

T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DİASETİL-6- GİNGEROLÜN SENTEZİ VE 6-GİNGEROL İLE
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN KARŞILAŞTIRMALI
OLARAK TAYİNİ**

Soyun MEREDOV

Danışman: Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL

KİMYA
ANABİLİM DALI

ERZİNCAN
2023

Her Hakkı Saklıdır.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DİASETİL-6- GİNGEROLÜN SENTEZİ VE 6-GİNGEROL İLE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN KARŞILAŞTIRMALI OLARAK TAYİNİ

Soyun MEREDOV

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL

Yapılan bu tez çalışmasında Zencefil (*Zingiber Officinale* Rosc.) bitkisi kullanılarak bitkiden 6-gingerol bileşiği kromatografik yöntemlerle izole edilmiş ve yapı tayini yapılmıştır. Elde edilen bu sekonder metabolit asetatlanarak diasetil-6-gingerol elde edilmiştir. Her iki bileşik için antioksidan, antifungal, antimikrobiyal testler gerçekleştirilmiş olup ve ayrıca asetilkolin esterase, bütirilkolin esterase ve α -glukozidaz enzimleri üzerinde inhibisyon etkileri çalışılmıştır.

6-gingerolün 1000 μ L'lik dozunda %89.7, 800 μ L'lik dozunda ise %69.7'lik bir antifungal engelleme görülmüştür. Buna karşın diasetil-6-gingerolün 1000 μ L'lik dozunda %100, 800 μ L'lik dozunda ise %90.5'lik antifungal engelleme belirlenmiştir. Türev bileşiğin antioksidan potansiyelinin başlangıç bileşiğine göre daha az olduğu görülmüştür. Her iki molekülün çalışılan üç enzim üzerinde standart inhibitörlerden daha az inhibisyon etkisi belirlenmiştir. 6-gingerol ve diasetil-6-gingerol molekülleri *S. Pneumoniae* ve *S. agalactia*'ya karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

2023, 48 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Biyolojik aktivite, Gingerol, İzolasyon, Zencefil

ABSTRACT

Master

SYNTHESIS OF DIACETYL 6-GINGEROL AND COMPARATIVE DETERMINATION OF ITS BIOLOGICAL ACTIVITIES WITH 6- GINGEROL

Soyun MEREDOV

Erzincan Binali Yıldırım University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL

In this thesis study, using the ginger (*Zingiber Officinale* Rosc.) plant, 6-gingerol compound was isolated from the plant by chromatographic methods and its structure was determined. This secondary metabolite obtained was acetate and diacetyl-6-gingerol was obtained. Antioxidant, antifungal, antimicrobial tests were performed for both compounds, and also their inhibition effects on acetylcholine esterase, butyrylcholine esterase and α -glucosidase enzymes were studied.

An inhibition of 89.7% was observed at the 1000 μ L dose of 6-gingerol, and 69.7% at the 800 μ L dose. On the other hand, 100% inhibition was determined in 1000 μ L dose of diacetyl-6-gingerol and 90.5% inhibition in 800 μ L dose. It was observed that the antioxidant potential of the derivative compound was less than the starting compound. Both molecules had less inhibitory effects on the three studied enzymes than standard inhibitors. 6-gingerol and diacetyl-6-gingerol molecules showed antimicrobial activity against *S. pneumoniae* and *S. agalactia*.

2023, 48 Pages

Keywords: Biological activity, Gingerol, Isolation, Ginger

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim boyunca üzerimde büyük emeği bulunan, çalışmalarımın her aşamasında desteğini ve yardımını esirgemeyen, yaptığım çalışmalar için bilgisini ve deneyimlerini paylaşan değerli bilim insanı danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince her türlü desteğini, yardımını, bilgisini, tecrübesini benimle paylaşan Sayın Dr. Öğr. Üyesi Cemalettin ALP'e en içtenlikle saygı, şükran ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın her aşamasında desteğini esirgemeyen Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü doktora öğrencisi Sevgi ALTIN' a,

Antifungal aktivite testlerinde yardımcı olan Hakkâri Üniversitesinden Sayın Dr. Öğr. Üyesi Sinem KARAKUŞ'a,

Çalışmama desteğinden dolayı Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü doktora öğrencisi Tuba Nur SUYURDU' na,

Antimikrobiyal aktivite testlerinde yardımcı olan Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji bölümünden Dr. Öğr. Üyesi Sümeyye AKYÜZ'e,

Tez çalışmam için her türlü imkânı sağlayan ve desteklerini sakınmayan Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölüm Başkanı Prof. Dr. Fatih ÇOLDUR'a,

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen hep yanımda duran aileme sonsuz teşekkür ederim.

Soyun MEREDOV

Ağustos, 2023

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
TABLolar LİSTESİ.....	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	8
2.1. Zencefil (<i>Zingiber Officinale</i> Rosc.)	8
2.2. Gingerol.....	9
2.3. Türev yapılar	9
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	11
3.1. Materyal.....	11
3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler.....	11
3.1.2. Yararlanılan alet ve cihazlar	11
3.2. Yöntem.....	12
3.2.1 6-gingerol'ün (5-hidroksi-1-(4-hidroksi-3-metoksifenil)dekan-3-on) izolasyonu	12
3.2.2. 6-gingerol'den diasetil-6-gingerol (1-(4-asetoksi-3-metoksifenil)-3- oksodekan-5-il asetat) sentezi	13
3.2.3. Enzim inhibisyon çalışmalarında kullanılan çözeltiler	14
3.2.3.1. Bütirilkolinesteraz enziminin aktivite ölçümlerinde kullanılan çözeltilerin hazırlanması	14
3.2.3.2. Asetilkolinesteraz enziminin aktivite ölçümlerinde kullanılan çözeltilerin hazırlanması	14
3.2.3.3. α -glikozidaz enziminin aktivite ölçümlerinde kullanılan çözeltilerin hazırlanması	15
3.3. Antifungal Aktivite Ölçüm Çalışmaları	15

3.4. Antimikrobiyal Aktivite Ölçüm Çalışmaları	16
3.4.1. Antimikrobiyal tarama	16
3.4.2. İnokulum hazırlanması	16
3.4.3. Disk difüzyon testi	17
3.4.4. Sıvı mikrodilüsyon testi	17
3.5. Antioksidan Aktivite Belirleme Çalışmaları	18
3.5.1. DPPH serbest radikal giderme metodu	18
3.5.2. Fe^{3+} iyonlarını Fe^{2+} iyonlarına indirgeme gücü	19
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	21
4.1. 6-gingerol'ün (5-hidroksi-1-(4-hidroksi-3-metoksifenil)dekan-3-on)... İzolasyonu	21
4.2. 6-gingerol'den diasetil-6-gingerol (1-(4-asetoksi-3-metoksifenil)-3-oksodekan- 5-il asetat) Sentezi	21
4.3. Enzim Aktivite İnhibisyon Çalışmaları Sonuçları	22
4.3.1. Bütirikolinesteraz aktivite inhibisyon çalışmaları sonuçları	22
4.3.2. Asetilkolinesteraz aktivite inhibisyon çalışmaları sonuçları	24
4.3.3. α -glikozidaz aktivite inhibisyon çalışmaları sonuçları	26
4.4. Antifungal Aktivite İnhibisyon Sonuçları	28
4.5. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	31
4.5.1. Disk difüzyon testi	31
4.5.2. Sıvı mikrodilüsyon testi	32
4.6. Antioksidan Aktivite Ölçüm Sonuçları	33
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	36
KAYNAKLAR	39
EKLER	45
EKLER	46
Ek-1. 6-gingerol'ün 400 MHz 1H -NMR spektrumu	46
EK-2. Diasetil 6-gingerol'ün 400 MHz 1H -NMR spektrumu	47
EK-3. Diasetil-6-gingerol'ün 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumu	48

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 6-Gingerol biyosentetik oluşum mekanizması	5
Şekil 3.1 Diasetil-6-gingerol (1-(4-asetoksi-3-metoksifenil)-3-oksoheksan-5-il asetat) sentezi	13
Şekil 3.2 Antioksidan aktivite belirleme çalışmalarında standart antioksidan olarak kullanılan troloks molekülünün yapısı	18
Şekil 4.1. BChE enzim aktivitesinde çalışılan 6-gingerol molekülünün farklı derişimleri ile çizilen aktivite (%) -6-gingerol grafiğı	22
Şekil 4.2. BChE enzim aktivitesinde çalışılan diasetil-6-gingerol molekülünün farklı derişimleri ile çizilen aktivite (%) -diasetil-6-gingerol grafiğı.....	23
Şekil 4.3. BChE enzim aktivitesinde çalışılan takrinin farklı derişimleri ile çizilen aktivite (%) -takrin grafiğı.....	23
Şekil 4.4. AChE enzim aktivitesinde çalışılan 6-gingerol molekülünün farklı derişimleri ile çizilen Aktivite (%) -6-gingerol grafiğı.....	24
Şekil 4.5. AChE enzim aktivitesinde çalışılan diasetil-6-gingerol molekülünün farklı derişimleri ile çizilen aktivite (%) -diasetil-6-gingerol grafiğı.....	25
Şekil 4.6. AChE enzim aktivitesinde çalışılan takrinin farklı derişimleri ile çizilen Aktivite (%) -takrin grafiğı.....	25
Şekil 4.7 α -glukozidaz enzim aktivitesinde çalışılan 6-gingerol molekülünün farklı derişimleri ile çizilen aktivite (%) -6-gingerol grafiğı.....	26
Şekil 4.8. α -glukozidaz enzim aktivitesinde çalışılan diasetil-6-gingerol molekülünün farklı derişimleri ile çizilen aktivite (%) -diasetil-6-gingerol grafiğı	27
Şekil 4.9. α -glukozidaz enzim aktivitesinde çalışılan akarbozun farklı derişimleri ile çizilen aktivite (%) -akarboz grafiğı	27
Şekil 4.10. <i>B. cinerea</i> 'nın misel büyümesi üzerinde kontrol ve 6-gingerolün etkisi	30
Şekil 4.11. <i>B. cinerea</i> 'nın misel büyümesi üzerinde kontrol ve diasetil-6-gingerolün etkisi	30
Şekil 4.12. Konsantrasyona bağılı olarak yüzde DPPH giderme grafik	33
Şekil 4.13. 6-gingerol ve diasetil 6-gingerolün demir indirgeme sonuçları.....	35

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 4.1. BChE enzim aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren 6-gingerol ve IC ₅₀ (mM) değerleri.....	24
Tablo 4.2. AChE enzim aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren gingerol ve IC ₅₀ (mM) değerleri.....	26
Tablo 4.3. α -glukozidaz enzim aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren gingerol ve IC ₅₀ (mM) değerleri.....	28
Tablo 4.4 . 6-gingerolün miselyum engelleme oranına (MEO) etkisi	29
Tablo 4.5 Diasetil-6-gingerolün miselyum engelleme oranına (MEO) etkisi.....	30
Tablo 4.6 6-gingerol ve diasetil-6-gingerol'ün antimikrobiyal aktiviteleri (mean $\pm$ SD, n = 3)	31
Tablo 4.7. 6-gingerol ve diasetil-6-gingerol'ün antimikrobiyal aktivite gösteren en düşük konsantrasyonlar	32
Tablo 4.8. Antioksidan aktivite sonuçları	33

SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

%	Yüzde
<i>dd</i>	Dubletin dubleti
<i>E</i>	Engelleme %
<i>SD</i>	Standart sapma
<i>s</i>	Singlet
<i>d</i>	Dublet

Kısaltmalar

ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz enzimi
BChE	Bütirilkolinesteraz enzimi
BHA	Bütünlenmiş hidroksi anisol
BHT	Bütünlenmiş hidroksi tolüen
BTI	Bütiriltiyokolinodür
DMPD	N, N-Dimetil fenilendiamin radikali
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikali
FRAP	Demir(III) indirgeme antioksidan gücü
I	İnhibitör
K	Kontrol
MEO	Miselyum engelleme oranı
MHz	MegaHertz
MİK	Minimum inhibitör konsantrasyonu
μL	Mikrolitre
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
PDA	Patates dekstroza agar
UV	Ultraviyole

1. GİRİŞ

Bitkiler çok uzun zamandan beri insanlar tarafından tedavi maksadıyla kullanılmaktadır ve günümüzde kullanılan birçok modern ilacın etken maddeleri bitkilerden sağlanmaktadır. Bu doğal kaynaktan elde edilen ilaçlar yapay olmamaları sebebi ile genel sonuçları itibari ile sentetik olarak üretilen ilaçlara göre daha sağlıklı ve organik yapılıdır. Bu sebeple, bitkilerin birer ilaç kaynağı olarak kullanımı oluşabilecek yan etkileri en aza indirger (Atanasov vd., 2021).

Gezegennemizde birçok bitki türleri bulunmaktadır ve her bitkinin farklı kimyasal içeriğe sahip olma durumu söz konusudur. Bu durum, bitkilerin farklı hastalıklar ile mücadelede kullanılabilecek birçok farklı ilaç etken maddesinin kaynağı olabileceği sonucunu doğurur (Twaij ve Hasan, 2022). Bitkiler, farklı coğrafyalarda mevcut olan farklı geleneksel tıp sistemlerinde yüzyıllardır tedavi amacı ile kullanılmaktadır. Özellikle doğal ürün kimyası alanında çalışan bilim insanları, bitkilerden elde edilen ve sekonder metabolitler olarak adlandırılan bu bileşikleri araştırmak suretiyle, yeni ilaçları insanlığın hizmetine sunmak noktasında önemli bilgiler ortaya koymaktadırlar. Çağımızın en büyük sağlık problemi olan kanser hastalığının tedavisinde kullanılan bazı ilaçlar bitkilerden elde edilen bileşiklerin türevleridir (Atanasov vd., 2015).

Bitkisel kaynaklı ilaçlar, birçok durumda sentetik ilaçlara göre alternatif tedavi imkânları ortaya koyabilir. Bilhassa bazı kronik hastalıklar ile mücadele açısından bitkisel ilaçlar, olumsuz etkileri nispeten az olması sebebi ile tercih edilmektedir (Ekor, 2014).

Bitkiler, ticari açıdan önemli bir kaynaktırlar ve bitkilerden elde edilen hammaddeleri kullanan ilaç endüstrisi büyük bir gelir elde etmektedir. Bu tür bitkileri yetiştirmekte olan ve kırsal bölgelerde yaşayan insanlar için tarımsal faaliyetler önemli bir gelir kaynağıdır (Sher vd., 2014).

Sahip olduğu kıymetli sekonder metabolitleri sebebi ile öne çıkan ve üzerinde birçok çalışma gerçekleştirilen önemli bitkilerden birisi Zencefildir (*Zingiber officinale* Rosc.). Zencefil (*Zingiber Officinale* Rosc.), bitkisel bir ilaç olarak tüm dünyada sıklıkla kullanılan önemli bitkilerden biridir ve eski çağlardan beri romatizma, kas problemleri,

boğaz ağrısı, kabızlık, sindirim sorunları, kusma, yüksek tansiyon, yüksek ateş ve bulaşıcı hastalıklara karşı mücadele için kullanılmıştır (Badreldin vd., 2008). Zencefil (*Zingiber officinale* Rosc. tropical ve alttropikal bir bitki olup (Konuklugil 2004) yetiştirildiği bölgeler arasında önemli ölçüde değişiklik bulunabilir (Chao, 2020).

Bu bitki aynı zamanda gıda maddesi olarak bir tamamlayıcıdır ve baharat niteliğine sahiptir. Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) tarafından güvenli bir bitkisel kaynak olarak önerilmektedir (Ozgoli vd., 2009) ve aynı kurum tarafından günde 4 g'a kadar olan dozlarda sağlık açısından bir risk taşımadığı bildirilmiştir (Farombi vd., 2020). Zencefilin (*Zingiber officinale* Rosc.) yapısında bulunan bileşikler uçucu ve uçucu olmayan bileşikler olarak sınıflandırmak mümkündür. Uçucu olanlar bitkinin farklı lezzetine sebep olan seskiterpen ve monoterpenoid hidrokarbonlar iken uçucu olmayan bileşikler ise gingeroller, shogaoller, paradoller ve zingerone gibi sekonder metabolitlerdir (Jolad vd., 2004).

Zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.), bilhassa Asya mutfağında sıklıkla kullanılan bir bitki olup özellikle kök kısımları baharat olarak kullanılır ve lezzeti ile beraber sağlık açısından yararlılıkları sebebi ile tercih edilir (Anh vd., 2004).

Zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.), bitkisinin ekonomik önemi kullanılmakta olduğu çeşitli sektörlerle ilişkilidir. Zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.), birçok yiyeceklerle beraber tüketilmekle beraber özellikle Amerika Birleşik Devletlerinde en çok tüketilen gazlı içeceklerin içerisinde kola türü içecekler ile beraber ön sıralarda gelmektedir. Zencefilin (*Zingiber officinale* Rosc.), yağı, tozu, şurubu, birası ve zencefilli (*Zingiber officinale* Rosc.) şekerlemeleri gibi birçok farklı özellikte ticari şekli mevcuttur. Özellikle Hindistan ve Çin gibi ülkelerin mutfaklarında baharat olarak kullanımı son derece yaygındır (Rodricks vd., 2020).

Zencefilin (*Zingiber officinale* Rosc.) insan sağlığı açısından faydaları sebebiyle ilaç ve sağlık ürünleri endüstrisinde de ticari olarak önemli olduğu bilinmektedir (Mao vd., 2019). Bitkinin antienflamatuar, antioksidan ve sindirim sistemini rahatlatıcı özellikleri rapor edilmektedir (Hamidpour vd., 2017). Bunun sonucu olarak içeriğinde zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.) bulunan bitkisel çaylar ve sağlık ürünleri tercih edilmektedir. Özellikle mide rahatsızlıkları ve sindirim sorunları gibi durumlar için

doğal bir çözüm yolu olarak bu bitkinin kullanımı önerilmektedir (Langmead ve Rampton, 2001).

Zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.), bitkisinin cilt ve saç sağlığı açısından faydaları ispat edilmiştir. Antioksidan özellikleri sebebi ile ciltte bulunan radikal yapıların etkilerini azaltabilir ve yaşlanmayı geciktirebilir. Bununla beraber saç derisini beslemek suretiyle kellik problemini azaltabilir (Reuter vd., 2010). Bu durumun bir sonucu olarak, yapısında zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.) yağı bulunduran kozmetik ürünler, saç bakımı ve cilt bakımı ürünleri olarak ticari olarak popülerdir. Ayrıca, antioksidan özellikleri ve serbest radikalleri azaltması neticesinde tüm vücutta hücre hasarını azalttığı düşünülmektedir (Wickens, 2001).

Zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.), bahçecilik endüstrisinde değerli bir ticari üründür. Bu bitki tropikal iklimleri tercih eder ve tropikal iklim kuşağında bulunan ülkelerin tarım sektöründe, yetiştirilmesi ve satışı yaygın olarak yapılmaktadır. Bu bitkinin sağlık açısından yararlılıkları, özel lezzeti ve birçok farklı şekilde kullanımından ötürü tüm Dünya’da talep görmektedir ve bunun bir sonucu olarak bu bitkinin ticaretinin ekonomik önemi büyüktür (Kaufman, 2016).

Zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.), sindirim sistemini güçlendirir ve sindirim sorunlarını azaltmaya yardımcı olur (Butt, ve Sultan, 2011). Mide bulantısı, kusma, hazımsızlık ve karın ağrısı gibi sağlık problemlerini hafiflettiği belirtilmiştir (Nikkhah vd.,2019). Antiemetik özellikleri sayesinde özellikle hamilelik dönemindeki bulantıları ve kemoterapik tedaviler sonucunda meydana gelen kusma sorunlarını azalttığı ileri sürülmektedir (Crichton vd., 2019).

Zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.), kullanılarak hazırlanan bitki ekstratlarının anti-inflamatuar aktiviteye sahip olduğu ve vücuttaki iltihaplanma sürecini yavaşlattığı bilinmektedir. Bu sebeble, romatoid artrit, eklem ağrısı, osteoartrit ve benzeri iltihaplı hastalıkların belirtilerini hafifletmeye yardımcı olduğu iddia edilmektedir (Al-Nahain vd., 2014).

Zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.), bitkisinin diğer bir özelliği bağışıklık sistemini güçlendirici etkilere sahip olmasıdır. Soğuk algınlığı, grip ve diğer enfeksiyon kaynaklı

sağlık problemleri ile mücadelede faydalı olacağı düşünülmektedir (Shahrajabian vd., 2019).

Zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.), kaynaklı olarak hazırlanmış olan doğal ürünlerin vücuttaki kolesterol seviyesini düşürdüğü ve kan basıncını ayarlama rol aldığı bilinmektedir. Bu özelliğinin kan damarlarının genişlemesini regule ederek dolaşım sistemine katkı sunmasına hamledilebilir. Bu sonuç insanların kalp sağlığı açısından bitkinin önemini ortaya koymaktadır (Murad vd., 2018).

Birçok araştırma mezkur bitkinin anti-kanser etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Özellikle mide, kolon, pankreas ve meme kanseri gibi bazı kanser çeşitlerinin gelişimini yavaşlatmada etkili olabileceği düşünülmektedir (Akimoto vd., 2015).

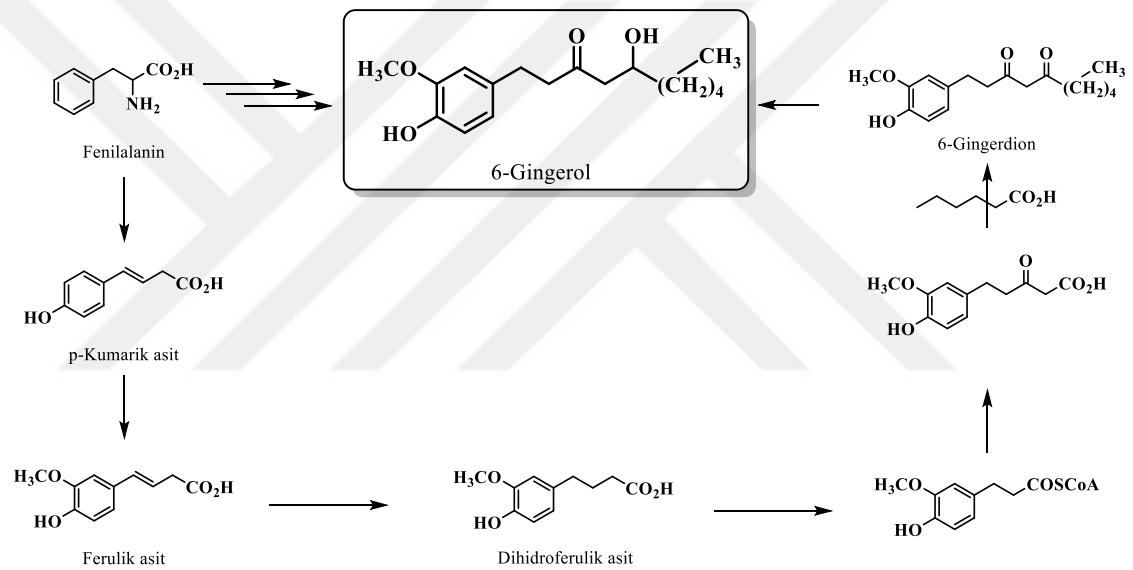
Zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.), rizomlarından çok sayıda sekonder metabolit izole edilmiş ve yapıları tanımlanmıştır. Yapılan bu çalışmalar neticesinde bitkinin yapısında bulunan major bileşiğin, 6-gingerol olduğu ortaya konulmuştur (Masuda vd., 2004).

6-gingerol, zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.), bitkisinin en önemli biyoaktif bileşiğidir (Poovathingal, 2018). Özellikle 6-gingerol, gingerol olarak tanımlayabileceğimiz tüm bileşikler içerisinde kantitatif olarak en bol bulunanıdır. 2-,4-,8-,10-,12-gingeroller 6-gingerol'e oranla sıcaklık değişimlerine karşı dayanaksızdır ve sıcaklığın arttırılması durumunda yapıları değişerek shogaollere dönüşebilirler (Semwal vd., 2015). Ağız yolu ile alınan 6-gingerol [6]-gingerol-4'-O-b-glukuronide dönüşerek metabolize olur (Farombi vd., 2020).

Gingerol olarak adlandırılan bu grup bileşiklerin birçok biyolojik aktivitesi çalışılmıştır. Bunlar arasında ön önemlileri antioksidan, antiemetik, antiülser, antimikrobiyal, analjezik, hipoglisemik, antihipertansif, antihiperlipitemik, immünostimulan, antiinflamatuvar ve kanser önleyici aktiviteleri sayılabilir. Kanser hücre hatlarında gerçekleştirilen çalışmalarda, bitkinin farklı çözücüler ile hazırlanan ekstraktlarının gastrointestinal, deri, prostat, pankreatik, meme ve böbrek kanseri gibi birçok farklı dokularda ortaya çıkabilen tümör oluşumlarında bitkinin antiproliferatif etkisinin yüksek olduğu görülmüştür (Poovathingal, vd., 2018).

6-gingerol ilk olarak 1879'da zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.), rizomlarından elde edilen uçucu ve sarı renkli bir yağdan elde edilmiştir (Thresh, 1879). Gingerol ve diğer analog yapılarının Zingiber cinsindeki diğer bitkilerde de bulunduğu rapor edilmiştir (Chang vd., 2012).

Bitkideki 6-gingerol bileşiğinin biyosentezinin yolu aydınlatılmış olup önemli bir amino asit olan fenilalanin, 6-dehidrogingerdion yapısını oluşturmak üzere bir Claisen reaksiyonuna katıldığı ve bu reaksiyon sonucunda dihidroferulik asit üzerinden 6-gingerol elde edildiği (Şekil-1.1.) rapor edilmiştir (Denniff ve Whiting 1976; Denniff vd., 1980).



Şekil 1.1. 6-gingerol biyosentetik oluşum mekanizması (Denniff vd., 1980).

Diğer doğal kaynaklarda olduğu gibi bitkilerde de sahip olunan bu tür özellikler yapılarında mevcut olan ve sekonder metabolit olarak adlandırılan bileşikler sebebiyledir. Sekonder metabolitler, bitkiler, mikroorganizmalar, bazı deniz canlıları ve hayvanlar gibi organizmaların ürettiği kimyasal yapılardır (Teoh, 2016). Bu yapılar, organizmaların temel metabolik yollarının sonucunda üretilirler ve primer metabolitlerden farklı olarak, organizmanın yaşamını sürdürebilmesi açısından direkt gerekli olmamakla beraber çok sayıda biyolojik rolleri bulunmaktadır (Erb ve Kliebenstein, 2020).

Bitkilerde bulunan sekonder metabolitler, fenolik bileşikler (özellikle flavonoidler), terpenoidler, alkaloidler ve glikozidler gibi birçok farklı sınıfa ayrılabilir (Teoh, 2016). Bu yapılar içerisinde özellikle fenolik bileşikler antioksidan özelliklere sahiptir ve bitkiyi zararlı serbest radikallerden korur (Olszowy, 2019). Diğer bir sınıf olan terpenoidler ise, bitki hücre zarlarının yapısına katkıda bulunabilir ve böcekleri uzaklaştırmak veya mikroorganizmalara karşı koruma sağlamak gibi savunma hizmetlerinde bulunabilir (Sharma vd., 2017).

Bitkiler birbirleriyle iletişim kurmak için de sekonder metabolitleri kullanır. Örneğin, kökler aracılığıyla yer altında kimyasal sinyaller yayabilir ve çevredeki diğer bitkileri ile iletişim kurabilirler. Burada kullanılan sinyaller, bitkilerin büyümelerini, çiçeklenme oranlarını ve savunma tepkilerini şekillendirebilir (Yang vd., 2018).

Bitkiler gibi doğal kaynaklarda mevcut olan bazı sekonder metabolitler ise onları tüketen insanların sağlığı için faydalı olabilir (Lavecchia vd., 2013). Örneğin, bazı bitki bileşikleri antioksidan özelliklere sahip olup, insan vücudunda bulunabilen serbest radikallerle savaşarak hücre hasarını azaltabilir ve kronik hastalıklara karşı koruma sağlayabilir (Michalak, 2022). Ayrıca, bazı bitkisel kaynaklı sekonder metabolitler ilaç endüstrisinde kullanılarak tıbbi tedavilerin geliştirilmesine katkıda bulunur (Twaij ve Hasan, 2022).

Sekonder metabolitlerin yapısı ve görevleri çok çeşitli olduğundan, bilim insanları onları izole etmek, tanımlamak ve potansiyel olarak ilaçlar, tarım ürünleri veya endüstriyel kullanımlar gibi alanlarda değerlendirmek için birçok çalışma yürütmektedirler (Hyde vd., 2017).

Başta bitkiler olmak üzere doğal kaynaklardan sekonder metabolitlerin izole edilmesi çalışmaları, bu kaynaklardaki kimyasal bileşikleri saf olarak elde etmeyi, tanımlamayı ve bu yapıların biyolojik aktivite özelliklerini belirlemeyi amaçlar. Bu çalışmalar, bitkilerin farmakolojik özelliklerini ortaya koymak, ilaç geliştirme ve doğal ürün tabanlı terapötik ajanlar keşfetmek açısından önemlidir (Atanasov vd., 2015).

İzole edilen bu sekonder yapıların biyolojik aktiviteleri araştırılarak, potansiyel olarak yeni ilaçların geliştirilmesi mümkündür. Birçok antikanser, antienflamatuar,

antimikrobiyal ve antiviral aktivite gösteren bitkisel kaynaklı yapı bulunmuştur. Bu faaliyetler, çeşitli geleneksel tıp sistemlerinde kullanılan bitkilerin özelliklerini bilimsel olarak ortaya koymuş ve bitkisel bazlı ilaçlarda kullanılabilecek etkili bileşiklerin ortaya konulmasını sağlamıştır (Riaz vd., 2023)

Doğal kaynaklı bu bileşikler yeni türev bileşiklerin keşfi için de büyük bir potansiyele sahiptir. Yeni türev bileşikler, doğal olarak elde edilmiş olan yapılarda meydana getirilen değişiklikler neticesinde oluşturulan ve birçok farklı özellikleri bulunan bileşiklerdir. Elde edilen türev yapılar başlangıç maddelerine oranla daha etkili, daha stabil, daha çözünür olabilir (Atanasov vd., 2021).

Doğal kaynaklardan elde edilmiş olan yapılar birçok ilacın temelini oluşturmakla beraber biyolojik ve farmakolojik etkinlikleri arzu edilen seviyede olmayabilir. Böyle durumlarda, elde edilmiş olunan bu yapılarda bazı değişiklikler yaparak yeni türev bileşikler elde etmek mümkündür ve bu tür çalışmalar daha etkin ve güvenli ilaçların geliştirilmesine yol açabilir.

Doğal bileşiklerin bitki büyümesini teşvik eden, zararlı organizmaları uzaklaştıran veya bitkinin yakalanabileceği hastalıklarına karşı koruma sağlayan maddeler olarak kullanımı söz konusudur (Ngegba vd., 2012) ve dolayısı ile yeni türev yapılarının geliştirilmesi, tarım sektöründe daha etkili ve çevre dostu pestisitlerin üretilmesine de yol açabilecektir.

Doğal bileşiklerin yapılarında değişiklikler yaparak yeni türev yapılarının elde edilmesi, metabolik yolların anlaşılması ve hedefe yönelik ilaç tasarımlarının gerçekleştirilmesi gibi alanlarda da önemli bir araştırma aracı olabilir.

Mevcut çalışmada zencefil (*Zingiber Officinale* Rosc.) bitkisinde majör bileşik olarak bulunan 6-gingerol bileşiği izole edilmiş ve bu bileşiğin asetillenmiş türev yapısı sentezlenerek antioksidan, antimikrobiyal, antifungal ve bazı metabolik enzimler üzerindeki inhibisyon özellikleri karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Zencefil (*Zingiber Officinale* Rosc.)

Zencefil bitkisi (*Zingiber officinale* Rosc.) binlerce yıllık kullanımı, gerek sağlık ve gerekse besinsel önemi nedeni ile birçok farklı alanda çeşitli bilimsel çalışmalara konu olmuştur. Bitki ile ilgili botanik çalışmalar mevcut olmak ile beraber özellikle son yıllarda bu bitkinin biyolojik aktivitesinin belirlenmesine yönelik çalışmaların ağırlık kazandığı görülmektedir. Bitkilerin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi çalışmalarında farklı çözücü sistemleri kullanılarak farklı ekstraktları hazırlanmakta ve birçok farklı yöntem kullanılarak sahip oldukları biyoaktif özellikler belirlenebilmektedir. Yaklaşık son otuz yıllık periyotta bitkilerin biyolojik aktivite belirleme çalışmalarında en göze çarpan aktivite türlerinden birisi onların antioksidan potansiyellerinin belirlenmesine yönelik çalışmalardır. Bu güne kadar binlerce farklı bitki türünün farklı ekstraktları hazırlanarak antioksidan özellikleri ortaya konulmuştur. Bu alanda sadece 2023 yılında yapılmış onlarca çalışmaya rastlamak mümkündür. Bu durum hem zencefil (*Zingiber Officinale* Rosc.) bitkisinin önemini ortaya koymakta olup hem de bitkilerin antioksidan özelliklerinin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmaların ne derece popülerliğini koruduğunu anlamak açısından önemlidir (Shalaby vd., 2023; Rostamkhani vd., 2023; Tang vd., 2023). Zencefil (*Zingiber Officinale* Rosc.) bitkisinin yoğun olarak tüketildiği ülkeler daha çok Hindistan ve civarı ülkeler olması sebebi ile özellikle bu ülkelerde bitki üzerinde çalışmaların yoğunlaşmış olduğu görülmekle beraber ülkemizde de bu bitkinin antioksidan potansiyelinin belirlenmesine yönelik çalışmalara rastlanmaktadır. Tohma vd., (2017) yapmış oldukları bir çalışmada hem bitkinin polifenol içeriğini aydınlatmış ve hem de birçok farklı metot ile antioksidan özelliklerinin belirlenmesini sağlamışlardır. Bu amaç ile zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.) bitkisi güneş görmeyen bir ortamda kurutulularak, el değirmeninde çekilerek toz haline getirilmiş materyal kullanılarak, bitkinin su ve etanol ekstraktları hazırlanmış ve karşılaştırmalı olarak hem polifenolik içerikleri belirlenmiş ve hem de her iki ekstraktın de antioksidan potansiyeli ortaya konulmuştur. Yapılan çalışmada bitki ekstraktlarının antioksidan potansiyelinin anlaşılması için standart antioksidan molekül olarak butillenmiş hidroksi toluen (BHT), butillenmiş hidroksi anisol (BHA), α - tokoferol ve troloks molekülleri kullanılmıştır. Yapılan çalışmada antioksidan aktivite ölçüm metodu olarak total antioksidan aktivite belirleme, DPPH ve DMPD radikal giderme, demir ve

bakır indirgeme ve ayrıca demir şelatlama yöntemleri kullanılmıştır. Bitkinin içerdği fenolik ve flavanoid maddelerin miktarı total olarak belirlenmekle beraber HPLC-MS/MS yöntemi ile bu yapıların neler olduğu da ortaya konulmuştur.

2.2. Gingerol

Zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.), bitkisinin yapısında bulunan major bileşik olması sebebi ile bu bitkinin göstermiş olduğu biyolojik aktivitelere en fazla katkı sunan sekonder metabolitlerden birisi gingerol'dür. Dolayısı ile bu molekül temel alınarak yapılmış birçok çalışmaya rastlamak mümkündür. Zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.) bitkisi ile ilgili çalışmalarda olduğu gibi gingerol üzerine yapılan çalışmalarda yoğun olarak devam etmektedir (Sahoo vd .,2023; Hu vd.,2023). Gingerol molekülü ile ilgili olarak 2021 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilimdalında Rüya Sağlamtaş tarafından yapılan doktora tezinde ilgili molekül hazır olarak satın alınmış ve birçok farklı metod kullanılarak antioksidan özellikleri belirlenmiştir. İlgili çalışmada hem metal indirgeme ve hem de radikal giderme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Ayrıca gingerol molekülünün karbonik anhidraz izoenzimleri, asetil kolin esteraz, bütiril kolin esteraz, monoamin oksidaz A ve B, α -glikozidaz ve α -amilaz enzimleri üzerine inhibisyon etkileri incelenmiş ve bu enzimleri %50 oranında inhibe eden gingerol konsantrasyon değerleri belirlenmiştir.

2.3. Türev yapılar

Doğal kaynaklarından elde edilmiş olan gingerol gibi moleküller kullanılarak yeni türev moleküllerin elde edilmesi organik kimyanın iki temel çalışma alanının bir nevi kesişmesi anlamını taşımaktadır. Çünkü hem doğal ürünler kimyası olarak adlandırabileceğimiz canlıların yapısında bulunan sekonder metabolitlerin izolasyonu ve hem de bu yapılardan yeni bileşiklerin sentezlenmesi durumu söz konusudur. Elde edilen yeni türev moleküllerin gösterdikleri biyolojik aktivite başlangıçta elde edilen doğal moleküle göre daha yüksek olabileceği gibi yeni elde edilen molekülün daha stabil olması şeklinde de bazı avantajları olabilmektedir.

Bu konuda en güzel örnek tüm dünyada en çok kullanılan ilaçlar arasında yer alan ve etken maddesi asetilsalisilik asit olan aspirindir. Salisin normalde söğüt ağacının özellikle kabuk kısımlarında bulunan bir sekonder metabolit olup COX enzimlerini inhibe etmek suretiyle ağrı kesici ve ateş düşürücü etkisi olan bir molekül olarak bilinmektedir. Söğüt ağacından elde edilen salisin molekülünün yükseltgenmesi ile salisilik asit elde edilir. Salisilik asitin asetillenmesi sonucunda yeni bir moleküle ulaşılmış ve bu molekülün aktivitesinin başlangıç molekülü olan salisilik asite göre çok daha fazla olduğu görülmüştür (Ishola, 2023).

Aspirin şu anda dünya çapında en yaygın kullanılan ilaçtır ve yirminci yüzyılın en önemli farmakolojik başarılarından biri olmuştur. Tıp tarihçileri onun doğumunu 1897 olarak belirtirler, ancak aspirinin büyüleyici tarihi aslında 3500 yıl öncesine kadar dayanmaktadır. Söğüt kabuğunun Sümerler ve Mısırlılar tarafından ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak kullanıldığı ve daha sonra eski Yunan ve Roma'da kullanıldığı bilinmektedir. Aspirin öncülleri olan salisilatların modern tarihi, 1763'te ateş düşürücü etkilerini ilk kez tanımlayan Rahip Stone ile başlamış ve 19. yüzyılda bunların ekstraksiyonu ve kimyasal sentezine katılan birçok araştırmacıyla devam etmiştir. Bayer kimyageri Felix Hoffmann 1897'de aspirini sentezlemiş ve 70 yıl sonra farmakolog John Vane onun prostaglandin üretimini engellemedeki etki mekanizmasını açıklamıştır. Başlangıçta antipiretik ve antiinflamatuvar bir ilaç olarak kullanılan aspirin, daha sonra antiplatelet özellikleri nedeniyle kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıkları önlemede bir kilometre taşı haline gelmiştir (Montinari vd., 2015). Türev moleküllerin başarısına ait diğer önemli bir örnek günümüzde kanser tedavisinde yoğun olarak kullanılmakta olan Taksol molekülüdür. Porsuk ağacından izole edilen bir terpenik bileşik olan Taksan'ın karboksilatlar ile türevlendirilmesi neticesinde yarı sentetik bir molekül olan Taksol molekülü elde edilmiş olup günümüzde vazgeçilemeyen kanser ilaçlarından biri olarak kullanılmaya devam etmektedir (Wani ve Horwitz, 2014).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Tez kapsamında gerçekleştirilmiş olan çalışmalarda kullanılan 6-gingerol zencefilden (*Zingiber officinale* Rosc.) özütlenip silika-jel kolon kromatografisiyle izole edilmiştir.

Sentezde kullanılan piridin, diklormetan, asetik anhidrit, silika-jel, etilasetat, sodyum sülfat (Na_2SO_4) Sigma Aldrich'den temin edilmiştir.

Enzim inhibisyon çalışmalarında kullanılan potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4), 5,5'-ditiyo-bis(2-nitrobenzoik asit) (DTNB), bütiriltiyokoliniodür (BTI), butirilkolinesteraz, asetiltiyokoliniodür, asetilkolinesteraz, sodyum monohidrojen fosfat heptahidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$), 4-nitrofenil α -D-glikopiranosid Sigma Aldrich'den temin edilmiştir.

Antimikrobiyal testlerinde kullanılan bakteri izolatları Erzincan Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

Antioksidan aktivite çalışmalarında kullanılan ferrisiyanid, potasyum ferrisiyanür ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$), trikloroasetik asit (TCA), trolox Sigma Aldrich'den temin edilmiştir.

Antifungal testlerinde kullanılan PDA (patates dekstroza agar) besiyeri Merck'den temin edilmiştir.

3.1.2. Yararlanılan alet ve cihazlar

Manyetik karıştırıcı	: Heidolph
Evaporatör	: Heidolph
UV-VIS Spektrofotometre	: Hitachi, U-5100
Derin dondurucular (-30 ve -86°C)	: Arçelik, Haier
pH metre	: Thermo
Hassas Terazî	: Denver Instrument

İnkübatör	: Wiseven
Otomatik Pipetler	: Eppendorf ve Isolab
Vorteks	: Fisons, Whirlimixer
Destile Su Cihazı	: mes mp MINIpure
UV-Spektrofotometre küveti	: 3 cm ³ 'lik cam küvet, 1 cm ³ 'lik kuvars küvet.

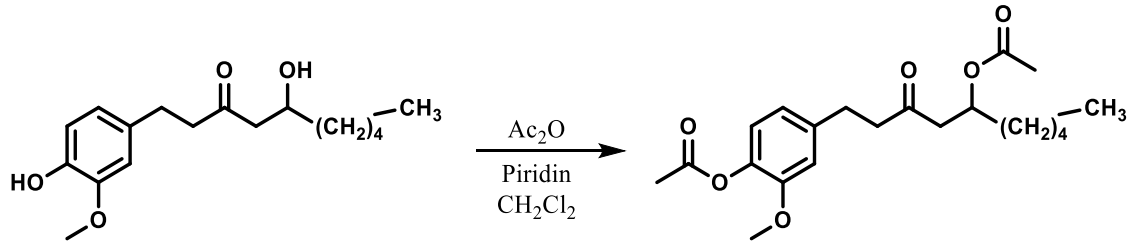
3.2. Yöntem

3.2.1 6-gingerol'ün (5-hidroksi-1-(4-hidroksi-3-metoksifenil)dekan-3-on) izolasyonu

6-gingerol içeren ekstre zencefilden (*Zingiber officinale* Rosc.), metanol çözücüsü yardımıyla özütlendi. Çözücünün uzaklaştırılmasıyla elde edilen ekstre silika-jel dolgulu kolonda etilasetat-hekzan çözücü karışımında saflaştırıldı. Saflığı ¹H-NMR spektrumu ile belirlenen 6-gingerol molekülünün ¹H-NMR spektrumu literatür ile uyumlu olduğu tespit edildi.

6-gingerol'e ait 400 MHz ¹H-NMR spektrumu Ek-1'de görülmektedir. ¹H-NMR spektrumunda aromatik protonlar sırasıyla 6.82 ppm'de dublet (d, *J*= 8.0 Hz, 1H), 6.68 ppm'de dublet (d, *J*= 1.9 Hz, 1H) ve 6.65 ppm'de dublet (d, *J*= 8.0, 1.9 Hz, 1H) şeklinde rezonans olmuşlardır. Alifatik hidroksil grubunun bağlı olduğu karbona bağlı proton 4.04 ppm'de multipler (m, 1H), metoksi protonları 3.86 ppm'de singlet (s, 3H) ve karbonil grubunun α ve β konumlarındaki metilenik protonlar 2.86-2.46 ppm aralığında multipler (m, 6H) şeklinde rezonans olmuşlardır. Zincirdeki diğer metilenik protonlar 1.50-1.24 ppm aralığında multipler (m, 8H) şeklinde ve zincirdeki metil protonları 0.90 ppm'de triplet (t, *J*= 6.8 Hz, 3H) şeklinde rezonans olmuşlardır.

3.2.2. 6-gingerol'den diasetil-6-gingerol (1-(4-asetoksi-3-metoksifenil)-3-oksodekan-5-il asetat) sentezi



Şekil 3.1 Diasetil-6-gingerol (1-(4-asetoksi-3-metoksifenil)-3-oksodekan-5-il asetat) sentezi

6-gingerol diklormetan çözücüsünde çözülüp, çözeltiye piridin ve asetik anhidrit ilave edildi. Oda sıcaklığında manyetik olarak karıştırılan reaksiyon çözeltisi, aynı şartlarda 1 gece bekletildi. Ardından reaksiyon karışımı ayırma hunisine alınıp buz ilave edilerek soğutuldu ve üzerine seyreltik hidroklorik asit çözeltisi ilave edildi. Çalkanan karışımdan organik kısım ayrıldı ve sulu kısım 2 defa daha etilasetat çözücüsü ile yıkandı. Birleştirilen organik fazlar 2 defa seyreltik karbonat çözeltisi ile yıkandı ve organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu. Çözücü evaporasyonla uzaklaştırılarak, ¹H-NMR spektrumundan %82 verimle dönüşümün gerçekleştiği ham reaksiyon karışımı elde edildi. Reaksiyon karışımı silika-jel kolonda etil asetat-hekzan çözücü karışımında yürütüldü ve diasetil-6-gingerol (1-(4-asetoksi-3-metoksifenil)-3-oksodekan-5-il asetat) molekülü katı olarak saflaştırıldı.

Moleküle ait 400 MHz ¹H- ve 100 MHz ¹³C-NMR spektrumları önerilen molekül ile uyum içerisinde olup, Ek -2 ve Ek -3'de görülmektedir. ¹H-NMR spektrumunda aromatik protonlar sırasıyla 6.94 ppm'de dublet (d, J= 8.0 Hz, 1H), 6.81 ppm'de dublet (d, J= 1.7 Hz, 1H) ve 6.75 ppm'de dublet (d, J= 8.0, 1.7 Hz, 1H) şeklinde rezonans olmuşlardır. Alifatik zincirdeki asetil grubunun bağlı olduğu karbona bağlı proton 5.24 ppm'de multiyet (m, 1H), metoksi protonları 3.83 ppm'de singlet (s, 3H) ve karbonil grubunun α ve β konumlarındaki metilenik protonlar 2.91-2.54 ppm aralığında multiyet (m, 6H) şeklinde rezonans olmuşlardır. Asetil gruplarına ait metil grupları sırasıyla 2.31 ppm'de singlet (s, 3H), 2.01 ppm'de singlet (s, 3H) şeklinde, zincirdeki diğer metilenik protonlar 1.36-1.25 ppm aralığında multiyet (m, 8H) şeklinde ve zincirdeki metil protonları 0.89 ppm'de triplet (t, J= 6.6 Hz, 3H) şeklinde rezonans olmuşlardır. ¹³C-NMR spektrumunda karbonil karbonu 206.8 ppm'de, ester gruplarına ait karboksil

karbonları sırasıyla 170.5 ve 169.2 ppm'de, aromatik karbonlar sırasıyla 150.9, 140.0, 138.0, 122.6, 120.4 ve 112.7 ppm'de rezonans olmuşlardır. Asetat grubunun bağlı olduğu karbon 70.4 ppm'de, metoksi karbonu 55.8 ppm'de rezonans olurken, açık zincire ait diğer metilenik karbonlar ve metil karbonu 47.3, 44.8, 34.2 31.5, 29.4, 24.8, 22.5, 21.1, 20.7 ve 14.0 ppm'de rezonans olmuşlardır.

3.2.3. Enzim inhibisyon çalışmalarında kullanılan çözeltiler

3.2.3.1. Bütirilkolinesteraz enziminin aktivite ölçümlerinde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

- a)** 500 ml'lik bir beherde 1.36 g potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) tartıldı ve 150 mL destile su içinde çözüldü. 1 M'lık HCl eklenerek çözeltinin pH'sı 7,8'e ayarlandıktan sonra destile su ile son hacim 200 mL'ye tamamlanarak 0,05 M'lık fosfat tamponu hazırlandı.
- b)** 100 ml'lik bir erlende 0,01 g DTNB ile 0,5 g sodyum sitrat tartılıp, 50 mL destile suda çözülerek 10 mM'lık DTNB çözeltisinin hazırlandı.
- c)** Işık almayacak şekilde sarılan 100 ml'lik bir erlende 80 mg bütiriltiyokolin iyodür tartılıp, 50 mL distile suda çözülerek 0,5 mM'lık bütiriltiyokolin iyodür (BTI) çözeltisi hazırlandı.

3.2.3.2. Asetilkolinesteraz enziminin aktivite ölçümlerinde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

- a)** 500 ml'lik bir beherde 1.36 g potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) tartıldı ve 150 mL destile su içinde çözüldü. 1 M'lık HCl eklenerek çözeltinin pH'sı 7,8'e ayarlandıktan sonra destile su ile son hacim 200 mL'ye tamamlanarak 0,05 M'lık fosfat tamponu hazırlandı.
- b)** 100 ml'lik bir erlende 0,01 g DTNB ile 0,5 g sodyum sitrat tartılıp, 50 mL destile suda çözülerek 10 mM'lık DTNB çözeltisinin hazırlandı.

c) Işık almayacak şekilde sarılan 100 ml'lik bir erlende 145 mg asetiltiyokolin iyodür tartılıp, 50 mL distile suda çözülerek 0,5 mM'lık asetiltiyokolin iyodür (ATI) çözeltisi hazırlandı.

3.2.3.3. α -gikozidaz enziminin aktivite ölçümlerinde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

a) 5,99 g sodyum monohidrojen fosfat heptahidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$) tartıldı ve 450 mL distile su içerisinde çözüldü. 1 M'lık HCl eklenerek çözeltinin pH'sı 6,9'a ayarlandıktan sonra son hacim distile su ile 500 mL'ye tamamlanarak 0,05 M'lık fosfat tamponu hazırlandı.

b) 37,6 mg 4-nitrofenil- α -D-glikopiranosid tartılıp, 25 mL 0,1 M'lık fosfat tamponundan çözülerek 5 mM'lık 4-nitrofenil- α -D-glikopiranosid (p-NPG) çözeltisi substrat olarak kullanılmak üzere hazırlandı.

3.3. Antifungal Aktivite Ölçüm Çalışmaları

Çalışmada kullanılan *Botrytis cinerea* izolatı Hakkâri Üniversitesi Dr. Öğretim Üyesi Sinem KARAKUŞ'tan temin edilmiştir. Elde edilen fungal izolatları patates dekstroza agar (PDA) kullanılarak kültüre alınmıştır. Fungus izolatı çalışmada kullanılmak üzere PDA ortamında silika jel içerisinde +4 °C'ye ayarlanmış olan buzdolabında muhafaza edilmiştir (Korkmaz vd., 2016). *B. cinerea*'nın miselyum gelişimi üzerine etkinlikleri belirlemek amacıyla, 6-gingerol ve diasetil-6-gingerol ile hazırlanan saf numune çözeltileri 20 mL PDA ortamı içeren petri kaplarına farklı konsantrasyonlarda eklenmiştir. Bu amaçla önceden yapılmış olan benzer çalışmalardan ve yaptığımız ön denemelerden faydalanarak 6-gingerol ve diasetil-6-gingerol çözeltilerinin hacimleri 25, 50, 100, 500, 800, 1000 ve 2000 μL olarak belirlenmiştir. Çözelti içermeyen PDA ortamları ise kontrol olarak kullanılmıştır. Hazırlanan petriler oda sıcaklığında 1 gün bekletildikten sonra, daha önceden PDA ortamında geliştirilmiş olan 7-10 günlük saf fungus kültürlerinden diskler petri kaplarının ortalarına inoküle edilmiş ve 25°C'ye ayarlanmış bir inkübasyona bırakılmıştır. Değerlendirmeler inkübasyonun 2. gününden itibaren günlük olarak fungal misel çapları ölçülerek kaydedilmiştir. Ölçüm misel

apının birbirine dik ayrı yönde ölçülmesi şeklinde yapılmıştır (Karakuş vd., 2021). Denemeler üç kez tekrarlanmıştır.

Kontrollere göre 6-gingerol ve diasetil-6-gingerol numunelerinin % engelleme oranları, $E = ((K - M) / K) \times 100$ formülüne göre hesaplanmıştır (Deans and Svoboda 1990).

[E= Engelleme (%); K= Kontrol petrisindeki misel çapı (mm); M= Uygulama yapılan petrideki misel çapı (mm)]

3.4. Antimikrobiyal Aktivite lm çalışmaları

6-gingerol ve diasetil-6-gingerol 7 standart bakteri (Gram negatifler: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Escherichia coli* ATCC 25922, kolistin dirençli *Escherichia coli* ATCC 19846; Gram pozitifler: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 45616) ve bir klinik izolat (*Streptococcus agalactia*) zerinde test edilmiştir.

3.4.1. Antimikrobiyal tarama

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde iki farklı yöntem kullanılmıştır. Disk difüzyon yöntemi ve sıvı mikrodilüsyon yöntemi. Öncelikle 6-gingerol ve diasetil-6-gingerol tüm izolatlara karşı disk difüzyon yöntemiyle test edilmiş ve ardından tüm bakteriyel izolatlara sıvı mikrodilüsyon yöntemi uygulanmıştır.

3.4.2. İnokulum hazırlanması

-80 C'de muhafaza edilen standart suşlar % 5 koyun kanlı besiyerine (Biomerieux, Fransa) ekilmiş 37 C'de 16-18 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun sonunda koyun kanlı besiyerinde üremiş olan kolonilerden yeni bir % 5 koyun kanlı besiyerine saf pasaj yapılmış ve aynı işlem ikinci kez tekrarlanmıştır. Besiyerinde remiş olan bakteri izolatlarının 0.5 McFarland (1×10^8 cfu/ml) bulanıklığındaki solüsyonları % 0.9 'luk serum fizyolojik içinde ve DensiCHEK Plus (Biomerieux, Fransa) densitometre cihazında ayarlanmıştır.

3.4.3. Disk difüzyon testi

Moleküllerin antimikrobiyal aktivitelerinin ölçülmesinde Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi (Bauer vd., 1966) kullanılmış ve EUCAST yönergeleri dikkate alınmıştır. Hazırlanan bakteri solüsyonları Mueller Hinton Agar besiyerine (MHE) (Biomérieux, Fransa) steril eküvyon çubuk (Fırat Med., Türkiye) yardımıyla sürülmüş, *S.pneumoniae* için % 5 defibrine at kanı ve 20 mg/L β -NAD eklenmiş Mueller Hinton-F agar kullanılmıştır. Her bir molekül için 5 mM stok solüsyonu hazırlanmış ve 6 mm çapındaki steril boş disklerle 20 μ L emdirilmiştir. 15 dakika bekletildikten sonra kuruyan diskler besiyerlerine yerleştirilmiş ve 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Analizler üçer kez tekrarlanmıştır. Pozitif kontrol olarak Gram pozitif bakteriler için Vankomisin (5 μ g/disk) ve Eritromisin (5 μ g/disk) ve Gram negatif bakteriler için Amikasin (30 μ g/disk); negatif kontrol olarak distile su kullanılmıştır. İnhibisyon zon çapları ölçülmüş ve zon oluşturan izolatlar sıvı mikrodilüsyon testine alınmıştır.

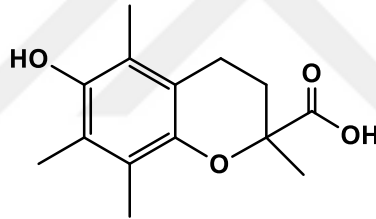
3.4.4. Sıvı mikrodilüsyon testi

Minimum inhibitör konsantrasyonun (MİK) belirlenmesi için EUCAST tarafından önerilen sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı. Tüm testler katyonu ayarlanmış Mueller Hinton Broth (CAMHB) içerisinde yapıldı. *S. pneumoniae* için % 5 hemolizli at kanı ve 20 mg/L β -NAD eklenmiş MH-F sıvı besiyeri kullanıldı. Öncelikle bir bakteriyel izolat için tüm kuyucuklara (8 kuyucuk) 100 μ L CAMHB dağıtıldı. İlk kuyucuğa 5 mM konsantrasyonunda stok olarak hazırlanmış ekstraktan 100 μ L ilave edilerek 7.kuyucuk da dahil 100'er μ L dilüsyon yapıldı (2.5-1.25-0.625-0.313-0.156-0.078-0.039 mM). Son kuyucuğa dilüsyon yapılmadı. Mikrodilüsyon testi için 0.5 McFarland (1×10^8 cfu/ml) bulanıklığında hazırlanmış taze bakteri kültüründen 100 μ L alınarak 900 μ L serum fizyolojik içerisinde 10 kat dilüe edildi (10^7 cfu/ml). Bu solüsyondan 5 μ L alınarak içerisinde bir seri moleküllerin dilüe edildiği tüm kuyucuklara eklendi. Yedinci kuyucuk sterilit kontrolü için (CAMHB+deneme molekül) ve 8. kuyucuk ise üreme kontrolü için (CAMHB+bakteri solüsyonu içeriği) kullanıldı. Platelere 37 °C'de 18-24 saat inkübe edildi. Değerlendirme sonrasında bulanıklığın olmadığı en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak belirlendi (Berber vd., 2009).

3.5. Antioksidan Aktivite Belirleme Çalışmaları

Maddelerin antioksidan aktivitelerinin ölçülmesine yönelik olarak yapılan çalışmalar antioksidan aktivitesi belirlenecek olan maddelerin standart antioksidan olarak bilinen bazı moleküllere kıyaslanması esasına dayanır. Aynı deney ortamında hem çalışılan maddeler ve hem de standart antioksidanlar ile spektroskopik yöntemlerle ölçümler yapılır. Bu amaçla kullanılan çok sayıda metod olmakla beraber temel itibari ile reaksiyon ortamından radikal yapıların uzaklaştırılması ve değişken değerlikli metal iyonlarının indirgenmesi metodları en çok başvurulan metodlar olarak karşımıza çıkmaktadır. Tez çalışmamızda radikal giderme metodu olarak DPPH serbest radikal giderme ve metal iyonlarının indirgenmesi metodu olarak ise demir iyonlarının indirgenmesi metodunu kullandık.

Antioksidan aktivite belirleme çalışmalarında kullanılan her iki metod için standart antioksidan olarak troloks molekülü kullanılmıştır.



Şekil 3.2. Antioksidan aktivite belirleme çalışmalarında standart antioksidan olarak kullanılan troloks molekülünün yapısı.

3.5.1. DPPH serbest radikal giderme metodu

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) molekülü mor renkli ve serbest radikal özelliği olan bir yapıdır. Serbest radikaller, ortaklanmamış elektrona sahip olmaları sebebi ile canlı yapılarında öncelikle oksidatif strese ve bunun sonucu olarak, hasara neden olabilen reaktif moleküllerdir. DPPH serbest radikal giderme metodu, saf bileşiklerin ve bitki ekstresi gibi doğal ürünlerin antioksidan aktivitesini belirlemek ve mukayese etmek amacıyla yaygın olarak istimal edilen basit ve etkili bir yöntemdir (Köksal vd., 2017).

Bu yöntemde, serbest radikal özellik gösteren DPPH antioksidan özellik gösteren moleküller tarafından etkisiz hale getirilir ve sonuç spektrofotometrik olarak analiz edilir. Antioksidan maddeler, serbest radikallerle etkileşerek onların canlıya zarar verici

etkilerini azaltmış olur. Antioksidan kapasiteye sahip olan bir madde DPPH serbest radikallerini nötralize eder ve bunun sonucu olarak mor renkli DPPH çözeltisinin renginde bir açılma gözlemlenir (Köksal ve Gülçin, 2008).

Tez çalışmasına konu olan her iki bileşiğin serbest radikal (DPPH[•]) giderme aktivitelerini belirlemek için Blois (1958), metodu kullanıldı. DPPH[•] (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) saf metanol de çözülerek 0,26 mM konsantrasyonda hazırlandı. 6-gingerol ve diasetil-6-gingerol ile beraber, standart antioksidan olarak kullanılan troloksun stok çözeltileri (1 mg/ml) elde edildi. Stok çözeltiler kullanılarak farklı konsantrasyonlarda numuneler hazırlandı. Hazırlanan numunelerin son hacimleri metanol ile 3 ml'ye tamamlanarak üzerine 1 ml DPPH[•] çözeltisi ilave edildi. Numune tüpleri vorteks yardımı ile karıştırıldı ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletilerek inkübasyon işlemi gerçekleştirildi. İnkübasyon işlemi sonrasında her bir karışımın absorbansı 517 nm'de ölçülerek IC₅₀ (µg/ml) değerleri hesaplandı.

3.5.2. Fe³⁺ iyonlarını Fe²⁺ iyonlarına indirgeme gücü

Bir maddenin değişken değerlikli bir metal iyonunu indirgeyebilme yeteneği bu maddenin elektron verme yeteneğinin bir göstergesi olması sebebi ile aynı zamanda antioksidan potansiyalinin de bir ölçüsüdür. Bu amaçla değişken değerlikli metaller kullanılmakla beraber en yaygın olarak kullanılan metal demirdir. Diğer antioksidan ölçüm metodlarında olduğu gibi metal indirgeme çalışmalarında da standart bir antioksidan kullanılır ve bu standart antioksidanın metal iyonunu indirgeme miktarı ile kıyaslamak suretiyle veya standart maddenin eşdeğer miktarı şeklinde araştırılan maddenin antioksidan potansiyeli ortaya konulabilir. Tez çalışmamızda standart olarak troloks kullanılmış olup, troloks'un farklı derişimleri ile elde edilen kalibrasyon eğrisi oluşturulup sonuçlar µg TE/g ekstre olarak verilmiştir.

İndirgeme potansiyeli aktivite testi Oyaizu (1986) tarafından rapor edilen yöntemle yapıldı. 6-gingerol, diasetil-6-gingerol ve troloksun stok çözeltileri (1 mg/ml) hazırlandı. Herbir stok çözeltiden 100 µl tüplere alındı ve fosfat tamponu (0.2 M, pH 6,6) ile test tüplerinin hacmi 1,25 ml'ye tamamlandı. Daha sonra test tüplerine 1,25 ml potasyum ferrik siyanür [K₃Fe(CN)₆] (%1) eklenerek elde edilen karışımlar 50 °C'de 20 dakika inkübasyona bırakıldı. Reaksiyon ortamına sırasıyla 1,25 ml %10'luk

trikloroasetik asit (TCA) ve 0,25 ml %0,1'lik FeCl_3 çözeltisi eklenerek elde edilen karışımın absorbansı 700 nm'de ölçüldü.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. 6-gingerol'ün (5-hidroksi-1-(4-hidroksi-3-metoksifenil)dekan-3-on) İzolasyonu

1 kg zencefil 5 L'lik dibi düz bir balona konularak üzerine 4 L metanol ilave edildi. Bir gece oda sıcaklığında bekletilen karışımdan, ekstre içeren çözelti süzgeç kağıdı yardımıyla süzülerek ayrıldı. Kalan katı kısmın üzerine tekrar metanol ilave edilerek aynı koşullarda 1 gece daha bekletildi ve çözelti kısmı yine adi süzgeç kağıdından süzülerek ayrıştırıldı. Birleştirilen çözeltilerdeki metanol 40 °C'de evapore edildi. Elde edilen ham zencefil ekstresi silika-jel kolonda %30 etilasetat-hekzan çözücü karışımında yürütülerek 4.1 g 6-gingerol saflaştırıldı. Yapının ¹H-NMR spektrumunun literatür ile uyumlu olduğu belirlendi.

6-gingerol molekülüne ait ¹H-NMR spektrum değerleri (Ek-1),
¹H -NMR (400 MHz, CDCl₃, ppm): δ=6.82 (d, 1H, J= 8.0 Hz), 6.68 (d, 1H, J= 1.9 Hz), 6.65 (d, 1H, J= 8.0, 1.9 Hz), 4.04 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 2.86-2.46 (m, 6H), 1.50-1.24 (m, 8H), 0.90 (t, 3H, J= 6.8 Hz).

4.2. 6-gingerol'den diasetil-6-gingerol (1-(4-asetoksi-3-metoksifenil)-3-oksodekan-5-il asetat) Sentezi

50 mL'lik bir balona 500 mg (1.7 mmol) 6-gingerol alınarak, üzerine 15 mL diklormetan ilave edilerek çözüldü. Oda sıcaklığında manyetik olarak karıştırılan çözeltiye 3 mL piridin ve 2 mL asetik anhidrit ilave edildi ve reaksiyon karışımı aynı şartlarda bir gece oda sıcaklığında manyetik olarak karıştırıldı. Ardından reaksiyon karışımı ayırma hunisine aktarıldı ve buz ilave edilerek soğutuldu. Karışımın üzerine 20 mL seyreltik hidroklorik asit çözeltisi ilave edildi ve çalkanan karışımdan organik kısım ayrıldı ve sulu kısım 2x25 mL etilasetat çözücüsü ile yıkandı. Birleştirilen organik fazlar 2x25 mL seyreltik karbonat çözeltisi ile yıkandı ve organik faz ayırma hunisinden ayrılarak Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu. Çözücü evapore edilerek uzaklaştırıldı. Ham ürünün ¹H-NMR spektrumundan %82 verimle dönüşümün gerçekleştiği tespit edildi. Ham ürün silika-jel kolonda %20-30 etil asetat-hekzan çözücü karışımında yürütülerek, 527 mg diasetil-6-gingerol (1-(4-asetoksi-3-metoksifenil)-3-oksodekan-5-il asetat) katı olarak saflaştırıldı.

Diasetil-6-gingerol'e ait ^1H - ve ^{13}C -NMR spektrum değerleri (Ek-2, Ek-3),

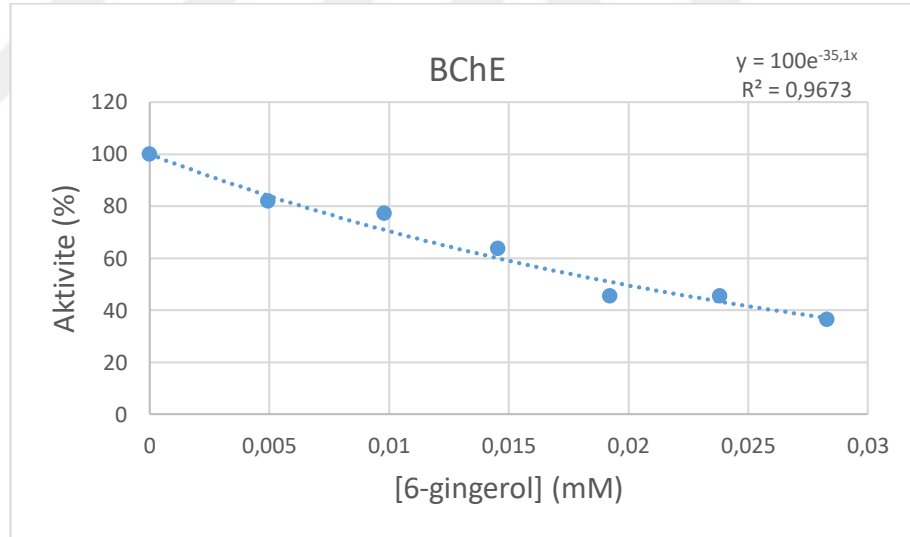
^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3 , ppm): δ = 6.94 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 6.81 (d, 1H, J = 1.7 Hz), 6.75 (d, 1H, J = 8.0, 1.7 Hz), 5.24 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 2.91-2.54 (m, 6H), 2.31 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.36-1.25 (m, 8H), 0.89 (t, 3H, J = 6.6 Hz).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3 , ppm): δ =206.8, 170.5, 169.2, 150.9, 140.0, 138.0, 122.6, 120.4, 112.7, 70.4, 55.8, 47.3, 44.8, 34.2 31.5, 29.4, 24.8, 22.5, 21.1, 20.7, 14.0.

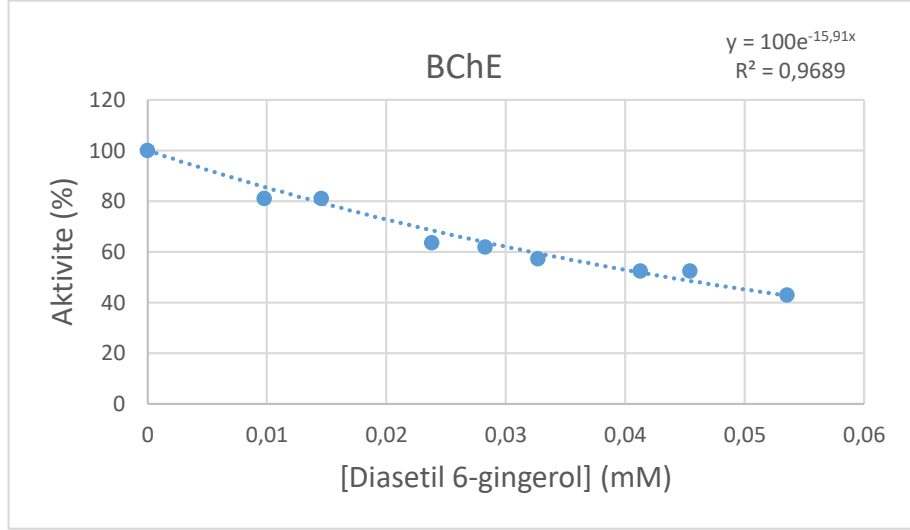
4.3. Enzim Aktivite İnhibisyon Çalışmaları Sonuçları

4.3.1. Bütirilkolinesteraz aktivite inhibisyon çalışmaları sonuçları

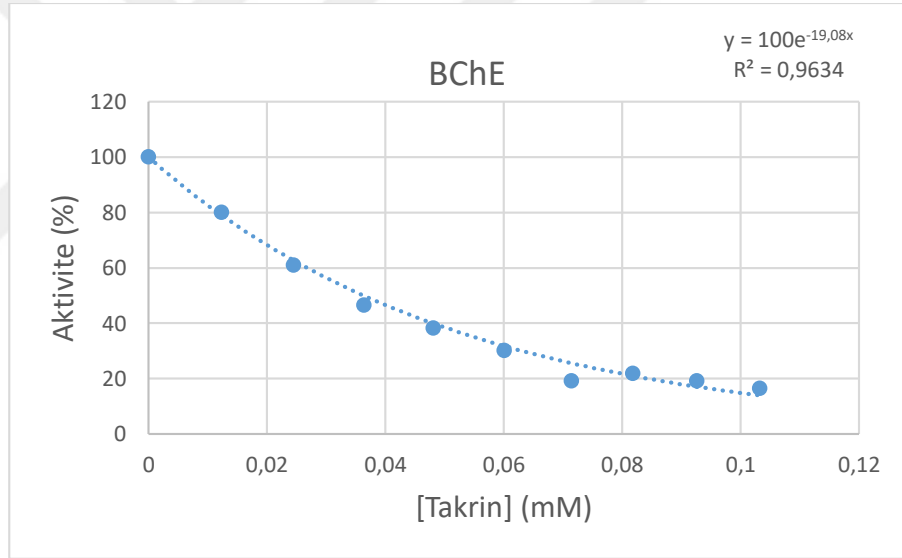
BChE enziminin 6-gingerol, diasetil-6-gingerol ve standart inhibitörü takrine, karşı inhibisyon etkisine bakıldı ve her bir madde için aktivite (%) grafikleri çizildi.



Şekil 4.1. BChE enzim aktivitesinde çalışılan 6-gingerol molekülünün farklı derişimleri ile çizilen aktivite (%)-6-gingerol grafiği



Şekil 4.2. BChE enzim aktivitesinde çalışılan diasetil-6-gingerol molekülünün farklı derişimleri ile çizilen aktivite (%)-diasetil-6-gingerol grafiğı



Şekil 4.3. BChE enzim aktivitesinde çalışılan takrinin farklı derişimleri ile çizilen aktivite (%)-takrin grafiğı

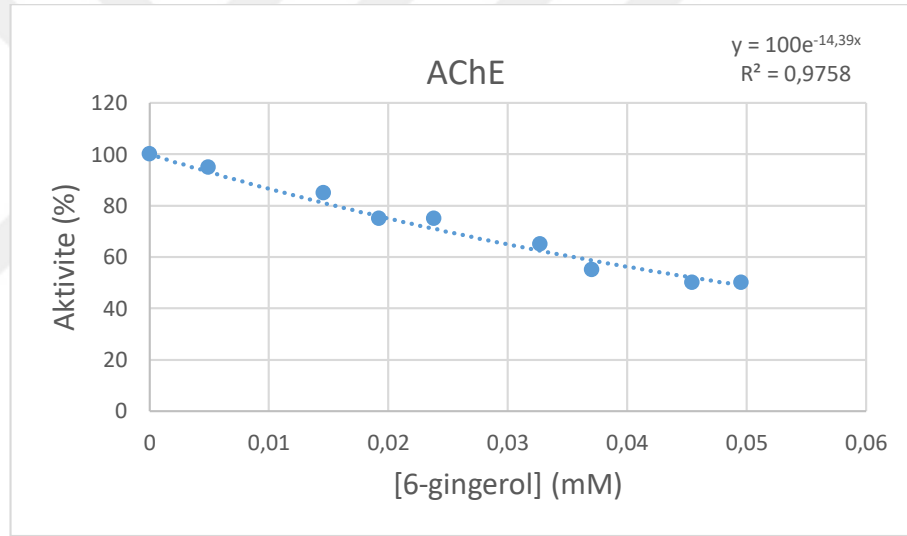
6-gingerol ve diasetil-6-gingerol bileşiklerinin farklı konsantrasyonlarının bütiril kolin esteraz enzimi üzerinde inhibisyon etkileri çalışılmış ve standart inhibitör olan takrin molekülü ile karşılaştırılmıştır. 6-gingerolün standart inhibitör olan takrinden daha düşük bir IC₅₀ değerine, diasetil-6-gingerolün ise takrine yakın bir IC₅₀ değerine sahip olduğu görülmüştür. Asetillenme neticesinde oluşan diasetil-6-gingerolün 6-gingerole göre inhibisyon etkisinde azalma olduğu anlaşılmıştır (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. BChE enzim aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren 6-gingerol, diasetil-6-gingerol, takrine ait IC₅₀ (mM) değerleri

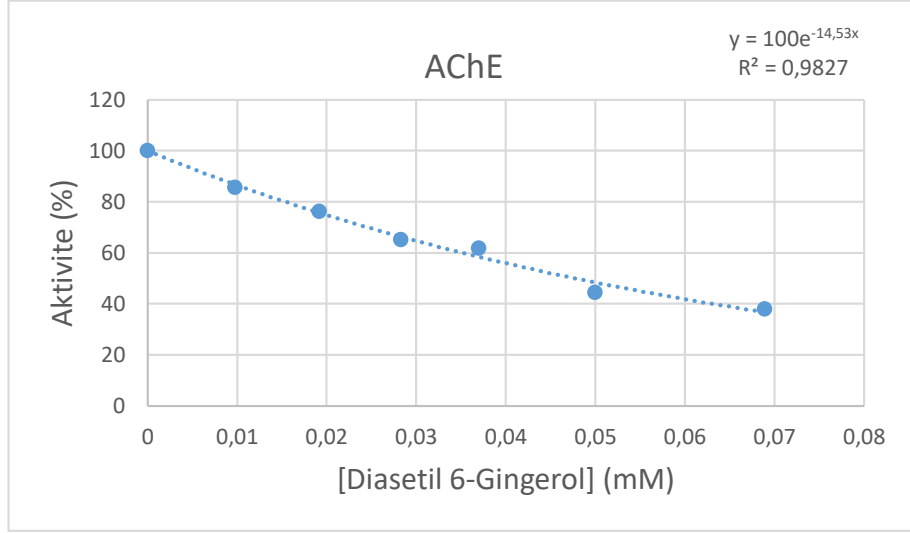
İnhibitör	IC₅₀ (μM)	r²
6-gingerol	19,744	0,9673
Diasetil-6-gingerol	43,558	0,9689
Takrin	36,321	0,9634

4.3.2. Asetilkolinesteraz aktivite inhibisyon çalışmaları sonuçları

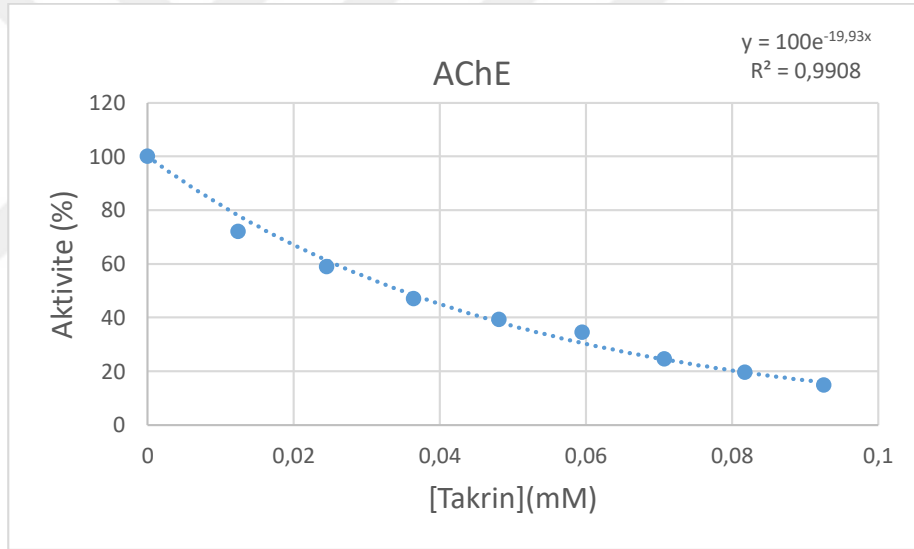
AChE enziminin 6-gingerol ve diasetil-6-gingerol bileşikleri ve standart inhibitör olan takrin bileşiğine karşı inhibisyon etkisine bakıldı ve her bir madde için aktivite (%) grafikleri çizildi.



Şekil 4.4 AChE enzim aktivitesinde çalışılan 6-gingerol molekülünün farklı derişimleri ile çizilen aktivite (%) - 6-gingerol inhibisyon grafiği



Şekil 4.5. AChE enzim aktivitesinde çalışılan diasetil-6-gingerol molekülünün farklı derişimleri ile çizilen aktivite (%) inhibisyon grafiğı



Şekil 4.6. AChE enzim aktivitesinde çalışılan takrinin farklı derişimleri ile çizilen aktivite (%) -takrin grafiğı

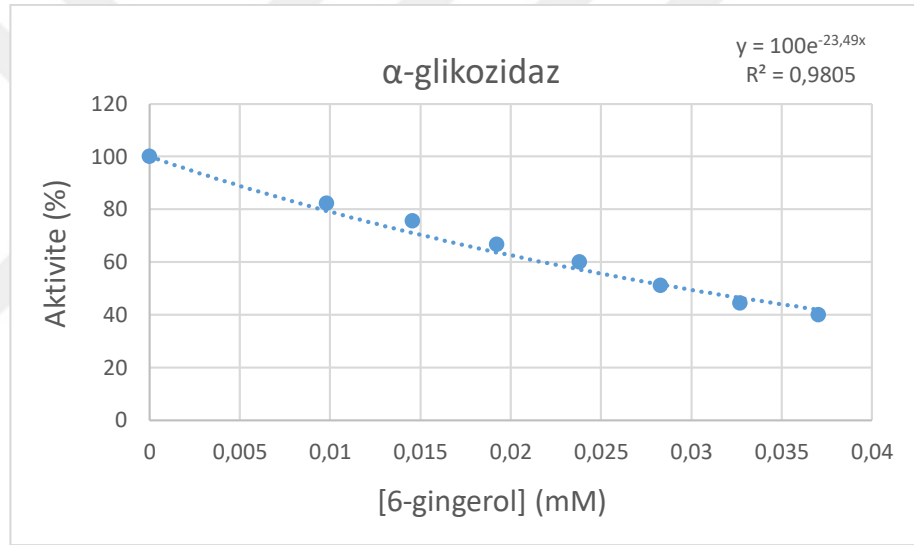
6-gingerol ve diasetil-6-gingerol bileşiklerinin farklı konsantrasyonlarının asetil kolin estera z enzimi üzerinde inhibisyon etkileri çalışılmış ve standart inhibitör olan takrin molekülü ile karşılaştırılmıştır. Her iki molekül için de inhibisyon etkisi gözlenmiş olmak ile beraber standart inhibitör olarak kullanılmış olan takrinden daha düşük bir inhibisyona sahip oldukları görülmüştür. Ayrıca 6-gingerol ve diasetil-6-gingerolün IC₅₀ değerlerinin birbirlerine çok yakın oldukları gözlenmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. AChE enzim aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren 6-gingerol, diasetil-6-gingerol, takrine ait IC₅₀ (mM) değerleri.

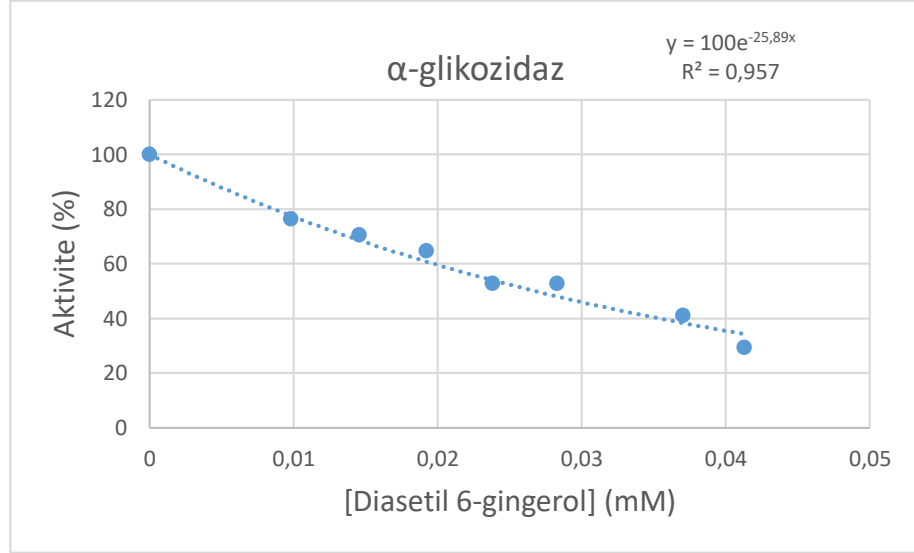
İnhibitör	IC ₅₀ (μM)	r ²
6-gingerol	48,158	0,9758
Diasetil-6-gingerol	47,694	0,9827
Takrin	34,772	0,9908

4.3.3. α-glikozidaz aktivite inhibisyon çalışmaları sonuçları

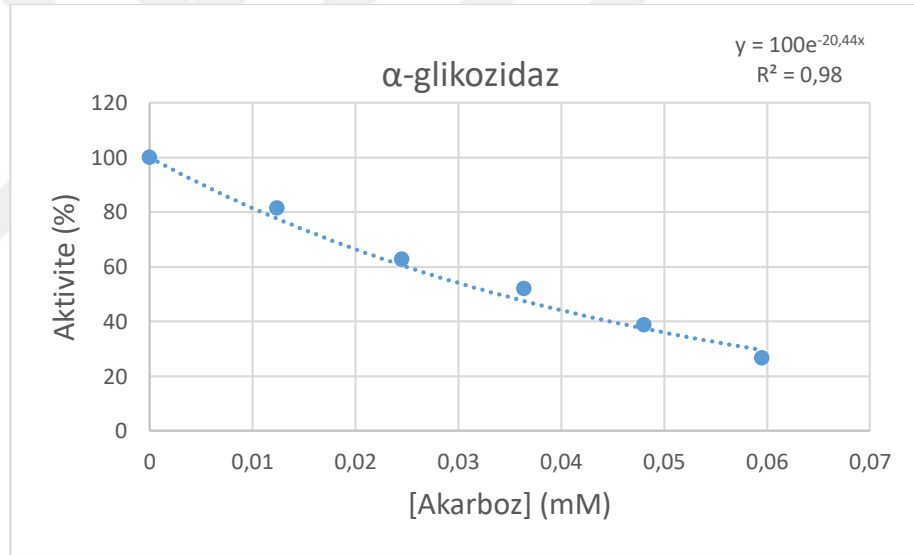
α-glikozidaz enziminin 6-gingerol, diasetil-6-gingerol ve standart inhibitörü takrine, karşı inhibisyon etkisine bakıldı ve her bir madde için aktivite (%) grafikleri çizildi.



Şekil 4.7 α-glikozidaz enzim aktivitesinde çalışılan 6-gingerol molekülünün farklı derişimleri ile çizilen aktivite (%)-6-gingerol grafiği



Şekil 4.8. α-glikozidaz enzim aktivitesinde çalışılan diasetil-6-gingerol molekülünün farklı derişimleri ile çizilen aktivite (%)-diasetil-6-gingerol grafiğı



Şekil 4.9. α-glikozidaz enzim aktivitesinde çalışılan akarbozun farklı derişimleri ile çizilen aktivite (%)-akarboz grafiğı

6-gingerol ve diasetil-6-gingerol bileşiklerinin farklı konsantrasyonlarının α-glikozidaz enzimi üzerinde inhibisyon etkileri çalışılmış ve standart inhibitör olan akarboz ile karşılaştırılmıştır. Her iki molekül için de standart inhibitöre göre daha yüksek bir inhibisyon etkisi gözlenmiştir. 6-gingerol ve diasetil-6-gingerolün IC₅₀ değerlerinin birbirlerine çok yakın oldukları, fakat diasetil-6-gingerolün α-glikozidazı daha fazla inhibe ettiğı görülmüştür (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. α -glukozidaz enzim aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren 6-gingerol, diasetil-6-gingerol, akarboza ait IC₅₀ (mM) değerleri

İnhibitör	IC₅₀	r²
6-gingerol	29,502	0,9805
Diasetil-6-gingerol	26,767	0,9570
Akarboz	33,904	0,9800

4.4. Antifungal Aktivite İnhibisyon Sonuçları

B. cinerea, taze ve hasat sonrası meyve ve sebzelerde ekonomik kayıplara neden olan dünya çapında en önemli fungal hastalıklardan birisinin sebebidir (Yan vd., 2010). Kimyasal kullanımı fungusitlerin patojene karşı en çok tercih edilen tedavi yöntemi olsa da uzun süreli kullanımları çevreye ve insan sağlığına büyük zararlara neden olmaktadır. Bu nedenle çevre dostu yeni alternatif yöntem arayışları artmıştır (Paredes vd., 2022). Son zamanlarda araştırmacılar, kurşuni küfün (*B. cinerea*) güvenli kontrol yönetimi için uçucu yağ, bitki özleri ve doğal koruyucu bileşenler gibi diğer kimyasalların geliştirilmesine odaklandılar (Zhao vd., 2021). Bu nedenle, bizde çalışmamızda *Zingiber officinale*'nin doğal bir bileşeni olan 6-gingerolün ve bu bileşiğin bir türevi olarak sentezlemiş olduğumuz diasetil-6-gingerolün antifungal aktivitelerinin *B. cinerea* enfeksiyonlarına karşı etkisini araştırdık. Literatürde, çalışmada kullanılan saf bileşenlerin (6-gingerol ve diasetil-6-gingerol) antifungal özellikleri ile ilgili herhangi bir bulguya rastlanmamıştır. Fakat daha önceki yapılan çalışmalarda *Z. officinale*'nin esansiyel yağının antifungal etkilerinin olduğu rapor edilmiştir (Tripathi vd., 2008; Ghuffar vd., 2022). Tripathi vd., (2008) tarafından, yirmi altı uçucu yağın *B. cinerea*'ya karşı etkisinin araştırıldığı çalışmada, on bitkinin (*Chenopodium ambrosioides*, *Eucalyptus citriodora*, *Eupatorium cannabinum*, *Lawsonia inermis*, *Ocimum canum*, *O. gratissimum*, *O. sanctum*, *Prunus persica*, *Zingiber cassumunar* ve *Z. officinale*) uçucu yağlarının antifungal aktivite (%100 büyüme inhibisyonu) gösterdiği tespit edilmiştir. Mevcut çalışmada 6-gingerol ve diasetil-6-gingerolün antifungal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. *İn vitro* ortamda uygulanan her iki molekül konsantrasyonlarının *B. cinerea*'nın miselyum gelişimi üzerine etkileri Şekil 4.10-4.11'de gösterilmiştir. Çalışmamızın sonuçları 6-gingerol ve diasetil-6-gingerol moleküllerinin (25, 50, 100, 500, 800, 1000 ve 2000 μ L) *B. cinerea*'ya karşı yüksek

antifungal aktivite gösterdiğini saptamıştır. *B. cinerea*'nın miseliyal gelişimi üzerindeki antifungal etkinin bileşenlerin doz oranına paralel olarak arttığı gözlemlenmiştir. 6-gingerol ve diasetil-6-gingerol bileşenlerinin, *B. cinerea* üzerinde antifungal etki göstermesi nedeniyle ileride yapılacak daha detaylı çalışmalarla bu moleküllerin fungusit olarak kullanılma potansiyeline sahip olabileceğini düşünmekteyiz.

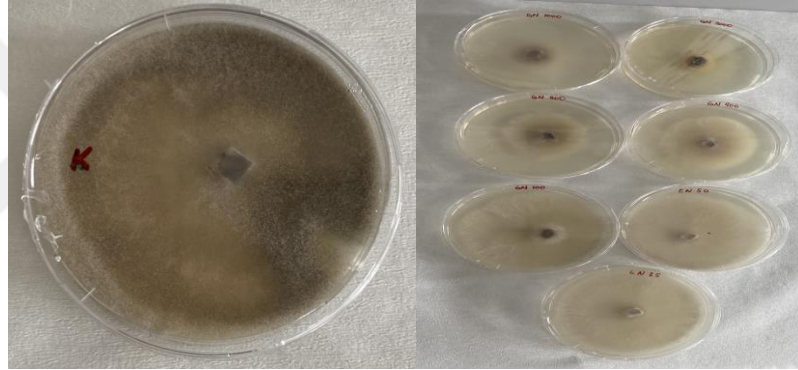
In vitro ortamda uygulanan 6-gingerol ve diasetil-6-gingerol bileşiklerinin farklı konsantrasyonlarının *B. cinerea*'nın miselyum gelişimi üzerine etkileri Tablo 4.4-4.5'te verilmiştir. *B. cinerea*'nın miselyum gelişimi üzerindeki antifungal etkinin bileşenlerin doz oranına paralel olarak arttığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar kontrol grubu ve kendi aralarında karşılaştırıldığında, en yüksek engelleme oranı %100 ile 6-gingerolün 1000 µL'lik, diasetil-6-gingerolün ise 1000 ve 2000 µL'lik dozlarında olduğu tespit edilmiştir. 6-Gingerolün 25 µL'lik dozunda %12.4'lük engelleme varken, diasetil-6-gingerolün 25 µL'lik dozunda %20.4'lük engelleme olmuştur. 6-Gingerolün 1000 µL'lik dozunda %89.7, 800 µL'lik dozunda ise %69.7'lik bir engelleme görülmüştür. Buna karşın diasetil-6-gingerolün 1000 µL'lik dozunda %100, 800 µL'lik dozunda ise %90.5'lik engelleme belirlenmiştir. Sonuçlar karşılaştırıldığında saf olarak tatbik edilen bileşiklerin miselyum gelişimi engellemede en etkili yapının diasetil-6-gingerol olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.4- 4.5). Şekil 4.10-4.11 incelendiğinde 6-gingerolün ve diasetil-6-gingerolün farklı oranlarda engelleme oluşturduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.4. 6-gingerolün miselyum engelleme oranına (MEO) etkisi

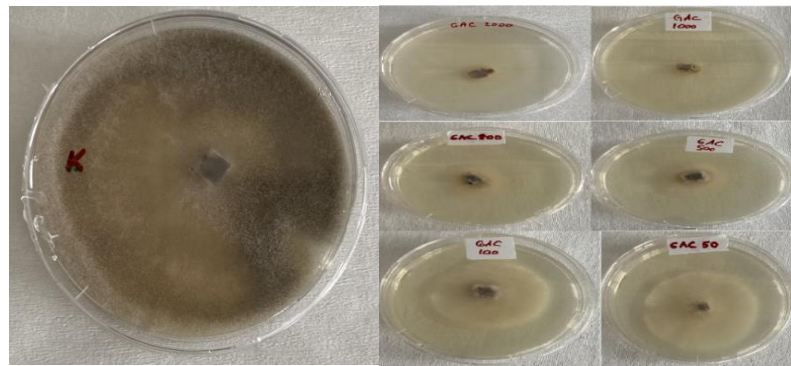
6-gingerol Çözelti hacmi (µL)	Konsantrasyon (mM)	MEO (%)
25	0,003	12.4
50	0,006	20.8
100	0,012	23.1
500	0,0060	48.7
800	0,096	69.7
1000	0.119	89.7
2000	0,227	100

Tablo 4.5. Diasetil-6-gingerolün miselyum engelleme oranına (MEO) etkisi

Diasetil-6-gingerol Çözelti hacmi (μ L)	Konstrasyon (mM)	MEO (%)
25	0,003	20.4
50	0,006	57.9
100	0,012	62.3
500	0,0060	87.6
800	0,096	90.5
1000	0.119	100
2000	0,227	100



Şekil 4.10. *B. cinerea*'nın misel büyümesi üzerinde kontrol ve 6-gingerolün etkisi



Şekil 4.11. *B. cinerea*'nın misel büyümesi üzerinde kontrol ve diasetil-6-gingerolün etkisi

4.5. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

4.5.1. Disk difüzyon testi

6-gingerol ve diasetil-6-gingerol moleküllerinin her ikisi de *S. pneumoniae* ve *S. agalactia*'ya karşı aktivite göstermiştir. *S. pneumoniae*'ye karşı en yüksek antimikrobiyal aktivite diasetil-6-gingerol molekülünde ($8,67 \pm 0.58$, mm $\pm$ SD) saptanmıştır. *S. agalactia*'ya karşı en yüksek antimikrobiyal aktivite 6-gingerol molekülünde ($14,67 \pm 0.5$, mm $\pm$ SD) saptanmış olup pozitif kontrolden (Vankomisin 5 μ g/disk) daha yüksek bir zon çapı ölçülmüştür. Diğer bakteri izolatlarına karşı her iki molekül de antibakteriyel aktivite göstermemiştir. Moleküllerin bakteriyel izolatlar üzerindeki antimikrobiyal etkisi Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.6. 6-gingerol ve diasetil-6-gingerol'ün antimikrobiyal aktiviteleri (mean $\pm$ SD, n = 3)

		6-gingerol	diasetil-6-gingerol	Kontrol		
				AK	E	VA
Madde Miktarı (µg)		29,4	37,8	30	15	5
Standart Suşlara Ait Zon Çapı (mm ± SD)	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	22.7±0.57	nt	nt
	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	22.3±0.57	nt	nt
	<i>E. coli</i>	-	-	19.3±0.57	nt	nt
	<i>E. coli COL-R</i>	-	-	18.7±0.57	nt	nt
	<i>E. faecalis</i>	-	-	nt	nt	14.3±0.57
	<i>S. aureus</i>	-	-	nt	21.3±0.57	nt
	<i>S. pneumoniae</i>	7.67±0.58	8.67±0.58	nt	nt	25.3±0.57
	<i>S. agalactia</i>	14.67±0.8	12.67±0.8	nt	nt	14.3±0.57

AK: Amikasin **E:** Eritromisin **VA:** Vankomisin **COL-R:**Kolistin dirençli **-:** İnhibisyon yok, **nt:** denenmedi

4.5.2. Sıvı mikrodilüsyon testi

Mikrodilüsyon yöntemine göre 6-gingerol ve diasetil-6-gingerol *E. faecalis*, *S. aureus*, *S. pneumoniae* ve *S. agalactia*'ya olmak üzere 4 izolat üzerinde etki göstermişlerdir. 6-gingerol *S. aureus* ve *E. faecalis*'e karşı 0,625 mM, *S. pneumoniae* ve *S. agalactia*'ya karşı 0,156 mM konsantrasyonlarında aktivite gösterirken, diasetil-6-gingerol ise *S. aureus* ve *E. faecalis*'e karşı 1,25 mM, *S. pneumoniae*'ye karşı 0,156 mM ve *S. agalactia*'ya karşı 0,312 mM konsantrasyonlarında aktivite göstermiştir. Diğer bakteri izolatlarına karşı aktivite 2,5 mM konsantrasyonunun üzerinde olduğu tespit edilmiştir. *S. pneumoniae* ve *S. agalactia*'ya karşı MİK sonuçları, disk difüzyon sonuçları ile karşılaştırıldığında uyumlu olarak bulunmuş ancak *E. faecalis* ve *S. aureus* suşunda disk difüzyon ile açma olmamasına rağmen sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle etki saptanmıştır. Bu durum bu bakterilere karşı bu etken maddeler için disk difüzyon yönteminin uygun olmadığı şeklinde yorumlanmıştır. Moleküllerin bakteriyel izolatlar aktivite gözlenen en düşük konsantrasyonları Tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.7. 6-gingerol ve diasetil-6-gingerol'ün antimikrobiyal aktivite gösteren en düşük konsantrasyonlar

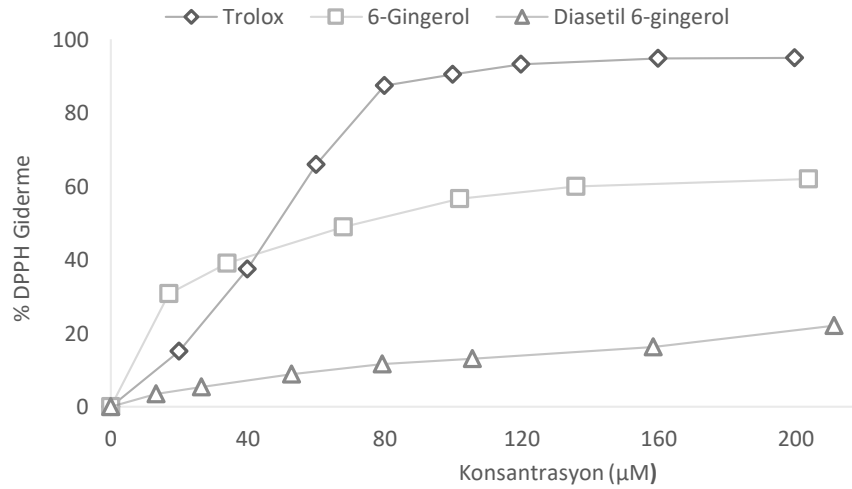
	Aktivite Gözlenen Madde Kons. (mM)	
	6-gingerol	diasetil-6-gingerol
Standart Suşlara	<i>P. aeruginosa</i>	2,5≤
	<i>K. pneumoniae</i>	2,5≤
	<i>E. coli</i>	2,5≤
	<i>E. coli COL-R</i>	2,5≤
	<i>E. faecalis</i>	0,625
	<i>S. aureus</i>	1,25
	<i>S. pneumoniae</i>	0,156
	<i>S. agalactia</i>	0,312

4.6. Antioksidan Aktivite Ölçüm Sonuçları

6-gingerol ve bu molekülden elde edilen diasetil-6-gingerolün göstermiş olduğu antioksidan aktivite özellikleri iki farklı metod ile belirlendi. Öncelikle her iki molekülün serbest radikal giderme aktivitesi araştırıldı. Bu amaçla DPPH serbest radikal giderme metodu her iki molekül ve standart antioksidan olarak kullanılan troloks için çalışıldı ve sonuçlar Tablo 4.8’de verildi. Çalışılan her iki molekülün DPPH serbest radikal giderme aktivitesinin standart olarak kullanılan troloks molekülünden daha düşük olduğu görüldü (Şekil-4.12).

Tablo 4.8. Antioksidan aktivite sonuçları

Örnek	DPPH IC ₅₀ (μ M)	İndirgeme Gücü mg TE g ⁻¹ Madde
6-gingerol	146.56 $\pm$ 2.97	72.38 $\pm$ 1.47
diasetil-6-gingerol	>270	3.52 $\pm$ 0.37
troloks	47.74 $\pm$ 0.82	-



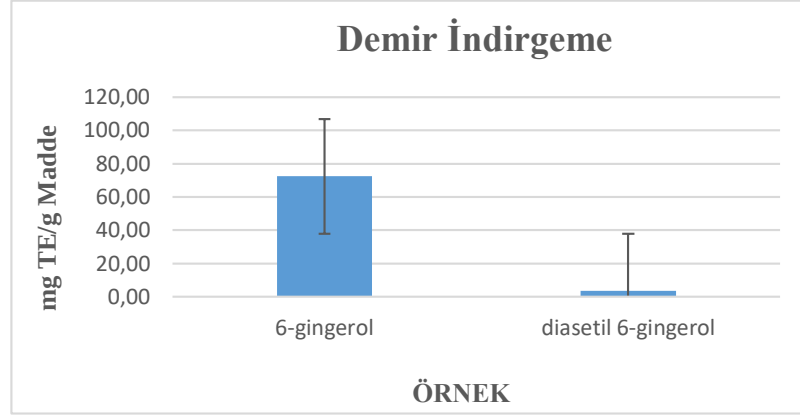
Şekil 4.12. Konsantrasyona bağlı olarak yüzde DPPH giderme grafiği

6-gingerolün asetillenmesi neticesinde oluşan diasetil-6-gingerol molekülünün serbest radikal giderme aktivitesinin başlangıç molekülüne oranla önemli oranda azalmış olduğu görüldü. Elde edilen bu sonuç asetillenme neticesinde başlangıç molekülünün fenolik özelliğini kaybetmesi ve bunun neticesinde radikal yapıdaki ortaklanmamış elektronun fenol halkasına dâhil olamayıp delokalize olamayışı ile izah edilebilir. Bir molekülün fenolik özelliğini kaybetmesi neticesinde antioksidan özelliğinde ciddi azalma görülür gerçeğine önemli bir örnek teşkil edebilecek bu sonuç literatür için bir katkı olarak değerlendirilebilir.

6-gingerol ve diasetil-6-gingerolün antioksidan potansiyellerini karşılıklı olarak değerlendirmek amacı ile başvurulmuş diğer metod ise kısaca demir indirgeme metodu olarak bilinen ve Fe^{+3} iyonlarının Fe^{+2} iyonlarına indirgenmesi suretiyle ölçüm yapılan metal indirgeme yöntemidir. Bu yöntem maddelerin antioksidan kapasitelerini ölçmek için yaygın olarak kullanılan bir spektrofotometrik testtir.

Demir indirgeme testi, maddelerin antioksidan potansiyelini hızlı ve güvenilir bir şekilde ortaya koyabilen önemli bir yöntem olup gıda endüstrisinde ürünlerin kalitesini belirlemede, bitki örneklerinin antioksidan potansiyelini araştırmada ve ayrıca biyolojik sıvılardaki antioksidanlarla ilgili çalışmalarda da yoğun olarak kullanılmaktadır.

DPPH serbest radikal giderme aktivite belirleme testinde olduğu gibi demir indirgeme metodunda da standart antioksidan olarak troloks bileşiği kullanıldı. Gerek 6-gingerol ve gerekse bu bileşikten yola çıkılarak sentezlenmiş olan diasetil-6-gingerolün sahip olduğu antioksidan aktivitenin trolokstan daha düşük olduğu belirlendi. Radikal giderme testinde elde edilen sonuçlara paralel olarak diasetil-6-gingerolün antioksidan potansiyelinin fenolik özelliğini kaybetmiş olması sebebi ile 6-gingerole göre önemli oranda düşük olduğu gözlemlendi ve sonuçlar troloks eşdeğer olarak verildi (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. 6-gingerol ve diasetil 6-gingerolün demir indirgeme sonuçları

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bitkiler insan hayatının ayrılmaz bir parçasıdır. İnsanoğlu yüzyıllardır bitkileri birçok ihtiyacını karşılamak için kullanmıştır. Bu kullanım alanları içerisinde beslenme ve ilaç olarak kullanım en önde gelenlerdir. Son iki yüzyılda bilim ve teknolojinin hızla ilerlemesinin bir sonucu olarak besin ve ilaç olarak kullanılan bu canlıların yapılarının incelenmesi de hız kazanmıştır. Genel itibari ile kimya ilmi ile uğraşan bilim insanları olmak üzere eczacılar ve beslenme alanında çalışmalar yürüten bilim insanları bitkilerin yapısını oluşturan kimyasal yapıları tanımlamak ve biyolojik aktivitelerini ortaya çıkarmak için yoğun bir şekilde çalışmalar yapmaktadırlar.

Bitkiler ile yapılan çalışmalar çok çeşitli olmak ile beraber, özellikle doğal ürünler kimyası çalışmaları kapsamında bitkilerin yapısında bulunan sekonder metabolitlerin izolasyonu ve yapı tayinlerinin yapılması ön plana çıkmaktadır. Bu güne kadar binlerce farklı bitkinin yapısında bulunan bu yapıların izolasyonu gerçekleştirilerek yapı tayinleri gerçekleştirilmiştir ve hala da bu çalışmalar tüm dünya üniversitelerinde yoğun bir şekilde devam etmektedir.

Bitkilerden izole edilen yapıların incelenmesi neticesinde birçok yeni bileşik ortaya konulmuştur. Tüm bileşiklerin gösterdiği yüksek biyolojik aktiviteler önemli olmakla beraber yeni elde edilen bir bileşiğini önemli biyolojik potansiyele sahip olması bilimsel açıdan son derece önemlidir. Doğal kaynaklardan elde edilen bir bileşik üzerinde yapılan çalışmalar yanında yarı sentetik olarak adlandırılan diğer bir bilimsel faaliyet alanı ise doğal kaynaklardan elde edilen bu yapıların diğer kimyasallar ile etkileştirilmesi neticesinde farklı bileşiklere ulaşılabilmesidir.

Yapılan bu tez çalışmasında yüz yıllardır insanoğlu tarafından hem bir şifa ve hem de bir gıda kaynağı olarak kullanılan zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.) bitkisi kullanılmış olup, bitkinin yapısında bulunan ve bitkinin sahip olduğu biyolojik aktivitesinde önemli bir yeri olan 6-gingerol bileşiği çalışılmıştır.

Önemli bir sekonder metabolit olan 6-gingerol kromatografik yöntemlerle saflaştırılmıştır ve nükleer manyetik rezonans (NMR) yöntemleri ile yapısı tayin edilerek, literatür ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen bu sekonder metabolit piridin ve

asetik anhidrit ile muamele edilerek diasetil-6-gingerol yapısı elde edilmiştir. Böylece doğal olarak zencefil bitkisinin yapısında bulunan bir molekül kullanılarak yarı sentetik veya türev bileşik diye adlandırabileceğimiz yeni diğer bir yapı elde edilmiştir.

Çalışmanın önemli bir amacı bitkinin yapısında doğal olarak bulunan bir bileşik ile bu bileşiğin asetatlanması ile elde edilmiş yarı sentetik diğer bir bileşiğin biyolojik aktivitelerinin karşılıklı olarak çalışılması suretiyle yapı değişikliğinin ne gibi sonuçlar ortaya koyduğunu belirlemektir.

Bu bağlamda her iki bileşik için antioksidan, antifungal, antimikrobiyal testler gerçekleştirilmiş ve ayrıca asetilkolin esterase, bütirilkolin esterase ve α -glukozidaz enzimleri üzerinde inhibisyon etkileri çalışılmıştır.

Yapılan bu testler içerisinde özellikle antifungal çalışmalarda elde edilen sonuçlar dikkat çekici olup çalışılan her iki molekülle ilgili literatüre anlamlı bir katkı sağlamıştır. Hem 6-gingerol ve hem de diasetil-6-gingerol molekülü önemli oranda antifungal aktivite göstermekle beraber türev yapı olarak sentezlemiş olduğumuz diasetil-6-gingerolün daha yüksek aktivite göstermiş olması önemli bir sonuç olarak karşımıza çıkmaktadır. Sentezlenen türev bileşiklerin daha yüksek aktivite gösterebilme yeteneğine önemli bir örnek olarak literatüre katkı sunulmuştur. Yeni sentezlenen diasetil-6-gingerol ile ilgili olarak daha ileri antifungal çalışmaları yapılabilir.

Antimikrobiyal çalışmalar kapsamında yedi farklı bakteri türü üzerinde her iki molekülün etkisi incelenmiş ve bazı bakterilerin üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir.

Antioksidan çalışmaları kapsamında DPPH giderme ve demir indirgeme metodları kullanılmıştır. DPPH önemli bir serbest radikaldir. Bir molekülün bu radikali giderme derecesi onun antioksidan potansiyelini göstermektedir. Her iki molekülde standart antioksidan bileşiklere yakın miktarda radikal giderme aktivitesi göstermiştir. Ayrıca demir indirgeme metodunda Fe^{+3} iyonlarının indirgenmesi çalışılmıştır. İyonunun indirgenme miktarı belirlenmiş ve radikal giderme çalışmalarında elde edilen sonuçlara paralel sonuçlar elde edilmiştir. Her iki antioksidan metotta da diasetil-6-gingerolün aktivitesinin başlangıç molekülüne oranla önemli oranda azalma gözlenmiştir. Elde edilen sonuç, literatür ile uyumlu olup bir bileşiğin antioksidan potansiyelinde fenolik

yapının ne kadar önemli olduğunu tekrar ortaya koymuştur. Bir bileşiğin fenolik özelliğini kaybetmesi durumunda antioksidan potansiyelinde azalma olacağına dair önemli bir örnek olarak mevcut çalışma gösterilebilir.

Mevcut çalışmamızda ikisi Alzheimer (Asetil kolinesteraz ve Bütiril kolinesteraz) ve biri de diyabet (α -glikozidaz) hastalıklarının tedavi süreçlerinde önem arz eden üç metabolik enzim üzerinde inhibisyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Gerek 6-gingerol ve gerekse diasetil-6-gingerol moleküllerinin her üç enzim üzerinde de önemli derecede inhibisyon etkisi gösterdiği izlenmiştir. Her iki molekülünde asetil kolinesteraz enzimine karşı standart inhibitör takrine karşı daha düşük inhibisyon göstermelerine rağmen, özellikle α -glikozidaza karşı standart inhibitör olan akarbozdan daha yüksek inhibisyon göstermişlerdir. Diasetil-6-gingerol molekülündeki asetil grupları ise α -glikozidaza karşı 6-gingerole göre inhibisyonu miktarını kısmen de olsa arttırmıştır. Bütiril kolinesteraz enzimine karşı ise 6-gingerol standart inhibitörden daha yüksek bir inhibisyon göstermiş olmak ile beraber diasetil-6-gingerol'ün inhibisyon miktarı standart inhibitörün altında kalmıştır.

Sonuç olarak çalışmada kullanılan Zencefil (*Zingiber Officinale* Rosc.) bitkisinden hazırlanan ekstraktların biyolojik aktivitesinde bitkinin yapısında bir sekonder metabolit olarak bulunan 6-gingerol molekülünün önemi ortaya konulmuş olup, 6-gingerol molekülünün türevlendirilmesi yolu ile elde edilen diasetil-6-gingerol molekülü de ayrıca çalışılmıştır. Asetillenme neticesinde başlangıç molekülünün antioksidan özelliği azalmış, buna karşılık antifungal özelliğinde ise dikkate değer bir artış olmuştur. Antifungal aktivitede gözlenen bu artış daha ileri çalışmalara kapı açabilecek bir nitelikte literatüre bir katkı olarak değerlendirilebilir.

KAYNAKLAR

- Akimoto, M., Iizuka, M., Kanematsu, R., Yoshida, M., Takenaga, K. (2015) "Anticancer effect of ginger extract against pancreatic cancer cells mainly through reactive oxygen species-mediated autotic cell death". **PloS one**, 10(5), e0126605.
- Al-Nahain, A., Jahan, R., Rahmatullah, M. (2014) "Zingiber officinale: A potential plant against rheumatoid arthritis". **Arthritis**, 2014.
- Anh, N. H., Kim, S. J., Long, N. P., Min, J. E., Yoon, Y. C., Lee, E. G., Kwon, S. W. (2020) "Ginger on human health: a comprehensive systematic review of 109 randomized controlled trials". **Nutrients**, 12(1), 157.
- Atanasov, A. G., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E. M., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., Stuppner, H. (2015) "Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review". **Biotechnology advances**, 33(8), 1582-1614.
- Atanasov, A. G., Zotchev, S. B., Dirsch, V. M., Supuran, C. T. (2021) "Natural product drug discovery: Advances and opportunities". **Nature reviews Drug discovery**, 20(3), 200-216.
- Badreldin, A., Blunden, G., Tanira, M. and Nemmar, A., (2008) "Some Phytochemical, Pharmacological and Toxicological Properties of Ginger (Zingiber officinale Rosc.): A review of Recent Research". **Food and Chemical Toxicology**, 46(2), 409-420.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45(4-ts), 493-496.
- Berber, İ., Özgökçe, F., & Şeker, A. (2009). Van yöresinde yetişen bazı bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. **Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, 14(2), 117-121.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, 181(4617), 1199-1200.
- Butt, M. S., Sultan, M. T. (2011) "Ginger and its health claims: molecular aspects". **Critical reviews in food science and nutrition**, 51(5), 383-393.
- Chang, C. J., Tzeng, T. F., Liou, S. S., Chang, Y. S., Liu, I. M. (2012) "Acute and 28-day subchronic oral toxicity of an ethanol extract of Zingiber zerumbet (L.) Smith in rodents". **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2012.

- Chao, W., Ying, L., Yuanwei, Y., Zhengguo, T., Zongjia, C., Tian, W., Yanmin, Z., (2020) "Effects of gingerols-rich extract of ginger on growth performance, serum metabolites, meat quality and antioxidant activity of heat-stressed broilers". *Journal of Thermal Biology*, 89, 102544.
- Crichton, M., Marshall, S., Marx, W., McCarthy, A. L., Isenring, E. (2019) "Efficacy of ginger (*Zingiber officinale*) in ameliorating chemotherapy-induced nausea and vomiting and chemotherapy-related outcomes: a systematic review update and meta-analysis". *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 119(12), 2055-2068.
- Denniff, P., Whiting, D.A., (1976) "Biosynthesis of [6]-gingerol, pungent principle of *Zingiber officinale*". *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 711-712.
- Denniff, P., Macleod, I., Whiting, D.A., (1980) "Studies in the biosynthesis of [6]-gingerol, pungent principle of ginger (*Zingiber officinale*)". *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions* 1, 2637-2644.
- Ekor, M. (2014) "The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety". *Frontiers in pharmacology*, 4, 177.
- Erb, M., Kliebenstein, D. J. (2020) "Plant secondary metabolites as defenses, regulators, and primary metabolites: the blurred functional trichotomy. *Plant physiology*, 184(1), 39-52.
- Ghuffar, S., Irshad, G., Naz, F., Khan, M. A., Ahmed, M. Z., & Gleason, M. L. (2022). efficacy of plant essential oils against *alternaria alternata* causing bunch rot of grapes in Pakistan. *Japs: Journal Of Animal & Plant Sciences*, 32(1).
- Farombi, E. O., Ajayi, B. O., Adedara, I. A. (2020) "6-Gingerol delays tumorigenesis in benzo [a] pyrene and dextran sulphate sodium-induced colorectal cancer in mice". *Food and Chemical Toxicology*, 142, 111483.
- Hamidpour, R., Hamidpour, S., Hamidpour, M., Shahlari, M., Sohraby, M., Shahlari, N., Hamidpour, R. (2017) "Russian olive (*Elaeagnus angustifolia* L.): From a variety of traditional medicinal applications to its novel roles as active antioxidant, anti-inflammatory, anti-mutagenic and analgesic agent". *Journal of traditional and complementary medicine*, 7(1), 24-29.
- Hu, Y., Liu, T., Zheng, G., Zhou, L., Ma, K., Xiong, X., Lin, J. (2023) "Mechanism exploration of 6-Gingerol in the treatment of atherosclerosis based on network pharmacology, molecular docking and experimental validation". *Phytomedicine*, 115, 154835.
- Hyde, K. D., Xu, J., Rapior, S., Jeewon, R., Lumyong, S., Niego, A. G. T., Stadler, M. (2019) "The amazing potential of fungi: 50 ways we can exploit fungi industrially". *Fungal Diversity*, 97, 1-136.

- Ishola, A. A. (2023) "Aspirin: The Wonder Drug".
- Jolad, S.D., Lantz, R.C., Solyom, A.M., Chen, G.J., Bates, R.B., (2004) Timmermann B.N. "Fresh organically grown ginger (*Zingiber officinale*): Composition and effects on LPSinduced PGE2 production". *Phytochemistry*; 65(13),1937–1954.
- Karakuş, S., Atici, Ö., Köse, C., & Aydın, İ. (2021). N epeta meyeri essential oil ameliorates fungal infection and the antioxidant response in grapevines (*Vitis vinifera*) infections by gray mold (*Botrytis cinerea*). *Acta Physiologiae Plantarum*, 43, 1-11.
- Kaufman, S. (2016). "Zingiber officinale (ginger)". *Invasive Species Compendium*, (57537).
- Konuklugil, B. (2004) "Zencefil'in (*Zingiber Officinale*) tarih boyunca önemi ve günümüzdeki kullanımı". *Otam: Ankara Üniversitesi Osmanlı Tarihi Araştırma Ve Uygulama Merkezi Dergisi*, (15-16), 173.
- Korkmaz, M., Karakuş, S., Selvi, S., & Çakılcıoğlu, U. (2016). Traditional knowledge on wild plants in Üzümlü (Erzincan-Turkey).
- Köksal, E. Gülçin, İ. (2008). Antioxidant activity of cauliflower (*Brassica oleracea* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 32(1), 65-78
- Köksal, E., Tohma, H., Kılıç, Ö., Alan, Y., Aras, A., Gülçin, İ., & Bursal, E. (2017). Assessment of antimicrobial and antioxidant activities of *Nepeta trachonitica*: analysis of its phenolic compounds using HPLC-MS/MS. *Scientia pharmaceutica*, 85(2), 24.
- Langmead, L., Rampton, D. S. (2001) "Review article: herbal treatment in gastrointestinal and liver disease". *Aliment Pharmacol Ther*, 15(9), 1239-52.
- Lavecchia, T., Rea, G., Antonacci, A., Giardi, M. T. (2013) "Healthy and adverse effects of plant-derived functional metabolites: the need of revealing their content and bioactivity in a complex food matrix". *Critical reviews in food science and nutrition*, 53(2), 198-213.
- Mao, Q. Q., Xu, X. Y., Cao, S. Y., Gan, R. Y., Corke, H., Beta, T., Li, H. Bin.(2019) "Bioactive compounds and bioactivities of ginger (*zingiber officinale* roscoe)".
- Masuda, Y., Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Nakatani, N. (2004) "Antioxidant properties of gingerol related compounds from ginger". *Biofactors*, 21(1-4), 293-296.
- Michalak, M. (2022) "Plant-derived antioxidants: Significance in skin health and the ageing process". *International journal of molecular sciences*, 23(2), 585.

- Montinari, M. R., Minelli, S., De Caterina, R. (2019) “The first 3500 years of aspirin history from its roots–A concise summary”. *Vascular pharmacology*, 113, 1-8.
- Murad, S., Niaz, K., Aslam, H. (2018) “Effects of ginger on LDL-C, total cholesterol and body weight”. *Clinical and Medical Biochemistry*, 4(140), 2471-2663.
- Ngegba, P. M., Cui, G., Khalid, M. Z., Zhong, G. (2022) “Use of botanical pesticides in agriculture as an alternative to synthetic pesticides. *Agriculture*, 12(5), 600.
- Nikkhah Bodagh, M., Maleki, I., Hekmatdoost, A. (2019) “Ginger in gastrointestinal disorders: A systematic review of clinical trials”. *Food science & nutrition*, 7(1), 96-108.
- Olszowy, M. (2019) “What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants”. *Plant Physiology and Biochemistry*, 144, 135-143.
- Ozgoli, G., Goli, M., Simbar, M. (2009) “Effects of ginger capsules on pregnancy, nausea, and vomiting”. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 15(3), 243-246.
- Paredes-Jácome, J. R., Hernández-Montiel, L. G., Robledo-Torres, V., González-Fuentes, J. A., Chiquito-Contreras, R. G., & Mendoza-Villarreal, R. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungus and organics substrates effect on bean plant morphology and minerals. *Terra Latinoamericana*, 40.
- Poovvathingal, H., Varughese, M., Chellappanpillai, S., (2018) “Probing the interaction of the phytochemical 6-gingerol from the spice ginger with DNA”. *International Journal of Biological Macromolecules*, 113, 124-131.
- Reuter, J., Merfort, I., Schempp, C. M. (2010) “Botanicals in dermatology: an evidence-based review”. *American journal of clinical dermatology*, 11, 247-267.
- Riaz, M., Khalid, R., Afzal, M., Anjum, F., Fatima, H., Zia, S., Aslam, M. A. (2023) “Phytobioactive compounds as therapeutic agents for human diseases: A review”. *Food Science & Nutrition*.
- Rodricks, J. V., Turnbull, D., Chowdhury, F., Wu, F. (2020) “Food constituents and contaminants”. *Environmental toxicants: human exposures and their health effects*, 149-204.
- Rostamkhani, H., Veisi, P., Niknafs, B., Jafarabadi, M. A., Ghoreishi, Z. (2023). “ The effect of zingiber officinale on prooxidant-antioxidant balance and glycemic control in diabetic patients with ESRD undergoing hemodialysis: a double-blind randomized control trial”. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1), 52.

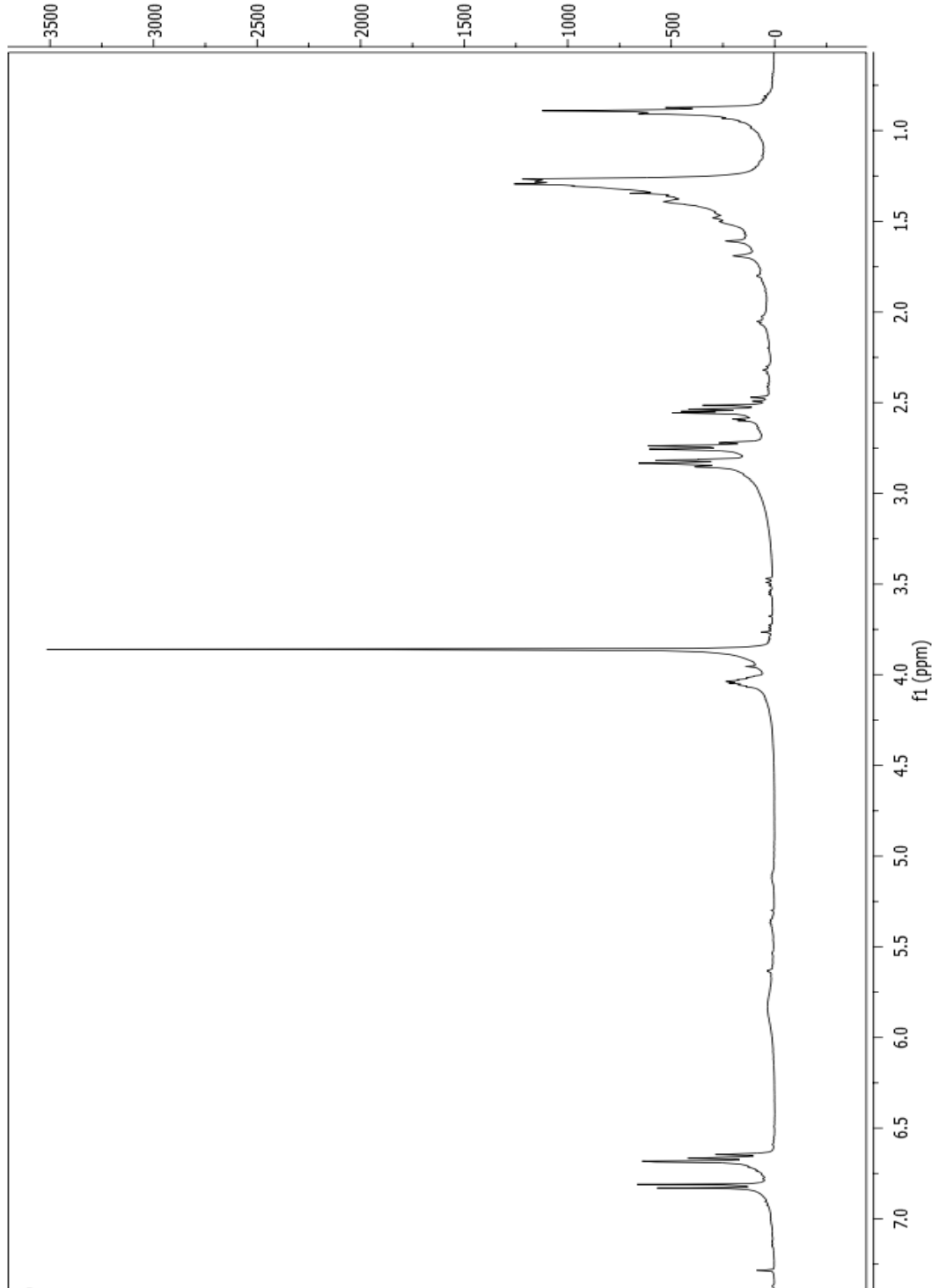
- Sağlamtaşı, R. (2021). Gingerol'un antioksidan aktivitesi ve bazı metabolik enzimler üzerindeki etkisinin araştırılması. (Doktora tezi) , *Fen bilimleri enstitüsü*, Atatürk Üniversitesi, 54-74.
- Sahoo, M., Dey, S., Sahoo, S., Das, A., Ray, A., Nayak, S., Subudhi, E. (2023) "MLP (multi-layer perceptron) and RBF (radial basis function) neural network approach for estimating and optimizing 6-gingerol content in Zingiber officinale Rosc. in different agro-climatic conditions". *Industrial Crops and Products*, 198, 116658.
- Semwal, R.B., Semwal, D.K., Combrinck, S., Viljoen, A.M., (2015). "Gingerols and shogaols: Important nutraceutical principles from ginger". *Phytochemistry*, 117:554-568.
- Shahrajabian, M. H., Sun, W., Cheng, Q. (2019). "Clinical aspects and health benefits of ginger (Zingiber officinale) in both traditional Chinese medicine and modern industry". *Acta agriculturae scandinavica, section b—Soil & Plant Science*, 69(6), 546-556.
- Shalaby, E. A., Shanab, S. M., Hafez, R. M., El-Ansary, A. E. (2023) "Chemical constituents and biological activities of different extracts from ginger plant (Zingiber officinale)". *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 10(1), 14.
- Sharma, E., Anand, G., Kapoor, R. (2017) "Terpenoids in plant and arbuscular mycorrhiza-reinforced defence against herbivorous insects". *Annals of Botany*, 119(5), 791-801.
- Sher, H., Aldosari, A., Ali, A., de Boer, H. J. (2014) "Economic benefits of high value medicinal plants to Pakistani communities: an analysis of current practice and potential". *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 10, 1-16.
- Tang, W., Zhu, S. C., Tan, X. J., Cao, J., Ye, L. H. (2023). "Chemometrics and antioxidant activity assisted nontargeted metabolomics for the identification of ginger species". *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 115546.
- Teoh, E. S., (2016) "Secondary metabolites of plants". *Medicinal orchids of Asia*, 59-73.
- Thresh, J.C., (1879) "Proximate analysis of the rhizome of Zingiber officinale and comparative examination of typical specimens of commercial ginger". *Pharmology Journal*, 10, 171.
- Tohma, H., Gülçin, İ., Bursal, E., Gören, A.C., Alwasel, S.H., Köksal, E., (2016) "Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (Zingiber officinale Rosc.) determined by HPLC-MS/MS". *Journal of Food Measurement and Characterization* , 11(2), 556–566.

- Tripathi, P., Dubey, N. K., Shukla, A. K. (2008). Use of some essential oils as post-harvest botanical fungicides in the management of grey mould of grapes caused by *Botrytis cinerea*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 24, 39-46.
- Twaij, B. M., Hasan, M. N. (2022) “Bioactive secondary metabolites from plant sources: Types, synthesis, and their therapeutic uses”. **International Journal of Plant Biology**, 13(1), 4-14.
- Wani, M. C., & Horwitz, S. B. (2014) “Nature as a Remarkable Chemist: A personal story of the discovery and development of Taxol®”. **Anti-cancer drugs**, 25(5), 482.
- Wickens, A. P. (2001) “Ageing and the free radical theory”. **Respiration physiology**, 128(3), 379-391.
- Yang, L., Wen, K. S., Ruan, X., Zhao, Y. X., Wei, F., Wang, Q. (2018) “Response of plant secondary metabolites to environmental factors”. **Molecules**, 23(4), 762.
- Yan, L., Yang, Q., Sundin, G. W., Li, H., Ma, Z. (2010). The mitogen-activated protein kinase kinase BOS5 is involved in regulating vegetative differentiation and virulence in *Botrytis cinerea*. **Fungal Genetics and Biology**, 47(9), 753-760.
- Zhao, S., Guo, Y., Wang, Q., An, B. (2021). Antifungal effects of lycorine on *Botrytis cinerea* and possible mechanisms. **Biotechnology Letters**, 43, 1503-1512.

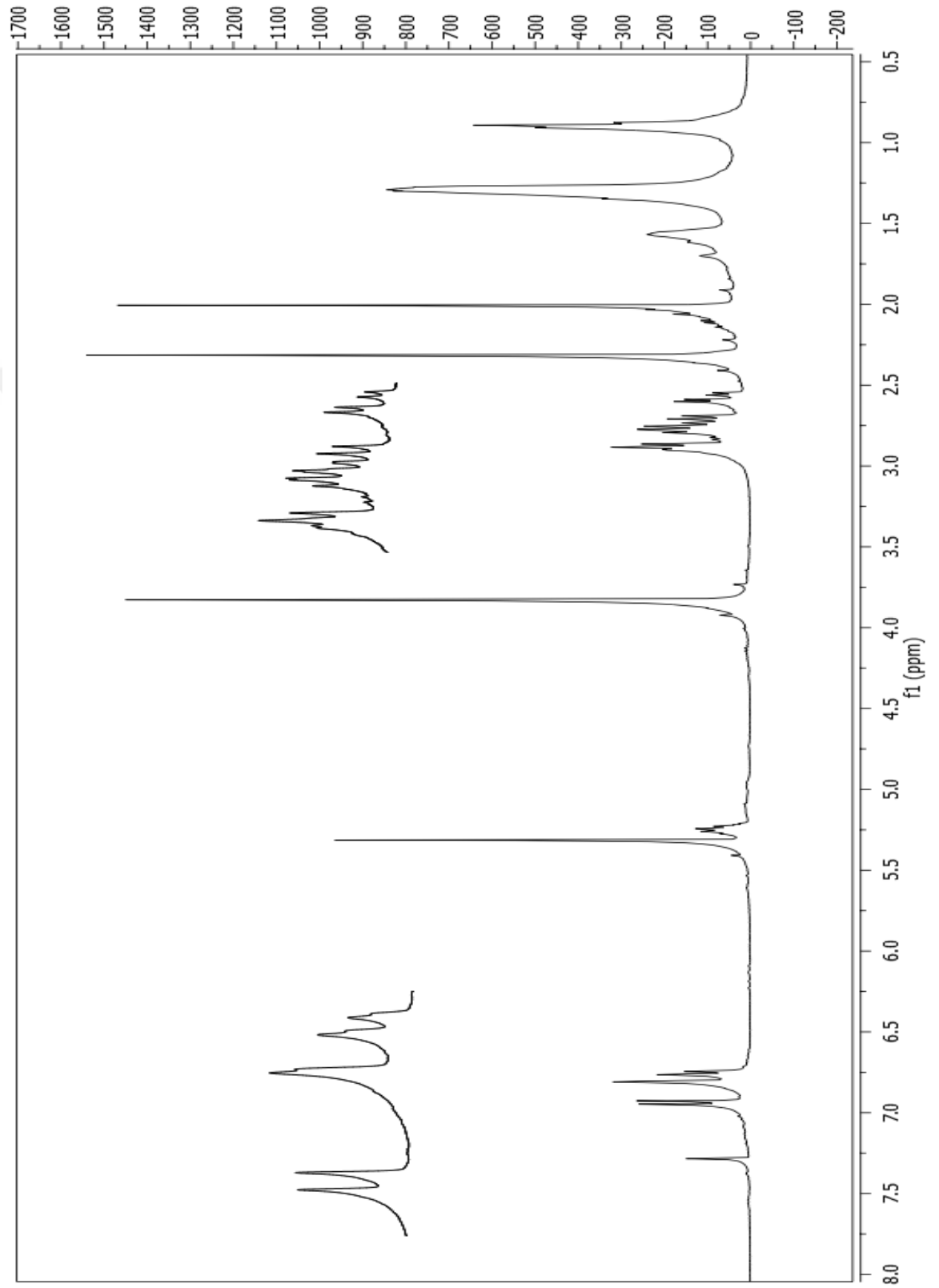


EKLER

Ek-1. 6-gingerol'ün 400 MHz ^1H -NMR spektrumu



EK-2. Diasetil 6-gingerol'ün 400 MHz ^1H -NMR spektrumu



EK-3. Diasetil-6-gingerol'ün 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumu

