



**ENDEMİK *Anthemis fumariifolia* Boiss.
BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE
BİYOLOJİK AKTİVİTE AÇISINDAN
ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

Tuğbanur TÜYSÜZ

Eskişehir, 2025

**ENDEMİK *Anthemis fumariifolia* Boiss. BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE
BİYOLOJİK AKTİVİTE AÇISINDAN ARAŞTIRILMASI**

Tuğbanur TÜYSÜZ

DOKTORA TEZİ

Farmakognozi Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Temel ÖZEK

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ocak 2025

*Bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
Koordinatörlüğü tarafından 2212S213 proje numarası ile desteklenmiştir.*

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Tuğbanur TÜYSÜZ'ün “Endemik *Anthemis fumariifolia* Boiss. Bitkisinin Fitokimyasal ve Biyolojik Aktivite Açısından Araştırılması” başlıklı tezi 27.01.2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği”nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakognozi Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

<u>Ünvanı-Adı Soyadı</u>		<u>İmza</u>
Üye (Danışman) :	Prof. Dr. Temel ÖZEK	
Üye :	Prof. Dr. Nilgün ÖZTÜRK	
Üye :	Prof. Dr. Dilek AK	
Üye :	Prof. Dr. Nuraniye ERUYGUR	
Üye :	Doç. Dr. Fatih GÖGER	

Prof. Dr. Nafiz Öncü CAN
Anadolu Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

ENDEMİK *Anthemis fumariifolia* Boiss. BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE BİYOLOJİK AKTİVİTE AÇISINDAN ARAŞTIRILMASI

Tuğbanur TÜYSÜZ

Farmakognozi Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Ocak 2025

Danışman: Prof. Dr. Temel ÖZEK

Bu tez çalışmasında Eskişehir Günyüzü Kavuncu Köyü Tuzlu alan bölgesinden toplanan endemik *Anthemis fumariifolia* Boiss. bitkisinin kapsamlı fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla bitkinin *n*-hekzanlı (HE), kloroformlu (KE) ve metanollü (ME) ekstreleri maserasyon yöntemiyle elde edilmiş ve LC-HRMS sistemiyle elde edilen ekstrelerin fitokimyasal içeriği aydınlatılmıştır. Bitkinin toprak üstü kısmından su distilasyonu yöntemiyle uçucu yağı (UY) elde edilmiştir. Uçucu yağın bileşimi gaz kromatografisi- kütle spektrometrisi (GC-FID/MS) ile belirlenmiştir. Fatty Acids Extraction Kit (Sigma) kullanılarak bitkinin sabit yağı elde edilmiş ve fitokimyasal içeriği belirlenmiştir. Ekstreler türevlendirildikten sonra GC/FID ve GC/MS sistemleriyle içerikleri analiz edilmiştir. Bitkinin topraküstü, çiçek ve kök kısımlarının hekzanlı ekstrelerinin UPC²-PDA sistemi yardımıyla vitaminler ve karotenoidler bakımından içeriği, ICP-OES sistemiyle ise mineral içeriği belirlenmiştir. Ekstreler ve uçucu yağ değişik aktivite (DPPH, CUPRAC, TEAC, Anti- α - amilaz testleri) çalışmalarına alınarak biyolojik özellikleri tespit edilmiştir. Çalışmada, %70 sulu ME en yüksek verime (%5,15) sahip olmuştur. Uçucu yağ analizinde kamazulen (%27,2) ve *trans*-krizantenil asetat (%20,5) majör bileşikler olarak tespit edilmiştir. Mineral analizlerinde çiçek ekstresinde Na (4,9 mg/g), Mg (2,1 mg/g) ve Ca (3,7 mg/g), kök ekstresinde ise K (19,9 mg/g) en yüksek seviyelerde bulunmuştur. Sabit yağ analizinde heksadekanoik asit metil ester, β -sitosterol ve nonakosan gibi bileşenler, LC-HRMS analizlerinde ise klorojenik asit, vanilik asit gibi fitokimyasal açıdan önemli bileşiklerin varlığı tespit edilmiştir. Biyolojik aktivite testlerinde hem UY hem de ME yüksek antioksidan kapasite sergilemiştir. Anti- α -amilaz enzim inhibisyonunda KE, ME ve UY yüksek aktivite gösterirken, HE en düşük etkiye sahip olmuştur.

Anahtar Sözcükler: *Anthemis fumariifolia*, Uçucu bileşik, Kimyasal kompozisyon, Biyolojik aktivite, Türevlendirme

ABSTRACT

PHYTOCHEMICAL AND BIOLOGICAL ACTIVITY INVESTIGATION OF ENDEMIC *Anthemis fumariifolia* Boiss.

Tuğbanur TÜYSÜZ

Department of Pharmacognosy

Anadolu University, Graduate School, January 2025

Supervisor: Prof. Dr. Temel ÖZEK

In this thesis study, comprehensive phytochemical and biological activity studies were conducted on the endemic plant *Anthemis fumariifolia* Boiss. For this purpose, *n*-hexane (HE), chloroform (KE), and methanol (ME) extracts of the plant were obtained using the maceration method, and the phytochemical content of the extracts was elucidated using the LC- HRMS system. The essential oil (UY) from the aerial parts of the plant was obtained by hydrodistillation. The composition of the essential oil was determined using a gas chromatography-mass spectrometry (GC-FID/MS). The fixed oil of the plant was extracted using a Fatty Acids Extraction Kit (Sigma), and its phytochemical content was determined. After the extracts were derivatized, their contents were analyzed by GC/FID and GC/MS systems. The content of vitamins and carotenoids in the hexane extracts of the aboveground, flower and root parts of the plant were analyzed by UPC²-PDA system and mineral content was determined by ICP-OES system. The extracts and essential oil were subjected to various activity studies (DPPH, CUPRAC, TEAC, and Anti- α - amylase tests) and their biological properties were determined. In the study, 70% aqueous ME had the highest yield (5.15%). In the essential oil analysis, chamazulene (27.2%) and *trans*-chrysanthenyl acetate (20.5%) were identified as major compounds. Mineral analysis revealed that the highest levels of Na (4.9 mg/g), Mg (2.1 mg/g), and Ca (3.7 mg/g) were found in the flower extract, while K (19.9 mg/g) was most abundant in the root extract. The presence of phytochemically important compounds such as hexadecanoic acid methyl ester, β -sitosterol and nonacosan were detected in fixed oil analysis, and chlorogenic acid and vanillic acid in LC-HRMS analysis. In biological activity tests, both UY and ME exhibited high antioxidant capacity. In anti- α -amylase enzyme inhibition, KE, ME and UY showed high activity, while HE had the lowest effect.

Keywords: *Anthemis fumariifolia*, Volatile compounds, Chemical composition, Biological activity, Derivatization,

TEŞEKKÜR

Doktora eğitim süresince ve hatta lisans eğitim dönemim de dahil olmak üzere bu yolda bana yol gösteren tez danışmanım Prof. Dr. Temel ÖZEK'e,

Bu süreçte her türlü desteği sağlayan Prof. Dr. Gülmira ÖZEK'e,

Çalışmamda kullandığım bitkinin botanik teşhisindeki katkılarında ötürü Dr. Öğr. Üyesi Ömer Koray YAYLACI' ya ve analiz desteği dolayısıyla Dr. Süleyman YUR'a,

Yolculuğum boyunca benimle tecrübe ve bilgilerini cömertçe paylaşan, daima el ele olduğumu hissettiğim yol arkadaşlarım Kübra ÖĞÜT, Kevser AYÇİÇEK ve sevgili Merve ÇETİN'e,

Her zaman her koşulda her yaşta okumamızı teşvik eden sevgili annem ve babama, her zaman yanımda olan değerli küçük kardeşim Tuğçe'ye

Karşılaştığım zorluklarda yanımda olan, çalışmalarımın tamamlanması için beni motive eden sevgili eşim Tuncay MİDİLLİ'ye,

Tez çalışmalarım süresince deneysel çalışmalarda imkanlarını kullandığım Farmakognozi Anabilim Dalı' na ve AÜBİBAM'a ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

27.01.2025

27.01.2025

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Tuğbanur TÜYSÜZ

27/01/2025

ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI

Bu tezi hazırlarken üretken yapay zekâ programlarından destek almadığımı beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

.....

Tuğbanur TÜYSÜZ



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
ÜRETKEN YAPAY ZEKA KULLANIM BEYANI	vii
İÇİNDEKİLER	viiviii
TABLolar DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
GÖRSELLER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	3
2.1 Asteraceae Familyası	3
2.1.1 <i>Anthemis</i> L. cinsi.....	4
2.1.2 <i>Anthemis fumariifolia</i> türünün morfolojik özellikleri.....	5
2.2 <i>Anthemis</i> Türlerine Ait Etnobotanik Çalışmaları.....	6
2.3 <i>Anthemis</i> Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri.....	8
2.4 Uçucu Yağlar	9
2.4.1 Soğukta sıkma.....	11
2.4.2 Distilasyon	11
2.4.2.1 Su distilasyonu	12
2.4.2.2 Buhar distilasyonu	12
2.4.2.3 Vakum distilasyonu.....	13
2.4.2.4 Ekstraksiyon.....	13
2.4.2.4.1 Çözücü ekstraksiyonu	13
2.4.2.4.2 Süperkritik akışkanla ekstraksiyon	14
2.4.2.4.3 Mikrodalga destekli ekstraksiyon	14
2.4.2.4.4 Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu	15

2.4.2.4.5 <i>Katı-faz mikroekstraksiyon (solid phase microextraction-spme)</i>	15
2.4.2.4.6 <i>MSD-SPME</i>	17
2.4.2.5 <i>Kromatografi</i>	18
2.4.2.5.1 <i>Gaz kromatografisi (GC)</i>	18
2.4.2.5.2 <i>Gaz kromatografisi – Kütle Spektrometrisi (GC-MS)</i>	19
2.5 <i>Anthemis Türleri ile Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar</i>	19
2.5.1 <i>Seskitерpen Laktonlar</i>	20
2.5.2 <i>Flavonoitler</i>	23
2.5.3 <i>Steroidler</i>	25
2.5.4 <i>Terpenler</i>	25
2.5.5 <i>Diğer fenolik bileşikler</i>	25
2.5.6 <i>Anthemis türlerinin uçucu yağ çalışmaları</i>	25
2.6 <i>Antioksidan Aktivite Mekanizmaları</i>	27
2.6.1 <i>Serbest radikaller</i>	27
2.6.2 <i>Antioksidanlar</i>	28
2.6.2.1 <i>DPPH serbest radikal süpürücü etki</i>	29
2.6.2.2 <i>CUPRAC testi (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite testi)</i>	31
2.6.2.3 <i>TEAC trolaksa eşdeğer antioksidan kapasite</i>	33
2.7 <i>Antidiyabetik Araştırmaların Önemi</i>	34
2.7.1 <i>α- Amilaz enzim inhibitörleri</i>	36
2.7.1.1 <i>α- Amilaz inhibisyon testi</i>	37
3. <i>MATERYAL VE METOT</i>	39
3.1 <i>Bitkisel Materyal</i>	39
3.2 <i>Kimyasal Maddeler</i>	40
3.3 <i>Kullanılan Aletler ve Cihazlar</i>	41
3.4 <i>Ekstraksiyon İşlemleri</i>	42
3.4.1 <i>Maserasyon</i>	42
3.5 <i>Uçucu Yağ Hidrodistilasyonu</i>	43
3.6 <i>Sabit Yağ Asitleri Mikroekstraksiyonu</i>	44
3.7 <i>Kromatografik-Spektroskopik Analizler</i>	45
3.7.1 <i>Vitamin analizi</i>	45

3.7.2 Mineral analizi.....	46
3.8 Ekstrelerin Silil Türevlerinin Hazırlanması.....	47
3.8.1 Gaz kromatografik analiz.....	47
3.8.1.1 Uçucu yağ ve uçucu bileşiklerin analizi.....	47
3.8.1.2 Silillenen bileşiklerin analizi	48
3.8.2 Sıvı kromatografisi analizi (LC-HRMS)	48
3.9 Biyolojik Aktivite Çalışmaları	49
3.9.1 Antioksidan aktivite	49
3.9.1.1 DPPH testi	49
3.9.1.2 CUPRAC testi (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite testi)	50
3.9.1.3 TEAC testi (Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasite testi)	50
3.9.2 Antidiyabetik Aktivite Çalışmaları.....	51
3.9.2.1 α -Amilaz inhibisyon testi	51
4. BULGULAR.....	52
4.1 Ekstrelerin Özellikleri	52
4.2 Uçucu Yağların Özellikleri.....	53
4.3 Fitokimyasal Araştırmaların Sonuçları	53
4.3.1 Vitamin analiz sonuçları.....	53
4.3.2 Mineral analiz sonuçları	54
4.3.3 Uçucu yağların analiz sonuçları.....	54
4.3.4 Sabit yağ asitlerinin analiz sonuçları.....	58
4.3.5 Silillenen bileşiklerin analiz sonuçları	61
4.3.6 LC-HRMS sonuçları	81
4.4 Biyolojik Aktivite Sonuçları.....	82
4.4.1 Serbest radikal süpürücü etki (DPPH) sonuçları.....	82
4.4.2 CUPRAC testi (Cu(II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite) sonuçları.....	83
4.4.3 Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) sonuçları	84
4.4.4 α -Amilaz inhibisyon testi sonuçları.....	86
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	87
KAYNAKÇA.....	93
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1 Seskiterpen Laktonlarca Zengin <i>Anthemis</i> Türleri Fitokimyasal Yapıları	20
Tablo 2.2 Flavonoidlerce Zengin <i>Anthemis</i> Türleri Fitokimyasal Yapıları	24
Tablo 2.3 <i>Anthemis</i> Türlerinin Fitokimyasal İçerikleri.....	26
Tablo 2.4 Antioksidan Ölçüm Mekanizmalarının Sınıflandırılması.....	28
Tablo 3.1 Kullanılan Kimyasal Madde ve Çözücülerin Bilgileri	40
Tablo 3.2 Kullanılan Cihaz ve Aparentlerin Bilgileri	41
Tablo 3.3 UPC ² Analiz Şartları.....	45
Tablo 3.4 GC-MS/FID Analiz Şartları.....	47
Tablo 3.5 LC Şartları.....	49
Tablo 3.6 MS Şartları.....	49
Tablo 4.1 <i>A. fumariifolia</i> Bitkisinin Ekstre Verimleri	52
Tablo 4.2 <i>A. fumariifolia</i> UPC ² -PDA Analiz Sonuçları	53
Tablo 4.3 <i>A. fumariifolia</i> ICP-OES Analiz Sonuçları.....	54
Tablo 4.4 <i>A. fumariifolia</i> Uçucu Yağının GC-FID/MS Analizi Sonucu.....	55
Tablo 4.5 <i>A. fumariifolia</i> Topraküstü - Yağ Asidi Metil Esterleri GC-FID/MS Analiz Sonucu	59
Tablo 4.6 <i>A. fumariifolia</i> Kök - Yağ Asidi Metil Esterleri GC/MS Analiz Sonucu	60
Tablo 4.7 <i>A. fumariifolia</i> Topraküstü - Hekzan Ekstresi (T-HE) Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu	64
Tablo 4.8 <i>A. fumariifolia</i> Topraküstü - Hekzan Sonrası Kloroform Ekstresi (T-HKE) Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu	66
Tablo 4.9 <i>A. fumariifolia</i> Topraküstü - Hekzan ve Kloroform Sonrası Metanol Ekstresi (T-HKME) Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu	67
Tablo 4.10 <i>A. fumariifolia</i> Çiçek - Hekzan Ekstresi (Ç-HE) Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu	70
Tablo 4.11 <i>A. fumariifolia</i> Çiçek - Hekzan Sonrası Kloroform Ekstresi (Ç-HKE) Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu	72

Tablo 4.12 <i>A. fumariifolia</i> Çiçek – Hekzan ve Kloroform Sonrası %70 Metanol Ekstresi (Ç-HKME) Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu.....	74
Tablo 4.13 <i>A. fumariifolia</i> Kök – Hekzan Ekstresi (K-HE) Türevlendirme GC/MS Kompozisyonu	76
Tablo 4.14 <i>A. fumariifolia</i> Kök – Hekzan Sonrası Kloroform Ekstresi (K-HKE) Türevlendirme GC/MS Kompozisyonu	77
Tablo 4.15 <i>A. fumariifolia</i> Kök – Hekzan ve Kloroform Sonrası %70 Metanol Ekstresi (K-HKME) Türevlendirme GC/MS Kompozisyonu	79
Tablo 4.16 <i>A. fumariifolia</i> %70 Metanollü Topraküstü Ekstresinde (T-ME) Tespit Edilen Bileşiklerin Miktarları	81
Tablo 4.17 <i>A. fumariifolia</i> %70 Metanollü Kök Ekstresinde (K-ME) Tespit Edilen Bileşiklerin Miktarları.....	82
Tablo 4.18 <i>A. fumariifolia</i> Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin DPPH Testinde IC ₅₀ Değerleri	83
Tablo 4.19 <i>A. fumariifolia</i> CUPRAC Aktivite Sonuçları	84
Tablo 4.20 <i>A. fumariifolia</i> Topraküstü Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin TEAC Testi Sonuçları	85
Tablo 4.21 <i>A. fumariifolia</i> Topraküstü Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin α -Amilaz Enzimi Üzerinde İnhibisyon Sonuçları.....	86
Tablo 5.1 <i>A. fumariifolia</i> Ekstrelerinin Türevlendirme Analizi Ana Bileşikleri	89
Tablo 5.2 <i>A. fumariifolia</i> Uçucu Yağı ve Topraküstü Ekstrelerinin Biyolojik Aktivite Sonuçları	91

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1 Clevenger Apareyi.....	12
Şekil 2.2 Buhar Distilasyonu Düzenegi.....	13
Şekil 2.3 Soxhlet Apareyi.....	13
Şekil 2.4 Süperkritik Akışkanla Ekstraksiyon Sistemi.....	14
Şekil 2.5 Hızlandırılmış Çözücü Ekstraksiyonu Sistemi.....	15
Şekil 2.6 SPME Enjektörü.....	16
Şekil 2.7 SPME İğnesi ve Uçucu Bilesikleri Adsorplaması.....	16
Şekil 2.8 a) SPME Prosüdüğü b) SPME Desorpsiyon Prosüdüğü.....	17
Şekil 2.9 Gaz Kromatografisi Sistemi	18
Şekil 2.10 DPPH Radikalinin İndirgenmesi	30
Şekil 2.11 CUPRAC Radikalinin İndirgenmesi	32
Şekil 3.1 Aşamalı Ekstraksiyon Şeması	42
Şekil 3.2 Sabit Yağ Asitleri Mikroekstraksiyonu Şematik Gösterimi.....	44
Şekil 3.3 ICP-OES Cihazı Şematik Gösterimi	46
Şekil 4.1 Standart Maddelere ait UV-Görünür bölge Absorpsiyon Spektrumları	53
Şekil 4.2 Standart Madde Kromatogramı	54
Şekil 4.3 <i>A. fumariifolia</i> Topraküstü – Hekzan Ekstresi UPC ² -PDA Kromatogramı	54
Şekil 4.4 <i>A. fumariifolia</i> Uçucu Yağının GC-FID/MS Kromatogramı	55
Şekil 4.5 <i>A. fumariifolia</i> Topraküstü - Yağ Asidi Metil Esterleri GC-FID/MS Kromatogramı	59
Şekil 4.6 <i>A. fumariifolia</i> Kök - Yağ Asidi Metil Esterleri GC-FID/MS Kromatogramı .	59
Şekil 4.7 <i>A. fumariifolia</i> Topraküstü - Hekzan Ekstresi (T-HE) Türevlendirme GC-FID/MS Kromatogramı	61
Şekil 4.8 <i>A. fumariifolia</i> Topraküstü - Hekzan Sonrası Kloroform Ekstresi (T-HKE) Türevlendirme GC-FID/MS Kromatogramı	61

Şekil 4.9 <i>A. fumariifolia</i> Topraküstü - Hekzan ve Kloroform+Sonrası Metanol Ekstresi (T-HKME) Türevlendirme GC-FID/MS Kromatogramı	62
Şekil 4.10 <i>A. fumariifolia</i> Çiçek - Hekzan Ekstresi (Ç-HE) Türevlendirme GC-FID/MS Kromatogramı	62
Şekil 4.11 <i>A. fumariifolia</i> Çiçek - Hekzan Sonrası Kloroform Ekstresi (Ç-HKE) Türevlendirme GC-FID/MS Kromatogramı	62
Şekil 4.12 <i>A. fumariifolia</i> Çiçek - Hekzan ve Kloroform Sonrası %70 Metanol Ekstresi (Ç-HKME) Türevlendirme GC-FID/MS Kromatogramı	63
Şekil 4.13 <i>A. fumariifolia</i> Kök - Hekzan Ekstresi (K-HE) Türevlendirme GC-FID/MS Kromatogramı	63
Şekil 4.14 <i>A. fumariifolia</i> Kök - Hekzan Sonrası Kloroform Ekstresi (K-HKE) Türevlendirme GC-FID/MS Kromatogramı	63
Şekil 4.15 <i>A. fumariifolia</i> Kök - Hekzan ve Kloroform Sonrası %70 Metanol (K-HKME) Ekstresi Türevlendirme GC-FID/MS Kromatogramı	64
Şekil 4.16 Troloks Kalibrasyon Eğrisi ve Eğri Denklemi	85

GÖRSELLER DİZİNİ

Sayfa

Görsel 2.1 <i>Anthemis fumariifolia</i> Bitkisi	5
Görsel 2.2 MSD-SPME Düzenegi	17
Görsel 2.3 GC-MS Sistemi	19
Görsel 3.1 <i>Anthemis fumariifolia</i> Bitkisel Materyali ve Herbaryum Örneği Hata! Yer işareti tanımlanmamış.	
Görsel 3.2 <i>A. fumariifolia</i> Bitkisinden Clevenger Apereyi ile Uçucu Yağın Eldesi	43
Görsel 4.1 <i>A. fumariifolia</i> Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin Etkisi ile DPPH Reaktifinin Renk Değişimi	83
Görsel 4.2 <i>A. fumariifolia</i> Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin Cu(II) İyonu İndirgeme Kapasiteleri	84
Görsel 4.3 <i>A. fumariifolia</i> Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin Etkisi ile ABTS Reaktifinin Renk Değişimi	85
Görsel 4.4 <i>A. fumariifolia</i> Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin α -Amilaz Enzim İnhibisyonu Sonucunda Meydana Gelen Renk Değişimi	86

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	: 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
ASE	: Accelerated solvent extraction
BF ₃	: Boron triflorür
Car-PDMS	: Karboksen-polidimetil silokzan
CUPRAC	: Bakır (II) indirgeme antioksidan kapasite
CuZn-SOD	: Bakır-çinko süperoksit dismutaz
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DVB-Car-PDMS	: Divinilbenzen-karboksenpolidimetil silokzan
EPR	: Elektron spin rezonansı
ETS	: Mitokondriyal elektron zinciri
GC/MS	: Gaz kromatografisi-Kütle spektrofotometresi
GC-FID	: Gaz Kromatografisi-Alev İyonlaşma Dedektörü
GC-FID/MS	: Gaz Kromatografisi-Alev İyonlaşma Dedektörü/Kütle Spektrometrisi
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HNO ₂	: Nitrik asit
HCl	: Hidroklorik asit
ICP-OES	: İndüktif Eşleşmiş Plazma ve Optik Emisyon Spektrometresi
KI	: Potasyum iyodür
LC-MS/MS	: Sıvı Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometrisi
M.Ö	: Milattan önce
MSD-SPME	: Mikro Buhar Distilasyonu – Katı Faz Mikro Ekstraksiyonu
O ₂ •	: Süperoksit radikal anyonu
OH	: Hidroksil
ORAC	: Oksijen radikali absorplama kapasitesi
RNS	: Nitrojen kaynaklı Serbest radikaller
RO	: Alkoksil
ROO	: Peroksi
ROS	: Oksijen kaynaklı serbest radikaller
SPME	: Katı-faz mikroekstraksiyon
TEAC	: Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite

UV : Ultraviyole
X-ray : Röntgen ışını



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Doğadaki tüm canlılar bir arada (mikroorganizmalar; hayvanlar, bitkiler ve insanlar) yaşamın dengesini oluşturmaktadır. Mitolojide insanlara verilen en kıymetli hediye olarak tanımlanan bitkiler insanın hizmetindedir ve insanoğlunun varoluşundan bu yana bitkilerle etkileşimi süregelmektedir (Gezgin, 2006). Kuzey Irak’ ta bulunan Şanidar mağarasında 1957 yılındaki arkeoloji çalışmalarında ortaya çıkarılmış Yontma Taş Devrine ait mezarlar insanların bitkilerle ilişkisinin başlangıcına ışık tutan en eski verileri barındırmaktadır. Bir şamana ait olduğu düşünülen 60 bin yıllık bir mezarda, gül, hatmi, peygamber çiçeği (*Centaurea cyanus*), ebe gümece (*Malva sylvestris*), efedra (*Efedra* sp.), kanarya otu (*Senecio vulgaris*), civanperçemi (*Achillea millefolium*) gibi bitki türlerinin olduğu saptanmıştır. Öldükten sonra yaşamın devamına inandıkları için bu bitkilerin mezara konulduğu tahmin edilmektedir. Bu bitki türleri günümüzde de tıbbi bitki olarak önemini korumaktadır (Baytop, 1999b; Kendir ve Güvenç, 2010).

Bitkiler yaygın olarak gıda ve tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Bitkiler içerdikleri primer ve sekonder metabolitlerden kaynaklı doğrudan veya dolaylı olarak terapötik etkiye sahiptirler. Dünya Sağlık Örgütü’ ne göre dünyada ortalama 4 milyar insan hastalıklarını gidermede ilk çözüm olarak bitkilere başvurmaktadır. Ayrıca günümüzdeki sentetik ilaçların ortalama %25’ ini bitkisel kökenli etken maddeler (kinin, vinbilastin, rezerpin vb.) oluşturmaktadır (Farnsworth vd, 1985). Tıbbi bitkiler günümüz tıbbi ilaçların birçoğunun öncüsü olmuştur. Bazı ilaçların etken maddelerinin çeşitli yollarla izolasyonu ve preperasyonu ek olarak da bu etken maddelerden ilham alınarak sentezlemiş sentetik maddeler ile hazırlanmaktadır (Baytop, 1999b). Bitkilerden elde edilen bileşiklerin terapötik potansiyeli ilk olarak Merck tarafından 1826 yılında morfinin eldesi ve sonrasında 1899’ da Bayer tarafından *Salix alba*’ dan salisinin eldesi ve ondan yarı sentetik aspirinin piyasaya sürülmesiyle ortaya konulmuştur (Veeresham, 2012). Günümüzde teknolojinin gelişmesiyle birlikte bitkiler üzerine yapılan çalışmalar artmış ve teropötik etkili bitkilerin geleneksel kullanımına bilimsel bir zemin oluşturmak için etnobotanik ve etnofarmakolojik çalışmalar hız kazanmıştır.

Dünyada toplamda 490 familyayadan 13.553 cins ve 258.650 tür kapalı tohumlu bitki olduğu kabul edilmektedir. Bu bitkilerin 59.300 türü monokotil ve 199.350 türüyse dikotil bitkidir (Thorne, 2002).

Türkiye ise 174 familyaya ait 1251 cins ve 12.000' den fazla tür ve taksonu barındırdığı kabul edilmektedir (Güner vd., 2000). Endemizm yönünden yurdumuz oldukça kıymetli bir bölgedir. Ülkemizdeki endemik tür sayısı 2890 civarındadır (Güner vd., 2000).

Dünya Sağlık Örutünün yayınladığı raporlara göre tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin sayısı 20.000 civarında seyir etmektedir (Gallaher vd., 2006). Türkiye' de ise tıbbi amaçlı kullanılan bitkilerin sayısı 500 civarındadır (Baytop, 1999).

Bitkiler yapılarında hayati fonksiyonlar için doğrudan gerekli olmayan ancak çevresel adaptasyon, savunma ve rekabet gibi özel işlevler için üretilen çeşitli sekonder metabolitler barındırırlar. Sekonder metabolitler, organizmalar tarafından temel hayati fonksiyonlar için doğrudan gerekli olmayan ancak çevresel adaptasyon, savunma ve rekabet gibi özel işlevler için üretilen organik bileşiklerdir. Bitkilerde farklı metabolik yollarda sentezlenen bu maddelerin kimyasal yapıları da birbirlerinden oldukça farklıdır. Sekonder metabolitler bitkilerin temel işlevleri için doğrudan gerekli olmasa da bitkiyi insektisitlerden, oksidan ajanlardan ve ultraviyole radyasyon gibi dış etkilere koruduğu düşünülmektedir. Sekonder metabolitlere steroidler, flavonoidler, saponinler, alkaloidler, terpenler ve fenolik bileşikler örnek olarak gösterilebilir. Sekonder metabolitler antioksidan, antikanser, antifungal, antienflamatuar, antidiyareik, antihelmintik, antihistaminik, antihipertansif, ağrı kesici gibi birçok terapötik etkilere sahiptir (Aftab, 2019; Lattanzio, 2013).

Fazlaca biyoaktiviteye sahip *Anthemis* cinsine mensup olan *Anthemis fumariifolia* için literatürde yeterli sayıda ve kapsamda çalışma yoktur. Bu çalışmada amacımız *Anthemis fumariifolia* bitkisini fitokimyasal ve biyolojik aktiviteleri açısından aydınlatmaktır. Tez çalışmasında Türkiye için endemik bir tür olan *Anthemis fumariifolia* Boiss. bitkisi üzerinde fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1 Asteraceae Familyası

Aster ismi Latince ‘yıldız’ anlamına gelmektedir. Tür yıldız biçiminde çiçeklenmesinden kaynaklı bu ismi almıştır. Familyanın sinonim adı Compositae ise Latince ‘kombine’ anlamına gelmektedir. Çok sayıda küçük çiçek topluluğu biçimindeki çiçeklenme durumundan dolayı bu ismi almıştır (Christenhusz vd, 2017, s. 602-603).

Asteraceae familyasının çoğu otsu, çok az bölümü çalı formundadır. Ayrıca çiçekli bitkilerin en büyük familyasıdır. Dünya üzerinde küresel bir yayılım göstermektedir. Dünyada 1688 cinse ve 25.000-30.000 türe sahip bir familya olduğu tahmin edilmektedir (Funk vd., 2005). Asteraceae familyası 1693 takson içermesiyle Türkiye florasının en geniş familyası olarak bilinmektedir. Ayrıca sahip olduğu endemik bitkiler bakımından da en zengin familya olarak kayıtlarda geçmektedir (Güner ve Aslan, 2012).

Asteraceae familyasındaki bitkilerin yaprakları alternat veya karşılıklı, stipulsuz, tam kenarlı, farklı şekillerde parçalı durumda ve nadiren de hepsi tabandadır. Kapitulları çok sayıda çiçekten oluşmaktadır. Az sayıdaki kısmı tek çiçeklidir. Çiçekleri sapsız durumda ve braktelerden oluşan koruyucu bir involukrumla çevrili kapitulumda toplanmıştır (Doğan ve Sorkun, 1999; Seçmen vd., 2000). Çoğunlukla çiçekleri hermafrodit, nadiren de tamamı erkek veya dişi durumdadır. Dış tarafında bulunan çiçekler çoğunlukla dilsil korolloya sahiptir. Tabanda ise kısa bir korolla tüpü barındırır. İç tarafta konumlanan çiçekler ise çoğunlukla tüpsü korollaya sahiptir. Meyveleri tek tohumludur ve sipsela veya aken olarak tanımlanırlar. Şekilleri fusiform, obovoid, köşeli veya yuvarlak olabilir (Achika vd., 2014).

Familyanın fitokimyasal içeriği oldukça zengindir. Başlıca seskiterpen laktonlar olmak üzere çeşitli terpenik bileşikler, flavonoidler ve birçok fenolik bileşiği yapılarında bulundurlar. Zengin fitokimyasal yapıları sayesinde çok sayıda üyesi tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır (Tanker ve Coşkun, 2014).

Asteraceae familyası bitkileri tıbbi bitkisel çaylar ve standardize ekstraktlar halinde veya dermokozmetik ve kozmetik gibi pek çok alanda kullanılmıştır. Familyanın tıbbi bitkilerine *Anthemis nobilis*, *Matricaria recutita*, *Artemisia absinthium*, *Taraxacum officinale*, *Achillea millefolium*, *Tanacetum parthenium*, *Arnica montana* örnek olarak gösterilebilir (Lundh vd., 2006).

2.1.1 *Anthemis* L. cinsi

- Alem: *Plantae*
- Şube: *Magnoliophyta* (Kapalı tohumlu)
- Sınıf: *Manolipsida* (Dikoltiledon)
- Takım: *Astrales*
- Familya: *Asteraceae*
- Cins: *Anthemis*

Anthemis cinsi sahip olduğu 210' dan fazla türüyle familyasının en geniş ikinci cinsidir (Bremer ve Humpheries, 1993). Literatürde *Anthemis* cinsi 3 seksiyona ayrılmaktadır. Bunlar; *Anthemis*, *Maruta* ve *Cota* olarak adlandırılmıştır. *Anthemis* 29, *Maruta* 6 ve son olarak *Cota* 15 türü bünyesinde barındırmaktadır (Davis, 2008). *Anthemis* cinsi Türkiye Florası' nda 83 taksonla temsil edilmektedir. Bu taksonlar 29'u Türkiye için endemik olan 53 türe ait olan bitkilerdir (Davis, 1970; Hamzaoglu vd., 2011).

Bir ya da iki yıllık bitkilerdir. Gövdeleri basit ya da dallanmış şekildedir. Yaprakları çoğunlukla 1-3 pinnat bazen basit, birincil segmentler, loblarda genelde 3 veya daha fazla, pinnat, pektinat ya da palmat olaral bölünmüş durumdadır. Kapitulum tek çıplak, çiçek durumları radial ya da diskoid, involukrum yarı küremsi, ters koni veya silindirik biçiminde; brakteler kiremitimsi, çoğunlukla 3 seriate, yaygın olarak da zarımsı kenarlıdır. Reseptakulum konveks ya da konikal, brakteol linear lanseolat, subulat veya oblanseolat zarımsı ya da kıkırdaksı, sivri, aküminat. Brakteoller disk çiçekler kadar uzun, bazen onlardan daha da uzundur. Çiçekler çoğunlukla fertile, dilcikler beyaz ya da sarı, az bir kısmı mora çalan, korolla tipleri bazen akenler üzerinde kalıcıdır. Disk biçimindeki çiçekler tübüler, 5 dişli, sarı, nadiren mora çalan, korollalar bazen dipte şişkin durumdadır. Kesitlerde meyveler çoğunlukla onkonikal, silindirik ya da az çok kare biçiminde bazı durumlarda sırt karın yönünden yassılmış, pürüzsüz, boyuna şekilde yumru gibi şişkin, papüsler yok ve akenin üzerinde kenarı kıvrılmış durumda koronaya erişmiş veya tarafta çevresini sarıp uzamış ya da dil şeklinde bir kulakçık görünümündedir (Grierson ve Yavin, 1978).

Anthemis cinsinin tür sayısı 100 civarındadır. Ayrıca ülkemizde 52 tür *Anthemis* cinsi yetişmektedir (Grierson ve Yavin, 1978). Halk arasında papatya olarak geçmektedir.

Anthemis türlerinin çeşili biyolojik aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. Türk halk hekimliğinde hemoroit, öksürük, grip, astım, karın ağrısı, astointestinal rahatsızlıklar ve böbrek taşlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1999; Gönenç vd., 2011; Kültür, 2007; Tuzlacı ve Şenkardeş, 2011; Ugurlu ve Secmen, 2008).

Anthemis cinsine ait türler aynı zamanda bitki çayı olarak ve gıda aromalarının yanı sıra kozmetik ve ilaç endüstrisinde de kullanılmaktadır. Esas itibarıyla seskiterpen lakton taşıyıcılarıyla tanınmışlardır ve flavonoidlerce oldukça zengindirler (Pavlović vd., 2006; Vučković vd., 2006).

2.1.2 *Anthemis fumariifolia* türünün morfolojik özellikleri

A. fumariifolia, Akdeniz ikliminin hakim olduğu bölgelerde doğal olarak yetişmektedir (Görsel 2.1) (Baytop, 1999a). Türkiye' nin İç Anadolu, Akdeniz ve Ege bölgelerinde yaygın olarak görülen bu bitki, kurak ve taşlı topraklarda yetişebilmesiyle bilinir (Güner ve Aslan, 2012).

Görsel 2.1

Anthemis fumariifolia Bitkisi



A. fumariifolia, dik ve yükselici bir yapıya sahip, yumuşak tüylü, tek yıllık bir bitkidir. Gövdesi genellikle dallanmış olup, 10-15 cm boyuna ulaşabilir. Yaprakları 1,5-2 cm uzunluğunda ve bir veya iki kez derin parçalıdır. Yaprak segmentleri basit veya 3-5 parçalı olup, genellikle dar ve çizgisel (lineer) bir yapıya sahiptir.

Kapitula (çiçek başları) ışımsal olarak düzenlenmiş olup, kalın bir çiçek sapı (pedunkul) tarafından taşınır. Çiçek başlarını çevreleyen involukrum yaklaşık 0,75-1 cm

genişliğindedir ve olgunlaştığında tabanı sertleşir. İnvolukrum pulları, dışta yumurtamsı mızraksı (ovato-lanseolat) olup, iç kısımdakiler ise sivri ve uzun uçludur. *Anthemis* türlerinin çoğunda olduğu gibi, kapitulum, çeşitli böcekler tarafından tozlaşır ve bu sayede yayılış gösterir. Çiçekleri aromatik bir kokuya sahip olması, polinatörlerin ilgisini çeker ve bitkinin tozlaşma başarısını artırır (Baytop, 1999a; Davis, 1970).

Reseptakulum konik bir yapıya sahiptir ve üzerinde yer alan brakteler genellikle yumurtamsı ya da ters mızraksı (oblanceolat) şeklindedir. Bu braktelerin uçları kısa ve sivri (akuminat) yapıdadır. Bitkinin dilsî çiçekleri yaklaşık 4-6 mm genişliğinde olup, sayıları 12 adettir. Tüpsü çiçekleri ise olgunlaştıkça taban kısmında şişkinleşir ve yaklaşık 3-3,5 mm uzunluğundadır.

Meyveleri aken ve 1,5-2 mm uzunluğundadır. Obkonik şekilli olan bu meyveler, silindirik yapıdadır ve üzerinde belirsiz damarlar bulunur. Akenler genellikle lentiküler (noktalı) ve hafif çıkıntılıdır. Meyve uçları kulak benzeri bir yapı gösterir ve genellikle şeffaf olmayan, kenarları dişli bir yapıdadır.

Bu bitki türü, yol kenarları, stepler ve tarla gibi açık alanlarda doğal olarak yetişebilir (Davis, 1970).

A. fumariifolia, kurak ve taşlı topraklara dayanıklıdır ve genellikle güneşli, açık alanları tercih eder. Toprak açısından seçici olmamakla birlikte, iyi drene edilmiş topraklarda daha iyi gelişir (Güner ve Aslan, 2012). Bitki, düşük nem ve besin maddesi içeriğine sahip alanlarda dahi büyüme yeteneği gösterir ve bu nedenle erozyon kontrolü gibi ekolojik işlevlere sahiptir.

Bitkinin çiçekleri, yüksek oranda flavonoit, terpenoid ve fenolik bileşikler içermektedir. Bu kimyasal bileşikler, bitkinin morfolojik yapısıyla yakından ilişkilidir, çünkü çiçek ve yaprakların yüzeyindeki salgı bezleri bu bileşiklerin üretiminde rol oynar. (Albayrak ve Aksoy, 2013).

2.2 *Anthemis* Türlerine Ait Etnobotanik Çalışmaları

Dünya genelinde geniş yayılım gösteren *Anthemis* türleri, tıbbi, aromatik ve ekonomik değeri nedeniyle uzun yıllardır halk hekimliğinde kullanılmıştır (Baytop, 1999; Davis, 1970). Türkiye, *Anthemis* türleri açısından zengin bir biyolojik çeşitliliğe sahiptir ve bu bitkiler yerel halk tarafından çeşitli hastalıkların tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Güner vd., 2000).

Anthemis türleri üzerine yapılan etnobotanik çalışmalar, bu bitkilerin farklı kültürlerde tıbbi amaçlı kullanıldığını göstermektedir:

- *Anthemis nobilis*

Diyaforetik (terletici) ve karminatif (gaz giderici) özelliklere sahiptir. Sindirim sistemi rahatsızlıklarında çay olarak tüketilmektedir (Al-Snafi, 2016)

- *Anthemis cretica*

Karın ağrısı ve böbrek taşlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Yerel halk, mide rahatsızlıklarını hafifletmek için bitki çaylarını tercih etmektedir. (Uğurlu ve Seçmen, 2008).

- *Anthemis cotula*

Psöriazis, ateş ve gastrointestinal sistem sorunlarında etkili bulunmuştur. Cilt rahatsızlıklarında haricen uygulanmakta, aynı zamanda infüzyonları içilmektedir (Shawahna ve Jaradat, 2017).

- *Anthemis cretica* ssp. *Tenuiloba* ve *Anthemis austriaca*

İnfüzyonlarının karın ağrısı, dekoksasyonlarının ise hemoroid ve soğuk algınlığı tedavisinde kullanıldığı rapor edilmiştir (Honda vd., 1996).

- *Anthemis tinctoria* var. *Tinctoria*

Çiçeklerinden hazırlanan dekoksasyonlar, geleneksel olarak antidiyabetik ve antispazmodik amaçlarla kullanılmaktadır. Diyabet ve kas spazmları gibi rahatsızlıkların tedavisinde etkinliği bilinmektedir (Çakılcıoğlu vd., 2011).

- *Anthemis wiedemanniana*

Endemik bir tür olan bu bitki, Anadolu' da sedatif (yatıştırıcı) ve antispazmodik etkileriyle bilinmektedir. Üriner sistem problemlerinin tedavisinde halk arasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Çakılcıoğlu vd., 2011).

2.3 *Anthemis* Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri

Anthemis cinsi, başta eczacılık, kozmetik ve gıda endüstrisi olmak üzere farklı alanlarda kullanılmakta ve çeşitli biyolojik aktivitelere sahip bileşenler içermektedir. Türlerin kimyasal bileşiminde doğal flavonoidler, esansiyel yağlar (kamazulen, bisabolol türevleri ve asetilenik bileşikler), seskiterpen laktonlar (matrisin, matrikarin) ve kumarinler bulunmaktadır. Bu bileşikler, bakteriler, mantarlar, virüsler ve protozoalara karşı etkili olup, antibakteriyel, antiseptik, anti-inflamatuvar ve yatıştırıcı özellikler sunmaktadır.

Yapılan çalışmalara göre *Anthemis* türleri, çeşitli mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite göstermektedir:

- *Anthemis wiedemanniana*: Disk Difüzyon yöntemiyle test edilen uçucu yağları, gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı etkili bulunmuş ve abdominal ağrı tedavisinde geleneksel olarak kullanılmıştır (Kivcak vd., 2007).
- *Anthemis cotula*: Metanol ekstresi, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans* gibi patojenlere karşı yüksek düzeyde inhibitör etki göstermiştir (Quarenghi vd., 2000).
- *Anthemis altissima*: Yapraklarından ve çiçeklerinden izole edilen seskiterpen laktonlar, özellikle *H. pylori*'ye karşı güçlü antimikrobiyal aktivite sergilemiştir (Konstantinopoulou vd., 2003).
- *Anthemis xylopoda*, yapraklarından ve çiçeklerinden izole edilen uçucu yağların, çeşitli mikroorganizmalar üzerinde anlamlı düzeyde antimikrobiyal etkili olduğu görülmüştür (Uzel vd., 2004).
- *Anthemis cretica* ssp. *Argaea*, Doğu Karadeniz Bölgesi'nde endemik olarak yetişmekte ve yapraklı ve çiçekli kısımlarından elde edilen ekstreleri belirgin düzeyde antimikrobiyal aktivite sergilemiştir (Buruk vd., 2006).

Anthemis türlerinin antioksidan özellikleri, fenolik bileşikler ve flavonoidlerden kaynaklanmaktadır. Bu özellikler, serbest radikal giderici etkilerle ilişkilendirilmiştir:

- *Anthemis nobilis*, yüksek miktarda antioksidan aktivite gösteren aseton oleorezinler ve ekstraktlar içermektedir (Povilaitye ve Venskutonis, 2000)

- *Anthemis palestina*, infüzyon ve metanol ekstralarında bulunan fenolik bileşikler nedeniyle güçlü antioksidan aktiviteler sergilemektedir (Tawaha vd., 2007).
- *Anthemis ruthenica* ve *A. tinctoria*, antiproliferatif ve sitotoksik aktivitelerle birlikte yüksek düzeyde antioksidan kapasite göstermiştir (Réthy vd., 2007).
- *Anthemis nobilis*, bisabolol içeriği ile oral ülserlerin ve inflamasyonların tedavisinde etkili olmuştur (Colvard vd., 2006).

Bazı *Anthemis* türlerinin antiparazitik ve antimalaryal özellikleri üzerine yapılan çalışmalar, bu türlerin önemli etkiler sunduğunu göstermektedir:

- *Anthemis auriculata*, etil asetat ekstraktlarından izole edilen seskiterpen laktonlarla antimalaryal ve antibakteriyel aktiviteler göstermiştir (Karioti vd., 2008).
- *Anthemis* türlerinin biyolojik aktiviteleri arasında sedatif, antispazmodik ve antiplatelet etkiler de bulunmaktadır:
- *Anthemis wiedemanniana*, sedatif ve antispazmodik etkileri ile üriner sistem rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Honda vd., 1996).
- *Anthemis nobilis*, antiplatelet etkileri ile dikkat çekmektedir (Tognolini vd., 2006).

2.4 Uçucu Yağlar

Uçucu yağlar, aromatik bitkilerden elde edilen, su veya su buharı distilasyonu ile elde edilen, oda sıcaklığında sıvı halde olan fakat bazen donabilen, uçucu, kuvvetli kokulu ve yağimsı karışımlardır. Oda sıcaklığında bile buharlaşabildiklerinden “uçucu yağ”, “eterik yağ”, güzel kokulu olduklarından “esans” gibi isimlerle anılırlar (Tanker, 1976).

Uçucu yağlar bitkilerde bulunmasının yanı sıra hayvan ve mikroorganizmalar tarafından da üretilirler. Fakat hayvanlardan (misk keçisi, kunduz vb.) uçucu yağ elde edilmesi tüm dünyada yasaklanmıştır. Ticari uçucu yağların tümü bitkisel kaynaklardan elde edilmektedir (Başer, 2009).

Uçucu yağlar monoterpen, seskiterpen ve diterpenlerin çok bileşenli karışımları ve fenilpropan türevleridir. Farklı uçucu yağların bileşiminde 1500’ den fazla

hidrokarbonlar, alkoller, aldehitler, ketonlar ve esterler, sülfür ve azotlu maddeler, asetilen türevleri, kumarinler ve organik asitler gibi bileşikler tespit edilmiştir (Nurzyńska-Wierdak, 2013).

Uçucu yağlar bitkinin belirli organlarında örneğin taç yaprak, yaprak, meyve, kabuk, meyve sapı, odunsu doku gibi ya da bitkinin tüm organlarında bazen de bir organın belirli dokularında da bulunabilirler. Bitkilerin bağlı bulunduğu familyalara göre salgı tüyünde, salgı ceplerinde, salgı kanallarında veya salgı hücrelerinde bulunmaktadır (Çelik ve Çelik, 2007).

Uçucu yağların kırılma indisleri yüksek olup çoğunluğu optikçe aktiftir. Spesifik çevirmeleri uçucu yağı tanımaya yardımcı olur. Kırılma indisinde ve polarize ışığı çevirme derecesinde oluşan değişimler uçucu yağın saflığının bozulduğunu gösterir. (Demirçakmak, 1994).

Uçucu yağlar su buharı ile sürüklenir, suda çözünmez, organik çözücülerde kolaylıkla çözünürler. Özellikle çiçek ve meyvelerde bulunmakla beraber bitkinin diğer organlarından da elde edilebilirler. Bu amaçla su buharı distilasyonu veya organik çözücüler ile ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaktadır (Baytop, 1995).

Uçucu yağ taşıyan bitkiler, daha çok sıcak iklim bölgelerinde yetişmektedir. Uçucu yağ taşıyan bitkiler açısından en zengin bölgelerden biri de Türkiye’yi de içine alan Akdeniz Bölgesidir (Tanker, 1990).

Doğada yetişen 300’ e yakın bitki familyasından 1/3’ü uçucu yağ içermektedir. Uçucu yağlar elde edildikleri bitkinin tüm özelliklerini taşımaktadırlar. Tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen uçucu yağ oranı % 0.01-10 arasında değişiklik göstermektedir (Yeşilbağ, 2007).

Dünya’da uçucu yağ üretiminde kullanılan tıbbi ve aromatik bitkilerin büyük bir kısmı; Pinaceae (cins: *Pinus*, *Abies*, *Picea*, *Larix*), Cupressaceae (cins: *Juniperus*), Piperaceae, Lauraceae (cins: *Laurus*, *Cinnamomum*), Apiaceae (cins: *Carum*, *Pimpinella*, *Foeniculum*, *Coriandrum*, *Anethum*, *Angelica*, *Levisticum*), Myrtaceae (cins: *Eucalyptus*, *Eugenia*), Lamiaceae (cins: *Mentha*, *Salvia*, *Thymus*, *Rosmarinus*, *Ocimum*, *Lavandula*, *Origanum*, *Melissa*, *Hyssopus*, *Satureja*), Rutaceae (cins: *Citrus*, *Ruta*), Asteraceae (cins: *Artemisia*, *Matricaria*, *Anthemis*, *Tanacetum*, *Arnica*, *Achillea*), Zingiberaceae (cins:

Zingiber, Alpinia, Curcuma, Elettaria), Araceae (cins: *Acorus*), Poaceae (cins: *Cymbopogon*) familyalarında bulunmaktadır (Nurzyńska-Wierdak, 2013).

Gıda ve kozmetik sanayisinde uçucu yağlar ve uçucu yağ taşıyan droglardan genellikle lezzet ve koku verici olarak yararlanılmaktadır. Eczacılıkta birçok uçucu yağlar terapötik amaçla kullanılmaktadır. Örneğin; ökaliptus yağı solunum antiseptiği, anason yağı karminatif, papatya yağı antienflamatuar, sabin yağı emenagog ve kekik yağı fungusit etkilidir (Tanker, 1990).

Uçucu yağların büyük bir kısmı parfümeride koku maddesi olarak kullanılır (gül esansı, lavanta esansı). Ayrıca uçucu yağlar gıda sanayisinde tat verici olarak kullanılmaktadır. Baharatın besinlere verdiği tat ve koku dışında koruyucu etkisi de vardır. Uçucu yağların antiseptik etkisi sayesinde bakterilerin üremesi yavaşlamakta ve besinlerin bozulması gecikmektedir. Uçucu yağlar boyacılık, madencilik gibi sanayi dallarında da kullanılır (Tanker, 1990).

Uçucu yağlardan elde edilen birçok madde, başka ilaç hammaddesi ya da koku verici maddenin yarısentez yoluyla elde edilişinde kullanılır. Örneğin kafur, pinenden ve vanilin, öjenolden hareketle yarısentetik olarak hazırlanmaktadır (Tanker, 1990).

2.4.1 Soğukta sıkma

Bazı bitki ve bitkisel droglarda distilasyon metoduyla uçucu yağ elde edilmesi mümkün değildir. Çünkü distilasyon yöntemi yüksek sıcaklık altında uygulanır ve bazı uçucu yağlar yüksek sıcaklıkta bozunabilirler. Böyle durumlarda soğuk presleme yöntemi uygulanır. Presleme yöntemiyle elde edilen yağlar genellikle berrak değildir. Bu yağları berraklaştırmak için süzme, santrifüj, alkol ile seyreltme ve ısıtma gibi işlemler uygulanır. Narenciye yağları *Citrus* türlerinin meyve kabuklarından bu yöntemle elde edilirler (Diri, 2006; Handa vd., 2008).

2.4.2 Distilasyon

Sıvıların arasındaki kaynama noktalarındaki farklarından yararlanılarak gerçekleştirilen bir ayırma tekniğidir. Bu tekniğin altında birkaç alt grubu olduğu bilinmektedir:

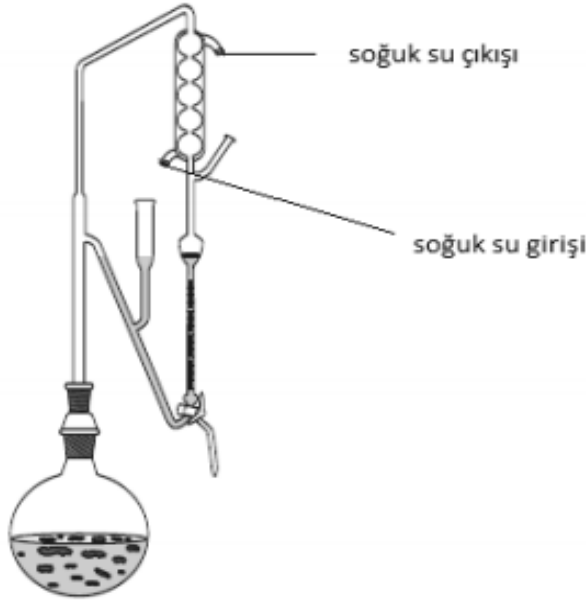
- Su distilasyonu
- Buhar distilasyonu
- Su buharı distilasyonu

- Kuru distilasyon
- Vakum distilasyonu

2.4.2.1 Su distilasyonu

Uçucu yağların eldesinde yaygın olarak kullanılan geleneksel bir yöntemdir. Bu yöntem yüksek sıcaklıkta bozunmayan taze ve kuru bitkisel materyallere uygulanabilir. Ester içeren uçucu yağlar için uygun bir yöntem değildir. Hidrodistilasyon Clevenger apareyiinde (Şekil 2.1) su ve bitki materyalinin 3 saat süre ile kaynatılarak, su buharı ile birlikte hareket eden yağ moleküllerinin soğutucuda yoğunlaştırılıp sudan ayrıştırılması esasına dayanmaktadır. (Tanker, 1990; Thapa, 1989).

Şekil 2.1
Clevenger Apareyi

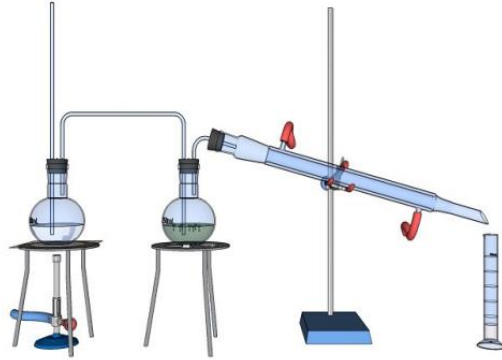


2.4.2.2 Buhar distilasyonu

Doygun ve aşırı ısıtılmış buharla taze ve kuru bitki materyallerine uygulanan bir yöntemdir (Şekil 2.2). Buhar distilasyonu ile kendi kaynama noktasında bozunmaya uğrayan maddeler düşük sıcaklıklarda bozunmadan damıtılabilir. Atmosfer basıncında yapılabildiği gibi nispeten atmosfer basıncından yüksek basınçlarda da uygulanabilen bir yöntemdir (Tanker ve Tanker, 1976).

Şekil 2.2

Su Buhar Distilasyonu Düzeneği



2.4.2.3 Vakum distilasyonu

Bazı uçucu yağların kaynama noktaları oldukça yüksektir. Bu uçucu yağları elde etmek amacıyla sıcaklığı artırmak yerine basıncı düşürmek daha etkilidir. Basınç bir kez bileşiğin buhar basıncının altına indirilirse, kaynama ve distilasyon işlemi başlamaktadır (Kılıç, 2008).

2.4.2.4 Ekstraksiyon

2.4.2.4.1 Çözücü ekstraksiyonu

Geleneksel ekstraksiyon yöntemi olup bitki materyali, direkt olarak oda sıcaklığında çözücünün içerisine bekletilebileceği gibi bir Soxhlet apareyi içerisinde de organik çözücü ile kaynatılabilmektedir (Şekil 2.3). Düşük sıcaklıkta yapılması, elde edilen ürünün buhar distilasyonuna göre daha doğal bir içerik oluşturmasını sağlamaktadır (Linskens ve Jackson, 1997).

Şekil 2.3

Soxhlet Apareyi

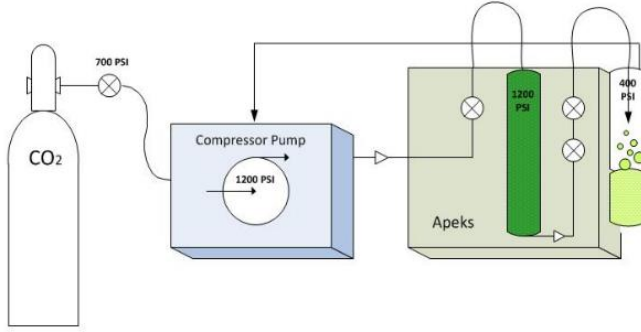


2.4.2.4.2 Süperkritik akışkanla ekstraksiyon

Süperkritik bir akışkanla ekstraksiyon; seçilen akışkanın, kritik basınç ve sıcaklık değerinin üzerinde organik bir çözücü olarak kullanılmasıdır (Şekil 2.4). Süperkritik hal olarak adlandırılan bu bölgede, akışkanın fizikokimyasal özellikleri değişerek, sıvı ve gaz arası farklı özellikler gösterir. Bu yüzden süperkritik koşullardaki madde, sıvı veya gazdan ziyade “akışkan” olarak adlandırılır (Başer, 2009). Süperkritik koşullarda madde; sıvılar gibi yüksek yoğunluk ve çözme gücüne sahipken, gazlar gibi düşük viskozite, sıfır yüzey gerilimine sahiptir (Büyüktuncel, 2012).

Şekil 2.4

Süperkritik akışkanla ekstraksiyon Sistemi



Süperkritik akışkan olarak genellikle düşük kritik sıcaklık ve basınca sahip olduğundan karbondioksit (Kritik koşulları = 30,9°C ve 73,8 bar) kullanılır. Karbondioksit ayrıca toksik değildir, alev almaz ve oldukça ucuzdur (Büyüktuncel, 2012).

Bu yöntemde oksidasyon gerçekleşmediği için elde edilen ürünler koku ve özellik bakımından diğer yöntemlerle elde edilen ürünlere göre daha üstündür. Süperkritik akışkanlarla ekstraksiyonda yüksek saflıkta ürün elde edilir. Tüm bu üstünlükleri bu yöntemi diğer elde yöntemlerinden ayıran özellikler arasındadır (Başer, 2010; Özkan ve Biçer, 2001).

2.4.2.4.3 Mikrodalga destekli ekstraksiyon

Mikrodalgalar 0,3–300 GHz aralığında değişen elektromanyetik radyasyonlardır ve genellikle doğal ürünlerde 2,5–75 GHz’ de ekstraksiyon gerçekleştirilmektedir. Klasik temas yoluyla ısı iletimi yöntemlerinin aksine, mikrodalgalar örneğin tamamını aynı anda ısıtmaktadır (Kaufmann ve Christen, 2002).

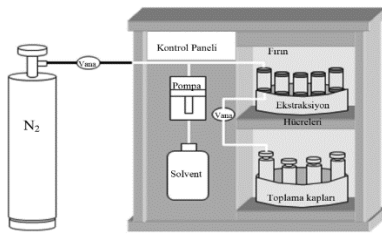
Mikroalga yardımıyla ekstraksiyon iki farklı sistemle gerçekleştirilmektedir. En yaygın sistem, sıcaklık ve basınç kontrol edilebilen kapalı bir kap içerisinde yapılan kapalı sistem ekstraksiyonudur. Diğer yöntem ise atmosferik basınç altında açık kap içerisinde gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemin avantajı, ekstraksiyon süresinin ve kullanılan çözücü miktarının büyük oranda az olmasıdır. Mikroalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle bitkilerdeki polifenoller ve lignanlar ayrıştırılabilmektedir (Kaufmann vd., 2007).

2.4.2.4.4 Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu

Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu klasik ekstraksiyon yöntemlerine alternatif olarak geliştirilmiştir (Büyüktuncel, 2012). Bu yöntem ekstraksiyon süresi, çözücü tüketimi, verim ve tekrarlanabilirlik gibi avantajlara sahiptir. Yöntemin etkinliğini artırmak amacıyla yüksek basınç ve sıcaklıkta organik çözücüler kullanılmaktadır. Yüksek basınç, çözücünün, deney materyalinin iç kısımlarına kadar nüfuz etmesine imkân sağlamaktadır. Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu (Şekil 2.5) (Accelerated Solvent Extraction-ASE) bu yöntemin bir şeklidir. Sistem içerisindeki bütün çözücü genellikle nitrojen gazı kullanılarak bir şişe içerisinde toplanmaktadır (Kaufmann ve Christen, 2002).

Şekil 2.5

Hızlandırılmış Çözücü Ekstraksiyonu Sistemi

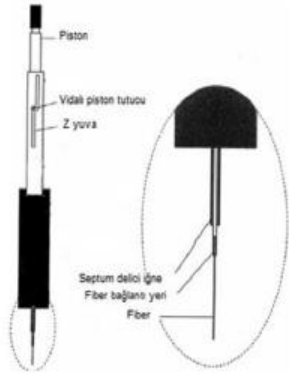


2.4.2.4.5 Katı-faz mikroekstraksiyon (solid phase microextraction-spme)

Katı-faz mikroekstraksiyon (SPME) yöntemi (Şekil 2.6) 1989 yılında Pawliszyn ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Uçucu bileşenlerin analizinde kullanılan bu teknik diğer yöntemlerle kıyaslandığında oldukça basit ve hızlı olmasından dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. SPME yöntemiyle örnek hazırlama, ekstraksiyon ve yoğunlaştırma gibi işlemleri tek bir aşamada birleştirerek çözücü kullanılmadan gerçekleştirilebilmektedir. Ekstraksiyonun bu şekilde gerçekleşmesi maliyet açısından da önemli kazançlar sağlamaktadır (Vas ve Vekey, 2004).

Şekil 2.6

SPME Enjektörü



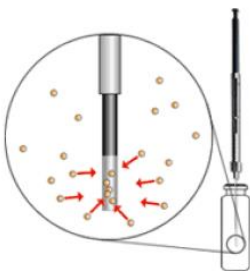
SPME yönteminde (Şekil 2.7) toksik organik çözücü kullanımına gerek yoktur. Ayrıca bu yöntemde örnek hazırlama kısmı çok az zaman almakla birlikte diğer yöntemlere göre daha ucuzdur (Dadalı ve Elmacı, 2017).

SPME yönteminin prensibi, sıvı veya katı haldeki örneklerin tepe boşluğunda ısıtılarak yoğunlaştırılan değişik uçuculuktaki bileşiklerin polimer film ile kaplı (fused silika) fiber üzerine toplanması ile bu bileşiklerin termal desorpsiyon yoluyla gaz kromatografisine enjekte edilerek analiz edilmesidir (Demirci, 2012).

SPME, modifiye edilmiş bir şırıngaya benzemektedir (Dadalı ve Elmacı, 2017). İç kısmında bir adsorban tutucu ve adsorbanla kaplanmış bir yüzey bulunmaktadır. Adsorbanla kaplı yüzey, 1-2 cm uzunluğunda silindirik bir kılıf dışına ve içine, ileri geri hareket edebilen silindirik bir yüzeydir. SPME adsorbanı, ince polimer film ile kaplanmış eritilmiş silikadır. SPME uygulaması gaz (headspace) ya da çözelti halindeki örneğe uygulanabilmektedir (Şekil 2.8).

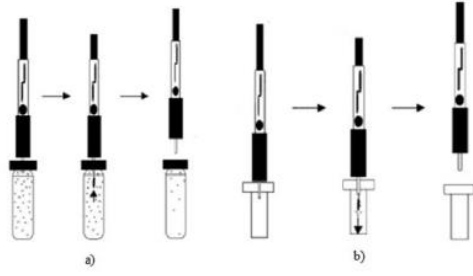
Şekil 2.7

SPME İğnesi ve Uçucu Bileşikleri Adsorplaması



Şekil 2.8

a) SPME Prosüdüğü b) SPME Desorpsiyon Prosüdüğü



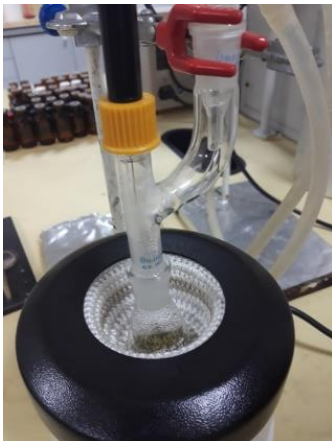
2.4.2.4.6 MSD-SPME

Mikro-buhar distilasyonu-katı-faz mikro-ekstraksiyonu (MSD-SPME) yeni geliştirilen bir örnekleme ve konsantrasyon tekniğidir. Bitki materyalinden aromatik bileşenlerin ekstraksiyonu için tasarlanmıştır. MSD-SPME yöntemi, uçucu bileşenlerin sürekli hidrodistilasyonu ile birlikte eş zamanlı katı faz mikro ekstraksiyonunu içerir. Bu yöntem, uçucu bileşenlerin ekstraksiyonunda zaman ve enerji tasarrufunda önemli avantajlar sunar. GC-FID ve GC-MS ile birleştirilen MSD-SPME metodu, mikro ölçekli seviyede uçucu bileşenlerin analizi için basit, hassas, hızlı, çözücüsüz ve çevreye karşı zararlı olmayan bir teknik olduğu kanıtlanmıştır (Özek vd., 2010).

Bitki materyali az miktarda suyla ısıtılarak hidrodistile edilir. Isıtma sonucu açığa çıkan uçucu bileşenlerin SPME fiberine adsorbe olur (Görsel 2.2). Fiber üzerinde adsorbe edilen uçucu bileşenler GC-FID/MS ile analiz edilebilir. Bu yöntem sayesinde çok daha kısa sürede bitkiden uçucu bileşenlerin izolasyonu sağlanabilir.

Görsel 2.2

MSD-SPME Düzenegi



2.4.2.5 Kromatografi

Kromatografi birbirinden farklı maddelerin hareketli bir fazla sürüklenerek sabit bir fazda dağılımına göre değişik hızlarla hareket etmeleri esasına dayanır. Kromatografi sayesinde klasik yöntemlerle bir birinden ayrılması zor olan maddeler saf olarak birbirinden ayrılabilir (Gündüz, 1993).

Kromatografi hareketli fazın tipine göre 3 gruba ayrılır (Skoog vd., 2007):

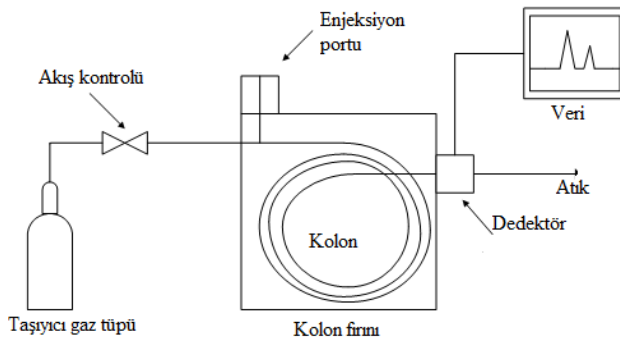
- Sıvı kromatografisi
- Gaz kromatografisi
- Süperkritik akışkan kromatografisi

2.4.2.5.1 Gaz kromatografisi (GC)

Gaz halde olan veya kolay buharlaşabilen maddelerin birbirinden ayrılmasında gaz kromatografisi yönteminden yararlanılır. Bu yöntemde inert bir gaz taşıyıcı hareketli faz olarak kullanılır. Gazın işlevi maddeleri kolon boyunca taşımaktır. Gaz kromatografisinde numune içerisinde bulunan maddelerin ayrımı, maddelerin buharlaşmalarına ve sabit fazla yaptıkları etkileşime bağlıdır. Örneğin, sabit faza düşük affinitesi olan ve yüksek buhar basıncına sahip maddeler sistemden daha hızlı ayrılırlar. Kromatografik sistemde kolonlar bir fırın içerisinde bulunmaktadır (Kor, 2016) (Şekil 2.9). Kolon üzerine uygulanan sıcaklığa göre farklı buhar basıncına sahip moleküller izotermal veya bir sıcaklık gradyenine göre ayarlanan sıcaklıktaki buhar basınçlarına göre ayrılabilir.

Şekil 2.9

Gaz Kromatografisi Sistemi



2.4.2.5.2 Gaz Kromatografisi – Kütle Spektrometrisi (GC-MS)

İki analitik teknikten oluşan bir cihazdır. Gaz kromatografisinde, cihaza enjekte edilen çözelti içindeki maddeler, artırılan sıcaklıkla birlikte buharlaşarak hidrojen veya helyum gibi taşıyıcı bir gaz yardımıyla (mobil faz), iç yüzeyi özel bir madde ile kaplanmış kolondan geçirilerek birbirinden ayrılmaktadır (Görsel 2.3) (Kuzukıran, 2015).

Kütle spektrometresinde gaz haline geçmiş moleküller elektron bombardımanına (70 eV) tutulur. Elektron bombardımanı sonucunda maddeye özgü yüklü iyonlar oluşur. Bu voltaja göre moleküllerin oluşturduğu iyonlar ve bunların oranlarını gösteren kütüphaneler bulunmaktadır. Maddelerin tanımlanması bu kütüphanelere göre yapılmaktadır (Kitson vd., 1996). Bu iki cihazın birlikte kullanımı ile oluşturulan analitik enstrüman, maddelerin kaynama sıcaklıkları, molekül yapıları, molekül ağırlıkları ve parçalanma iyonlarına göre birbirlerinden ayrılması ve tanımlanmasını sağlamaktadır.

Görsel 2.2
GC-MS Sistemi



2.5 *Anthemis* Türleri ile Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Asteraceae familyası, fitokimyasal açıdan en çok araştırılan bitki gruplarından biridir. *Anthemis* türleri üzerinde yapılan çalışmalar, bu bitkilerin üç ana sekonder metabolit grubu olan asetilenler, flavonoidler ve terpenoidler içerdiğini göstermiştir. Ayrıca, *Anthemis* türleri uçucu yağ içerikleri açısından da dikkat çekici özelliklere sahiptir. Bu özellikler, fitokimyasal zenginliklerini ve biyolojik potansiyellerini ortaya koymaktadır.

2.5.1 Seskiterpen Laktonlar

Anthemis türlerinde en yaygın bulunan bileşik grubu seskiterpen laktonlardır. Farklı yapısal çeşitlilik gösteren bu bileşikler arasında lineer seskiterpen laktonlar, germakranolid, ödesmanolid ve guayanolid türleri öne çıkmaktadır. Yapılan araştırmalar, *Anthemis* türlerinin biyolojik aktivitelerinin büyük ölçüde bu seskiterpen laktonlardan kaynaklandığını ortaya koymuştur. Çeşitli *Anthemis* türlerinde tespit edilen seskiterpen laktonların detaylı listesi Tablo 2.1’ de sunulmuştur.

Tablo 2.1

Seskiterpen Laktonlarca Zengin Anthemis Türleri Fitokimyasal Yapıları

Bileşik	Bitki adı	Kaynak
11S,5R,6R,7S,8R,9R,10S-9-Asetoksi-2,8,10-trihidroksiguaia-3,11(13)-dien-6,12-olid	<i>A. aetnensis</i>	(Bruno vd., 1997)
1- Epatridin	<i>A. altissima</i>	(Bruno vd., 1997)
1- Epatridin B	<i>A. wiedemanniana</i>	(Çelik vd., 2005)
1R,3S,6S,7R,8R-1-Hidroperoksi-3-asetoksi-8-hidroksigermakra-4Z,10(14),11(13)-trien-6,12-olid	<i>A. aetnensis</i>	(Bruno vd., 1997)
1R,3S,6S,7R,8R-1-Hidroksi-3-asetoksi-8-hidroksigermakra-4Z,10(14),11(13)-trien-6,12-olid	<i>A. aetnensis</i>	(Bruno vd., 1997)
1R,3S,6S,7R,8R-1-hidroksi-3-asetoksi-8-hidroksigermakra-4Z-10(14),11(13)-trien-6,12-olid	<i>A. aetnensis</i>	(Bruno vd., 1997)
1R,5R,6R,7S,8R,9S,10S-8,10dihidroksi-9-asetoksi-3,11(13)-germakradien-6,12-olid	<i>A. plutonia</i>	(Bruno vd., 1998)
1R,5R,6R,7S,8R,9S,10S-8,9,10-trihidroksigermakra-3,11(13)-germakradien-6,12-olid	<i>A. plutonia</i>	(Bruno vd., 1998)
1R,5R,6R,7S,8R,9S,10S-9,10-dihidroksi-8-asetoksi-3,11(13)-germakradien-6,12-olid	<i>A. plutonia</i>	(Bruno vd., 1998)
1S,2R,5R,6R,7S,8R,9R,10S-2,10-Dihidroksi-8-angeloksi-9-asetoksigaia-3,11(13)-dien-6,12-olid	<i>A. alpestris</i>	(Bruno vd., 2002)
1S,2R,5R,6R,7S,8R,9R,10S-10-hidroksi-2,8,9- triasetoksigaia-3,11(13)-dien-6,12-olid	<i>Anthemis aetnensis</i> <i>A. cretica subs cretica</i>	(Bruno vd., 1997; Vajs vd., 1999)
1S,2R,5R,6R,7S,8R,9R,10S-2,8,9,10-Tetrahidroksiguaia-3,11(13)-dien-6,12-olid	<i>A. alpestris</i>	(Bruno vd., 2002)
1S,2R5R, 6R,7S,8R,9R,10S-2 Asetoksi-8,10-dihidroksi-9-(2-metilpropanoiloksi)-guaia-3,11(13)- dien-6,12-olid	<i>A. aetnensis</i> <i>A.cretica subs cretica</i>	(Bruno vd., 1997; Vajs vd., 1999)
1α,10β-Epoksi-6-hidroksi-1,10H-inunolid	<i>A. altissima</i>	(Bruno vd., 1997)
2-asetoksi-9-izobutiriloksi-8,10-dihidroksigaia-3,11(13)-diene-6,12-olid	<i>A. alpestris</i> <i>A. aetnensis</i> <i>A. cretica subs cretica</i>	(Bruno vd., 2002; Vajs vd., 1999)
2-asetoksi-9-izovaleriloksi-8,10-dihidroksiguaia-3,11(13)-diene-6,12-olid	<i>Anthemis alpestris</i> <i>A. cretica subs cretica</i> <i>A.aetnensis</i>	(Bruno vd., 1997; Bruno vd., 2002; Vajs vd., 1999)

[Tablo 2.1 (Devam) Seskiterpen Laktonlarca Zengin *Anthemis* Türleri Fitokimyasal Yapıları]

Bileşik	Bitki adı	Kaynak
2 α -hidraperksi -8-O-isobütiril-9 α -asetoksikumambrin B	<i>A. carpatica</i>	(Vajs vd., 2000)
3 β - asetoksikostunolid	<i>A. meleampodina</i>	(El-Alfy vd., 1989)
3 β - asetoksiasetilturinol	<i>A. carpatica</i>	(Vajs vd., 2000)
3 β - asetoksiasetilturinolasetat	<i>A. carpatica</i>	(Vajs vd., 2000)
3 β - Hidroksikostunolid	<i>A. meleampodina</i>	(Sarg, El-Dahmy, & Salem, 1990)
4- Hiyroksiantekotulid	<i>A. auriculata</i>	(Theodori vd., 2006)
4- O- Asetoksiantekotulid	<i>A. auriculata</i>	(Theodori vd., 2006)
5- Asetoksi-5,6-dihidro-6, 13-dehidro-anteindurolid A	<i>A. arvensis.</i>	(Vuckovic, 2006)
5- hidroperoksi-6,13-dehidro-5,6-dihidro antekotuloid	<i>A. cotula</i>	(Staneva, Todorova, & Evstatieva, 2005)
5-hidroperoksi-6,13-dehidro-5,6-dihidroantekotuloid	<i>A. cotula</i>	(Theodori vd., 2006)
5-Hidroksi-5,6-dihidro-6,13-dehidro-anteindurolid A	<i>A. arvensis</i>	(Vuckovic, 2006)
5-kso-6,13-dehidro-5,6-dihidroantekotuloid	<i>A. cotula</i>	(Theodori vd., 2006)
5-Okso-6,7-Dehidro5,6-dihidroantekotuloid	<i>A. cotula</i>	(Baruah vd., 1985)
6,7 E-dehidroantekotuloid	<i>A. cotula</i>	(Theodori vd., 2006)
6,7Z-Dehidro-5,6-dihidroantekotuloid	<i>A. cotula</i>	(Baruah vd., 1985)
6-hidroperoksi-5, 6-dihidro- 4, 5-dehidro-antendurolid A	<i>A. arvensis.</i>	(Vuckovic, 2006)
6-hidroksi-4,5- dehidro-5,6-dihidroantekotuloid	<i>A. cotula</i>	(Theodori vd., 2006)
6-Hiydroksi-5,6-dihidro-4,5-dehidro-anteindurolid A	<i>A. arvensis</i>	(Vuckovic, 2006)
8-Angeloksi-4,5-epoksigermakra-1(10),11(13) dien-6,12-olid	<i>A. cupaniana</i> <i>A. macedonica</i> <i>punctata</i> subs. <i>cupaniana</i>	<i>A.</i> (Bruno vd., 1991; Physab, 1980; Staneva vd., 2006)
8-(tetrahidro-3'-metilene2'-oksofuran-4'-yl)-2,6-dimetilokta-2,6-dienal	<i>A. tigrensensis</i>	(Dejene, 2006)
8,9-Di-O-Asetilantemolid B	<i>A. carpatica</i> <i>A. cretica</i> subs. <i>cretica</i>	(Bulatovic vd., 1997; Vajs vd., 1999)
8-deoksi-9-O-asetilantemolid B	<i>A. carpatica</i>	(Vajs vd., 2000)
8-İzoütirlokxi-4,5- epoksigermakra-1(10),11(13)dien-6,12-olid	<i>A. cupaniana</i>	(Bruno vd., 1991)
8-İzobutirlokxi-4,5-epoksigermakra-1(10),11(13)dien-6,12-olid	<i>A. cupaniana</i>	(Bruno vd., 1991)
8-O-Acetilantemolid B	<i>A. carpatica</i>	(Bulatovic vd., 1997)
8-O-Angeloil-9-O-asetilantemolid B	<i>A. cretica</i>	(Vajs vd., 1999)
8-O-dihidroantekotuloid	<i>A. cotula</i>	(Theodori vd., 2006)
8- O-isobutiril-9-O-asetilantemolid B	<i>A. carpatica</i> <i>A. cretica</i> subsp. <i>cretica</i>	(Vajs vd., 1999; Vajs vd., 2000)
8-O-isobutiril-9 α -asetoksikumambrin B	<i>A. carpatica</i>	(Vajs vd., 2000)
8-O-Tigloyl-9-O-asetilantemolid B	<i>A. carpatica</i>	(Vajs vd., 2000)
8-O-tigloyl-9 α -asetoksikumambrin B	<i>A. carpatica</i>	(Staneva vd., 2002)
8-Tigilokxi-4,5-epoksigermakra-1(10),11(13)dien-6,12-olide	<i>A. cupaniana</i>	(Bruno vd., 1991)
8 α -angeloiloksidoglanin	<i>A. carpatica</i>	(Vajs vd., 2000)
8 α -hidroksidoglanin	<i>A. carpatica</i>	(Vajs vd., 2000)
8 α -izobütiriloksidoglanin	<i>A. carpatica</i>	(Vajs vd., 2000)

[Tablo 2.1 (Devam) Seskiterpen Laktonlarca Zengin *Anthemis* Türleri Fitokimyasal Yapıları]

Bileşik	Bileşik	Bileşik
8 α -izobütiriloksinthemolid A	<i>A. carpatica</i>	(Vajs vd., 2000)
8 α -izobütiriloksiantemolid C	<i>A. carpatica</i>	(Vajs vd., 2000)
8 α -Propioniloksiantemolid C	<i>A. carpatica</i>	(Vajs vd., 2000)
8 α -Tigloyloksiantemolid C	<i>A. carpatica</i>	(Vajs vd., 2000)
8 α -tigloylksidoglanin	<i>A. carpatica</i>	(Vajs vd., 2000)
9-Asetoksi-4,5-epoxygermacra-1(10),11(13)dien-6,12-olid	<i>A. cupaniana</i>	(Bruno vd., 1991)
9-O-Asetilantemolid B	<i>A. carpatica</i>	(Bulatovic vd., 1997)
9-O-Deasetilantemolid D	<i>A. carpatica</i>	(Vajs vd., 2000)
9 α -asetoksikumambrin A	<i>A. carpatica</i>	(Vajs vd., 2000)
9 α -Asetoksikumambrin B	<i>A. cretica</i> subsp. <i>cretica</i>	(Vajs vd., 1999)
9 α -asetoksikumambrin B	<i>A. carpatica</i>	(Staneva vd., 2002)
	<i>A. punctata</i> subsp. <i>cupaniana</i>	(Bohlmann ve Zdero, 1975; Bruno vd., 1991; Staneva vd., 2006)
9 α -Asetoksipartenolid	<i>A. cretica</i> subsp. <i>tenuiloba</i> <i>A. macedonica</i>	
9 α -Hidroksikumambrin A	<i>A. carpatica</i> <i>A. cretica</i> subsp. <i>cretica</i>	(Staneva vd., 2002; Vajs vd., 1999)
9 α -Hidroksipartenolid	<i>A. punctata</i> subsp. <i>cupaniana</i>	(Bruno vd., 1991)
Altissin	<i>A. altissima</i>	(Bruno vd., 1997)
Antekotuloid	<i>A. cotula</i> <i>A. auriculata</i>	(Karioti vd., 2007; Theodori vd., 2006)
Antekotuloid-5,6-oksit	<i>A. cotula</i>	(Vucković vd., 2006)
Antekularin	<i>A. auriculata</i>	(Karioti vd., 2007)
Anteindurolid	<i>A. tigreensis</i>	(Bruno vd., 1997)
Antheindurolid A-5,6-oksit	<i>A. arvensis</i>	(Vuckovic)
	<i>A. arvensis</i> <i>A. cotula</i> <i>A. pseudocotula</i>	(Staneva, Todorova, & Evstatieva, 2005; Vuckovic vd., 2006)
Antemolid A	<i>A. carpatica</i> <i>A. cretica</i>	(Bulatovic vd., 1997; Vajs vd., 1999)
Antemolid B	<i>A. carpatica</i> <i>A. cretica</i>	(Vajs vd., 1999; Vajs vd., 2000)
Antemolid C	<i>A. carpatica</i>	(Vajs vd., 2000)
Antemolid D	<i>A. carpatica</i>	(Bulatovic vd., 1997)
Antemolid E	<i>A. carpatica</i>	(Bulatovic vd., 1997)
Antemolid F	<i>A. carpatica</i>	(Vajs vd., 2000)
Antendurolid A	<i>A. arvensis</i> <i>A. cotula</i> <i>A. pseudocotula</i>	(Abou El-Ela vd., 1990; Staneva vd., 2005; Vuckovic vd., 2006)
Antepsödoloid	<i>A. pseudocotula</i>	(Abou El-Ela vd., 1990)
Antepsödoloid-6-O-asetat	<i>A. pseudocotula</i>	(Abou El-Ela vd., 1990)
Atendurolid B	<i>A. pseudocotula</i> <i>A. indurata</i> <i>A. cotula</i> <i>A. auriculata</i>	(Abou El-Ela vd., 1990; Baruah vd., 1985; Todorova vd., 2007)
Kostunolid	<i>A. meleampodina</i>	(Sarg vd., 1990)
Kumambrin B	<i>A. carpatica</i>	(Yoshioka, 1973)
Kumambrin A	<i>A. carpatica</i>	(Staneva vd., 2002)
Kustunolid, <i>cis,cis</i> -11,13-dihidro-3 α -asetoksi-8 β -hidroksi	<i>A. cretica</i> subsp. <i>montana</i>	(Bohlmann ve Zdero, 1975)

[Tablo 2.1 (Devam) Seskiterpen Laktonlarca Zengin *Anthemis* Türleri Fitokimyasal Yapıları]

Bileşik	Bileşik	Bileşik
Kustunolid, <i>cis,cis</i> -3 α -asetoksi-8 β -asetoksi	<i>A. cretica</i> subsp. <i>montana</i>	(Bohlmann ve Zdero, 1975)
Kustunolid, <i>cis,cis</i> -3 α -asetoksi-8 β -hidroksi	<i>A. cretica</i> subsp. <i>montana</i>	(Bohlmann ve Zdero, 1975)
Dehidrolanuginolid	<i>A. cupaniana</i>	(Bruno vd., 1991)
Dentatin A	<i>A. melanolepis</i>	(Skaltsa vd., 2006)
Desasetil- β - siklopiretrosin	<i>A. wiedemanniana</i> <i>A. altissima</i>	(Bruno vd., 1997; Çelik vd., 2005)
Desasetil- β - siklopiretrosin	<i>A. altissima</i>	(Bruno vd., 1997)
Douglanin	<i>A. carpatica</i> <i>A. melampodina</i>	(El-Alfy vd., 1989; Vajs vd., 2000)
Epi-anteinduroolid A	<i>A. auriculata</i>	(Todorova, 2007)
Epitatrudin (Tanakin)	<i>A. wiedemanniana</i>	(Çelik vd., 2005; Di Benedetto vd., 1991)
Hidruntinolid A	<i>A. hydruntina</i> <i>A. aetnensis</i>	(Bruno vd., 1997; Di Benedetto vd., 1991)
Hidruntinolid B	<i>A. hydruntina</i> <i>A. aetnensis</i>	(Bruno vd., 1997; Di Benedetto vd., 1991)
Hydruntinolide C	<i>A. hydruntina</i>	(Di Benedetto vd., 1991)
HidruntinolideC	<i>A. hydruntina</i>	(Di Benedetto vd., 1991)
Ludalbin	<i>A. carpatica</i> <i>A. macedonica</i>	(Krishnan ve Nair, 1999; Vajs vd., 2000)
Melanolepin B	<i>A. melanolepis</i>	(Skaltsa vd., 2006)
Melanolepin C	<i>A. melanolepis</i>	(Skaltsa vd., 2006)
Michelenolid	<i>A. macedonica</i>	(Staneva vd., 2006)
Santamarin	<i>A. macedonica</i>	(Staneva vd., 2006)
Sivasinolid	<i>A. altissima</i>	(Bruno vd., 1997)
Stizolin	<i>A. cupaniana</i> <i>A. macedonica</i>	(Bruno vd., 1991; Staneva vd., 2006)
Tatrudin A	<i>A. altissima</i> <i>A. wiedemanniana</i>	(Bruno vd., 1997; Çelik vd., 2005)

2.5.2 Flavonoidler

Anthemis türleri üzerinde yapılan araştırmalar, bu bitkilerin içerdiği flavonoid bileşiklerin çoğunlukla flavon yapısında olan apigenin ve luteolin ile flavonol yapısında bulunan kersetin ve kemferolün mono-, di- ve tri- metil eterleri şeklinde olduğunu ortaya koymuştur. Bunun yanı sıra, bu flavonoidlerin C3 ve C7 pozisyonlarından modifiye edilmiş çeşitli heterozit formlarına da rastlanmıştır. Farklı *Anthemis* türlerinden izole edilen flavonoid bileşikler Tablo 2.2’ de detaylı olarak sunulmuştur.

Tablo 2.2*Flavonoidlerce Zengin Anthemis Türleri Fitokimyasal Yapıları*

Bileşik	Bitki adı	Kaynak
Patuletin-3-glikozit	<i>A. tinctoria</i> ssp. <i>subtinctoria</i>	(Williams vd., 2001)
Kuersetaetin-3,6,3'-trimetileter	<i>A. tinctoria</i> ssp. <i>subtinctoria</i>	(Williams vd., 2001)
Patuletin-3-rutinosit	<i>A. tinctoria</i> ssp. <i>subtinctoria</i>	(Williams vd., 2001)
Patuletin-3-glikozit	<i>A. tinctoria</i> ssp. <i>subtinctoria</i>	(Williams vd., 2001)
Santin	<i>A. nobilis</i>	(Wollenweber ve Mayer, 1991)
Apigenin	<i>A. auriculata</i>	(Jakupovic vd., 1988; Skaltsa vd., 2006; Theodori vd., 2006; Vucković vd., 2006; Wollenweber ve Mayer, 1991)
	<i>A. nobilis</i>	
	<i>A. melanolepis</i>	
	<i>A. cotula</i>	
	<i>A. altissima</i>	
Apigenin- 7-glukozit	<i>A. nobilis</i>	(Abou-Zied ve Rizk, 1973)
Apigenin-7-O-glukuronit	<i>A. triumfetti</i>	(Pavlovic, 2006)
-7,4'-Dimetileter-apigenin	<i>A. melanolepis</i>	(Skaltsa vd., 2006)
Luteolin	<i>A. nobilis</i>	(Gönenç, 2009; Theodori vd., 2006)
	<i>A. auriculata</i>	
Luteolin-7-rutinosit	<i>A. nobilis</i>	(Gönenç, 2009)
6- Hidroksiluteolin-7-glukozit	<i>A. nobilis</i>	(Gönenç, 2009)
Luteolin-7-glukosit	<i>A. nobilis</i>	(Abou-Zied ve Rizk, 1973; Pavlovic, 2006)
	<i>A. triumfetti</i>	
Luteolin-7-O-β-D-glukopiranozit	<i>A. auriculata</i>	(Theodori vd., 2006)
Kersetin	<i>A. nobilis</i>	(Gönenç, 2009; Jakupovic vd., 1988)
	<i>A. altissima</i>	
Kersetin-7-O-glucoside	<i>A. triumfetti</i>	(Pavlovic, 2006)
Kersetin-4'-O-glucoside	<i>A. triumfetti</i>	(Pavlovic, 2006)
Kersetin-3- methylether	<i>A. altissima</i>	(Jakupovic vd., 1988)
6-Hidroksikersetin-3,6,4'-trimetileter	<i>A. altissima</i>	(Jakupovic vd., 1988)
Apiin	<i>A. nobilis</i>	(Gönenç, 2009)
İsoramnetin	<i>A. nobilis</i>	(Jakupovic vd., 1988)
	<i>A. altissima</i>	
Patuletin	<i>A. nobilis</i>	(Gönenç, 2009)
Rutin	<i>A. nobilis</i>	(Gönenç, 2009)
Krizeoriol-7-glukozit	<i>A. nobilis</i>	(Gönenç, 2009)
Patulitrin	<i>A. nobilis</i>	(Gönenç, 2009; Pavlovic, 2006)
	<i>A. triumfetti</i>	
Kaempferol	<i>A. nobilis</i>	(Abou-Zied ve Rizk, 1973)
Skopoletin	<i>A. nobilis</i>	(Abou-Zied ve Rizk, 1973; Pavlovic, 2006)
	<i>A. triumfetti</i>	
Pektolinarinenin	<i>A. auriculata</i>	(Theodori vd., 2006)
Eriyodiktiol	<i>A. auriculata</i>	(Jakupovic vd., 1988; Theodori vd., 2006)
	<i>A. altissima</i>	
Umbelliferone	<i>A. triumfetti</i>	(Pavlovic, 2006)
Hispidulin	<i>A. triumfetti</i>	(Pavlovic, 2006)
Skopolin	<i>A. triumfetti</i>	(Pavlovic, 2006)
Dihidrokemferol	<i>A. melanolepis</i>	(Skaltsa vd., 2006)
5,7,3-Trihidroksi 3,6,4-trimetoksiflavonol	<i>A. melanolepis</i>	(Skaltsa vd., 2006)
Naringenin	<i>A. melanolepis</i>	(Skaltsa vd., 2006)

[Tablo 2.2 (Devam) Flavonoidlerce Zengin *Anthemis* Türleri Fitokimyasal Yapıları]

Bileşik	Bitki adı	Kaynak
Hispidulin	<i>A. cotula</i>	(Vucković vd., 2006)
Kaempferol-4'-metileter	<i>A. altissima</i>	(Jakupovic vd., 1988)
Ramnetin	<i>A. altissima</i>	(Jakupovic vd., 1988)
Taksifolin	<i>A. altissima</i>	(Jakupovic vd., 1988)

2.5.3 Steroitler

Anthemis türlerinde, belirtilen ana grupların yanı sıra steroid yapıda bileşiklere de rastlanmıştır. Bu bileşikler arasında stigmasterol, kampesterol, α -sitosterol, β -sitosterol ve 24-metilen sikloartanol yer almaktadır (Pavlovic vd., 2007).

2.5.4 Terpenler

Araştırmalarda, *A. melanolepis* türünde terpenik yapıya sahip bir bileşik olan taksasterole rastlanmıştır (Saroglou vd., 2007).

2.5.5 Diğer fenolik bileşikler

Anthemis türleri üzerinde yapılan araştırmalarda, fenolik yapıya sahip çeşitli bileşiklere rastlanmıştır. Özellikle klorojenik asit ve kafeoilkuinik asit, bu türlerde en sık karşılaşılan fenolik bileşikler arasında yer almaktadır (Morishita vd., 1984).

2.5.6 *Anthemis* türlerinin uçucu yağ çalışmaları

Anthemis türleri uçucu yağlarının kimyasal yapıları ve biyolojik aktiviteleri, özellikle sağlık alanında kullanımlarını desteklemektedir. Çalışmalarda genellikle gaz kromatografisi (GC) ve gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) yöntemleri tercih edilmiştir.

Anthemis türlerinin uçucu yağları, kimyasal açıdan zengin ve çeşitli bir yapı sergilemektedir. Ana bileşenler arasında monoterpenler, seskiterpenler ve diterpenler bulunmaktadır.

Tablo 2.3*Anthemis Türlerinin Fitokimyasal İçerikleri*

Bitki Türü	Ana Bileşenler	Kaynak
<i>A. aciphylla</i> Boiss. var. <i>Discoidea</i>	α -Pinen Terpinen-4-ol	(Baser vd., 2006)
<i>A. altissima</i>	(-)-Linalol <i>trans</i> -Karyofillen <i>cis</i> -Krizantenil asetat	(Saroglou vd., 2006)
<i>A. auriculata</i>	Spatulenol <i>trans</i> -Karyofillen α -Ödesmol	(Saroglou vd., 2006)
<i>A. chia</i>	<i>cis</i> -Krizantenil asetat <i>trans</i> -Karyofillen Germakren D	(Saroglou vd., 2006)
<i>A. cotula</i>	Germakren D Spatulenol	(Saroglou vd., 2006)
<i>A. tinctoria</i>	Spatulenol (-)-Karyofillen oksit T-Kadinol	(Saroglou vd., 2006)
<i>A. melanolepis</i>	<i>p</i> -Simen Krizantenon <i>trans</i> -Verbenol (-)-Karyofillen oksit	(Saroglou vd., 2006)
<i>A. tomentosa</i>	(-)-Linalol 1,8-Sineol	(Saroglou vd., 2006)
<i>A. wernerii</i> subsp. <i>wernerii</i>	Nopol Terpinen-4-ol <i>trans</i> -Karyofillen 1,8-Sineol	(Saroglou vd., 2006)
<i>A. pseudocotula</i>	Kafur Artemisiaketon Filifolen α -Terpineol	(Kılıç vd., 2011)
<i>A. cretica</i> subsp. <i>pontica</i>	β -Karyofillen Azulen Spatulenol Germakren D	(Kılıç vd., 2011)
<i>A. coelopoda</i> var. <i>Coelopoda</i>	β -Karyofillen Nerolidol Azulen Borneol Linalol Siklopentadekan	(Doğan vd., 2015)
<i>A. aciphylla</i> var. <i>Aciphylla</i>	Santolinatrien Metil kavikol α -Terpineol	(Gönenç vd., 2012)
<i>A. coelopoda</i> var. <i>Bourgaei</i>	β -Pinen Santolinatrien	(Gönenç vd., 2012)
<i>A. pestalozzae</i>	β -Karyofillen Limonen Karyofillen oksit Linalol Trikosan α -Humulen	(Kirimer vd., 2014)

[Tablo 2.3 (Devam) *Anthemis* Türlerinin Fitokimyasal İçerikleri]

Bitki Türü	Ana Bileşenler	Kaynak
<i>A. rosea</i> subsp. <i>carne</i>	Sabinen Borneol β -Pinen β -Karyofilen 1,8-Sineol	(Kirimer vd., 2014)
<i>A. wiedemanniana</i>	9,12-Oktadekadienoik asit Hekzadekanoik asit Hekzahidrofarnesil aseton 1,8-Sineol Karvakrol	(Conforti vd., 2012)

2.6 Antioksidan Aktivite Mekanizmaları

2.6.1 Serbest radikaller

Orbitallerinde eşleşmemiş elektron bulunduran kısa ömürlü ve yüksek aktiviteli bileşiklere serbest radikal adı verilmektedir. Serbest radikaller son orbitallerinde paylaşılmamış elektron taşımaları söz konusu kimyasal türün reaktivitesini olağanüstü arttırmaktadır. Yapılarından dolayı kolay şekilde reaksiyona girebilirler (Cherubini vd., 2005). Serbest radikaller hücrelerde mitokondriyal elektron zinciri (ETS), fagositik ve endotelial hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar, redoks döngüleri, araşidonik asit metabolizması, otooksidasyon reaksiyonları sırasında ksantin oksidaz ile NADPH (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) oksidaz gibi enzimlerin etkisiyle gibi çeşitli yaşamsal faaliyetler sırasında üretilmektedir. Bunun yanında serbest radikal üretiminde başka faktörler de rol oynamaktadır. Bunlar endojen faktörler olarak adlandırılır. Çevre koşulları (duman, hava kirliliği), UV ışınlar, diyet iyonize radyasyon ve ksenobiyotikler bu grupta toplanmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 2015).

Dengelenmemiş serbest radikal saldırısı ve hücre zarının tahribatına oksidatif stres adı verilir. Oksidatif stres, oksidatif lezyonlara, doku hasarına, mutasyonlara ve hücre ölümüne yol açabilen reaktif oksijen (ROS) ve reaktif azot türlerinin (RNS) aşırı üretimiyle tetiklenir. Serbest radikaller dokularda lipit, protein ve DNA ile birleşerek, normal fonksiyonlarını yapamaz hale getirir. Lipit peroksidasyonu, DNA hasarı gibi nedenlerde beden üzerinde hasar meydana getirirler.

Hücre membranlarının lipit peroksidasyonu, membranda çift bağlı lipitler oksijen türevleriyle etkileşerek, değişken peroksitleri oluşturur ve otokatalitik zincir reaksiyonları

meydana gelir. Proteinlerin çapraz bağlanması, çapraz bağlar kurarak parçalanma ya da enzimatik aktivite kaybına sebep olur. Serbest radikaller direkt olarak polipeptitleri parçalar. Özellikle prolin, lizin, histidin ve arjinin aminoasitleri oksidatif radikallere karşı dayanıksızdır. DNA parçalanması reaksiyonlarında, serbest radikaller DNA’da tek ipli kırılmalar meydana gelir (Dillard ve Tappel, 1989; Tregubova vd., 2012; Videla ve Fernández, 1988; Wolff vd., 1989).

Oksidatif stres tüm canlılarda gözlenebilir. İnsanlarda çeşitli kalp damar hastalıkları (arterioskleroz ve hipertansiyon), diyabet, nörodejeneratif süreçler (Alzheimer ve Parkinson), hücre yıpranması ve yaşlanma, solunum yolu hastalıkları (sistik fibroz ve astım), Down sendromu ve kanser gibi hastalıkların oluşumunda oksidatif stresin katkı yaptığı bilinmektedir (Balin ve Allen, 1986; Ulas vd., 2013).

2.6.2 Antioksidanlar

Serbest radikal saldırısıyla oluşan oksidatif stresle baş etmede en çok kullanılan ürünler antioksidanlardır. Serbest radikal oluşumunu önlemek, var olan serbest radikallerin sebep olduğu hasarları engellemek ve detoksifikasyonu sağlamak amacıyla vücutta görev yapan savunma sistemlerine antioksidanlar adı verilir. Fakat antioksidanlar sadece vücut tarafından üretilmez endojen kaynaklı olan antioksidanlar da oldukça fazladır. Endojen ve ekzojen kaynaklı antioksidanlar Tablo 2.4’ te gösterilmiştir.

Tablo 2.4

Antioksidan Ölçüm Mekanizmalarının Sınıflandırılması

ENDOJEN ANTİOKSİDANLAR		
Enzimatik Antioksidan Maddeler	Nonenzimatik Antioksidanlar	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon	Koenzim Q10
Katalaz (CAT)	Melatonin	Selenyum
Glutasyon peroksidaz	Ürik asit	α -lipoik asit
Glutasyon Redüktaz	Bilirubin	Transferrin
	Albümin	Seruloplazmin
EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR		
Vitaminler	Tedavide kullanılan antioksidanlar	
	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)	
	NADPH oksidaz inhibitörleri	
α -Tokoferol	Rekombinant süperoksit dismutaz	
β -Karoten	Ebselen ve Asetilsistein	
Askorbik asit (vitamin C)	Mannitol ve Albümin	
Folik asit (vitamin B9)	Sitokinler (TNF ve IL-1)	
	Barbitüratlar	
	Demir şelatörleri	

Sonuç olarak, bitkinin veya numunenin antioksidan kapasitesini belirlemek için tek bir yöntemin yeterli olmayabileceği, dolayısıyla farklı mekanizmalarla çalışan çok yönlü analizlerin daha kapsamlı sonuçlar sunacağı öngörülmektedir (Dorman vd., 2003).

Tüketilen bitki, gıda ve doğal bileşiklerin antioksidan kapasitesinin ölçülmesi sağlık açısından oldukça önemlidir. Ancak, doğal ürünlerin karmaşık yapısı nedeniyle her bir antioksidan bileşiğin ayrıştırılması ve antioksidan aktivitesinin ayrı ayrı incelenmesi hem maliyetli hem de zaman alıcıdır. Ayrıca bir karışım içerisindeki antioksidan bileşiklerin birbirleriyle oluşturabileceği olası sinerjik etkileşimler de göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle, hastalıkların önlenmesi amacıyla kullanılacak antioksidanların etkinliğini hızlı ve etkili yöntemle ölçmek araştırmacılar için önemlidir. Ancak, günümüzde tüm antioksidanları kapsayacak tek bir evrensel ölçüm yöntemi veya tekniğe ulaşılamamıştır. Toplam antioksidan kapasitesini yalnızca tek bir kimyasal reaksiyonla analiz etmek pratik ve gerçekçi değildir. Bu alandaki en büyük zorluk, gıdaların ve biyolojik örneklerin antioksidan kapasitesini güvenilir şekilde ölçebilecek doğrulanmış bir analiz yönteminin bulunmamasıdır.

Geliştirilecek böyle bir evrensel test, aşağıdaki gereksinimleri karşılamalıdır:

- Biyolojik olarak uygun bir substratı seçici biçimde ölçmeli,
- Farklı oksidasyon koşullarını test edebilmeli,
- Hem başlangıç hem de ikincil oksidasyon ürünlerini ölçebilmeli,
- Antioksidanların aktif bileşenlerini aynı molar konsantrasyonlarda karşılaştırmalı,
- İndüksiyon süresi, inhibisyon yüzdesi, hidroperoksit oluşumu, bozunma hızı veya IC_{50} (yüzde 50 inhibisyon sağlamak için gereken antioksidan konsantrasyonu) değeri gibi kriterlere göre antioksidanları değerlendirmelidir (Miliauskas vd., 2004; Trouillas vd., 2003).

2.6.2.1 DPPH serbest radikal süpürücü etki

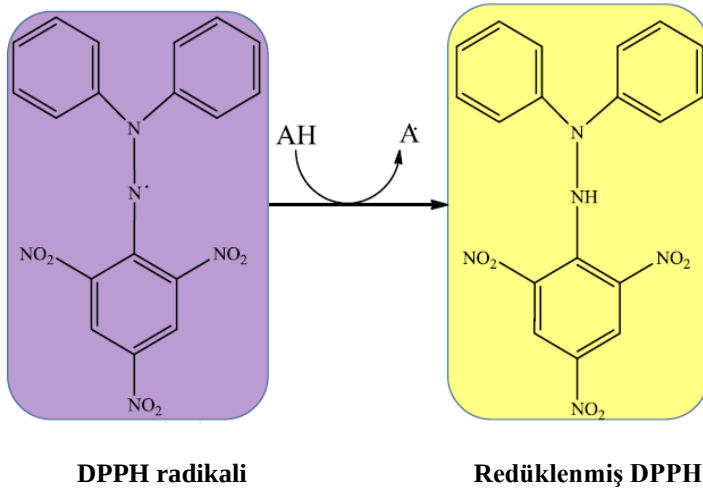
2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) testi, antioksidan aktiviteyi ölçmede kullanılan eski yöntemlerden biri olup, ilk olarak 1950'lerde doğal bileşiklerdeki hidrojen verici özellikleri incelemek için geliştirilmiştir. Zaman içinde, gıdaların ve fenolik bileşiklerin

antioksidan potansiyellerini belirlemek için yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Test, DPPH olarak bilinen kararlı bir serbest radikale karşı antioksidanların radikal süpürme kapasitesini değerlendirmeye dayanır (Ali vd., 2008).

DPPH radikali, koyu mor renkte kararlı bir organik nitrojen radikali, ticari olarak temin edilebilen bileşiktir. Bu da onu, testten önce üretilmesi gereken ABTS^{•+} gibi radikallerden ayırır. Test, antioksidanların DPPH'yi indirgeme yeteneğini ölçer ve bu yetenek, elektron spin rezonansı (EPR) veya absorbansın azalması aracılığıyla değerlendirilebilir (Şekil 2.10). Özellikle renk giderme yöntemi, Brand-Williams ve çalışma arkadaşları tarafından geliştirilen protokol temel alınarak yaygın bir şekilde kullanılmıştır (Prior vd., 2005).

Şekil 2.3

DPPH Radikalinin İndirgenmesi



DPPH testi, doğal bitki ekstraktların antioksidan kapasitesini belirlemede sıkça tercih edilen bir yöntemdir. Bunun başlıca nedenleri düşük maliyetli olması ve kolay uygulanabilirliğidir. Ancak, 517 nm dalga boyunda ölçüm yapılırken başka maddelerin girişim yapması yöntemin dezavantajlarından biridir. Test, antioksidan bileşiklerin mor renkteki DPPH radikalini indirgemesiyle renksiz bir ürün oluşmasını esas alır; bu renk değişikliği, antioksidanların radikal süpürme gücünün bir göstergesi olarak değerlendirilir.

Antioksidan analizinde, reaksiyondan sonra 515 nm dalga boyunda DPPH' nin renk kaybı bir spektrometre ile izlenir. DPPH'nin kalan miktarı, test bileşiğinin radikali giderme kapasitesini gösterecek şekilde hesaplanır. Bu yönüyle DPPH testi, antioksidan

aktivitenin hızlı ve pratik bir ölçümünü sağlar ve farklı antioksidan bileşiklerin karşılaştırılması için yaygın olarak kullanılmaktadır. Deney sonuçlarına göre DPPH yüzdesi aşağıdaki şekildeki formüle göre hesaplanır (Brand-Williams, 1999).

$$\text{Inh \%} = \frac{Abs_{kontrol} - Abs_{örnek}}{Abs_{kontrol}} \times 100$$

Abs_{kontrol}: Kontrolün absorbans değeri

Abs_{örnek}: Örnek veya standartların absorbans değeri

2.6.2.2 CUPRAC testi (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite testi)

Cupric Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC) yöntemi, antioksidan kapasitenin ölçülmesi amacıyla dünya literatürüne kazandırılmış, basit, ucuz, seçici ve duyarlı bir spektrofotometrik analiz yöntemidir. Bu yöntem, polifenoller, C ve E vitaminleri, flavonoidler ve glikozitleri gibi hem hidrofilik hem de lipofilik bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi için idealdir. Reaktif olarak kullanılan Cu(II)-neokuproin (Nc) çözeltisi, amonyum asetat tampon ortamında iyi bir yükseltgen olarak görev yapar. Yöntemde, reaktifin indirgenmesiyle oluşan Cu(II)-Nc kompleksi 450 nm dalga boyunda ölçülür.

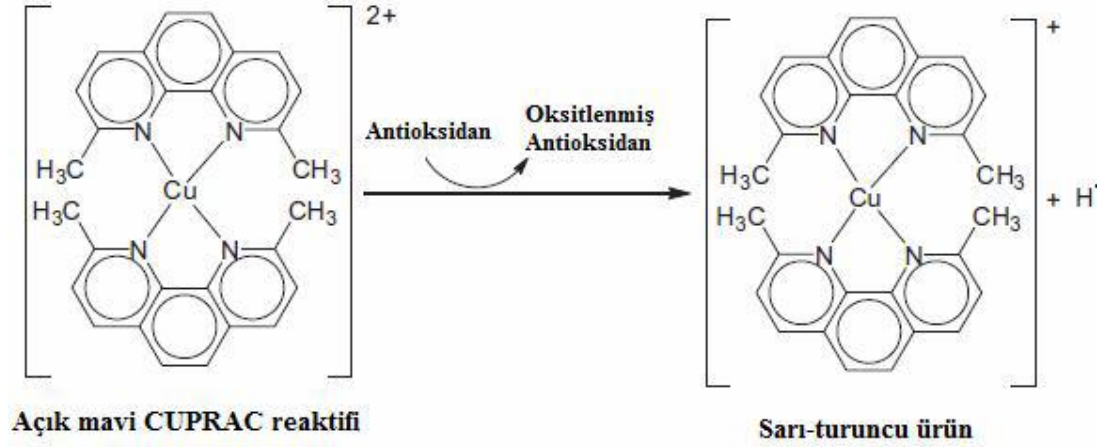
CUPRAC yönteminde, toplam antioksidan kapasite, Cu(II) iyonlarının indirgenmesi yoluyla belirlenir. Yöntemin temelinde, Cu(II) klorür, neokuproin ve amonyum asetat (pH 7) tampon çözeltilerinin karıştırılması yer alır. Üzerine test edilecek antioksidan çözeltisi ilave edilir ve reaksiyon karışımı 30 dakika bekletildikten sonra, 450 nm dalga boyunda absorbans ölçülür. Bu ölçüm, antioksidan kapasitenin, Cu(II) iyonunu indirgeme kabiliyeti cinsinden belirlenmesini sağlar.

CUPRAC testinde, Cu(II)-Nc reaktifi, kromojenik bir oksitleyici ajan olarak kullanılır. Bu reaktif, antioksidanlar ile tepkimeye girerek Cu(I)-Nc şelatını oluşturur. Bu kompleks, 450 nm dalga boyunda maksimum absorbansa sahiptir.

Reaksiyon sırasında, polifenolik antioksidanların hidroksil (Ar-OH) grupları oksitlenerek kinonlara dönüşürken, Cu(II)-Nc kompleksi indirgenir ve turuncu-sarı renkte Cu(I)-Nc şelatı meydana gelir (Şekil 2.11). Bu renk değişimi, antioksidan aktivitenin bir göstergesi olarak değerlendirilir. Yöntemin uygulanmasında, örnekler 96 kuyucuklu mikropklara yerleştirilir ve CuCl₂, amonyum asetat tamponu ve Nc çözeltileri ile inkübe edilir. İnkübasyon süresinin sonunda, 450 nm’ de absorbans ölçülerek sonuçlar değerlendirilir.

Şekil 2.4

CUPRAC Radikalinin İndirgenmesi



CUPRAC yönteminde elde edilen absorban değerleri kullanılarak bir referans antioksidan olan Troloks için bir kalibrasyon grafiği oluşturulur. Bu grafiğe dayanarak, test edilen örneklerin antioksidan kapasiteleri Troloks eşdeğeri olarak hesaplanır. Yöntemin doğrusal kalibrasyon eğrisi sayesinde, farklı bitki ve gıda ekstraktları gibi karmaşık matrislerdeki antioksidan bileşenlerin etkili bir şekilde analiz edilmesi mümkün olur.

Son yıllarda, CUPRAC yönteminin yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile entegre edilmesi, özellikle karışık bitkisel örneklerin analizinde önemli avantajlar sağlamıştır. Bu geliştirilmiş yöntem, polifenollerin kromatografik olarak ayrılmasını, bileşenlerin analizi ve antioksidan kapasitelerinin kolon sonrası reaksiyonlarla belirlenmesini içermektedir.

Bitki ekstratlarındaki polifenollerin ayrılması, bir C_{18} kolonu üzerinde iki farklı mobil faz (metanol ve %0,2 fosforik asit) kullanılarak gerçekleştirilir. HPLC kolonunda ayrılan antioksidanlar, kolon sonrası reaksiyon bobininde $Cu(II)$ -Nc reaktifi ile reaksiyona girer ve $Cu(I)$ -Nc şelatına indirgenir. Bu şelat, 450 nm’ de maksimum absorbanza sahiptir ve antioksidan bileşiklerin negatif pikleri, absorbanstaki artış ile izlenir (Apak vd., 2004).

CUPRAC yöntemi, hızlı, ucuz ve çok yönlü bir analiz tekniğidir. Kararlı reaktifler kullanması ve hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanları analiz edebilmesi, yöntemin çeşitli alanlarda tercih edilmesini sağlar. Özellikle, bitkisel örneklerin antioksidan bileşenlerinin kalitatif ve kantitatif analizinde oldukça etkilidir.

Bu yöntemi antioksidan kapasite tayininde seçici, pratik ve güvenilir bir araç olarak kabul edilmekte ve gıda endüstrisinde biyokimyasal araştırmalara kadar geniş bir kullanım alanına sahiptir. CUPRAC testi, antioksidanların sağlık üzerindeki olumlu etkilerini değerlendirilmede önemli rol oynamaktadır ve gelecekte daha geniş uygulamalara yol açabilecek potansiyele sahiptir.

2.6.2.3 TEAC troloksa eşdeğer antioksidan kapasite

Troloksa eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) yöntemi, antioksidan kapasitenin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir analiz yöntemidir. Orijinal olarak 1993 yılında Miller ve arkadaşları tarafından geliştirilen bu yöntem, uzun ömürlü radikal anyonların süpürülmesine dayanır. Başlangıçtaki hidrojen peroksit varlığında metmiyoglobinin pre oksidaz aktivitesi kullanılarak ABTS [2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6sülfonik asit)] radikalleri oluşturulur ve antioksidanların bu radikaller üzerindeki etkisi, 734 nm dalga boyunda ölçülür.

Orijinal TEAC yönteminde, ABTS radikal katyonları H_2O_2 ve metmiyoglobinin etkileşimi sonucu oluşur. $ABTS^{+•}$ radikal katyonlarının karakteristik absorpsiyon spektrumu ise 660, 734, 820 nm' de maksimum değerlere ulaşır. Daha sonra Re ve arkadaşları (1999) bu yöntemi modifiye etmişlerdir. Yeni metotta, ABTS ve potasyum persülfat arasındaki reaksiyon sonucu mavi-yeşil renkli $ABTS^{+•}$ radikal katyonları oluşturulur. Bu modifikasyon, antioksidanların eklenmesinden önce radikal katyonların oluşmasını sağlar ve hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanların analizine olanak tanır.

Modifiye TEAC yöntemi, hem suda çözünebilen (hidrofilik) hem de yağda çözünebilen (lipofilik) antioksidanları ölçebilen bir dekolorizasyon (renk giderimi) tekniğidir. Troloks, E vitaminin suda çözünebilen bir analogudur ve antioksidan kapasite tayinlerinde standart olarak kullanılır. Troloks, doğal bir bileşik olmamakla birlikte, çeşitli antioksidan tayinlerinde standart olarak kullanılır. Belirli bir konsantrasyon aralığında Troloks kullanılarak standart bir grafik oluşturulur ve incelenen numunenin antioksidan kapasitesi Troloks eşdeğeri olarak hesaplanır.

Van den Berg ve arkadaşları (1999) tarafından yapılan başka bir modifikasyon, 2,2'-azobis-(2-amidinopropan) HCl (ABAP) kullanarak $ABTS^{+•}$ radikal anyonlarının oluşturulmasına dayanır. Bu yöntemde radikal oluşumundan önce antioksidanların

eklenmesi, potansiyel girişimlerin önüne geçer. Böylece, hem hidrofilik hem de lipofilik bileşiklerin antioksidan kapasiteleri doğru şekilde ölçülebilir (van den Berg vd., 1999).

TEAC yöntemi, basitliği ve pratikliği nedeniyle birçok araştırma laboratuvarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Gıda örnekleri ve saf bileşikler üzerinde yapılan testlerde, bileşiklerin TEAC değerleri ile verdikleri elektron sayısı arasında her zaman doğrudan bir korelasyon bulunmamaktadır. Örneğin, glutatyon yalnızca bir elektron verebilirken, benzer TEAC değerlerine sahip diğer antioksidanlar iki elektron verebilmektedir.

Ferulik asit ve *p*-kumarik asit gibi bazı bileşiklerin TEAC değerleri birbirine yakın olmasına rağmen, ferulik aside yapısal olarak benzer olan kafeik asidin TEAC değeri önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Aynı şekilde, yapısal olarak benzer kersetin ve kemferol arasında da TEAC değerlerinde belirgin farklılıklar gözlemlenmiştir.

ABTS radikal katyonları, hem su hem de organik çözücülerde çözünür olduğundan, hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanların kapasitesinin belirlenmesinde kullanılabilir. Ancak, ABTS doğal bir bileşik olmadığından, biyolojik fonksiyonlarla doğrudan ilgisi olmadığı eleştirilerine maruz kalmaktadır. Ayrıca, ABTS' den daha düşük redoks potansiyeline sahip herhangi bir bileşik, termodinamik olarak bu radikal ile reaksiyona girebilir, bu da yöntemin spesifikliğini sınırlayabilir.

TEAC yöntemi, antioksidan kapasite ölçümlerinde geniş bir uygulama alanı hızlı ve güvenilir bir analiz yöntemidir. Yapısal benzerlik gösteren bileşiklerin farklı TEAC değerleri, bu yöntemin yalnızca bileşiklerin elektron verme kapasitesine değil, aynı zamanda kimyasal yapılarına ve reaksiyon kinetiklerine de duyarlı olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, ABTS' nin doğal bir bileşik olmaması ve çeşitli radikallerle reaksiyona girme potansiyeli, yöntemin bazı sınırlamalarına işaret etmektedir.

Bu yöntemin sağladığı esneklik ve güvenilirlik gıda endüstrisi ve biyokimya araştırmalarında geniş bir kullanım alanına sahiptir. Antioksidan kapasitenin belirlenmesinde TEAC yöntemi, farklı bileşiklerin karşılaştırılmasında standart bir metot olarak kabul edilmektedir (Ardağ, 2008; Rice-Evans ve Miller, 1994).

2.7 Antidiyabetik Araştırmaların Önemi

Diyabet, insülin üretimindeki tamamen ya da kısmi eksiklik sonucunda ortaya çıkan, yüksek kan şekeri (hiperglisemi) ile karakterize kronik bir metabolik hastalıktır. Dünya

genelinde, diyabetin hızla artan prevalansı nedeniyle bu hastalığın yönetimi küresel bir halk sağlığı sorunu olarak öne çıkmaktadır. Mevcut ilaçların yan etkileri ve sınırlamaları, alternatif tedavi yaklaşımlarını ve antidiyabetik aktivite araştırmalarını önemli hale getirmiştir (Başak ve Candan, 2010).

Modern diyabet tedavisi, insülin ve oral antidiyabetik ilaçların kombinasyonlarını içermektedir. Oral antidiyabetik ajanların etkileri genel olarak şu mekanizmalarla gerçekleşir:

- İnsülin sekresyonunu artırma: Sülfonilüreler ve glinidler, pankreastan insülin salınımını uyararak kan şekeri seviyelerini düşürür. Ancak bu ilaçların hipoglisemi riski taşındığı bildirilmektedir (Demir ve Akpınar, 2020).
- İnsülin duyarlılığını artırma: Biguanidler ve tiazolidindionlar gibi ilaçlar, insülin direncini azaltarak glikoz kullanımını artırır (Inzucchi, 2002).
- Karbonhidrat emilimini azaltma: Alfa-glukozidaz inhibitörleri, karbonhidratları hidroliz eden enzimleri inhibe ederek postprandiyal hiperglisemiyi azaltır (Sunil Kumar vd., 2012).

Daha yeni ilaç sınıflarından biri olan inkretin bazlı ajanlar, glukagonu baskılayarak (DPP-4 inhibitörleri) ve insülin salınımını artırarak glisemik kontrol sağlar. Bunun yanında, karbonhidrat yıkımında görev alan enzimlerin (ör. α -glukozidaz ve α -amilaz) inhibe edilmesi, diyabet tedavisinde önemli bir strateji olarak öne çıkmaktadır (Aquino vd., 2003).

Diyabet tedavisinde bitkisel ürünlerin kullanımı uzun bir geçmişe sahiptir ve günümüzde de alternatif bir tedavi yöntemi olarak önemini korumaktadır. Fenolik bileşikler, flavonoidler, alkaloidler, terpenoidler ve saponinler, bitkisel kaynaklı antidiyabetik ajanlar arasında öne çıkmaktadır. Bu bileşikler, genellikle karbonhidrat yıkımını sağlayan enzimleri inhibe ederek ya da insülin duyarlılığını artırarak etkilerini göstermektedir.

- Yeşil çay: Sukraz ve α -glukozidaz enzimlerini inhibe eden fenolik bileşikler içermektedir.
- Patates: α -glukozidazı inhibe edici fenolik bileşikler barındırır.
- Dut: α -amilaz ve α -glukozidaz inhibitörleri içerdiği bildirilmiştir (Aquino vd., 2003).

Fenolik bileşiklerin yanı sıra, alkaloidler ve terpenoidlerin de glukoz metabolizmasını düzenleyen önemli etkileri olduğu kanıtlanmıştır (Sunil Kumar vd., 2012).

Antidiyabetik aktivite araştırmaları, diyabet tedavisinde güvenilir ve etkili doğal ürünlerin geliştirilmesini amaçlamaktadır. Mevcut ilaçların yan etkileri ve sınırlamaları göz önüne alındığında, doğal kaynaklı bileşikler üzerinde yapılan çalışmaların şu açılardan önemli olduğu görülmektedir:

- Alternatif Terapi Geliştirme: Doğal bileşikler, mevcut farmakolojik ajanlara destek olarak ya da bağımsız bir tedavi seçeneği olarak kullanılabilir (Patel vd., 2012).
- Yan Etkileri Azaltma: Bitkisel ürünler, genellikle daha düşük toksisite profiline sahiptir ve bu da diyabet tedavisinde önemli bir avantajdır (Malviya vd., 2010).
- Metabolik Hedeflerin Çeşitlendirilmesi: Doğal ürünler, karbonhidrat metabolizmasının yanı sıra insülin salınımını ve duyarlılığını artıran mekanizmalarla da etkili olabilir.

Sonuç olarak diyabet, global sağlık sistemi için ciddi bir yük oluşturan kronik bir hastalıktır. Mevcut tedavi seçeneklerinin sınırlamaları göz önüne alındığında, antidiyabetik aktiviteye sahip bitkisel ürünlerin araştırılması büyük önem taşımaktadır. Fenolik bileşikler, alkaloidler ve terpenoidler gibi bitkisel bileşikler hem karbonhidrat metabolizmasının düzenlenmesi hem de insülin duyarlılığının artırılması açısından umut verici adaylardır. Gelecekte bu bileşiklerin etkilerinin daha iyi anlaşılması için kapsamlı klinik çalışmaların yapılması gerekmektedir.

2.7.1 α - Amilaz enzim inhibitörleri

α -Amilaz, nişastayı maltoz gibi disakkaritlere parçalayan bir enzimdir ve enzim çalışmalarında yaygın olarak kullanılan ikinci enzim türüdür. Proteaz grubunda yer alan bu enzim, glikozidik bağların hidrolizini katalize ederek, nişasta moleküllerinin α -(1-4) glikozid bağlarını parçalar. Bu süreç, maltoz ve diğer oligosakkaritlerin oluşumuna yol açar. A-Amilaz, bitkiler, mikroorganizmalar ve hayvan salgılarında yaygın olarak bulunur ve insan metabolizmasında karbonhidrat sindiriminde kritik bir rol oynar. Özellikle pankreatik α -amilaz, nişastanın sindirilmesinde etkin bir enzimdir ve kandaki glukoz seviyelerinin düzenlenmesinde dolaylı olarak önemli bir işlev üstlenir.

Karbonhidratlar, insan diyetinin temel bileşenlerinden biri olup, bu grubun büyük bir kısmını nişasta oluşturur. Nişastanın sindirimi, α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerinin iş birliğiyle gerçekleşir. Bu enzimler sayesinde, nişasta parçalanarak glukozla dönüştürülür ve glukoz dolaşıma katılır. (Hanhineva vd., 2010; Williamson, 2013) Ancak bu süreç, özellikle tip 2 diyabet gibi metabolik hastalıkların yönetimi açısından önem taşır. Tip 2 diyabetin tedavisinde kullanılan yöntemlerden biri, α -amilaz enziminin aktivitesinin inhibisyonudur (Karabaş, 2016).

A-Amilaz enzim inhibitörleri, karbonhidratların parçalanmasını geciktirerek glukoz emilim hızını yavaşlatır ve bu sayede kandaki glukoz seviyesinin kontrol edilmesine katkıda bulunur. Bu inhibitörler, nişasta sindirim sürecini düzenleyerek ani glukoz yükselmelerinin önüne geçilmesini sağlar. Tip 2 diyabet tedavisinde yaygın olarak kullanılan inhibitörlerden biri olan akarboz, pankreatik α -amilaz üzerinde güçlü bir inhibisyon etkisi gösterir. Akarboz, amino şeker yapısına sahip bir bileşik olup, glukoz metabolizmasının düzenlenmesine yardımcı olarak diyabet yönetiminde etkili bir tedavi seçeneği sunmaktadır.

Sonuç olarak, α -amilaz ve onun inhibitörleri, karbonhidrat metabolizması ve kan glukoz seviyelerinin kontrolü açısından önemli bir role sahiptir. Bu enzim üzerinde yapılan çalışmalar, diyabet tedavisinde daha etkili yöntemlerin geliştirilmesine katkı sağlamaktadır (Hanhineva vd., 2010; Williamson, 2013).

2.7.1.1 α - Amilaz inhibisyon testi

α -Amilaz enzim inhibitörlerinin etkisini belirlemek için in-vitro ortamda çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlardan biri, potasyum iyodür (KI), nişasta çözeltisi ve α -amilaz enzimi kullanılarak gerçekleştirilen testlerdir. Bu yöntemde, α -amilaz enzimi nişastayı oligosakkaritlere kadar hidroliz eder. Hidroliz sonucunda oluşan ürünlerin değerlendirilmesi için ortamda iyot kullanılır. Normalde iyot, nişasta ile kompleks oluşturur ve belirgin bir renk değişikliği gözlenir. Ancak, ortama bir α -amilaz inhibitörü eklendiğinde, nişastanın parçalanması engellenir ve iyot-nişasta kompleksinin oluşturduğu renk değişimi spektrofotometrik olarak ölçülerek inhibitör etkinliği değerlendirilir.

Tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan α -amilaz inhibitörlerinden biri olan akarboz, pankreatik α -amilaz üzerinde güçlü bir inhibisyon etkisi gösterir. Akarboz, karbonhidratların sindirimini geciktirerek postprandiyal (yemek sonrası) glukoz

yükselmelerinin önlenmesine yardımcı olur. Bu inhibitörlerin etkinliği, bitkisel ekstrakter gibi doğal kaynaklardan elde edilen yeni bileşiklerin keşfi ve test edilmesiyle daha da genişletilebilir. α -Amilaz inhibisyon testleri, bu tür yeni inhibitörlerin değerlendirilmesinde önemli bir araçtır.

α -Amilaz enzim inhibitörleri, karbonhidrat sindiriminin düzenlenmesi yoluyla kan şekeri seviyelerinin kontrolünde önemli bir role sahiptir. In-vitro ortamda gerçekleştirilen inhibisyon testleri, bu inhibitörlerin etkinliğini değerlendirmek ve yeni tedavi yaklaşımları geliştirmek için temel bir platform sunar. Bu yöntemler, diyabet tedavisinde daha etkili ve güvenli bileşiklerin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır (Zengin vd., 2014).



3. MATERİYAL VE METOT

3.1 Bitkisel Materyal

Bitkisel materyal olarak *Anthemis fumariifolia* bitkisinin toprak üstü kısımları kullanılmıştır (Şekil 3.1). Bitki örneği Eskişehir Günyüzü Kavuncu Köyü Tuzlu alan bölgesinden toplanmıştır. Bitkisel materyalin toplanması ve botanik teşhisi Dr. Ömer Koray YAYLACI (Anadolu Üniversitesi) tarafından gerçekleştirilmiştir. Çiçeklenme döneminde toplanan bitki kuru serin ve havadar ve doğrudan güneş ışınlarının ulaşmadığı yerde kurutulmuştur. Kuru bitkisel materyal kağıt torbada muhafaza edilmiştir. Herbarium örneği Anadolu Üniversitesi Herbariumunda (ESSE 15903) kayıda alınmıştır.

Görsel 3.1

Anthemis fumariifolia Bitkisel Materyali ve Herbarium Örneği



3.2 Kimyasal Maddeler

Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddelere ve çözücülere ait bilgiler Tablo 3.1’ de yer almaktadır.

Tablo 3.1

Kullanılan Kimyasal Madde ve Çözücülerin Bilgileri

Kimyasal Madde	Kimyasal Formül	Menşei
α -Amilaz		Sigma-Ald., Fransa
ABTS 2,2’-Azino-bis (3 etil benztiazolin-6-sülfonik asit		Sigma-Ald., Almanya
Akarboz	C ₂₅ H ₄₃ NO ₁₈	Sigma-Ald., Fransa
Alüminyum klorür	AlCl ₃	Merck, Almanya
Amonyum asetat		Sigma- Ald., Almanya
Asetik asit (buzlu)	CH ₃ COOH	Sigma-Ald., Almanya
Bakır (II)klorür	CuCl ₂	Sigma- Ald., Almanya
Borontriflorür	BF ₃	Merck, Almanya
N,O-Bis(trimetilsilil)trifluoroasetamid, (BSTFA)	CF ₃ C[=Nsi(CH ₃) ₃]Osi(CH ₃) ₃	Sigma- Ald., Almanya
Çözünür nişasta		Sigma-Ald., İngiltere
Dimetil sülfoksit (DMSO)		Sigma-Ald., ABD
1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)		Sigma-Ald., Fransa
Etanol	C ₂ H ₅ OH	Sigma-Ald.,Almanya
Fatty Acids Extraction Kit	-	Sigma
Folin-Ciocalteu reaktifi	FCR	Sigma-Ald., İsviçre
Gallik asit	C ₆ H ₂ (OH) ₃ COOH	Sigma-Ald., Çin
Hidroklorik asit	HCl	Sigma-Ald., Almanya
İyot	I ₂	Sigma-Ald., Fransa
Kersetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	Sigma- Ald., Almanya
Metanol	CH ₃ OH	Sigma-Ald., Polonya
tert-Butil metil eter (MTBE)	(CH ₃) ₃ COCH ₃	Sigma- Ald., Almanya
Neokuproin	Nc	Sigma- Ald., Almanya
n-Hekzan	C ₆ H ₁₄	Merck, Almanya
Sodyum dihidrojen fosfat	NaH ₂ PO ₄	Sigma-Ald., Fransa)
Potasyum iyodür	KI	Sigma-Ald., Almanya
Potasyum persülfat	K ₂ S ₂ O ₈	Sigma-Ald., Almanya)
Rutin	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	Sigma-Ald., Fransa
Sodyum karbonat	Na ₂ CO ₃	Merck, Almanya
Sodyum klorür	NaCl	Riedel de Haen, Almanya
Sülfürik asit	H ₂ SO ₄	Sigma-Ald., Fransa
Tip 1 ultra saf su	H ₂ O	Direct-Q® Water Purification System (Germany).
Trolox [(±)-6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit]	C ₁₄ H ₁₈ O ₄	Sigma-Ald., Almanya

3.3 Kullanılan Aletler ve Cihazlar

Proje kapsamında yapılan deneysel çalışmalarda kullanılan cihaz ve aparey bilgileri Tablo 3.2’ de verilmiştir. Hekzanlı ve metanollü ekstrelerin kurutulması düşük basınç altında rotavapor kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sulu ekstrenin kurutulması için liyofilizatör kullanılmıştır. Bitkinin toprak üstü yaprak dal ve çiçek kısımlarından uçucu yağ elde etmek için Clevenger apareyi kullanılmıştır. Mikrotiter ve dilüsyon çalışmalarında 8- ve 12- uçlu otomatik pipetörler (Eppendorf) kullanılmıştır. Spektrofotometrik ölçümler için mikropalak okuyucu cihazı kullanılmıştır. Ekstrelerin kimyasal kompozisyon analizi için UV-dedektör donanımlı sıvı kromatografisi sistemi kullanılmıştır. Enzim örneği buzdolabında -80°C’de muhafaza edilmiştir.

Tablo 3.2 Kullanılan Cihaz ve Apareylerin Bilgileri

Cihaz	Cihaz bilgileri
96-Kuyucuklu eliza plakları	Iso Lab, Katalog no: 122.01.096
Buzdolabı	Bosch
Clevenger apareyi	İLDAMCAM, EP’ye uygun
Çeker ocak	Siemens
Karıştırıcı	GFL
Hassas terazi	Mettler Toledo NewClassic MF, Switzerland
İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi	ICP-OES, Perkin Elmer Optical Emission Spectrometer Optima 4300 DV
GC/FID	Agilent 6890N (SEM Ltd, İstanbul, Türkiye)
GC/MSD sistemi	Agilent 5975 (USA; SEM Ltd., İstanbul, Türkiye)
Liyofilizatör (Freeze Dryer)	Labconco Freezone 6 Plus
Manyetik karıştırıcı	Heidolph MR Hei- Standard, Germany
Mikro-plak okuyucu	Bioteck Instruments Inc, Highland Park Winooski, USA
Otomatik pipetör	8- ve 12-kanallı Eppendorf Research plus
pH Metre	WTW grup, InoLab, pH 7,2
Rotavapor sistemi	Heidolph, Laborota 4010-Digital
Santrifüj	Eppendorf 5804
Spektrofotometre	UV-PharmaSpec1700, Shimadzu
Ultrasonik su banyosu	Elma, S100H, Almanya
UV spektrofotometre	SHIMADZU UV-1601, Japonya
Vortex	ISOLAB Laborgeräte GmbH MX-S

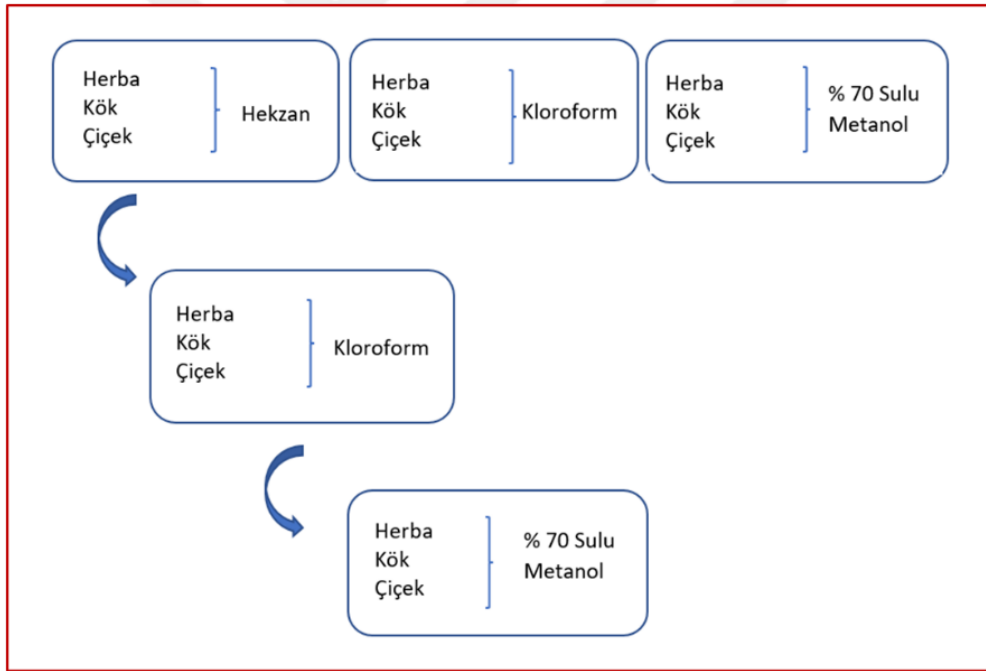
3.4 Ekstraksiyon İşlemleri

3.4.1 Maserasyon

Farklı çalışmalarda kullanmak amacıyla iki farklı şekilde maserasyon işlemi yürütülmüştür. İlk ekstraksiyon işlemi için kurutulmuş bitkinin toprak üstü kısımları kullanılmıştır. Bitkisel materyal uygun boyutlara getirildikten sonra üzerine çözücü konarak masere edilmiştir (2×24 saat). Süre sonunda sıvı ekstreler filtre edilmiştir ve çözücü alçak basınç altında ekstreten uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.1). Çalışmada hekzanlı, kloroformlu ve %70' lik sulu metanollü olmak üzere üç farklı çözücüyle üç ekstre elde edilmiştir:

Şekil 3.1

Aşamalı Ekstraksiyon Şeması



İkinci ekstraksiyon işleminde ise kuru bitkisel materyal herba, çiçek ve kök kısımlarına ayrılarak uygun boyutlara getirilmiştir. Toprak üstü ve kök kısımları farklı polaritelere sahip çözücüler kullanılarak 48 saat, oda sıcaklığında çalkalayıcı (110 rpm) destekli maserasyona tabi tutulmuştur. Bitkinin herba kısmı uygun boyuta getirildikten sonra 3x10 g çalışılmıştır. Her biri ayrı cam balonlara alınarak her bir örnek ayrı ayrı *n*-hekzan, kloroform ve %70'lik metanol ile çalkalayıcıda maserasyona tabii tutulmuştur. Bitkinin

kök ve çiçek kısımları da aynı ekstraksiyon yöntemi uygulanarak ekstrakter elde edilmiştir. 48 saatin bitiminde ekstrakter pileli filtre kâğıdından süzölmüştür.

Süzölen ekstrakter düşük basınç altında 40°C sıcaklıkta rotavaporda yoğunlaştırılmıştır. Topraküstünün *n*-hekzan ile ekstraksiyonundan ve süzme işleminden sonra kalan bitki üzerinde kalan hekzan, azot gazı ile bitki posasından uzaklaştırılmıştır. Çözücüsünden tamamen uzaklaştırılan ekstrakter üzerine kloroform ilave edilerek tekrar 48 saat çalkalayıcıda maserasyona tabi tutulmuştur. Böylelikle aşamalı ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. Aynı işlem *n*-hekzan ile ekstrakter edilen kök ve çiçek kısımlarına da uygulanmıştır. 48 saatin sonunda tekrar süzme işlemi gerçekleştirilmiştir. Kalan bitki posası üzerindeki kloroform benzer şekilde tamamen uzaklaştırıldıktan sonra %70'lik metanol ilave edilerek aynı işlemler tekrarlanmıştır. Ekstrakterin verim hesabı kuru baz üzerinden yapılmıştır. Elde edilen ekstrakter Eppendorf tüplerinde buzdolabında +4°C' de muhafaza edilmiştir.

3.5 Uçucu Yağ Hidrodistilasyonu

A. fumariifolia bitkisinin toprak üstü kısmı uçucu yağ elde etmek için uygun boyuta getirilmiştir. Avrupa Farmakopesine uygun Clevenger apareyiinde hidrodistilasyon işlemine (3 saat) tabi tutulmuştur (Görsel 3.2). Uçucu yağ verimi bitkinin taşıdığı nem miktarı dikkate alınarak hesaplanmıştır (% h/a). Nem miktarı volümetrik yöntemle tayin edilmiştir. Uçucu yağ numunesi amber renkli cam vialde +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Görsel 3.2

A. fumariifolia Bitkisinden Clevenger Apareyi ile Uçucu Yağın Eldesi



3.6 Sabit Yağ Asitleri Mikroekstraksiyonu

Çalışmamızda sabit yağların ekstraksiyonunda Fatty Acids Extraction Kit kullanılmıştır. Bu işlem için *A. fumariifolia* bitkisinin kurutulmuş haldeki toprak üstü ve kök kısımları kullanılmıştır. Deney prosedürüne göre ilk adımda 2,0 g numune tartılıp havanda öğütülmüştür. Numune santrifüj tüpüne alınarak üzerine 3,0 mL kitteki çözücü eklenmiştir ve 10 000 rpm ile homojenizatörde ekstre edilmiştir (3 dk.). Faz ayrımının gerçekleşmesi için 2 dakika bekledikten sonra organik faz pasteur pipeti ile başka tüpe aktarılmıştır. Ekstrenin üzerine 0,5 mL kitteki tampon çözelti ilave edilmiştir. Karışım 1 dk. vortex ile karıştırıldıktan sonra faz ayrımı için 2 dakika beklenmiştir. Faz ayrımı sağlandıktan sonra organik faz pastör pipetle alınarak kitteki kartuş katı fazdan geçirilmiştir. Tüm bu işlemlerin sonunda elde edilen ekstre toplam lipidleri içermektedir. Bu lipidlerin analizi için sabit yağ asitleri transesterifikasyon işlemine tabi tutulmuştur. Bu amaçla, 200 uL'lik alikot alınıp azot gazı altında kurutulmuştur. Kuru numunenin üzerine 1,0 mL boron triflorür (BF_3) %14 metanol çözeltisi ve 0,3 mL *n*-hekzan ilave edilmiştir. Karışım geri çeviren soğutucu altında su banyosunda 95 °C'de 1 saat ısıtılmıştır. Süre sonunda karışımın üzerine 1,0 mL saf su ve *n*-hekzan ilave edilmiştir. Karışım vortex ile karıştırılmıştır. Faz ayrımı için 2 dakika beklendikten sonra organik faz kısmı alınmıştır (Şekil 3.2). Elde edilen yağ asitleri metil esterleri amber vialde buzdolabıda +4°C' de muhafaza edilmiştir. Analiz öncesi numune azot gazı altında yoğunlaştırılmıştır.

Şekil 3.2

Sabit Yağ Asitleri Mikroekstraksiyonu Şematik Gösterimi



3.7 Kromatografik-Spektroskopik Analizler

3.7.1 Vitamin analizi

A. fumariifolia bitkisinin toprak üstü, çiçek ve kök kısımlarının yağda çözünen vitaminler ve karotenoidler içeriği UPC²-PDA sistemiyle analiz edilmiştir. UPC² tekniği, sıvı ve gaz kromatografisi yöntemlerinin olumlu özelliklerini bünyesinde barındıran hibrit ve modern bir tekniktir. Su hariç bütün çözücülerin hareketli faz olarak kullanılabilmesi bu tekniğin avantajlarından. Ayrıca, UPC² tekniğin öne çıkan başlıca özellikleri, çözücü olarak süperkritik CO₂ kullanılması sebebiyle hem maliyet açısından hem de çözücünün toksik olmamasından dolayı çevre dostu bir teknik olmasıdır. Birincil mobil faz olarak ucuz ve toksik olmayan süperkritik akışkan olarak CO₂ kullanan UPC² sistemi, araştırmacılara mobil faz kuvveti, basınç ve sıcaklığı tam olarak değiştirme olanağı sağlar. Basınç ve sıcaklığı değiştirmenin sayesinde sistemin çözme gücü ve seçiciliği de ayarlanarak karışımdaki bileşikleri ayırmak, tespit etmek ve ölçmek için sistem üzerinde daha iyi kontrol sağlanabilir. UPC² analiz şartları Tablo 3.3’ de belirtilmiştir.

Tablo 3.3 UPC² Analiz Şartları

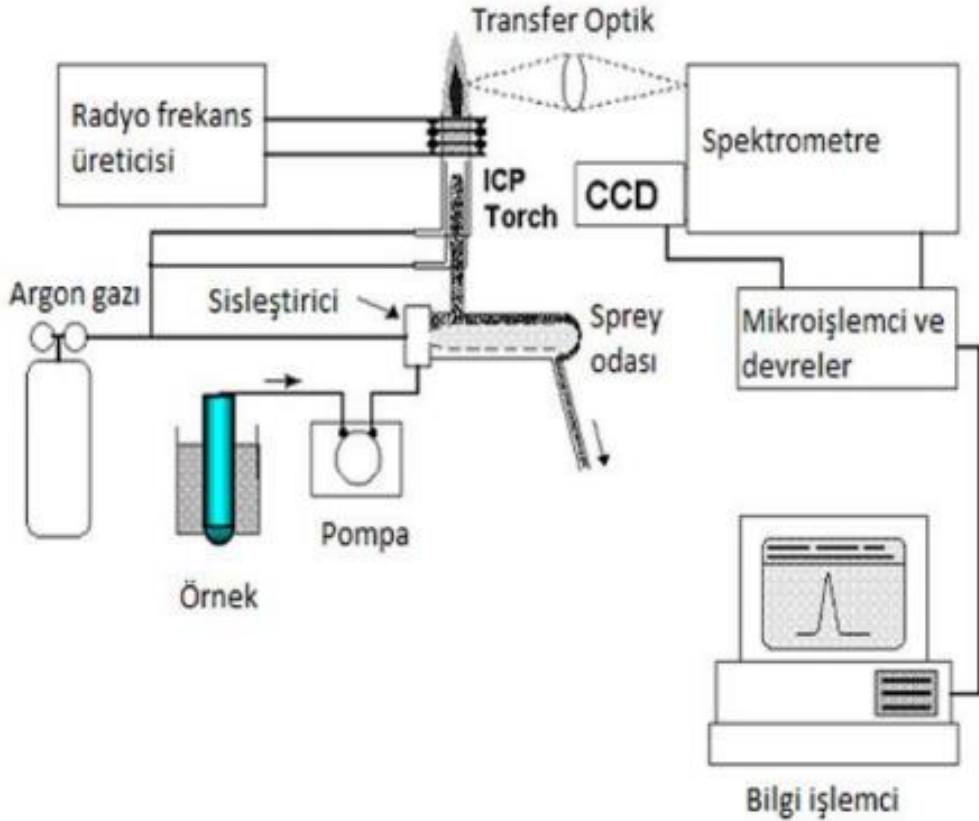
Sistem	ACQUITY UPC ² -PDA Dedektör
Akış hızı	1 mL/dk.
Hareketli faz A	CO ₂
Hareketli faz B	Asetonitril
Kolon	InertSustainSwift C18 (1.9µm 3.0 × 100 mm) GL Sciences, Tokyo,Japan
Geri basınç	2500 psi
Sıcaklık	30°C
Örnek seyreltme	MTBE
Enjeksiyon miktarı	1 µL
Numune kabı	Waters Amber cam şişe 12 × 32 mm vidalı kapak, 2 mL
PDA tarama aralığı	210-600 nm
Veri işleme	Empower 3 yazılımı
Gradyen uygulama	Süre (dk.) % B
	0.0 2
	2.0 2
	2.5 20
	3.5 20
	3.75 2
	4.0 2

3.7.2 Bitkinin Mineral analizi

Bitkinin mineral içeriği İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES) sisteminde analiz edilmiştir (Şekil 3.3). Atomik spektroskopi teknikleri, yani AAS, ICP-OES ve ICP-MS, eser elementlerin analizi için yaygın olarak kullanılmaktadır. İndüktif olarak eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometresinin (ICP-OES) temel prensibi, iyonlardan veya atomlardan üretilen fotonların kendiliğinden yayılmasına ve bu iyonların ve atomların bir radyo frekansı deşarjı ile uyarılmasına bağlıdır (Bakirdere vd., 2011).

ICP analizi için *A. fumariifolia* topraküstü, çiçek ve kök ekstraktları konsantre nitrik asit ile mikrodalgada yakılıp distile su ile seyreltildikten sonra eş zamanlı çoklu element (Zn, Cd, Co, Ni, Fe, Mg, Ca, Cu, Na, K) tespiti ICP-OES sistemi ile gerçekleştirilmiştir. Her element için kalibrasyon eğrileri kullanılmıştır. ICP analizinin sonuçları mg element/g bitki olarak hesaplanmıştır.

Şekil 3.3 ICP-OES Cihazı Şematik Gösterimi



3.8 Ekstrelerin Silil Türevlerinin Hazırlanması

Bitkinin toprak üstü ve kök kısımlarından elde edilen ekstreler, kimyasal bileşimlerini belirlemek için sıvı kromatografisi (LC) ve türevlendirme işlemleri sonrasında gaz kromatografisi (GC) yöntemleri ile analiz edilmiştir. Bitkinin kök ve toprak üstü kısımlarından elde edilen hekzanlı, kloroformlu ve %70 sulu metanollü ekstreleri türevlendirme işlemine tabi tutulmuştur.

Ekstre örneği (2,0 mg) üzerine 70 µL piridin, 70 µL BSTFA (%1 TMCS içerir) sililleme reaktifi ilave edilerek, numuneler 100°C’de kum banyosunda 1 saat ısıtılmıştır. Süre sonunda numunelerin kimyasal kompozisyonları gaz kromatografisi tekniği kullanılarak incelenmiştir. Bu amaçla silillenen numunelerden 1 µL alınarak doğrudan GC- FID ve GC/ MS sistemlerine enjekte edilmiştir.

3.8.1 Gaz kromatografik analiz

3.8.1.1 Uçucu yağ ve uçucu bileşiklerin analizi

Hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağ gaz kromatografisi (GC) yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Bu analiz için, uçucu yağ çözeltisi *n*-hekzan içerisinde %10 (h/h) oranında hazırlanmıştır. Sabit yağ asitlerinin metil esterleri ise, analiz öncesinde azot gazı altında yoğunlaştırılmıştır. Bu amaçla kullanılan GC-FID/MS analiz koşulları Tablo 3.4’ de verilmiştir.

Tablo 3.4

GC-MS/FID Analiz Şartları

Sistem	: Agilent 5975 GC-MSD sistem ve Agilent 6890N GC sistem
Kolon	: HP-Innowax FSC kolon (60 m × 0.25 mm, 0.25 µm film kalınlığı)
Taşıyıcı gaz	: Helyum (0.9 mL/dk.)
GC fırın sıcaklığı	: 10 dk. @ 60°C / 4°C/dk. ile 220°C / 10 dk. @ 220°C / 1°C/dk. ile 240°C. (Toplam 80 dk.)
Enjeksiyon modu	: Split (40:1)
Enjeksiyon sıcaklığı	: 250°C
Spektrum enerjisi	: 70 Ev
Kütle aralığı	: <i>m/z</i> 35 – 450
GC Dedektörü	: FID @ 300°C

3.8.1.2 Sililenen bileşiklerin analizi

Polar ve apolar ekstrelerden elde edilen silil türevlerinin analizleri, Agilent 7890A GC sistemi ve 5975C Inert MSD ve Triple-Axis dedektöründen oluşan bir kromatografik sistem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kromatografik ayırım, HP-5 FSC kolon (30 m × 0,25 mm, 0,25 µm film kalınlığı, Agilent, Walt & Jennings Scientific, Wilmington, DE, USA) ile yapılmış ve taşıyıcı gaz olarak helyum, 0,8 mL/dak akış hızında kullanılmıştır. Fırın sıcaklığı, dakikada 3°C'lik artışlarla 100°C'den 320°C'ye yükseltilmiş ve bu sıcaklıkta 16,67 dakika boyunca sabit tutulmuştur. Enjeksiyon işleminde bölünmesiz (splitless) bir yöntem uygulanmış, enjeksiyon portu sıcaklığı 250°C'ye, FID dedektör sıcaklığı ise 300°C'ye ayarlanmıştır. Kolonda ayrılan bileşiklerin kütle spektrumları, 70eV iyonizasyon enerjisi ve 35-1050 m/z aralığında elde edilmiştir.

Maddelerin tanımlanması, tutunma zamanları ve kütle spektrumlarının standart maddelerle karşılaştırılması ve literatür verileriyle uyumu esas alınarak yapılmıştır. Bu analizlerde Wiley GC/ MS Library (Wiley, New York, NY, USA) ve silil türevleri için oluşturulan “Özek Silil Türev Kütüphanesi” referans olarak kullanılmıştır. Maddelerin miktarları ise, alev iyonlaşma dedektörü (FID) tarafından elde edilen piklerin yüzdelik alanlarına göre hesaplanmıştır.

3.8.2 Sıvı kromatografisi analizi (LC-HRMS)

A. fumariifolia topraküstü ve kök kısımlarından elde edilen %70 sulu metanollü ekstreleri LC- HRMS sisteminde analiz edilmiştir. Sıvı Kromatografi- Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi (LC-HRMS), karışımlardaki bileşiklerin ayrıştırılmasında, nitelik ve niceliklerinin belirlenmesinde kullanılan bir analiz tekniğidir. LC-HRMS sistemleri, yüksek çözünürlüklü ve doğru kütle ölçümleri sayesinde, kompleks matrislerdeki bileşenlerin hassas bir şekilde tespit edilmesine olanak tanır (Wu vd., 2020).

Metoda ait LC ve MS şartları Tablo 3.5 ve Tablo 3.6' te gösterilmiştir.

Tablo 3.5*LC Şartları*

LC Şartları			
Mobil Faz A	%1 Formik Asit – H ₂ O		
Mobil Faz B	%1 Formik Asit – MeOH		
Kolon	Troyasil C18 – 150 × 3 mm 3.5 µm		
Gradient	Zaman	Akış	% B
	0,00	0,35	50
	1,00	0,35	50
	3,00	0,35	100
	6,00	0,35	100
	7,00	0,35	50
	15,00	0,35	50

Tablo 3.6*MS Şartları*

MS Şartları (Kütle Spektrometresi)	
Sistem	Thermo ORBITRAP Q- EXACTIVE
İyon Kaynağı	ESI
Kütle Tarama Aralığı	100 – 900 <i>m/z</i>
Sheath gas flow rate	45
Aux gas akışı	10
Sprey voltage (kV)	3,80
Capillary temp. (°C)	320
S-lens RF level	50,0
Tanımlamalar	İLMER kütüphanesi

3.9 Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.9.1 Antioksidan aktivite

3.9.1.1 DPPH testi

A. fumariifolia bitkisi uçucu yağı ve ekstrahların serbest radikal süpürme potansiyelleri, spektrofotometrik yöntem kullanılarak *in-vitro* şartlarda belirlenmiştir. Bu analizde, metanolde taze hazırlanmış DPPH çözeltisi (%0,008) kullanılmıştır. Çalışma sırasında, 96-kuyucuklu mikropiplara 8 kanallı pipetör (Eppendorf Plus) yardımıyla her birinden

100 µL olacak şekilde numunelerin çözeltileri (uçucu yağ, ekstre ya da standart antioksidan) ve 100 µL DPPH çözeltisi karıştırılmıştır. Deneyde dilüsyon yöntemi uygulanmıştır. Standart antioksidan olarak gallik asit metanollü çözeltisi (0,1 mg/ mL) uygulanmıştır. Karışımlar karanlık bir ortamda 30 dakika inkübe edildikten sonra, 517 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri gerçekleştirilmiş ve numunelerin serbest radikal süpürücü etkileri değerlendirilmiştir. %50' nin üzerinde inhibisyon gösteren numuneler için IC₅₀ değerleri *SigmaPlot* yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır (Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, 1995).

3.9.1.2 CUPRAC testi (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite testi)

Deneyde, 55 µL numune ile 50 µL bakır klorür çözeltisi (1×10^{-2} M), 50 µL 1,0 molar amonyum asetat tamponu (pH 7.0) ve 50 µL neokuproin çözeltisi (7.5×10^{-3} M) karıştırılmıştır. Karışım, oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin ardından absorbans ölçümleri 450 nm dalga boyunda spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir. Aynı deney protokolü, standart antioksidan olarak kullanılan Trolox ile uygulanmış ve bu sayede lineer bir doğru denklemi elde edilmiştir. Bu doğrusal denklemden yararlanılarak, numunelerin Trolox eşdeğerindeki bakır iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi (CUPRAC) değerleri hesaplanmıştır (Apak vd., 2008).

3.9.1.3 TEAC testi (Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasite testi)

Bu yöntemde, ABTS ile K₂S₂O₈ (potasyum persülfat) arasındaki reaksiyon sonucunda mavi-yeşil renkli ABTS^{•+} radikali oluşturulmuştur (Re vd., 1999). ABTS ve K₂S₂O₈ sulu ortamda oda sıcaklığında ve karanlıkta 16 saat bekletilmiştir. Ardından, oluşan ABTS^{•+} çözeltisi, absolü etanol ile absorbans değeri 0,780 olacak şekilde seyreltilmiştir. Deneyde, 96-kuyucuklu mikropalakın her bir kuyucuğa 10 µL numune çözeltisi (uçucu yağ, ekstre veya Trolox) ile 990 µL ABTS çözeltisi eklenmiş ve karışım oda sıcaklığında, karanlık bir ortamda 30 dakika boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası, 12 kanallı otomatik pipetör (Eppendorf) kullanılarak karışımdan 300 µL alınmış ve 96 kuyucuklu mikropalaklara aktarılmıştır. Absorbans değerleri 734 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Standart olarak kullanılan Trolox ile bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve bu eğriye dayalı olarak bir lineer doğru denklemi belirlenmiştir. Bu denklem, numunelerin 30 dakika sonunda gösterdiği Trolox eşdeğeri antioksidan kapasitesinin hesaplanmasında kullanılmıştır.

3.9.2 Antidiyabetik Aktivite Çalışmaları

3.9.2.1 α -Amilaz inhibisyon testi

Elde edilen 3 ekstre ve uçucu yağın α -amilaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri, I₂/KI reaktifi kullanılarak spektrofotometrik yöntemle analiz edilmiştir. Akarboz, bilinen bir α -amilaz enzim inhibitörü (0,8 U/mL, pH 6.9 20 mM sodyum fosfat tamponu içerisinde) olarak referans alınmıştır. Bu yöntemde, α -amilaz inhibe edildiğinde nişasta parçalanmaz ve iyot ile bağlanarak koyu mor-kahverengi bir renk oluşur. Ancak enzim inhibitör bir madde ile engellenmediğinde, nişasta parçalanır ve iyot ile reaksiyona girmez, bu nedenle çözeltinin rengi değişmez.

Deney sırasında, 96-kuyucuklu mikropiğin her bir kuyucuğuna 50,0 μ L numune otomatik pipetör (Eppendorf) yardımıyla eklenmiştir. Deneyde dilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Ardından, her kuyucuğa 50,0 μ L enzim çözeltisi ilave edilmiştir. Kontrol amacıyla hazırlanan blank kuyucuklara 50,0 μ L tampon çözeltisi eklenmiştir. Tüm karışımlar, karanlık bir ortamda 37 °C’de 10 dakika inkübe edilmiştir.

Süre sonunda, karışımlara 50,0 μ L nişasta çözeltisi (%0,05’) eklenmiş ve karanlık ortamda 37 °C’de 10 dakika daha inkübe edilmiştir. Süre sonunda, tüm karışımlara sırasıyla 25 μ L HCl (1 M) çözeltisi ve 100 μ L I₂/ KI reaktifi ilave edilmiştir. Absorbans ölçümleri 630 nm dalga boyunda plak okuyucu ile yapılmıştır. Ölçümler sırasında blank kuyuların absorbans değerleri çıkarılarak numunelerin sonuçları hesaplanmış, kontrol grubu ile karşılaştırılarak % inhibisyon değerleri belirlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Ekstrelerin Özellikleri

Çalışmada iki ayrı ekstraksiyon işlemi yapılmış Bitkinin toprak üstü kısımları kurutulduktan sonra uygun boyutlarda parçalara ayrılmış, maserasyon yöntemiyle *n*-hekzan, kloroform ve %70 sulu metanol çözücülerini kullanılarak 3 ayrı ekstre elde edilmiştir. Her bir maserasyon işlemi sonunda elde edilen ekstrelerin verimi, kuru bitki ağırlığı üzerinden yüzde (% a/ a) olarak hesaplanmıştır. Elde edilen ekstre verimlerine ilişkin detaylar Tablo 4.1’ de gösterilmiştir.

Tablo 4.1

A. fumariifolia Bitkisinin Ekstre Verimleri

Ekstre Tipi	Verim (% (a/a))
Herba Hekzanlı ekstre (H-HE)	1,53
Herba Kloroformlu ekstre (H-KE)	4,32
Herba %70 metanollü ekstre (H-ME)	5,15
Topraküstü hekzan ekstresi (T-HE)	0,42
Çiçek hekzan ekstresi (Ç-HE)	1,40
Kök hekzan ekstresi (K-HE)	0,24
Topraküstü kloroform ekstresi (T-KE)	2,67
Çiçek kloroform ekstresi (Ç-KE)	5,43
Kök kloroform ekstresi (K-KE)	1,26
Topraküstü %70 metanol ekstresi (T-ME)	7,21
Çiçek %70 metanol ekstresi (Ç-ME)	10,16
Kök %70 metanol ekstresi (K-ME)	11,18
Topraküstü hekzandan sonra kloroform ekstresi (T-HKE)	2,28
Çiçek hekzandan sonra kloroform ekstresi (Ç-HKE)	1,29
Kök hekzandan sonra kloroform ekstresi (K-HKE)	0,48
Topraküstü hekzan ve kloroformdan sonra %70 metanol ekstresi (T-HKME)	8,77
Çiçek hekzan ve kloroformdan sonra %70 metanol ekstresi (Ç-HKME)	17,88
Kök hekzan ve kloroformdan sonra %70 metanol ekstresi (K-HKME)	7,84

4.2 Uçucu Yağların Özellikleri

Bitkinin toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon yöntemiyle aromatik kokulu ve mavi renkli bir uçucu yağ elde edilmiştir. Uçucu yağ verimi %0,096 olarak hesaplanmıştır.

4.3 Fitokimyasal Araştırmaların Sonuçları

4.3.1 Vitamin analiz sonuçları

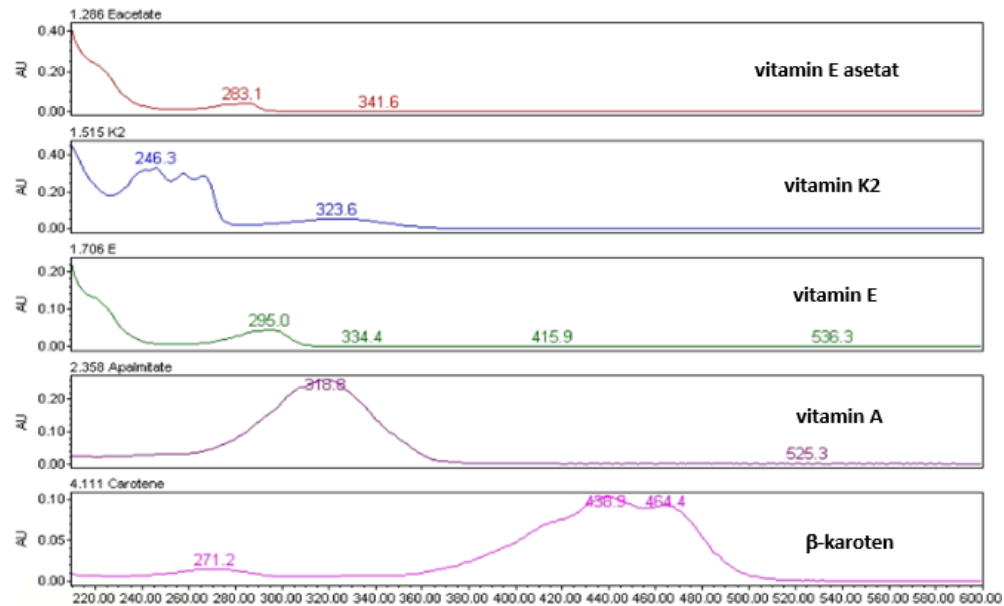
A. fumariifolia bitkisinin yaprak, çiçek ve kök kısımlarının hekzanlı ekstralarında UPC²-PDA sistemiyle yapılan yağda çözünen vitaminler ve karotenoidler bakımından içeriğine dayalı analiz sonuçları Tablo 4.2, Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3’ de belirtilmiştir. Tüm örneklerde seçilen vitaminlerden hiçbirine rastlanmamıştır.

Tablo 4.2 *A. fumariifolia* Analiz Sonuçları
A. fumariifolia UPC²PDA Analiz Sonuçları

mg vit/g bitki	β -karoten	Vitamin K2	Vitamin E	Vitamin E-asetat	Vitamin A-palmitat
Topraküstü (T-HE)	-	-	-	-	-
Çiçek (Ç-HE)	-	-	-	-	-
Kök (K-HE)	-	-	-	-	-

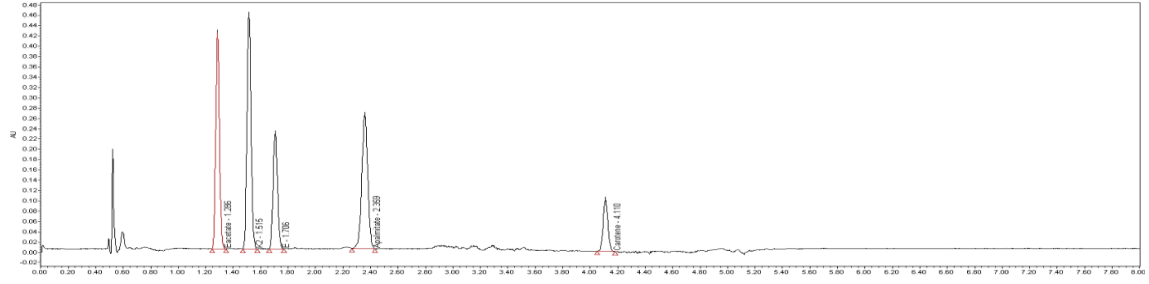
Şekil 4.1

Standart Maddelere ait UV-Görünür bölge Absorpsiyon Spektrumları



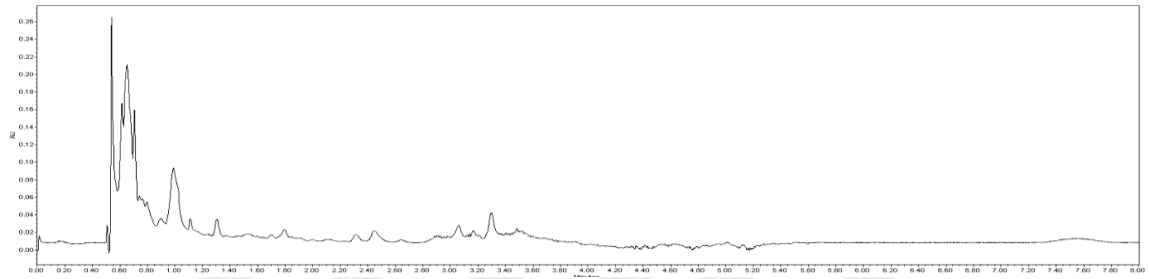
Şekil 4.2

Standart Madde Kromatogramı



Şekil 4.3

A. fumariifolia Topraküstü - Hekzan Ekstresi UPC²-PDA Kromatogramı



4.3.2 Mineral analiz sonuçları

A. fumariifolia bitkisinin yaprak, çiçek ve kök hekzanlı ekstraktları üzerinde yapılan ICP-OES analizinde çıkan mineral analiz sonuçları aşağıdaki Tablo 4.3’ te verilmiştir. Sonuçlar mg/g cinsinden ifade edilmiştir.

Tablo 4.3

A. fumariifolia ICP- OES Analiz Sonuçları

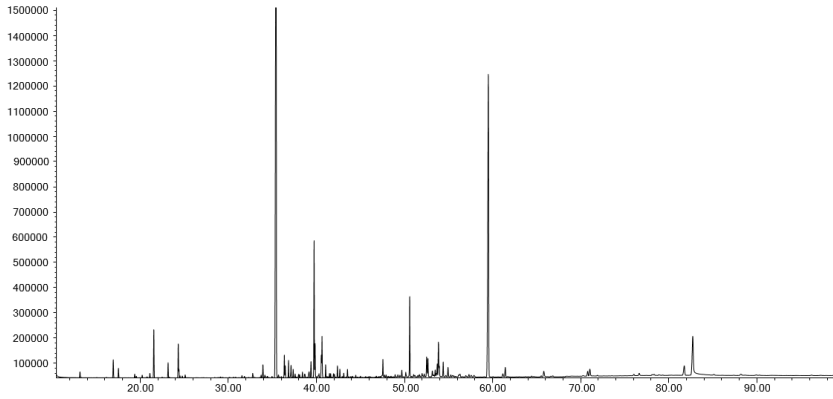
ÖRNEK	Zn	Cd	Co	Ni	Fe	Mg	Ca	Cu	Na	K
Topraküstü (T-HE)	-	-	-	-	-	2,0	2,5	-	4,9	18,5
Kök (K-HE)	-	-	-	-	-	0,7	1,7	-	2,9	19,9
Çiçek (Ç-HE)	-	-	-	-	-	2,1	3,7	-	5,9	18,9

4.3.3 Uçucu yağların analiz sonuçları

A. fumariifolia uçucu yağının GC-FID/MS sistemiyle incelenen fitokimyasal profili ile ilgili bilgiler Şekil 4.4 ve Tablo 4.4’ te belirtilmiştir.

Şekil 4.4

A. fumariifolia Uçucu Yağının GC-FID/MS Kromatogramı



Tablo 4.4

A. fumariifolia Uçucu Yağının GC-FID/MS Analizi Sonucu

No	BTİ	Bileşik	%
1	1032	α -Pinen	0,3
2	1035	α -Tuyen	e
3	1076	Kamfen	e
4	1100	Undekan	e
5	1118	β -Pinen	0,9
6	1132	Sabinen	0,5
7	1174	Mirsen	0,2
8	1176	α -Fellandren	0,1
9	1188	α -Terpinen	0,1
10	1199	İzoamil izobutirat	e
11	1202	2-Metil butil izobutirat	e
12	1203	Limonen	0,2
13	1213	1,8-Sineol	2,3
14	1244	Amil furan	e
15	1249	1-Dodeken	e
16	1255	γ -Terpinen	0,7
17	1266	(E)- β -Osimen	e
18	1280	p-Simen	1,6
19	1285	İzoamil izovalerat	0,3
20	1287	Amil izovalerat	0,1
21	1290	Terpinolen	0,1
22	1299	2-Metil butil izovalerat	0,1
23	1479	δ -Elemen	e
24	1497	α -Kopaen	0,3

[Tablo 4.4 (Devam) *A. fumariifolia* Uçucu Yağının GC-FID/MS Analizi Sonucu]

No	BTİ	Bileşik	%
25	1528	α -Burbonen	0,1
26	1532	Kafur	0,6
27	1547	Oktil izobutirat	e
28	1553	Linalol	0,1
29	1554	1-Nonen-3-ol	0,1
30	1556	<i>cis</i> -Sabinen hidrat	0,1
31	1571	<i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol	0,1
32	1582	<i>trans</i>-Krizantenil asetat	20,5
33	1586	Pinokarvon	0,2
34	1590	Bornil asetat	e
35	1598	α -Elemen	0,1
36	1611	Terpinen-4-ol	1,0
37	1612	α -Karyofillen	0,5
38	1634	Oktil-2-metil butirat	0,7
39	1641	<i>cis</i> - α -Terpineol	0,6
40	1648	Mirtenal	0,2
41	1654	Oktil izovalerat	0,3
42	1668	(<i>Z</i>)- α -Farnesen	0,2
43	1670	<i>trans</i> -Pinokarveol	0,1
44	1676	Desil asetat	0,2
45	1683	<i>trans</i> -Verbenol	0,1
46	1687	α -Humulen	0,1
47	1706	α -Terpineol	0,1
48	1711	α -Terpineol	0,3
49	1719	Borneol	0,8
50	1722	2-İzopropiliden-1-(2-hidroksietil)-1-metilsiklo butan[#]	6,2
51	1726	Germakren D	1,5
52	1755	Bisiklogermakren	1,0
53	1764	<i>cis</i> -Krizantenol	1,9
54	1761	δ -Kadinen	0,5
55	1800	α -İzogeraniol	0,2
56	1802	Kuminaldehit	0,2
57	1811	Fragranol	0,5
58	1824	Desil 2-metil butanoat	0,3
59	1838	(<i>E</i>)- α -Damassenon	e
60	1849	İzovalerik asit desil ester	0,2

[Tablo 4.4 (Devam) *A. fumariifolia* Uçucu Yağının GC-FID/MS Analizi Sonucu]

No	BTİ	Bileşik	%
61	1871	Neril izovalerat	0,4
62	1882	Fragranil 2-metil butirat	e
63	1893	Geranil izovalerat	e
64	1897	1-Dodekanol	0,1
65	1904	Geranil 2-metil butirat	0,1
66	1916	İzobutil fenil asetat	e
67	1933	Neril valerat	0,1
68	1984	α -Kalakoren-II	e
69	1988	2-Feniletil-2-metil butirat	e
70	1990	e-Kuprenen	e
71	1992	2-Feniletil izovalerat	e
72	2008	Karyofillen oksit	0,7
73	2037	Salvial-4(14)-en-1-on	e
74	2041	Pentadekanal	0,1
75	2045	Humulen epoksit-I	e
76	2057	Oktanoik asit (=Kaprilik asit)	0,1
77	2071	Humulen epoksit-II	0,1
78	2088	1- <i>epi</i> -Kubenol	0,1
79	2098	Globulol	0,1
80	2104	Viridiflorol	0,3
81	2131	Hekzahidrofarnesil aseton	0,2
82	2144	Spatulenol	3,7
83	2153	Nonanoik asit (=Pelargonik asit)	0,1
84	2161	Murol α -4,10(14)dien-1-ol	0,1
85	2179	3,4-Dimetil-5-pentiliden-2(5H)-furanon	0,1
86	2187	T-Kadinol	0,1
87	2198	Eremoligenol	0,2
88	2201	α -Guayol	0,1
89	2216	Geranil- α -terpinen	1,2
90	2232	α -Bisabolol	0,9
91	2247	<i>trans</i> - α -Bergamatol	0,3
92	2255	α -Kadinol	e
93	2257	α -Ödesmol	0,3
94	2264	Torilenol	e
95	2279	(<i>Z</i>)- α -Kurkumen-12-ol [#]	0,1
96	2288	Dekanoik asit (=Kaprik asit; Desilik asit)	1,9

[Tablo 4.4 (Devam) *A. fumariifolia* Uçucu Yağının GC-FID/MS Analizi Sonucu]

No	BTİ	Bileşik	%
97	2289	Alismol	0,5
98	2291	1,4-Dimetil azulen	0,1
99	2300	Trikosan	0,7
100	2315	9-Geranil- <i>p</i> -simen	0,5
101	2360	Trimetil naftalen ^D	0,1
102	2392	Karyofillenol-II (=Karyofilla-2(12),6-dien-5 β -ol)	0,2
103	2402	Ödesma-4(15),7-dien-1- α -ol	0,2
104	2430	Kamazulen	27,2
105	2500	Pentakosan	0,7
106	2503	Dodekanoik asit (=Laurik asit)	0,2
107	2522	1-Oktadekanol	0,1
108	2533	α -Kostol	0,1
109	2622	Fitol	0,1
110	2700	Heptakosan	0,4
111	2219	Tetradekanoik asit (=Miristik asit)	0,6
112	2900	Nonakosan	1,1
113	2931	Hekzadekanoik asit (=Palmitik asit)	5,4
Toplam			88,6

BTİ: Bağlı Tutunma İndisi polar kolon için hesaplanmıştır.

%: FID kromatogramından hesaplanmıştır.

E: Eser (< % 0,1)

#: Wiley-NIST kütüphane spektrum benzerliğinden tanımlanmıştır.

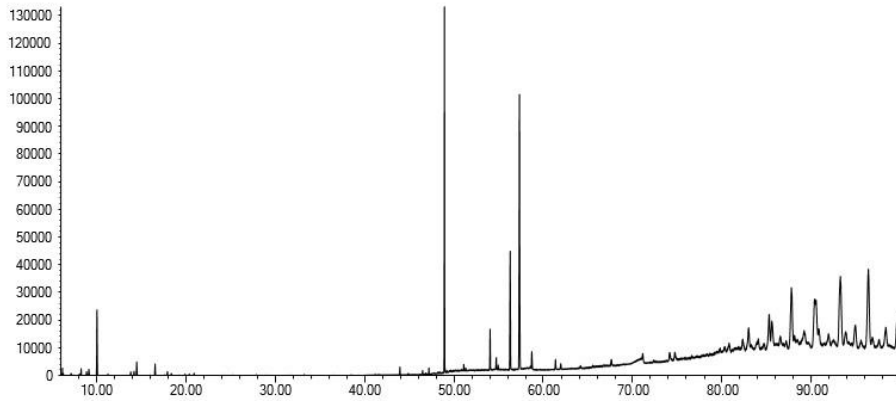
D: Doğru izomer tanımlanamamıştır.

4.3.4 Sabit yağ asitlerinin analiz sonuçları

A. fumariifolia bitkisi toprak üstü ve kök kısımlarından, yağ asiti ekstraksiyon kiti kullanılarak elde edilen metillenmiş sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonu GC/FID ve GC/MS ve teknikleriyle belirlenen kromatogramları (Şekil 4.5 ve Şekil 4.6) ve kompozisyonları (Tablo 4.5) aşağıda gösterilmiştir.

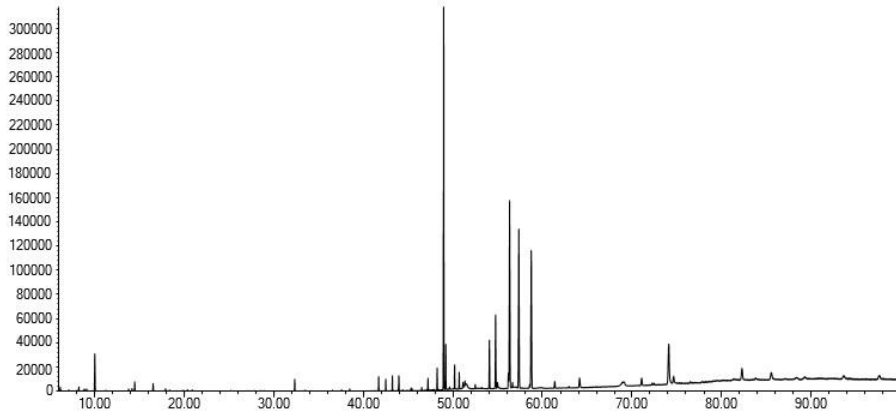
Şekil 4.5

A. fumariifolia Topraküstü - Yağ Asidi Metil Esterleri GC-FID/MS Kromatogramı



Şekil 4.6

A. fumariifolia Kök - Yağ Asidi Metil Esterleri GC-FID/MS Kromatogramı



Tablo 4.5

A. fumariifolia Topraküstü - Yağ Asidi Metil Esterleri GC-FID/MS Analiz Sonucu

No	BTİ	Bileşik	%
1	1602	Dekanoik asit metil ester (=M. kaprat); (10:0)	0,7
2	2016	Tetradekanoik asit metil ester (=M. miristat); (14:0)	1,0
3	2095	Pentadekanoik asit metil ester (=M. pentadekanoat); (15:0)	0,2
4	2223	Hekzadekanoik asit metil ester (=M. palmitat); (16:0)	28,0
5	2245	(Z)-9-Hekzadekenoik asit metil ester (=M. palmitoleat); (16:1); ω-7	1,4
6	2308	Hepadekanoik asit metil ester (=M. margarat); 17:0)	0,2
7	2436	Oktadekanoik asit metil ester (=M. stearat); (18:0)	4,1
8	2468	(Z)-9-Oktadekenoik asit metil ester (=M. oleat); (18:1); ω-9	6,5

[Tablo 4.5 (Devam) *A. fumariifolia* Topraküstü - Yağ Asidi Metil Esterleri GC/FID/MS Analiz Sonucu]

No	BTİ	Bileşik	%
9	2469	(E)-9-Oktadekenoik asit metil ester (=M. elaidat); (18:1); ω-9	0,6
10	2509	(Z,Z)-9,12-Oktadekadienoik asit metil ester (=M. linoleat); (18:2); ω-6	18,6
11	2542	Nonadekanoik asit metil ester (=M. nonadekanoat); (19:0)	16,9
12	2562	Nonadekanoik asit etil ester (=E. nonadekanoat); (19:0)	0,4
13	2572	(Z,Z,Z)-9,12,15-Oktadekatrienoik asit metil ester (=a-Linolenik asit metil ester); (=Metil linolenat); (18:3); ω-3	16,6
14	2642	Eikosanoik asit metil ester (=M. araşidat); (20:0)	0,8
15	2843	Dokosanoik asit metil ester (=M. behenat); (22:0)	1,5
16	3050	Tetrakosanoik asit metil ester (=M. lignoserat); (24:0)	2,5
Toplam			100,0
Toplam ω-3			16,6
Toplam ω-6			18,6
Toplam ω-7			1,4
Toplam ω-9			7,1
Toplam doymamış yağ asidi			43,7

BTİ: Bağlı Tutunma İndisi polar kolon için hesaplanmıştır.

Tablo 4.6

A. fumariifolia Kök - Yağ Asidi Metil Esterleri GC/MS Analiz Sonucu

No	BTİ	Bileşik	%
1	2016	Tetradekanoik asit metil ester (=M. miristat); (14:0)	0,6
2	2095	Pentadekanoik asit metil ester (=M. pentadekanoat); (15:0)	0,3
3	2223	Hekzadekanoik asit metil ester (=M. palmitat); (16:0)	33,0
4	2436	Oktadekanoik asit metil ester (=M. stearat); (18:0)	4,4
5	2468	(Z)-9-Oktadekenoik asit metil ester (=M. oleat); (18:1); ω-9	1,2
6	2469	(E)-9-Oktadekenoik asit metil ester (=M. elaidat); (18:1); ω-9	0,4
7	2509	(Z,Z)-9,12-Oktadekadienoik asit metil ester (=M. linoleat); (18:2); ω-6	15,0
8	2542	Nonadekanoik asit metil ester (=M. nonadekanoat); (19:0)	39,8
9	2572	(Z,Z,Z)-9,12,15-Oktadekatrienoik asit metil ester (=a-Linolenik asit metil ester); (=Metil linolenat); (18:3); ω-3	2,4
10	2642	Eikosanoik asit metil ester (=M. araşidat); (20:0)	1,3
11	2843	Dokosanoik asit metil ester (=M. behenat); (22:0)	1,6
Toplam			100,0

[Tablo 4.6 (Devam) *A. fumariifolia* Kök - Yağ Asidi Metil Esterleri GC/MS Analiz Sonucu]

Toplam ω-3	2,4
Toplam ω-6	15,0
Toplam ω-9	1,6
Toplam doymamış yağ asidi	19,0

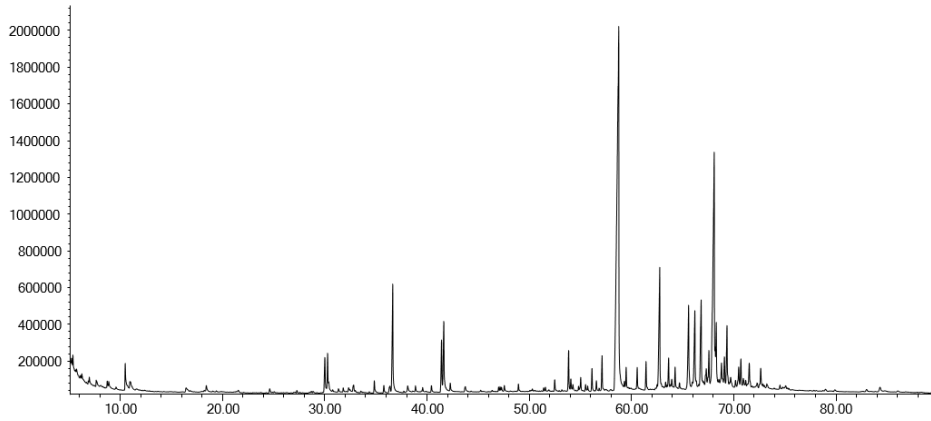
BTİ: Bağlı Tutunma İndisi polar kolon için hesaplanmıştır.

4.3.5 Silillenen bileşiklerin analiz sonuçları

A. fumariifolia bitkisine ait çeşitli çözücülerdeki ekstralarının türevlendirme işlemi gerçekleştirilmiştir. GC-MS sonucunda elde edilen veriler aşağıda gösterilmiştir.

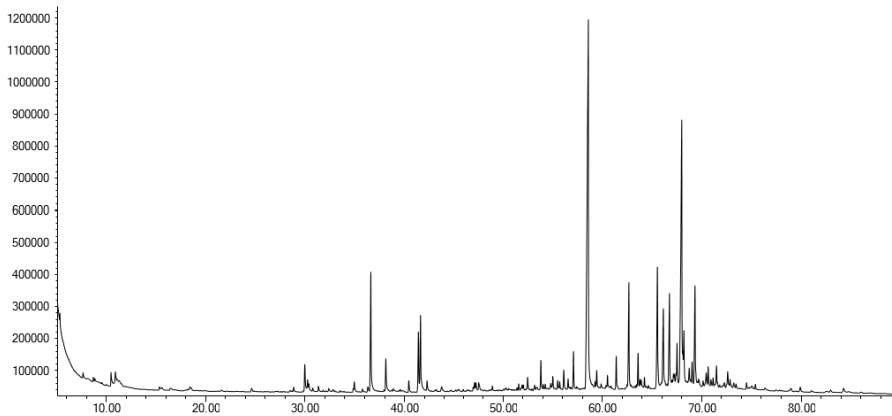
Şekil 4.7

A. fumariifolia Topraküstü - Hekzan Ekstresi (T-HE) Türevlendirme GC-FID/MS Kromatogramı



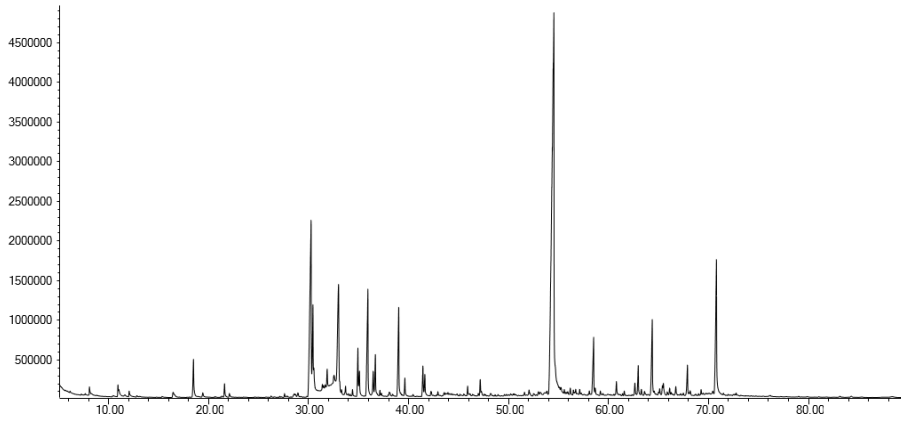
Şekil 4.6

A. fumariifolia Topraküstü - Hekzan Sonrası Kloroform Ekstresi (T-HKE) Türevlendirme GC-FID/MS Kromatogramı



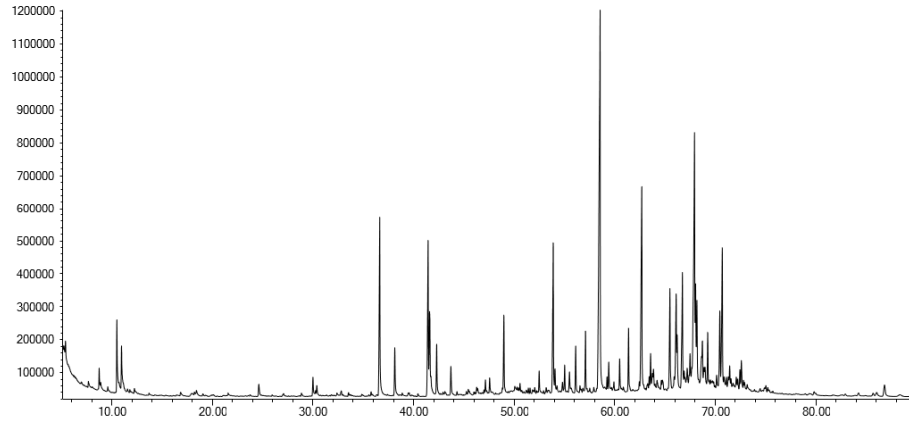
Şekil 4.7

A. fumariifolia Topraküstü - Hekzan ve Kloroform Sonrası Metanol Ekstresi (T-HKME) Türevlendirme GC-FID/MS Kromatogramı



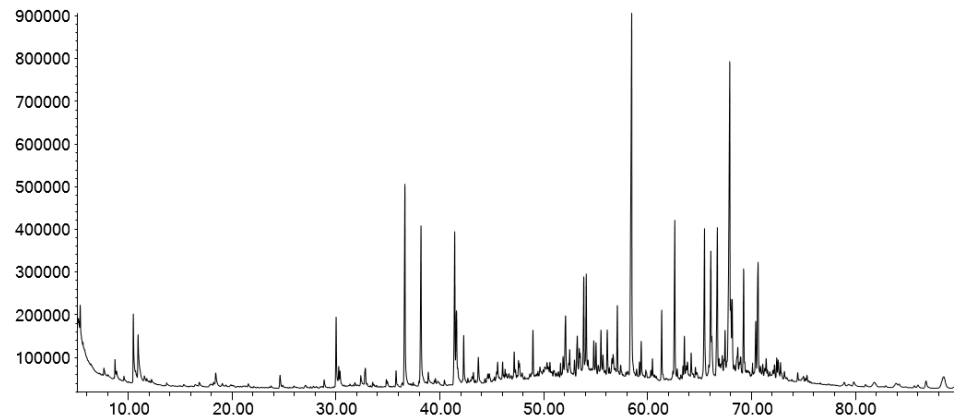
Şekil 4.8

A. fumariifolia Çiçek - Hekzan Ekstresi (Ç-HE) Türevlendirme GC-FID/MS Kromatogramı



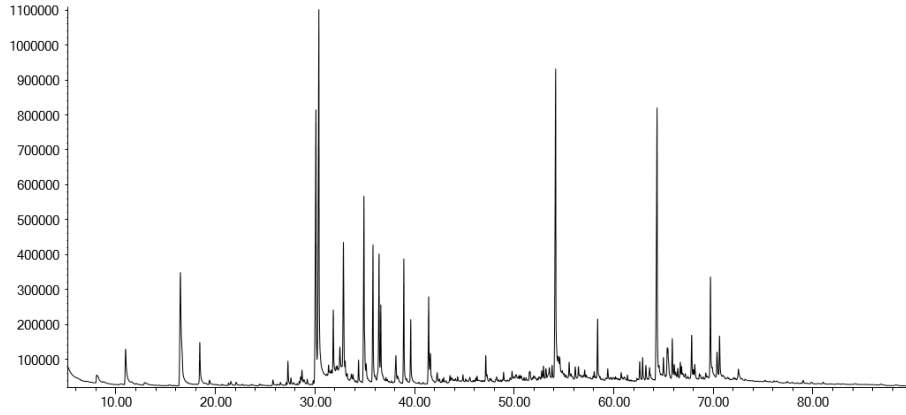
Şekil 4.9

A. fumariifolia Çiçek - Hekzan Sonrası Kloroform Ekstresi (Ç-HKE) Türevlendirme GC-FID/MS Kromatogramı



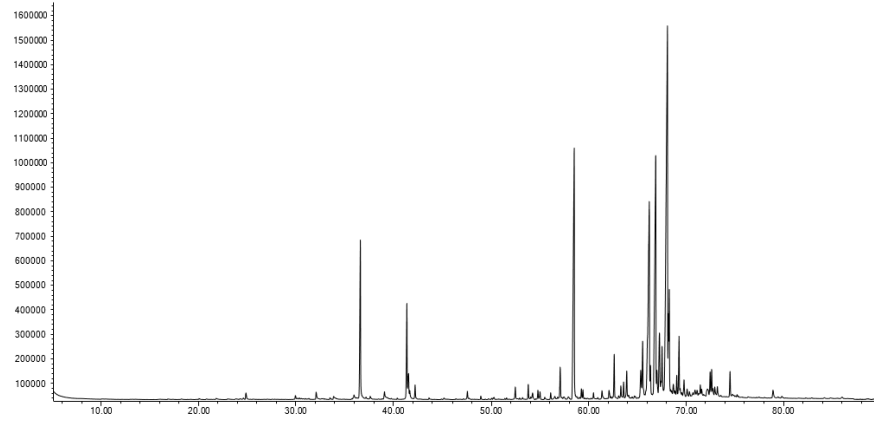
Şekil 4.10

A. fumariifolia Çiçek - Hekzan ve Kloroform Sonrası %70 Metanol Ekstresi (Ç-HKME) Türevlendirme GC-FID/MS Kromatogramı



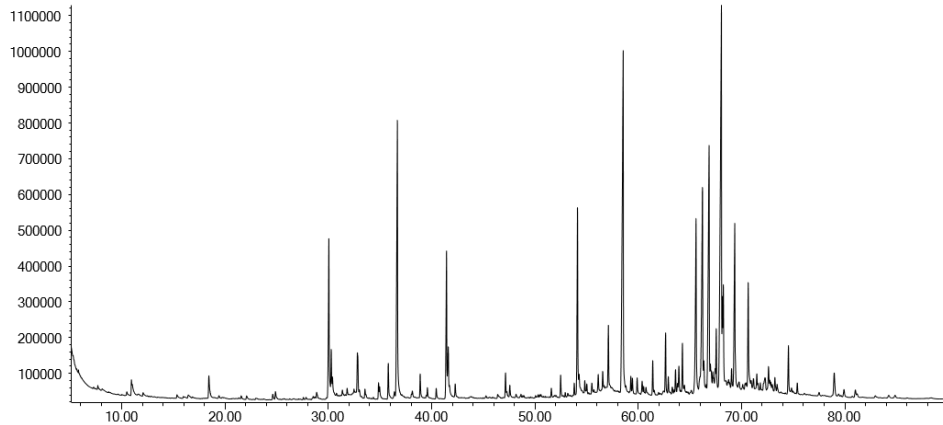
Şekil 4.11

A. fumariifolia Kök - Hekzan Ekstresi (K-HE) Türevlendirme GC-FID/MS Kromatogramı



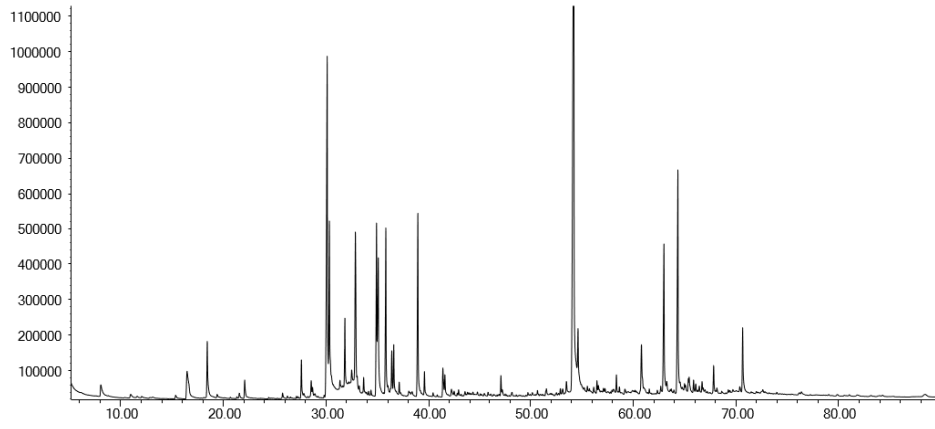
Şekil 4.12

A. fumariifolia Kök Hekzan Sonrası Kloroform Ekstresi (K-HKE) Türevlendirme GC-FID/MS Kromatogramı



Şekil 4.13

A. fumariifolia Kök – Hekzan ve Kloroform Sonrası %70 Metanol Ekstresi (K-HKME) Türevlendirme GC-FID/MS Kromatogramı



Tablo 4.7

A. fumariifolia Topraküstü - Hekzan Ekstresi (T-HE) Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu

No	BTİ	Bileşik*	%
1	1267	Tanımlanamayan	0,9
2	1281	Gliserol - 3 TMS	0,1
3	1506	Malik asit-3TMS	0,3
4	1679	Tanımlanamayan	0,2
5	1840	D-Psikofuranoz, pentakis(trimetilsilil) eter (izomer 1)	1,3
6	1849	D-Psikofuranoz, pentakis(trimetilsilil) eter (izomer 2)	1,0
7	1852	Tanımlanamayan	0,2
8	1879	Tanımlanamayan	0,1
9	1898	Kuinik asit - 5TMS	0,1
10	1910	Tanımlanamayan	0,1
11	1926	Tanımlanamayan	0,1
12	1929	α -Glukopiranoz - 5TMS	0,2
13	1990	muco-Inositol – 6TMS	0,3
14	2023	β -Glukopiranoz - 5TMS	0,2
15	2039	Tanımlanamayan	0,1
16	2046	Glukonik asit - 6TMS	0,2
17	2049	Hekzadekanoik asit (=Palmitik asit) - TMS	4,4
18	2099	Tanımlanamayan	0,2
19	2127	myo-Inositol - 6TMS	0,2
20	2179	Fitol - TMS	0,1

[Tablo 4.7 (Devam) *A. fumariifolia* Topraküstü - Hekzan Ekstresi (T-HE) Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu]

No	BTİ	Bileşik*	%
21	2179	Tanımlanamayan	0,2
22	2217	(Z,Z)-9,12-Oktadekadienoik asit (=Linoleik asit) - TMS	1,9
23	2221	(Z)-9-Oktadekenoik asit (=Oleik asit) - TMS	3,0
24	2250	Oktadekanoik asit (=Stearik asit) - TMS	0,2
25	2300	Trikosan	0,3
26	2421	Tanımlanamayan	0,1
27	2425	Tanımlanamayan	0,1
28	2432	Tanımlanamayan	0,1
29	2440	Tanımlanamayan	0,1
30	2500	Pentakosan	0,2
31	2600	Hekzakosan	0,1
32	2604	Tanımlanamayan	0,1
33	2646	Dokosanoik asit (=Behenik asit) - TMS	0,3
34	2700	Heptakosan	1,3
35	2704	Tanımlanamayan	0,3
36	2717	Tanımlanamayan	0,2
37	2739	Trikosanoik asit (=Trikosilik asit) - TMS	0,1
38	2748	1-Tetrakosanol - TMS	0,3
39	2769	Tanımlanamayan	0,2
40	2778	cis-11,12-Epoksitetradekan-5-yin-1-yil t-tert-butildimetilsilil eter [#]	0,1
41	2800	Oktakosan	0,7
42	2813	Tanımlanamayan	0,3
43	2826	Tanımlanamayan	0,1
44	2844	Tetrakosanoik asit (=Lignoserik asit) - TMS	1,0
45	2900	Nonakosan	34,4
46	2939	Tanımlanamayan	0,2
47	2953	1-Hekzakosanol (=Seril alkol) - TMS	0,6
48	3000	Triakontan	0,6
49	3042	Hekzakosanoik asit (=Serotik asit) - TMS	0,7
50	3100	Hentriakontan	5,3
51	3149	1-Oktakosanol (=Stearil alkol) - TMS	0,8
52	3184	crypto-Klorojenik asit - 6TMS	0,6
53	3200	Dotriakontan	0,2
54	3244	Oktakosanoik asit (=Montanik asit) - TMS	3,8
55	3275	Kampesterol-TMS	3,0

[**Tablo 4.7 (Devam)** *A. fumariifolia* Topraküstü - Hekzan Ekstresi (T-HE) Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu]

No	BTİ	Bileşik*	%
56	3305	Stigmasterol- T MS	3,7
57	3331	Tanımlanamayan	0,4
58	3347	1-Triakontanol (=Triakontoksi) - TMS	1,0
59	3368	β-Sitosterol - TMS	14,5
60	3380	Avenasterol (=Fukosterol; 5 α -Stigmasta-3 α -ol) - TMS	1,6
61	3410	α -Amirin - TMS	0,5
62	3431	Sikloartenol - TMS	0,8
63	3442	Triakontanoik asit (=Melissik asit) - TMS	2,0
64	3458	Tanımlanamayan	0,2
65	3485	Tanımlanamayan	0,2
66	3502	Lupeol izomeri – TMS [#]	0,6
67	3513	Lupeol izomeri - TMS [#]	0,9
68	3524	Tanımlanamayan	0,3
69	3541	Tanımlanamayan	0,2
70	3557	Tanımlanamayan	0,7
71	3619	Tanımlanamayan	0,6
Toplam			100,0

BTİ: Bağlı Tutunma İndisi

*: $\geq$ % 0,1

[#]: Wiley/NIST kütüphanesi spektrum benzerliğinden tanımlanmıştır.

Tablo 4.8

A. fumariifolia Topraküstü - Hekzan Sonrası Kloroform Ekstresi (T-HKE) Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu

No	BTİ	Bileşik*	%
1	1840	Neofitadien	1,3
2	1843	α -Fruktofuranoz - 5TMS	0,2
3	2049	Hekzadekanoik asit (=Palmitik asit) - TMS	5,7
4	2099	Tanımlanamayan	1,5
5	2179	Fitol - TMS	0,5
6	2217	(Z,Z)-9,12-Oktadekadienoik asit (=Linoleik asit) - TMS	2,5
7	2219	(Z,Z,Z)-9,12,15-Oktadekatrienoik asit (=a-Linolenik asit) - TMS	3,5
8	2250	Oktadekanoik asit (=Stearik asit) - TMS	0,4
9	2800	Oktakosan	0,7

[Tablo 4.8 (Devam)] *A. fumariifolia* Topraküstü - Hekzan Sonrası Kloroform Ekstresi (T-HKE)
Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu

No	BTİ	Bileşik*	%
10	2844	Tetrakosanoik asit (=Lignoserik asit) - TMS	1,3
11	2900	Nonakosan	30,3
12	2953	1-Hekzakosanol (=Seril alkol) -TMS	0,7
13	3000	Triakontan	0,4
14	3100	Hentriakontan	4,7
15	3149	1-Oktakosanol (=Stearil alkol) - TMS	1,3
16	3244	Oktakosanoik asit (=Montanik asit) - TMS	6,2
17	3275	Kampesterol-TMS	3,6
18	3305	Stigmasterol - TMS	4,4
19	3347	1-Triakontanol (=Triakontoksi) - TMS	1,5
20	3368	β-Sitosterol - TMS	17,9
21	3380	Avenasterol (=Fukosterol; 5 α -Stigmasta-3 β -ol) - TMS	2,1
22	3410	α -Amirin - TMS	0,6
23	3431	Sikloartenol - TMS	0,9
24	3442	Triakontanoik asit (=Melissik asit) - TMS	4,5
25	3507	Lupeol izomeri – TMS [#]	0,7
26	3557	Tanımlanamayan	0,7
27	3619	Oktadek-9-en-1-al dimetil asetal [#]	0,6
Toplam			98,7

BTİ: Bağlı Tutunma İndisi

*: $\geq$ % 0,1

#: Wiley/NIST kütüphanesi spektrum benzerliğinden tanımlanmıştır.

Tablo 4.9

A. fumariifolia Topraküstü - Hekzan ve Kloroform Sonrası Metanol Ekstresi (T-HKME) Türevlendirme
GC-FID/MS Kompozisyonu

No	BTİ	Bileşik*	%
1	1281	Gliserol - 3TMS	0,7
2	1320	Butandioik asit (=Suksinik asit) - 2TMS	0,3
3	1446	Tanımlanamayan	0,4
4	1506	Malik asit - 3TMS	1,5

[Tablo 4.9 (Devam) *A. fumariifolia* Topraküstü - Hekzan ve Kloroform Sonrası Metanol Ekstresi (T-HKME) Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu]

No	BTİ	Bileşik*	%
5	1532	Piroglutamik asit - 2TMS	0,2
6	1594	Tanımlanamayan	0,5
7	1726	Ribitol - 5TMS	0,1
8	1753	Ksilitol - 5TMS	0,1
9	1800	Ribonik asit - 5TMS	0,1
10	1809	α -Metilfuranosit - 4TMS	0,2
11	1843	α-Fruktofuranoz - 5TMS	10,6
12	1850	Fruktoz - 5TMS	3,0
13	1852	β -Fruktofuranoz - 5TMS	0,7
14	1885	α -Glukofuranoz - 5TMS	0,1
15	1886	Psikopiranoz - 5TMS	0,1
16	1898	Kuinik asit - 5TMS	0,5
17	1917	Glukonolakton - 4TMS	0,3
18	1929	α-Glukopiranoz - 5TMS	5,8
19	1942	β -Mannopiranoz - 5TMS	0,1
20	1955	Tanımlanamayan	0,2
21	1971	Mannitol - 6 TMS	0,1
22	1980	Sorbitol - 6TMS	0,1
23	1993	<i>chiro</i> -İnositol - TMS	1,4
24	2000	6,7-Dihidroksi-1-okzotetrahidronaftalen-bis(O-trimetilsilil) [#]	0,9
25	2023	β -Glukopiranoz - 5TMS	4,8
26	2046	Glukonik asit - 6TMS	0,8
27	2049	Hekzadekanoik asit (=Palmitik asit) - TMS	1,5
28	2066	<i>scyllo</i> -İnositol - 6TMS	0,1
29	2099	Tanımlanamayan	0,1
30	2127	<i>myo</i> -İnositol - 6TMS	3,5
31	2151	(<i>E</i>)-Kafeik asit - 3TMS	0,5
32	2179	Fitol - TMS	0,1
33	2217	(<i>Z,Z</i>)-9,12-Oktadekadienoik asit (=Linoleik asit) - TMS	1,0
34	2221	(<i>Z</i>)-9-Oktadekanoik asit (=Oleik asit) - TMS	0,6

[**Tablo 4.9 (Devam)** *A. fumariifolia* Topraküstü - Hekzan ve Kloroform Sonrası Metanol Ekstresi (T-HKME) Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu]

No	BTİ	Bileşik*	%
35	2250	Oktadekanoik asit (=Stearik asit) - TMS	0,2
36	2379	Tanımlanamayan	0,2
37	2429	Tanımlanamayan	0,5
38	2471	Uridin - 3TMS	0,1
39	2500	Pentakosan	0,1
40	2608	Monopalmitin - 2TMS	0,1
41	2620	Tanımlanamayan	0,1
42	2646	Dokosanoik asit (=Behenik asit) - TMS	0,1
43	2662	Tanımlanamayan	0,1
44	2700	Heptakosan	0,1
45	2713	Sukroz - 8TMS	37,3
46	2756	Tanımlanamayan	0,1
47	2774	Tanımlanamayan	0,1
48	2804	1-Monostearin - 2TMS	0,2
49	2817	Trehaloz - 8TMS	0,1
50	2822	Tanımlanamayan	0,1
51	2840	Tanımlanamayan	0,1
52	2900	Nonakosan	2,2
53	2935	Tanımlanamayan	0,1
54	3009	Tanımlanamayan	0,5
55	3047	Tanımlanamayan	0,1
56	3100	Hentriakontan	0,4
57	3109	Eskulin izomeri - TMS [#]	1,0
58	3149	1-Oktakosanol (=Stearil alkol) - TMS	0,1
59	3184	crypto-Klorojenik asit - 6TMS	3,1
60	3194	Tanımlanamayan	0,1
61	3219	Turanoz - 7TMS [#]	0,2
62	3244	Oktakosanoik asit (=Montanik asit) - TMS	0,3
63	3275	Kampesterol-TMS	0,2
64	3305	Stigmasterol - TMS	0,2

[Tablo 4.9 (Devam) *A. fumariifolia* Topraküstü - Hekzan ve Kloroform Sonrası Metanol Ekstresi (T-HKME) Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu]

No	BTİ	Bileşik*	%
65	3368	β -Sitosterol - TMS	1,0
66	3373	Tanımlanamayan	0,2
67	3431	Sikloartenol - TMS	0,1
68	3496	Tanımlanamayan	0,1
69	3507	Rafinoz - 11TMS	6,5
Toplam			97,0

BTİ: Bağlı Tutunma İndisi

*: $\geq$ % 0,1

#: Wiley/NIST kütüphanesi spektrum benzerliğinden tanımlanmıştır.

Tablo 4.10

A. fumariifolia Çiçek - Hekzan Ekstresi (Ç-HE) Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu

No	BTİ	Bileşik*	%
1	12,05	Tanımlanamayan	0,3
2	1263	Tanımlanamayan	2,2
3	1284	Tanımlanamayan	1,4
4	1679	Tanımlanamayan	0,4
5	1843	α -Fruktofuranoz - 5TMS	0,5
6	1855	Tetradekanoik asit (=Miristik asit) - TMS	0,2
7	2049	Hekzadekanoik asit (=Palmitik asit) - TMS	5,8
8	2099	Tanımlanamayan	1,3
9	2217	(Z,Z)-9,12-Oktadekadienoik asit (=Linoleik asit) - TMS	4,6
10	2221	(Z)-9-Oktadekanoik asit (=Oleik asit) - TMS	3,0
11	2250	Oktadekanoik asit (=Stearik asit) - TMS	1,3
12	2300	Trikosan	0,8
13	2425	Tanımlanamayan	0,3
14	2448	Eikosanoik asit (=Araşidik asit) - TMS	0,3
15	2500	Pentakosan	2,1
16	2646	Dokosanoik asit (=Behenik asit) - TMS	0,5
17	2700	Heptakosan	4,3
18	2704	Sukroz izomeri - TMS	0,4

[Tablo 4.10 (Devam) *A. fumariifolia* Çiçek - Hekzan Ekstresi (Ç-HE) Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu]

No	BTİ	Bileşik*	%
19	2752	1-Tetrakosanol (=Lignoserol) - TMS	0,6
20	2769	Tanımlanamayan	0,5
21	2800	Oktakosan	1,2
22	2844	Tetrakosanoik asit (=Lignoserik asit) - TMS	1,4
23	2900	Nonakosan	20,3
24	2939	Tanımlanamayan	0,3
25	2953	1-Hekzakosanol (=Seril alkol) -TMS	0,7
26	3000	Triakontan	0,7
27	3042	Hekzakosanoik asit (=Serotik asit) - TMS	1,4
28	3100	Hentriakontan	7,0
29	3149	1-Oktakosanol (=Stearil alkol) - TMS	0,7
30	3154	Tanımlanamayan	0,3
31	3159	Tanımlanamayan	0,4
32	3244	Oktakosanoik asit (=Montanik asit) - TMS	2,7
33	3275	Kampesterol-TMS	2,5
34	3280	Tanımlanamayan	1,2
35	3305	Stigmasterol- T MS	3,3
36	3368	β-Sitosterol - TMS	9,7
37	3373	α -Amirin - TMS	2,3
38	3380	Avenasterol (=Fukosterol; 5 α -Stigmasta-3 β -ol) - TMS	2,0
39	3410	α -Amirin - TMS	1,0
40	3442	Triakontanoik asit (=Melissik asit) - TMS	1,2
41	3485	Tanımlanamayan	0,3
42	3502	Tanımlanamayan	2,3
43	3513	Lupeol izomeri - TMS	4,4
44	3557	Tanımlanamayan	0,4
45	3613	Tanımlanamayan	0,5
46	3619	Tanımlanamayan	0,8
Toplam			99,8

BTİ: Bağlı Tutunma İndisi

*: $\geq$ % 0,1

Tablo 4.11

A. fumariifolia Çiçek - Hekzan Sonrası Kloroform Ekstresi (Ç-HKE) Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu

No	BTİ	Bileşik*	%
1	1205	Tanımlanamayan	0,3
2	1263	Tanımlanamayan	1,7
3	1284	Tanımlanamayan	1,2
4	1679	Tanımlanamayan	0,4
5	1843	α -Fruktofuranoz - 5TMS	1,7
6	1847	Tanımlanamayan	0,3
7	1855	Tetradekanoik asit (=Miristik asit) - TMS	0,2
8	1929	α -Glukopiranoz - 5TMS	0,3
9	1993	chiro-İnositol - 6TMS	0,1
10	2023	β -Glukopiranoz - 5TMS	0,4
11	2049	Hekzadekanoik asit (=Palmitik asit) - TMS	6,4
12	2099	Tanımlanamayan	5,2
13	2127	myo-İnositol - 6TMS	0,2
14	2217	(Z,Z)-9,12-Oktadekadienoik asit (=Linoleik asit) - TMS	4,0
15	2221	(Z)-9-Oktadekanoik asit (=Oleik asit) - TMS	1,0
16	2225	(E)-9-Oktadekanoik asit (=Elaidik asit) - TMS	1,0
17	2250	Oktadekanoik asit (=Stearik asit) - TMS	1,2
18	2300	Trikosan	0,7
19	2364	Tanımlanamayan	0,3
20	2383	Tanımlanamayan	0,3
21	2425	Tanımlanamayan	0,6
22	2448	Eikosanoik asit (=Araşidik asit) - TMS	0,3
23	2450	Tanımlanamayan	0,4
24	2500	Pentakosan	1,1
25	2625	Tanımlanamayan	1,9
26	2671	Tanımlanamayan	0,8
27	2700	Heptakosan	2,2
28	2704	Sukroz izomeri – TMS [#]	2,2
29	2739	Trikosanoik asit (=Trikosilik asit) - TMS	0,7

[Tablo 4.11 (Devam) *A. fumariifolia* Çiçek - Hekzan Sonrası Kloroform Ekstresi (Ç-HKE)
Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu]

No	BTİ	Bileşik*	%
30	2748	Tanımlanamayan	0,7
31	2769	Tanımlanamayan	1,0
32	2800	Oktakosan	1,3
33	2844	Tetrakosanoik asit (=Lignoserik asit) - TMS	1,7
34	2900	Nonakosan	16,0
35	2944	Pentakosanoik asit (=Pentadesilik asit) - TMS	0,3
36	2953	1-Hekzakosanol (=Seril alkol) -TMS	0,9
37	3000	Triakontan	0,4
38	3042	Hekzakosanoik asit (=Serotik asit) - TMS	1,5
39	3100	Hentriakontan	4,2
40	3149	1-Oktakosanol (=Stearil alkol) - TMS	0,9
41	3244	Oktakosanoik asit (=Montanik asit) - TMS	4,3
42	3275	Kampesterol-TMS	3,3
43	3280	Tanımlanamayan	0,7
44	3305	Stigmasterol- T MS	4,6
45	3347	1-Triakontanol (=Triakontoksi) - TMS	0,7
46	3368	β-Sitosterol - TMS	10,4
47	3373	β-Amirin - TMS	0,9
48	3380	Avenasterol (=Fukosterol; 5α-Stigmasta-3β-ol) - TMS	1,1
49	3442	Triakontanoik asit (=Melissik asit) - TMS	2,7
50	3498	Lupeol izomeri – TMS [#]	1,4
51	3513	1-Kestoz - 11TMS	1,3
52	3515	Tanımlanamayan	2,3
Toplam			99,7

BTİ: Bağlı Tutunma İndisi

*: ≥ % 0,1

#: Wiley/NIST kütüphanesi spektrum benzerliğinden tanımlanmıştır.

Tablo 4.12

A. fumariifolia Çiçek – Hekzan ve Kloroform Sonrası %70 Metanol Ekstresi (Ç-HKME) Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu

No	BTİ	Bileşik*	%
1	1284	Fosforik asit - 3TMS	1,7
2	1449	Tanımlanamayan	6,7
3	1506	Malik asit - 3TMS	1,4
4	1532	Tanımlanamayan	0,1
5	1591	Tanımlanamayan	0,1
6	1608	Tanımlanamayan	0,1
7	1753	Ksilitol - 5TMS	0,5
8	1767	Tanımlanamayan	0,1
9	1797	Tagatofuranoz - 5TMS	0,1
10	1800	Ribonik asit - 5TMS	0,3
11	1843	α -Fruktofuranoz - 5TMS	8,5
12	1852	β -Fruktofuranoz - 5TMS	13,1
13	1885	α -Glukofuranoz - 5TMS	0,2
14	1898	Kuinik asit - 5TMS	1,3
15	1917	Glukonolakton - 4TMS	0,5
16	1929	α -Glukopiranoz - 5TMS	3,7
17	1933	Tanımlanamayan	0,2
18	1980	Sorbitol - 6TMS	0,5
19	1993	chiro-İnositol - TMS	5,4
20	2000	6,7-Dihidroksi-1-okzotetrahidronaftalen-bis(O-trimetilsilil) [#]	0,4
21	2023	α -Glukopiranoz - 5TMS	3,6
22	2046	Glukonik asit - 6TMS	3,3
23	2049	Hekzadekanoik asit (=Palmitik asit) - TMS	2,1
24	2066	scyllo-İnositol - 6TMS	0,1
25	2099	Tanımlanamayan	0,9
26	2127	myo-İnositol - 6TMS	3,0
27	2151	(E)-Kafeik asit - 3TMS	1,5
28	2217	(Z,Z)-9,12-Oktadekadienoik asit (=Linoleik asit) - TMS	2,1
29	2221	(Z)-9-Oktadekenoik asit (=Oleik asit) - TMS	0,9

[Tablo 4.12 (Devam) *A. fumariifolia* Çiçek – Hekzan ve Kloroform Sonrası %70 Metanol Ekstresi (Ç-HKME) Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu]

No	BTİ	Bileşik*	%
30	2246	Tanımlanamayan	0,2
31	2289	Tanımlanamayan	0,1
32	2425	Tanımlanamayan	0,6
33	2432	Tanımlanamayan	0,2
34	2494	Tanımlanamayan	0,2
35	2531	Tanımlanamayan	0,2
36	2600	Tanımlanamayan	0,2
37	2604	Tanımlanamayan	0,2
38	2654	Tanımlanamayan	0,2
39	2658	Tanımlanamayan	0,3
40	2671	Tanımlanamayan	0,3
41	2683	Tanımlanamayan	0,3
42	2696	Tanımlanamayan	0,3
43	2713	Sukroz - 8TMS	9,6
44	2730	Tanımlanamayan	0,4
45	2769	Tanımlanamayan	0,4
46	2795	Tanımlanamayan	0,3
47	2808	Tanımlanamayan	0,3
48	2840	Tanımlanamayan	0,2
49	2880	Tanımlanamayan	0,1
50	2900	Nonakosan	1,3
51	2944	Tanımlanamayan	0,3
52	3004	Tanımlanamayan	0,1
53	3038	Tanımlanamayan	0,1
54	3095	Tanımlanamayan	0,5
55	3109	Tanımlanamayan	0,5
56	3124	Tanımlanamayan	0,4
57	3144	Tanımlanamayan	0,3
58	3184	crypto-Klorojenik asit - 6TMS	8,4
59	3189	Tanımlanamayan	0,2

[Tablo 4.12 (Devam) *A. fumariifolia* Çiçek – Hekzan ve Kloroform Sonrası %70 Metanol Ekstresi (Ç-HKME) Türevlendirme GC-FID/MS Kompozisyonu]

No	BTİ	Bileşik*	%
60	3214	Tanımlanamayan	0,4
61	3229	Tanımlanamayan	1,6
62	3264	5-Kafeyilkuinik asit - 6TMS	0,9
63	3270	Tanımlanamayan	0,3
64	3285	Tanımlanamayan	0,2
65	3300	Tanımlanamayan	0,4
66	3305	Tanımlanamayan	0,2
67	3368	β -Sitosterol - TMS	1,1
68	3368	Tanımlanamayan	0,2
69	3373	Tanımlanamayan	0,4
70	3458	Tanımlanamayan	2,6
71	3496	Tanımlanamayan	0,7
72	3507	Rafinoz - 11TMS	1,1
73	3613	Tanımlanamayan	0,3
Toplam			99,5

BTİ: Bağlı Tutunma İndisi

*: $\geq$ % 0,1

#: Wiley/NIST kütüphanesi spektrum benzerliğinden tanımlanmıştır.

Tablo 4.13

A. fumariifolia Kök - Hekzan Ekstresi (K-HE) Türevlendirme GC/MS Kompozisyonu

No	BTİ	Bileşik*	%
1	2049	Hekzadekanoik asit (=Palmitik asit) - TMS	5,9
2	2217	(Z,Z)-9,12-Oktadekadienoik asit (=Linoleik asit) - TMS	3,2
3	2219	(Z,Z,Z)-9,12,15-Oktadekatrienoik asit (=a-Linolenik asit) - TMS	1,2
4	2250	Oktadekanoik asit (=Stearik asit) - TMS	0,5
5	2700	Heptakosan	0,4
6	2844	Tetrakosanoik asit (=Lignoserik asit) - TMS	0,9
7	2900	Nonakosan	13,8
8	3100	Hentriakontan	1,4
9	3149	1-Oktakosanol (=Stearil alkol) - TMS	0,8

[**Tablo 4.13 (Devam)** *A. fumariifolia* Kök - Hekzan Ekstresi (K-HE) Türevlendirme GC/MS Kompozisyonu]

No	BTİ	Bileşik*	%
10	3229	Tanımlanamayan	1,1
11	3244	Oktakosanoik asit (=Montanik asit) - TMS	1,9
12	3275	Kampesterol-TMS	12,4
13	3280	Tanımlanamayan	0,8
14	3305	Stigmasterol- T MS	14,4
15	3316	Tanımlanamayan	0,8
16	3326	Sitosterol (izomer) – TMS [#]	2,5
17	3347	1-Triakontanol (=Triakontoksi) - TMS	1,4
18	3368	β-Sitosterol - TMS	26,4
19	3378	Stigmastanol - TMS	2,2
20	3380	Avenasterol (=Fukosterol; 5α-Stigmasta-3β-ol) - TMS	2,8
21	3431	Sikloartenol - TMS	0,6
22	3442	Triakontanoik asit (=Melissik asit) - TMS	1,7
23	3469	Sitostenon	0,6
24	3607	Tanımlanamayan	0,6
25	3619	Oktadek-9-en-1-al dimetil asetal [#]	0,6
26	3723	Eykosil p-kumarat - TMS	0,9
Toplam			99,8

BTİ: Bağlı Tutunma İndisi

*: ≥ % 0,1

#: Wiley/NIST kütüphanesi spektrum benzerliğinden tanımlanmıştır.

Tablo 4.14

A. fumariifolia Kök – Hekzan Sonrası Kloroform Ekstresi (K-HKE) Türevlendirme GC/MS Kompozisyonu

No	BTİ	Bileşik*	%
1	1281	Gliserol - 3 TMS	0,1
2	1506	Malik asit – 3TMS	0,7
3	1679	Tanımlanamayan	0,2
4	1688	Tanımlanamayan	0,2
5	1843	α-Fruktofuranoz - 5TMS	3,5
6	1852	β-Fruktofuranoz - 5TMS	0,6

[Tablo 4.14 (Devam) *A. fumariifolia* Kök – Hekzan Sonrası Kloroform Ekstresi (K-HKE)
Türevlendirme GC/MS Kompozisyonu]

No	BTİ	Bileşik*	%
7	1926	Tanımlanamayan	1,2
8	1993	chiro-İnositol - 6TMS	0,2
9	2023	β -Glukopiranoz - 5TMS	0,7
10	2049	Hekzadekanoik asit (=Palmitik asit) - TMS	7,8
11	2127	myo-İnositol - 6TMS	0,5
12	2179	Fitol - TMS	0,2
13	2217	(Z,Z)-9,12-Oktadekadienoik asit (=Linoleik asit) - TMS	3,4
14	2221	(Z)-9-Oktadekenoik asit (=Oleik asit) - TMS	1,4
15	2250	Oktadekanoik asit (=Stearik asit) - TMS	0,3
16	2425	Tanımlanamayan	0,4
17	2448	Eikosanoik asit (=Araşidik asit) - TMS	0,2
18	2608	Monopalmitin - 2TMS	0,2
19	2646	Dokosanoik asit (=Behenik asit) - TMS	0,5
20	2700	Heptakosan	0,2
21	2704	Sukroz izomeri – TMS [#]	4,1
22	2717	Tanımlanamayan	0,3
23	2739	Trikosanoik asit (=Trikosilik asit) - TMS	0,2
24	2752	1-Tetrakosanol (=Lignoserol) - TMS	0,1
25	2769	Tanımlanamayan	0,2
26	2800	Oktakosan	0,3
27	2844	Tetrakosanoik asit (=Lignoserik asit) - TMS	1,2
28	2900	Nonakosan	12,8
29	2944	Pentakosanoik asit (=Pentadesilik asit) - TMS	0,3
30	2953	1-Hekzakosanol (=Seril alkol) -TMS	0,3
31	2967	Tanımlanamayan	0,3
32	2986	Tanımlanamayan	0,2
33	3000	Triakontan	0,1
34	3042	Hekzakosanoik asit (=Serotik asit) - TMS	0,6
35	3100	Hentriakontan	1,2
36	3159	Tanımlanamayan	0,5

[Tablo 4.14 (Devam) *A. fumariifolia* Kök – Hekzan Sonrası Kloroform Ekstresi (K-HKE) Türevlendirme GC/MS Kompozisyonu]

No	BTİ	Bileşik*	%
37	3184	crypto-Klorojenik asit - 6TMS	0,9
38	3244	Oktakosanoik asit (=Montanik asit) - TMS	5,1
39	3275	Kampesterol-TMS	6,4
40	3280	Tanımlanamayan	0,6
41	3305	Stigmasterol- T MS	7,8
42	3347	1-Triakontanol (=Triakontoksi) - TMS	1,2
43	3368	β-Sitosterol - TMS	17,4
44	3378	Stigmastanol - TMS	1,7
45	3380	Avenasterol (=Fukosterol; 5 α -Stigmasta-3 β -ol) - TMS	2,0
46	3431	Sikloartenol - TMS	0,4
47	3442	Triakontanoik asit (=Melissik asit) - TMS	4,4
48	3513	1-Kestoz - 11TMS	2,5
49	3557	Tanımlanamayan	0,2
50	3619	Tanımlanamayan	0,4
51	3652	Tanımlanamayan	0,3
52	3723	Eykosil p-kumarat - TMS	1,1
53	3768	Tanımlanamayan	0,2
54	3928	Tanımlanamayan	0,8
Toplam			98,6

BTİ: Bağlı Tutunma İndisi

*: $\geq$ % 0,1

#: Wiley/NIST kütüphanesi spektrum benzerliğinden tanımlanmıştır.

Tablo 4.15

A. fumariifolia Kök – Hekzan ve Kloroform Sonrası %70 Metanol Ekstresi (K-HKME) Türevlendirme GC/MS Kompozisyonu

No	BTİ	Bileşik*	%
1	1449	Tanımlanamayan	2,2
2	1506	Malik asit - 3TMS	1,8
3	1608	Tanımlanamayan	0,7
4	1767	Tanımlanamayan	1,0

[Tablo 4.15 (Devam) *A. fumariifolia* Kök – Hekzan ve Kloroform Sonrası %70 Metanol Ekstresi (K-HKME) Türevlendirme GC/MS Kompozisyonu]

No	BTİ	Bileşik*	%
5	1797	Tagatofuranoz - 5TMS	0,4
6	1800	Ribonik asit - 5TMS	0,3
7	1843	α-Fruktofuranoz - 5TMS	13,1
8	1852	β-Fruktofuranoz - 5TMS	7,1
9	1885	α -Glukofuranoz - 5TMS	0,2
10	1898	Kuinik asit - 5TMS	1,8
11	1917	Glukonolakton - 4TMS	0,3
12	1929	α -Glukopiranoz - 5TMS	5,0
13	1952	Tanımlanamayan	0,4
14	1971	Mannitol - 6 TMS	0,1
15	1980	Sorbitol - 6TMS	0,1
16	1993	chiro-İnositol - TMS	4,6
17	2000	6,7-Dihidroksi-1-okzotetrahidronaftalen-bis(O-trimetilsilil) [#]	4,9
18	2023	α -Glukopiranoz - 5TMS	4,5
19	2046	Glukonik asit - 6TMS	1,0
20	2049	Hekzadekanoik asit (=Palmitik asit) - TMS	1,0
21	2066	scyllo-İnositol - 6TMS	0,3
22	2127	myo-İnositol - 6TMS	5,4
23	2151	(E)-Kafeik asit - 3TMS	0,5
24	2217	(Z,Z)-9,12-Oktadekadienoik asit (=Linoleik asit) - TMS	0,8
25	2221	(Z)-9-Oktadekenoik asit (=Oleik asit) - TMS	0,4
26	2425	Tanımlanamayan	0,4
27	2713	Sukroz - 8TMS	20,3
28	2730	Tanımlanamayan	2,2
29	2893	Tanımlanamayan	0,3
30	2907	Tanımlanamayan	0,1
31	2930	Tanımlanamayan	0,2
32	3004	Tanımlanamayan	2,0
33	3114	Tanımlanamayan	5,3
34	3184	crypto-Klorojenik asit - 6TMS	7,7

[**Tablo 4.15 (Devam)** *A. fumariifolia* Kök – Hekzan ve Kloroform Sonrası %70 Metanol Ekstresi (K-HKME) Türevlendirme GC/MS Kompozisyonu]

No	BTİ	Bileşik*	%
35	3229	Tanımlanamayan	0,1
36	3234	Tanımlanamayan	0,1
37	3368	β -Sitosterol - TMS	0,8
38	3491	Tanımlanamayan	0,1
39	3507	Rafinoz - 11TMS	2,3
Toplam			99,8

BTİ: Bağlı Tutunma İndisi

*: $\geq$ % 0,1

#: Wiley/NIST kütüphanesi spektrum benzerliğinden tanımlanmıştır.

4.3.6 LC-HRMS sonuçları

LC- HRMS sisteminde analiz edilen *Anthemis fumariifolia* bitkisine ait topraküstü ve kök kısımlarından elde edilen %70 metanollü ekstraktların fitokimyasal yapıları Tablo 4.16 ve Tablo 4.17’ de gösterilmiştir. Ekstrelerde belirlenmiş olan bileşiklerin miktarları mg bileşik/ 100 g bitki cinsinden ifade edilerek hesaplanmıştır.

Tablo 4.16

A. fumariifolia %70 Metanollü Topraküstü Ekstresinde (T-ME) Tespit Edilen Bileşiklerin Miktarları

No	Bileşik	Miktar (mg/100 g _{bitki})	Bağlı Belirsizlik (%)
1	Klorojenik asit	82,17	3,58
2	Fumarik asit	7,51	2,88
3	Kafeik asit	2,46	3,74
4	Vanilik asit	61,20	3,06
5	Luteolin-7-glukozit	0,01	4,14
6	Rutin	5,23	3,07
7	Sirinjik asit	18,14	3,71
8	Hiperozit	26,32	3,46
9	Kersitrin	0,34	3,78
10	Nepetin-7-glukozit	6,49	3,07
11	Kersetin	2,30	2,95
12	Salisilik asit	1,61	1,89
13	Nepetin	0,21	2,19

Tablo 4.17*A. fumariifolia* %70 Metanollü Kök Ekstresinde (K-ME) Tespit Edilen Bileşiklerin Miktarları

No	Bileşik	Miktar (mg/100 g _{bitki})	Bağıl Belirsizlik (%)
1	Klorojenik asit	111,17	3,58
2	Fumarik asit	48,52	2,88
3	Kafeik asit	2,31	3,74
4	Luteolin-7-rutinozit	2,75	3,06
5	Vanilik asit	80,79	3,49
6	Luteolin-7-glukozit	1,44	4,14
7	<i>p</i> -Kumarik asit	4,49	3,31
8	Rutin	20,53	3,07
9	Sirinjik asit	24,24	3,71
10	Hiperozit	56,85	3,46
11	Kersitrin	1,82	3,78
12	Nepetin-7-glukozit	18,11	3,07
13	Skutellarein	0,62	2,84
14	Kersetin	5,45	2,95
15	Salisilik asit	1,82	1,89
16	Nepetin	0,99	2,19

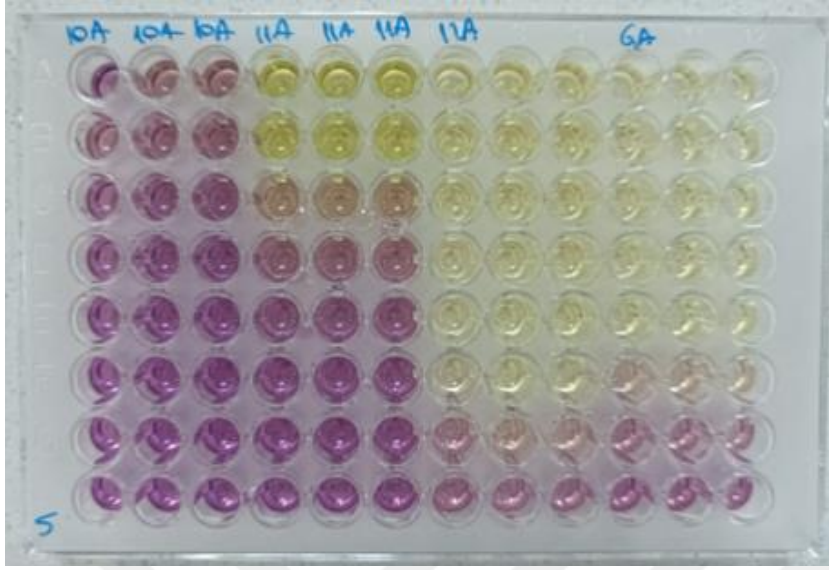
4.4 Biyolojik Aktivite Sonuçları

4.4.1 Serbest radikal süpürücü etki (DPPH) sonuçları

A. fumariifolia uçucu yağı ve ekstrelerinin antioksidan özelliklerini değerlendirmek amacıyla, elektron transfer mekanizmasına dayanan DPPH testi uygulanmış ve sonuçlar spektrofotometrik yöntemle analiz edilmiştir. Numuneler, mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak teste tabi tutulmuştur (Görsel 4.1) Çalışma kapsamında uçucu yağ ve ekstrelerin % inhibisyon değerleri hesaplanmış ve elde edilen konsantrasyon verileri ile % inhibisyon değerleri kullanılarak *SigmaPlot* yazılımı yardımıyla IC₅₀ değerleri belirlenmiştir. Analiz sonuçları Tablo 4.18’ de gösterilmiştir.

Görsel 4.14

A. fumariifolia Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin Etkisi ile DPPH Reaktifinin Renk Değişimi



Tablo 4.18

A. fumariifolia Bitkisi Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin DPPH Testinde IC₅₀ Değerleri

Ekstre Tipi	IC ₅₀ ± stdsp _m , mg/mL
<i>A. fumariifolia</i> uçucu yağı (UY)	0,016±0,004
<i>A. fumariifolia</i> hekzanlı ekstresi (H-HE)	4,10±0,32
<i>A. fumariifolia</i> kloroformlu ekstresi (H-KE)	1,15±0,02
<i>A. fumariifolia</i> %70 metanollü ekstresi (H-ME)	0,002±0,01
Gallik asit	0,001±0,0001

4.4.2 CUPRAC testi (Cu(II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite) sonuçları

Numunelerin antioksidan kapasiteleri, CUPRAC yöntemiyle analiz edilmiştir. Çalışmada, standart bir antioksidan olan Trolox'un dilüsyon serisi kullanılarak bir kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Numunelerin antioksidan kapasiteleri, Trolox eşdeğeri (mM Trolox/g_{numune}) olarak hesaplanmıştır. Deney için, numune çözeltileri 2,5 mg/ mL, Trolox çözeltileri ise 3 mM konsantrasyonlarında hazırlanmış ve metanol kullanılarak çözdürülmüştür. Analiz sonuçlarına ait veriler Görsel 4.2 ve Tablo 4.19' da gösterilmiştir.

A. fumariifolia Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin Cu(II) İyonu İndirgeme Kapasiteleri



4.4.3 Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) sonuçları

A. fumariifolia uçucu yağı ve ekstralarının antioksidan etkileri, ABTS^{•+} radikalini süpürme kapasiteleri kullanılarak TEAC testi ile değerlendirilmiştir (Görsel 4.3). Numunelerin antioksidan aktiviteleri, standart inhibitör madde olarak kullanılan Trolox'un ABTS^{•+} radikalini süpürme kapasitesi ile karşılaştırılmış ve spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür. Analizler mikrotitre plak tekniği ile gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen absorbans değerlerinden hareketle, numunelerin % inhibisyonu hesaplanmıştır. Trolox'un farklı konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri kullanılarak bir kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve bu eğriden bir doğrusal denklem elde edilmiştir. Test edilen numunelerin % inhibisyon oranları bu eğri denkleminde yerine konularak, Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite değerleri hesaplanmıştır.

Görsel 4.3

A. fumariifolia Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin Etkisi ile ABTS Reaktifinin Renk Değişimi



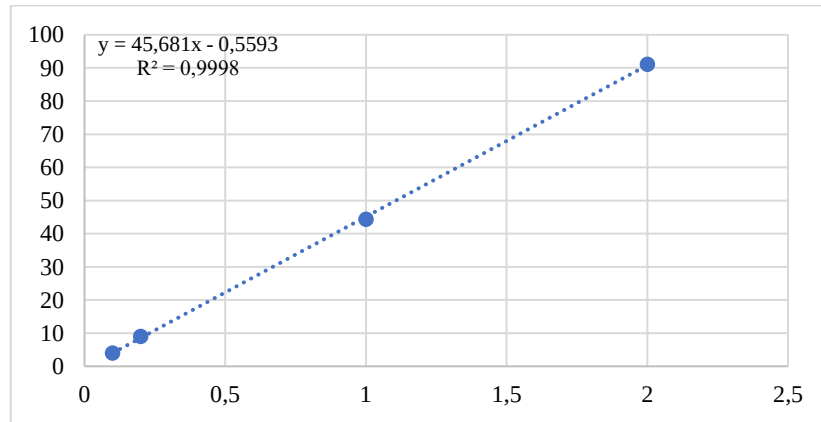
Tablo 4.20

A. fumariifolia Topraküstü Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin TEAC Testi Sonuçları

Ekstre Tipi	TEAC $\pm$ stdspm, mM
<i>A. fumariifolia</i> uçucu yağı (UY)	0,87 $\pm$ 0,13
<i>A. fumariifolia</i> hekzanlı ekstresi (H-HE)	0,4 $\pm$ 0,021
<i>A. fumariifolia</i> kloroformlu ekstresi (H-KE)	1,8 $\pm$ 0,03
<i>A. fumariifolia</i> %70 metanollü ekstresi (H-ME)	2,0 $\pm$ 0,06

Şekil 4.16

Troloks Kalibrasyon Eğrisi ve Eğri Denklemini



4.4.4 α -Amilaz inhibisyon testi sonuçları

Bitki ekstralarının anti- α -amilaz aktiviteleri spektrofotometrik yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Numunelerin inhibitör etkileri, domuz pankreasından elde edilen α -amilaz enzimi üzerinde mikrotitre plak yöntemi ile değerlendirilmiştir (Görsel 4.4). Standart olarak akarboz çözeltisi referans amacıyla kullanılmıştır. Ekstrelerin enzim üzerindeki etkileri, inhibisyon yüzdeleri hesaplanarak karşılaştırılmıştır (Tablo 4.21).

Görsel 4.17

A. fumariifolia Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin α -Amilaz Enzim İnhibisyonu Sonucunda Meydana Gelen Renk Değişimi

**Tablo 4.21**

A. fumariifolia Topraküstü Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin α -Amilaz Enzimi Üzerinde İnhibisyon Sonuçları

Numune	İnhibisyon, %
<i>A. fumariifolia</i> uçucu yağı (UY)	0,62±0,002
<i>A. fumariifolia</i> hekzanlı ekstresi (H-HE)	0,16±0,001
<i>A. fumariifolia</i> kloroformlu ekstresi (H-KE)	0,66±0,012
<i>A.fumariifolia</i> %70 metanollü ekstresi (H-ME)	0,63±0,019
Akarboz	0,72±0,05

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışma, endemik bir tür olan *Anthemis fumariifolia* Boiss. bitkisinin fitokimyasal ve biyolojik aktivite özelliklerini kapsamlı bir şekilde ortaya koymayı amaçlamıştır. Bulgular, bu bitkinin fitokimyasal kompozisyonunun ve biyolojik aktivitesinin önemli potansiyeller sunduğunu göstermiştir.

Bitkiden elde edilen ekstre ve uçucu yağlar arasında çiçek hekzan ve kloroformdan sonra %70 metanol ekstresi (Ç-HKME) en yüksek verime sahiptir.

Tez çalışması kapsamında ilk defa *A. fumariifolia* bitkisinin uçucu yağı üzerinde fitokimyasal araştırma yapılmıştır. Literatür taraması sonucunda daha önce bitkinin ekstresi üzerinde antioksidan ve antimikrobiyal aktivite çalışmaları yapıldığı tespit edilmiştir. Verilere göre antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinin varlığı ortaya çıkmıştır (Albayrak ve Aksoy, 2013).

Çalışmamızda *A. fumariifolia* bitkisinin uçucu yağ kompozisyonunda majör bileşikler olarak seskiterpen grubundan kamazulen (% 27,2) ve oksijenli monoterpen grubundan *trans*-krizantenil asetat (%20,5) tespit edilmiştir. Bu bulgular, literatürdeki diğer *Anthemis* türlerine kıyasla dikkate değer bir kimyasal profil ortaya koymaktadır.

Seskiterpen lakton yapısında olan matrisinin distilasyonu sırasında sıcaklık etkisiyle hidrolize uğramasıyla oluşan kamazulen uçucu yağa mavi rengini verir. Antioksidan, antienflamatuar, antispazmodik ve antialerjik etkilere sahip olduğu bildirilen kamazulen Asteraceae familyası üyelerinden *Matricaria chamomilla* bitkisi uçucu yağının (% 1-15) da major bileşiklerinden biridir. Ancak, çalışmamızda *A. fumariifolia* uçucu yağında tespit edilen % 27,2'lik kamazulen oranı oldukça yüksek olup bu bitkinin antioksidan ve anti-enflamatuar terapötik potansiyelini öne çıkarmaktadır (Barnes vd., 2007; Gruenwald vd., 2007).

Tez çalışması kapsamında ilk defa *A. fumariifolia* bitkisinin ekstreleri üzerinde vitamin ve mineral analizleri gerçekleştirilmiştir. *A. fumariifolia* bitkisinin topraküstü, çiçek ve kök kısımlarının hekzanlı ekstrelerinde UPC²-PDA sistemiyle yapılan analizde yağda çözünen vitaminler ve karotenoidlerden hiçbirine rastlanmamıştır. Bunun yanında geçmişte yapılan bir çalışmada *A. tinctoria* bitkisinin yaprakları ve çiçeklerinin karotenoid içerdiği kanıtlanmıştır (Khramova vd., 2021).

Çalışmamızda yapılmış olan ICP-OES analizlerinde bitkinin tüm ektrelerinde (kök, herba ve çiçek) Mg, Ca, Na ve K minerallerine rastlanmıştır. Na, Mg ve Ca mineralleri en çok *A. fumariifolia* çiçek ekstesinde (sırasıyla 4,9 mg/g, 2,1 mg/g, 3,7 mg/g), K minerali ise en çok bitkinin kök ekstesinde (19,9 mg/g) tespit edilmiştir. Yapılan literatür taramasında *A. odontostephana* bitkisi üzerinde yapılmış ICP-OES analizlerinde Ca, K, S ve Na mineralleri tespit edilmiştir (Hajihashemi vd., 2021). Çalışmamızda *A. fumariifolia*'nın çiçek ekstesinde Na, Mg ve Ca minerallerinin en yüksek seviyelerde tespit edilmesi, bitkinin farklı organlarında minerallerin farklı birikim stratejilerine sahip olabileceğini göstermektedir. Özellikle K mineralinin kök ekstesinde en yüksek konsantrasyonda bulunması, köklerin bu mineral için bir depo veya aktif alım bölgesi olabileceğini işaret eder. Buna karşılık, literatürde *A. odontostephana* üzerinde yapılan ICP-OES analizlerinde Ca, K, S ve Na minerallerinin tespit edilmesi, benzer elementlerin farklı türlerde de yaygın olduğunu, ancak bu minerallerin birikim düzeylerinin türler arasında farklılık gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

A. fumariifolia bitkisi üzerinde yaptığımız sabit yağ analizleri sonucunda majör bileşikler olarak hekzadekanoik asit metil ester (=M. palmitat); (16:0), (Z,Z)-9,12-oktadekadienoik asit metil ester (=M. linoleat); (18:2); ω-6 ve nonadekanoik asit metil ester (=M. nonadekanoat); (19:0) belirlenmiştir.

Daha önce yapılan çalışmalar, *A. altissima*, *A. ruthenica* ve *A. arvensis* gibi türlerde de hekzadekanoik (palmitik) asidin majör bir yağ asidi olduğunu ortaya koymuştur. Bu durum, *Anthemis* türlerinin sabit yağlarının yağ asidi profili açısından benzer kimyasal özelliklere sahip olduğunu göstermektedir (Kurtulmus vd., 2009). Ayrıca yapılan başka bir çalışmada antimikrobiyal etkili olduğu kanıtlanan *Asteraecae* familyasına ait *Centaurea haussknechtii* Boiss bitkisinin sabit yağ asidinin ana bileşenleri (Z)-9-oktadekanoik asit metil ester (% 45,7), (Z,Z)-9,12-oktadekanoik asit metil ester (% 37,8) ve hekzadekanoik asit metil ester (% 15,8) olarak bulunmuştur (Canli, 2015). Bu durum aynı familyaya ve cinse ait bitkilerin yakın fitokimyasal özellikler gösterebildiğini düşündürür. Ayrıca *A. fumariifolia* bitkisinin de antimikrobiyal aktivitesinin olma potansiyelini ortaya çıkarır.

A. fumariifolia bitkisine ait çeşitli çözücülerdeki ektrelerinin türevlendirme işlemi sonucunda belirlenen ana bileşikleri aşağıdaki Tablo 5.1' de gösterilmiştir.

Tablo 5.1*A. fumariifolia* Ekstrelerinin Türevlendirme Analizi Ana Bileşikleri

Ekstre türü	Bileşik (%)
T-HE	Nonakosan (34,4) β-Sitosterol – TMS (14,5) Hentriakontan (5,3)
T-HKE	Oktakosanoik asit (=Montanik asit) – TMS (6,2) Nonakosan (30,3) Hekzadekanoik asit (=Palmitik asit) – TMS (5,7) β-Sitosterol – TMS (17,9)
T-HKME	α-Fruktofuranoz - 5TMS (10,6) Sukroz - 8TMS (37,3)
Ç-HE	Nonakosan (20,3) β-Sitosterol – TMS (9,7)
Ç-HKE	Nonakosan (16,0) β-Sitosterol – TMS (10,4) Hekzadekanoik asit (=Palmitik asit) – TMS (6,4)
Ç-HKME	β-Fruktofuranoz - 5TMS (13,1) crypto-Klorojenik asit - 6TMS (8,4) Sukroz - 8TMS (9,6) α-Fruktofuranoz - 5TMS (8,5)
K-HE	β-Sitosterol – TMS (26,4) Nonakosan (13,8) Stigmasterol- TMS (14,4)
K-HKE	Hekzadekanoik asit (=Palmitik asit) – TMS (7,8) Kampesterol-TMS (6,4) β-Sitosterol – TMS (17,4) Nonakosan (12,8)
K-HKME	α-Fruktofuranoz - 5TMS (13,1) Sukroz - 8TMS (20,3)

Bu çalışmada, *A. fumariifolia* bitkisinden farklı çözücülerle elde edilen ekstreler ve türevlendirme analizleri sonucunda hekzadekanoik asit, β-sitosterol, nonakosan gibi bileşenlerin yaygın olarak bulunduğu tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında *A. fumariifolia* bitkisinin topraküstü ve kök kısımlarından elde edilen %70 sulu metanollü ekstrelerinin LC-HRMS sistemi kullanılarak fitokimyasal bileşimleri incelenmiştir. Her iki ekstrede tespit edilen bileşiklerin miktarları mg^{bileşik}/100 g^{bitki} cinsinden hesaplanmış ve bağıl belirsizlik oranlarıyla birlikte sunulmuştur. Topraküstü ekstrede tespit edilen ana bileşikler klorojenik asit (8217 mg/100 g), vanilik asit (61,20 mg/100 g) ve hiperozit (26,32 mg/100 g) olmuştur. Buna karşın, kök ekstrede klorojenik asit (111,17 mg/100 g), vanilik asit (80,79 mg/100 g) ve hiperozit (56,85 mg/100 g) daha yüksek miktarlarda bulunmuştur.

Klorojenik asitin güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu ve sağlık üzerindeki olumlu etkilerinin farklı çalışmalarla kanıtlandığı göz önüne alındığında, elde edilen bu sonuçlar çalışmamızın biyolojik etkinliği açısından önemli bir temel oluşturmaktadır. Literatürde, klorojenik asitin lipit ve glikoz metabolizmasını düzenlediği, hipertansiyon üzerinde kan basıncını düşürücü etkiler gösterdiği ve lipojenezi sağlayan enzimler üzerinde etkili olarak normal dokularda yağ birikimini azaltabileceği belirtilmektedir. Özellikle, spontan hipertansif sıçanlar ve hafif hipertansif bireylerde yapılan çalışmalarda klorojenik asidin kan basıncını düzenlediği rapor edilmiştir; bu durum, *A. fumariifolia* bitki ekstresinin bu tür etkilerinin olabileceğine dair öngörüler sunmaktadır. Bunun yanı sıra, klorojenik asitin Tip II diyabet, Alzheimer, iltihabi hastalıklar ve kardiyovasküler rahatsızlıklar gibi kronik hastalıkların riskini azalttığı ve kanser hücrelerinin çoğalmasını engelleyebildiği bilinmektedir (Farah vd., 2008). *A. fumariifolia* bitkisinin zengin klorojenik asit içeriği, bitkinin terapötik etkileri bakımından umut verici gözükmektedir.

Vanilik asit, fenolik bir bileşik olarak doğal antioksidan potansiyeli ile dikkat çekmektedir. Literatürde, vanilik asitin serbest radikal temizleme kapasitesi ve lipit peroksidasyonunu engelleme yeteneği sayesinde güçlü antioksidan özellikler sergilediği kanıtlanmıştır. Bu özellikler, vanilik asidin oksidatif stresle ilişkili birçok hastalığın önlenmesinde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Vanilik asit ayrıca antimikrobiyal ve antienflamatuar etkilerinin yanı sıra anti-mutajenik ve anti-tümör özellikleriyle de ön plana çıkmaktadır. Özellikle, diyabet üzerindeki olumlu etkileri, vanilik asitin metabolik hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde umut verici bir ajan olabileceğini göstermektedir (Amin vd., 2017; Vinothiya ve Ashokkumar, 2017). Elde edilen sonuçlar, *A. fumariifolia* bitkisinin biyolojik aktivitesine katkıda bulunan temel bileşenlerden birinin vanilik asit olabileceğini düşündürmektedir.

Tez çalışmasında, *A. fumariifolia* bitkisinin uçucu yağı (UY) ve çeşitli çözücülerle elde edilmiş ekstrelerinin (H-HE, H-KE, H-ME)) antioksidan ve enzim inhibisyon aktivitelerini belirlemek amacıyla çeşitli deneyler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular, bitkisel materyalin biyolojik aktif bileşenler bakımından zengin olduğunu ve farklı ekstraksiyon yöntemlerinin bu bileşenlerin etkinliğini önemli ölçüde etkilediğini göstermiştir. Aşağıdaki tabloda (Tablo 5.2) tez çalışması kapsamında yapılmış tüm biyolojik aktivite sonuçlarını içeren veriler bulunmaktadır.

Tablo 5.2*A. fumariifolia* Uçucu Yağı ve Topraküstü Ekstrelerinin Biyolojik Aktivite Sonuçları

Numune	DPPH (IC ₅₀ , mg/mL)	CUPRAC (TE)	TEAC (mM)	Anti- α -amilaz (% inhibisyon)
UY	0,016 ± 0,04	152,48 ± 1,24	0,87 ± 0,13	62 ± 0,002
H-HE	4,10 ± 0,32	13,70 ± 0,31	0,4 ± 0,021	16 ± 0,001
H-KE	1,15 ± 0,02	14,44 ± 1,17	1,8 ± 0,03	66 ± 0,012
H-ME	0,002 ± 0,01	68,01 ± 2,79	2,0 ± 0,06	63 ± 0,019
Gallik asit	0,001 ± 0,0001	-	-	-
Trolox	-	-	2,86 ± 0,12	-
Akarboz	-	-	-	72 ± 0,05

DPPH analizinde, %70 metanol ekstresinin (H-ME) en düşük IC₅₀ değerine (0,002 mg/mL) sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç, H-ME'nin serbest radikal temizleme kapasitesinin çok yüksek olduğunu ve fenolik ya da polifenolik bileşenlerin etkinliğine işaret etmektedir. H-ME'nin IC₅₀ değeri, gallik aside (0,001 mg/mL) yakın bir performans sergilemiştir.

Uçucu yağ da çok düşük bir IC₅₀ değeri (şekilde 0,016 mg/mL) göstererek dikkate değer bir antioksidan kapasiteye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Buna karşın, H-HE (4,10 mg/mL) ve KE (1,15 mg/mL) ile karşılaştırıldığında daha az etkili oldukları gözlenmiştir.

CUPRAC testinde, UY en yüksek antioksidan kapasiteyi (152,48 TE) göstermiştir. Bu durum, uçucu yağda bulunan monoterpenler ve sekonder metabolitlerin metal iyonlarıyla indirgenme yeteneği ile ilişkili olabilir.

TEAC testinde, ME'nin en yüksek değeri (2,0 mM) göstermesi dikkat çekmiştir. H-KE'nin 1,8 mM'lik sonucu da antioksidan etkili olabileceğini göstermektedir.

Yapılan tüm antioksidan deneyinde ortak olarak H-ME (metanol ekstresi) yüksek aktivite göstermiştir.

Anti- α -amilaz testinde H-KE (% 66), H-ME (% 63), ve UY (% 62) numuneleri yüksek aktivite göstermiştir. H-HE en düşük inhibisyon oranıyla (%16) daha az etkili bulunmuştur. Bu bulgular, bitkinin potansiyel enzim inhibitörü olabileceğini düşündürmektedir.

Yapılan çalışma, *A. fumariifolia* bitkisinin hem uçucu yağ hem de ekstralarının yüksek biyolojik potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen sonuçlar, bitkisel bileşenlerin ekstraksiyon yöntemine bağlı olarak biyolojik etkinliklerinin değişebileceğini göstermiştir. %70 Metanollü ekstresi (H-ME), çok yüksek antioksidan kapasite ve iyi bir anti- α -amilaz inhibisyon etkinliği göstererek potansiyel bir doğal antioksidan kaynağı olduğunu ortaya koymuştur.

Bu çalışma, endemik *A. fumariifolia* bitkisinin fitokimyasal zenginliğini ve terapötik potansiyelini ortaya koyarak doğal ürün araştırmalarına katkıda bulunmuş ve gelecekteki çalışmalar için önemli bir temel oluşturmuştur.



KAYNAKÇA

- Abou-Zied, E. ve Rizk, A. (1973). Phytochemical investigation of *Anthemis nobilis* L. growing in Egypt. *Qualitas Plantarum et Materiae Vegetabiles*, 22(2), 141–144.
- Abou El-Ela, M., Jakupovic, J., Bohlmann, F., Ahmed, A., El-Din, A. S., Khafagi, S., Sabri, N. ve El-Ghazouly, M. (1990). Seco-germacranolides from *Anthemis pseudocotula*. *Phytochemistry*, 29(8), 2704–2706.
- Achika, J. I., Arthur, D. E., Gerald, I. ve Adedayo, A. (2014). A review on the phytoconstituents and related medicinal properties of plants in the Asteraceae family. *IOSR Journal of Applied Chemistry*, 7(8), 1–8.
- Aftab, T. (2019). A review of medicinal and aromatic plants and their secondary metabolites status under abiotic stress. *Journal of Medicinal Plants*, 7(3), 99–106.
- Akerele, O. (1992). WHO guidelines for the assessment of herbal medicines.
- Al-Snafi, A. E. (2016). Medical importance of *Anthemis nobilis* (*Chamaemelum nobile*) -A review. *Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology*, 6(2), 89–95.
- Albayrak, S. ve Aksoy, A. (2013). Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of two endemic *Anthemis* species in Turkey. *Journal of Food Biochemistry*, 37(6), 639–645.
- Ali, S. S., Kasoju, N., Luthra, A., Singh, A., Sharanabasava, H., Sahu, A. ve Bora, U. (2008). Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Research International*, 41(1), 1–15.
- Amin, F. U., Shah, S. A. ve Kim, M. O. (2017). Vanillic acid attenuates A β 1-42-induced oxidative stress and cognitive impairment in mice. *Scientific Reports*, 7(1), 40753.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Çelik, S. E. (2008). Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. *Microchimica Acta*, 160, 413–419.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970–7981.
- Aquino, A., Jorge, J. A., Terenzi, H. F. ve Polizeli, M. d. L. T. M. (2003). Studies on a thermostable α -amylase from the thermophilic fungus *Scytalidium thermophilum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61, 323–328.
- Ardağ, A. (2008). *Antioksidan kapasite tayin yöntemlerinin analitik açıdan karşılaştırılması*. [Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi]. Adnan Menderes Üniversitesi.
- Bakirdere, S., Aydın, F., Bakirdere, E., Titretir, S., Akdeniz, İ., Aydın, I., Yildirim, E. ve Arslan, Y. (2011). From mg/kg to pg/kg levels: A story of trace element determination: A review. *Applied Spectroscopy Reviews*, 46(1), 38–66.
- Balin, A. K. ve Allen, R. G. (1986). Mechanisms of biologic aging. *Dermatologic Clinics*, 4(3), 347–358.
- Barnes, J., Anderson, L. ve Phillipson, J. (2007). Chamomile, Roman. *Herbal Medicines* (3rd ed., p. 157). Pharmaceutical Press.

- Baruah, R., Bohlmann, F. ve King, R. (1985). Novel sesquiterpene lactones from *Anthemis cotula*. *Planta Medica*, 51(6), 531–532.
- Baser, K. H. C., Demirci, B., Iscan, G., Hashimoto, T., Demirci, F., Noma, Y. ve Asakawa, Y. (2006). The essential oil constituents and antimicrobial activity of *Anthemis aciphylla* BOISS. var. *discoidea* BOISS. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 54(2), 222–225.
- Başak, S. Ş. ve Candan, F. (2010). *Myrtus communis* L., uçucu yağı ve ana bileşenlerinin α -amilaz üzerine etkileri. 24. Ulusal Kimya Kongresi, 29.
- Başer, K. (2009). Uçucu yağlar ve aromaterapi. *Fitomed*, 7, 8–25.
- Başer, K. (2010). Tıbbi ve aromatik bitkisel ürünlerin üretimi ve kalite kontrolü. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi Yayınları (2109).
- Baytop, T. (1995). On essential oils and aromatic waters used as medicine in İstanbul between 17th and 19th centuries. K. H. C. Başer (Ed.), *Flavours Fragrances and Essential Oils-Proceedings of the 13th International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils* (15–19 October), İstanbul.
- Baytop, T. (1999). Türkiye’de bitkiler ile tedavi: geçmişte ve bugün. Nobel Tıp Kitabevleri.
- Baytop, T. (1999a). Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (2. baskı). Nobel Tıp Kitabevleri.
- Baytop, T. (1999b). Türkiye’de Bitkilerle Tedavi–Geçmişten Bugüne (2. baskı). Nobel Tıp Basımevi: İstanbul, Türkiye, 348–349.
- Bohlmann, F. ve Zdero, C. (1975). Natürlich vorkommende Terpen-Derivate, XLVIII. Über neue Inhaltsstoffe der Gattung *Anthemis*. *Chemische Berichte*, 108(6), 1902–1910.
- Brand-Williams, W. (1999). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28, 1231–1237.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E. ve Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.
- Bremer, K. ve Humperies, C. (1993). Generic monograph of the Asteraceae-Anthemideae.
- Bruno, M., Bondi, M. L., Vassallo, N., Gedris, T. E. ve Herz, W. (1997). Guaianolides and other terpenoids from *Anthemis aetnensis*. *Phytochemistry*, 45(2), 375–377.
- Bruno, M., Díaz, J. G. ve Herz, W. (1991). Germacranolides from *Anthemis cupaniana*. *Phytochemistry*, 30(10), 3458–3460.
- Bruno, M., Maggio, A., Arnold, N. A., Díaz, J. G. ve Herz, W. (1998). Sesquiterpene lactones from *Anthemis plutonia*. *Phytochemistry*, 49(6), 1739–1740.
- Bruno, M., Rosselli, S., Bondi, M., Gedris, T. ve Herz, W. (2002). Sesquiterpene lactones of *Anthemis alpestris*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 30(9), 891–895.
- Bulatovic, V., Vajs, V., Macura, S., Juranic, N. ve Milosavljevic, S. (1997). Highly oxygenated guaianolides from *Anthemis carpatica*. *Journal of Natural Products*, 60(12), 1222–1228.

- Buruk, K., Sokmen, A., Aydin, F. ve Erturk, M. (2006). Antimicrobial activity of some endemic plants growing in the Eastern Black Sea Region, Turkey. *Fitoterapia*, 77(5), 388–391.
- Büyüktuncel, E. (2012). Gelişmiş ekstraksiyon teknikleri I. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 32(2), 209–242.
- Çakılcıoğlu, U., Khatun, S., Turkoglu, I. ve Hayta, S. (2011). Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Maden (Elazig-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), 469-486.
- Canli, C. (2015) *Bazı endemik Centaurea L. (Asteraceae) türlerinin fitokimyasal özelliklerinin belirlenmesi ve ilaç sanayinde kullanılabilirliğinin araştırılması* [Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi]. Yıldız Teknik Üniversitesi.
- Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M. C. ve Mecocci, P. (2005). Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology and Medicine*, 39(7), 841-852.
- Christenhusz, M. J. M., Fay, M. F. ve Chase, M. W. (2017). *Plants of the World*. University of Chicago Press.
- Colvard, M. D., Cordell, G. A., Villalobos, R., Sancho, G., Soejarto, D. D., Pestle, W., Echeverri, T. L., Perkowitz, K. M. ve Michel, J. (2006). Survey of medical ethnobotanicals for dental and oral medicine conditions and pathologies. *Journal of Ethnopharmacology*, 107(1), 134-142.
- Conforti, F., Menichini, F., Formisano, C., Rigano, D., Senatore, F., Bruno, M., Rosselli, S. ve Çelik, S. (2012). Anthemis wiedemanniana essential oil prevents LPS-induced production of NO in RAW 264.7 macrophages and exerts antiproliferative and antibacterial activities in vitro. *Natural Product Research*, 26(17), 1594-1601.
- Çelik, E. ve Çelik, G. Y. (2007). Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 5(2), 1-6.
- Çelik, S., Rosselli, S., Maggio, A. M., Raccuglia, R. A., Uysal, I., Kisiel, W. ve Bruno, M. (2005). Sesquiterpene lactones from Anthemis wiedemanniana. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33(9), 952-956.
- Davis, P. H. (1970). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (Cilt 3). Edinburgh University Press.
- Davis, P. H. (1975). *Flora of Turkey and The East Aegean Islands* (Cilt 5). Edinburgh University Press.
- Davis, D. H. (1984). *Flora of Turkey* (Vol. 5, pp. 174–221). Edinburgh University Press.
- Davis, P. H. (2008). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (Cilt 5). University Press.
- Dejene, S. ve Dagne, S. (2006). Chemical investigation of Anthemis tigrensensis for bioactive sesquiterpene lactones. *The 10th Annual Green Chemistry and Engineering Conference*, 26-30.
- Demir, T. ve Akpınar, Ö. (2020). Biological activities of phytochemicals in plants.
- Demirci, F. S. (2012). *Beyaz peynirde aroma profilinin karakterizasyonu* [Yayımlanmamış Doktora tezi]. Ankara Üniversitesi.

- Demirçakmak, B. (1994). *Cedrus Libani uçucu yağının bileşimi* [Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi]. Anadolu Üniversitesi.
- Di Benedetto, R., Menichini, F., Gacs-Baitz, E. ve Delle Monache, F. (1991). Three guaianolides from *Anthemis hydruntina*. *Phytochemistry*, 30(11), 3657-3659.
- Dillard, C. J. ve Tappel, A. L. (1989). Lipid peroxidation products in biological tissues. *Free Radical Biology and Medicine*, 7(2), 193-196.
- Diri, M. (2006). *Coridothymus capitatus (L.) Reichb. uçucu yağının analizi, su ve etanol ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi* [Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi]. Muğla Üniversitesi.
- Dogan, G., Demirpolat, A. ve Bagcı, E. (2015). Composition of the volatile oils of *Anthemis coelopoda* var. *coelopoda* from Turkey. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 43(4), 259-265.
- Doğan, C. ve Sorkun, K. (1999). Pollen analysis of honeys from Central, Eastern and Southeastern Anatolia in Turkey. *Hacettepe Bulletin of Natural Sciences and Engineering*, 28.
- Dorman, H., Peltoketo, A., Hiltunen, R. ve Tikkanen, M. (2003). Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, 83(2), 255-262.
- El-Alfy, T., Shehata, A., Koheil, M. ve El-Dahmy, S. (1989). Constituents of *Anthemis melampodina* growing in Egypt. [Kaynak bilgisi eksik]
- Farah, A., Monteiro, M., Donangelo, C. M. ve Lafay, S. (2008). Chlorogenic acids from green coffee extract are highly bioavailable in humans. *The Journal of Nutrition*, 138(12), 2309-2315.
- Farnsworth, N. R., Akerev, O. ve Bingel, A. S. (1985). *The Bulletin of WHO*. [Eksik bilgi tamamlanmalı]
- Funk, V. A., Bayer, R. J., Keeley, S., Chan, R., Watson, L., Gemeinholzer, B., Schilling, E., Panero, J. L., Baldwin, B. G. ve Garcia-Jacas, N. (2005). Everywhere but Antarctica: Using a supertree to understand the diversity and distribution of the Compositae. *Biol. Skr.*, 55, 343-373.
- Gezgin, D. B. M. S. Y. (2006). *Bitki Mitosları*.
- Gönenç, T., Argyropoulou, C., Erdogan, T., Gousiadou, C., Juergenliemk, G., Kivçak, B. ve Skaltsa, H. (2011). Chemical constituents from *Anthemis wiedemanniana* Fisch. ve Mey. *Biochemical Systematics and Ecology*, 39(1), 51-55.
- Gönenç, T. M., Erdogan, T. F., Demirci, B., Baser, K. ve Kivcak, B. (2012). Chemical composition of the essential oils of *Anthemis coelopoda* var. *bourgaei* and *A. aciphylla* var. *aciphylla*. *Chemistry of Natural Compounds*, 48, 332-334.
- Gönenç, T. (2009). *Anthemis wiedemanniana fisch.&mey. üzerinde farmakognozik araştırmalar* [Yayımlanmamış Doktora Tezi]. Ege Üniversitesi.
- Gruenwald, J., Brendler, T. ve Jaenicke, C. (2007). *PDR for Herbal Medicines*. Thomson Reuters.
- Gündüz, T. (1993). *Kantitatif Analiz Ders Kitabı*. Bilge Yayıncılık. 4. Baskı, Bölüm 25 Kromatografi.

- Güner, A. ve Aslan, S. (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi: (Damarlı Bitkiler)*. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, K. H. C. ve Hedge, I. C. (2000). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands: Volume 11, Supplement 2*. Edinburgh University Press.
- Hajihashemi, S., Rajabpoor, S. ve Brestic, M. (2021). Introduction to the native plant species with phytoremediation potential growing in a high Fe and Zn contaminated site in the copper mine of Dehmadan, Iran.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J. M. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press.
- Hamzaoglu, E., Budak, Ü. ve Koc, M. (2011). A new taxon of *Anthemis* L.(Asteraceae) from Turkey: *Anthemis pauciloba* Boiss. var. *alba* Hamzaoglu ve Budak var. *nova*. *Turkish Journal of Botany*, 35(1), 85-88.
- Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., ve Rakesh, D. D. (2008). Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. *Earth, Environmental and Marine Sciences and Technologies*.
- Hanhineva, K., Törrönen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H. ve Poutanen, K. (2010). Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(4), 1365-1402.
- Honda, G., Yeşilada, E., Tabata, M., Sezik, E., Fujita, T., Takeda, Y., Takaishi, Y. ve Tanaka, T. (1996). Traditional medicine in Turkey VI. Folk medicine in West Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces. *Journal of Ethnopharmacology*, 53(2), 75-87.
- Inzucchi, S. E. (2002). Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes: Scientific review. *JAMA*, 287(3), 360-372.
- Jakupovic, J., Boeker, R., Grenz, M., Paredes, L., Bohlmann, F. ve El-Din, A. S. (1988). Highly oxygenated guaianolides from *Otanthus maritimus*. *Phytochemistry*, 27(4), 1135-1140.
- Karabaş, T. (2016). Bazı Brassicaceae sebzelerinin sindirim enzimleri üzerinde in vitro inhibitör etkilerinin araştırılması.
- Karioti, A., Skaltsa, H., Linden, A., Perozzo, R., Brun, R. ve Tasdemir, D. (2007). Anthecularin: A novel sesquiterpene lactone from *Anthemis auriculata* with antiprotozoal activity. *The Journal of Organic Chemistry*, 72(21), 8103-8106.
- Karioti, A., Skaltsa, H., Zhang, X., Tonge, P. J., Perozzo, R., Kaiser, M., Franzblau, S. G. ve Tasdemir, D. (2008). Inhibiting enoyl-ACP reductase (FabI) across pathogenic microorganisms by linear sesquiterpene lactones from *Anthemis auriculata*. *Phytomedicine*, 15(12), 1125-1129.
- Kaufmann, B. ve Christen, P. (2002). Recent extraction techniques for natural products: Microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 13(2), 105-113.

- Kaufmann, B., Rudaz, S., Cherkaoui, S., Veuthey, J. L. ve Christen, P. (2007). Influence of plant matrix on microwave-assisted extraction process. The case of diosgenin extracted from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 18(1), 70-76.
- Kendir, G. ve Güvenç, A. (2010). Etnobotanik ve Türkiye’de yapılmış etnobotanik çalışmalara genel bir bakış. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 1, 49-80.
- Khamova, E., Kukushkina, T., Shaldaeva, T. ve Pshenichkina, Y. (2021). Biologically active compounds and antioxidant activity of the plants from CSBG SB RAS collection of the Asteraceae family. *BIO Web of Conferences*.
- Kılıç, O., Koçak, A. ve Bağcı, E. (2011). Composition of the volatile oils of two *Anthemis* L. taxa from Turkey. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 66(11-12), 535-540.
- Kılıç, A. (2008). Uçucu yağ elde etme yöntemleri. *Journal of Bartın Faculty of Forestry*, 10(13), 37-45.
- Kirimer, N., Demirci, B., Duman, H. ve Başer, K. (2014). Volatiles of two endemic *Anthemis* species from Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, 50, 379-381.
- Kitson, F. G., Larsen, B. S. ve McEwen, C. N. (1996). Gas chromatography and mass spectrometry: A practical guide. *Academic Press*.
- Kıvcak, B., Mert, T., Sağlam, H., Öztürk, T., Kürkçüoğlu, M. ve Başer, K. (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Anthemis wiedemanniana* from Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, 43, 47-51.
- Konstantinopoulou, M., Karioti, A., Skaltsas, S. ve Skaltsa, H. (2003). Sesquiterpene lactones from *Anthemis altissima* and their anti-*Helicobacter pylori* activity. *Journal of Natural Products*, 66(5), 699-702.
- Kor, S. A. (2016). *KKTC’de yetişen Lathyrus ochrus (L.) DC. uçucu yağ içeriğinin, uçucu sekonder metabolitlerinin ve bazı aktivite özelliklerinin tayin edilmesi* [Yayımlanmamış Doktora Tezi]. Yakın Doğu Üniversitesi.
- Krishnan, S. ve Nair, A. (1999). Revised structures of the flavonoids from *Limnophila gratissima* (Scrophulariaceae).
- Kurtulmuş, A., Fafal, T., Mert, T., Sağlam, H., Kıvcak, B., Öztürk, T., Demirci, B. ve Başer, K. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of three *Anthemis* species from Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, 45, 900-904.
- Kuzukıran, Ö. (2015). *Sığır etinden yapılan salam, sucuk ve sosiste indikatör poliklorlu bifenil (PCB) kalıntılarının gaz kromatografî - kütle spektrometresi (GC-MS) ile belirlenmesi* [Yayımlanmamış Doktora Tezi]. Ankara Üniversitesi.
- Kültür, Ş. (2007). Medicinal plants used in Kırklareli province (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 111(2), 341-364.
- Lattanzio, V. (2013). Phenolic compounds: Introduction 50. *Nat. Prod*, 1543-1580.
- Linskens, H. F., ve Jackson, J. F. (1997). Modern Methods of Plant Analysis, Vol. 12: Essential Oils and Waxes. Springer, Germany.

- Lundh, K., Hindsén, M., Gruvberger, B., Möller, H., Svensson, Å., ve Bruze, M. (2006). Contact allergy to herbal teas derived from Asteraceae plants. *Contact Dermatitis*, 54(4), 196-201.
- Malviya, N., Jain, S., ve Malviya, S. (2010). Antidiabetic potential of medicinal plants. *Acta Pol Pharm*, 67(2), 113-118.
- Mann, J. (2000). *Murder, Magic, and Medicine*. Oxford University Press, USA.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P., ve Van Beek, T. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85(2), 231-237.
- Morishita, H., Iwahashi, H., Osaka, N., ve Kido, R. (1984). Chromatographic separation and identification of naturally occurring chlorogenic acids by ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy and mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 315, 253-260.
- Nurzyńska-Wierdak, R. (2013). Does mineral fertilization modify essential oil content and chemical composition in medicinal plants. *Acta Sci Pol Hortorum Cultus*, 12(5), 3-16.
- Özek, G., Demirci, F., Özek, T., Tabanca, N., Wedge, D. E., Khan, S. I., Başer, K. H. C., Duran, A., ve Hamzaoglu, E. (2010). Gas chromatographic–mass spectrometric analysis of volatiles obtained by four different techniques from *Salvia rosifolia* Sm., and evaluation for biological activity. *Journal of Chromatography A*, 1217(5), 741-748.
- Özkan, A. E. G., ve Biçer, A. (2001). XV. Ulusal Kimya Kongresi, İstanbul, KM-S10.
- Patel, D., Prasad, S. K., Kumar, R., ve Hemalatha, S. (2012). An overview on antidiabetic medicinal plants having insulin mimetic property. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(4), 320-330.
- Pavlović, M., Kovačević, N., Couladis, M., ve Tzakou, O. (2006). Phenolic constituents of *Anthemis triumfetti* (L.) DC. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34(5), 449-452.
- Pavlovic, M., Kovacevic, N., Tzakou, O., ve Couladis, M. (2007). Components of cyclohexane extract of *Anthemis triumfetti*. *Chemistry of Natural Compounds*, 43, 512-514.
- Physab, H., Seppa, E. L., ve Widen, K. G. (1980). *J. Chromatogr.*, 190, 466-474.
- Povilaityee, V., ve Venskutonis, P. (2000). Antioxidative activity of purple peril (*Perilla frutescens* L.), moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.), and roman chamomile (*Anthemis nobilis* L.) extracts in rapeseed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(9), 951.
- Prior, R. L., Wu, X., ve Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- Quarenghi, M., Tereschuk, M., Baigori, M., ve Abdala, L. (2000). Antimicrobial activity of flowers from *Anthemis cotula*. *Fitoterapia*, 71(6), 710-712.

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., ve Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Réthy, B., Csupor-Löffler, B., Zupkó, I., Hajdú, Z., Máthé, I., Hohmann, J., Rédei, T., ve Falkay, G. (2007). Antiproliferative activity of Hungarian Asteraceae species against human cancer cell lines. Part I. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(12), 1200-1208.
- Rice-Evans, C. ve Miller, N. J. (1994). Total antioxidant status in plasma and body fluids. In *Methods in enzymology* (Vol. 234, ss. 279-293). Elsevier.
- R.N. Gallaher, K. Gallaher, A.J. Marshall, A.C. Marshall, Mineral analysis of ten types of commercially available tea, *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, S53–S57, 2006.
- Sarg, T., El-Dahmy, S. ve Salem, S. (1990). Germacranolides from *Anthemis melampodina*. *Sci Pharm*, 58, 33-35.
- Saroglou, V., Dorizas, N., Kypriotakis, Z. ve Skaltsa, H. D. (2006). Analysis of the essential oil composition of eight *Anthemis* species from Greece. *Journal of Chromatography A*, 1104(1-2), 313-322.
- Saroglou, V., Karioti, A., Heilmann, J., Kypriotakis, Z. ve Skaltsa, H. (2007). Sesquiterpene lactones from *Anthemis melanolepis*. *Helvetica Chimica Acta*, 90(1), 171-175.
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L. ve Leblebici, E. (2000). *Tohumlu bitkiler sistemiği*. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, 116, 394.
- Shawahna, R. ve Jaradat, N. A. (2017). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used by patients with psoriasis in the West Bank of Palestine. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17, 1-9.
- Skaltsa, H., Saroglou, V. ve Kypriotakis, Z. (2006). Sesquiterpene lactones and flavonoids from the aerial parts of *Anthemis melanolepis* L. *Planta Medica*, 72(11), P_154.
- Skoog, D. A., Holler, F. J. ve Crouch, S. R. (2007). *Instrumental analysis* (Vol. 47). Brooks/Cole, Cengage Learning Belmont.
- Staneva, J., Todorova, M. ve Evstatieva, L. (2002). Sesquiterpene lactones from *Anthemis carpatica* Willd. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57(9-10), 769-772.
- Staneva, J., Todorova, M., Evstatieva, L. ve Dimitrov, D. (2006). Sesquiterpene lactones in two endemic *Anthemis* species. *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences (1991)*, 59(11), 1159-1162.
- Staneva, J. D., Todorova, M. N. ve Evstatieva, L. N. (2005). New linear sesquiterpene lactones from *Anthemis cotula* L.
- Sunil Kumar, S. K., Vipin Kumar, V. K., Monika Rana, M. R. ve Dinesh Kumar, D. K. (2012). Enzyme inhibitors from plants: an alternate approach to treat diabetes.
- Tanker, M. (1990). *Farmakognozi cilt 2* [Kitap]. Hiperlink.
<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=nlebk&AN=713147&lang=tr&site=eds-live&authtype=uid>

- Tanker, M. ve Tanker, N. (1976). *Farmakognozi Cilt II*. Reman Matbaası, İstanbul.
- Tanker, N. T. (1990). *Farmakognozi*. Ankara Üniversitesi Basımevi.
- Tanker N, K. M., Coşkun, M. (2014). *Farmasötik Botanik*. 4. baskı.
- Tawaha, K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M. ve El-Elimat, T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry*, 104(4), 1372-1378.
- Thapa, B. (1989). Extraction of essential oil, national workshop on chemical investigation and processing of aromatic plants. In: Nepal.
- Theodori, R., Karioti, A., Rančić, A. ve Skaltsa, H. (2006). Linear sesquiterpene lactones from *Anthemis auriculata* and their antibacterial activity. *Journal of Natural Products*, 69(4), 662-664.
- Thorne, R. F. (2002). How many species of seed plants are there? *Taxon*, 51(3), 511-512.
- Todorova, M., Steneva, J. ve Eustatieva, L. (2007). Sesquiterpene lactones in *Anthemis auriculata*. *Nat. Prod. Res.*, 69, 662-664.
- Tognolini, M., Barocelli, E., Ballabeni, V., Bruni, R., Bianchi, A., Chiavarini, M. ve Impicciatore, M. (2006). Comparative screening of plant essential oils: phenylpropanoid moiety as basic core for antiplatelet activity. *Life Sciences*, 78(13), 1419-1432.
- Tregubova, I., Kosolapov, V. ve Spasov, A. (2012). Antioxidants: current situation and perspectives. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*, 43(1), 75-94.
- Trouillas, P., Calliste, C.-A., Allais, D.-P., Simon, A., Marfak, A., Delage, C. ve Duroux, J.-L. (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.
- Tuzlacı, E. ve Şenkardeş, İ. (2011). Turkish folk medicinal plants, X: Ürgüp (Nevşehir). *Marmara Pharmaceutical Journal*, 15(2), 58-68.
- Ugurlu, E. ve Seçmen, Ö. (2008). Medicinal plants popularly used in the villages of Yunt Mountain (Manisa-Türkiye). *Fitoterapia*, 79(2), 126-131.
- Ulas, T., Hacıbekiroğlu, T., Sezen, H. ve Büyükhatipoğlu, H. (2013). Comment on: Analysis of oxidative stress expressed by urinary level of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and biopyrrin in atrial fibrillation: Effect of sinus rhythm restoration. *International Journal of Cardiology*, 167(4), 1643.
- Uzel, A., Güvenşen, A. ve Çetin, E. (2004). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Anthemis xylopoda* O. Schwarz from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 95(2-3), 151-154.
- Vajs, V., Bulatović, V., Fodulović-Savikin, K., Menković, N., Macura, S., Juranic, N. ve Milosavljević, S. (1999). Highly oxygenated guaianolides from *Anthemis cretica* subsp. *cretica*. *Phytochemistry*, 50(2), 287-291.
- Vajs, V., Todorović, N., Bulatović, V., Menković, N., Macura, S., Juranić, N. ve Milosavljević, S. (2000). Further sesquiterpene lactones from *Anthemis carpatica*. *Phytochemistry*, 54(6), 625-633.

- Van den Berg, R., Haenen, G. R., van den Berg, H. ve Bast, A. (1999). Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chemistry*, 66(4), 511-517.
- Vas, G. ve Vekey, K. (2004). Solid-phase microextraction: A powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *Journal of Mass Spectrometry*, 39(3), 233-254.
- Veeresham, C. (2012). Natural products derived from plants as a source of drugs. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 3(4), 200-201.
<https://doi.org/10.4103/2231-4040.104709>
- Videla, L. A. ve Fernández, V. (1988). Biochemical aspects of cellular oxidative stress. *Archivos de Biología y Medicina Experimentales*, 21(1), 85-92.
- Vinothiya, K. ve Ashokkumar, N. (2017). Modulatory effect of vanillic acid on antioxidant status in high fat diet-induced changes in diabetic hypertensive rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 87, 640-652.
- Vucković, I., Vujisić, L., Vajs, V., Tešević, V., Janačković, P. ve Milosavljević, S. (2006). Phytochemical investigation of *Anthemis cotula*. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 71(2), 127-133.
- Vučković, I., Vujisić, L., Vajs, V., Tešević, V., Macura, S., Janačković, P. ve Milosavljević, S. (2006). Sesquiterpene lactones from the aerial parts of *Anthemis arvensis* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34(4), 303-309.
- Williams, C. A., Greenham, J., ve Harborne, J. B. (2001). The role of lipophilic and polar flavonoids in the classification of temperate members of the Anthemideae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29(9), 929-945.
- Williamson, G. (2013). Possible effects of dietary polyphenols on sugar absorption and digestion. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(1), 48-57.
- Wolff, S. P., Bascal, Z. A., ve Hunt, J. V. (1989). "Autoxidative glycosylation": Free radicals and glycation theory. *Progress in Clinical and Biological Research*, 304, 259-275.
- Wollenweber, E., ve Mayer, K. (1991). Exudate flavonoids of *Anthemis nobilis* and *A. tinctoria*.
- Wu, I.-L., Turnipseed, S. B., Andersen, W. C., ve Madson, M. R. (2020). Analysis of peptide antibiotic residues in milk using liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (LC-HRMS). *Food Additives & Contaminants: Part A*, 37(8), 1264-1278.
- Yeşilbağ, D. (2007). Fitobiyotikler. *Uludağ University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine*, 26(1-2), 33-39.
- Yoshioka, H., Mabry, T. J., ve Timmerman, M. B. (1973). *Sesquiterpene lactones*. University of Tokyo Press.
- Zengin, G., Sarıkürkçü, C., Aktümsek, A., ve Ceylan, R. (2014). *Sideritis galatica* Bornm.: A source of multifunctional agents for the management of oxidative damage, Alzheimer's, and diabetes mellitus. *Journal of Functional Foods*, 11, 538-547.