	1.02
	0	104	104.00	1.04	500	100.00	1.00	981	98.10	0.98
	0	104	104.00	1.04	499	99.80	1.00	987	98.70	0.99
	0	103	103.00	1.03	497	99.40	0.99	999	99.90	1.00
	0	102	102.00	1.02	499	99.80	1.00	1000	100.00	1.00
Farklı Günler (3)	0	103	103.00	1.03	497	99.40	0.99	1007	100.70	1.01
	0	99	99.00	0.99	495	99.00	0.99	995	99.50	1.00
	0	98	98.00	0.98	492	98.40	0.98	978	97.80	0.98
	0	96	96.00	0.96	494	98.80	0.99	1012	101.20	1.01
	0	102	102.00	1.02	492	98.40	0.98	988	98.80	0.99
Farklı Günler (3)	0	96	96.00	0.96	503	100.60	1.01	1008	100.80	1.01
	0	103	103.00	1.03	507	101.40	1.01	1001	100.10	1.00
	0	100.17	100.17	1.00	498.50	99.70	1.00	1000.06	100.01	1.00
	0	2.895	2.895	0.029	4.743	0.949	0.009	13.709	1.371	0.014
	0	0.029	0.029	0.029	0.010	0.010	0.010	0.014	0.014	0.014
Gen. Ort	0	100.21	100.21	1.00	498.75	99.75	1.00	1001.96	100.20	1.00
Gen. Std	0	2.978	2.978	0.030	4.857	0.971	0.010	13.027	1.303	0.013
Gen. RSD	0	0.030	0.030	0.030	0.010	0.010	0.010	0.013	0.013	0.013
RSD (Pool)	0.016933284									

Ek 143. Likiritigenin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	Ortalama % Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Likiritigenin	100	1.0021	2.9779	0.0298	0.0297	24
	500	0.9975	4.8566	0.0097	0.0097	24
	1000	1.0020	13.0267	0.0130	0.0130	24
ort		1.0005		0.0175	0.0175	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0020631

Ek 144. Likiritigenin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0169	0.0169
Bias	1.000513889	0.00206313	0.00206207
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0171
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0341

Ek 145. İzokersitrin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

İzokersitrin	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)		
Ort.	Aynı Gün	1308	1405	101.50	1.02	1791	97.50	0.98	2319	101.55	1.02	
		1311	1413	109.50	1.10	1819	103.10	1.03	2280	97.65	0.98	
		1300	1397	93.50	0.94	1785	96.30	0.96	2314	101.05	1.01	
		1300	1413	109.50	1.10	1815	102.30	1.02	2320	101.65	1.02	
		1302	1400	96.50	0.97	1798	98.90	0.99	2329	102.55	1.03	
		1300	1398	94.50	0.95	1815	102.30	1.02	2312	100.85	1.01	
		1303.50	1404.33	100.83	1.01	1803.83	100.07	1.00	2312.33	100.88	1.01	
		Std	4.806	7.257	7.257	0.073	14.372	2.874	0.029	16.908	1.691	0.017
		RSD	0.004	0.005	0.072	0.072	0.008	0.029	0.029	0.007	0.017	0.017
			1311	1403	98.78	0.99	1801	99.36	0.99	2297	99.28	0.99
Farklı Günler (1)	1298	1401	96.78	0.97	1793	97.76	0.98	2298	99.38	0.99		
	1314	1399	94.78	0.95	1816	102.36	1.02	2315	101.08	1.01		
	1309	1405	100.78	1.01	1789	96.96	0.97	2316	101.18	1.01		
	1311	1413	108.78	1.09	1812	101.56	1.02	2285	98.08	0.98		
	1314	1397	92.78	0.93	1809	100.96	1.01	2283	97.88	0.98		
Farklı Günler (2)	1297	1401	96.78	0.97	1791	97.36	0.97	2301	99.68	1.00		
	1313	1413	108.78	1.09	1795	98.16	0.98	2324	101.98	1.02		
	1295	1396	91.78	0.92	1817	102.56	1.03	2325	102.08	1.02		
	1297	1413	108.78	1.09	1802	99.56	1.00	2305	100.08	1.00		
	1303	1404	99.78	1.00	1808	100.76	1.01	2302	99.78	1.00		
Farklı Günler (3)	1299	1406	101.78	1.02	1805	100.16	1.00	2306	100.18	1.00		
	1302	1404	99.78	1.00	1818	102.76	1.03	2308	100.38	1.00		
	1298	1408	103.78	1.04	1810	101.16	1.01	2323	101.88	1.02		
	1313	1407	102.78	1.03	1802	99.56	1.00	2303	99.88	1.00		
	1307	1415	110.78	1.11	1791	97.36	0.97	2330	102.58	1.03		
F.G.Ort.	1300	1415	110.78	1.11	1801	99.36	0.99	2318	101.38	1.01		
	1295	1413	108.78	1.09	1796	98.36	0.98	2297	99.28	0.99		
	1304.22	1406.28	102.06	1.02	1803.11	99.78	1.00	2307.56	100.33	1.00		
	F.G.Std	7.158	6.229	6.229	0.062	9.368	1.874	0.019	13.466	1.347	0.013	
	F.G.RSD	0.005	0.004	0.061	0.061	0.005	0.019	0.019	0.006	0.013	0.013	
Gen. Ort	1304.04	1405.79	101.75	1.02	1803.29	99.85	1.00	2308.75	100.47	1.00		
Gen. Std	6.557	6.393	6.358	0.064	10.482	2.099	0.021	14.164	1.422	0.014		
Gen. RSD	0.005	0.005	0.062	0.062	0.006	0.021	0.021	0.006	0.014	0.014		
RSD (Pool)	0.005417339											

Ek 146. İzokersitrin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	Ortalama % Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	100	1.0175	6.3928	0.0636	0.0045	24
İzokersitrin	500	0.9985	10.4818	0.0210	0.0058	24
	1000	1.0047	14.1644	0.0142	0.0061	24
ort		1.0069		0.0329	0.0055	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0038807

Ek 147. İzokersitrin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0054	0.0054
Bias	1.006902778	0.003880653	0.003854049
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0066
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0133

Ek 148. Apigetrin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Apigetrin	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	
Ort.	Aynı Gün	66	173	102.17	1.02	574	100.63	1.01	1066	99.52	1.00
		67	180	109.17	1.09	565	98.83	0.99	1088	101.72	1.02
		68	175	104.17	1.04	582	102.23	1.02	1095	102.42	1.02
		77	166	95.17	0.95	583	102.43	1.02	1068	99.72	1.00
		73	178	107.17	1.07	566	99.03	0.99	1082	101.12	1.01
		74	171	100.17	1.00	567	99.23	0.99	1073	100.22	1.00
		70.83	173.83	103.00	1.03	572.83	100.40	1.00	1078.67	100.78	1.01
	Std	4.446	5.037	5.037	0.050	8.134	1.627	0.016	11.587	1.159	0.012
	RSD	0.063	0.029	0.049	0.049	0.014	0.016	0.016	0.011	0.011	0.011
	Farklı Günler (1)	68	171	99.83	1.00	570	99.77	1.00	1094	102.28	1.02
65		166	94.83	0.95	577	101.17	1.01	1088	101.68	1.02	
71		174	102.83	1.03	573	100.37	1.00	1087	101.58	1.02	
74		166	94.83	0.95	568	99.37	0.99	1083	101.18	1.01	
72		166	94.83	0.95	581	101.97	1.02	1082	101.08	1.01	
76		170	98.83	0.99	580	101.77	1.02	1087	101.58	1.02	
74		175	103.83	1.04	573	100.37	1.00	1073	100.18	1.00	
68		167	95.83	0.96	573	100.37	1.00	1086	101.48	1.01	
71		170	98.83	0.99	572	100.17	1.00	1083	101.18	1.01	
72		180	108.83	1.09	573	100.37	1.00	1086	101.48	1.01	
Farklı Günler (2)	71	165	93.83	0.94	565	98.77	0.99	1072	100.08	1.00	
	77	168	96.83	0.97	568	99.37	0.99	1065	99.38	0.99	
	70	175	103.83	1.04	573	100.37	1.00	1060	98.88	0.99	
	66	180	108.83	1.09	566	98.97	0.99	1076	100.48	1.00	
	72	179	107.83	1.08	570	99.77	1.00	1065	99.38	0.99	
	74	169	97.83	0.98	585	102.77	1.03	1061	98.98	0.99	
	73	171	99.83	1.00	580	101.77	1.02	1067	99.58	1.00	
	67	172	100.83	1.01	570	99.77	1.00	1090	101.88	1.02	
	F.G.Ort.	71.17	171.33	100.17	1.00	573.17	100.40	1.00	1078.06	100.69	1.01
	F.G.Std	3.348	4.899	4.899	0.049	5.491	1.098	0.011	10.827	1.083	0.011
F.G.RSD	0.047	0.029	0.049	0.049	0.010	0.011	0.011	0.010	0.011	0.011	
Gen. Ort	71.08	171.96	100.88	1.01	573.08	100.40	1.00	1078.21	100.71	1.01	
Gen. Std	3.550	4.947	4.982	0.050	6.057	1.211	0.012	10.766	1.077	0.011	
Gen. RSD	0.050	0.029	0.049	0.049	0.011	0.012	0.012	0.010	0.011	0.011	
RSD (Pool)		0.029719965									

Ek 149. Apigetrin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	Ortalama % Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Apigetrin	100	1.0088	4.9474	0.0498	0.0288	24
	500	1.0040	6.0571	0.0121	0.0106	24
	1000	1.0071	10.7662	0.0108	0.0100	24
Ortalama		1.0066		0.0242	0.0164	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0028561

Ek 150. Apigetrin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0297	0.0297
Bias	1.006625	0.002856141	0.002837344
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0299
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0597

Ek 151. Roifolin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Roifolin	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	
Aynı Gün	31	140	105.00	1.05	1049	101.40	1.01	5032	99.94	1.00	
	39	138	103.00	1.03	1039	100.40	1.00	5036	100.02	1.00	
	37	136	101.00	1.01	1037	100.20	1.00	5022	99.74	1.00	
	37	137	102.00	1.02	1053	101.80	1.02	5043	100.16	1.00	
	34	138	103.00	1.03	1050	101.50	1.02	5028	99.86	1.00	
	32	135	100.00	1.00	1032	99.70	1.00	5040	100.10	1.00	
	Ort.	35.00	137.33	102.33	1.02	1043.33	100.83	1.01	5033.50	99.97	1.00
Std	3.162	1.751	1.751	0.018	8.454	0.845	0.008	7.791	0.156	0.002	
RSD	0.090	0.013	0.017	0.017	0.008	0.008	0.008	0.002	0.002	0.002	
Farklı Günler (1)	36	148	112.72	1.13	1036	100.07	1.00	5023	99.75	1.00	
	38	144	108.72	1.09	1045	100.97	1.01	5051	100.31	1.00	
	37	138	102.72	1.03	1037	100.17	1.00	5046	100.21	1.00	
	35	136	100.72	1.01	1031	99.57	1.00	5050	100.29	1.00	
	32	136	100.72	1.01	1044	100.87	1.01	5058	100.45	1.00	
	42	141	105.72	1.06	1031	99.57	1.00	5053	100.35	1.00	
	38	148	112.72	1.13	1051	101.57	1.02	5018	99.65	1.00	
Farklı Günler (2)	34	131	95.72	0.96	1030	99.47	0.99	5053	100.35	1.00	
	41	136	100.72	1.01	1043	100.77	1.01	5045	100.19	1.00	
	34	136	100.72	1.01	1055	101.97	1.02	5024	99.77	1.00	
	33	141	105.72	1.06	1055	101.97	1.02	5037	100.03	1.00	
	32	140	104.72	1.05	1030	99.47	0.99	5048	100.25	1.00	
	37	141	105.72	1.06	1033	99.77	1.00	5055	100.39	1.00	
	36	133	97.72	0.98	1047	101.17	1.01	5042	100.13	1.00	
Farklı Günler (3)	34	139	103.72	1.04	1038	100.27	1.00	5024	99.77	1.00	
	30	146	110.72	1.11	1043	100.77	1.01	5043	100.15	1.00	
	32	143	107.72	1.08	1051	101.57	1.02	5059	100.47	1.00	
	34	137	101.72	1.02	1054	101.87	1.02	5055	100.39	1.00	
	F.G.Ort.	35.28	139.67	104.39	1.04	1041.89	100.66	1.01	5043.56	100.17	1.00
	F.G.Std	3.177	4.839	4.839	0.048	8.983	0.898	0.009	13.057	0.261	0.003
	F.G.RSD	0.090	0.035	0.046	0.046	0.009	0.009	0.009	0.003	0.003	0.003
Gen. Ort	35.21	139.08	103.88	1.04	1042.25	100.70	1.01	5041.04	100.12	1.00	
Gen. Std	3.107	4.363	4.336	0.043	8.694	0.870	0.009	12.609	0.251	0.003	
Gen. RSD	0.088	0.031	0.042	0.042	0.008	0.009	0.009	0.003	0.003	0.003	
RSD (Pool) 0.047023437											

Ek 152. Roifolin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	Ortalama % Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Roifolin	100	1.0388	4.3631	0.0434	0.0314	24
	1000	1.0070	8.6941	0.0087	0.0083	24
	5000	1.0012	12.6094	0.0025	0.0025	24
ort		1.0157		0.0182	0.0141	n=72
karakök n:						8.4852814
Standard belirsizlik:						0.0021439

Ek 153. Roifolin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0470	0.0470
Bias	1.015652778	0.002143854	0.002110814
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0471
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0941

Ek 154. Nikotiflorin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Nikotiflorin	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	
Ort.	Aynı Gün	231	337	100.00	1.00	1243	100.60	1.01	5250	100.26	1.00
		240	340	103.00	1.03	1231	99.40	0.99	5223	99.72	1.00
		240	349	112.00	1.12	1244	100.70	1.01	5252	100.30	1.00
		242	344	107.00	1.07	1237	100.00	1.00	5248	100.22	1.00
		230	347	110.00	1.10	1250	101.30	1.01	5243	100.12	1.00
		239	348	111.00	1.11	1245	100.80	1.01	5218	99.62	1.00
		237.00	344.17	107.17	1.07	1241.67	100.47	1.00	5239.00	100.04	1.00
	Std	5.138	4.792	4.792	0.048	6.683	0.668	0.007	14.724	0.294	0.003
	RSD	0.022	0.014	0.045	0.045	0.005	0.007	0.007	0.003	0.003	0.003
	Farklı Günler (1)	234	336	99.11	0.99	1243	100.61	1.01	5259	100.44	1.00
233		345	108.11	1.08	1246	100.91	1.01	5204	99.34	0.99	
244		339	102.11	1.02	1242	100.51	1.01	5212	99.50	1.00	
234		342	105.11	1.05	1245	100.81	1.01	5241	100.08	1.00	
244		335	98.11	0.98	1243	100.61	1.01	5245	100.16	1.00	
243		346	109.11	1.09	1245	100.81	1.01	5259	100.44	1.00	
239		339	102.11	1.02	1240	100.31	1.00	5211	99.48	0.99	
230		347	110.11	1.10	1242	100.51	1.01	5211	99.48	0.99	
234		347	110.11	1.10	1233	99.61	1.00	5204	99.34	0.99	
244		339	102.11	1.02	1232	99.51	1.00	5255	100.36	1.00	
Farklı Günler (2)	236	331	94.11	0.94	1232	99.51	1.00	5252	100.30	1.00	
	235	337	100.11	1.00	1254	101.71	1.02	5234	99.94	1.00	
	237	340	103.11	1.03	1247	101.01	1.01	5238	100.02	1.00	
	234	349	112.11	1.12	1235	99.81	1.00	5254	100.34	1.00	
	235	335	98.11	0.98	1238	100.11	1.00	5245	100.16	1.00	
	243	330	93.11	0.93	1248	101.11	1.01	5244	100.14	1.00	
	231	331	94.11	0.94	1253	101.61	1.02	5246	100.18	1.00	
	234	339	102.11	1.02	1247	101.01	1.01	5213	99.52	1.00	
	F.G.Ort.	236.89	339.28	102.39	1.02	1242.50	100.56	1.01	5234.83	99.96	1.00
	F.G.Std	4.714	5.819	5.819	0.058	6.564	0.656	0.007	19.906	0.398	0.004
F.G.RSD	0.020	0.017	0.057	0.057	0.005	0.007	0.007	0.004	0.004	0.004	
Gen.	Ort	236.92	340.50	103.58	1.04	1242.29	100.54	1.01	5235.88	99.98	1.00
	Std	4.708	5.890	5.872	0.059	6.457	0.646	0.006	18.532	0.371	0.004
	RSD	0.020	0.017	0.057	0.057	0.005	0.006	0.006	0.004	0.004	0.004
RSD (Pool)		0.013543613									

Ek 155. Nikotiflorin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	Ortalama % Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Nikotiflorin	100	1.0358	5.8903	0.0587	0.0173	24
	1000	1.0054	6.4571	0.0065	0.0052	24
	5000	0.9998	18.5316	0.0037	0.0035	24
ort		1.0137		0.0230	0.0087	n=72
					karakök n:	8.4852814
				Standard belirsizlik:		0.0027062

Ek 156. Nikotiflorin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0135	0.0135
Bias	1.013666667	0.002706246	0.002669759
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0138
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0276

Ek 157. Fisetin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Fisetin	Spike Yok	Düşük spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (10000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün	0	498	99.60	1.00	4969	99.38	0.99	10058	100.58	1.01
	0	504	100.80	1.01	4958	99.16	0.99	10099	100.99	1.01
	0	499	99.80	1.00	5009	100.18	1.00	9965	99.65	1.00
	0	495	99.00	0.99	4979	99.58	1.00	10056	100.56	1.01
	0	500	100.00	1.00	4956	99.12	0.99	9976	99.76	1.00
	0	502	100.40	1.00	4991	99.82	1.00	9941	99.41	0.99
	0	499.67	99.93	1.00	4977.00	99.54	1.00	10015.83	100.16	1.00
Ort.	0	3.141	0.628	0.006	20.445	0.409	0.004	63.370	0.634	0.006
Std	0	0.006	0.006	0.006	0.004	0.004	0.004	0.006	0.006	0.006
RSD	0	0.006	0.006	0.006	0.004	0.004	0.004	0.006	0.006	0.006
Farklı Günler (1)	0	508	101.60	1.02	4969	99.38	0.99	10017	100.17	1.00
	0	490	98.00	0.98	5041	100.82	1.01	10011	100.11	1.00
	0	508	101.60	1.02	5025	100.50	1.01	9938	99.38	0.99
	0	501	100.20	1.00	5012	100.24	1.00	10019	100.19	1.00
	0	500	100.00	1.00	5005	100.10	1.00	9944	99.44	0.99
	0	495	99.00	0.99	5007	100.14	1.00	10046	100.46	1.00
	0	492	98.40	0.98	4956	99.12	0.99	9942	99.42	0.99
Farklı Günler (2)	0	507	101.40	1.01	5041	100.82	1.01	9973	99.73	1.00
	0	510	102.00	1.02	4955	99.10	0.99	9981	99.81	1.00
	0	495	99.00	0.99	4966	99.32	0.99	9981	99.81	1.00
	0	505	101.00	1.01	4972	99.44	0.99	9997	99.97	1.00
	0	510	102.00	1.02	5010	100.20	1.00	10012	100.12	1.00
	0	501	100.20	1.00	5046	100.92	1.01	9960	99.60	1.00
	0	496	99.20	0.99	5048	100.96	1.01	9900	99.00	0.99
Farklı Günler (3)	0	493	98.60	0.99	5013	100.26	1.00	9939	99.39	0.99
	0	506	101.20	1.01	4984	99.68	1.00	10077	100.77	1.01
	0	496	99.20	0.99	4968	99.36	0.99	9932	99.32	0.99
	0	510	102.00	1.02	4997	99.94	1.00	10009	100.09	1.00
F.G.Ort.	0	501.28	100.26	1.00	5000.83	100.02	1.00	9982.11	99.82	1.00
F.G.Std	0	6.884	1.377	0.014	31.653	0.633	0.006	45.394	0.454	0.005
F.G.RSD	0	0.014	0.014	0.014	0.006	0.006	0.006	0.005	0.005	0.005
Gen. Ort	0	500.88	100.18	1.00	4994.88	99.90	1.00	9990.54	99.91	1.00
Gen. Std	0	6.138	1.228	0.012	30.701	0.614	0.006	51.171	0.512	0.005
Gen. RSD	0	0.012	0.012	0.012	0.006	0.006	0.006	0.005	0.005	0.005
RSD (Pool) 0.007317879										

Ek 158. Fisetin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	Ortalama % Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sapma	RSD	Paralel Sayısı
Fisetin	500	1.0018	6.1384	0.0123	0.0123	24
	5000	0.9990	30.7010	0.0061	0.0061	24
	10000	0.9991	51.1715	0.0051	0.0051	24
ort		0.9999		0.0078	0.0078	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0009245

Ek 159. Fisetin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0073	0.0073
Bias	0.999926389	0.000924504	0.000924572
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0074
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0148

Ek 160. Luteolin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Luteolin	Spike Yok	Düşük spike (100 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	
Aynı Gün	1470	1579	106.50	1.07	1962	97.90	0.98	2472	99.95	1.00	
	1485	1576	103.50	1.04	1952	95.90	0.96	2451	97.85	0.98	
	1470	1590	117.50	1.18	1979	101.30	1.01	2461	98.85	0.99	
	1455	1566	93.50	0.94	1975	100.50	1.01	2479	100.65	1.01	
	1475	1565	92.50	0.93	1982	101.90	1.02	2462	98.95	0.99	
	1480	1577	104.50	1.05	1975	100.50	1.01	2489	101.65	1.02	
	Ort.	1472.50	1575.50	103.00	1.03	1970.83	99.67	1.00	2469.00	99.65	1.00
	Std	10.368	9.225	9.225	0.092	11.479	2.296	0.023	13.755	1.375	0.014
	RSD	0.007	0.006	0.090	0.090	0.006	0.023	0.023	0.006	0.014	0.014
Farklı Günler (1)	1467	1576	101.39	1.01	1982	101.48	1.01	2454	97.94	0.98	
	1480	1568	93.39	0.93	1956	96.28	0.96	2440	96.54	0.97	
	1486	1564	89.39	0.89	1971	99.28	0.99	2452	97.74	0.98	
	1466	1582	107.39	1.07	1967	98.48	0.98	2483	100.84	1.01	
	1483	1582	107.39	1.07	1987	102.48	1.02	2449	97.44	0.97	
	1468	1581	106.39	1.06	1962	97.48	0.97	2463	98.84	0.99	
Farklı Günler (2)	1489	1589	114.39	1.14	1965	98.08	0.98	2461	98.64	0.99	
	1475	1561	86.39	0.86	1967	98.48	0.98	2454	97.94	0.98	
	1483	1561	86.39	0.86	1974	99.88	1.00	2447	97.24	0.97	
	1466	1568	93.39	0.93	1950	95.08	0.95	2442	96.74	0.97	
	1470	1574	99.39	0.99	1965	98.08	0.98	2488	101.34	1.01	
	1488	1560	85.39	0.85	1990	103.08	1.03	2479	100.44	1.00	
Farklı Günler (3)	1489	1584	109.39	1.09	1965	98.08	0.98	2453	97.84	0.98	
	1470	1569	94.39	0.94	1950	95.08	0.95	2458	98.34	0.98	
	1481	1578	103.39	1.03	1991	103.28	1.03	2468	99.34	0.99	
	1458	1584	109.39	1.09	1998	104.68	1.05	2500	102.54	1.03	
	1468	1590	115.39	1.15	1951	95.28	0.95	2484	100.94	1.01	
	1456	1586	111.39	1.11	1963	97.68	0.98	2449	97.44	0.97	
F.G.Ort.	1474.61	1575.39	100.78	1.01	1969.67	99.01	0.99	2462.44	98.78	0.99	
F.G.Std	10.550	10.054	10.054	0.101	14.625	2.925	0.029	17.389	1.739	0.017	
F.G.RSD	0.007	0.006	0.100	0.100	0.007	0.030	0.030	0.007	0.018	0.018	
Gen. Ort	1474.08	1575.42	101.33	1.01	1969.96	99.18	0.99	2464.08	99.00	0.99	
Gen. Std	10.321	9.655	9.704	0.097	13.675	2.748	0.027	16.524	1.671	0.017	
Gen. RSD	0.007	0.006	0.096	0.096	0.007	0.028	0.028	0.007	0.017	0.017	
RSD (Pool) 0.006703158											

Ek 161. Luteolin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	Ortalama % Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Luteolin	100	1.0133	9.6545	0.0970	0.0061	24
	500	0.9918	13.6747	0.0275	0.0069	24
	1000	0.9900	16.5238	0.0167	0.0067	24
ort		0.9984		0.0471	0.0066	n=72
karakök n:						8.4852814
Standard belirsizlik:						0.0055484

Ek 162. Luteolin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0067	0.0067
Bias	0.998361111	0.005548415	0.005557523
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0087
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0174

Ek 163. Mirisetin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

Mirisetin	Spike Yok	Düşük spike (500 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (10000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)
Aynı Gün	0	498	99.60	1.00	4998	99.96	1.00	9994	99.94	1.00
	0	508	101.60	1.02	4988	99.76	1.00	9933	99.33	0.99
	0	495	99.00	0.99	5029	100.58	1.01	10061	100.61	1.01
	0	503	100.60	1.01	4971	99.42	0.99	10039	100.39	1.00
	0	500	100.00	1.00	4958	99.16	0.99	10071	100.71	1.01
	0	499	99.80	1.00	4981	99.62	1.00	9959	99.59	1.00
	0	500.50	100.10	1.00	4987.50	99.75	1.00	10009.50	100.10	1.00
Ort.	0	4.506	0.901	0.009	24.566	0.491	0.005	56.476	0.565	0.006
Std	0	0.009	0.009	0.009	0.005	0.005	0.005	0.006	0.006	0.006
RSD	0	0.009	0.009	0.009	0.005	0.005	0.005	0.006	0.006	0.006
Farklı Günler (1)	0	503	100.60	1.01	5031	100.62	1.01	10071	100.71	1.01
	0	502	100.40	1.00	4967	99.34	0.99	10065	100.65	1.01
	0	496	99.20	0.99	4996	99.92	1.00	9984	99.84	1.00
	0	493	98.60	0.99	4996	99.92	1.00	10001	100.01	1.00
	0	497	99.40	0.99	5010	100.20	1.00	10060	100.60	1.01
	0	509	101.80	1.02	5019	100.38	1.00	10081	100.81	1.01
	0	505	101.00	1.01	5028	100.56	1.01	10005	100.05	1.00
Farklı Günler (2)	0	500	100.00	1.00	5019	100.38	1.00	9916	99.16	0.99
	0	499	99.80	1.00	5019	100.38	1.00	10010	100.10	1.00
	0	500	100.00	1.00	5033	100.66	1.01	10052	100.52	1.01
	0	508	101.60	1.02	5041	100.82	1.01	9969	99.69	1.00
	0	499	99.80	1.00	4964	99.28	0.99	9965	99.65	1.00
	0	501	100.20	1.00	4997	99.94	1.00	9932	99.32	0.99
	0	494	98.80	0.99	4970	99.40	0.99	9946	99.46	0.99
Farklı Günler (3)	0	507	101.40	1.01	5050	101.00	1.01	9951	99.51	1.00
	0	502	100.40	1.00	5022	100.44	1.00	9957	99.57	1.00
	0	491	98.20	0.98	4963	99.26	0.99	10028	100.28	1.00
	0	496	99.20	0.99	4956	99.12	0.99	10034	100.34	1.00
F.G.Ort.	0	500.11	100.02	1.00	5004.50	100.09	1.00	10001.50	100.02	1.00
F.G.Std	0	5.121	1.024	0.010	29.653	0.593	0.006	51.703	0.517	0.005
F.G.RSD	0	0.010	0.010	0.010	0.006	0.006	0.006	0.005	0.005	0.005
Gen. Ort	0	500.21	100.04	1.00	5000.25	100.01	1.00	10003.50	100.04	1.00
Gen. Std	0	4.881	0.976	0.010	28.943	0.579	0.006	51.786	0.518	0.005
Gen. RSD	0	0.010	0.010	0.010	0.006	0.006	0.006	0.005	0.005	0.005
RSD (Pool)	0.006235382									

Ek 164. Mirisetin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G. K. Çal. (mg/L)	Ortalama % Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Mirisetin	500	1.0004	4.8810	0.0098	0.0098	24
	5000	1.0001	28.9426	0.0058	0.0058	24
	10000	1.0004	51.7855	0.0052	0.0052	24
ort		1.0003		0.0069	0.0069	n=72
					karakök n:	8.4852814
					Standard belirsizlik:	0.0008143

Ek 165. Mirisetin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0062	0.0062
Gerçeklik	1.000272222	0.000814316	0.000814094
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0063
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0126

Ek 166. Kamferol için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort. :ortalama, Std.:standart sapma)

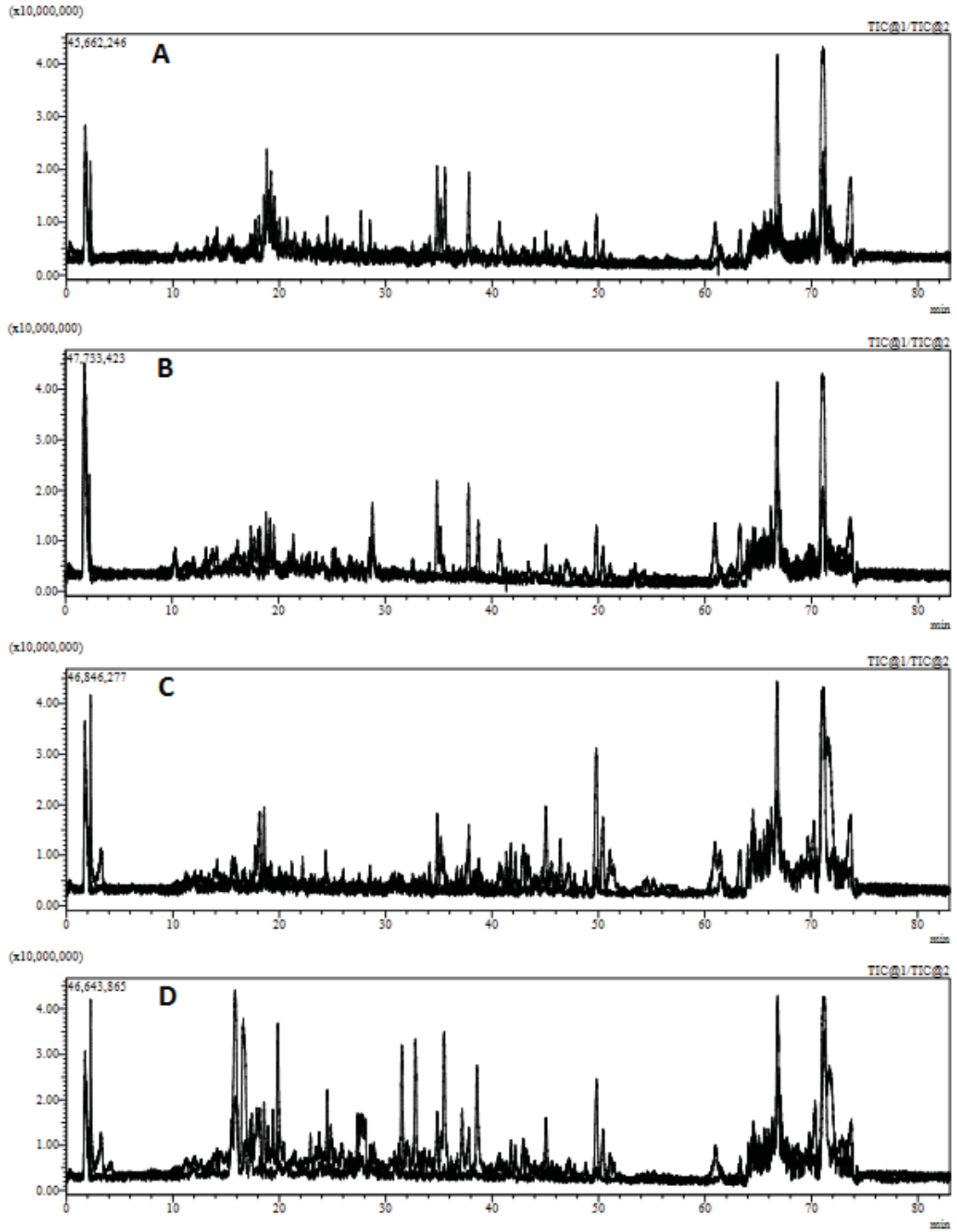
Kamferol	Spike yok	Düşük spike (1000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Orta spike (5000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	Yüksek spike (10000 ppm)	Geri Kaz.	Geri Kaz. (%)	
Ort.	Aynı Gün	0	998	99.80	1.00	4954	99.08	0.99	9946	99.46	0.99
		0	1012	101.20	1.01	5079	101.58	1.02	9978	99.78	1.00
		0	971	97.10	0.97	4917	98.34	0.98	10104	101.04	1.01
		0	1000	100.00	1.00	5085	101.70	1.02	9899	98.99	0.99
		0	1003	100.30	1.00	5027	100.54	1.01	10143	101.43	1.01
		0	1020	102.00	1.02	4913	98.26	0.98	9887	98.87	0.99
			1000.67	100.07	1.00	4995.83	99.92	1.00	9992.83	99.93	1.00
	Std		16.705	1.671	0.017	78.313	1.566	0.016	107.076	1.071	0.011
	RSD		0.017	0.017	0.017	0.016	0.016	0.016	0.011	0.011	0.011
	Farklı Günler (1)	0	999	99.90	1.00	4914	98.28	0.98	9941	99.41	0.99
0		989	98.90	0.99	5022	100.44	1.00	9994	99.94	1.00	
0		998	99.80	1.00	5021	100.42	1.00	9950	99.50	1.00	
0		1022	102.20	1.02	4922	98.44	0.98	10170	101.70	1.02	
0		971	97.10	0.97	4979	99.58	1.00	10023	100.23	1.00	
0		1013	101.30	1.01	4990	99.80	1.00	10049	100.49	1.00	
0		981	98.10	0.98	4988	99.76	1.00	10106	101.06	1.01	
0		1007	100.70	1.01	5042	100.84	1.01	10078	100.78	1.01	
0		983	98.30	0.98	5030	100.60	1.01	10100	101.00	1.01	
0		980	98.00	0.98	5074	101.48	1.01	9941	99.41	0.99	
Farklı Günler (2)	0	985	98.50	0.99	5000	100.00	1.00	9972	99.72	1.00	
	0	967	96.70	0.97	4947	98.94	0.99	10074	100.74	1.01	
	0	1017	101.70	1.02	4941	98.82	0.99	9945	99.45	0.99	
	0	1004	100.40	1.00	4978	99.56	1.00	9888	98.88	0.99	
	0	991	99.10	0.99	5020	100.40	1.00	10041	100.41	1.00	
	0	995	99.50	1.00	5016	100.32	1.00	10062	100.62	1.01	
	0	997	99.70	1.00	4940	98.80	0.99	10012	100.12	1.00	
	0	1005	100.50	1.01	5069	101.38	1.01	10022	100.22	1.00	
	F.G.Ort.	0	994.67	99.47	0.99	4994.06	99.88	1.00	10020.44	100.20	1.00
	F.G.Std	0	15.274	1.527	0.015	47.518	0.950	0.010	72.399	0.724	0.007
F.G.RSD	0	0.015	0.015	0.015	0.010	0.010	0.010	0.007	0.007	0.007	
Gen. Ort	0	996.17	99.62	1.00	4994.50	99.89	1.00	10013.54	100.14	1.00	
Gen. Std	0	15.497	1.550	0.015	54.798	1.096	0.011	80.721	0.807	0.008	
Gen. RSD	0	0.016	0.016	0.016	0.011	0.011	0.011	0.008	0.008	0.008	
RSD (Pool)	0.010336281										

Ek 167. Kamferol için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

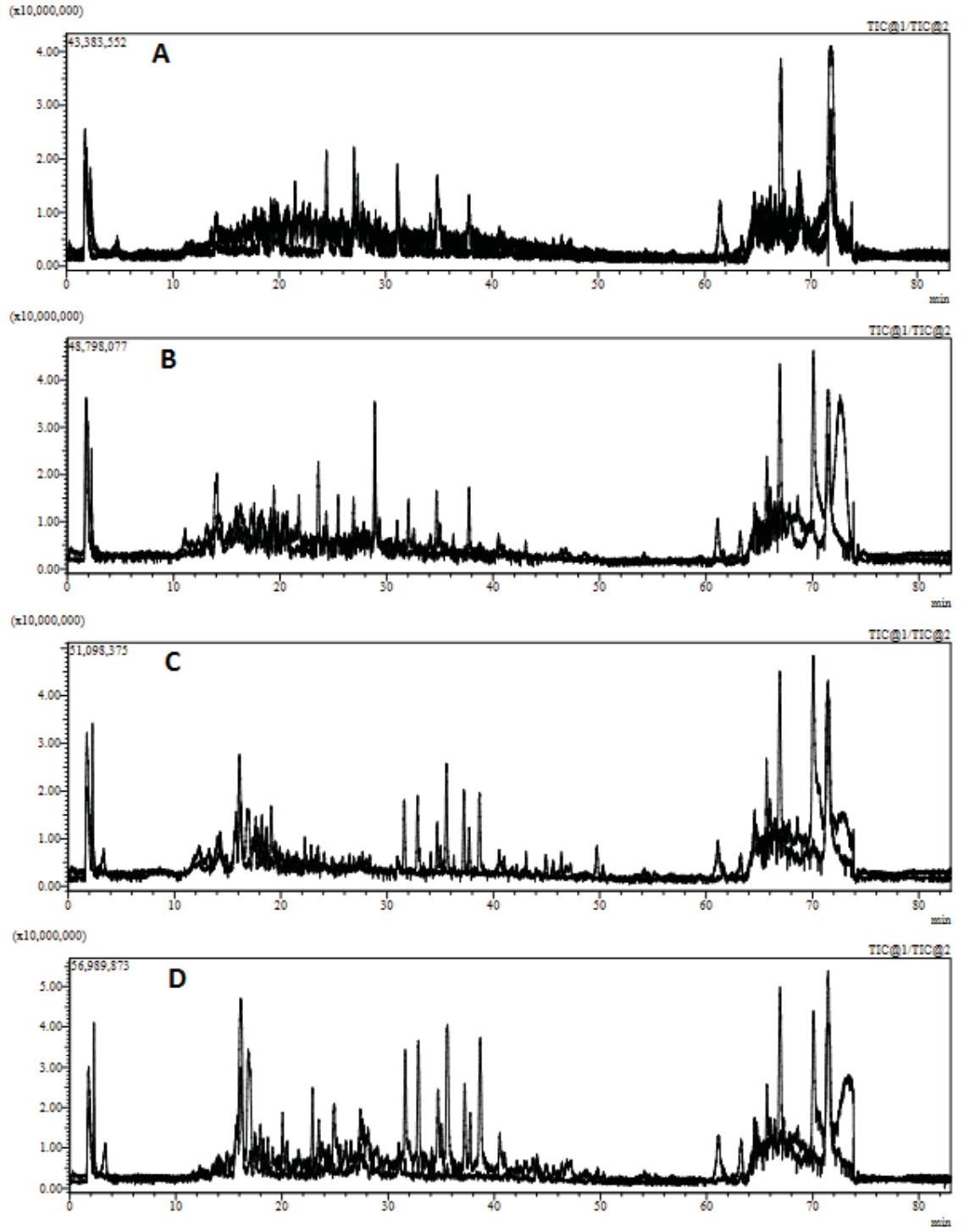
Analit	G. K. Çal. (mg/L)	Ortalama % Geri Kazanım	Analiz Son. St. Sapma	% Geri Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
Kamferol	1000	0.9962	15.4966	0.0155	0.0156	24
	5000	0.9989	54.7977	0.0110	0.0110	24
	10000	1.0014	80.7207	0.0081	0.0081	24
ort		0.9988		0.0115	0.0115	n=72
karakök n:						8.4852814
Standard belirsizlik:						0.0013564

Ek 168. Kamferol için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

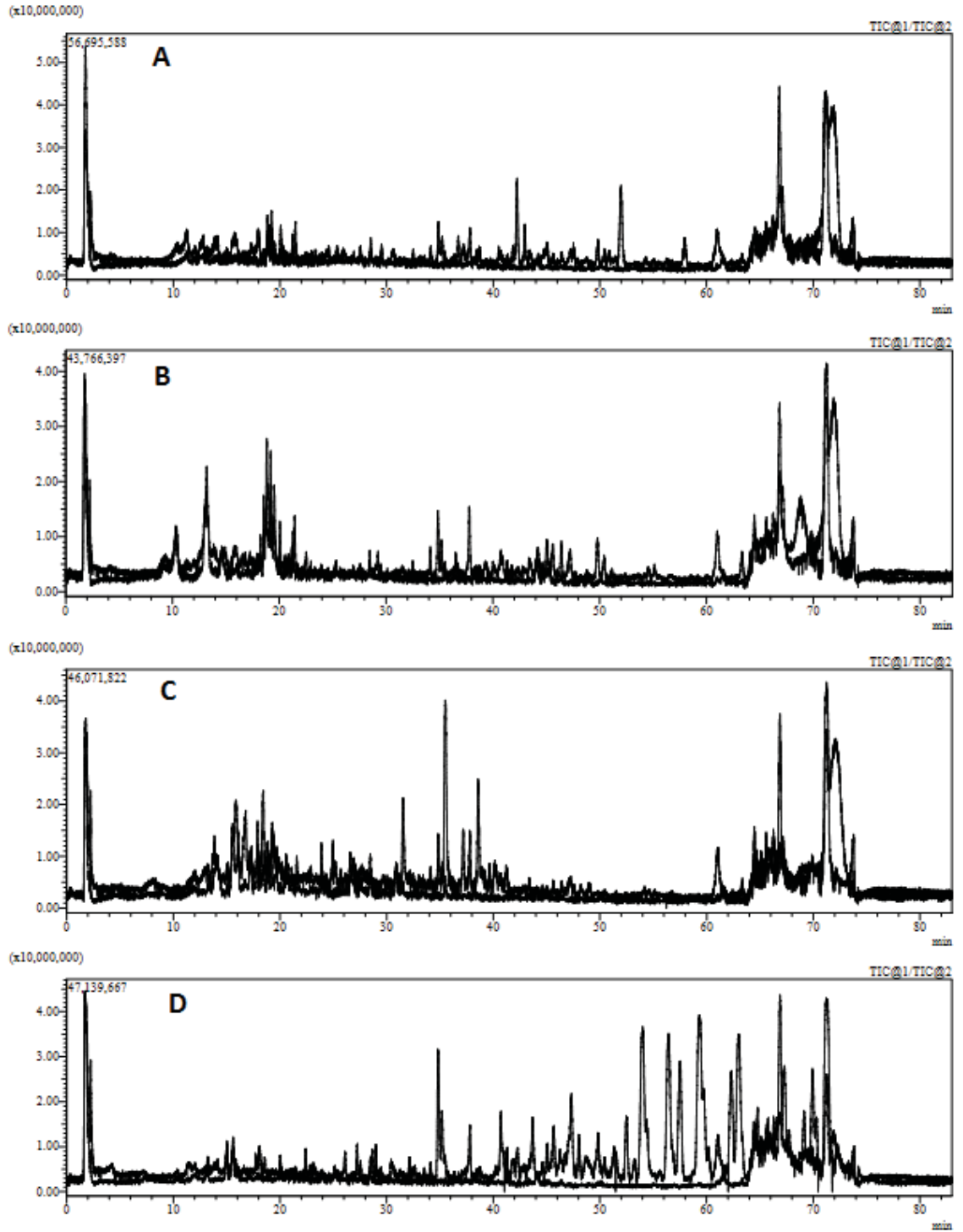
Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.0103	0.0103
Bias	0.998806944	0.001356396	0.001358016
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$			0.0104
Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)			0.0209



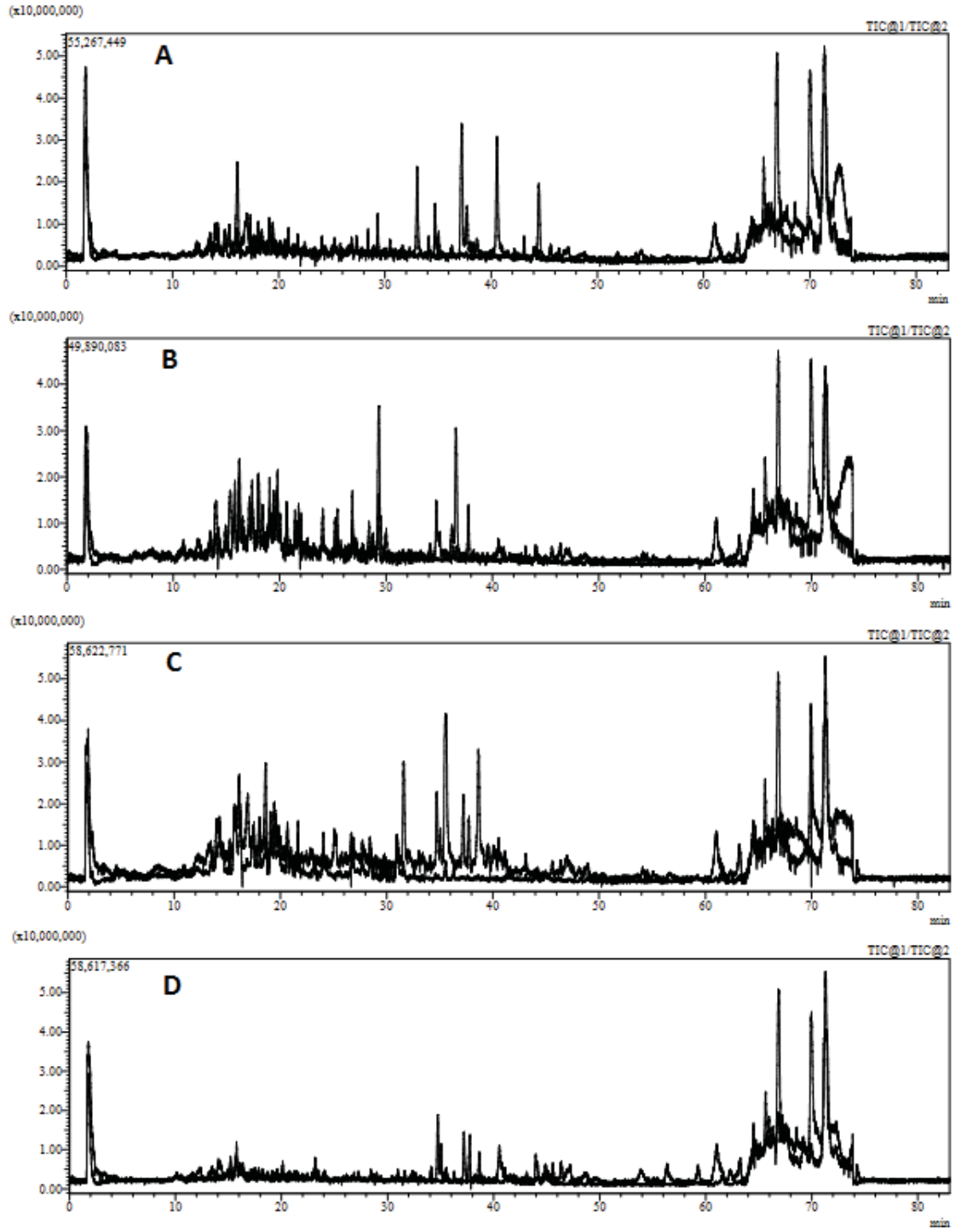
Ek 169. *A. monocephala*, *A. nobilis*, *A. gonioccephala* ve *A. sintenisii* toprak altı kloroform-metanol ekstrlerinin LC-MS IT-TOF kromatogramları



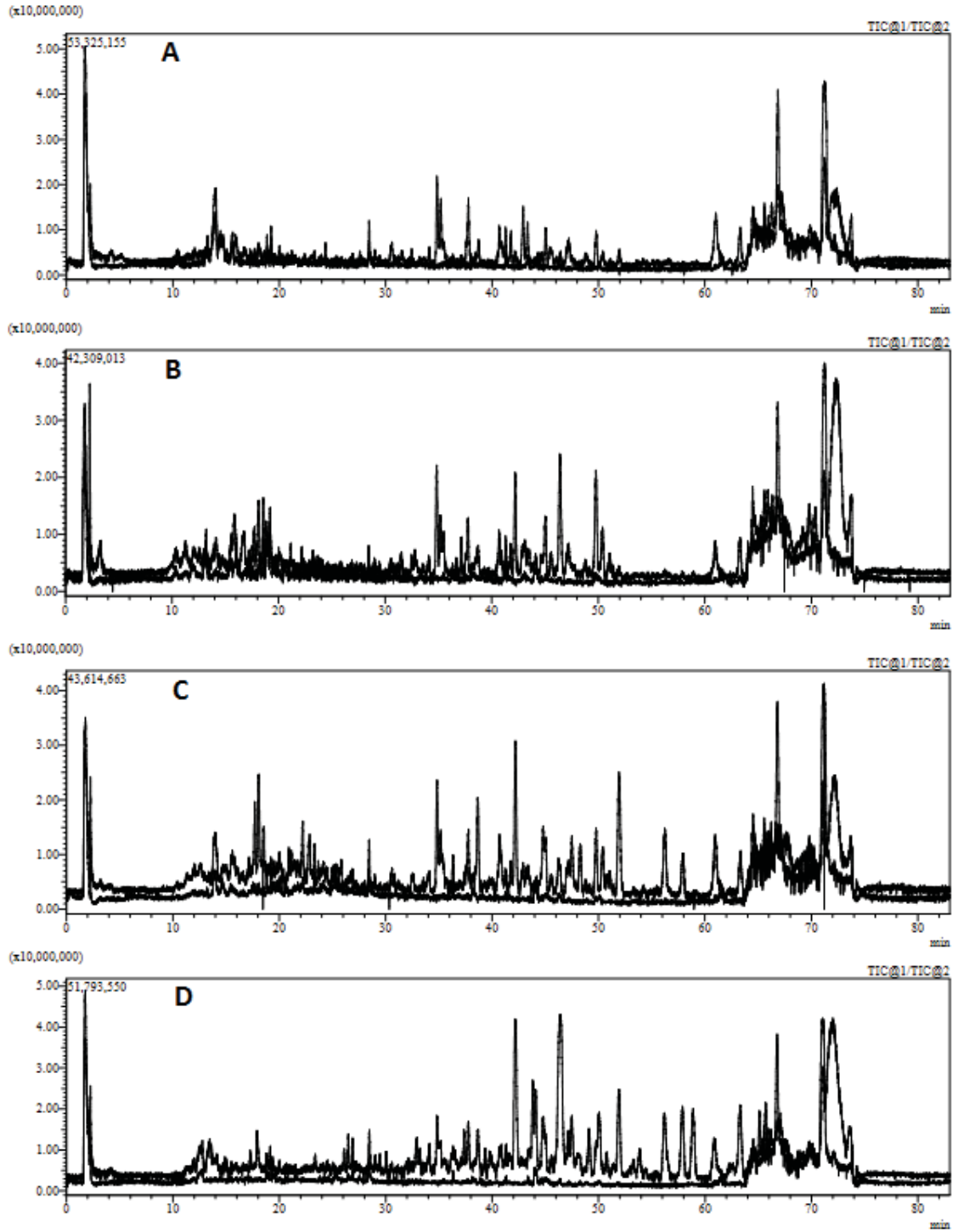
Ek 170. *A. monocephala*, *A. nobilis*, *A. goniocephala* ve *A. sintenisii* toprak üstü kloroform-metanol ekstralarının LC-MS IT-TOF kromatogramları



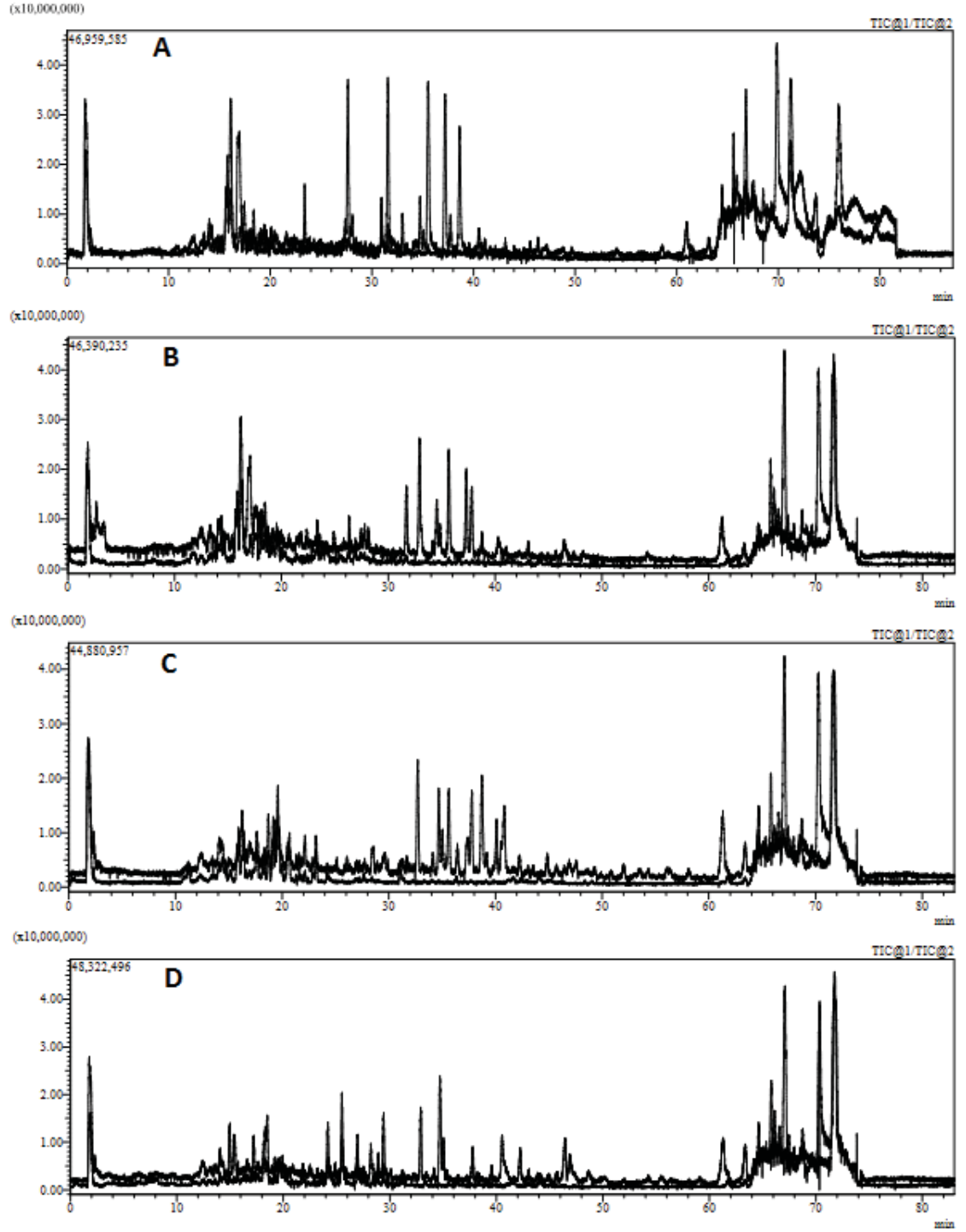
Ek 171. *A. coarctata*, *A. kotschyi*, *A. millefolium*, ve *A. lycaonica* toprak altı kloroform-metanol ekstrlerinin LC-MS IT-TOF kromatogramları



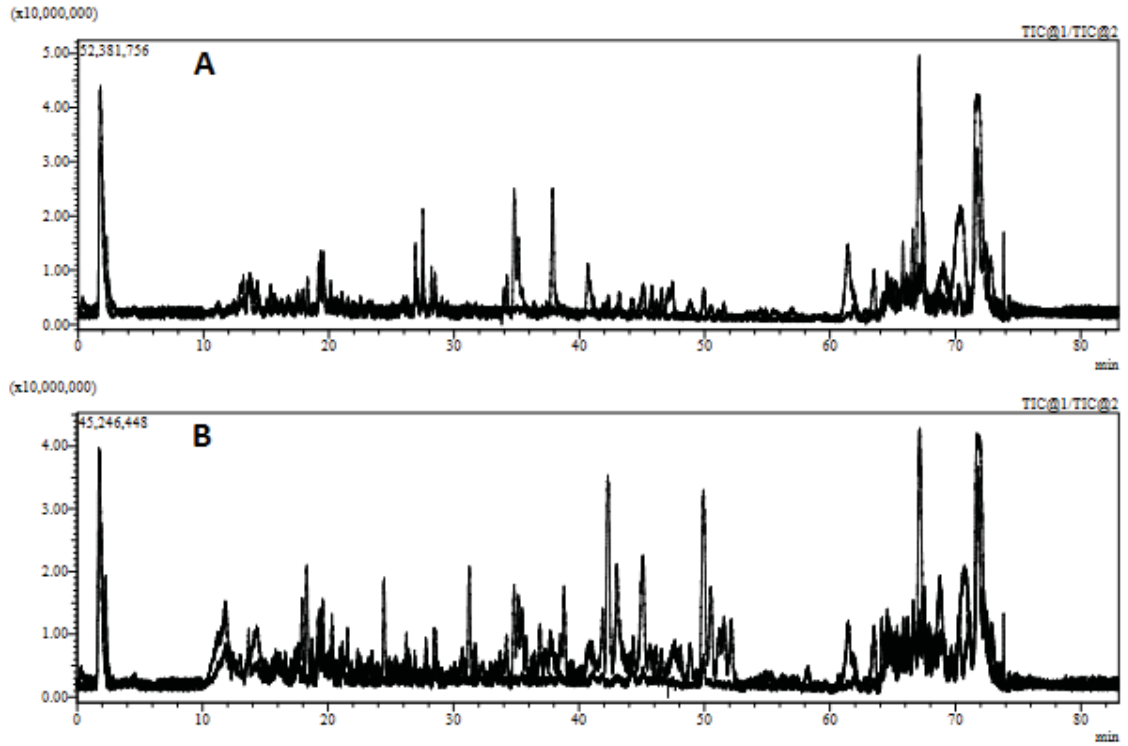
Ek 172. *A. coarctata*, *A. kotschyi*, *A. millefolium*, ve *A. lycaonica* toprak üstü kloroform-metanol ekstralarının LC-MS IT-TOF kromatogramları



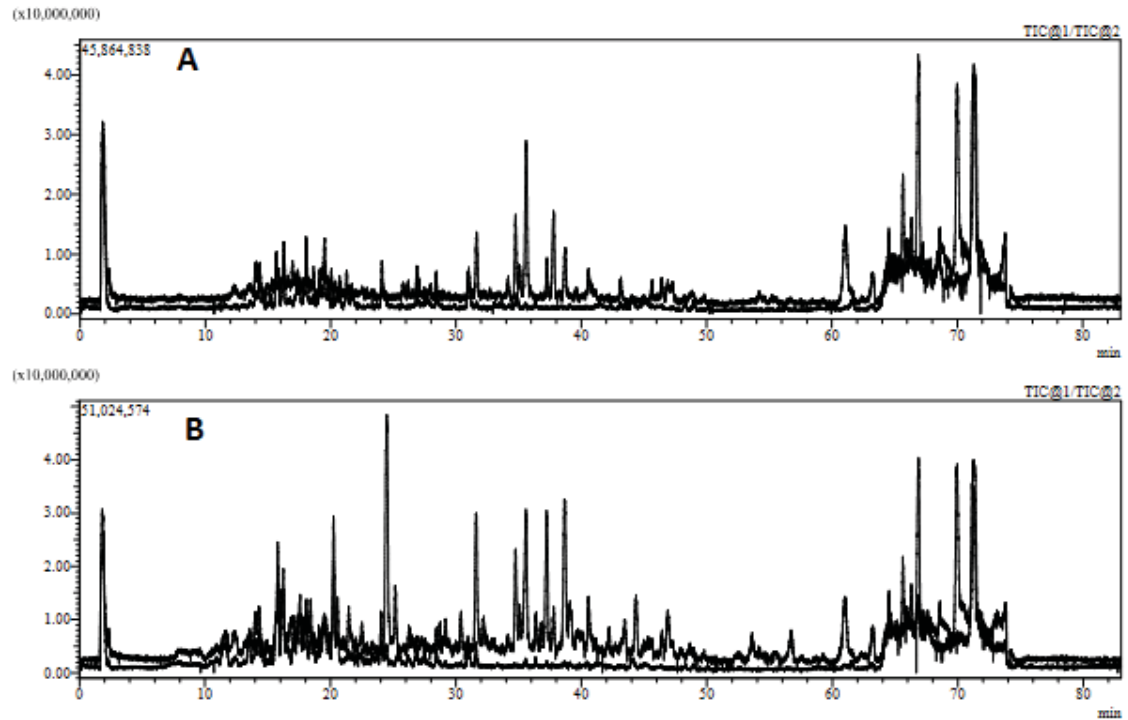
Ek 173. *A. wilhelmsii*, *A. spinulifolia*, *A. teretifolia*, ve *A. biebersteinii* toprak altı kloroform-metanol ekstraktlarının LC-MS IT-TOF kromatogramları



Ek 174. *A. wilhelmsii*, *A. spinulifolia*, *A. teretifolia*, ve *A. biebersteinii* toprak üstü kloroform-metanol ekstraktlarının LC-MS IT-TOF kromatogramları



Ek 175. *A. setacea*, ve *A. schischkinii* toprak altı kloroform-metanol ekstrelerinin LC-MS IT-TOF kromatogramları



Ek 176. *A. setacea*, ve *A. schischkinii* toprak üstü kloroform-metanol ekstrelerinin LC-MS IT-TOF kromatogramları

ÖZGEÇMİŞ



Adı Soyadı : Mustafa Abdullah YILMAZ
Doğum Yeri / Tarihi : Erzurum / 30 Aralık 1979
Medeni Hali : Evli ve 3 çocuk babası
Adres : Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji
Uygulama ve Araştırma Merkezi
(DÜBTAM), 21280 Sur / Diyarbakır
Tel : +90 505 662 49 22
E-mail : mustafaabdullahyilmaz@gmail.com

Eğitim Durumu:

Derece	Bölüm	Üniversite	Yıl
Lisans	Kimya	Ortadoğu Teknik Üniversitesi	1998-2004
Y. Lisans	Kimya	Harran Üniversitesi	2006- 2010
Doktora	Kimya	Dicle Üniversitesi	2012-2015

Uluslararası Dergilerde Yayımlanan Makaleleri:

1. Agar, O.T., Dikmen, M., Ozturk, N., **Yilmaz, M.A.**, Temel, H., and Turkmenoglu, F.P. 2015. Comparative Studies on Phenolic Composition, Antioxidant, Wound Healing and Cytotoxic Activities of Selected *Achillea* L. Species Growing in Turkey. *Molecules*, 20 (10): 17976-18000.
2. Ertas, A., **Yilmaz, M.A.**, Boga, M., Hasimi, N., Yesil, Y., Goren, A.C., Temel, H. and Topcu, G. 2016. Chemical profile and biological activities of two edible plants: Chemical investigation and quantitative analysis using LC-MS/MS and GC-MS. *International Journal of Food Properties*, 19 (1): 124-138.

3. Ertas, A., Boga, M., **Yilmaz, M.A.**, Yesil, Y., Tel, G., Temel, H., Hasimi, N., Gazioglu, I., Ozturk, M., Ugurlu, P. 2015. A detailed study on the chemical and biological profiles of essential oil and methanol extract of *Thymus nummularius* (Anzer tea): Rosmarinic acid. *Industrial Crops and Products*, 67: 336-345.
4. Ertas, A., **Yilmaz, M.A.**, Firat, M. 2015. Chemical profile by LC-MS/MS, GC/MS and antioxidant activities of the essential oils and crude extracts of two *Euphorbia* species. *Natural Product Research*, 29 (6): 529-534.
5. Önen, K., **Yilmaz, M.A.**, Dicle, Y., Kavak, O. and Temel, H. 2015. Geochemical Methods to Investigate the Hydrocarbon Seepage Samples in Adiyaman a Southeastern Province of Turkey. *International Journal of Environmental Research*, 9 (2): 663-672.
6. Ertas, A., Boga, M., Hasimi, N., **Yilmaz, M.A.** 2015. Fatty Acid and Essential Oil Compositions of *Trifolium angustifolium* var. *angustifolium* with Antioxidant, Anticholinesterase and Antimicrobial Activities. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 14 (1): 233-241.
7. Ertas, A., Boga, M., **Yilmaz, M.A.**, Yesil, Y., Hasimi, N., Kaya, M.Ş., Temel, H. and Kolak, U. 2014. Chemical Compositions by Using LC-MS/MS and GC-MS and Biological Activities of *Sedum sediforme* (Jacq.) Pau. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62 (20): 4601-4609.

Ulusal Dergilerde Yayınlanan Makaleleri:

1. Boga, M., Ertas, A., Yesil, Y., Hasimi, N., **Yilmaz, M.A.**, Ozaslan, C. 2014. Türkiye Kaynaklı *Pulicaria Dysenterica* bitkisinin fitokimyasal analizi ve antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri. *DUFED*, 3 (1), 53-60.