

MEHMET BOĞA

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAÇ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2012

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

CIRSIUM LEUCOPSIS VE *CIRSIUM SIPYLEUM* BİTKİLERİNDEN
SEKONDER METABOLİTLERİN SAFLAŞTIRILMASI, ANTİOKSİDAN
VE ANTİKOLİNESTERAZ AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

MEHMET BOĞA

DANIŞMAN
PROF.DR.UFUK KOLAK

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI
ANALİTİK KİMYA PROGRAMI

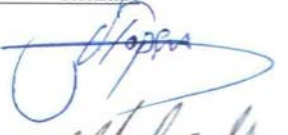

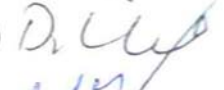


İSTANBUL-2012

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Programında Mehmet Boğa tarafından hazırlanan Cirsium leucopsis ve Cirsium sypyleum Bitkilerinden Sekonder Metabolitlerin Saflaştırılması, Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin Belirlenmesi başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

18 / 12 / 2012

Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.Prof.Dr. Gülaçtı TOPÇU (Tez İzleme Komisyonu - Bezm-i Alem Vakıf Üniv., Eczacılık Fak., Farmakognozi A.D.)	
2.Prof.Dr. Ufuk KOLAK (Tez Danışmanı-İstanbul Üniv., Eczacılık Fak., Analitik Kimya A.D.)	
3.Prof.Dr. Dürişehvar ÜNAL (İstanbul Üniv., Eczacılık Fak., Analitik Kimya A.D.)	
4.Doç.Dr. Sevgi TATAR ULU (Tez İzleme Komisyonu - İstanbul Üniv., Eczacılık Fak., Analitik Kimya A.D.)	
5.Doç.Dr. Nurten ÖZSOY (İstanbul Üniv., Eczacılık Fak., Biyokimya A.D.)	

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

MEHMET BOĞA

İTHAF

Sevgili eşim Atzize, oğlum Burak Yusuf ve canım Anneme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasında, bilgisinden ve deneyiminden yararlandığım, sabrını ve yol göstericiliğini benden esirgemeyen danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Ufuk KOLAK'a,

Akademik hayata girmemde en büyük payı olan ve desteğini her zaman yanımda hissettiğim Bezmialem Vakıf Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı Hocam Sayın Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU'ya,

Beni laboratuvarına kabul ederek bilgisini, laboratuvar imkanlarını ve HEJ Research Institute of Chemistry olanaklarını esirgemeyen Karachi Üniversitesi HEJ Research Institute of Chemistry öğretim üyesi Prof. Dr. Bina S. SIDDIQUI'ye,

Tez bitkilerimi toplayan ve teşhisini yapan Balıkesir Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Bayram YILDIZ'a,

Tez çalışmam sırasında her konuda fikir ve yardımlarını esirgemeyen Dicle Üniversitesi Atatürk Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu öğretim üyesi sevgili arkadaşım Yard. Doç. Dr. Abdulselam ERTAŞ'a çok teşekkür ederim.

Tez bitkilerimin botanik özelliklerinin yazımında yardımlarını esirgemeyen İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Bölümü araştırma görevlisi arkadaşım Dr. Mine KOÇYİĞİT'e,

Karachi Üniversitesi HEJ Research Institute of Chemistry 214 numaralı Natural Product Chemistry Laboratuvarında görevli teknisyen Mohammad SHARIF, uzman kimyager Mashad FATIMA'ya ve uzman kimyager Shaziya HABİB'e,

İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde araştırma görevlisi arkadaşlarım uzman kimyager Pelin KÖSEOĞLU, Dr. Esra EROĞLU ÖZKAN, uzman biyolog Yeter YEŞİL, Dr. Gökçe CİHAN, uzman biyolog Serpil DEMİRCİ, Dr. Tuba YILMAZ, Dr. Özlem KURT ve uzman biyolog Emel MATARACI'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında sürekli ayrı kaldığım ve her zaman, her anlamda yanımda olan, desteğini esirgemeyen eşim Azize BOĞA'ya, annem ve oğluma çok teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 4802).

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Xİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	Xİİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XIX
ÖZET	XXİİİ
ABSTRACT.....	XXIV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Botanik Bilgiler.....	3
2.1.1. Compositae (Asteraceae) Familyası.....	3
2.1.2. <i>Cirsium</i> Miller Cinsi	3
2.1.3. <i>Cirsium leucopsis</i> DC.	7
2.1.4. <i>Cirsium sipyleum</i> O. Schwarz	8
2.2. <i>Cirsium</i> Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı	8
2.3. <i>Cirsium</i> Türleri ile Yapılan Kimyasal Araştırmalar	10
2.4. <i>Cirsium</i> Türleri ile Yapılan Aktivite Çalışmaları	27
2.5. Antioksidanlar.....	29
2.5.1. Antioksidanların Sınıflandırılması	32
2.5.1.1. Birincil Antioksidanlar.....	32
2.5.1.2. İkincil Antioksidanlar.....	35
2.5.2. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri	37
2.6. Alzheimer Hastalığı	37
2.6.1. Asetilkolinesteraz (AChE) ve Butirikolinesteraz (BChE) İnhibitörleri.....	38
2.6.2. Kolinesteraz İnhibitörlerinin Alzheimer Hastalığındaki Mekanizması	38
2.7. Terpenler.....	41
2.7.1. Dağılımları	41

2.7.2. Oluşumları.....	41
2.7.3. Terpenlerin Sınıflandırılmaları	46
2.7.3.1. Diterpenler.....	46
2.7.3.2. Triterpenler.....	51
2.8. Steroitler.....	52
2.9. Glikozitler	53
2.9.1. O-Glikozitler	55
2.9.2. Alkol Glikozitleri	55
2.9.3. Fenol Glikozitleri	55
2.9.4. Steroit Glikozitleri.....	56
2.9.5. N-Glikozitleri	56
2.9.6. C-Glikozitleri	57
2.9.7. S-Glikozitleri (Tiyoglikozitler)	57
2.10. Fenolik Bileşikler.....	58
2.10.1. Flavonoitler	59
2.10.2. Basit Fenoller ve Fenolik Asitler	63
2.10.3. Fenilpropanoitler.....	64
2.10.4. Kinonlar	65
2.10.5. Lignanlar	65
2.11. Yağ Asitleri.....	69
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	70
3.1. Çalışmanın Yapıldığı Yer	70
3.2. Bitkisel Materyaller	70
3.3. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler	70
3.3.1. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler.....	70
3.3.2. Çözeltilerin Hazırlanması	71
3.3.2.1. Toplam Fenolik Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler	71
3.3.2.2. Toplam Flavonoit Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler	71
3.3.2.3. β -Karoten Renk Açılım Yönteminde Kullanılan Çözelti.....	71
3.3.2.4. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözelti	71
3.3.2.5. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözelti	72

3.3.2.6. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesinde Kullanılan Çözeltiler...	72
3.3.2.7. CUPRAC Yönteminde Kullanılan Çözeltiler	72
3.3.2.8. Antikolinesteraz Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltiler	73
3.3.2.9. Standart Çözeltilerinin Hazırlanması	74
3.3.2.10. İTK'da Kullanılan Belirtecin Hazırlanması	74
3.3.2.11. UV Kayma Belirteçlerinin Hazırlanması	75
3.4. Cihazlar ve Diğer Gereçler	75
3.5. Ekstrelerin Hazırlanışı	76
3.6. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Flavonoit İçeriklerinin Belirlenmesi	77
3.6.1. Toplam Fenolik İçeriklerinin Belirlenmesi	77
3.6.2. Toplam Flavonoit İçeriklerinin Belirlenmesi.....	78
3.7. Antioksidan Tayin Yöntemleri	79
3.7.1. β -Karoten-Linoleik Asit Yöntemi (Toplam Antioksidan Aktivite Tayini).....	79
3.7.2. DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) Serbest Radikal Giderim Yöntemi.....	80
3.7.3. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi	80
3.7.4. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi	81
3.7.5. CUPRAC Yöntemi.....	81
3.8. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi.....	81
3.8.1. Ellman metodu	81
3.8.1.1. AChE aktivite testi	82
3.8.1.2. BChE aktivite testi	82
3.9. İstatistik Hesaplamalar	82
3.10. Kromatografik Yöntemler.....	83
3.10.1. Kolon Kromatografisi	83
3.10.2. İnce Tabaka Kromatografisi.....	83
3.10.3. Gaz Kromatografisi ve Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi Şartları ...	84
3.10.3.1. GC Çalışma Şartları	84
3.10.3.2. GC/MS Çalışma Şartları	84
3.10.4. Preparatif HPLC Çalışma Şartları.....	85
3.11. Spektroskopik Yöntemler	86
3.11.1. UV Spektroskopisi	86
3.11.2. Kayma Belirteçleri ile Flavonoitlerin UV Spektrumlarının Alınması	86
3.11.2.1. Sodyum Metoksit (NaOCH_3) Belirteci ile UV Spektrumunun Alınması ..	86

3.11.2.2. Alüminyum Klorür/Hidrojen Klorür (AlCl ₃ /HCl) Belirteci ile UV Spektrumunun Alınması.....	86
3.11.2.3. Sodyum Asetat/Borik Asit (NaOAc/H ₃ BO ₃) Belirteci ile UV Spektrumunun Alınması.....	87
3.11.3. NMR Spektroskopisi.....	87
3.11.4. Kütle Spektroskopisi.....	87
4. BULGULAR.....	88
4.1. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktar Tayini Sonuçları.....	88
4.2. <i>C. leucopsis</i> ve <i>C. sipyleum</i> Bitkierinden Hazırlanan Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	89
4.2.1. β-Karoten Renk Açılım Yöntemi ile Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	89
4.2.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları.....	90
4.2.3. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları.....	91
4.2.4. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları.....	92
4.2.5. CUPRAC Yöntemi ile Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	93
4.3. <i>C. leucopsis</i> ve <i>C. sipyleum</i> Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları.....	94
4.4. <i>C. leucopsis</i> ve <i>C. sipyleum</i> Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Kimyasal İçerikleri.....	95
4.4.1. <i>Cirsium leucopsis</i> Bitkisinin Petrol Eteri Ekstresinin (CLP) Fraksiyonlandırılması.....	95
4.4.2. <i>Cirsium leucopsis</i> Bitkisinin Aseton Ekstresinin (CLA) Fraksiyonlandırılması.....	98
4.4.2.1. CLA 1 = β-Sitosterol-3-O-β-D-glikopiranozit.....	100
4.4.2.2. CLA 2= <i>cis</i> -Epoksikoniferil alkol.....	110
4.4.2.3. CLA 3=Syringin.....	117
4.4.3. <i>Cirsium leucopsis</i> Bitkisinin Metanol Ekstresinin (CLM) Fraksiyonlandırılması.....	128
4.4.4. <i>Cirsium sipyleum</i> Bitkisinin Petrol Eteri Ekstresinin (CSP) Fraksiyonlandırılması.....	129
4.4.4.1. CSP 1= Taraksasterol asetat.....	133
4.4.4.2. CSP 2= Taraksasterol.....	144
4.4.4.3. CSP 3 =β-Sitosterol.....	153

4.4.5. <i>Cirsium sipyleum</i> Bitkisinin Aseton Ekstresinin (CSA) Fraksiyonlandırılması	159
4.4.5.1. CSA1=Apigenin	160
4.4.5.2. CSA 2=Balanophonin	167
4.4.5.3. CSA 3= <i>p</i> -Hidroksibenzoik asit	175
4.4.5.4. CSA 4=1'-O-Metilbalanophonin	182
4.4.6. <i>Cirsium sipyleum</i> Bitkisinin Metanol Ekstresinin (CSM) Fraksiyonlandırılması	192
4.4.6.1. CSM 1= Vanilik asit.....	194
4.4.6.2. CSM 2=Kampferol-3-O- β -D-glikopiranozit.....	204
4.4.6.3. CSM 3=Kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranozit	208
4.4.7. <i>C. leucopsis</i> ve <i>C. sipyleum</i> Bitkilerinden Elde Edilen Saf Maddelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	219
4.4.7.1. Saf Maddelerin β -Karoten Renk Açılım Yöntemi ile Antioksidan Aktivite Sonuçları	220
4.4.7.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivite Sonuçları	221
4.4.7.3. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları.....	222
4.4.7.4. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları.....	223
4.4.7.5. CUPRAC Yöntemi ile Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	224
4.4.8. Saf Maddelerin Antkolinesteraz Aktivite Sonuçları	225
5. TARTIŞMA	226
KAYNAKLAR	229
ÖZGEÇMİŞ	249

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: <i>Cirsium</i> Türlerinden Elde Edilen Bileşikler.....	11
Tablo 2-2: Reaktif Oksijen ve Azot Türleri.....	29
Tablo 2-3: Terpenlerin Sınıflandırılması	46
Tablo 2-4: Bitkisel Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması	58
Tablo 2-5: Flavonoitlerin Renk Reaksiyonları	60
Tablo 2-6: Bazı Flavonoitlerin NH ₃ Buharı ve NA Belirteciyle Oluşturdukları Renkler	61
Tablo 2-7: Doğal Olarak Oluşan Δ^9 -Alkenoik Asitler.....	69
Tablo 2-8: Doğal Olarak Oluşan Δ^9 Haricindeki Diğer Doymamış Alkenoik Asitler ...	69
Tablo 4-1: Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarları ^a	88
Tablo 4-2: <i>C. leucopsis</i> ve <i>C. sipyleum</i> Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları ^a	94
Tablo 4-3: CLP' nin Apolar Fraksiyonlarının GC-MS Analiz Sonucu.....	96
Tablo 4-4: CLA 1' in ¹³ C-NMR ve ¹ H-NMR Değerleri (DMSO, <i>J</i> değerleri parantez içinde verildi).....	101
Tablo 4-5: CLA 2' nin ¹³ C-NMR, HMQC ve HMBC Değerleri (CDCl ₃ , <i>J</i> değerleri parantez içinde verildi)	110
Tablo 4-6: CLA 3'ün ¹³ C-NMR, HSQC ve HMBC Değerleri (DMSO, <i>J</i> değerleri parantez içinde verildi)	118
Tablo 4-7: CSP' nin Apolar Fraksiyonlarının GC-MS Analiz Sonucu.....	130
Tablo 4-8: CSP 1' in ¹³ C-NMR ve ¹ H-NMR Değerleri (CDCl ₃ , <i>J</i> değerleri parantez içinde verildi).....	134
Tablo 4-9: CSP 2' ün ¹³ C-NMR ve ¹ H-NMR Değerleri (CDCl ₃ , <i>J</i> değerleri parantez içinde verildi).....	145
Tablo 4-10: CSP 3' ün ¹³ C-NMR ve ¹ H-NMR Değerleri (CDCl ₃ , <i>J</i> değerleri parantez içinde verildi).....	154
Tablo 4-11: CSA 1' in ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR Değerleri (CD ₃ COCD ₃ , <i>J</i> değerleri parantez içinde verildi)	161
Tablo 4-12: CSA 2' in ¹³ C-NMR, HMQC ve HMBC Değerleri (CDCl ₃ , <i>J</i> değerleri parantez içinde verildi)	168

Tablo 4-13: CSA 3' nin ^{13}C -NMR, HSQC ve HMBC Değerleri (CD_3OD , J değerleri parantez içinde verildi)	175
Tablo 4-14: CSA 4' ün ^{13}C -NMR, HSQC ve HMBC Değerleri (CD_3COCD_3 , J değerleri parantez içinde verildi)	183
Tablo 4-15: CSM 10' nun ^{13}C -NMR, HSQC ve HMBC Değerleri (CD_3OD , J değerleri parantez içinde verildi)	194
Tablo 4-16: CSM 2 Bileşiminin ^1H -NMR Değerleri (CD_3OD , J değerleri parantez içinde verildi).....	205
Tablo 4-17: CSM 3' ün ^{13}C -NMR, HSQC ve HMBC Değerleri (CD_3OD , J değerleri parantez içinde verildi)	209
Tablo 4-18: Saf Maddeler ile Yapılan Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktivite Çalışmaları.....	219
Tablo 4-19: Saf Maddelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları ^a	225

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Birincil Antioksidanlar	35
Şekil 2-2: İkincil Antioksidanlar.....	36
Şekil 2-3: İzopren.....	41
Şekil 2-4: Mevalonik Asit.....	41
Şekil 2-5: İkincil Metabolitlerin Oluşumu.....	42
Şekil 2-6: Mevalonik Asit–5–Pirofosfat Oluşumu	42
Şekil 2-7: İzopentil Pirofosfat Oluşumu	43
Şekil 2-8: İzopentil Pirofosfatın İzomerizasyonu	43
Şekil 2-9: Geranil Pirofosfatın Oluşumu	44
Şekil 2-10: Farnesil Pirofosfatın Oluşumu	44
Şekil 2-11: Geranil-Geranil Pirofosfat Oluşumu	45
Şekil 2-12: Terpenlerin Oluşumu	45
Şekil 2-13: Doğada Çok Bulunan Diterpen İskeletleri	47
Şekil 2-14: Monosiklik Diterpenler	48
Şekil 2-15: Bisiklik, Trisiklik, Tetrasiklik ve Pentasiklik Diterpenler	49
Şekil 2-16: Lakton ya da Furan Halkası İçeren Diterpenler	49
Şekil 2-17: Aromatik ve Kinoit Yapıdaki Diterpenler.....	50
Şekil 2-18: Diterpen Alkaloidler	50
Şekil 2-19: Triterpen İskeletleri.....	51
Şekil 2-20: Steroitlerin İskelet Yapısı.....	52
Şekil 2-21: Kolesterol	52
Şekil 2-22: Doğada Çok Bulunan Monosakkaritler.....	54
Şekil 2-23: <i>D</i> -Glukozun α, β -Piranoz ve α, β -Furanoz Yapıları	54
Şekil 2-24: Siyanogenetik Bir Glikozitin Hidrolizi (Amigdalın'ın Amigdonitril'e ve Benzaldehit'e Hidrolozi).....	55
Şekil 2-25: Fenol Glikozitleri	56
Şekil 2-26: Steroit Glikozit	56
Şekil 2-27: <i>N</i> -Glikozitler	57
Şekil 2-28: <i>C</i> -Glikozitler	57
Şekil 2-29: <i>S</i> -Glikozit	58
Şekil 2-30: 2-Fenil Benzopiran.....	59

Şekil 2-31: Flavonoit İskeletleri	59
Şekil 2-32: Bant I ve Bant II'yi Veren Gruplar	62
Şekil 2-33: Basit Fenol ve Fenolik Asitler.....	63
Şekil 2-34: Bazı Fenilpropanoit Bileşikler	64
Şekil 2-35: Bazı Kinoit Bileşikler.....	65
Şekil 2-36: Fenilpropan	66
Şekil 2-37: Temel Lignan Türleri	66
Şekil 2-38: Bazı Neolignan Yapıları.....	67
Şekil 2-39: (-)-Mateiresinol, Syringaresinol ve Trachelogenin Bileşikleri	68
Şekil 3-1: Pirokatekolün Ölçü Grafiği.....	77
Şekil 3-2: Kersetinin Ölçü Grafiği.....	78
Şekil 4-1: <i>C. leucopsis</i> ve <i>C. sipyleum</i> Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin β -Karoten Renk Açılım Yöntemi ile Antioksidan Aktiviteleri	89
Şekil 4-2: <i>C. leucopsis</i> ve <i>C. sipyleum</i> Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin DPPH Serbest Radikali Giderim Aktiviteleri	90
Şekil 4-3: <i>C. leucopsis</i> ve <i>C. sipyleum</i> Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin ABTS Katyon Radikali Giderim Aktiviteleri	91
Şekil 4-4: <i>C. leucopsis</i> ve <i>C. sipyleum</i> Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktiviteleri	92
Şekil 4-5: <i>C. leucopsis</i> ve <i>C. sipyleum</i> Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin CUPRAC Yöntemi ile Antioksidan Aktiviteleri	93
Şekil 4-6: CLP' nin Kimyasal Bileşimi.....	96
Şekil 4-7: CLP' nin Kimyasal Bileşimi (Devamı)	97
Şekil 4-8: CLP' nin Kimyasal Bileşimi (Devamı)	98
Şekil 4-9: CLA' dan Elde Edilen Saf Maddelerin İzolasyon Şeması.....	99
Şekil 4-10.....	100
Şekil 4-11: β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit' in UV Spektrumu	102
Şekil 4-12: β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit' in IR Spektrumu.....	103
Şekil 4-13: β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit' in $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (DMSO) ...	104
Şekil 4-14: β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit' in $^{13}\text{C-NMR}$ (BB) Spektrumu (DMSO)	105
Şekil 4-15: β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit' in $^{13}\text{C-NMR}$ (DEPT 90) Spektrumu (DMSO)	106

Şekil 4-16: β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit' in ^{13}C -NMR (DEPT 135) Spektrumu (DMSO).....	107
Şekil 4-17: β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit' in HMBC Spektrumu (DMSO).....	108
Şekil 4-18: β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit' in HSQC Spektrumu (DMSO).....	109
Şekil 4-19.....	110
Şekil 4-20: <i>cis</i> -Epoksikoniferil alkol ' ün UV spektrumu.....	111
Şekil 4-21: <i>cis</i> -Epoksikoniferil alkol ' ün IR Spektrumu.....	112
Şekil 4-22: <i>cis</i> -Epoksikoniferil alkol' ün ^1H -NMR Spektrumu (CDCl_3).....	113
Şekil 4-23: <i>cis</i> -Epoksikoniferil alkol' ün ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (CDCl_3).....	114
Şekil 4-24: <i>cis</i> -Epoksikoniferil alkol' ün HMQC Spektrumu (CDCl_3).....	115
Şekil 4-25: <i>cis</i> -Epoksikoniferil alkol' ün HMBC Spektrumu (CDCl_3).....	116
Şekil 4-26.....	117
Şekil 4-27: Syringin' in UV Spektrumu.....	119
Şekil 4-28: Syringin' in IR Spektrumu.....	120
Şekil 4-29: Syringin' in ^1H -NMR Spektrumu (DMSO).....	121
Şekil 4-30: Syringin' in ^{13}C -NMR (BB) Spektrumu (DMSO).....	122
Şekil 4-31: Syringin' in ^{13}C -NMR (DEPT 90) Spektrumu (DMSO).....	123
Şekil 4-32: Syringin' in ^{13}C -NMR (DEPT 135) Spektrumu (DMSO).....	124
Şekil 4-33: Syringin' in HSQC Spektrumu (DMSO).....	125
Şekil 4-34: Syringin' in HMBC Spektrumu (DMSO).....	126
Şekil 4-35: Syringin' in ESI-MS Spektrumu.....	127
Şekil 4-36: <i>Cirsium sipleum</i> Bitkisinin Petrol Eteri Ekstresinin İzolasyon Şeması.....	129
Şekil 4-37: CSP' nin Kimyasal Bileşimi.....	130
Şekil 4-38: CSP' nin Kimyasal Bileşimi (Devamı).....	131
Şekil 4-39: CSP' nin Kimyasal Bileşimi (Devamı).....	132
Şekil 4-40.....	133
Şekil 4-41: Taraksasterol asetat' in UV Spektrumu.....	135
Şekil 4-42: Taraksasterol asetat' in IR Spektrumu.....	136
Şekil 4-43: Taraksasterol asetat' in ^1H -NMR Spektrumu (CDCl_3).....	137
Şekil 4-44: Taraksasterol asetat' in ^{13}C -NMR (BB) Spektrumu (CDCl_3).....	138
Şekil 4-45: Taraksasterol asetat' in ^{13}C -NMR (DEPT 90) Spektrumu (CDCl_3).....	139
Şekil 4-46: Taraksasterol asetat' in ^{13}C -NMR (DEPT 135) Spektrumu (CDCl_3).....	140
Şekil 4-47: Taraksasterol asetat' in HSQC Spektrumu (CDCl_3).....	141

Şekil 4-48: Taraksasterol asetat' ın HMBC Spektrumu (CDCl ₃).....	142
Şekil 4-49: Taraksasterol asetat' ın Kütle Spektrumu.....	143
Şekil 4-50.....	144
Şekil 4-51: Taraksasterol' ün UV Spektrumu	146
Şekil 4-52: Taraksasterol' ün IR Spektrumu	147
Şekil 4-53: Taraksasterol' ün ¹ H-NMR Spektrumu (CDCl ₃).....	148
Şekil 4-54: Taraksasterol' ün ¹³ C-NMR (APT) Spektrumu (CDCl ₃).....	149
Şekil 4-55: Taraksasterol' ün HMQC Spektrumu (CDCl ₃).....	150
Şekil 4-56: Taraksasterol' ün HMBC Spektrumu (CDCl ₃).....	151
Şekil 4-57: Taraksasterol' ün Kütle Spektrumu	152
Şekil 4-58.....	153
Şekil 4-59: β-Sitosterol' ün UV Spektrumu	155
Şekil 4-60: β-Sitosterol ' ün IR Spektrumu	156
Şekil 4-61: β-Sitosterol ' ün ¹ H-NMR Spektrumu (CDCl ₃).....	157
Şekil 4-62: β-Sitosterol' ün ¹³ C-NMR (APT) Spektrumu (CDCl ₃)	158
Şekil 4-63: <i>Cirsium sipyleum</i> Aseton Ekstresinin İzolasyon Şeması	159
Şekil 4-64.....	160
Şekil 4-65: Apigenin' in UV Spektrumu.....	162
Şekil 4-66: Apigenin' nin Kayma Belirteçleri ile Alınan UV Spektrumları.....	163
Şekil 4-67: Apigenin' in IR Spektrumu	164
Şekil 4-68: Apigenin' in ¹ H-NMR Spektrumu (CD ₃ COCD ₃).....	165
Şekil 4-69: Apigenin' in ¹³ C-NMR (BB) Spektrumu (CD ₃ COCD ₃).....	166
Şekil 4-70.....	167
Şekil 4-71: Balanophonin' nin UV Spektrumu	169
Şekil 4-72: Balanophonin' nin IR Spektrumu	170
Şekil 4-73: Balanophonin' nin ¹ H-NMR Spektrumu (CDCl ₃)	171
Şekil 4-74: Balanophonin' nin ¹³ C-NMR (APT) Spektrumu (CDCl ₃).....	172
Şekil 4-75: Balanophonin' nin HMQC Spektrumu (CDCl ₃).....	173
Şekil 4-76: Balanophonin' nin HMBC Spektrumu (CDCl ₃).....	174
Şekil 4-77.....	175
Şekil 4-78: <i>p</i> -Hidroksibenzoik Asit' in UV Spektrumu	176
Şekil 4-79: <i>p</i> -Hidroksibenzoik Asit' in IR Spektrumu	177
Şekil 4-80: <i>p</i> -Hidroksibenzoik Asit' in ¹ H-NMR Spektrumu (CD ₃ OD)	178

Şekil 4-81: <i>p</i> -Hidroksibenzoik Asit' in ^{13}C -NMR (BB) Spektrumu (CD_3OD)	179
Şekil 4-82: <i>p</i> -Hidroksibenzoik Asit' in HSQC Spektrumu (CD_3OD)	180
Şekil 4-83: <i>p</i> -Hidroksibenzoik Asit' in HMBC Spektrumu (CD_3OD)	181
Şekil 4-84	182
Şekil 4-85: 1'-O-Metilbalanophonin' nin UV Spektrumu	184
Şekil 4-86: 1'-O-Metilbalanophonin' nin IR Spektrumu	185
Şekil 4-87: 1'-O-Metilbalanophonin' nin ^1H -NMR Spektrumu (CD_3COCD_3)	186
Şekil 4-88: 1'-O-Metilbalanophonin' nin ^{13}C -NMR (BB) Spektrumu (CD_3COCD_3) ..	187
Şekil 4-89: 1'-O-Metilbalanophonin' nin ^{13}C -NMR (DEPT 90) Spektrumu (CD_3COCD_3)	188
Şekil 4-90: 1'-O-Metilbalanophonin' nin ^{13}C -NMR (DEPT 135) Spektrumu (CD_3COCD_3)	189
Şekil 4-91: 1'-O-Metilbalanophonin' nin HSQC Spektrumu (CD_3COCD_3)	190
Şekil 4-92: 1'-O-Metilbalanophonin' nin HMBC Spektrumu (CD_3COCD_3)	191
Şekil 4-93: <i>Cirsium sipyleum</i> Metanol Ekstresinin İzolasyon Şeması	193
Şekil 4-94	194
Şekil 4-95: Vanilik Asit' in UV Spektrumu	195
Şekil 4-96: Vanilik Asit' in IR Spektrumu	196
Şekil 4-97: Vanilik Asit' in ^1H -NMR Spektrumu (CD_3OD)	197
Şekil 4-98: Vanilik Asit' in ^{13}C -NMR (BB) Spektrumu (CD_3OD)	198
Şekil 4-99: Vanilik Asit' in ^{13}C -NMR (DEPT 90) Spektrumu (CD_3OD)	199
Şekil 4-100: Vanilik Asit' in ^{13}C -NMR (DEPT 135) Spektrumu (CD_3OD)	200
Şekil 4-101: Vanilik Asit' in HSQC Spektrumu (CD_3OD)	201
Şekil 4-102: Vanilik Asit' in HMBC Spektrumu (CD_3OD)	202
Şekil 4-103: Vanilik Asit' in Kütle Spektrumu	203
Şekil 4-104	204
Şekil 4-105: Kampferol-3-O- β -D-glikopiranozit Bileşiğinin UV Spektrumu	206
Şekil 4-106: Kaempferol-3-O- β -D-glikopiranozit' in ^1H -NMR Spektrumu (CD_3OD) ..	207
Şekil 4-107	208
Şekil 4-108: Kaempferol-3-O- α -L-ramnopiranozit' in UV Spektrumu	210
Şekil 4-109: Kaempferol-3-O- α -L-ramnopiranozit' in Kayma Belirteçleri ile Alınan UV Spektrumları	211
Şekil 4-110: Kaempferol-3-O- α -L-ramnopiranozit' in IR Spektrumu	212

Şekil 4-111: Kaempferol-3-O- α -L-ramnopiranozit'in ^1H -NMR Spektrumu (CD ₃ OD)	213
Şekil 4-112: Kaempferol-3-O- α -L-ramnopiranozit'in ^{13}C -NMR (BB) SSpektrumu (CD ₃ OD)	214
Şekil 4-113: Kaempferol-3-O- α -L-ramnopiranozit'in ^{13}C -NMR (DEPT 90) Spektrumu	215
Şekil 4-114: Kaempferol-3-O- α -L-ramnopiranozit' in ^{13}C -NMR (DEPT 135) Spektrumu (CD ₃ OD)	216
Şekil 4-115: Kaempferol-3-O- α -L-ramnopiranozit' in HSQC Spektrumu (CD ₃ OD)	217
Şekil 4-116: Kaempferol-3-O- α -L-ramnopiranozit'in HMBC Spektrumu (CD ₃ OD)	218
Şekil 4-117: Saf Maddelerin β -Karoten Renk Açılım Yöntemi ile Antioksidan Aktiviteleri	220
Şekil 4-118: Saf Maddelerin DPPH Serbest Radikali Giderim Aktiviteleri	221
Şekil 4-119: Saf Maddelerin ABTS Katyon Radikali Giderimi Aktivitesi	222
Şekil 4-120: Saf Maddelerin Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi	223
Şekil 4-121: Saf Maddelerin CUPRAC Aktivitesi Sonuçları	224

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

A [•]	: Antioksidan radikali
ABTS	: 2,2'-Azinobis (3-etilbenzotrazolin-6-sülfonat)
Ac	: Aseton
AChE	: Asetilkolinesteraz
AH	: Birincil antioksidan
APP	: Amiloit prekürsör protein
APT	: Attached proton test
ATP	: Adenozintrifosfat
BChE	: Butirilkolinesteraz
BHA	: Bütillenmişhidroksi anisol
BHT	: Bütillenmişhidroksi toluen
Cat	: Catechin
CHCl ₃	: Kloroform
CLA	: <i>Cirsium leucopsis</i> aseton ekstresi
CLM	: <i>Cirsium leucopsis</i> metanol ekstresi
CLP	: <i>Cirsium leucopsis</i> petrol eteri ekstresi
CSA	: <i>Cirsium sipyleum</i> aseton ekstresi
CSM	: <i>Cirsium sipyleum</i> metanol ekstresi
CSP	: <i>Cirsium sipyleum</i> petrol eteri ekstresi
CUPRAC	: Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi
DCFA-DA	: Diklorofloresin-diasetat
DCM	: Diklorometan
DEE	: Dietil eter
DEPT	: Distortionless enhancement by polarization transfer

dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
DTNB	: 5,5-Ditiyobis(2-nitro benzoik asit)
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
EI-MS	: Elektron impakt kütle spektroskopisi
ESI-MS	: Elektron spray iyonlaşma kütle spektroskopisi
FCR	: Folin Ciocalteu fenol reaktifi
FDA	: US food and drug administration
FRAP	: Demir (III) indirgeme antioksidan gücü
GC	: Gaz kromatografisi
GC-MS	: Gaz kromatografisi kütle spektroskopisi
GSH	: Glutatyon
HMBC	: Heteronuclear multiple bond coherence
HMQC	: Heteronuclear multiple quantum coherence
HNO ₂	: Nitroz asit
HO ₂ [•]	: Hidroperoksi radikali
HBrO	: Hipobromöz asit
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HClO	: Hipokloröz asit
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
HSQC	: Heteronuclear single quantum coherence
IR	: Infrared spektroskopisi
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
MeOH	: Metanol
NaAc	: Sodyum asetat

NADH	: Nikotinamidadenindinükleotit
NBT	: Nitroblutetrazolyum
NMDA	: N-metil-D-aspartat
NMR	: Nükleer magnetik rezonans
NO ⁺	: Nitrozil katyonu
NO ⁻	: Nitroksi anyonu
NO [•]	: Azot monoksit radikali
NO ₂ [•]	:Azot dioksit radikali
NO ₂ ⁺	: Nitronyum katyonu
¹ O ₂	: Singlet oksijen
O ₂ ^{•-}	: Süperoksit anyon radikali
O ₂ [•]	: Süperoksit radikali
O ₃	: Ozon
OH [•]	: Hidroksil radikali
ONOO ⁻	: Peroksinitrit anyonu
ORAC	: Oksijen radikalini absorplama kapasitesi
PE	: Fikoeritrin
PEs	: Pirokatekole eşdeğer
PG	: Propil gallat
PMS	: Fenazinmetasülfat
Q	: Kersetin
QEs	: Kersetine eşdeğer
R [•]	: Alkil radikali
RO [•]	: Alkoksi radikali
ROO [•]	: Peroksi radikali
ROOH	: Hidroperoksit

ROONO	: Alkilperoksi nitril
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RS [•]	: Tiyil radikali
RSO [•]	: Sülfenil radikali
RSO ₂ [•]	: Tiyil peroksit radikali
s	: Saat
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBHQ	: <i>t</i> -Bütilhidrokinon
TMS	: Tetrametilsilan
Tol	: Toluen
TOC	: α -Tokoferol
TOSC	: Toplam oksiradikal süpürme kapasitesi
TRAP	: Toplam radikal tutma parametresi
Tween-40	: Polioksietilensorbitan monopalmitat
UV	: Ultraviyole spektroskopisi

ÖZET

Boğa, M. (2012). *Cirsium leucopsis* ve *Cirsium sipyleum* Bitkilerinden Sekonder Metabolitlerin Saflaştırılması, Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin Belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi. İstanbul.

Bu tez çalışmasında, *Cirsium leucopsis* DC. ve *C. sipyleum* O. Schwarz bitkilerinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoit içerikleri sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlendi. Her iki bitkinin petrol eteri ekstrelerinden elde edilen apolar fraksiyonlar GC/MS kullanılarak analiz edildi. *C. leucopsis* ve *C. sipyleum* bitkilerinden kromatografik yöntemler kullanılarak iki triterpenoit (taraksasterol, taraksasterol asetat), iki lignan (*cis*-epoksikoniferil alkol, syringin), iki neolignan (balanophonin, 1'-O-metilbalanophonin), iki fenolik bileşik (*p*-hidroksibenzoik asit, vanilik asit), iki flavonoit glikozit (kampferol-3-O- β -D-glikopiranozit, kampferol-3-O- α -L-ramnopiranozit), bir flavon (apigenin), bir steroid (β -sitosterol) ve bir steroid glikozit (β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit) elde edildi. Yapı tayininde spektroskopik yöntemler kullanıldı. Antioksidan aktivitenin belirlenmesinde β -karoten renk açılım, DPPH serbest radikali, ABTS katyon radikali ve süperoksit anyon radikali giderim ve CUPRAC yöntemleri, antikolinesteraz aktivitenin tayininde Ellman yöntemi kullanıldı.

Bu tez çalışmasında, *C. leucopsis* ve *C. sipyleum* bitkilerinin fitokimyasal, antioksidan ve antikolinesteraz aktivite çalışmaları ilk kez yapıldı. *cis*-epoksikoniferil alkol, balanophonin ve 1'-O-metilbalanophonin (aynı zamanda Asteraceae familyasından da) *Cirsium* türlerinden ilk kez elde edildi. *C. leucopsis* bitkisinin aseton ekstresi β -karoten renk açılım yönteminde 100 $\mu\text{g/mL}$ ' de %80 inhibisyon gösterdi. Balanophonin, vanilik asit ve kampferol-3-O- α -L-ramnopiranozit kuvvetli antioksidan aktivite gösterdi. Test edilen tüm ekstrelerin ve saflaştırılan maddelerin asetil- ve butiril-kolinesteraz enzimlerine karşı aktif olmadıkları bulundu, taraksasterol' ün orta düzeyde antikolinesteraz etkiye sahip olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler : Asteraceae, *Cirsium leucopsis*, *Cirsium sipyleum*, antioksidan, antikolinesteraz

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 4802

ABSTRACT

Boğa, M. (2012). Structure Elucidation and Determination of Antioxidant and Anticholinesterase Activities of the Isolated Secondary Metabolites from *Cirsium leucopsis* and *Cirsium sipyleum*. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Analytical Chemistry, Ph.D. Thesis. Istanbul.

In this thesis, total phenolic and total flavonoid contents of the extracts from the aerial parts of *Cirsium leucopsis* DC. and *C. sipyleum* O. Schwarz were determined as pyrocatechol and quercetin equivalents, respectively. The non-polar fractions of the petroleum ether extracts from these two plants were analysed using GC/MS. Two triterpenoids (taraxasterol, taraxasterol acetate), two lignans (*cis*-epoxyconiferyl alcohol, syringin), two neolignans (balanophonin, 1'-O-methylbalanophonin), two phenolic acids (*p*-hydroxybenzoic acid, vanillic acid), two flavonoid glycosides (kaempferol-3-O- β -D-glycopyranoside, kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranoside), a flavone (apigenin), a steroid (β -sitosterol) and a steroid glycoside (β -sitosterol-3-O- β -D-glycopyranoside) were isolated using chromatographic methods from *C. leucopsis* and *C. sipyleum*. Structure elucidation of the isolates was determined using spectroscopic methods. The antioxidant activity was carried out by using β -carotene bleaching, DPPH free radical, ABTS cation radical and superoxide anion radical scavenging activity, CUPRAC methods, and the anticholinesterase activity by the Ellman assay, *in vitro*.

In this thesis, the phytochemical investigation of *C. leucopsis* and *C. sipyleum* with their antioxidant and anticholinesterase activities were determined for the first time. *cis*-Epoxyconiferyl alcohol, balanophonin and 1'-O-methylbalanophonin (also from Asteraceae family) were isolated for the first time from *Cirsium* species. Among the obtained extracts, acetone extract of *C. leucopsis* exhibited highest activity with 80% inhibition at 100 μ g/mL in β -carotene bleaching method. Balanophonin, vanillic acid and kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranoside showed strong antioxidant activity. Almost none of the tested extracts and isolated compounds have been found to be active against acetyl- and butyryl-cholinesterase enzymes, while taraxasterol possessed moderate anticholinesterase activity.

Key Words: Asteraceae, *Cirsium leucopsis*, *Cirsium sipyleum*, antioxidant, anticholinesterase

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 4802

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yaşam için gerekli olan oksijen aynı zamanda toksik etkiye de sahiptir. Bu toksisite oksijenin oluşturduğu reaktif oksijen türlerinden kaynaklanmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin çeşitli hastalıkların gelişmesinde önemli rolü olduğunu ortaya koyan pek çok çalışma vardır. Reaktif oksijen türleri lipitlerin, proteinlerin ve DNA'nın hasarına yol açar. DNA'nın hasarı da kanser riskini arttırmaktadır. Reaktif oksijen türleri özellikle kanserin ilerleme aşamasında rol oynar (Hsu ve ark. 2005).

Antioksidanlar, reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerini azaltırlar veya ortadan kaldırırlar. Canlılarda, reaktif oksijen türlerinin meydana getirdiği zararları ortadan kaldırmak için çeşitli antioksidan savunma mekanizmaları mevcuttur. Bu mekanizmaların savunmada yetersiz kalması sonucunda ortaya çıkabilecek hastalıklardan korunmak için antioksidan etkiye sahip meyve, sebze ve şifalı bitkilerin tüketilmesinin insan sağlığı açısından faydalı olduğunu gösteren çok sayıda araştırma vardır (Hsu ve ark. 2005, Salvatore ve ark. 2005).

İşlenmiş gıdaların bozunmasını önlediği ve raf ömrünü uzattığı için sentetik antioksidanlar gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Ancak sentetik antioksidanlar ve oluşturdukları yan ürünlerin başta kanser olmak üzere çeşitli hastalıklara neden oldukları belirlenmiştir (Ito ve ark. 1983, 1990, Namiki 1990, Pokorny 1991). Son yıllarda işlenmiş gıdalarda koruyucu olarak kullanılmak üzere doğal kaynaklı antioksidanların bulunması amacı ile yapılan araştırmalar artmıştır.

Bu doktora tez çalışmasında daha önce çalışılmamış ve endemik olan *Cirsium leucopsis* ve *C. sypyleum* bitkilerinin topraküstü kısımlarından hazırlanan petrol eteri, aseton ve metanol ekstraktlarının toplam fenolik ve toplam flavonoit miktarlarının belirlenerek β -karoten renk açılım, DPPH serbest radikali giderim, ABTS katyon radikali giderim, süperoksit anyon radikali giderim ve CUPRAC yöntemleri kullanılarak antioksidan aktivitelerinin ve Ellman yöntemi ile antikolinesteraz aktivitelerinin tayin edilmesi, kromatografik yöntemler kullanılarak sekonder metabolitlerin saflaştırılması, saf maddelerin spektroskopik yöntemlerle yapılarının aydınlatılması ve aktivitelerinin belirlenmesi amaçlandı. Ayrıca her iki bitkinin petrol

eteri ekstrelerinden elde edilen apolar fraksiyonların GC-MS analizi ile içerikleri belirlendi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Compositae (Asteraceae) Familyası

Compositae (Asteraceae), çiçekli bitkiler arasında tür sayısı bakımından en zengin olan ve bu türler değişik sekonder metabolitler taşıdığı için önemli bir familyadır. Yaklaşık 900 cins ve 20.000 tür içermektedir (Hickey 1981). Ülkemizde 130 cins ve 1156 tür ile temsil edilmektedir, bu türlerin 430'u endemiktir (%38 endemizm oranı) (Davis ve Parris 1975).

Bu familyadaki bitkiler tek yıllık, iki yıllık veya çok yıllık otsu bitkiler veya çalılardır, latisifer sistem bulunur veya bulunmaz. Yapraklar alternan veya bazen karşılıklı, stipulasız (nadiren stipulaya benzer), tam, dişli, loblu veya farklı parçalanma şekillerine sahip. Çiçekler çoğunlukla çok sayıda, nadiren tek, sapsız ve fillari (brakte) halkasından oluşan bir involukrum ile korunmuş kapitulum üzerinde kümelenmiştir nadiren birleşik; kapitulum bazen ikinci bir kapituluma benzer yapıda kümeleşmiş. Reseptakulum çıplak veya palea ile örtülü, türler uzun veya kıl şeklindedir. Çiçekler alt durumlu, ya hepsi hermafrodit ve erkek organlar dişi organdan önce olgunlaşır ya da dişi organ önce olgunlaşır veya erkek organ verimsiz kalır. Kaliks ovaryumun tepesinde, kılsı, pulsı veya dallanmış tüylü bir yapıda papus şeklindedir, bazen tamamen dökülür. Korolla birleşik petalli, tubular, filiform, dilsi veya nadiren 2 dudaklı, genellikle 3-5 dişli, nadiren yok. Stamenler 4 (-5) petale bağlı, filamentler genellikle serbest, anterler stilus etrafında bir halka oluşturacak şekilde birleşik, nadiren serbest, iç tarafa doğru açılır. Ovaryum alt durumlu, tek gözlü, stilus genellikle ikiye çatallanmış, tüy şeklindeki stiluslar, anterlerden polenleri alabilecek yapıdadır. Meyve aken, papus kalıcı veya düşücü, sapsız veya gagalıdır (Davis ve Parris 1975).

2.1.2. *Cirsium* Miller Cinsi

Çok yıllık, iki yıllık veya nadiren tek yıllık otsu bitkiler; nadiren dioik; gövde dikenli-kanatlı veya dikensiz, dallanmış veya dallanmamıştır. Yaprak kenarları dikenli, üst yüzey kıl şeklinde tüylü ve küçük dikenli, kenarları tam veya pinnatisekt. Kapitula homogam, tablamsı, tek veya çok. Fillariler çok sıralı, kiremit şeklinde dizilmiş, üst kısımlarda yatık veya az çok yüzeye dik, uç kısmın hemen altında salgı cebi var veya

yok, bazen ek yapılı, genellikle uçta bir iğne, kenarları düz-küçük dikenli veya kentiklidir. Reseptakulum uzun tüylü. Çiçekler erdişi nadiren tek eşeyli, tüp şeklinde, genellikle eşit olmayan 5 parçalı, beyazdan mora kadar kadar, bazen sarımsı; korolla tübünün tabanı hafifçe genişlemiş. Polen taneleri küremsidir. Akenler az çok oblong, yassı, pürüzsüz, çıplak, az çok yarıküremsi tümsekçikli, hilum oval, tabandan az yukarda. Papus çok sıralı, kuş tüyü gibi yumuşak, tabanda bir halka üzerinde bağlı, kalıcı veya düşücü, iç taraftaki tüyler daha uzun, çoğunlukla skabrit veya tepede kalınlaşmış; çok nadiren tamamen skabrit (Davis ve Parris 1975).

Ülkemizde yetişen *Cirsium* türleri:

Endemik Türler

Cirsium sipyleum O. Schwarz

Cirsium boluense Davis & Parris

Cirsium sintenisii Freyn

Cirsium steirolepis Petrak

Cirsium polycephalum DC.

Cirsium poluninii Davis & Parris

Cirsium trachylepis Boiss.

Cirsium sommieri Petrak

Cirsium ellenbergii Bornm.

Cirsium lappaceum (Bieb.) subsp. *tenuilobum* (C.Koch)

Cirsium hakkaricum Davis & Parris

Cirsium aduncum Fisch. & Mey. ex DC. subsp. *bashkalense* Davis & Parris ?

Cirsium cassium Davis & Parris

Cirsium pseudopersonata Boiss. & Bal. subsp. *pseudopersonata*

Cirsium simplex C.A.Meyer subsp. *satdaghense* Davis & Parris

Cirsium pubigerum (Desf.) DC. var. *paphlagonicum* Petrak

Cirsium alatum (Gmelin) Bobrov subsp. *pseudocreticum* Davis & Parris

Cirsium leucopsis DC.

Cirsium libanoticum DC. subsp. *lycaonicum* (Boiss. & Held.) Davis & Parris

Cirsium cilicicum Davis & Parris (Davis ve Parris 1975)

Cirsium davisianum Kit Tan & Sorger

Cirsium eliasianum Kit Tan & Sorger

Cirsium frickii Fisch.& Mey (Davis ve ark. 1988)

Cirsium dirmilense R. M. Burton

Cirsium aytatchii H. Duman & R. R. Mill (Güner ve ark. 2000)

Cirsium candelabrum Griseb.

Cirsium ekimianum Yıldız & Dirmenci

Cirsium handaniae Yıldız, Dirmenci & Arabacı (Özhatay ve ark. 2011)

Endemik Olmayan Türler

Cirsium amani Post

Cirsium laniflorum (Bieb.) Fischer

Cirsium ligulare Boiss.

Cirsium bulgaricum DC.

Cirsium baytopae Davis & Parris

Cirsium osseticum (Adams) Petrak

Cirsium ciliatum (Murr.) Moench subsp. *szovitsii* (C.Koch)

Cirsium caucasicum (Adams) Petrak

Cirsium adjaricum Somm. & Lev.

Cirsium cephalotes Boiss.

Cirsium munitum (Bieb.) Fischer

Cirsium macrobotrys (C.Koch) Boiss.

- Cirsium kosmelii* (Adams) Fisch. ex Hohen.
- Cirsium tomentosum* C.A. Meyer
- Cirsium lappaceum* (Bieb.) Fischer subsp. *lappaceum* Bieb.
- Cirsium lappaceum* (Bieb.) Fischer subsp. *anatolicum* Petrak
- Cirsium haussknechtii* Boiss.
- Cirsium congestum* Fisch. & Mey. ex DC.
- Cirsium leuconeurum* Boiss. & Hausskh.
- Cirsium rigidum* DC.
- Cirsium karduchorum* Petrak
- Cirsium bracteosum* DC.
- Cirsium pseudobracteosum* Davis & Parris
- Cirsium aggregatum* Ledeb.
- Cirsium italicum* (Savi) DC.
- Cirsium vulgare* (Savi) Ten.
- Cirsium echinus* (Bieb.) Hand.-Mazz.
- Cirsium hypoleucum* DC.
- Cirsium pseudopersonata* Boiss. & Bal. subsp. *kusnezowianum* (Somm. & Lev.)
Petrak
- Cirsium canum* (L.)
- Cirsium obvallatum* (Bieb.) Fischer
- Cirsium simplex* C.A.Meyer subsp. *simplex*
- Cirsium simplex* C.A.Meyer subsp. *armenum* (DC.) Petrak
- Cirsium rhizocephalum* C.A.Meyer subsp. *rhizocephalum*
- Cirsium rhizocephalum* C.A.Meyer subsp. *sinuatum* (Boiss.) Davis & Parris
- Cirsium pubigerum* (Desf.) DC. var. *glomeratum* (Freyn & Sint.) Davis & Parris
- Cirsium pubigerum* (Desf.) DC. var. *caniforme* Petrak

Cirsium pubigerum (Desf.) DC. var. *spinosum* Petrak

Cirsium creticum (Lam.)d'Urv. subsp. *creticum*

Cirsium creticum (Lam.)d'Urv. subsp. *gaillardotti* (Boiss.) Davis & Parris

Cirsium alatum (Gmelin) Bobrov subsp. *alatum*

Cirsium elodes Bieb.

Cirsium arvense (L.) Scop. subsp. *arvense*

Cirsium arvense (L.) Scop. subsp. *vestitum* (Wimmer & Grab.) Petrak

Cirsium aristatum DC.

Cirsium decussatum Janka

Cirsium eriophorum (L.) Scop.

Cirsium proponticum Gris.

Cirsium angustifolium (Lam.) DC.

Cirsium chium (Jacq.) Boiss.

Cirsium uliginosum (Bieb.) Fischer

Cirsium libanoticum DC. subsp. *arachnoideum* Davis & Parris (Davis ve Parris 1975)

Cirsium libanoticum DC. subsp. *libanoticum* (Güner ve ark. 2000)

2.1.3. *Cirsium leucopsis* DC.

Çok yıllık, 60-100 cm boyundadır. Gövde boyunca sinuat kanatlı, genellikle yoğun, kısa veya çok uzun dikenli, çoğunlukla üst kısımda gevşek, salkım şeklindedir. Gövdenin ortasındaki yapraklar genişçe oblong, otsu, 1/3-2/3'ne kadar pinnatiloblu, 8-18 x 4-8 cm, loblar 4-6 çift, üçgenimsiden geniş lanseolata kadar, 5-10 mm uzunluğunda sert, sarımsı dikenler taşır, alt ve üst yüzey yoğun örümcek ağımsı-uzun yumuşak tüylü, bazen seyrek örümcek ağımsı tüylüdür. Kapitula gövdenin ucunda demet halinde veya yanlarda dallanmış, hemen hemen sapsız, küçülmüş, uzun dikenli yapraklar taşır. İnvolukreler yarı küresel, 14-18 mm, hafifçe örümcek ağımsı tüylüdür. Fillariler 6-7 sıralı, dıştakiler ve ortadakiler ovat-dar ovat, yatık, sarımsı 2-2,5 mm

dikenler taşır, bu dikenlerin altında siyahımsı salgı cebi kabarcıkları bulunur. Korolla 17-21 mm, morumsu renktedir. Akenler olgunlaşmamıştır (Davis ve Parris 1975).

Çiçeklenme zamanı 7. aydır, 1400-1600 m yükseklikte ırmak kenarlarında yetişir (Davis ve Parris 1975).

Endemik bir tür olan *Cirsium leucopsis* Doğu Akdeniz elementidir. En yakın akrabası *C. elodes* ve *C. libanoticum*'dur.

2.1.4. *Cirsium sipyleum* O. Schwarz

İki yıllık, 60-90 cm boyundadır. Gövde tabanda sert, kuvvetli, bazen az da olsa dallanmış, seyrek olarak örümcek ağımsı tüylüdür. Gövdenin ortasındaki yapraklar hemen hemen amplexikaul, oblong, pinnatifit-pinnatisekte kadar parçalı olabilir, yan loblar iki parçalı, 3-8 çift, dar üçgenimsiden lanseolata kadar şekillidir. Yan ve uç loblar (5-) 9-13 (-16) mm'lik sert dikenli, üst yüzey 3-3,5 mm setalı dikenli ya da çıplak; alt yüzey seyrek örümcek ağsı tüylü veya uzun yumuşak tüylüdür. Yan dallar 3-5, 1-4 kapitulalı, en üst yapraklar 4-9, involukrumlu, involukruma eşit veya ondan daha kısa, nadiren daha uzundur. İnvolukreler dik, ovoit-obovoid, 20-35 mm'dir. Fillariler örümcek ağsı tüylü, 12 sıralı, kenarlarında küçük dişler taşır, dikenler yaklaşık 0,1 mm, uçtaki diken subulata kadar daralır; orta fillariler 18-28 mm, 4-6 x 0,2-0,3 mm dikenli. Korolla mor, 29,5-33 mm. Akenler olgunlaşmamıştır (Davis ve Parris 1975).

Çiçeklenme zamanı 7-8. aylardır. *Pinus* ağaçlarının açıklıklarında, kireçli, taşlı topraklarda, 500-1650 m yükseklikte yetişir (Davis ve Parris 1975).

Endemik olan *Cirsium sipyleum* Doğu Akdeniz elementidir. En yakın akrabası *C. heldreichii*'dir.

2.2. *Cirsium* Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı

Cirsium türleri halk arasında "köy göçerten, çarık kesen, hamur kesen, su diken, körkenger, kazan kulpu, kangal diken, eşek diken" olarak bilinir. Ülkemizde halk arasında tohum ve köklerinin dekoksyonu hemoroit ağrıları için, çiçekleri peptik ülser tedavisinde kullanılır. Gövde kısmı ise öksürük ve bronşit hastalığının tedavisinde kullanılır (Deliorman-Orhan ve ark. 2007).

C. tenoreanum bitkisi İtalya'da varisli damarların tedavisinde kullanılır (Loizzo ve ark. 2004).

C. setidens bitkisinin taze yaprak ve gövdesi protein, kalsiyum ve A vitamini açısından zengindir ve yenilebilmektedir. *C. setidens* bitkisi Kore’de kanamayı durdurma, kan kusma, idrarda kan görülmesi ve hipertansiyon gibi hastalıkların tedavisinde kullanılır (Yoo ve ark. 2008).

C. rhinoceros halk arasında ödem, kanama, kan işeme ve kan kusma gibi hastalıkların tedavisinde diğer *Cirsium* bitkileri ile birlikte kullanılır (Lee ve ark. 1994; Yim ve ark. 2003).

C. rivulare bitkisi Polonya’da geleneksel olarak anksiyeteye karşı kullanılır, ayrıca antimitotik özelliği olduğu da belirtilmiştir (Nazaruk ve Jakoniuk 2005).

C. maritimum bitkisi Japonya’da halk arasında bel soğukluğu, kan tükürme ve yanık tedavisinde kullanılır ve baharın ilk dönemlerinde salamura sebze olarak yenilir (Nakasugi ve ark. 2002).

Cirsium türleri Kore’de halk arasında kanama, karaciğer ve böbrek iltihaplanması, karın ve bağırsak ağrısı gibi hastalıkların tedavisinde kullanılır (Jung ve ark. 2009). *Cirsium* bitkisinin kökleri Japon ve Çin farmakopelerinde kanamayı durdurucu ajan olarak kayıtlıdır ve Çin tıbbında idrar söktürücü olarak kullanılmaktadır (Miyazawa ve ark. 2003).

Geleneksel bir Çin ilacı olan “Herb Cirsii japonicii”, romatoid artrit, kan kusma ve kan işeme gibi hastalıkların tedavisinde kullanılan *C. japonicum* bitkisidir (Takaishi ve ark 1990). *C. japonicum* Çin’de halk arasında akciğer kanseri, rahim kanseri, kan kanserinin tedavisinde kullanılır (Liu ve ark. 2007). *C. japonicum* bitkisi ağız kokusunun tedavisi için hazırlanan diş macununda kullanılan bitkiler arasındadır (Yuejin, 2008). *C. japonicum* bitkisi iyi huylu prostatın gelişimi ile ilgili olarak idrarda kan görülmesinin tedavisinde kullanılan dekoksasyonun terkibine girer. Ucuz, kolay hazırlanabilen, düşük toksisite ve yan etkili ve fevkalade iyileştirici etkisi bu dekoksasyonun avantajlarından (Yaping, 2008). *C. japonicum* bitkisi akut sinüzit tedavisinde geleneksel Çin tıbbında hazırlanan bitki karışımlarının dekoksasyonunda kullanılan bitkilerden biridir (Aixian ve ark. 2007).

C. japonicum var. *ussuriense* bitkisinin toprak üstü kısmı doğu tıbbında tonik, midede sindirimi kolaylaştırıcı, iltihabı önleyici, panzehir, idrar söktürücü ve sinir ağrısına karşı ve salatalarda kullanılır (Park ve ark. 2004). *C. japonicum* var. *ussuriense* bitkisi antiinflamatuvar etkisinden dolayı Kore’de halk arasında kullanılmaktadır (Park ve ark. 1995a).

Çin farmakopesinde *C. setosum*, Japon farmakopesinde *C. japonicum* bitkilerinin kanama ve iltihap tedavisinde dahili ve harici kullanımı kayıtlıdır (Ganzera ve ark. 2005). *C. setosum* bitkisi geleneksel Çin tıbbında kanamayı durdurucu ve iltihap önleyici olarak kullanılır (Lu ve ark. 2009). Prostat tedavisi için ağızdan alınan solüsyonda *C. setosum* bitkisi de bulunmaktadır (Hualin 2007).

C. chanroenicum bitkisinin toprak üstü kısımları Çin tıbbında detoksifikasyon için, ateş düşürücü olarak ve kan dolaşımını artırmada kullanılır (Lim ve ark. 2008).

C. dipsacolepis bitkisi Japonya’da “yamagobo” olarak bilinir, kökleri yenilir, salamurası yapılır, güzel tadından dolayı etli yemeklerde kullanılır (Bracca ve Kaufman 2008).

C. arvense ve *C. oleraceum* bitkileri Polonya’da idrar söktürücü, kanamayı durdurucu, antiinflamatuvar ve astrenjan olarak kullanılır (Nazaruk ve ark. 2008).

C. arisanense bitkisinin sulu ekstresi Tayvan’da halk arasında karaciğeri koruyucu olarak kullanılır (Ku ve ark. 2008).

C. chlorolepis bitkisinin kökleri Çin’de halk arasında kan işeme ve kemik kırıklarının tedavisinde kullanılır (Shen ve Mu 1990).

Cirsium cinsinin birçok türü İtalya’da halk arasında kolagog olarak kullanılmaktadır (Aquino ve ark. 1987).

C. dipsacolepis bitkisinin kökleri Japonya’da turşu olarak tüketilmektedir (Takano ve Kawaminami 1987).

2.3. *Cirsium* Türleri ile Yapılan Kimyasal Araştırmalar

Cirsium türleri ile yapılan kimyasal çalışmalar Tablo 2-1’ de verildi.

Tablo 2-1: *Cirsium* Türlerinden Elde Edilen Bileşikler

Bileşik Sınıfı	Elde edilen <i>Cirsium</i> türü/türleri	Kaynaklar
Flavonoitler		
Acacetin (apigenin-4'-metil eter)	<i>C. arvense</i> , <i>C. japonicum</i> , <i>C. chanroenicum</i> , <i>C. rhinoceros</i> , <i>C. souliei</i> , <i>C. setosum</i> ,	Jordon-Thaden ve Louda 2003, Jeong ve ark. 2008, Yim ve ark. 2003, Ziwei ve ark. 2007, Ke ve ark. 2006
Acacetin-7-O-β-D-rutinozit	<i>C. rivulare</i> , <i>C. japonicum</i> var. <i>ussuriense</i>	Nazaruk ve Gudej 2003, Park ve ark. 1995a
Acacetin-7-O-diglikozit	<i>C. subniverum</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
Acacetin ramnoglukozit	<i>C. purpuratum</i> , <i>C. spinosum</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
Acacetin-7-β-D-glukuronidopiranozit, apigenin-7-β-D-glukuronidopiranozit	<i>C. arvense</i>	Shelyuto ve ark. 1972c
Apigenin	<i>C. arvense</i> , <i>C. carolinianum</i> , <i>C. japonicum</i> , <i>C. magofukui</i> , <i>C. nipponicum</i> , <i>C. oleraceum</i> , <i>C. purpuratum</i> , <i>C. rhinoceros</i> , <i>C. sieboldii</i> , <i>C. syriacum</i> , <i>C. vallis-demonii</i> , <i>C. palustre</i> , <i>C. setosum</i> , <i>C. tenoreanum</i> , <i>C. souliei</i> , <i>C. rivulare</i> , <i>Cirsium</i> spp.,	Syrchina ve ark. 1998, Jordon-Thaden ve Louda 2003, Shelyuto ve ark. 1970 a, Lee ve ark. 1994, Glyzin ve ark. 1977, Statti ve ark. 1997, Khafagy ve ark. 1981, Shelyuto ve ark. 1971b, Nazaruk 2009, Lu ve ark. 2009, Loizzo ve ark. 2004, Bai-cui ve ark. 2008, Ziwei ve ark. 2007, Nazaruk ve Gudej 2003, Bohlmann ve Abraham 1981, Kyung ve ark. 2002, Aboul-Ela ve ark. 2002
Apigenin-5-O-glukozit	<i>C. magofukui</i> , <i>C. sieboldii</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
Apigenin-7-O-diglukozit	<i>C. syriacum</i> , <i>C. vulgare</i> , <i>C. lanceolatum</i>	Khafagy ve ark. 1981, McGowan ve Wallace 1972
Apigenin-7-glukozit	<i>C. arvense</i> , <i>C. nipponicum</i> , <i>C. oleraceum</i> ,	Jordon-Thaden ve Louda 2003, Shelyuto ve ark. 1970 a
Apigenin-7-O-glukozit	<i>C. palustre</i> , <i>C. syriacum</i>	Nazaruk 2009, Aboul-Ela ve ark. 2002, Khafagy ve ark. 1981
Apigenin-7-O-glukuronit	<i>C. palustre</i>	Nazaruk 2009
Apigenin-7-O-β-D-glukuronit	<i>C. rivulare</i>	Nazaruk ve Gudej 2003
Apigenin-7-glikozit	<i>C. chikushiense</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003

Apigenin-7-O-diglikozit	<i>C. canescens, C. flodmanii, C. pulcherrimum</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
Apigenin-7-O-β-D-glukozit	<i>C. rivulare, C. oleraceum</i>	Nazaruk ve Gudej 2003, Shelyuto ve ark. 1971a
Apigenin-6,8-C-diglikozit	<i>C. canescens, C. flodmanii, C. ochrocentrum, C. subnivenum, C. undulatum</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
Apigenin-7-O-β-D-butilglukuronit	<i>C. setosum</i>	Ke ve ark. 2006
6-Metoksi apigenin-7-O-diglikozit	<i>C. canescens</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
6-Metoksi apigenin-8-C-glikozit	<i>C. drummondii</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
Apigenin-7-O-(6''-metilglukuronit)	<i>C. plustre, C. rivulare</i>	Nazaruk 2009, Nazaruk ve Jakoniuk 2005
Apigenin-7-ramnoglukozit	<i>C. arvense</i>	Shelyuto ve ark. 1970 a
C-Glikozilapigenin	<i>C. gratiosum</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
Chrysoeriol -7-O-diglikozit,	<i>C. canescens</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
6-metoksi chrysoeriol -7-O-diglikozit		
Chrysoeriol -7-O-diglikozit	<i>C. flodmanii, C. pulcherrimum, C. subnivenum, C. undulatum</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
Chrysoeriol -7-O-monoglikozit	<i>C. chikushiense, C. undulatum</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
Cirsiliol	<i>C. lineare</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003, Morita ve ark. 1973
Cirsilineol,Cirsilineol-4'-glukozit, Cirsiliol-4'-glukozit	<i>C. lineare</i>	Morita ve ark. 1973
Cirsimarın	<i>C. lineare, C. maritimum, C. rhinoceros, C. japonicum</i> var. <i>ussuriense, C. pendulum</i>	Jeong ve ark. 2008, Nakasugi ve ark. 2002, Yim ve ark. 2003, Park ve ark. 1995b, Yun ve Chang 1978
Cirsimaritin	<i>C. amplexifolium, C. arvense, C. kamtschaticum, C. pendulum, C. rhothophilum, C. tanakae</i> ssp. <i>aomorense, C. maritimum, C. rhinoceros</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003, Morita ve ark. 1973, Yun ve Chang 1978, Wallace 1974, Nakasugi ve ark. 2002, Yim ve ark. 2003, Kyung ve ark. 2002
Cirsimaritin-4'-O-glukozit	<i>C. aomorense, C. japonicum</i> var. <i>ussuriense, C. rhothophilum, C. tanakae, C. maritimum</i>	Park ve ark. 1995a, Wallace ve Bohm 1971, Nakasugi ve ark. 2002

Cirsimaritin-4'-O-rutinozit	<i>C. brevistylum</i>	Wallace ve Bohm 1971
Cirsitakaozit, Cirsitakaogenin	<i>C. japonicum</i> var. <i>takaoense</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
Cynroside	<i>Cirsium</i> spp.	Glyzin ve ark. 1977
Diosmetin-7-O-diglikozit	<i>C. ochrocentrum</i> , <i>C. scariosum</i> , <i>C. undulatum</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
Genkwanin-4'-O-glukozit	<i>C. lanceolatum</i>	McGowan ve Wallace 1972
Hispidulin (scutellarein 6-metil eter)	<i>C. carolinianum</i> , <i>C. oligophyllum</i> , <i>C. rivulare</i>	Bohlmann ve Abraham 1981, Iwashina ve ark. 1999, Nazaruk ve Gudej 2003
Hispidulin-7-O-glukozit	<i>C. palustre</i>	Nazaruk 2009
Hispidulin-7-glukozit	<i>C. rivulare</i>	Nazaruk ve Jakoniuk 2005
Hispidulin triasetat	<i>C. carolinianum</i>	Bohlmann ve Abraham 1981
Hispidulin-7-O- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 2)- α -D-glukopiranozit	<i>C. japonicum</i> var. <i>ussuriense</i> , <i>C. rhinoceros</i>	Lee ve ark. 1994, Jordon-Thaden ve Louda 2003
Hispidulin-4'-glukozit, hispidulin-7,4'-diglikozit	<i>C. oligophyllum</i>	Iwashina ve ark. 1999
Hispidulin-7-O-neohesperidozit	<i>C. japonicum</i> var. <i>ussuriense</i> , <i>C. japonicum</i>	Park ve ark. 1995a, Park ve ark. 2004, Ganzera ve ark. 2005
Kamferol	<i>C. arvense</i> , <i>C. syriacum</i> , <i>C. vallis-demonii</i>	Khafagy ve ark. 1981, Jordon-Thaden ve Louda 2003
3-O-Metilkamferol	<i>C. arvense</i> , <i>C. oleraceum</i>	Shelyuto ve ark. 1972a, Shelyuto ve ark. 1971b, Syrchina ve ark. 1998
Kamferol-7-O-metil eter	<i>C. vallis-demonii</i>	Statti ve ark. 1997
Kamferol-3-O-ramnozit	<i>C. vallis-demonii</i> , <i>C. tenoreanum</i> , <i>C. syriacum</i>	Statti ve ark. 1997, Loizzo ve ark. 2004, Aboul-Ela ve ark. 2002, Jordon-Thaden ve Louda 2003
Kamferol-3-O-galaktoz	<i>C. babanum</i> ,	Jordon-Thaden ve Louda 2003
Kamferol-3-O-galaktozit	<i>C. rivulare</i> , <i>C. arvense</i>	Nazaruk ve Jakoniuk 2005, Wallace 1974
Kamferol-3-O-rutinozit (nikotiflorin)	<i>C. hypoleucum</i>	Deliorman-Orhan ve ark. 2007
Kamferol-3-O-arabinozilgalaktoz	<i>C. babanum</i> , <i>C. vulgare</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003, Wallace 1974

Kamferol-3-O-glukozit	<i>C. vulgare</i> , <i>C. palustre</i> , <i>C. lanceolatum</i>	McGowan ve Wallace 1972, Wallace 1974, Nazaruk 2009
İsokaempferit (5,7,4'-trihidroksi-3-metoksiflavon)	<i>C. arvense</i> , <i>C. setosum</i>	Syrchina ve ark. 1998, Jordon-Thaden ve Louda 2003, Syrchina ve ark. 1999, Nazaruk 2009
Kaempferit	<i>C. souliei</i>	Ziwei ve ark. 2007
İsokaempferit -7-glukuronit	<i>C. rivulare</i>	Nazaruk ve Jakoniuk 2005
İsokaempferit-7-O-β-D-(6''-metilglukuronit)	<i>C. rivulare</i>	Nazaruk ve Jakoniuk 2005
İsokaempferit-7-O-glukozit	<i>C. palustre</i>	Nazaruk 2009
Astragalin (kamferol-3-O-β-D-glukopiranozit)	<i>C. arvense</i>	Syrchina ve ark. 1998, Jordon-Thaden ve Louda 2003
Linarin (Acacetin-7-rutinozit)	<i>C. albescens</i> , <i>C. arisanense</i> , <i>C. arvense</i> , <i>C. babanum</i> , <i>C. gratiosum</i> , <i>C. foliosum</i> , <i>C. hosogawa</i> , <i>C. japonicum</i> , <i>C. japonicum</i> var. <i>australe</i> , <i>C. japonicum</i> var. <i>ussuriense</i> , <i>C. kagamontanum</i> , <i>C. kantschaticum</i> , <i>C. kawakami</i> var. <i>variegatum</i> , <i>C. microspicatum</i> var. <i>microspicatum</i> , <i>C. microspicatum</i> var. <i>kiotense</i> , <i>C. nipponicum</i> var. <i>incomptum</i> , <i>C. oleraceum</i> , <i>C. pectinellum</i> , <i>C. purpuratum</i> , <i>C. rhinoceros</i> , <i>C. senjoense</i> , <i>C. spicatum</i> , <i>C. spinosum</i> , <i>C. subcoriaceum</i> , <i>C. tioganum</i> var. <i>coloradense</i> , <i>C. yezoense</i> , <i>C. setosum</i> , <i>C. pendulum</i> , <i>C. xanthocanthum</i> , <i>Cirsium</i> spp.	Jordon-Thaden ve Louda 2003, Lee ve ark. 1994, Glyzin ve ark. 1977, Shelyuto ve ark. 1971a, Morita ve ark. 1973, Park ve ark. 1995a, Park ve ark. 1995b, Shelyuto ve ark. 1978, Gardner 1973, Rendyuk ve ark. 1977a, Rendyuk ve ark. 1977b, Miyaichi ve ark. 1995, Martinez-Vazquez ve ark. 1998, Lu ve ark. 2009, Ganzera ve ark. 2005, Morita ve Lin 1977, Bai-cui ve ark. 2008, Ke ve ark. 2006, Guoliang ve ark. 2007, Lee ve Park 1984, Zhi ve ark. 2003
6-Metoksi linarin	<i>C. foliosum</i> , <i>C. tioganum</i> var. <i>coloradense</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
Luteolin	<i>C. arvense</i> , <i>C. echinus</i> , <i>C. hosogawa</i> , <i>C. oleraceum</i> , <i>C. rhinoceros</i> , <i>C. syriacum</i> , <i>C. vallis-demonii</i> , <i>C. palustre</i> , <i>C. setosum</i> , <i>C. japonicum</i> , <i>C. rivulare</i> , <i>C. echinus</i> , <i>C. maackii</i>	Lee ve ark. 1994, Shelyuto ve ark. 1970 a, Jordon-Thaden ve Louda 2003, Glyzin ve ark. 1977, Statti ve ark. 1997, Khafagy ve ark. 1981, Nazaruk 2009, Lu ve ark. 2009, Ganzera ve ark. 2005, Nazaruk ve Gudej 2003, Rasulov ve ark. 1989, Aboul-Ela ve ark.

Luteolin-7-O-diglikozit	<i>C. pulcherrimum</i> , <i>C. tweedyi</i>	2002, Shelyuto ve ark. 1971 a, Jung ve ark. 2009
Luteolin-4'-O-β-glukozit	<i>C. heterophyllum</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
Luteolin-7-O-glukozit	<i>C. amplexifolium</i> , <i>C. buergeri</i> , <i>C. chikushiense</i> , <i>C. gyojanum</i> , <i>C. hosogawa</i> , <i>C. kawakamii</i> , <i>C. lucens</i> , <i>C. matusmurae</i> , <i>C. matusmurae</i> var. <i>pubescens</i> , <i>C. nipponicum</i> var. <i>yoshinoi</i> , <i>C. suffultum</i> , <i>C. wallichii</i> , <i>C. yakusimense</i> , <i>C. palustre</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003, Morita ve ark. 1973, Lin 1975, Nazaruk 2009
Luteolin-7-glukuronit	<i>C. sieboldii</i>	Morita ve ark. 1973, Jordon-Thaden ve Louda 2003
Luteolin-5-O-glukozit	<i>C. magofukui</i> , <i>C. sieboldii</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
Luteolin-7-O-β- glukopiranozit	<i>C. oleraceum</i> , <i>C. palustre</i> , <i>C. heterophyllum</i>	Shelyuto ve ark. 1971 a, Ogurtsova ve Syuzeva 1974, Shelyuto ve ark. 1972b
Luteolin-5-O-β-D-glukopiranozit, luteolin	<i>C. maackii</i>	Jung ve ark. 2009
Naringenin	<i>C. vallis- demonii</i>	Statti ve ark. 1997
Isoramnetin	<i>C. helenioides</i>	Christensen 1992
Nepetin, nepetin-4'-glukozit	<i>C. oligophyllum</i>	Iwashina ve ark. 1999
Pectolinarigenin	<i>C. arvense</i>	Wallace 1974
Pectolinarigenin-7-O-D-β- glukopiranozit	<i>C. rhinoceros</i>	Lee ve ark. 1994, Yim ve ark. 2003
Pectolinarigenin (5,7-dihidroksi-6,4'- dimetoksiflavon)	<i>C. japonicum</i> , <i>C. chanroenicum</i> , <i>C. rhinoceros</i>	Liu ve ark. 2007, Lim ve ark. 2008, Liu ve ark. 2006, Kyung ve ark. 2002
Pectolinarin (pectolinarigenin-7- rutinozit)	<i>C. arisanense</i> , <i>C. babanum</i> , <i>C. bitchuense</i> , <i>C. brevicaule</i> , <i>C. brevistylum</i> , <i>C. dipsacolepis</i> , <i>C. ferum</i> , <i>C. gratiosum</i> , <i>C. indundatum</i> , <i>C. japonicum</i> , <i>C. japonicum</i> var. <i>ussuriense</i> , <i>C. japonicum</i> var. <i>takaoense</i> , <i>C. kagamontanum</i> , <i>C. kamtschaticum</i> , <i>C. microspicatum</i> var. <i>kiotoense</i> , <i>C. microspicatum</i> var.	Jordon-Thaden ve Louda 2003, Lee ve ark. 1994, Glyzin ve ark. 1977, Shelyuto ve ark. 1971 a, Morita ve ark. 1973, Park ve ark. 1995b, Wallace ve Bohm 1971, Shelyuto ve ark. 1978, Gardner 1973, Martinez-Vazquez ve ark. 1998, Morita ve Lin 1977, Do ve ark. 1994, Lin ve ark. 1975, Lim ve ark. 2008, Jeong ve ark.

	<i>microspicatum</i> , <i>C. nipponicum</i> var. <i>incomptum</i> , <i>C. oleraceum</i> , <i>C. otayae</i> , <i>C. pectinellum</i> , <i>C. purpuratum</i> , <i>C. rhinoceros</i> , <i>C. senjense</i> , <i>C. spicatum</i> , <i>C. spinosum</i> , <i>C. subcoriaceum</i> , <i>C. tioganum</i> var. <i>coloradoense</i> , <i>C. yezonese</i> , <i>C. yoshizawae</i> , <i>C. chanroenicum</i> , <i>C. lineare</i> , <i>C. nipponicum</i> , <i>C. pendulum</i> , <i>C. setidens</i> , <i>C. setosum</i> , <i>C. rivulare</i>	2008, Ganzera ve ark. 2005, Liu ve ark. 2007, Liu ve ark. 2006, Yim ve ark. 2003, Nazaruk ve Jakoniuk 2005, Yoo ve ark. 2008
Kersetin	<i>C. oleraceum</i> , <i>C. vallis-demonii</i>	Shelyuto ve ark. 1978
Kersetin-3-O- arabinozilgalaktoz	<i>C. babanum</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
Kersetin-3-O-digalaktozit	<i>C. arvense</i>	Wallace 1974
Kersetin-3-O-diglikozit	<i>C. foliosum</i> , <i>C. scariosum</i> , <i>C. tioganum</i> , var. <i>coloradense</i> , <i>C. pulcherrimum</i> , <i>C. subniveum</i> , <i>C. tweedyi</i> , <i>C. undulatum</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
Kersetin-3-O-β-D-galaktopiranozit	<i>C. arvense</i>	Syrchina ve ark. 1998, Jordon-Thaden ve Louda 2003, Syrchina ve ark. 1999
Kersetin-3-galaktozit	<i>C. babanum</i> , <i>C. vulgare</i> , <i>C. tenoreanum</i> , <i>C. lanceolatum</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003, McGowan ve Wallace 1972, Loizzo ve ark. 2004
Kersetin-3-O-glukozit	<i>C. vulgare</i> , <i>C. lanceolatum</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003, McGowan ve Wallace 1972
Kersetin-3-O-β-D- glukopiranozit	<i>C. arvense</i> , <i>C. setosum</i>	Syrchina ve ark. 1998, Syrchina ve ark. 1999
Kersetin-3-O-β-D-galaktopiranozit (hyperin)	<i>C. setosum</i>	Syrchina ve ark. 1999
Kersetin-7-O-metil eter	<i>C. vallis-demonii</i>	Statti ve ark. 1997
Kersetin-3-O- ramnoglukozit	<i>C. arvense</i>	Wallace 1974
3-O-Metilkersetin	<i>C. oleraceum</i>	Shelyuto ve ark. 1978
Rutin (kersetin-3-O-rutinozit)	<i>C. arvense</i> var. <i>setosum</i> , <i>C. echinus</i> , <i>C. setosum</i> , <i>C. hypoleucum</i> , <i>C. segestum</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003, Morita ve ark. 1973, Rasulov ve ark. 1989, Lu ve ark. 2009, Deliorman-Orhan ve ark. 2007, Zhou

Chyrisin (5,7-dihidroksiflavon), baicalin	<i>C. segestum</i>	ve ark. 2007
Raifolin	<i>C. bitchuense</i>	Zhou ve ark. 2007
Scutellarein	<i>C. oleraceum</i>	Morita ve ark. 1973, Jordon-Thaden ve Louda 2003
5,7,4'-Trihidroksi-6-metoksiflavon-7-O- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glukopiranozit	<i>C. japonicum</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003 Miyaichi ve ark. 1995
Vicenin-2	<i>C. gratiosum, C. oligophyllum</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003, Iwashina ve ark. 1999,
Tricin	<i>C. palustre, C. setosum, C. rivulare</i>	Nazaruk 2009, Bai-cui ve ark. 2008, Nazaruk ve Gudej 2003
Tricin-5-O-glukozit	<i>C. arvense</i>	Wallace 1974
Tricin-7-O- β -D-glukopiranozit	<i>C. setosum</i>	Bai-cui ve ark. 2008
Steroidler ve triterpenler		
16 β -Hidroksibetulinik asit, lupa-12,20(29)-dien-3 β , 28-diol	<i>C. pascuarensis</i>	Gutierrez 2005
Asetillupeol, asetil- α -amirin, asetil- β -amirin	<i>C. vallis-demonii</i>	Statti ve ark. 1997
Δ -5-Avenasterol, brassikasterol	<i>C. vulgare</i>	Nolasco ve ark. 1987
α -Amirin	<i>C. palustre, C. rivulare</i>	Nazaruk ve ark. 2012
β -Amirin	<i>C. oleraceum, C. hypoleucum, C. palustre, C. rivulare</i>	Krzysztofik ve Ludwiczack 1970, Krzysztofik ve Ludwiczack 1971, Bohlmann ve Abraham 1981, Nazaruk ve ark. 2012
Oleanolik asit, kolesterol, methylursolat	<i>C. segestum</i>	Zhou ve ark. 2007
β -Amirin asetat	<i>C. carolinianum, C. hypoleucum, C. japonicum, C. oleraceum</i>	Bohlmann ve Abraham 1981, Gu ve Tu 1992b, Krzysztofik ve Ludwiczack 1970
Kampesterol	<i>C. vallis demonii, C. Vulgare, C. palustre, C. rivulare</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003, Aquino ve ark. 1987, Nazaruk ve ark. 2012

Kampestanol	<i>C. palustre, C. rivulare</i>	Nazaruk ve ark. 2012
Sitostanol	<i>C. palustre, C. rivulare</i>	Nazaruk ve ark. 2012
α -Spinasterol	<i>C. pendulum</i>	Guoliang ve ark. 2007
Lupeol	<i>C. canum, C. hypoleucum, C. oleraceum, C. vallis demonii</i>	Krzysztofik ve Ludwiczack 1970, Krzysztofik ve Ludwiczack 1971, Bohlmann ve Abraham 1981, Aquino ve ark. 1987
Lupeol asetat	<i>C. canum, C. carolinianum, C. hypoleucum, C. oleraceum</i>	Bohlmann ve Abraham 1981, Krzysztofik ve Ludwiczack 1970
β -Sitosterol	<i>C. echinus, C. syriacum, C. oleraceum, C. vallis-demonii, C. vulgare, C. henryi, C. setosum, C. souliei, C. pendulum, C. segetum, C. japonicum, C. palustre, C. rivulare</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003, Krzysztofik ve Ludwiczack 1970, Krzysztofik ve Ludwiczack 1971, Aquino ve ark. 1987, Khafagy ve ark. 1981, Rasulov ve ark. 1989, Yue ve ark. 2007, Bai-cui ve ark. 2008, Ziwei ve ark. 2007, Guoliang ve ark. 2007, Gu ve Tu 1992a, Gu ve Tu 1992b, Zhi ve ark. 2003, Nazaruk ve ar. 2012
β -Sitosterol-3-O- β -D-glukopiranozit	<i>C. pendulum, C. japonicum</i>	Guoliang ve ark. 2007, Zhi ve ark. 2003
β -Daukosterol	<i>C. setosum, C. souliei</i>	Bai-cui ve ark. 2008, Ziwei ve ark. 2007, Ke ve ark. 2006
Ergost-8(14)-en-3-ol	<i>C. palustre, C. rivulare</i>	Nazaruk ve ark. 2012
Açilglikozil β -sitosterol	<i>C. setidens</i>	Lee ve ark. 2002
β -Sitosterol glukozit	<i>C. syriacum, C. vallis-demonii, C. setidens</i>	Statti ve ark. 1997, Khafagy ve ark. 1981, Lee ve ark. 2002
Stigmasterol	<i>C. oleraceum, C. vallis-demonii, C. vulgare, C. segetum, C. japonicum, C. arvense, C. palustre, C. rivulare</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003, Krzysztofik ve Ludwiczack 1970, Krzysztofik ve Ludwiczack 1971, Aquino ve ark. 1987, Gu ve Tu 1992a, Gu ve Tu 1992b, Dutta ve ark. 1972, Nazaruk ve ark. 2012
Stigmasterol asetat	<i>C. oleraceum</i>	Krzysztofik ve Ludwiczack 1970,
3 β -Hidroksistigmast-5-en-7-on	<i>C. souliei</i>	Ziwei ve ark. 2007
Stigmasta-5,24-dien-3-ol	<i>C. palustre, C. rivulare</i>	Nazaruk ve ark. 2012

24-Metilenesikloartanol	<i>C. palustre, C. rivulare</i>	Nazaruk ve ark. 2012
Taraksasterol	<i>C. arvense, C. olaraceum, C. setosum, C. texanum, C. vallis demonii, C. pendulum, C. segetum</i>	Krzysztofik ve Ludwiczack 1970, Krzysztofik ve Ludwiczack 1971, Aquino ve ark. 1987, Dutta ve ark. 1972, Dominguez ve ark. 1974, Syrchina ve ark. 1998, Guoliang ve ark. 2007, Dutta ve ark. 1972, Krzysztofik ve Ludwiczack 1970
Taraksasterol asetat	<i>C. arvense, C. olaraceum</i>	Dutta ve ark. 1972, Krzysztofik ve Ludwiczack 1970
ψ-Taraksasterol	<i>C. canum, C. olaraceum,</i>	Krzysztofik ve Ludwiczack 1970, Krzysztofik ve Ludwiczack 1971, Bohlmann ve Abraham 1981
ψ-Taraksasterol asetat	<i>C. arvense, C. canum, C. carolinianum, C. hypoleucum, C. segetum, C. japonicum, C. olaraceum,</i>	Bohlmann ve Abraham 1981, Jordon-Thaden ve Louda 2003, Gu ve Tu 1992a, Gu ve Tu 1992b, Krzysztofik ve Ludwiczack 1970
Pseudotaraksasterilasetat, pseudotaraksasterol	<i>C. texanum</i>	Dominguez ve ark. 1974

Poliasetilenler ve hidrokarbonlar

Heptadeka-1-en-11, 13-diin-8,9,10-triol	<i>C. japonicum</i>	Takaishi ve ark. 1991a
Skualen	<i>C. hypoleucum</i>	Bohlmann ve Abraham 1981
<i>cis</i> -8,9-Epoksiheptadeka-1-en-11,13-diin-10-ol	<i>C. japonicum</i>	Yano 1980, Zhi ve ark. 2003
Hegzahidroaplotaksen, 1-pentadesen, karyofilen, thujopsen, α-himachalen	<i>C. japonicum</i>	Yano 1977
Sirineol C	<i>C. rhinoceros, C. japonicum</i>	Yim ve ark. 2003, Takaishi ve ark. 1991a, Takaishi ve ark. 1990, Zhi ve ark. 2003
Sirineol A	<i>C. japonicum</i>	Takaishi ve ark. 1991a, Zhi ve ark. 2003
Sirineol B	<i>C. japonicum</i>	Takaishi ve ark. 1990
Sirineol G-H, sirineon F, 8,9,10-triasetoksiheptadeka-1-ene-11,13-diin	<i>C. japonicum</i>	Zhi ve ark. 2003

Shikokiol A-C	<i>C. nipponicum</i>	Takaishi ve ark. 1991b
Aplotaksen epoksit	<i>C. hypoleucum</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
Tridesilpoliasetilen, 1-pentadesen, 1- heptadesen 1,8,11- heptadekatrien	<i>C. arvense, C. dipsacolepis</i>	Bohlmann ve Abraham 1981, Binder ve French 1994, Takano ve Kawaminami 1987
Cyperen	<i>C. dipsacolepis, C. japonicum</i>	Takano ve Kawaminami 1987, Miyazawa ve ark. 2003, Yano 1977
Aplotaksen, dihidroaplotaksen, tetrahidroaplotaksen	<i>C. dipsacolepis, C. japonicum, C. arvense, C. helenioides</i>	Bohlmann ve Abraham 1981, Takano ve Kawaminami 1987, Miyazawa ve ark. 2003, Christensen 1992, Yano 1977
8,9-Epoksiheptadeka-1,11,14-trien, dihidroksiheptadeka-1,11,14-trien	8,9- <i>C. arvense</i>	Binder ve ark. 1992
<i>n</i> -Dodekan, 2- metildodekae, <i>n</i> -tridekan, 2- metiltetradekan, <i>n</i> -pentadekan, 3- metilpentadekan, <i>n</i> -hegzadekan, 2- metilhegzadekan, <i>n</i> -heptadekan, <i>n</i> - oktadekan, <i>n</i> -nonadekan, <i>n</i> -eikozan, 1- dodeken, 1-tetradeken, 1-pentadeken, 1- hegzadeken, 1-heptadeken, 1-oktadeken	<i>C. dipsacolepis</i>	Takano ve Kawaminami 1987
Alkanlar		
Hegzakozan	<i>C. horridulum</i>	Marga ve ark. 2001
Tetrakozan, heptakozan, nonakozan	<i>C. horridulum, C. olaraceum</i>	Marga ve ark. 2001, Krzysztofik ve Ludwiczack 1971,
Doymuş ve doymamış yağ asitleri		
Tetradekanoik asit, hegzadekanoik asit, oktadekanoik asit, eikozanoik asit, dokoanoik asit, tetrakozanoik asit,	<i>C. horridulum</i>	Marga ve ark. 2001

oktakozanoik asit, 9-oktadekenoik asit,
9,12-oktadekadienoik asit, 9,12,15-
oktadekatrienoik asit

Hidroksilli yağ asitleri

16-OH-Hegzadekanoik asit, 18-OH- *C. horridulum* Marga ve ark. 2001
oktadekenoik asit, 18-OH-oktadekadienoik
asit, 10(9)-16-OH-hegzadekanoik asit,
10(9)-16-OH-oktadekanoik asit, 9,10,18-
OH-oktadekanoik asit, 9,10,18-OH-
oktadeke-12-enoik asit

Epoksi asitler

9,10-Epoksi-18-OH-oktadekanoik asit, *C. horridulum* Marga ve ark. 2001
9,10-epoksi-18-OH-oktadek-12-enedioik
asit

Alifatik aldehidler

7-Oktenal, (2E)-2,8-nonadienal, (2E)-2,9- *C. dipsacolepis* Takano ve Kawaminami 1988
dekadienal, (2E)-2,10-undekadienal,
((2E,4E)-2,4,10-undekatrienal, (2E,4E)-,
(2Z,4Z)-, ve (2E,4Z)-2,4,11-dodekatrienal
Vinilpentaasetilen *C. acaule, C. arvense, C. candolleianum, C. canum, C. carnolicum, C. decussatum, C. eriophorum, C. erisithales, C. ferox, C. helenioides, C. horridulum, C. hypoleucum, C. montanum, C. occidentale, C. olevaceum, C. palustre, C. pannonicum, C. syriacum, C. tuberosum,* Bohlmann ve Abraham 1981, Jordon-Thaden ve Louda 2003

4,6-Tetradekadien-8,10,12-triin-1-ol	<i>C. vulgare</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
1,11-Tridekadien-3,5,7,9-tetrain	<i>C. helenioides, C. montanum, C. oleraceum, C. palustre, C. vulgare</i> <i>C. acaule, C. candoleanum, C. canum, C. decussatum, C. erisithales, C. horridulum, C. hypoleucum, C. montanum, C. occidentale, C. oleraceum, C. palustre, C. pannonicum, C. syriacum, C. tuberosum, C. vulgare</i>	Bohlmann ve Abraham 1981, Jordon-Thaden ve Louda 2003
1,8,11,14-Heptadekatetraen	<i>C. canum, C. hypoleucum</i>	Bohlmann ve Abraham 1981
Alkaloitler		
O-Asetiljakolin (I)	<i>C. wallichii</i>	Negi ve ark. 1989
Cirsiumamid (N-(p-kumaroil) pipekolik asit)	<i>C. brevicaule var. irumtiense</i>	Sawaguchi ve ark. 1994
Heliotridanea	<i>C. steigerum</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003
N-Butilasetamid	<i>C. syriacum</i>	Aboul-Ela ve ark. 2002
Fenolik asitler		
p- Hidroksibenzoik asit,	<i>C. vulgare, C. palustre, C. lanceolatum</i>	McGowan ve Wallace 1972, Nazaruk ve ark. 2008
p- Hidroksisinnamik asit	<i>C. henryi</i>	Yue ve ark. 2007
Ferulik asit	<i>C. vulgare, C. oleraceum, C. lanceolatum</i>	Nazaruk ve ark. 2008, McGowan ve Wallace 1972
Gallik asit	<i>C. palustre</i>	Nazaruk ve ark. 2008
Vanilik asit	<i>C. vulgare, C. arvense, C. lanceolatum</i>	Nazaruk ve ark. 2008, McGowan ve Wallace 1972
Protokateşik asit	<i>C. vulgare, C. arvense, C. oleraceum, C. palustre, C. lanceolatum</i>	McGowan ve Wallace 1972, Nazaruk ve ark. 2008
p-Kumarik asit	<i>C. vulgare, C. arvense, C. oleraceum, C. palustre, C. rivulare, C. horridulum, C. setosum, C. lanceolatum, C. japonicum</i>	McGowan ve Wallace 1972, Nazaruk ve ark. 2008, Bai-cui ve ark. 2008, Zhi ve ark. 2003
Klorojenik asit	<i>C. vulgare, C. arvense, C. oleraceum, C. setosum, C. palustre, C. rivulare, C. pendulum, C. japonicum</i>	Nazaruk ve ark. 2008, Palade 1971, Lu ve ark. 2009, Guoliang ve ark. 2007, Miyaichi ve ark. 1995

Kafeik asit	<i>C. vulgare</i> , <i>C. setosum</i> , <i>C. arvense</i> , <i>C. oleraceum</i> , <i>C. horridulum</i> , <i>C. lanceolatum</i>	McGowan ve Wallace 1972, Lu ve ark. 2009, Palade 1971, Nazaruk ve ark. 2008, Bai-cui ve ark. 2008
1,3-Dikafeilkunik asit, 1-kaffeilkunik asit	<i>C. arvense</i>	Palade 1971
1,5-di-O-Kafeilkunik asit	<i>C. japonicum</i>	Miyaichi ve ark. 1995
Seskiterpenler		
Siperenil asetat, siperenal	<i>C. dipsacolepis</i>	Takano ve Kawaminami 1988
mokko lakton	<i>C. setidens</i>	Lee ve ark. 2002
Dehidrocoston lakton, azuleno[4,5-b]furan- 2(3H)-on, dekahidro-6,9-bis(metilen)	<i>C. carolinianum</i>	Bohlmann ve Abraham 1981
Loliolid	<i>C. setosum</i> , <i>C. rhinoceros</i>	Ke ve ark. 2006, Kyung ve ark. 2002
(-)-Epiloliolid	<i>C. rhinoceros</i>	Kyung ve ark. 2002
β -karyofilen, α -humulen, α -selinen, β - bisabolen-12-ol, karyofilen oksit, karyofilen alkol, germakren D-4-ol, bisabolon, spatulanol, γ -eudesmol asetat, β -eudesmol, 5-neo-sedranol, 14-oksi- α -muurolen, vulgarone B, khusinol, farnesol, β -elemen	<i>C. japonicum</i>	Miyazawa ve ark. 2003
β -Karyofilen oksit	<i>C. rivulare</i>	Nazaruk ve ark. 2002
Diğer Bileşikler		
Allantoin	<i>C. arvense</i>	Palade ve Forstner 1971
Sirinjin	<i>C. arvense</i> , <i>C. setosum</i> , <i>C. japonicum</i>	Jordon-Thaden ve Louda 2003, Syrchina ve ark. 1998, Miyaichi ve ark. 1995, Zhi ve ark. 2003
Osimen	<i>C. rivulare</i>	Nazaruk ve ark. 2002
Limonen, β -pinen, 2-pentilfuran, myrcen, <i>p</i> -	<i>C. rivulare</i> , <i>C. palustre</i>	Nazaruk ve ark. 2002, Nazaruk ve ark. 2012

cymen, γ -terpinen, terpinolen, bornil asetat, Camphen, hegzanoik asit, 6-metilhept-5-en- 2-one, 5-metilheptan-3-on, sabinen, linalool, <i>trans-p</i> -mentha-2,8-dienol, <i>cis-p</i> - mentha-2,8-dienol, cymen-9-ol, terpinen-4- ol, α -terpineol, 8,9-dehydrothymol <i>trans</i> -carveol, carvotanacetone linalil asetat, γ -nonanolit, γ -curcumen	<i>C. rivulare</i>	Nazaruk ve ark. 2012
Dehidrovomifoliol	<i>C. rhinoceros</i>	Kyung ve ark. 2002
2-(3,4-Dihidroksifenil)-etil- β -D- glukopiranozit	<i>C. setosum</i>	Syrchina ve ark. 1998
Stearik aldehit, triakontan	<i>C. echinus</i>	Rasulov ve ark. 1989
Sinapaldehit	<i>C. helenioides</i>	Christensen 1992
Sinapilaldehit-4-O- β -D-glukopiranozit	<i>C. japonicum</i>	Miyaichi ve ark. 1995
Ferulil aldehit-4-O- β -D-glukopiranozit	<i>C. japonicum</i>	Miyaichi ve ark. 1995
Taşiosit, uridin	<i>C. japonicum</i>	Miyaichi ve ark. 1995
Suksinik asit	<i>C. setosum</i>	Bai-cui ve ark. 2008
12-Pentakozanon	<i>C. texanum</i>	Dominguez ve ark. 1974
Klorofil, lutein, 3',4'-dihidroksi feniletanol glukozit,3-(4'-metoksi-3',5'-dihidroksifenil)- allil alkol glukozit, urasil, metilklorojenat	<i>C. pendulum</i>	Guoliang ve ark. 2007
Triakontanol	<i>C. pendulum, C. segetum</i>	Guoliang ve ark. 2007, Gu ve Tu 1992 a
Dotriakontanol	<i>C. japonicum</i>	Gu ve Tu 1992b,
5-Hidroksimetil-2-furankarboksaldehit, 5-	<i>C. chlorolepis</i>	Shen ve Mu 1990

metoksimetil-2furankarboksaldehit, sirsium-aldehit, sirsiumozit		
Aurantiamid asetat	<i>C. setosum</i>	Ke ve ark. 2006
Fumarik asit	<i>C. arisanense, C. henryi, C. wallichii</i>	Lin ve ark. 1975, Yue ve ark. 2007, Lin 1975
Tridek-1-en-3,5,7,9,11-pentain, epoksiheptadek-16-en-4,6-diin-8-ol	9,10- <i>C. japonicum</i>	Kawazu ve ark. 1980
Vernopoliantofuran	<i>C. hypoleucum</i>	Bohlmann ve Abraham 1981
2,4-Tetradekadieneamit, N-(2-metil propil)	<i>C. canum</i>	Bohlmann ve Abraham 1981
Scopoletin	<i>C. rhinoceros</i>	Yim ve ark. 2003
Monoetil fumarat, stearik asit	<i>C. henryi</i>	Yue ve ark. 2007
α -Pinen, dodekan, tetradekan, δ -selinen	<i>C. palustre</i>	Nazaruk ve ark. 2012
α -Tokoferol, 25-hidroperoksisikloart- 23-en-3 β -ol, 24-hidroperoksisikloart-25-en- 3 β -ol, <i>trans</i> fitol, 9,12,15-oktadekatrienoik asit, 9,12-oktadekadienoik asit, hegzadekanoik asit, (2R)-1, 2-O-(9z, 12z, 15z-dioktadekatrienoil)-3-O- β -D- galaktopiranozil gliserol,	<i>C. setidens</i>	Lee ve ark. 2002
<i>ar</i> -Curcumen	<i>C. japonicum, C. rivulare</i>	Miyazawa ve ark. 2003, Nazaruk ve ark. 2012
Hegzanol, 1-butanol, 2-heptanone, 2-pentil furan, 3-hidroksi-2-butanon, 2-metil-2- buten-1-ol, 6-metil-5-hepten-2-on, furfural, <i>exo</i> -fenchyl asetat, <i>trans</i> -2-nonenal,	<i>C. japonicum</i>	Miyazawa ve ark. 2003

benzaldehit, *cis*-sabinen hidrat, sitronellil format, mentol, pulegon, kubeb-11-ene, α -himachalen, 7-tridekanon, (*E*)-anethol, geraniol, *p*-simen-8-ol, benzil alkol, 2-feniletil alkol, *o*-krezol, neril asetat, metil ögenol, γ -ponalakton, kuminil alkol, eugenol, longiborneol, timol, metil isoeugenol, metil palmitat, *iso*-longifolol, kongol, timohidro kuinon, metil linolat, tridekanoik asit, pentadekanoik asit, palmitileik asit

Palmitik asit, oleik asit, linoleik asit, laurik asit, miristik asit

Stearik asit, araşidik asit, palmitoleik asit

C. japonicum, *C. vallis demoni*

C. vallis demoni

Miyazawa ve ark. 2003, Aquino ve ark. 1987

Aquino ve ark. 1987

2.4. *Cirsium* Türleri ile Yapılan Aktivite Çalışmaları

Cirsium hypoleucum bitkisinin metanol, n-hekzan, kloroform, etil asetat, n-butanol ve su ekstralarının *Herpes simplex* (HSV) ve *Parainfluenza* virüslerini (PIV) içeren birçok mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiştir. Bitkinin su ekstresinin HSV'e karşı referans standart olarak kullanılan asiklovir ile aynı oranda aktif olduğu belirlenmiştir (Deliorman-Orhan ve ark. 2007).

C. tenoreanum bitkisinin etil asetat ekstresinin iyi antiproliferatif etki gösterdiği tespit edilmiştir (Loizzo ve ark. 2004).

C. setidens bitkisinden izole edilen 24-hidroperoksisikloart-25-en-3 β -ol bileşiğinin beş insan kanser hücresine karşı önemli derecede sitotoksik aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Lee ve ark. 2002).

Pirolizatlar (ette veya balıkta bulunan aminoasitler veya proteinlerden pişirme sırasında oluşan heterosiklik aminler) kuvvetli mutajen ve karsinojendir, pişirilmiş et ürünleri tüketen insanlar 3-amino-1-metil-5H-pirido[4, 3-b] indol (Trp-P-2) ve diğer heterosiklik aminlere maruz kalmaktadırlar. *C. maritimum* bitkisinin topraküstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinin Trp-P-2' nin mutajenitesini azalttığı ayrıca bu bitkiden elde edilen cirsimaritin ve cirsimaritin 4'-glukozitin kuvvetli antimutajen olduğu belirlendi (Nakasugi ve ark. 2002).

C. japonicum bitkisinden elde edilen pectolarinin, S180 ve H22 fare hücrelerinde antikanser aktiviteye sahip olduğu ve kanamayı önlediği belirlenmiştir (Liu ve ark. 2006; Ganzera ve ark. 2005). *C. japonicum* bitkisinden elde edilen 5,7-dihidroksi-6,4'-dimetoksi flavon bileşiğinin S180 ve H22 kanser hücrelerinin gelişimini büyük oranda inhibe ettiği belirlenmiştir (Liu ve ark. 2007).

C. chanroenicum bitkisinin toprak üstü kısımları ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda pectolarigenin ve pectolarin bileşiklerinin anti-inflammatuar aktiviteye sahip oldukları ve iltihaplı yaralarda eikozanoit oluşumunu inhibe ettiği tespit edilmiştir (Lim ve ark. 2008).

C. rivulare, *C. oleraceum* ve *C. vulgare* anksiyeteyi ortadan kaldırmak için kullanılır. *C. oleraceum* ve *C. rivulare* bitkileri antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Nazaruk 2008). *C. arvense*, *C. oleraceum*, *C. palustre*, *C. rivulare* ve *C. vulgare* bitkilerinin sulu ekstraları ile yapılan çalışmada *C. palustre* ekstresinin en yüksek toplam fenolik içeriğe ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır (Nazaruk ve ark. 2008).

C. arisanense’ den hazırlanan ve fenolik bileşikler içeren su ekstresinin karaciğeri koruyucu etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Ku ve ark. 2008).

C. setosum bitkisi ile yapılan fitokimyasal çalışmalarda fenolik asitler, flavonoidler ve triterpenler bulunmuştur. Farmakolojik çalışmalar fenolik bileşiklerin, *C. setosum* bitkisindeki ana biyoaktif bileşenler olduğunu göstermiştir. Bu bileşenlerin antiinflamatuvar, antioksidan, antitümör, antibakteriyel gibi biyolojik aktivitelere sahip olduğu belirtilmiştir (Lu ve ark. 2009).

Chin-Wen ve ark. yaptığı çalışmada Tayvan’ın kuzeyinde yetişen 29 bitkinin yapraklarının sulu ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri çalışılmıştır. *Lropetalum chinense*, *Cirsium japonicum* var. *australe* ve *Acanthopanax trifoliatum* bitkilerinin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Test edilen kuru bitki örnekleri arasında süperoksit anyon radikal süpürücü yönteminde *C. japonicum* var. *australe* bitkisi ikinci en iyi, hidroksil radikali süpürücü yönteminde ise en iyi üçüncü aktiviteye sahiptir (Chin-Wen ve ark. 2008).

C. setidens bitkisinin ekstresini ihtiva eden bir kozmetik bileşiminin antioksidan, ağartma, saç gelişimi, akne önleyici ve tahriş olmuş cildi yumuşatma gibi etkileri vardır (Sub ve ark. 2007).

C. subcoriaceum bitkisinin toprak üstü kısmının kurutulmuş su ekstresinin ve onun ana flavonoid glikoziti olan pectolinarin bileşiğinin analjezik ve antiinflamatuvar etkisi farelerde ve sıçanlarda araştırılmıştır. Hem ekstrenin hem de pectolinarin bileşiğinin kuvvetli analjezik ve antiinflamatuvar etki gösterdiği belirlenmiştir (Martinez-Vazquez ve ark. 1998).

C. japonicum var. *ussuriense* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen sirsimarın bileşiği 10-20 mg/mL eklendiğinde sıçan karaciğerlerinde kontrol ile karşılaştırıldığında %12 oranında lipid peroksidasyonunu azalttığı tespit edilmiştir (Park ve ark. 1995a).

Antimikrobiyal ve antioksidan etkili olan cirsiumamit bileşiği *C. brevicaulis* var. *irumtiense* bitkisinin rizomlarından izole edilmiştir. Cirsiumamit bileşiği *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Proteus vulgaris*’e karşı güçlü antimikrobiyal etki göstermiştir. Cirsiumamit bileşiğinin çok güçlü antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir (Sawaguchi ve ark. 1994).

Bursaphelenchus lignicolus ile yapılan biyorehberli çalışmada *C. japonicum* bitkisinin köklerinden tridek-1-en-3,5,7,9,11-pentain ve 9,10-epoksiheptadek-16-en-4,6-

diin-8-ol elde edilmiştir. Bu iki bileşiğin nematot (solucan) üremesini inhibe edici etkileri belirlenmiştir (Kawazu ve ark. 1980).

Cirsium arvense, *C. oleraceum*, *C. palustre*, *C. rivulare* ve *C. vulgare* bitkilerinin çiçek ve yapraklarından hazırlanan ekstrelerin sodyum pikolinat ve sodyum benzoat ile kombinasyonlarının *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine karşı antimikrobiyal özellikleri araştırılmıştır. Bu ekstreler Gram (+) bakterilere karşı, Gram (-) bakterilerden daha güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Çiçeklerden elde edilen ekstreler yapraklardan elde edilen ekstrelere göre daha iyi aktivite göstermişlerdir. Sodyum pikolinat tek başına 0.2 ve 0.4 mg/mL konsantrasyonlarda antimikrobiyal etki göstermezken aynı konsantrasyonlarda ekstreler ilave edildiğinde ekstrelerin antimikrobiyal aktiviteleri artmıştır. Sodyum benzoat aynı etkiyi göstermemiştir (Borawska ve ark. 2010).

2.5. Antioksidanlar

Vücudumuzdaki ve besinlerdeki lipitler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler oksidasyona uğrayabilir ve canlı organizma için zararlı olabilecek oksidasyon ürünleri oluşturabilirler (Papas 1996). Bu durum yaygın olarak “Oksidatif Stres” şeklinde ifade edilir. Oksidatif stresin baş sorumluları reaktif oksijen ve azot türleridir (Tablo 2-2) (Aruoma ve Cuppet 1997, pp. 241).

Tablo 2-2: Reaktif Oksijen ve Azot Türleri

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

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

- Hücrenin normal solunumu sırasında yan ürün olarak reaktif oksijen ve azot türleri oluşur.
- Süperoksit ve hidrojen peroksit miktarı, bazı biyomoleküllerin (adrenalin, dopamin, tetrahidrofolat, sitokrom P450 ve elektron transport zincirlerinin bazı bileşikleri) oksijen tarafından doğrudan oksidasyonu ile artabilir (Fridovich 1986, Halliwell 1994).
- Vücudumuz, doğal ve insan kaynaklı radyasyona maruz kalabilir. Yüksek enerjili elektromagnetik ışın, suyu parçalayabilir ve hidroksi radikali oluşturur (Von-Sonntag 1987).

Reaktif oksijen ve azot türleri dışarıdan da organizmaya alınabilirler. Sigara dumanının ana bileşiği NO_2^{\bullet} 'dir. NO_2^{\bullet} 'in sigara olefinleri ile reaksiyona girmesiyle karbon merkezli radikallerin oluştuğu düşünülmektedir. Ayrıca sigara içimi nötrofilleri aktive ederek dolaylı olarak serbest radikal üretimini artırmaktadır (Papas 1996).

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

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

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

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

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

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

Diğer taraftan sentetik antioksidanlar gıdaların bozunmasını önlemek ve raf ömrünü uzatmak için kullanılmaktadırlar. Günümüzde BHA (bütillenmiş hidroksi-anisol), BHT (bütillenmiş hidroksitoluen), PG (propil gallat) ve TBHQ (*t*-bütilhidrokinon) en çok kullanılan sentetik antioksidanlardır. Ancak sentetik antioksidanlar ve oluşturdukları yan ürünlerin çeşitli hastalıklara yol açabileceğini ortaya koyan çalışmalar vardır (Yamazaki ve ark. 2007, Tepe ve ark. 2007). Bu nedenle doğal kaynaklardan, sentetik antioksidanların yerini tutabilecek yeni antioksidan

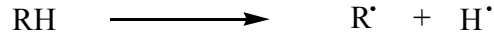
maddelerin bulunmasına yönelik çalışmalar giderek önem kazanmış ve bu alanda yapılan araştırmalar artmıştır.

2.5.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

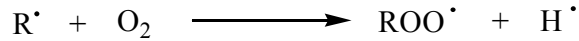
Antioksidanlar, reaksiyon mekanizmalarına göre birincil ve ikincil antioksidanlar olarak ikiye ayrılırlar. Bazı antioksidanlar ise birden fazla aktivite mekanizması gösterirler ve bunlar çok fonksiyonlu antioksidanlar olarak adlandırılırlar (Reische ve ark. 2002).

2.5.1.1. Birincil Antioksidanlar

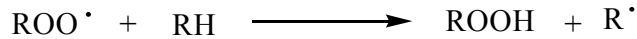
Birincil antioksidanlar (tip-1 veya zincir kırıcı antioksidanlar) otooksidasyonun başlangıç aşamasını erteleyen veya engelleyen ya da otooksidasyonun ileri aşamasını yarıda kesen serbest radikal alıcılarıdır. Bir lipit (alkil) radikali (R[•]) oluşturmak için, doymamış yağdan α -metilenik hidrojen ayrıldığında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



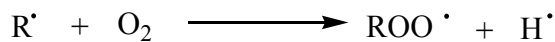
Oluşan lipit radikali çok reaktiftir, ilerleyen aşamalarda peroksi radikali (ROO[•]) oluşturmak için oksijenle reaksiyona girer (Reische ve ark. 2002).



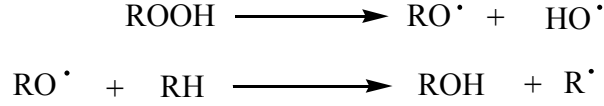
Reaksiyonun ilerleyen aşamalarında peroksi radikalleri lipitle reaksiyona girerek hidroperoksit ve yeni bir kararsız lipit radikali oluştururlar (Reische ve ark. 2002).



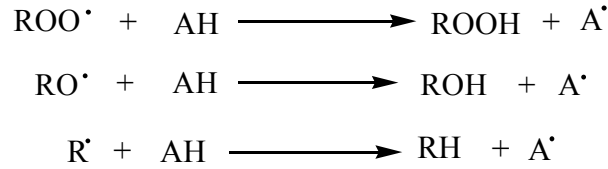
Daha sonra bu lipit radikali başka peroksi radikali oluşturmak üzere oksijen ile reaksiyona girecektir. Bu oksidatif mekanizma kendiliğinden katalizlenir ve böylece otooksidasyon devam eder (Reische ve ark. 2002).



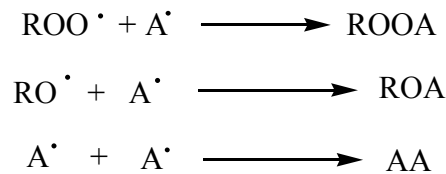
Hidroperoksitler (ROOH) kararsızdırlar ve bozunarak radikaller oluştururlar. Bu da reaksiyonun hızlanmasına neden olur (Reische ve ark. 2002).



Birincil antioksidanlar (AH) lipit radikali (R^\bullet) ve peroksi radikalleriyle (ROO^\bullet) reaksiyona girerler ve onları daha kararlı, radikal olmayan ürünlere çevirirler. Birincil antioksidanlar lipit radikallerine hidrojen atomları verirler ve lipit türevleri ile antioksidan radikaller meydana getirirler (A^\bullet). Hidrojen verici olarak birincil antioksidanlar peroksi radikallerine lipitlerden daha çok ilgi gösterirler. Bu yüzden otooksidasyon reaksiyonunda oluşan peroksi (ROO^\bullet) ve oksi (RO^\bullet) serbest radikalleri birincil antioksidanlar tarafından giderilirler. Antioksidanlar lipit radikalleriyle doğrudan da etkileşebilirler (Reische ve ark. 2002).



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



Katı ve sıvı yağlarda antioksidan dimerlerin oluşumu göze çarpar ve bu oluşum fenolik antioksidan radikallerin kolayca sonlandırma reaksiyonlarına uğradığını

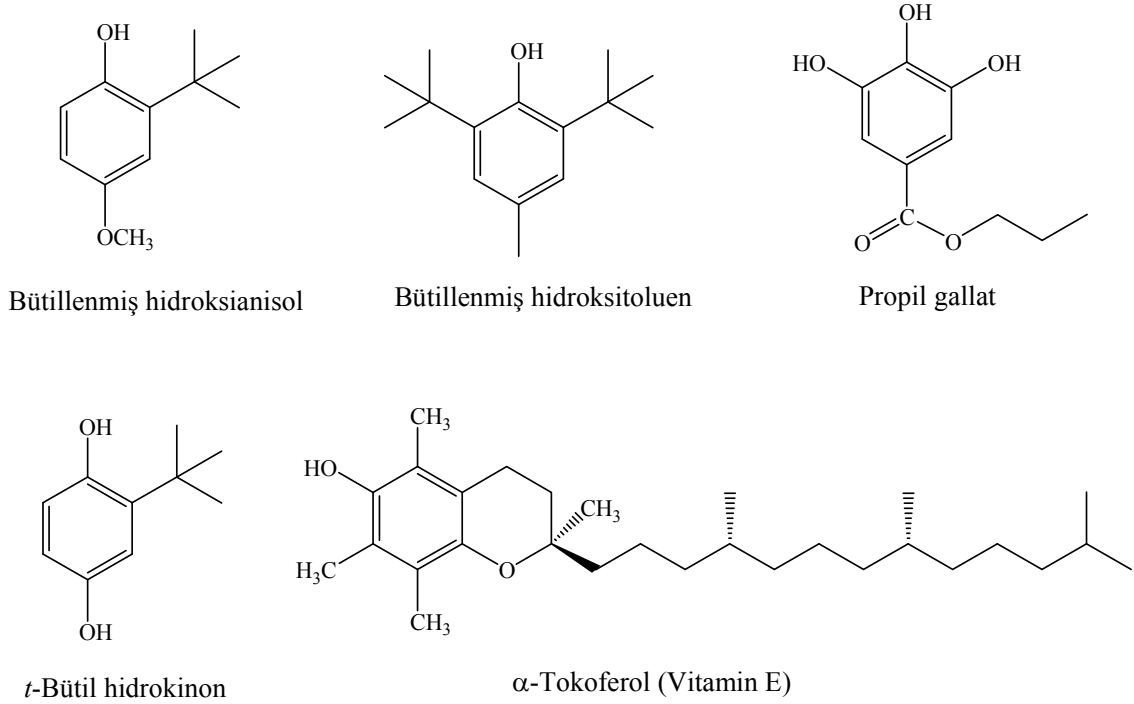
gösterir. Antioksidan dimerler, radikal olmayan şekillerinde ne kadar uzun süre kalırlarsa otokatalitik serbest radikal zincir mekanizmasını o kadar etkili şekilde durdururlar (Reische ve ark. 2002).

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

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

Birincil antioksidanlar, çeşitli halka süstitüsyonlarına sahip mono veya polihidroksi fenollerdir. Fenoldeki hidroksil grubuna göre orto ve para konumuna elektron veren grupların süstitüsyonundan oluşan indüktif etki bileşiğin antioksidan aktivitesini artırır. Fenolik antioksidanlar, hidroksil grubunun elektron yoğunluğunu arttırarak onun reaktifliğini azaltır. Hidroksil grubuna göre para konumunda etil veya bütül grupların süstitüsyonu, antioksidan aktiviteyi artırır. Bununla beraber sterik engelleme nedeniyle para pozisyonlardaki uzun zincir veya dallanmış alkil gruplarının varlığı antioksidan etkiyi azaltabilir. Orto pozisyonlardaki dallanmış alkil gruplarının süstitüsyonları kararlı rezonans yapılar oluşturarak fenolik antioksidanın etkisini arttırırlar ve antioksidan radikalinin reaksiyonlara katılma yeteneğini azaltırlar (Reische ve ark. 2002).

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



Şekil 2-1: Birincil Antioksidanlar

2.5.1.2. İkincil Antioksidanlar

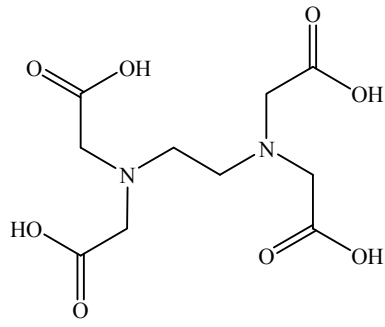
İkincil (tip-2 veya koruyucu antioksidanlar) antioksidanlar çok çeşitli reaksiyon mekanizmalarına sahiptirler. Bu antioksidanlar oksidasyon hızını yavaşlatırlar, fakat serbest radikalleri daha kararlı ürünlere dönüştürmezler. İkincil antioksidanlar prooksidan metallere kelat yapabilirler ve onları deaktive edebilirler, hidroksiperoksitlerin radikal olmayan türlere parçalanmasını sağlayabilirler, singlet oksijeni deaktive edebilirler, ultraviyole radyasyonu absorbe edebilirler veya oksijen giderici olarak davranabilirler. Bu antioksidanlar, genellikle birincil antioksidanların aktivitesini arttırlar. Sitrik asit, askorbik asit, askorbil palmitat, lesitin, tartarik asit, EDTA ve β -karoten ikincil antioksidanlara örnek olarak verilebilir (Şekil 2-2) (Reische ve ark. 2002).

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

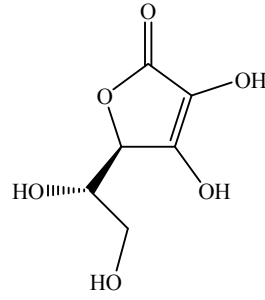
a) Kelat Yapıcılar: Sitrik asit, fosforik asit, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), tartarik asit

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

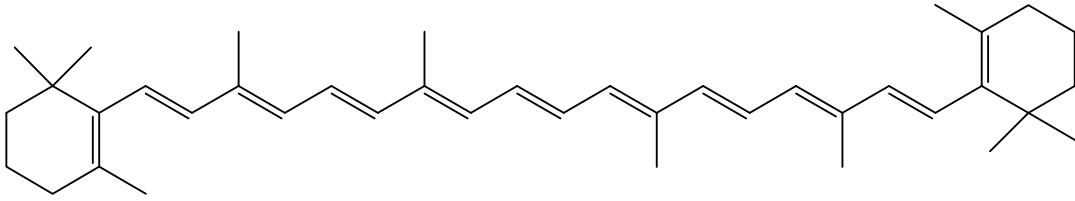
c) Singlet Oksijen Gidericiler: Karotenoitler (β -Karoten, likopen ve lutein)



Etilendiamintetraasetikasit (EDTA)



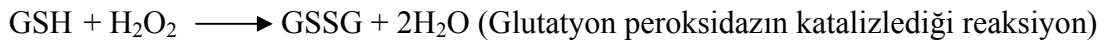
Askorbik asit

 β -Karoten (A vitamini)

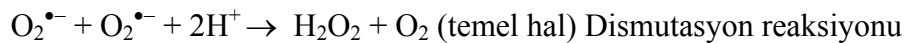
Şekil 2-2: İkincil Antioksidanlar

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

Katalaz ve glutasyon peroksidaz enzimleri hidrojen peroksidin uzaklaştırılmasında görev alırlar.



SOD, dismutasyon reaksiyonunu katalizler ve süperoksidin uzaklaştırılmasını sağlar;



2.5.2. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Antioksidan aktivitenin tayin edilmesi amacıyla kullanılan yöntemlerden bazıları şunlardır:

- ❖ CUPRAC (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) yöntemi (Apak ve ark. 2004).
- ❖ FRAP (Demir (III) iyonu indirgeme antioksidan gücü) yöntemi (Benzie ve Strain 1996).
- ❖ Folin Ciocalteu yöntemi (Singleton ve ark. 1999).
- ❖ TRAP (Toplam radikal tutma parametresi) yöntemi (Wayner ve ark. 1985).
- ❖ Luminol yöntemi (Whitehead ve ark.1992).
- ❖ DCFH-DA (Diklorofloresin-diasetat) yöntemi (Valkonen ve Kuusi 1997).
- ❖ Fikoeritrin (PE) esaslı yöntemler (Ghiselli ve ark. 1995).
- ❖ Krosin yöntemi (Tubaro ve ark.1998).
- ❖ DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi (Blois 1958).
- ❖ ORAC (Oksijen radikal absorban kapasitesi) yöntemi (Prior ve Cao 1999).
- ❖ TOSC (Toplam oksiradikal süpürme kapasitesi) yöntemi (Winston ve ark.1998).
- ❖ Siklik voltametri yöntemi (Kohen ve ark. 1999).
- ❖ β -Karoten renk açılım yöntemi (Miller 1971).
- ❖ Süperoksit anyon radikali giderim aktivitesi yöntemi (Liu ve ark. 1997).
- ❖ ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi (Re ve ark. 1999).
- ❖ Metal bağlama yöntemi (Dinis ve ark. 1994).

2.6. Alzheimer Hastalığı

Alman psikiyatrist Aloist Alzheimer tarafından 1906 yılında tanımlanmış olan Alzheimer hastalığı (AH), yaşlılardaki primer dejeneratif demansın en sık görülen formudur. Demans, bilinci açık bir insanın günlük yaşamını etkileyecek derecede zihinsel ve sosyal uyum yeteneğinin azalması durumudur (Karaman 2002). Alzheimer hastalığında en erken semptom, genellikle hafıza kaybının progresyonudur. Başlangıçta bu hafıza kaybını yaşlılığa bağlı unutkanlıktan ayırmak güç olabilir. Ancak unutkanlığı olanlar bu durumun farkındadır ve günlük yaşam aktiviteleri minimal düzeyde etkilenir (Akalin 2003). Yeni bilgilerin hemen unutulması, yakın geçmişi hatırlayamamak, buna karşılık uzak geçmişi çok iyi hatırlamak önemli bir özelliktir. Alzheimer hastalarında

konuşma bozukluğu siktir, cümle kurmakta zorlanırlar. Hastalık ilerledikçe bellek problemleri artar. Zamanla kişisel bakımlarını yapamaz hale gelirler, psikiyatrik semptomlar başlar ve hasta yatağa bağımlı kalır (Akalin 2003, Payao ve ark. 1994, Yamantürk 2000). Alzheimer hastalığı, beyindeki öğrenme ve hafıza ile alakalı bölümlerde kolinerjik nöronların kaybıyla bağlantılı olarak nörofibrillerin düğümlemesi ve amiloitlerin oluşumu olarak tanımlanır. Kolinerjik çekirdek doku bozulması, kolinerjik sinir iletimini azaltmaktadır. Ard arda gelen doku bozulmaları artan toksisiteye bağılı olarak hafıza kaybıyla sonuçlanan geri dönüşümsüz fonksiyon bozukluklarına neden olmaktadır. Alzheimerlı hastalarda beyin neokorteks ve hippokampus gibi yüksek mental fonksiyonlarından sorumlu bölgelerinde beyin hücreleri üzerinde patolojik bir protein birikimi görülür. Bu protein birikimi β -amiloit plaklardır.

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

Normal erişkin beyinde AChE yaygın olarak bulunurken, BChE sınırlı miktarlarda bulunmaktadır (Appleyard 1992). Asetilkolinesteraz enzimi uyarılabilen tüm dokularda bulunurken, butirilkolinesteraz enzimi ise merkezi ve periferik sinir sistemi, karaciğer ve plazmada bulunmaktadır (Hartman 2010).

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

2.6.2. Kolinesteraz İnhibitörlerinin Alzheimer Hastalığındaki Mekanizması

Kolinesteraz inhibitörleri, asetilkolinesteraz enziminin neden olduğu asetilkolin sinir taşıyıcılarının yıkımını engeller. Alzheimerlı hastaların kolinerjik sinirlerinde asetilkolin miktarı azalır. Kolinerjik sinir hücrelerinin kaybı bilişsel olarak tehlike yaratmaktadır. Asetilkolin enzimi amiloit-beta denilen plakaların oluşumunu destekler, bu plakalar ise asetilkolinesteraz enziminin bozunumunu azaltır (Rees ve ark. 2003, Hu

ve ark. 2003). Amiloit, çeşitli klinik bozukluklarda vücudun birçok doku ve organlarında hücreler arasında depolanan anormal bir proteindir.

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

Bu enzimler α -sekretaz, β -sekretaz, γ -sekretaz enzimleridir. Hastalıkta α - ve β -sekretaz enzim aktiviteleri arasındaki dengenin β -sekretaz enzim lehine gelişmesi nöronal dejenerasyona sebep olmaktadır (Simon 2001). Rees ve Birmijoin, asetilkolinesterazın β -amiloit ile direkt olarak etkileşebildiğinden bu peptit çözünen plakalar içinde kümelenme imkânı bulur, buna uygun şekilde düzenlenen kolinestrez inhibitörleri hastalığın ilerlemesini inhibe ederek bulgusal yararlar sağladığını idda etmektedirler (Standridge 2004). Birçok veriye dayanarak, bu araştırmacıların hipotezi; asetilkolinesteraz inhibisyonunun amiloit başlatıcı proteini (APP) üreterek, sinir hücrelerini koruyan bir sürecin başlamasını sağlamaktır (Standridge 2004). Kısacası amiloitler beyin hücreleri arasındaki haberleşmeyi önler ve beyin hücrelerinin yavaş yavaş ölmesine neden olurlar (Auld ve ark. 2002).

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

düğümlemler oluşturur. Bu durumda mikrotübüller parçalara ayrılır ve nöronlar ölür (Lanari ve ark. 2006).

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

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

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

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

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

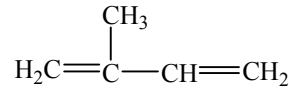
2.7. Terpenler

2.7.1. Dağılımları

Terpenler değişik yapısal özellikler gösteren ve yaygın olarak bulunan geniş bir doğal bileşikler sınıfıdır. Terpenler bitki dokularında genellikle serbest olarak, bazıları glikozitleri ya da organik asit esterleri halinde, bazıları da proteinlerle birleşmiş olarak bulunurlar. 10 ya da 15 karbonlu olan terpenler bitkilerden su buharı distilasyonu ile, daha fazla karbonlu olanlar ekstraksiyon yöntemleri ile ayrılırlar (Sönmez 1995).

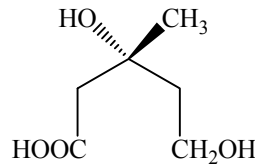
2.7.2. Oluşumları

Terpenlerin ana iskeleti beş karbonlu izopren birimlerinden oluşur. Yapısında izopren (Şekil 2-3) birimi bulunan bileşiklere izoprene benzeyen anlamına gelen izoprenoit ismi verilmiştir.



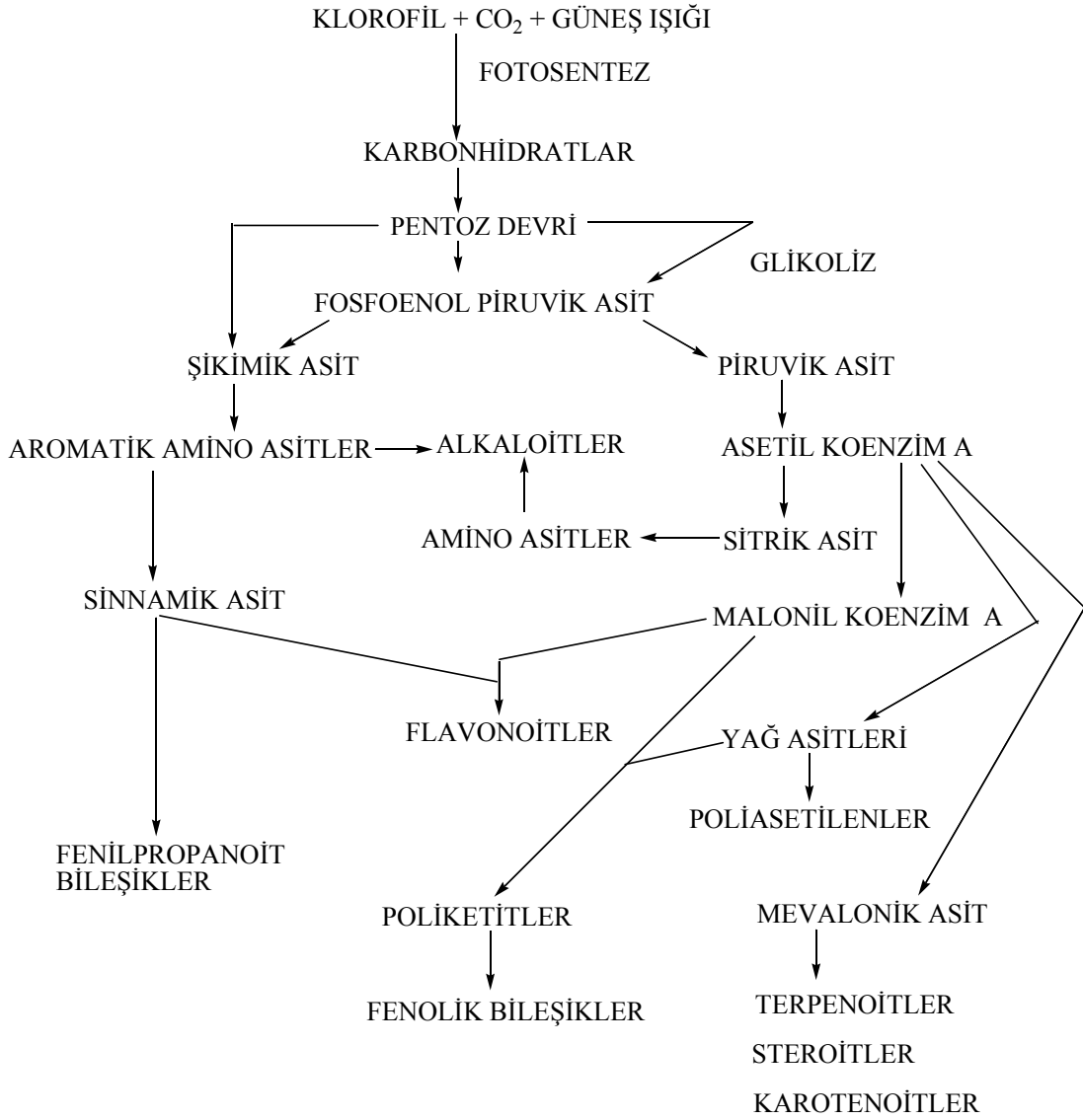
Şekil 2-3: İzopren

İzopren birimini oluşturan mevalonik asitin (Şekil 2-4) başlangıç maddesi asetil koenzim A'dır (Tedder ve ark. 1972).



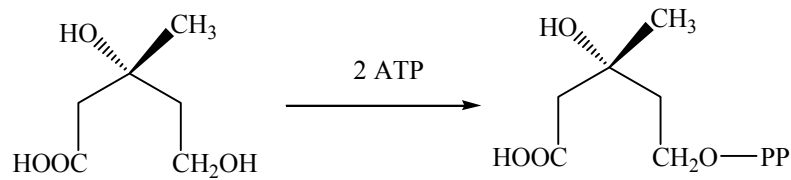
Şekil 2-4: Mevalonik Asit

Asetil coenzim A'nın ikincil metabolitlerin oluşumundaki rolü Şekil 2-5' te gösterilmiştir.



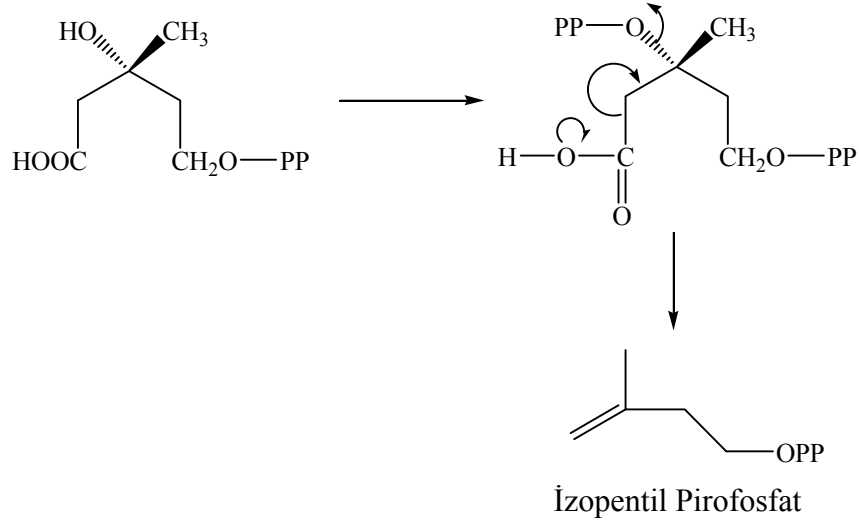
Şekil 2-5: İkincil Metabolitlerin Oluşumu

Mevalonik asitin 2 molekül ATP (adenozintrifosfat) ile fosforlanması sonucu mevalonik asit-5-pirofosfat oluşur (Şekil 2-6).



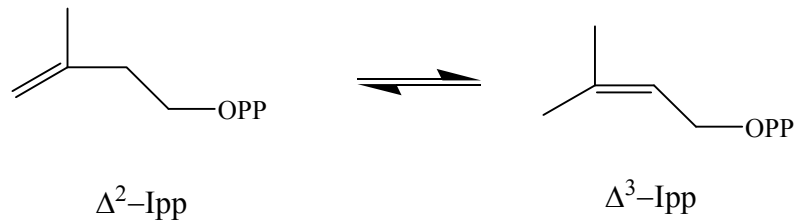
Şekil 2-6: Mevalonik Asit-5-Pirofosfat Oluşumu

Mevalonik asit-5-pirofosfatın tersiyer OH grubunun fosforlanması ve dehidrasyonu ile izopentil pirofosfat oluşur (Şekil 2-7).



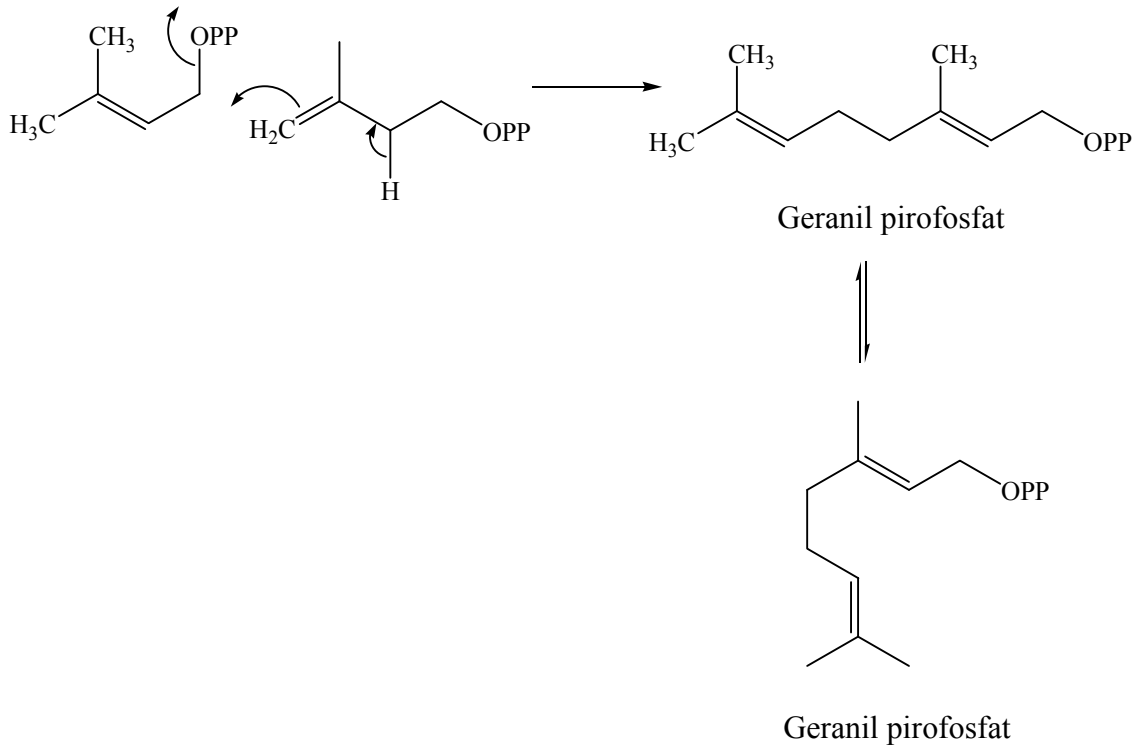
Şekil 2-7: İzopentil Pirofosfat Oluşumu

İzopentil pirofosfatın enzim ile izomerizasyonu sonucu dimetilallil ester oluşur (Geissman ve Crout 1969) (Şekil 2-8).



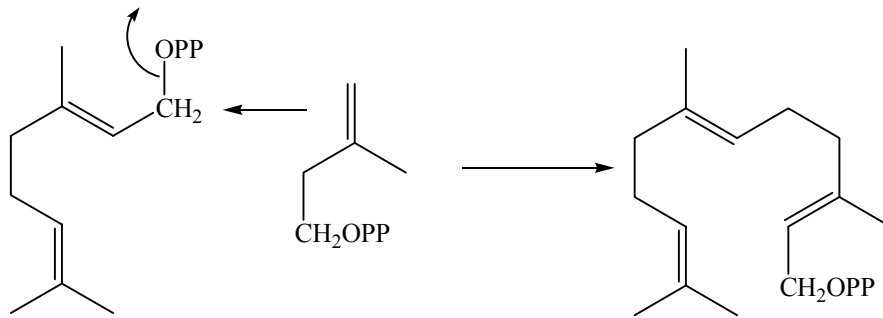
Şekil 2-8: İzopentil Pirofosfatın İzomerizasyonu

Bu iki izomerin kondenzasyonu geranil pirofosfatı oluşturur (Şekil 2-9). Bu madde monoterpenleri verir.



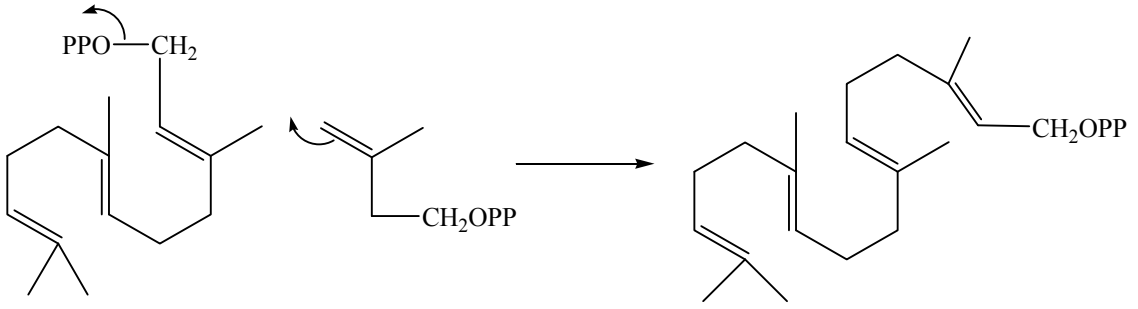
Şekil 2-9: Geranil Pirofosfatın Oluşumu

Geranil pirofosfatın izopentil pirofosfat ile kondenzasyonu farnesil pirofosfatı oluşturur (Şekil 2-10). Bu madde seskiterpenlerin geçiş bileşiğidir.



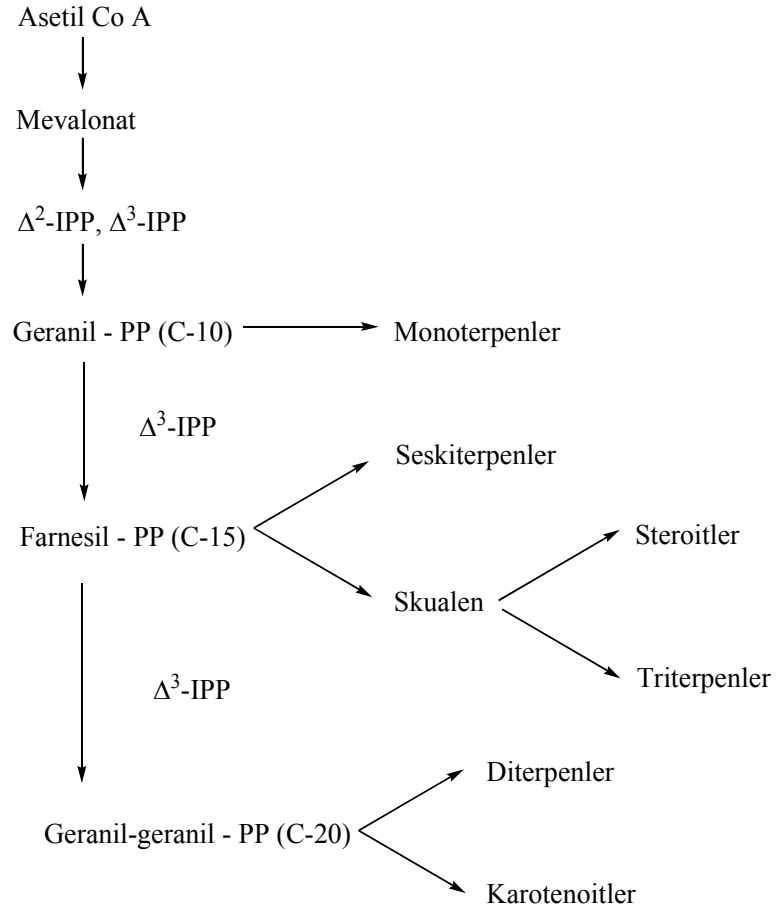
Şekil 2-10: Farnesil Pirofosfatın Oluşumu

Bu maddenin tekrar izopentil pirofosfat ile kondenzasyonu geranil-geranil pirofosfatı verir (Şekil 2-11). Geranil-geranil pirofosfat diterpenleri ve karotenoidleri oluşturur.



Şekil 2-11: Geranil-Geranil Pirofosfat Oluşumu

İzopentil, geranil ve farnesil pirofosfat moleküllerinin birbirleriyle değişik kondenzasyonları sonucu daha yüksek yapılı terpenler oluşur. Örneğin; triterpenler iki farnesil pirofosfatın, karotenoitler ise iki geranil-geranil pirofosfatın kondenzasyonu ile oluşmaktadır. Terpenlerin oluşumu Şekil 2-12’de gösterilmiştir.



Şekil 2-12: Terpenlerin Oluşumu

2.7.3. Terpenlerin Sınıflandırılmaları

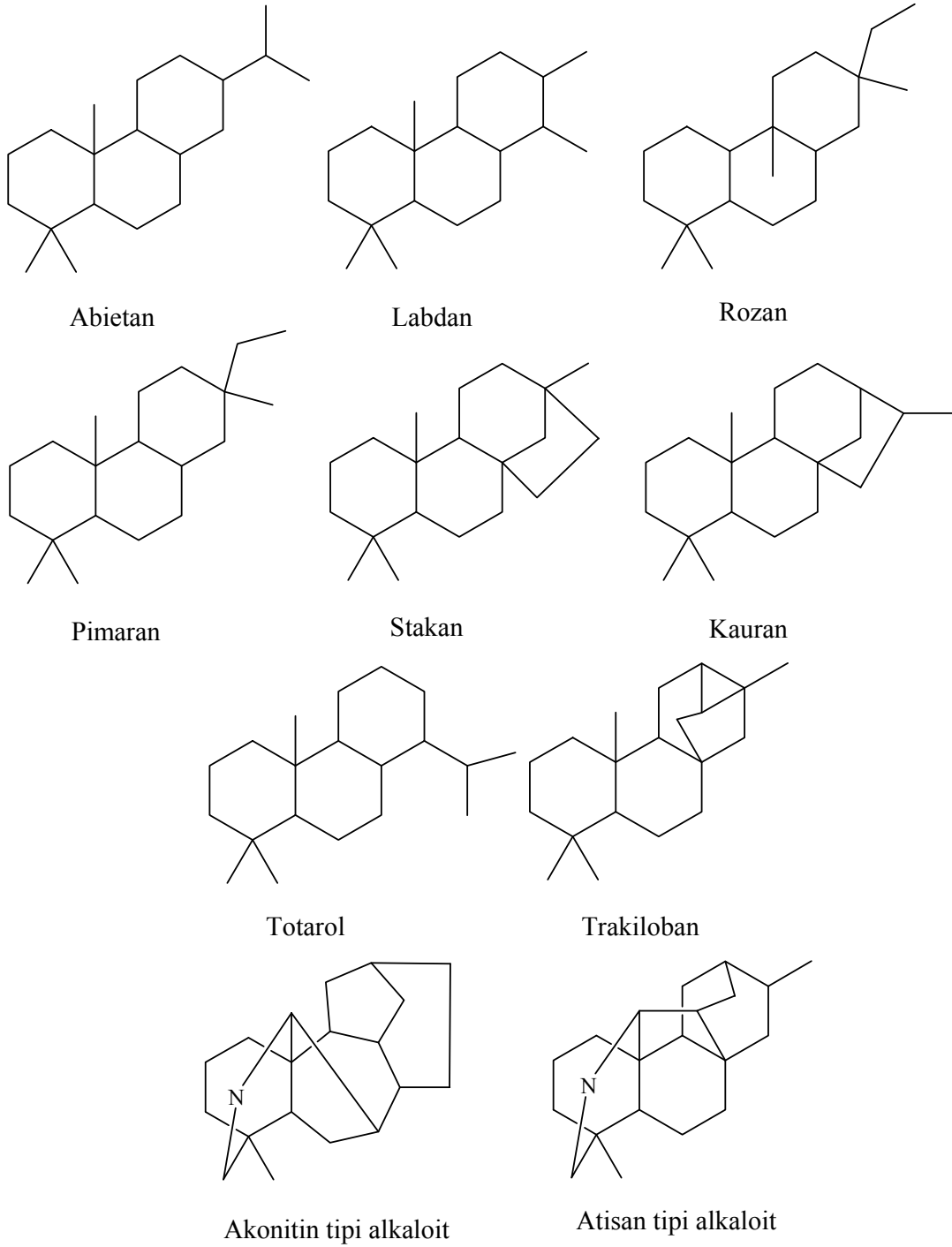
İzopentil pirofosfat aktif bir olefin bileşimidir. İzopentil pirofosfat moleküllerinden iki, üç, dört, beş, altı ve sekizi birleşerek açık zincirli ya da halkalı terpenleri oluştururlar. Terpenlerin ana iskeletleri 5 karbonlu izopren (2-metil-1,3-butadien) moleküllerinden olduğundan sınıflandırılmaları izopren birimlerinin sayısına göre yapılır (Tablo 2-3). Ruzicka tarafından ortaya atılmış olan “İzopren Kuralına” göre bütün terpenlerin karbon iskeletleri izopren birimlerinin iki ya da daha fazlasının birleşmesiyle oluşmuştur (Boiteau ve ark. 1964).

Tablo 2-3: Terpenlerin Sınıflandırılması

İzopren Sayısı	Sınıfı	C Sayısı
1	Hemiterpenler	5 C
2	Monoterpenler	10 C
3	Seskiterpenler	15 C
4	Diterpenler	20 C
5	Sesterterpenler	25 C
6	Triterpenler	30 C
8	Tetraterpenler (Karotenoitler)	40 C
n	Politerpenler	(5 C) _n

2.7.3.1. Diterpenler

Dört izopren molekülünden meydana gelen, çeşitli farmakolojik etkilere sahip olan diterpenler 20 karbonlu olup bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan bileşiklerdir. Diterpenler taşıdıkları ana iskelete göre sınıflandırılırlar, doğada çok bulunan bazı diterpen iskeletleri Şekil 2-13’de gösterilmiştir.

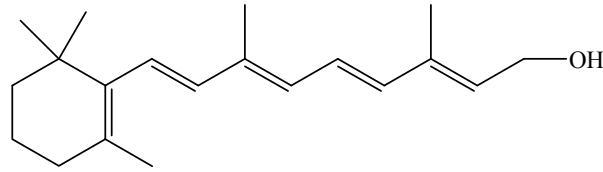
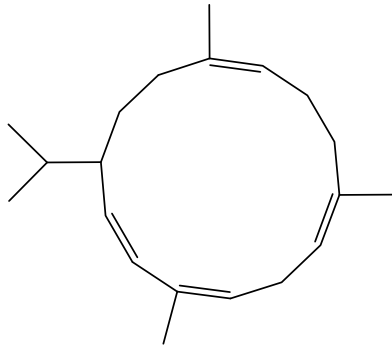


Şekil 2-13: Doğada Çok Bulunan Diterpen İskeletleri

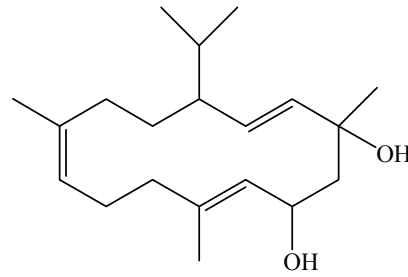
Çeşitli biyolojik aktiviteye sahip diterpenlerin oksijenli türevleri kimyasal yapılarına göre şu şekilde gruplandırılabilir:

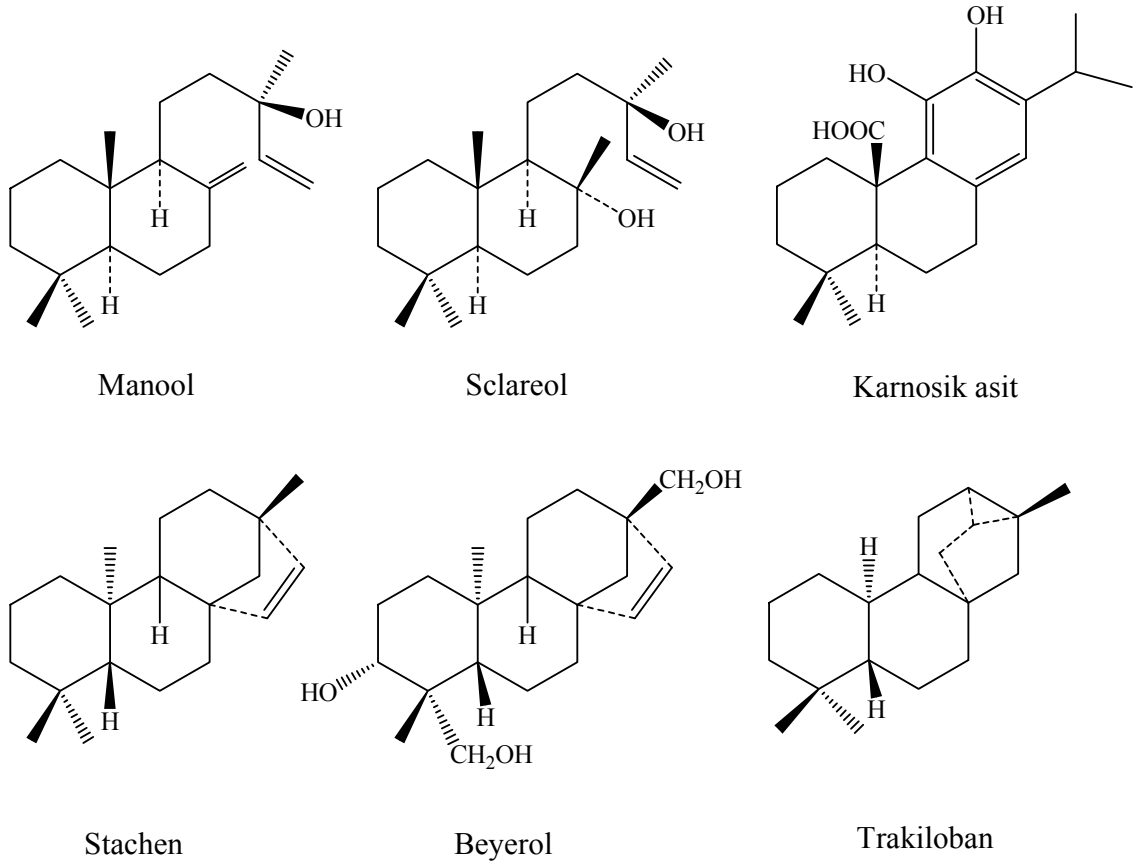
- ❖ Asiklik diterpenler: Doğada nadir olarak bulunurlar, geraniogeraniol, 1,3-*cis*-fitadien, fitol örnek olarak verilebilir (Devon ve Scott 1972).

- ❖ Monosiklik diterpenler: En çok bilinenlerden biri A₁ vitaminidir (Retinol) (Şekil 2-14). Retinol bitkilerde bulunmaz, omurgalı hayvan organizmasında karotenoitlerin ikiye bölünmesi ile oluşan bir bileşiktir. *Pinus albicaulis* oleoresininin içeriğinde bulunan cembren ve tütünde bulunan 4,8,13-*duvatrien*-1,3-diol monosiklik diterpenlere örnek olarak verilebilir (Şekil 2-14) (Geissman ve Crout 1969).
- ❖ Bisiklik diterpenlere manool ve sclareol örnek olarak verilebilir (Şekil 2-15).
- ❖ Trisiklik diterpenlere karnosik asit örnek verilebilir (Şekil 2-15) (Geissman ve Crout 1969).
- ❖ Tetrasiklik diterpenlere stachen ve beyerol örnek olarak verilebilir (Şekil 2-15) (Geissman ve Crout 1969).
- ❖ Pentasiklik diterpenlere örnek olarak trakiloban (Şekil 2-15) verilebilir (Geissman ve Crout 1969).

Vitamin A₁ (Retinol)

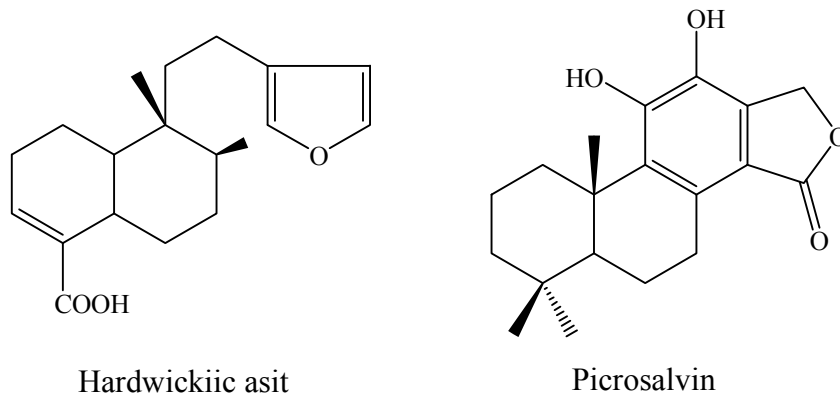
Cembren

4,8,13-*duvatrien*-1,3-diol**Şekil 2-14: Monosiklik Diterpenler**



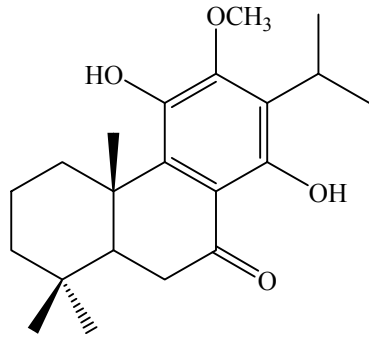
Şekil 2-15: Bisiklik, Trisiklik, Tetrasiklik ve Pentasiklik Diterpenler

- ❖ Lakton ya da furan halkası içeren diterpenlere örnek olarak hardwickiic asit ve picrosalvin verilebilir (Şekil 2-16) (Geissman ve Crout 1969).

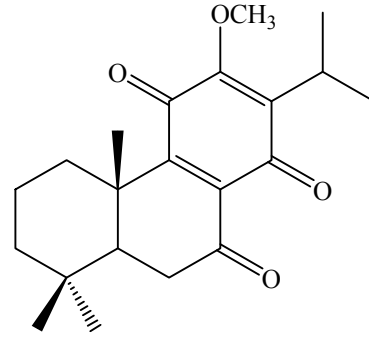


Şekil 2-16: Lakton ya da Furan Halkası İçeren Diterpenler

- ❖ Aromatik (inuroyleanol) ve kinoit (7-okso-royleanon-12-metil eter) yapıdaki diterpenlere örnekler Şekil 2-17’de verildi (Kabouche ve ark. 2007).



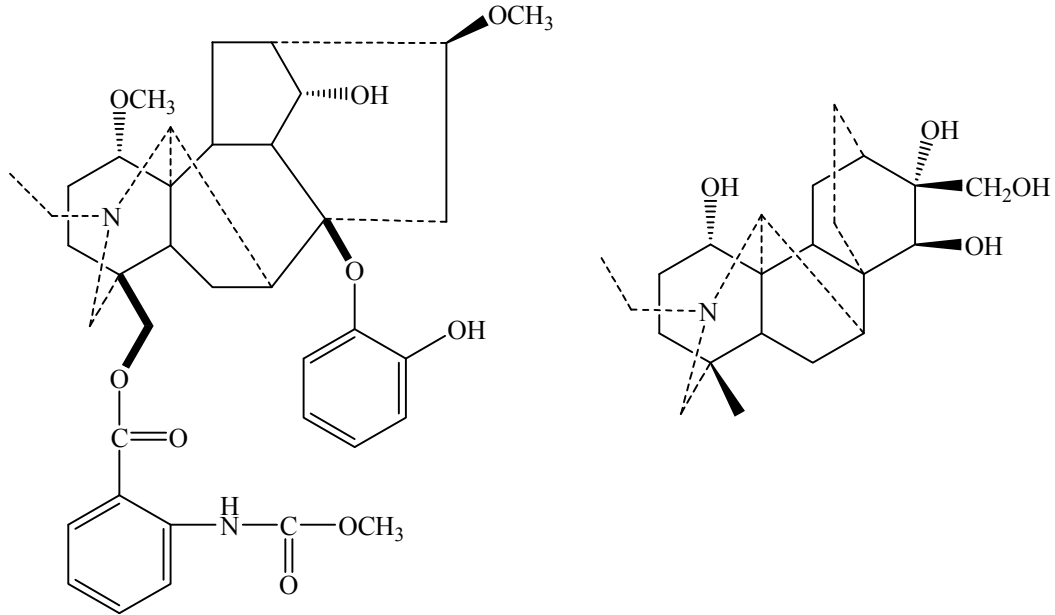
İnuroyleanol



7-Okso-royleanon-12-metil eter

Şekil 2-17: Aromatik ve Kinoit Yapıdaki Diterpenler

- ❖ Bitkilerde diterpenlerin oksijenli türevlerinin yanında yan zincirde ya da halka içinde azot atomu ihtiva eden ve “Diterpen Alkaloitler” olarak bilinen 19 ya da 20 karbonlu bileşikler bulunmaktadır. Şekil 2-18’de diterpen alkaloitlere örnek verildi (Kolak ve ark. 2006).



Linearilobin

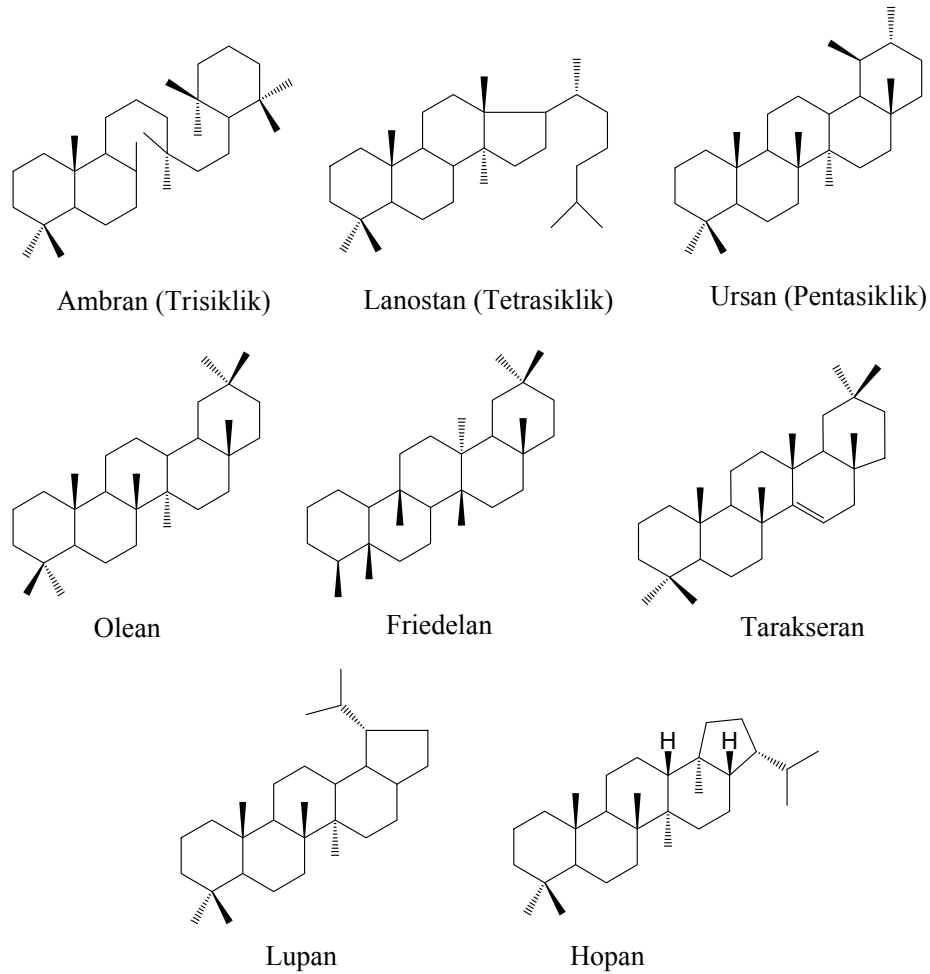
Cochlearenin

Şekil 2-18: Diterpen Alkaloitler

2.7.3.2. Triterpenler

Triterpenler altı izopren biriminden oluşmuş 30 karbonlu halkalı yapılarıdır. Bitkilerde serbest olarak bulunabildikleri gibi triterpenik saponinler olarak adlandırılan glikozitleri halinde de bulunabilirler. Serbest triterpenler, asit, alkol, aldehit, keton, epoksi ve lakton gruplarından bir ya da birkaçını bir arada taşıyabilirler. Doğal triterpenik bileşiklerin iskelet yapıları Şekil 2-19'da verilmiştir. Taşıdıkları halka sayısı ve fonksiyonel gruplar da isimlendirmede etkindir. Triterpenler taşıdıkları halka sayılarına göre trisiklik, tetrasiklik ve pentasiklik olarak üç grupta toplanmaktadır. Hiç süstitüent taşımazlarsa triterpen hidrokarbonlar olarak adlandırılırlar.

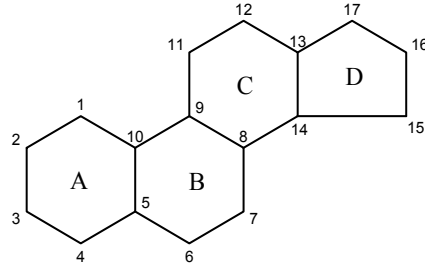
Triterpenlerin tanınmasında renk reaksiyonları önemlidir. Liebermann-Burchard en çok kullanılan renk reaksiyonudur. Mavi-yeşil renk triterpenlerin varlığını gösterirken, aynı reaksiyon steroidlerle yavaş yürür ve kıvıllı kahve bir renk verir (Boiteau ve ark. 1964).



Şekil 2-19: Triterpen İskeletleri

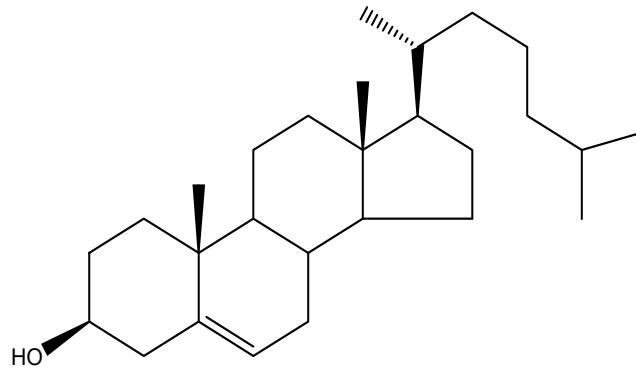
2.8. Steroitler

Bitkilerde ve hayvanlarda yaygın olarak bulunan bileşiklerdir. Mide ve safra asitleri, kalp glikozitleri, adrenal korteks hormonları ve cinsiyet hormonları steroid sınıfı bileşiklerdir. Steroitlerin karakteristik halka yapısı siklopentanoperhidrofenantren halka sistemidir (Şekil 2-20).



Şekil 2-20: Steroitlerin İskelet Yapısı

Bitkisel steroidler genellikle, C-3'te OH, C-5'te çifte bağ, C-17'de yan zincir taşırlar. C-3'teki OH grubu, halkadaki metil gruplarıyla dik açı yaparsa A ve B halkaları *cis* şeklinde birleşmişlerdir. Bu konumdaki OH grubu β şeklindedir. OH grubu metil gruplarına paralel ise A ve B halkaları *trans* yapıda olup OH grubu α şeklindedir. Yan zincirin konfigürasyonu ise steroidlerde genellikle β şeklindedir. B ile C halkaları ve C ile D halkaları genellikle *trans* birleşirler (Cram ve Hammond 1964). Çok iyi bilinen bir steroid olan kolesterolün formülü Şekil 2-21'de verildi.



Şekil 2-21: Kolesterol

UV spektrumu steroidlerin yapı tayini için fazla bilgi vermez. Steroitlerin çifte bağları genel olarak izole durumdadır ve 200-210 nm aralığında kuvvetli bir uç absorpsiyon yaparlar. IR spektrumunda, hidroksil grupları 3000-3500 cm^{-1} 'de, alifatik C-H bağları 2850-2900 cm^{-1} 'de görülür. Parmak izi bölgesi karışık ve karakteristiktir.

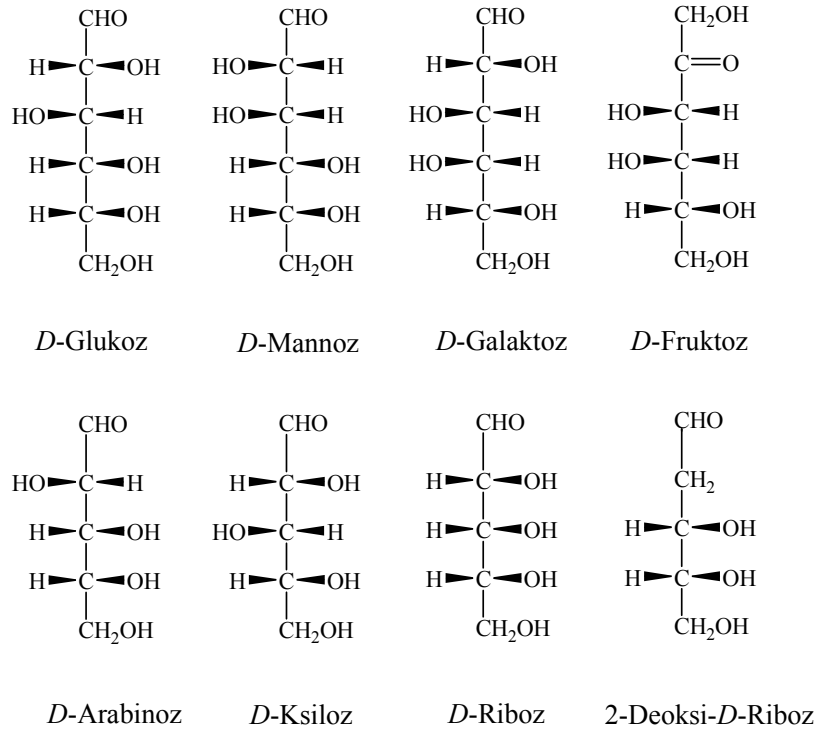
¹H NMR spektrumunda, metil pikleri 0-1,5 ppm aralığında, metilen pikleri 1,5-2,5 ppm aralığında çıkar. Steroitlerde metilen pikleri çok karmaşık ve yaygındır. O nedenle metilen pikleri yerine metilen zarfı denilir. Hidroksil grubuna komşu hidrojenler 3,5-4,5 ppm'de, doymamışlık pikleri 5-6 ppm'de izlenir. Kütle spektrumunda [M]⁺, [M-CH₃]⁺, [M-H₂O]⁺, ayrıca [M-yan zincir]⁺ veya [M-D+yan zincir]⁺ pikleri görülür.

2.9. Glikozitler

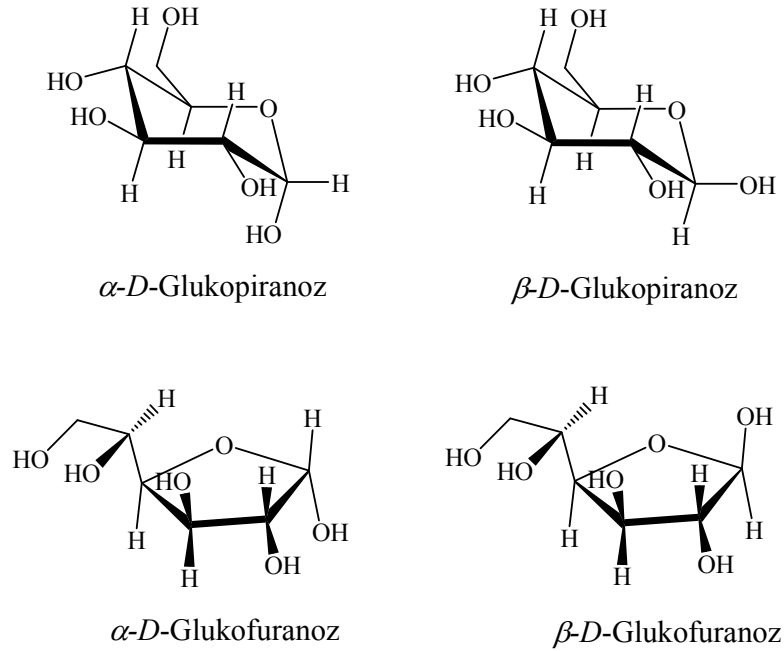
Glikozitler şeker eterleri olarak bilinirler. Karbonhidrat sınıfındadırlar. Genel formülleri CH₂O'dur. Monosakkaritler en basit karbonhidrat birimleridir. Doğada çok rastlanan monosakkaritler Şekil 2-22'de verilmiştir. Glukoz, galaktoz gibi aldehit grubu içeren monosakkaritler "aldozlar" şeklinde tanımlanırken, fruktoz gibi keton grubu içeren monosakkaritlere ise ketozlar denir. Glikozitler α - ve β - anomer olarak tüm bitki organlarında bulunabilirler. Doğada β - glikozitler yaygın, α - glikozitler daha az bulunurlar. D-glukozun α , β -piranoz ve α , β -furanoz yapıları Şekil 2-23'te gösterilmiştir (Serin 1995).

Monosakkaritler dimer, trimer ve polimer oluşturmak üzere birbirlerine bağlanabilirler. Dimerlere disakkaritler nedir. Sakkaroz bir disakkarittir ve hidrolizlendiğinde glukoz ve fruktoza ayrılır. İki den sekize kadar monosakkarit birimi içeren karbonhidratlar oligosakkaritler olarak tanımlanırlar. Sekizden fazla monosakkarit birimi içerenler polisakkaritlerdir. Nişasta ve selüloz polisakkaritlere örnek olarak verilebilirler (Serin 1995).

Kan şekeri, üzüm şekeri olarak da adlandırılan glukoz en önemli monosakkaritlerden biridir. Polarize ışığı sağa çevirdiği için dekstroz olarak da anılır. Sakkaroz, maltoz, laktoz ve nişasta memeliler tarafından glukozu dönüştürülebilir ve organizma tarafından enerji elde etmek için kullanılırlar. Fruktoz en tatlı doğal şekerdir, meyvelerde ve balda bulunur. Polarize ışığı sola çevirdiği için levuloz olarak da adlandırılır (Serin 1995).



Şekil 2-22: Doğada Çok Bulunan Monosakkaritler



Şekil 2-23: *D*-Glukozun α , β -Piranoz ve α , β -Furanoz Yapıları

Glikozitler genel olarak katı, kristalize, renksiz ve acı lezzeti olan bileşiklerdir. Çok farklı yapıya sahip olduklarından stabilite, çözünürlükleri ve polarize ışığa

karşı olan etkileri değişiktir. Sudaki çözünürlük dereceleri değişik olmakla birlikte genellikle alkolde de çözünürler (Serin 1995).

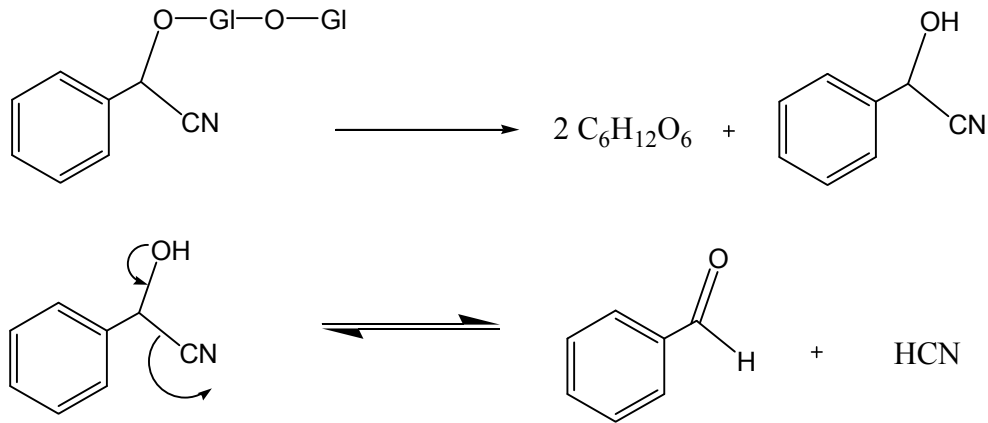
Şeker ile aglikonu bağlayan atomun cinsine göre glikozitler *O*-, *C*-, *N*- ve *S*-glikozitleri olarak sınıflandırılırlar:

2.9.1. *O*-Glikozitler

Aglikonun hidroksil grubu ile şekerin redüktör grubunun bir molekül su kaybederek birleşmesi sonucu oluşurlar. Doğada yaygın olarak bulunan glikozitlerdir. Aglikonun cinsine göre sınıflandırılırlar (Serin 1995).

2.9.2. Alkol Glikozitleri

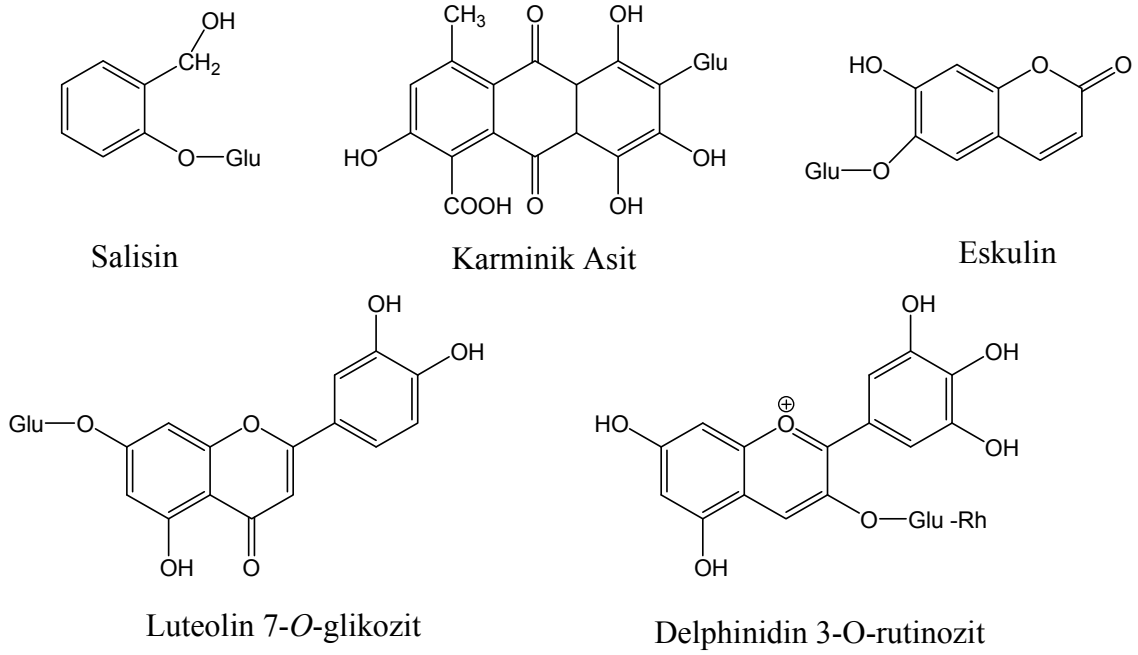
Aglikonları alkol fonksiyonu taşıyan basit bileşiklerdir. Bu glikozitlere doğada az rastlanır. Tıbbi yönden önemli olan siyanogenetik glikozitler örnek olarak verilebilir (Şekil 2-24). Bu glikozitler hidroliz sonunda siyanhidrik asit verirler (Serin 1995).



Şekil 2-24: Siyanogenetik Bir Glikozitin Hidrolizi (Amigdalın'ın Amigdonitril'e ve Benzaldehit'e Hidrolizi)

2.9.3. Fenol Glikozitleri

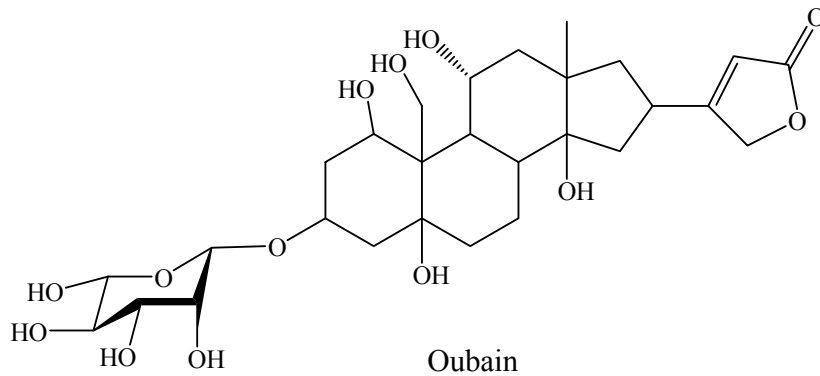
Doğada çok rastlanan ve aglikon kısmında fenol grubu taşıyan glikozitlerdir. Önemli olanları, basit fenol glikozitleri, antresen glikozitleri, flavon glikozitleri, antosiyanidin glikozitleri ve kumarin glikozitleridir. Bu glikozitlere Şekil 2-25'de örnekler verilmiştir (Serin 1995).



Şekil 2-25: Fenol Glikozitleri

2.9.4. Steroit Glikozitleri

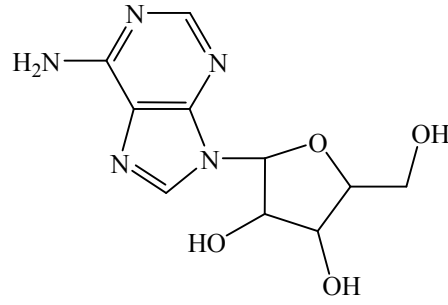
En bilinenleri kalp glikozitleridir. Aglikonları steroid ya da triterpen iskeleti olabilir. Steroit glikozitine örnek olarak oubain verilebilir (Şekil 2-26) (Serin 1995).



Şekil 2-26: Steroit Glikozit

2.9.5. N-Glikozitleri

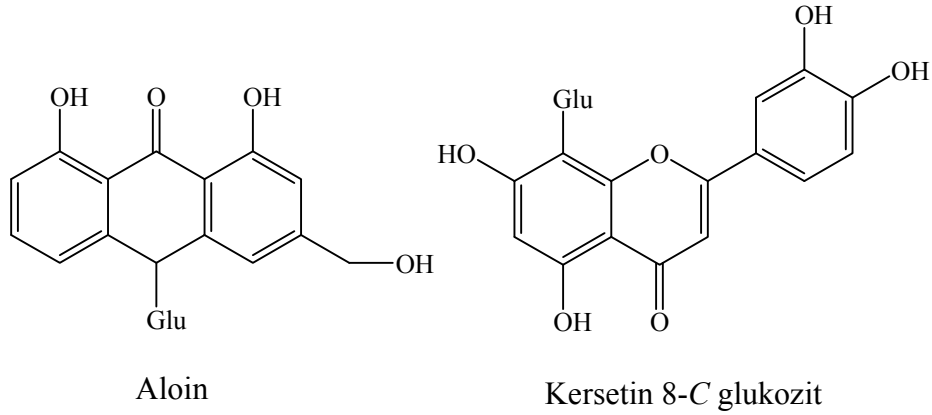
Şekerin redüktör grubu ile aglikonun amin grubunun bir molekül su kaybederek birleşmesi sonunda meydana gelirler. Fosfat esterleri halinde nükleik asitlerde bulunurlar (Şekil 2-27) (Serin 1995).



Şekil 2-27: *N*-Glikozitler

2.9.6. *C*-Glikozitleri

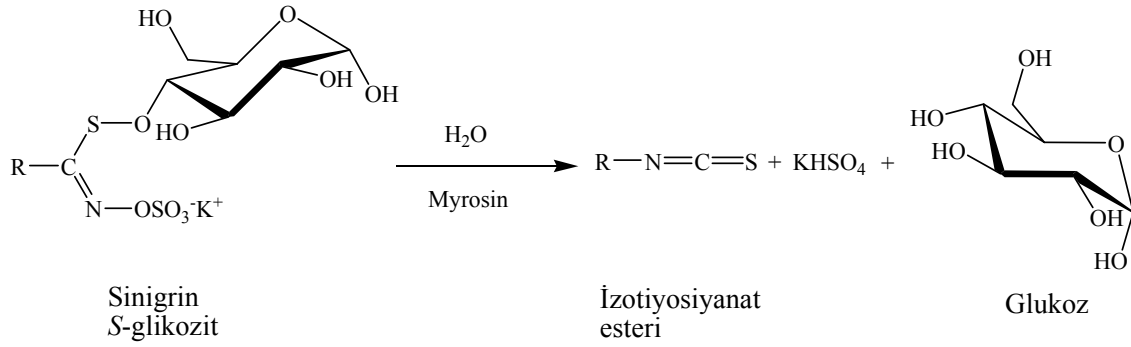
Şeker ile aglikon arasında karbon-karbon bağı bulunmaktadır. Asit ya da bazlarla hidroliz olmazlar. Bu glikozitlerin FeCl_3 ile oksidasyonu sonucu aglikon ve şeker kısımları teşhis edilir. *C*-glikozitlere örnek Şekil 2-28’de verilmiştir (Serin 1995).



Şekil 2-28: *C*-Glikozitler

2.9.7. *S*-Glikozitleri (Tiyoglikozitler)

S-Glikozitleri, şekerin redüktör grubu ile tiyolün su kaybederek birleşmesi sonucunda meydana gelirler. Bu tip glikozitler ancak mirosin isimli bir ferment ile hidroliz edilebilirler. Hidroliz sonucunda oluşan izotiyosiyanat esterleri, tahriş edici ve uçucu bir sıvıdır. Bunlar hardal esansı ismini alırlar (Şekil 2-29).



Şekil 2-29: S-Glikozit

2.10. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan aromatik bileşiklerdir. Bitkilerden 8000'in üzerinde fenolik bileşik elde edilmiştir (Geissman ve Crout 1969 pp. 137-166)

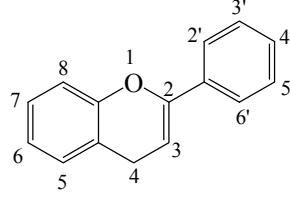
Fenolik bileşikler iskeletlerindeki karbon atomu sayılarına göre sınıflandırılırlar (Tablo 2-4).

Tablo 2-4: Bitkisel Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması

C atomu	İskelet	Sınıf	Örnek
6	C ₆	Basit fenoller Benzokinonlar	Hidrokinon 2,6-Dimetoksibenzokinon
7	C ₆ -C ₁	Fenolik asitler	Salisilik asit
8	C ₆ -C ₂	Asetofenonlar Fenilasetik asitler	3-Asetil-6-OMe-benzaldehit <i>p</i> -Hidroksifenilasetik asit
9	C ₆ -C ₃	Hidroksisinnamik asitler Fenilpropenler Kumarinler İzokumarinler Kromonlar	Kafeik asit Eugenol Umbelliferon Bergenin Eugenin
10	C ₆ -C ₄	Naftakinonlar	Juglon
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Ksantonlar	Mangiferin
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbenler Antrokinonlar	Lunularik asit Emodin
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoitler İzoflavonoitler	Kersetin Genistein
18	(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanlar	Pinoresinol
30	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂	Biflavonoitler	Amentoflavon
n	(C ₆ -C ₃) _n (C ₆) _n (C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Ligninler Kateşol melaninleri Taninlerle kondense olmuş flavonlar	

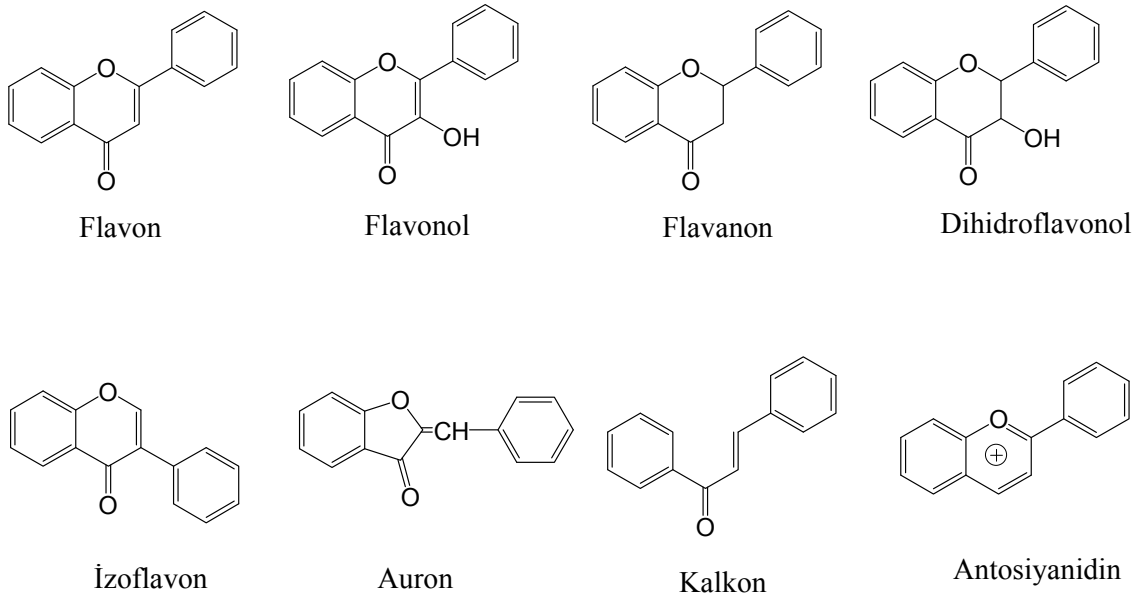
2.10.1. Flavonoitler

Flavonoitler 2-fenil benzopiran yapısındadır (Şekil 2-30).



Şekil 2-30: 2-Fenil Benzopiran

Flavonoitler bitkilerin fotosentezle oluşturdukları ve hayati gereksinimleri için kullandıkları karbonhidrat, amino asitler gibi birincil metabolitlerden türerler (Geissman ve Crout 1969). Biyosentez araştırmalarından elde edilen bulgulara göre fenil alanin gibi amino asitlerin enzimatik deaminasyonlarından oluşan sinnamik asit türevleri malonil koenzim A ile kondanse olarak flavonoitleri oluştururlar. Karbon iskeleti C₆-C₃-C₆ şeklinde olan flavonoitlerin ana iskeletinde 15 karbon bulunur (Geissman ve Crout 1969, Harborne ve ark. 1975). Flavonoit iskeletleri Şekil 2-31'da gösterilmiştir.



Şekil 2-31: Flavonoit İskeletleri

Tablo 2-5’de flavonoidlerin bazı belirteçlerle verdikleri renkler gösterilmiştir (Geissman 1962).

Tablo 2-5: Flavonoidlerin Renk Reaksiyonları

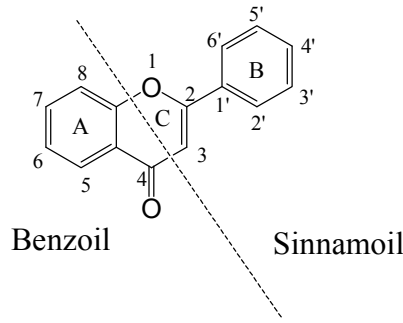
RENK REAKSİYONLARI				
Flavonoid	Sulu NaOH	Der.H₂SO₄	Magnezyum-HCl	Sodyum Amalgam sonra asit
Kalkon	Turuncudan kırmızıya	Turuncu, kırmızı veya parlak koyu kırmızı	-	Çok soluk sarı
Auron	Kırmızıdan mora	Kırmızıdan parlak kırmızıya	-	Çok soluk sarı
Flavanon	Soğukta sarıdan turuncuya, ısıtılınca koyu kırmızıdan mora	Turuncudan koyu kırmızıya	Kırmızı, parlak koyu kırmızı, menekşe, mavi	Kırmızı
Flavon	Sarı	Sarıdan turuncuya	Sarıdan kırmızıya	Kırmızı
Flavonol	Sarıdan turuncuya (havanın oksidasyonu ile kahverengi olur)	Sarıdan turuncuya (karakteristik fluoresans gösterir)	Kırmızıdan koyu parlak kırmızıya	Sarıdan soluk kırmızıya
İzoflavon	Sarı	Sarı	Sarı	Soluk kırmızı veya pembe

Renk reaksiyonları flavonoidlerin yapılarının belirlenmesinde önemli bir yere sahiptir. Flavonoid lekelerinin selüloz plaktaki rengi UV ışığı (366 nm) altında incelenir, sonra plak amonyak buharına tutulup UV ışığı (366 nm) altında lekelerin renginin değişip değişmediğine bakılır, NA belirteci püskürtülür ve UV ışığı altında yine lekelerin rengi incelenir (Tablo 2-6) (Mabry ve Ulubelen 1980).

Tablo 2-6: Bazı Flavonoidlerin NH₃ Buharı ve NA Belirteciyle Oluşturdukları Renkler

Flavonoidler	UV	UV/NH ₃	UV/NH ₃ /NA
5-OH açık, 3-OH yok ya da dolu, 3', 4'-OH yok ya da dolu	Koyu mor	Koyu mor	Koyu mor
5-OH açık, 3-OH yok ya da dolu, 4'-OH yok ya da dolu, 3'-OH açık	Koyu mor	Koyu mor	Sarı
5-OH açık, 3-OH yok ya da dolu, 4'-OH serbest, 3'-OH yok ya da dolu	Koyu mor	Sarı	Sarı
5-OH açık, 3-OH yok ya da dolu, 3', 4'-OH açık	Koyu mor	Sarı	Turuncu
5,6-OH var, 3-OH yok ya da dolu, 3' ya da 4' OH açık	Koyu mor	Koyu kahverengi	Kahverengi
5-6 OH var, 3-OH yok ya da dolu 3', 4'-OH var	Koyu mor	Koyu kahverengi	Turuncu
Serbest 3 ve 5-OH var	Sarı	Sarı	Sarı
3 ve 5-OH açık, 3', 4'-OH var	Sarı	Sarı	Kırmızı-turuncu
5-OH yok ya da dolu, 3-OH yok ya da dolu	Parlak floresan mavi	Parlak floresan mavi-yeşil	Mavi
5-OH yok ya da dolu, 3-OH yok ya da dolu, 3',4'-OH var	Parlak floresan mavi	Parlak floresan mavi-yeşil	Mavi-yeşil
5-OH yok ya da dolu, 3', 4'-OH yok	Parlak floresan mavi	Daha parlak floresan sarı	Mavi
5-OH yok ya da dolu, 3', 4'-OH var	Parlak floresan sarı	Daha parlak floresan sarı	Mavi-yeşil

Flavonoitlerin UV spektrumunda, biri uzun diğeri ona göre daha kısa dalga boyunda olmak üzere iki absorbsiyon bandı gözlenir. Uzun dalga boyundaki banta Bant I adı verilir ve bu bant flavonoit yapısının B halkasıyla (sinnamoil grubu) ilişkilidir. Daha kısa dalga boyundaki bant Bant II olarak isimlendirilir ve flavonoit yapısının A halkası (benzoil grubu) ile ilişkilidir (Şekil 2-32) (Harborne ve ark. 1975).



Şekil 2-32: Bant I ve Bant II'yi Veren Gruplar

Flavonoitlerin A ve B halkalarında hidroksil sayısı arttıkça bantlar uzun dalga boylarına kayarlar. Özellikle 3, 5 ve 4' konumlarındaki hidroksil grupları metillendikleri ya da glikozitlendiklerinde Bant I ve Bant II hidroksil grubu serbest olan bileşiğe göre daha kısa dalga boyuna kayar (Mabry ve ark. 1970).

Flavonlarda, Bant I 304–350 nm arasında, flavonollerde ise 3-OH grubu serbest ise 352–385 nm arasında, eğer hidroksil grubu serbest değilse 328–357 nm arasında izlenir. B halkasında oksijen fonksiyonunun artması Bant I'in, A halkasında 6 ile 8 konumunun oksidasyonu Bant II'nin daha uzun dalga boyuna kaymasına neden olur. Örneğin; 6-OCH₃ olduğunda Bant II 270-275 nm aralığında görülürken, 6-OH olduğunda 280-285 nm aralığında gözlenir. Flavon ve flavonollerde B halkasında 3' ve 4' konumlarında oksijenasyon söz konusu ise Bant II genellikle ikiye bölünür (Mabry ve ark. 1970).

UV kayma belirteçleri (sodyum metoksit, alüminyum klorür, seyreltik HCl, sodyum asetat, borik asit) ile alınan spektrumlar flavonoitlerin yapı tayininde önemli bilgiler verir.

Sodyum metoksit, flavon üzerindeki tüm hidroksil gruplarını iyonize eder. Sodyum metoksit ile alınan spektrumdaki Bant I, MeOH'de alınan spektrumdaki Bant

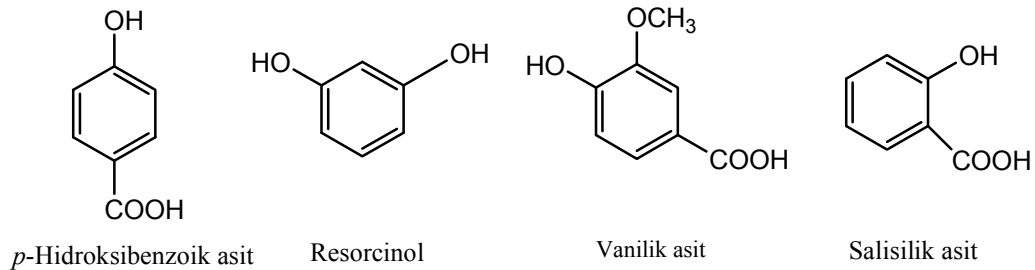
I'den daha uzun dalga boyuna (~50-60 nm) kayarsa ve şiddeti artarsa 4' konumunda –OH grubunun bulunduğu anlaşılır.

Alüminyum klorür, A halkasında 3 ve 5 konumundaki serbest hidroksil grupları ve B halkasındaki *o*-dihidroksi grupları ile ayrı ayrı kelat oluşturur. Seyreltik HCl ilavesiyle B halkasındaki *o*-dihidroksi grupları ile oluşan kelat bozunur. Ayrıca, AlCl₃/HCl spektrumunda Bant I'in metanol spektrumundaki Bant I'e oranla 34-50 nm ileri kayması 5-OH ve 6-H olduğunu, 25-30 nm kayması 5-OH, 6-OH olduğunu, 16-25 nm ileri kayması 5-OH ve 6-OCH₃ olduğunu gösterir (Harborne ve ark. 1975, Mears ve Mabry 1972).

Sodyum asetat, sodyum metoksitten daha zayıf bir baz olduğu için asidik karakterdeki 3, 7 ve 4' hidroksillerini etkiler. Flavon ve flavonollerde 7 konumunda –OH grubu varsa Bant II 5–20 nm uzun dalga boyuna kayar. Ancak flavonlarda C-6 veya C-8'de oksijen fonksiyonu varsa bu durum görülmeyebilir. 4' konumunda –OH ve 7 konumunda metoksi veya şeker varsa Bant I, sodyum metoksit ile alınan spektrumdaki Bant I ile aynı dalga boyunda çıkar. Borik asit ilavesinde, flavon ve flavonollerde B halkasında *o*-dihidroksi grupları varsa bunlar borik asit ile kelat oluştururlar ve Bant I 12–30 nm daha uzun dalga boyuna kayar (Harborne ve ark. 1975, Mabry ve ark. 1970).

2.10.2. Basit Fenoller ve Fenolik Asitler

Basit fenollerden hidrokinon, bitkilerde yaygın olarak bulunur. Diğer serbest fenollere ise daha az rastlanır. Fenolik asitler daha çok ester veya glikozitleri halinde bulunurlar (Şekil 2-33) (Geissman ve Crout 1969 pp. 137-166).



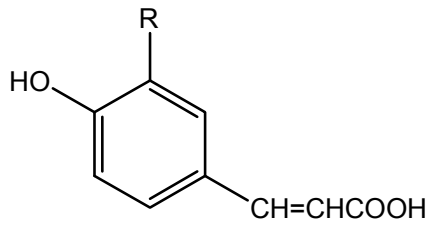
Şekil 2-33: Basit Fenol ve Fenolik Asitler

2.10.3. Fenilpropanoitler

Fenilpropanoitler, aromatik halkaya bağlı üç karbonlu yan zincir taşırlar. Hidroksisinnamik asitler, hidrosikumarinler, fenilpropenler ve lignanlar fenilpropanoit bileşiklerdir (Şekil 2-34). Bunlardan en yaygın olarak bulunanı ligninlerin yapı taşı oluşturan hidroksisinnamik asitlerdir (Geissman ve Crout 1969 pp. 137-166).

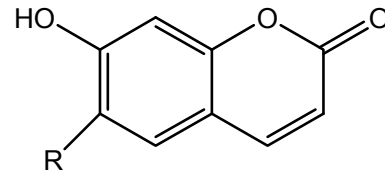
Kumarinler, bitkilerde yaygın olarak bulunurlar. Fenilpropenler, bitkilerin koku ve tatlarına katkıda bulunurlar. Bunlar yağda çözündükleri için diğer fenolik bileşiklerden ayrılırlar.

Hidroksisinnamik asitler



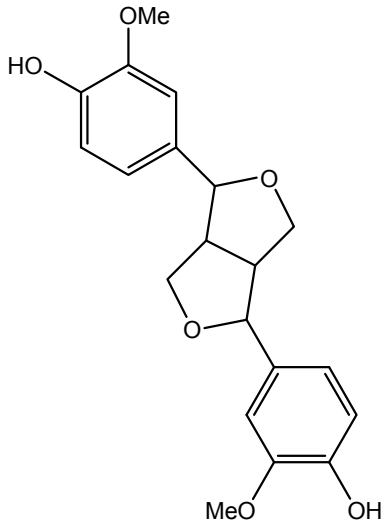
	<u>R</u>
<i>p</i> -Kumarik asit	H
Kafeik asit	OH

Kumarinler



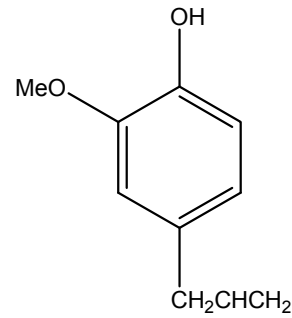
	<u>R</u>
Umbeliferon	H
Aesculetin	OH
Scopoletin	OMe

Lignanlar



Pinoresinol

Fenilpropenler

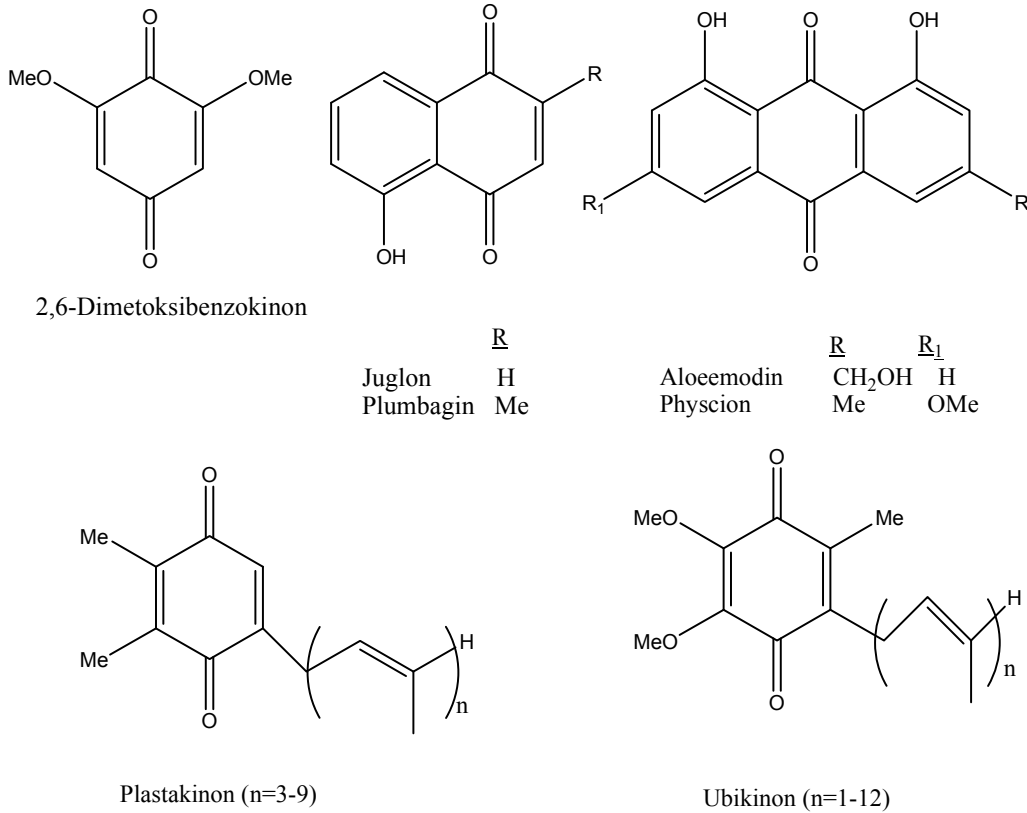


Eugenol

Şekil 2-34: Bazı Fenilpropanoit Bileşikler

2.10.4. Kinonlar

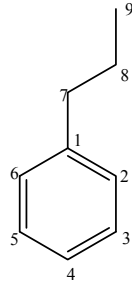
Kinoit yapıdaki doğal pigmentler soluk sarıdan kırmızı veya kahverengiden siyaha kadar değişen renklerde. Hidroksikinonların tuzları mor, mavi veya yeşil renklidir. Kinonlar yüksek bitkilerde renge az katkıda bulunurlar. Çünkü kinonlar diğer pigmentler tarafından renklerin kapatıldığı kabuk, kök veya yapraklarda bulunurlar. Doğal kinonlar canlılarda oksidasyon-redüksiyon prosesinde rol alırlar. Dörtüüz ellinin üzerinde kinoit yapıda bileşik bilinmektedir (Şekil 2-35). Kinonlar 4 gruba ayrılırlar: benzokinon, naftakinon, antrakinin ve izoprenoit kinon (Geissman ve Crout 1969 pp. 137-166).



Şekil 2-35: Bazı Kinoit Bileşikler

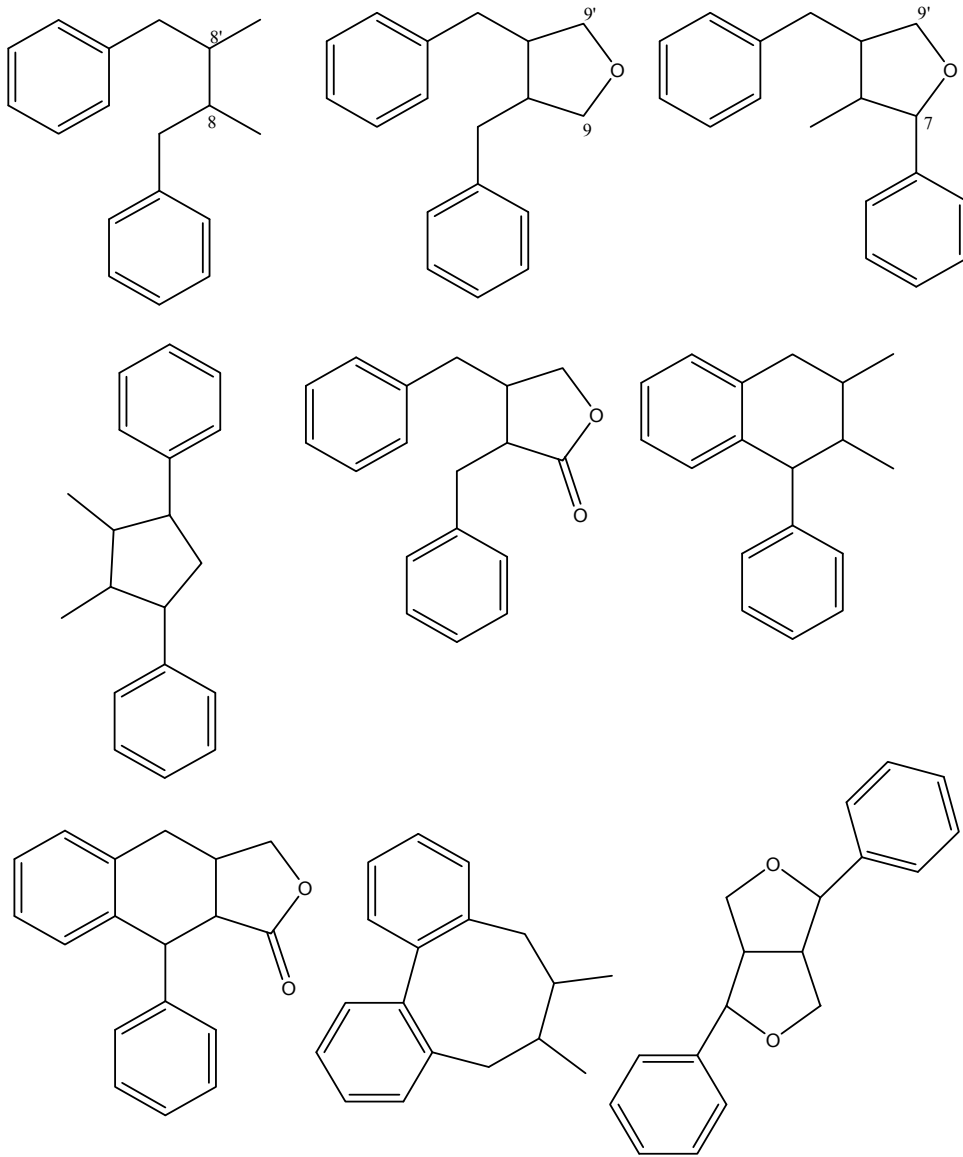
2.10.5. Lignanlar

Fenilpropan birimlerinin kondenzasyonu ile dört grup bileşik oluşur: lignanlar, neolignanlar, oligomerler ve norlignanlar (Bruneton 1993).

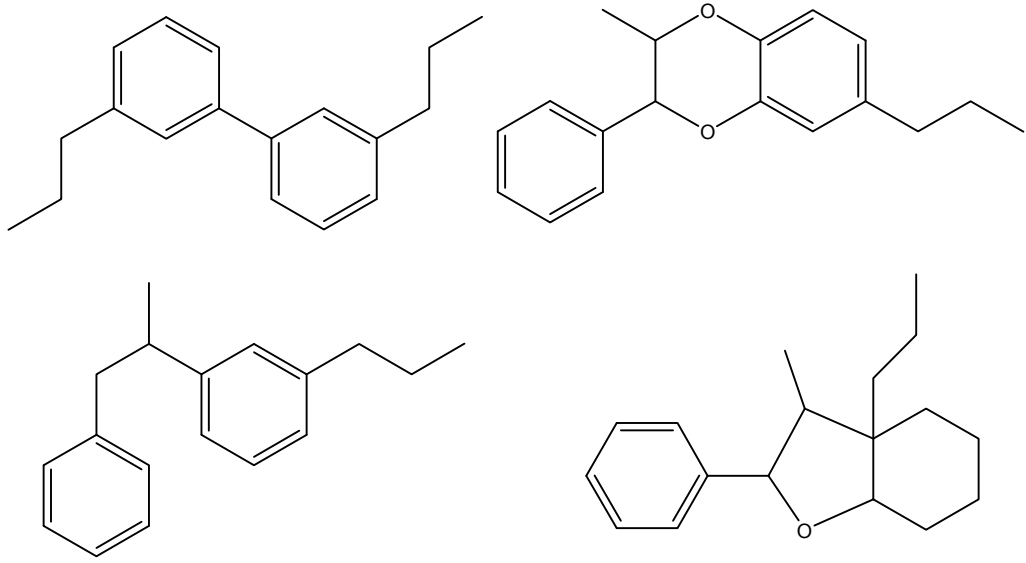


Şekil 2-36: Fenilpropan

Kemotaksonomik olarak lignanlar bitkiler aleminde yaygın olarak bulunurlar (Bruneton 1993).

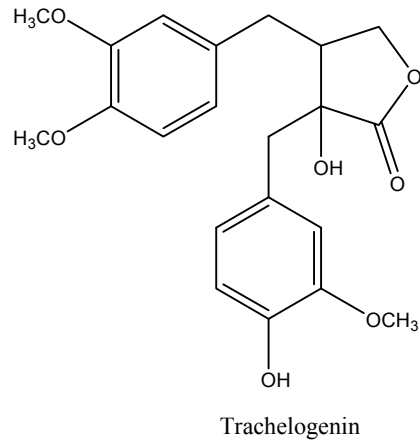
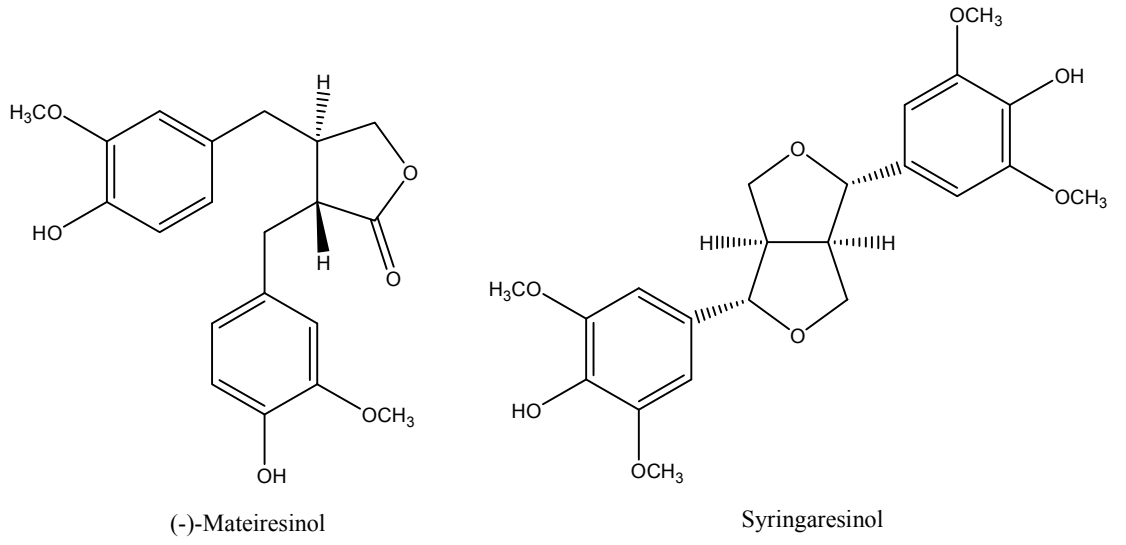


Şekil 2-37: Temel Lignan Türleri



Şekil 2-38: Bazı Neolignan Yapıları

Mateiresinol'ün CAMP fosfodiesteraz enzimini inhibe edici etkisi, syringaresinol' ün antiplatelet-agregasyon aktivitesi, trachelogenin' in kalsiyum bloker aktivitesi tayin edilmiştir (Bruneton 1993).



Şekil 2-39: (-)-Mateiresinol, Syringaresinol ve Trachelogenin Bileşikleri

2.11. Yağ Asitleri

Yağ asitleri uzun zincirli karboksilik asitlerdir. Doymuş ve doymamış yağ asitleri, gliserol (katı ve sıvı yağlar), uzun zincirli alkoller (vakslar), şeker türevleri (glikolipitler), ve bazı fosfor içeren moleküllerle (fosfolipitler) esterleşmiş olarak meydana gelirler. Doymamış yağ asitleri, hidroksi asitler, ketoasitler ve bu fonksiyonel gruplardan iki ya da daha fazlasını içeren asitler bitkilerde ve hayvanlarda yaygın olarak bulunurlar. Birçok doymamış yağ asidi bazı yapısal benzerliklere sahip olmalarına rağmen bunları sınıflandırmak oldukça zordur (Tablo 2-7, 2-8). (Geissman ve Crout 1969, pp. 66-67).

Tablo 2-7: Doğal Olarak Oluşan Δ^9 -Alkenoik Asitler

İsim	Yapı
Gadoleik	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Oleik	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Palmitoleik	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Miristoleik	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Δ^9 -undesenoik	$\text{CH}_3\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Δ^9 -desenoik	$\text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$

Tablo 2-8: Doğal Olarak Oluşan Δ^9 Haricindeki Diğer Doymamış Alkenoik Asitler

Yaygın isim	Sistemantik isim
Linderik	Δ^4 -dodesenoik asit
Lauroleik	Δ^5 -dodesenoik asit
Tsuzuik	Δ^4 -tetradeseenoik asit
Petroselinik	Δ^6 -octadesenoik asit
Vaksenik	Δ^{11} -octadesenoik asit

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmanın Yapıldığı Yer

Bu doktora tez çalışması İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Genel Kimya Bilim Dalı ve Karachi Üniversitesi, HEJ Kimya Enstitüsü (Pakistan) laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

3.2. Bitkisel Materyaller

Cirsium leucopsis DC. bitkisinin topraküstü kısımları 09.09.2009 tarihinde Bursa-Uludağ'da oteller ve eski wolfram tesisleri arasında yaklaşık 2000 m yükseklikten Balıkesir Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof.Dr. Bayram Yıldız tarafından toplanıp teşhis edildi. Kurutulmuş bitki örneği İ.Ü.Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda saklanmaktadır (ISTE: 95409).

Cirsium sipleum O. Schwatz bitkisinin topraküstü kısımları 09.09.2009 tarihinde Bursa-Uludağ'da Kirazlıyayla Milli Park arasında orman açıklıklarında yaklaşık 1600 m yükseklikten Balıkesir Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof.Dr. Bayram Yıldız tarafından toplanıp teşhis edildi. Kurutulmuş bitki örneği İ.Ü.Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda saklanmaktadır (ISTE: 95410).

3.3. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler

3.3.1. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler

β -karoten, linoleik asit, kersetin, pirokatekol, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), 2,6-di-*t*-bütil-1-hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), DTNB (5,5-ditiyobis-(2-nitro benzoik asit)), nikotinamid adeninükleotit (NADH), fenazin-meta sülfat (PMS), nitroblutetrazolyum (NBT), asetilkolinesteraz, butirilkolinesteraz, α -tokoferol, potasyum peroksi disülfat ($K_2S_2O_8$), ABTS, bakır (II) klorür Sigma firmasından (St. Louis); Tween-40, kloroform, diklorometan, metanol, etanol, alüminyum nitrat, potasyum asetat, silika jel 60 (0,063-0,200 mm; 70-230 mesh ASTM, Merck KGaA 1.07734), ince tabaka plakları (Alufolien Kieselgel 60F₂₅₄, Merck KGaA 1.05554, RP-18 F₂₅₄ 5x10 cm) Merck (Darmstadt, Almanya), Polygoprep C18 kolon dolgu maddesi Macharey-Nagel (Almanya), galantamin hidrobromür, neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) (Sigma-Aldrich), asetiltiyokolin iyodür, Folin-Ciocalteu

reaktifi (Applichem), butiriltiyokolin iyodür (Fluka), sodyum karbonat, amonyum asetat, sodyum hidrojen fosfat ve sodyum dihidrojen fosfat Riedel-de-Haen firmasından temin edildi. Kullanılan kimyasal maddeler ve tüm çözücüler analitik saflıktadır.

3.3.2. Çözeltilerin Hazırlanması

3.3.2.1. Toplam Fenolik Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler

- % 2'lik Sodyum karbonat çözeltisinin hazırlanması: 2 g Na_2CO_3 100 mL'lik balon jøjeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile hacmine tamamlandı.
- Folin-Ciocalteu Fenol Reaktifi (Fosfotungistik-fosfomolibdik asit + CuSO_4) satın alındığı şekilde kullanıldı.

3.3.2.2. Toplam Flavonoit Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler

- % 10'luk Alüminyum nitrat çözeltisinin hazırlanması: 1,76 g $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 10 mL'lik balon jøjeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile balonun hacmine tamamlandı.
- 1 M Potasyum asetat çözeltisinin hazırlanması: 0,9615 g CH_3COOK 10 mL'lik balon jøjeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile balonun hacmine tamamlandı.

3.3.2.3. β -Karoten Renk Açılım Yönteminde Kullanılan Çözelti

- β -Karoten reaktifinin hazırlanması: 0,2 mg β -Karoten 1 mL kloroformda çözümlenerek bir balona aktarıldı. Üzerine 200 μL Tween-40 ve 20 μL lineloik asitten ilave edilip karıştırıldı. Vakum altında kloroform uçurulduktan sonra üzerine daha önceden oksijen ile doyurulmuş 50 mL su ilave edildi ve kuvvetlice çalkalandı.

3.3.2.4. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözelti

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

3.3.2.5. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözelti

- 7 mM ABTS katyon radikalının hazırlanması: 19,2 mg ABTS tartılarak 5 mL suda çözüldü. Üzerine toz halinde 3,3 mg potasyum peroksi disülfat ($K_2S_2O_8$) eklenip karıştırıldı. Karanlıkta oda sıcaklığında 12-16 saat beklendi. Bekleme süresi sonunda çözelti kullanılmaya başlamadan önce absorpsiyonu ~ 0.70 olacak şekilde seyreltildi.

3.3.2.6. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesinde Kullanılan Çözeltiler

- 0,1 M $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ çözeltisinin hazırlanması: 8,89 g sodyum hidrojen fosfat dihidrat 500 mL'lik balon jöjeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile balonun hacmine tamamlandı.
- 0,1 M $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ çözeltisinin hazırlanması: 1,56 g sodyum dihidrojen fosfat dihidrat 100 mL'lik balon jöjeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile balonun hacmine tamamlandı.
- 0,1 M pH:7.4 Fosfat tamponunun hazırlanması: 80 mL sodyum hidrojen fosfat dihidrat ve 20 mL sodyum dihidrojen fosfat dihidrat çözeltileri karıştırılarak 0,1 M pH:7,4 tampon çözeltisi hazırlandı.
- 156 μ M Nitroblu tetrazolyum (NBT) çözeltisinin hazırlanması: 3,2 mg nitroblu tetrazolyum 25 ml'lik balon jöjede pH:7,4 fosfat tamponu ile çözüldü.
- 468 μ M Nikotinamit adenin dinükleotit (NADH) çözeltisinin hazırlanması: 8,3 mg nikotinamit adenin dinükleotit 25 ml'lik balon jöjede pH:7,4 fosfat tamponu ile çözüldü.
- 60 μ M Fenazin-meta sülfat (PMS) çözeltisinin hazırlanması: 1,8 mg fenazin-meta sülfat 100 ml'lik balon jöjede pH:7,4 fosfat tamponu ile çözüldü.

3.3.2.7. CUPRAC Yönteminde Kullanılan Çözeltiler

- 10 mM Bakır (II) klorür dihidrat çözeltisinin hazırlanması: 42,62 mg $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ tartılarak 25 mL suda çözüldü.
- 1 M Amonyum asetat tamponunun hazırlanması: 1,927 g NH_4OAc tartılarak 25 mL suda çözüldü, pH= 7'ye ayarlandı.
- 7,5 mM Neokuproin çözeltisinin hazırlanması: 76,6 mg neokuproin tartılarak 50 mL % 96'lık alkolde çözüldü.

3.3.2.8. Antikolinesteraz Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltiler

- 0,1 M NaH₂PO₄ Çözeltisinin hazırlanması: 1,56 g NaH₂PO₄ tartılıp 100 mL distile suda çözüldü.
- 0,1 M Na₂HPO₄ Çözeltisinin hazırlanması: 3,556 g Na₂HPO₄ tartılıp 200 mL distile suda çözüldü.
- 0,1 M pH=8 Tampon çözeltisinin hazırlanması: 94,7 mL Na₂HPO₄ ve 5,3 mL NaH₂PO₄ çözeltilerinden alındıktan sonra 100 mL distile su eklenerek hazırlandı.
- 0,1 M pH=7 Tampon çözeltisinin hazırlanması: 3,9 mL NaH₂PO₄ ve 6,1 mL Na₂HPO₄ çözeltilerinden alınarak 10 mL distile su eklenerek hazırlandı.
- 5 mM DTNB Çözeltisinin hazırlanması: 16 mg 5,5-ditiyobis(2-nitro benzoik asit) (DTNB) 1 mL pH=7 tampon çözeltisinde ve 7,5 mg NaHCO₃ 1 mL pH=7 tampon çözeltisinde çözüldükten sonra iki çözelti karıştırıldı. Hazırlanan bu çözelti karışımı, 2 mL pH=7 tampon çözeltisi ile 4 mL'ye tamamlandı. Kullanma aşamasında 4 mL pH=8 tampon çözeltisi ilave edildi. .
- 7,1 mM Asetiltiyokolin iyodür (AcI): 32,8 mg AcI alınarak, 8 mL distile su eklendi. Kullanma aşamasında 8 mL pH=8 tamponu ile hacmi 16 mL'ye tamamlandı.
- 0,79 mM Butiriltiyokolin iyodür (BuI): 4 mg BuI alınarak, 8 mL distile su eklendi. Kullanma aşamasında 8 mL pH=8 tamponu ile hacmi 16 mL'ye tamamlandı.
- Asetilkolinesteraz enziminin hazırlanması: 1,17 mg (498,3498 U) AChE enzimi alınarak 5 mL pH=8 tampon çözeltisinde çözüldü ve 1'er mL'lik beş bölüme ayrıldı. Her biri için 99,66996 U/mL'lik konsantrasyon sağlanmış oldu ve 1 mL'lik stoklar da 125 µL'lik 8 eşit bölüme ayrıldı (0,09966996 U/µL). 125 µL'lik enzim çözeltisine 460 µL pH=8 tampon çözeltisi eklendi (0,021297 U/µL) . 585 µL çözelti 25 µL'ik 23 tane küçük eppendorf tüplere doldurularak daha sonra kullanılmak üzere derin dondurucuda bekletildi. Stok çözeltiler kullanılmadan önce pH=8 tampon çözeltisiyle 2150 µL'ye tamamlanır (2,476x10⁻⁴ U/µL).
- Butirilkolinesteraz enziminin hazırlanması: 1 mg (11,4 U) BChE enzimi alınarak 5 mL pH=8 tampon çözeltisinde çözüldü (2,28 U/mL). Bu çözeltiden 300 µL'lik stoklar oluşturulup küçük şişelere dolduruldu ve daha sonra kullanılmak üzere derin dondurucuda bekletildi (0,00228 U/µL). Stok çözeltiler kullanılmadan önce 1850 µL

pH=8 tampon çözeltisinden eklenerek kullanıma hazır hale getirilir ($3,1813 \times 10^{-4}$ U/ μ L).

3.3.2.9. Standart Çözeltilerinin Hazırlanması

- 1000 ppm Kersetin çözeltisinin hazırlanması: 25,8 mg kersetin 25 mL etil alkolde çözülerek 1000 ppm'lik konsantrasyonda kersetin çözeltisi hazırlandı.
- 100 ppm Pirokatekol çözeltisinin hazırlanması: 10 mg pirokatekol 100 mL su ile çözülerek 100 ppm'lik pirokatekol çözeltisi hazırlandı.
- 1000 ppm BHT (2,6-di-*t*-bütil-1-hidroksitoluen) çözeltisinin hazırlanması: 10 mg BHT 10 mL etanol içinde çözülerek 1000 ppm'lik BHT çözeltisi hazırlandı. Ayrıca 2500 ppm'lik çözelti de hazırlandı.
- 1000 ppm BHA (2- *t*-bütil-4-hidroksianisol) çözeltisinin hazırlanması: 10 mg BHA 10 mL etanolde çözülerek 1000 ppm'lik BHA çözeltisi hazırlandı. Ayrıca 2500 ppm'lik çözelti de hazırlandı.
- 1000 ppm α -Tokoferol çözeltisinin hazırlanması: %97'lik 10,31 mg α -tokoferol 10 mL etanolde çözülerek 1000 ppm'lik α -tokoferol çözeltisi hazırlandı. Ayrıca 2500 ppm'lik çözelti de hazırlandı.
- 2500 ppm Gallik asit çözeltisinin hazırlanması: 25 mg gallik asit 10 mL etanolde çözülerek 2500 ppm'lik gallik asit çözeltisi hazırlanmış olur.
- 4000 μ M Galantamin çözeltisinin hazırlanması: 2.3 mg galantamin 2 mL etanolde çözülerek galantamin çözeltisi hazırlanmış olur.

3.3.2.10. İTK'da Kullanılan Belirtecini Hazırlanması

- Serik sülfat belirtecini hazırlanması: 2,0 g seryum (IV) sülfat 100 mL % 10'luk H₂SO₄'de çözülerek hazırlandı. Belirteç, uygun çözücü sisteminde yürütülen ince tabaka plaklarına pulvarizatör kullanılarak püskürtüldü.

3.3.2.11. UV Kayma Belirteçlerinin Hazırlanması

- Sodyum metoksit çözeltisinin hazırlanması: 2,5 g sodyum metoksit 100 mL spektroskopik saflıktaki metanole eklendi.
- Alüminyum klorür çözeltisinin hazırlanması: 5,0 g nem içermeyen susuz $AlCl_3$ 100 mL spektroskopik saflıktaki metanole dikkatlice eklenerek çözüldü. Çözünme oda şartlarında yaklaşık 24 saatte tamamlandı.
- Hidroklorik asit çözeltisinin hazırlanması: 50 mL derişik HCl 100 mL deiyonize su ile karıştırılarak hazırlandı.
- Susuz sodyum asetat ve susuz borik asit toz halde kullanıldılar.

3.4. Cihazlar ve Diğer Gereçler

Nükleer Manyetik Rezonans Cihazı (NMR) (Varian UNITY INOVA 1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz)

TOF/MS/MS (QSTAR XL Cihazı, ESI-MS için)

Gaz Kromatografisi (GC) Cihazı (Shimadzu GC-17A, Gaz Sampler MGS-5)

Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi Cihazı (GC/MS) (GC: Agilent Technologies 6890 Network GC System, MS: Jeol TheMS route JMS-600H)

Nükleer Manyetik Rezonans Cihazı (NMR), (Bruker AVANCE, AV-300 MHz, 400 MHz, 500 MHz ve 600 MHz (Cryo-cooled Probu))

Ultraviyole Spektrofometre Cihazı (UV-Vis), (Thermo SCIENTIFIC – EVOLUATION 300 UV-Visible Spectrophotometer)

Preperatif HPLC (LC-908, Geri Dönüşümlü Preperatif HPLC, JNİ, Japan Analytical Industry Co., Ltd.).

UV Spektrofotometresi (Shimadzu UV-1601, Japonya)

FT-IR Spektrofotometresi (Perkin Elmer Spectrum 100, USA)

Rotaevaporator (Büchi, İsviçre)

Otomatik pipetler (20-200 μ L, 100-1000 μ L, 500-5000 μ L) (Eppendorf, Almanya)

Hassas terazi (Scaltec SBA 31)

Manyetik karıştırıcı (Heidolph MR 3001, Almanya)

pH-metre (Thermo, Amerika Birleşik Devletleri)

BioTek Power Wave XS (Amerika Birleşik Devletleri)

Elma S15 ultrasonik banyo (Almanya)

Ultra saf su cihazı (Younglin Instrument, aquaMAX-Ultra, Kore)

Vortex (LMS Co. LTD, Japonya)

Erime derecesi cihazı (Reichert firmasının Kofler model cihazı, Almanya)

Hesap makinası (Casiofx-3600 PA, Japonya)

Pulvarizatör

Azot tüpü

Oksijen tüpü

1cm'lik cam küvetler

Balon jojeler (10, 25, 50, 100 mL)

Magnetler

Armudi cam balonlar

Tanklar

Ayırma hunileri (1 L'lik)

3.5. Ekstrelerin Hazırlanışı

C. leucopsis bitkisinin toprak üstü kısımları gölgede kurutulup toz edildikten (408,64 g) sonra önce petrol eteri (2 L, 3x24 saat), sonra aseton (1,5 L, 7x24 saat) ve en son metanol (1,5 L, 5x24 saat) ile oda sıcaklığında arada sırada çalkalanarak masere edildi. Petrol eteri ekstresi (CLP) 6,46 g, aseton ekstresi (CLA) 9,46 g ve metanol ekstresi (CLM) 33,22 g olarak elde edildi.

C. sipyleum bitkisinin toprak üstü kısımları gölgede kurutulup toz edildikten (690,34 g) sonra önce petrol eteri (4,5 L, 4x24 saat), sonra aseton (4 L, 6x24 saat) ve en

son metanol (3 L, 5x24 saat) ile oda sıcaklığında arada sırada çalkalanarak masere edildi. Petrol eteri ekstresi (CSP) 21,73 g, aseton ekstresi (CSA) 16,35 g ve metanol ekstresi (CSM) 31,37 g olarak elde edildi.

3.6. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Flavonoit İçeriklerinin Belirlenmesi

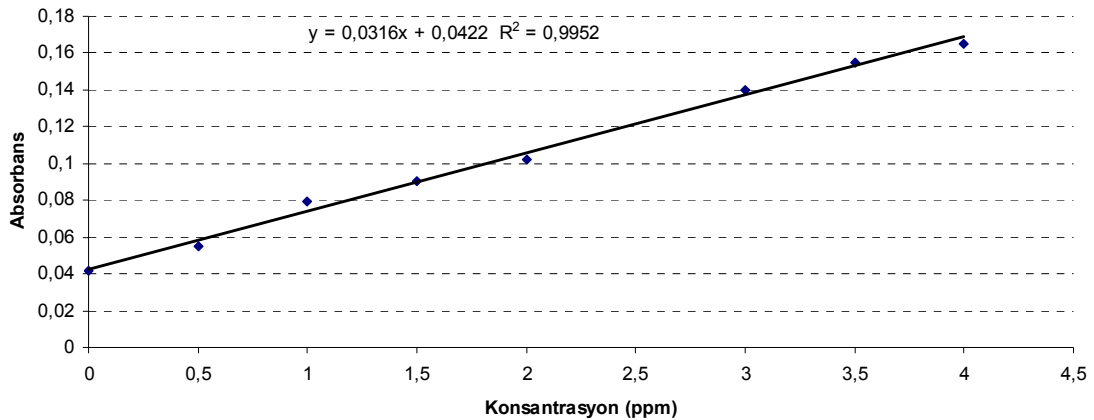
Ölçü grafiğindeki konsantrasyonlar reaksiyon karışımındaki son konsantrasyonlardır.

3.6.1. Toplam Fenolik İçeriklerinin Belirlenmesi

Ekstrelerin toplam fenolik içerikleri Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak pirokatekole eşdeğer olarak belirlendi (Slinkard ve Singleton 1977). 100 ppm'lik pirokatekol çözeltisi hazırlandı ve bu çözeltilerden 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 µL alınarak hacimleri distile su ile 184 µL'ye tamamlandı. *C. leucopsis* ve *C. sipyleum* bitkilerinin petrol eteri, aseton ve metanol ekstralarının 1000 ppm konsantrasyonda çözeltileri hazırlandı. Bir miligram ekstre içeren örnek çözeltilerinden 4 µL alındı, distile su ile 184 µL'ye tamamlandı. Pirokatekol çözeltileri ve örneklere 4 µL Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ve 3 dk sonra %2'lik Na₂CO₃ çözeltisinden 12 µL ilave edildi. Karışım 2 saat süresince oda sıcaklığında bekletildi ve örneklerin absorbansları 760 nm'de okundu. Ekstrelerin toplam fenolik içerikleri standart pirokatekol grafiğinden (Şekil 3-1) elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlendi:

$$\text{Absorbans} = 0,0316(\mu\text{g}) + 0,0422 \quad (R^2: 0,9952)$$

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı.



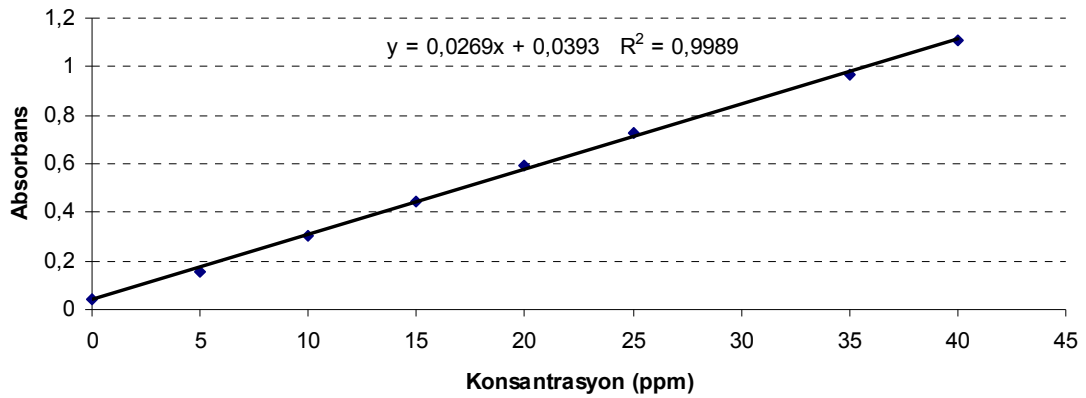
Şekil 3-1: Pirokatekolün Ölçü Grafiği

3.6.2. Toplam Flavonoit İçeriklerinin Belirlenmesi

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

$$\text{Absorbans} = 0,0269(\mu\text{g}) + 0,0393 \quad (R^2 : 0,9989)$$

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı.



Şekil 3-2: Kersetinin Ölçü Grafiği

3.7. Antioksidan Tayin Yöntemleri

Antioksidan aktivite tayini için *C. leucopsis* ve *C. sipyleum* bitkilerinin petrol eteri, aseton ve metanol ekstralarının β -karoten-linoleik asit test sistemi ile toplam antioksidan aktivitesi, DPPH serbest radikal giderim, ABTS katyon radikal giderim, süperoksit anyon radikal giderim ve CUPRAC yöntemleri ile aktiviteleri tayin edildi. Bütün yöntemlerin grafiklerindeki konsantrasyonlar reaksiyon karışımındaki son konsantrasyonlardır.

3.7.1. β -KAROTEN-LINOLEİK ASİT YÖNTEMİ (TOPLAM ANTIOKSIDAN AKTİVİTE TAYİNİ)

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

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

In: Doğal logaritma

a: Başlangıç absorbansı

b: İnkübasyonundan sonraki absorbans

t: Zaman (dakika)

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

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

R_{kontrol} : Kontrolün renk açılım oranı

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

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

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

Ekstrelerin serbest radikal giderim aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak belirlendi (Blois 1958). *C. leucopsis* ve *C. sipyleum* bitkilerinin petrol eteri, aseton ve metanol ekstralarının 10 mg'ı 10 mL etanolde çözülerek stok çözeltileri hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 2, 5, 10 ve 20 µL alınarak etanol ile hacimleri 40 µL'ye tamamlandı ve üzerlerine 0,1 mM DPPH çözeltisinden 160 µL ilave edildi. Hazırlanan çözeltilerin oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika inkübasyondan sonra 517 nm'de absorbansları ölçüldü. Elde edilen bu absorbans değerlerinden % inhibisyon değerleri hesaplandı. Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. Serbest radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

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

A: Absorbans

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

3.7.3. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi

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

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

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

3.7.4. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi

Ekstrelerin süperoksit anyon radikali giderim aktiviteleri nitroblu tetrazolyumun indirgenmesi metoduna göre belirlendi (Nishikimi ve ark. 1972). *C. leucopsis* ve *C. sipyleum* bitkilerinin petrol eteri, aseton ve metanol ekstralarının 10 mg'ı 4 mL etanolde çözülerek 2500 ppm'lik stok çözeltileri hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 0,88, 2,2, 4,4 ve 8,8 µL alınarak distile su ile hacimleri 10 µL'ye tamamlandı. Sonra her bir kuyucuğa hazırlanmış olan 156 µM'lık NBT çözeltisinden 100µL, 468 µM'lık NADH çözeltisinden 100µL ve 60µM'lık PMS çözeltisinden 10 µL ilave edildi. Reaksiyon PMS çözeltisi ilave edildiği anda başlar. Reaksiyon karışımı 25°C'de 5 dakika bekletildikten sonra 560 nm'de absorbansları ölçüldü. Elde edilen bu absorbans değerlerinden % inhibisyon değerleri hesaplandı. Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. Süperoksit anyon radikali giderim aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

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

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı. Standart olarak gallik asit kullanıldı.

3.7.5. CUPRAC Yöntemi

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

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

3.8. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi

Tabloda verilen konsantrasyonlar reaksiyon karışımındaki son konsantrasyonlardır.

3.8.1. Ellman metodu

Asetilkolinin AChE tarafından tiyokoline parçalandıktan sonra, tiyokolinin sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunu vermek üzere 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)

(DTNB) ile reaksiyon verdiđi kolorimetrik bir yöntem olan Ellman metodu, 96 kuyucuklu mikrolakalarda gerçekleřtirildi (Ellman ve ark. 1961).

3.8.1.1. AChE aktivite testi

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

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

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı.

3.8.1.2. BChE aktivite testi

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

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

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı.

3.9. İstatistik Hesaplamalar

Antioksidan ve antikolinesteraz aktivite sonuçlarında elde edilen veriler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verildi. Sonuçlar Student's *t*-testine göre %95 güven sınırları içinde bulundu. Anlamlılık sınırı olarak $p < 0,05$ kabul edildi. En küçük kareler yönteminin kullanıldığı doğrusal regresyon analizi eğim, intersept ve korelasyon katsayılarının değerlendirilmesiyle yapıldı.

3.10. Kromatografik Yöntemler

3.10.1. Kolon Kromatografisi

Ekstreleri fraksiyonlandırmak ve bu fraksiyonlardan saf maddeler elde etmek amacıyla üç çeşit dolgu maddesi kullanıldı. Bu dolgu maddeleri silika jel, ters faz silika jel ve Sephadex LH-20'dir.

Ekstreleri fraksiyonlandırmak için kolon kromatografisinde silika jel kullanıldı. Ekstreler az miktarda uygun çözücüde çözülerek adsorban ile karıştırıldı. Karışım oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Kuruyan karışım dibine az miktarda pamuk yerleştirilmiş, ekstre miktarına uygun olarak seçilmiş ve boyunun 2/3 oranında silika jel ile doldurulmuş kolonun üst kısmına paketleme yöntemiyle yerleştirildi. Elüsyona % 100 petrol eteri ile başlandı ve sırasıyla kloroform, aseton ve metanol ile polarite artırılarak elüsyona devam edildi, sonunda % 100 metanol ile elüsyon tamamlandı. Benzer fraksiyonlar birleştirildi ve saflaştırma için daha küçük boyuttaki kolonlarda silika jelin yanı sıra ters faz silika jel ve Sephadex LH-20 adsorban olarak kullanıldı.

Fraksiyonlardan saf madde elde etmek için ters faz sütun kromatografisi kullanıldı. Bu yöntemde polaritesi yüksek olan maddelerin saflaştırılma işlemi yapıldı. Elüsyona H₂O ile başlandı ve sırasıyla CH₃CN ve MeOH ile devam edildi. %100 MeOH ile elüsyon tamamlandı.

Fraksiyonlardan saf madde elde etmek için Sephadex LH-20 içeren kolonlar kullanıldı. Bu yöntemde karışımın polaritesine göre iki çözücü sistemi kullanıldı: apolar özellik gösteren fraksiyonlar için hekzan:kloroform:metanol (7:4:1) çözücü sistemi, polar özellik gösteren fraksiyonlar için ise % 100 metanol kullanıldı. Fraksiyonlar kolonda kullanılacak çözücü sisteminde çözülerek sıvı halde Sephadex LH-20 ile doldurulmuş kolonun üst kısmından tatbik edildi. Elüsyon tek bir çözücü sistemi kullanılarak sonlandırıldı.

3.10.2. İnce Tabaka Kromatografisi

İnce tabaka kromatografisinde (İTK), silika jel hazır plaklar (20 x 20 cm) ve ters faz silika jel plaklar kullanıldı. Ekstrelerin kolon kromatografisi ile ayrılmasıyla elde edilen fraksiyonların karşılaştırılmasında İTK plakları kullanıldı. Maddeleri saflaştırmak için preparatif ince tabaka kromatografisinden yararlanıldı.

3.10.3. Gaz Kromatografisi ve Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi Şartları

3.10.3.1. GC Çalışma Şartları

Cirsium leucopsis ve *C. sipyleum* bitkilerinin petrol eteri ekstraterinden elde edilen apolar fraksiyonların analizi GC' de aşağıda belirtilen şartlarda yapıldı.

GC Çalışma Şartları

Kolon	: ZB-5 1,5 µm (60 m x 0.53 mm ID)
Dedektör	: FID
Taşıyıcı gaz	: N ₂
Kolon basıncı	: 93 kPa
Toplam akış hızı	: 103 mL
Kolon akış hızı	: 11.1093 mL/dk

Sıcaklıklar

Enjeksiyon	: 250°C
Kolon (<i>C. leucopsis</i> ve <i>C. sipyleum</i> için)	: 60°C'de 2 dk bekletildi ve 7 °C/dk hızla 260°C ye yükseltildi. 260°C'de 30 dk bekletildi.
Dedektör	: 260°C
Split oranı	: 1:8
Enjeksiyon miktarı	: 3 µL

3.10.3.2. GC/MS Çalışma Şartları

Karachi Üniversitesi Hussein Ebrahim Jamal (HEJ) Kimya Araştırma Enstitüsü GC, GC/MS laboratuvarında bulunan Agilent Technologies 6890 Network GC System ile Jeol TheMS route MS-600H GC/MS cihazı kullanıldı. Bileşenler gaz kromatografisi kolonunda ayrılıp iyonlaştırıldıktan sonra her birinin tek tek kütle spektrumları alındı. Bileşenlerin yapılarının belirlenmesinde Nist 2011 kütüphane verileri kullanıldı. Ayrıca bileşenlerin alıkonulma süreleri göz önüne alınarak yapıların doğruluğu desteklendi.

GC Çalışma Şartları

Kolon	: ZB-5 HT 0.25 µm (30 m x 0.32 mm ID)
Taşıyıcı gaz	: He
Kolon basıncı	: 5,3-9,9 kPa
Toplam akış hızı	: 57,7 mL/dk
Kolon akış hızı	: 0,9 mL/dk

Sıcaklıklar

Enjeksiyon	: 260 °C
Kolon (<i>C. leucopsis</i> ve <i>C. sipyleum</i> için)	: 70°C'de 3 dk bekletildi ve 5°C/dk hızla 260°C'ye yükseltildi. 260 °C' de 30 dk bekletildi.
Split oranı	: 1:60
Enjeksiyon miktarı	: 1 µL

MS Çalışma Şartları

İyon kaynağı sıcaklığı	: 250°C
Elektron enerjisi	: 70 eV
Kütle aralığı	: 40-700

3.10.4. Preparatif HPLC Çalışma Şartları

Cirsium sipyleum bitkisinin metanol ekstresinden elde edilen yüksek polarlıktaki CSM40-51 fraksiyonuna önce küçük boyutta ters faz sütun kromatografisi yapıldı. Elde edilen alt fraksiyonlardan HPLC için uygun olanlar aşağıda belirtilen şartlarda çalışıldı.

o Preparatif HPLC Çalışma Şartları

Kolon: YMC-ODS-L-80, C ₁₈ kolon (250 x 20 mm ID; S-4µM)
Dedektör: UV
Çözücü: Metanol: Su (1:1)
Kolon basıncı: 80 kg/cm ²
Toplam akış hızı: 3.00 mL/dk
Kolon akış hızı: 3.00 mL/dk
Enjeksiyon miktarı: 3 mL

3.11. Spektroskopik Yöntemler

3.11.1. UV Spektroskopisi

Saf maddeler metanolde çözülerek köre karşı 200–400 nm dalga boyları arasında UV spektrumları alındı. Flavonoitlerin yapılarının belirlenmesinde kayma belirteçleri kullanılarak spektrumları alındı.

3.11.2. Kayma Belirteçleri ile Flavonoitlerin UV Spektrumlarının Alınması

UV spektrumu alınacak flavonoitin absorpsiyon bantlarının 0,600 ile 0,800 arasında absorbans değerlerini verebilmesi için metanol ile flavonoidin 35 ppm'lik stok çözeltisi hazırlandı (Mabry ve ark. 1970).

3.11.2.1. Sodyum Metoksit (NaOCH₃) Belirteci ile UV Spektrumunun Alınması

Flavonoitin stok çözeltisinden 3 mL alınarak köre karşı UV spektrumu alındı. Bu çözeltinin üzerine sodyum metoksit stok çözeltisinden 3–5 damla ilave edilir edilmez hemen UV spektrumu alındı (Mabry ve ark. 1970).

3.11.2.2. Alüminyum Klorür/Hidrojen Klorür (AlCl₃/HCl) Belirteci ile UV Spektrumunun Alınması

Flavonoitin stok çözeltisinden 3 mL alınarak köre karşı metanol spektrumu alındı. Altı damla alüminyum klorür çözeltisi eklendikten hemen sonra yeniden spektrum alındı. Daha sonra flavonoit ve AlCl₃ içeren çözeltiliye seyreltik HCl'den 3–5 damla eklenerek UV spektrumu alındı (Mabry ve ark. 1970).

3.11.2.3. Sodyum Asetat/Borik Asit ($\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$) Belirteci ile UV Spektrumunun Alınması

Flavonoitin stok çözeltisinden 3 mL alınarak köre karşı metanol spektrumu alındı. Bu çözeltiliye sodyum asetatın aşırısı toz halinde eklendi ve yaklaşık 2 dakika sonra spektrum alındı. Bu çözeltiliye susuz borik asit ilave edildikten sonra UV spektrumu alındı (Mabry ve ark. 1970).

3.11.3. NMR Spektroskopisi

Kromatografik yöntemlerle saflaştırılan bileşiklerin ^1H NMR, ^{13}C NMR, DEPT, HMBC, HMQC, HSQC spektrumları alındı. Referans olarak tetrametilsilan (TMS) ve çözücü olarak döterokloroform (CDCl_3), döterometanol (CD_3OD), dötero aseton (CD_3COCD_3) ve döterodimetilsülfoksit (CD_3SOCD_3) kullanıldı.

3.11.4. Kütle Spektroskopisi

Elektron impact kütle spektroskopisi (EI-MS) ve elektron spray iyonlaşma-kütle spektrometresi (ESI-MS) kullanılarak saf maddelerin spektrumları alındı.

4. BULGULAR

Bu tez çalışmasında, endemik olan iki *Cirsium* türü, *C. leucopsis* ve *C. sipyleum*, bitkilerinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan petrol eteri, aseton ve metanol ekstralarının antioksidan aktivite tayinleri β -karoten renk açılım, DPPH serbest radikali giderim, ABTS katyon radikali giderim, süperoksit anyon radikali giderim ve CUPRAC yöntemleriyle yapıldı. Tüm ekstraların toplam fenolik ve toplam flavonoit miktarları sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlendi. Ayrıca tüm ekstraların antikolinesteraz aktivite tayini Ellman yöntemi ile yapıldı.

C. leucopsis ve *C. sipyleum* bitkilerinin petrol eteri, aseton ve metanol ekstralarının antioksidan, antikolinesteraz aktiviteleri ve kimyasal içeriklerinin incelenmesi ilk kez bu tez çalışması ile yapıldı.

4.1. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktar Tayini Sonuçları

Tüm ekstraların toplam fenolik ve toplam flavonoit miktarları sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlendi. Her iki bitkinin petrol eteri, aseton ve metanol ekstralarının toplam flavonoit içeriklerinin birbirine yakın değerlerde olduğu belirlendi. CLP, CLA ve CSP' nin toplam fenolik miktarları yakın değerde bulundu. Ayrıca CLM, CSA ve CSM' nin de toplam fenolik içerikleri diğer 3 ekstreten çok az düşük ve birbirine yakın değerde olduğu tespit edildi (Tablo 4-1).

Tablo 4-1: Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarları^a

Ekstreler	Toplam Fenolik Miktarı (μg pirokatekole eşdeğer)/mg Ekstre ^b	Toplam Flavonoit Miktarı (μg kersetine eşdeğer)/mg Ekstre ^c
<i>Cirsium leucopsis</i> Petrol Eteri ekstresi (CLP)	33,97 \pm 0,37	24,67 \pm 3,11
<i>Cirsium leucopsis</i> Aseton ekstresi (CLA)	30,06 \pm 1,57	68,87 \pm 3,19
<i>Cirsium leucopsis</i> MeOH ekstresi (CLM)	16,38 \pm 1,68	14,04 \pm 0,65
<i>Cirsium sipyleum</i> Petrol Eteri ekstresi (CSP)	32,67 \pm 0,34	21,96 \pm 3,15
<i>Cirsium sipyleum</i> Aseton ekstresi (CSA)	19,86 \pm 1,68	67,37 \pm 1,78
<i>Cirsium sipyleum</i> MeOH ekstresi (CSM)	17,17 \pm 1,01	11,82 \pm 0,65

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

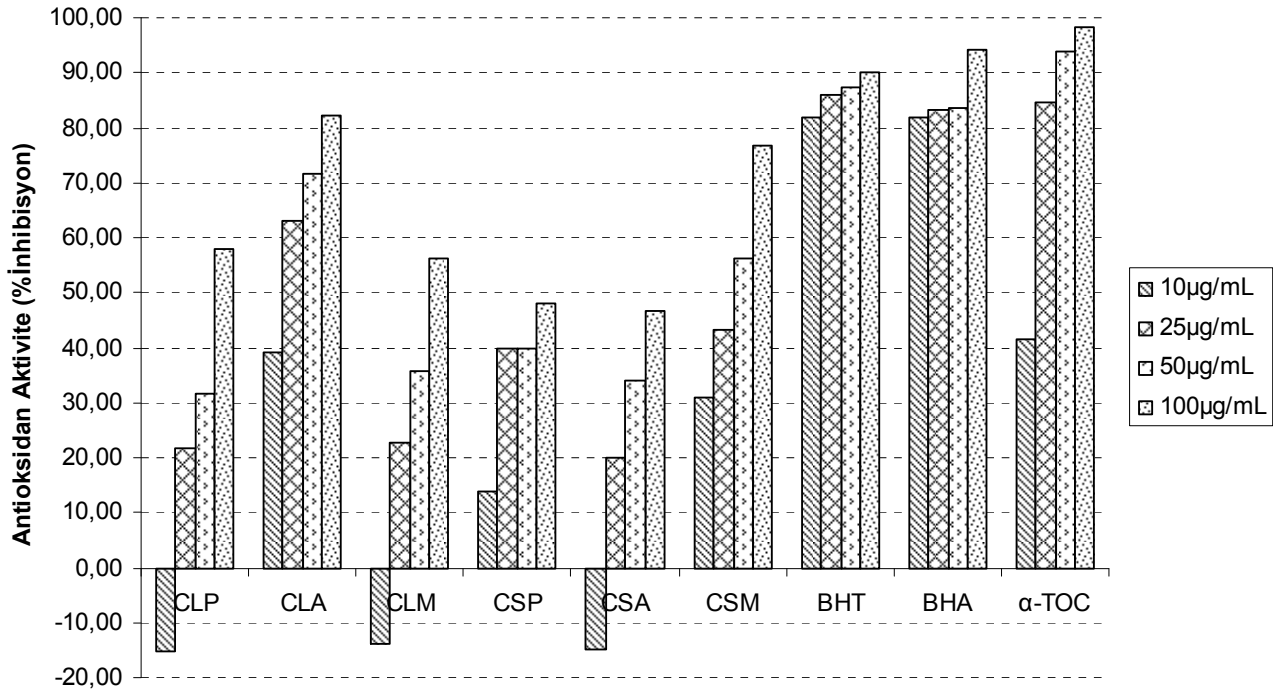
b: Pirokatekole eşdeğer fenolik içerik. ($y=0,0316x + 0,0422$ $R^2=0,9952$)

c: Kersetine eşdeğer flavonoit içerik. ($y=0,0269x + 0,0393$ $R^2=0,9989$)

4.2. *C. leucopsis* ve *C. sipyleum* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları

4.2.1. β -Karoten Renk Açılım Yöntemi ile Antioksidan Aktivite Sonuçları

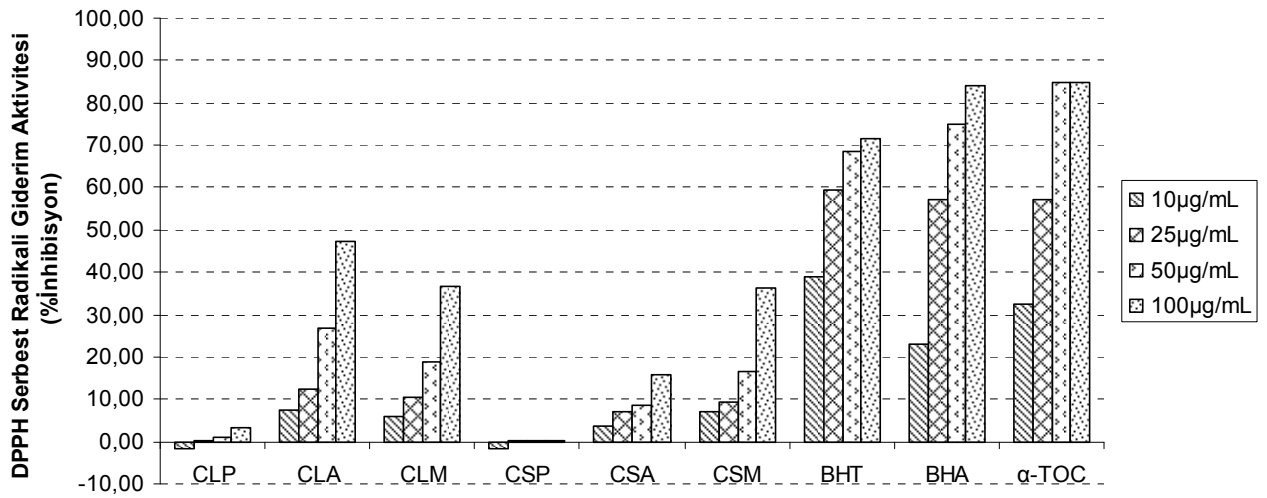
C. leucopsis ve *C. sipyleum* bitkilerinden hazırlanan petrol eteri, aseton ve metanol ekstralarının β -karoten renk açılım yöntemine göre antioksidan aktiviteleri dört farklı konsantrasyonda (10, 25, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$) yapıldı. Standart olarak kullanılan BHT, BHA, ve α -TOC'e göre aktivite karşılaştırmaları yapıldı. β -Karoten renk açılım yönteminde *C. leucopsis* aseton ekstresinin diğer ekstralardan daha yüksek aktivite gösterdiği belirlendi. Bütün ekstraların standart olarak kullanılan BHT, BHA ve α -TOC'den daha düşük etki gösterdiği tespit edildi (Şekil 4-1).



Şekil 4-1: *C. leucopsis* ve *C. sipyleum* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin β -Karoten Renk Açılım Yöntemi ile Antioksidan Aktiviteleri

4.2.2. DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi Sonuçları

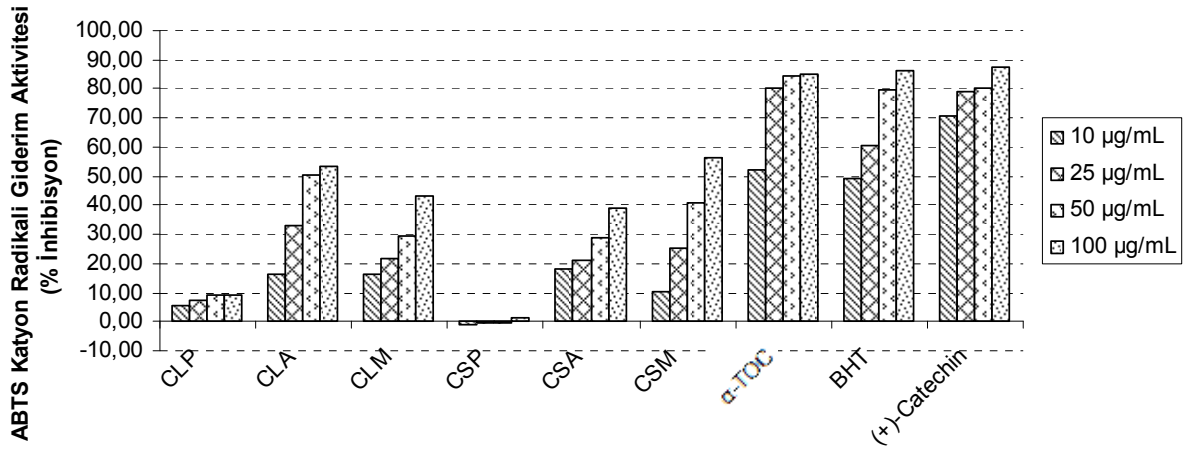
C. leucopsis ve *C. sipyleum* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi dört farklı konsantrasyonda (10, 25, 50, 100 µg/mL) tayin edildi. Standart olarak kullanılan BHT, BHA, ve α-TOC'e göre aktivite karşılaştırmaları yapıldı. Bu yöntemde *C. leucopsis* aseton ekstresinin diğer ekstrelerden daha yüksek aktivite gösterdiği belirlendi. Bütün ekstrelerin standart olarak kullanılan BHT, BHA ve α-TOC' den daha düşük etki gösterdiği tespit edildi (Şekil 4-2).



Şekil 4-2: *C. leucopsis* ve *C. sipyleum* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin DPPH Serbest Radikal Giderim Aktiviteleri

4.2.3. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları

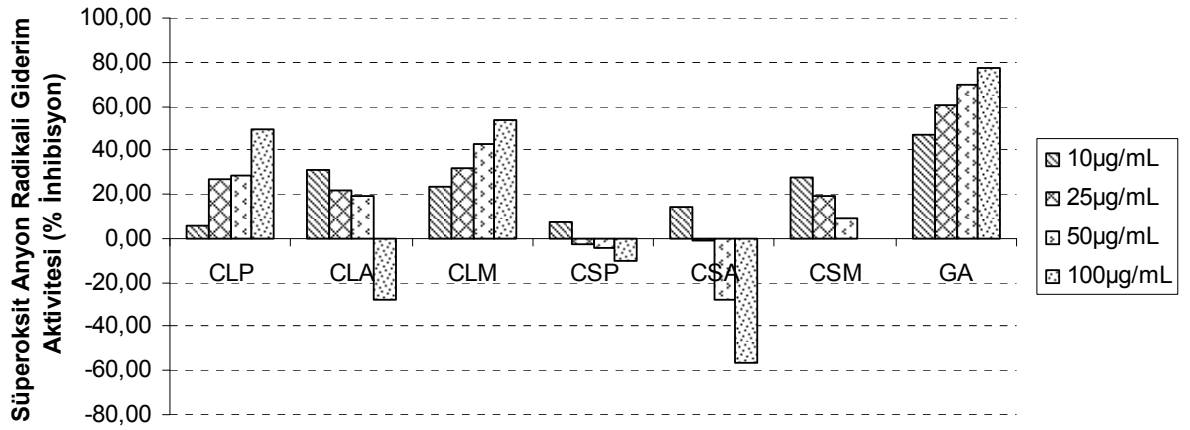
C. leucopsis ve *C. sipyleum* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin ABTS katyon radikali giderim aktiviteleri dört farklı konsantrasyonda (10, 25, 50, 100 µg/mL) belirlendi. Standart olarak α -TOC, BHT ve (+)-Catechin kullanıldı. Bu yöntemde *C. leucopsis* aseton ekstresinin 10, 25 ve 50 µg/mL’ de diğer ekstrelerden daha yüksek aktivite gösterdiği belirlendi. *C. sipyleum* metanol ekstresi 100 µg/mL’ de CLA’ dan biraz daha iyi etki gösterdiği (%58 inhibisyon) belirlendi. Bütün ekstrelerin standart olarak kullanılan α -TOC, BHT ve (+)-Catechin’ den daha düşük etki gösterdiği tespit edildi (Şekil 4-3).



Şekil 4-3: *C. leucopsis* ve *C. sipyleum* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin ABTS Katyon Radikali Giderim Aktiviteleri

4.2.4. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları

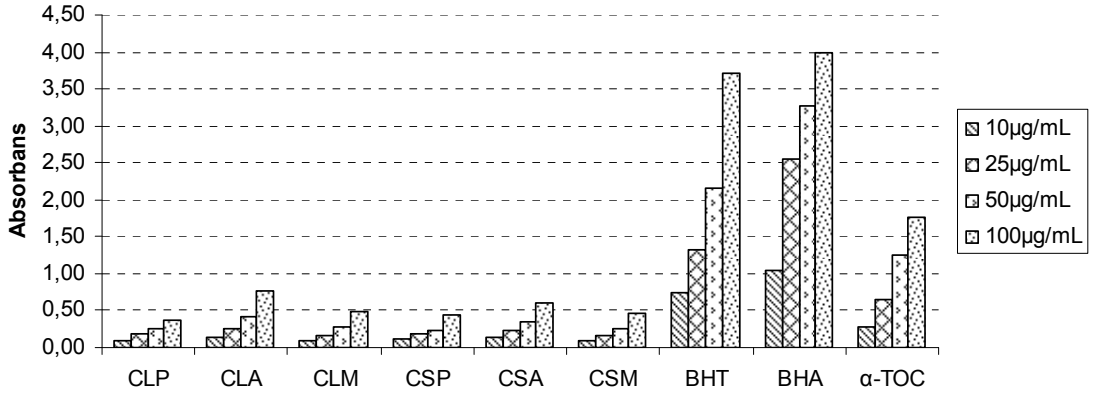
C. leucopsis ve *C. sipyleum* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin süperoksit anyon radikali giderim aktiviteleri, NADH-PMS-NBT yöntemine göre dört farklı konsantrasyonda (10, 25, 50, 100 µg/mL) belirlendi. Standart olarak gallik asit kullanıldı. Bu yöntemde *C. leucopsis* metanol ekstresinin diğer ekstrelerden daha yüksek aktivite gösterdiği belirlendi. Bütün ekstrelerin standart olarak kullanılan gallik asitten daha düşük etki gösterdiği tespit edildi (Şekil 4-4).



Şekil 4-4: *C. leucopsis* ve *C. sipyleum* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktiviteleri

4.2.5. CUPRAC Yöntemi ile Antioksidan Aktivite Sonuçları

C. leucopsis ve *C. sipyleum* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktiviteleri dört farklı konsantrasyonda (10, 25, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$) belirlendi. Standart olarak BHT, BHA ve α -tokoferol kullanıldı. Bu yöntemde, bütün ekstrelerin standartlardan daha düşük aktivite gösterdiği ve aktif olmadıkları belirlendi (Şekil 4-5).



Şekil 4-5: *C. leucopsis* ve *C. sipyleum* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin CUPRAC Yöntemi ile Antioksidan Aktiviteleri

4.3. *C. leucopsis* ve *C. sipyleum* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları

C. leucopsis ve *C. sipyleum* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin antikolinesteraz aktiviteleri asetilkolinesteraz (AChE) ve butirikolinesteraz (BChE) enzimlerinin inhibisyonu ile belirlendi. Hiçbir ekstrenin standart olarak kullanılan galantaminle karşılaştırıldıklarında aktif olmadıkları tespit edildi (Tablo 4-2).

Tablo 4-2: *C. leucopsis* ve *C. sipyleum* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları^a

Ekstreler	AChE (%İnhibisyon)	BChE (%İnhibisyon)
CLP	16,50±2,84	AD
CLA	19,42±4,13	36,94±1,54
CLM	5,25±2,01	AD
CSP	22,70±2,36	6,75±0,15
CSA	21,39±2,23	24,87±3,20
CSM	9,90±1,89	5,33±0,81
Galantamin ^b	76,04±0,46	78,95±0,38

^a 200µg/mL

^b Standart madde

AD: Aktif değil

4.4. *C. leucopsis* ve *C. sipyleum* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Kimyasal İçerikleri

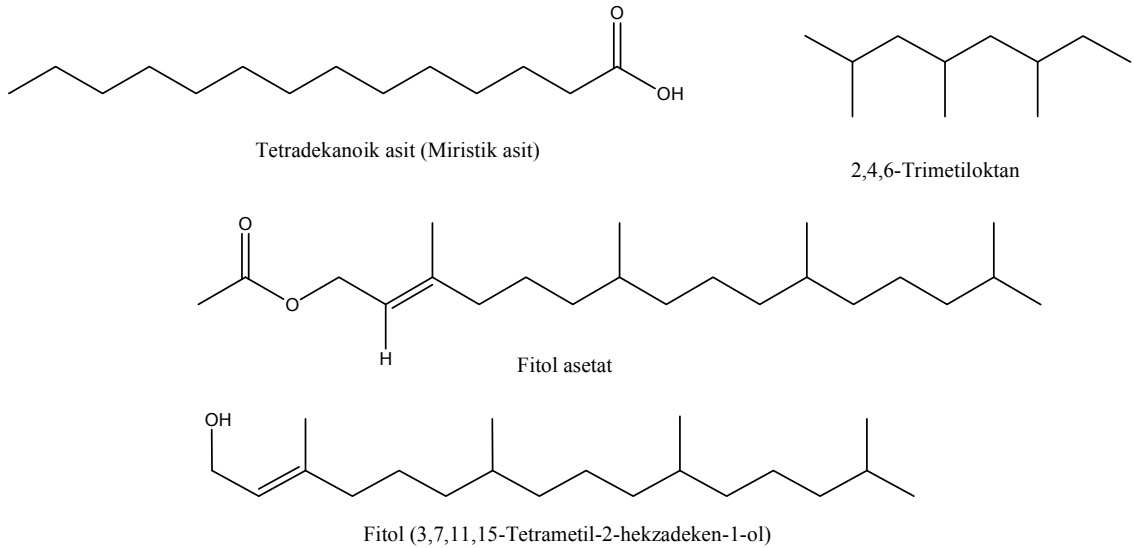
C. leucopsis ve *C. sipyleum* bitkilerinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan petrol eteri, aseton ve metanol ekstralarının toplam fenolik ve toplam flavonoit miktarları, antioksidan ve antikolinesteraz aktivite sonuçları değerlendirildiğinde *C. leucopsis*' in aseton ekstresinin daha aktif olduğu belirlendi. Bundan dolayı öncelikle *C. leucopsis*' in aseton ekstresinden başlamak suretiyle tüm ekstralardan kromatografik yöntemler kullanılarak saf madde elde edilmesine ve bu saf maddelerin yapılarının aydınlatılarak aktivitelerinin tayin edilmesine karar verildi.

4.4.1. *Cirsium leucopsis* Bitkisinin Petrol Eteri Ekstresinin (CLP) Fraksiyonlandırılması

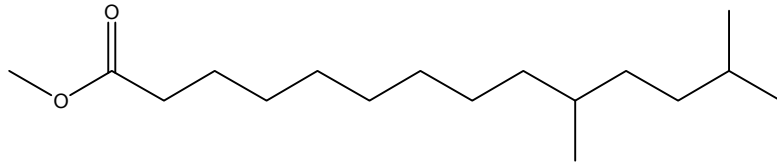
CLP silika jel içeren sütunda fraksiyonlandırıldı. Elüsyona %100 petrol eteri ile başlandı ve elüsyona %5 çözücü polaritesi arttırılarak sırasıyla kloroform, aseton ve metanol ile devam edildi, %100 metanole ulaşıncaya elüsyon tamamlandı. İTK ile benzer fraksiyonlar birleştirildi. Toplam 6 fraksiyon elde edildi. Bu fraksiyonlara sütun ve preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemleri uygulanarak taraksasterol elde edildi. Ayrıca CLP'nin silika jel sütunda %100 petrol eteri ile elüsyonundan elde edilen apolar fraksiyonlar birleştirilerek GC/MS analizi ile bileşimi belirlendi (Tablo 4-3) (Şekil 4-6). Bu analiz sonucunda CLP' nin apolar fraksiyonlarındaki 19 bileşen belirlendi.

Tablo 4-3: CLP' nin Apolar Fraksiyonlarının GC-MS Analiz Sonucu

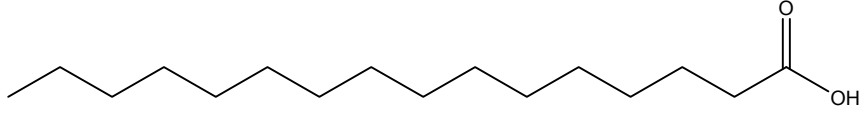
Tarama Numarası	Bileşik Adı	M ⁺	Gözlenen Pik	Temel Pik	Ahkonma zamanı
612	Tetradekanoik asit (Miristik asit)	228	228	73	26.40
626	2,4,6-Trimetiloktan	156		57	26.95
646	Fitol asetat	338	278	68	27.72
648	Fitol	296		68	27.78
691	10,13-Dimetil tetradekanoik asit metil ester	270	270	74	29.43
719	n-Hekzadekanoik asit	256	256	73	30.50
728	Hekzadekanoik asit, etil ester	284	284	88	30.85
777	9,12-Oktadekadienoik asit metil ester	294	294	81	32.73
781	6-Oktadekenoik asit metil ester	296	264	79	32.88
804	Oleik asit	282	264	55	33.77
808	<i>cis</i> -Vaksenik asit	282	282	55	33.92
812	9,17-Oktadekadienal	264	264	55	34.07
816	Oktadekanoik asit	284	284	73	34.22
869	2-Metiltetrakosan	352		57	36.25
871	2,6,10-Trimetildodekan	212		57	36.33
902	Eikosanoik asit	312	312	57	37.52
955	2,7,10-Trimetildodekan	212		57	39.55
1159	3-Metil-5-propilnonan	184		57	47.37
1337	2-Metiloktakosan	408		57	54.18



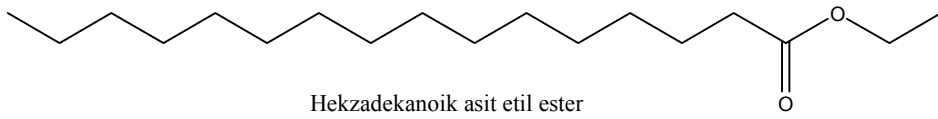
Şekil 4-6: CLP' nin Kimyasal Bileşimi



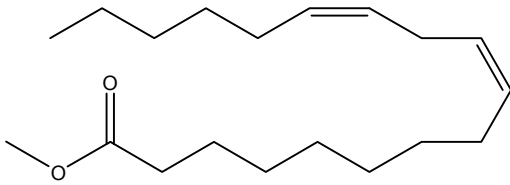
10,13-Dimetil tetradekanoik asit metil ester



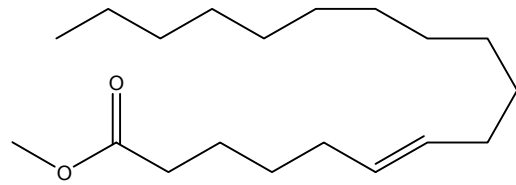
n-Hekzadekanoik asit (Palmitik asit)



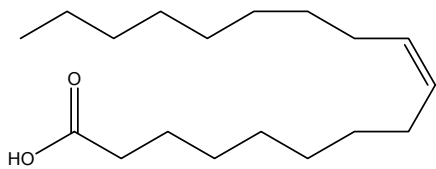
Hekzadekanoik asit etil ester



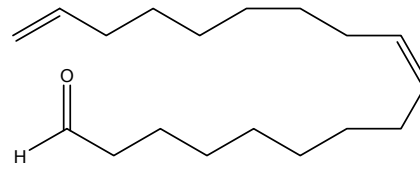
9,12-Oktadekadienoik asit metil ester



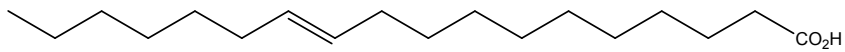
6-Oktadekenoik asit metil ester



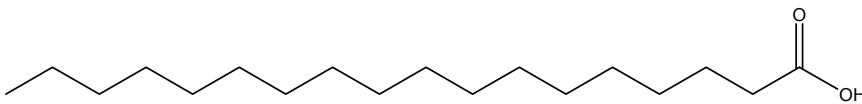
Oleik asit (9-Oktadekenoik asit)



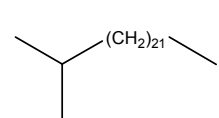
9,17-Oktadekadienal



cis-Vaksenik asit

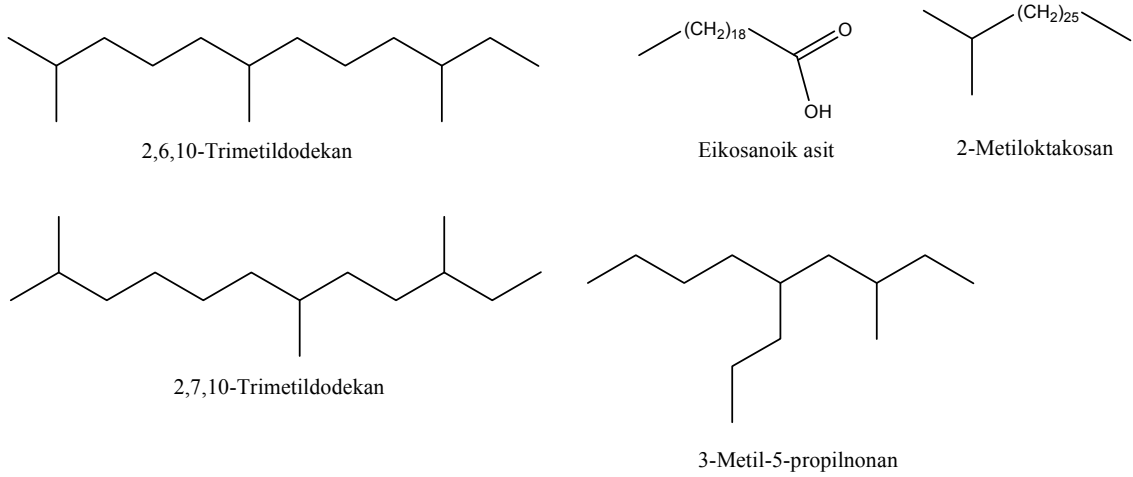


Oktadekanoik asit (Stearik asit)



2-Metiltetrakosan

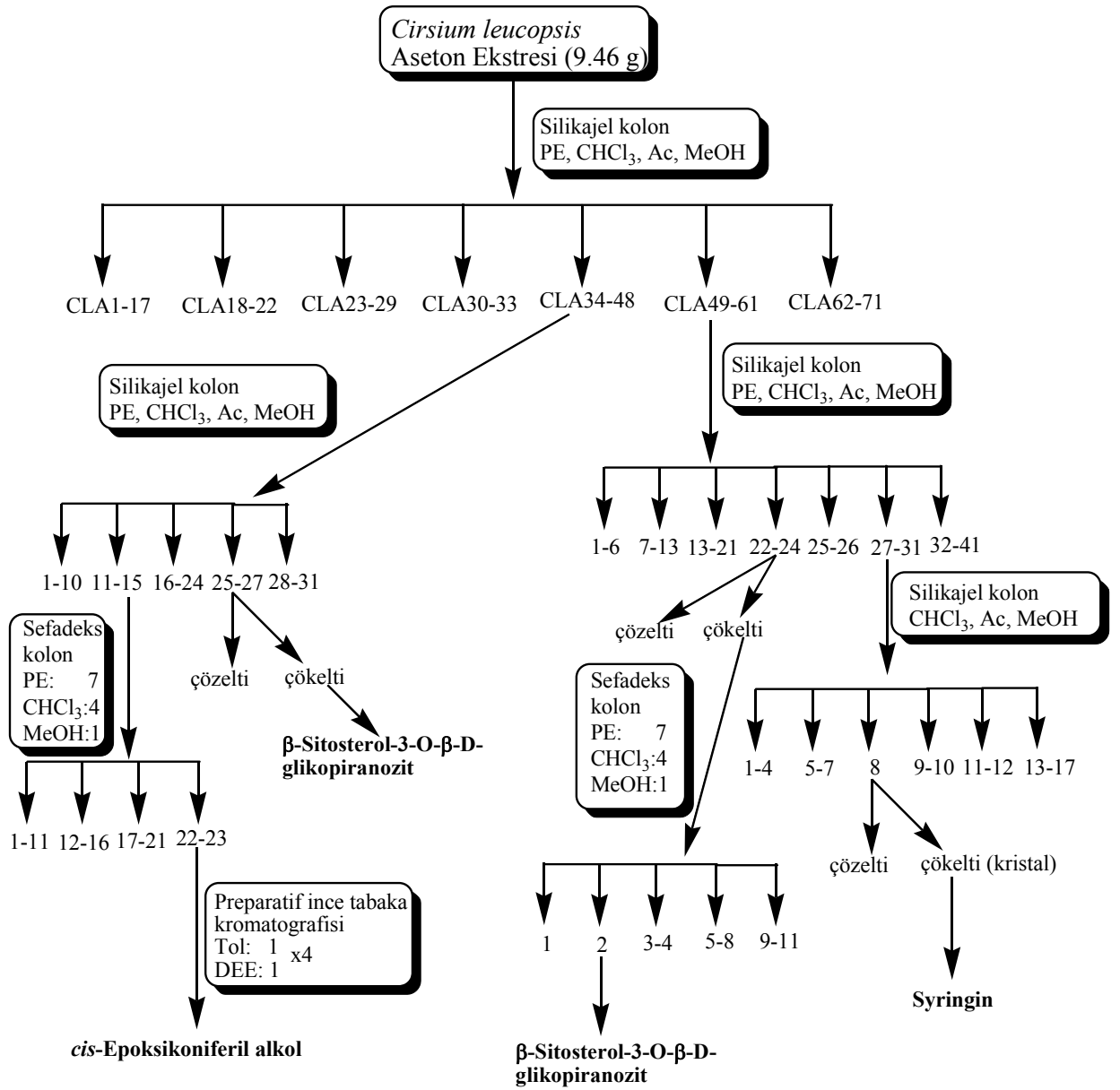
Şekil 4-7: CLP' nin Kimyasal Bileşimi (Devamı)



Şekil 4-8: CLP' nin Kimyasal Bileşimi (Devamı)

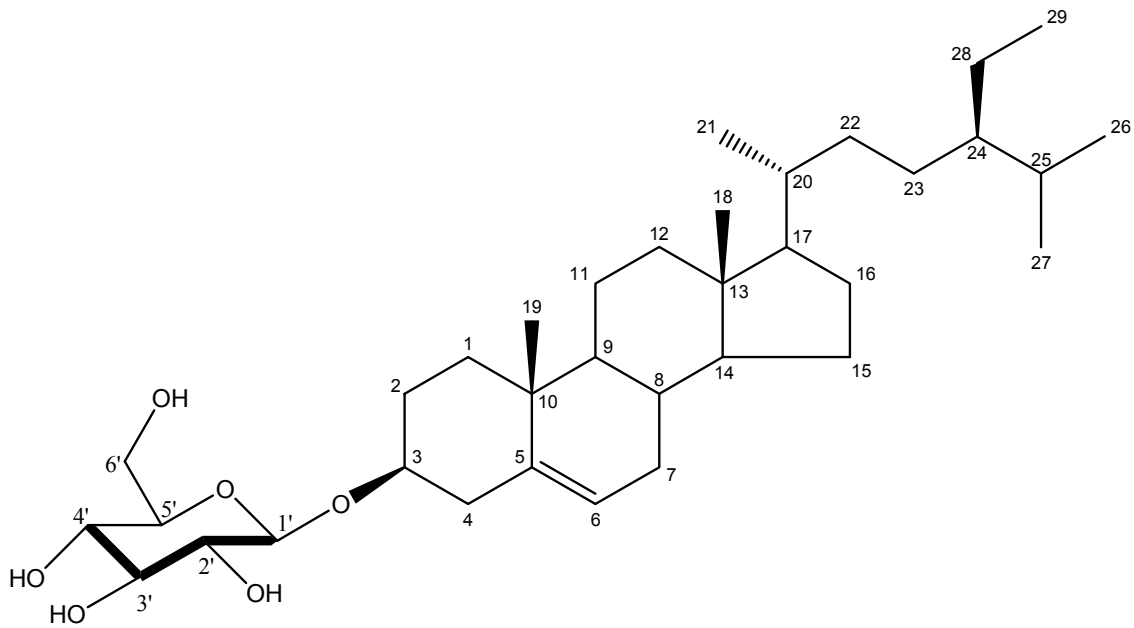
4.4.2. *Cirsium leucopsis* Bitkisinin Aseton Ekstresinin (CLA) Fraksiyonlandırılması

CLA silika jel içeren sütunda fraksiyonlandırıldı. Elüsyona %100 petrol eteri ile başlandı, %5 çözücü polaritesi artırılarak sırasıyla kloroform, aseton ve metanol ile elüsyona devam edildi, %100 metanole ulaşılnca elüsyon tamamlandı. İTK ile benzer fraksiyonlar birleştirildi. Toplam 7 fraksiyon elde edildi. Bu fraksiyonlara silika jel ve Sephadex LH-20 sütun, preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemleri uygulanarak CLA1 (β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit), CLA2 (*cis*-epoksikoniferil alkol) ve CLA3 (syringin) maddeleri elde edildi. Saf maddelerin izolasyonu Şekil 4-9'te verilmiştir. Saf maddelerin yapı tayinleri spektroskopik yöntemler kullanılarak yapıldı.



Şekil 4-9: CLA' dan Elde Edilen Saf Maddelerin İzolasyon Şeması

4.4.2.1. CLA 1 = β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit



Şekil 4-10

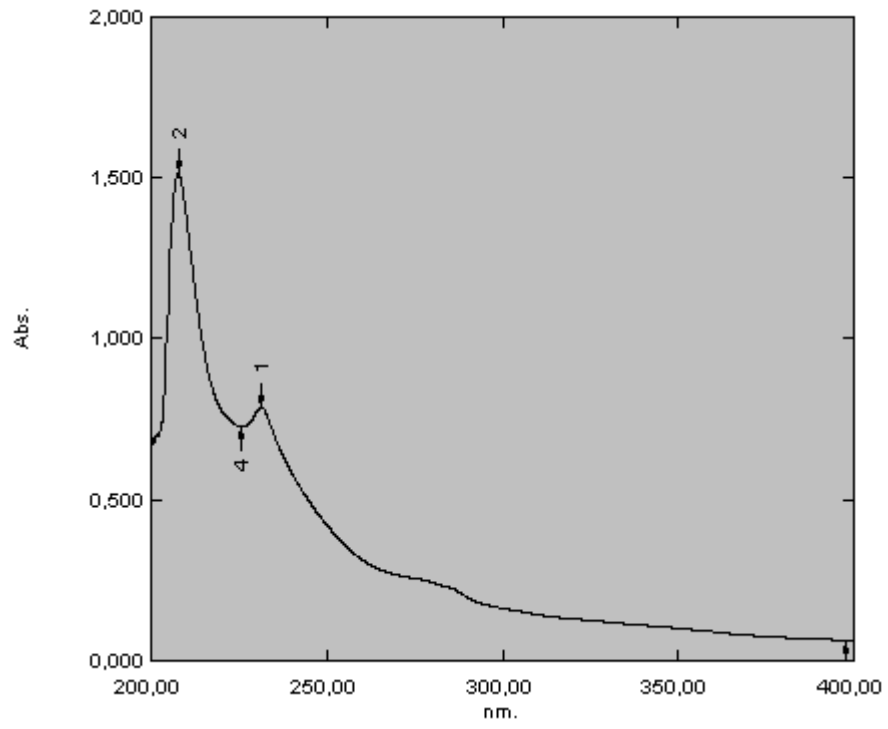
CLA1 bileşiği beyaz toz halde elde edildi (2,4 mg).

UV spektrumunda (MeOH) 231 ve 206 nm'de bantlar görüldü (Şekil 4-11). IR spektrumunda (katı) 3372 (O-H), 2932-2867 (C-H), 1644 (C=C) cm^{-1} ' de bantlar izlendi (Şekil 4-12).

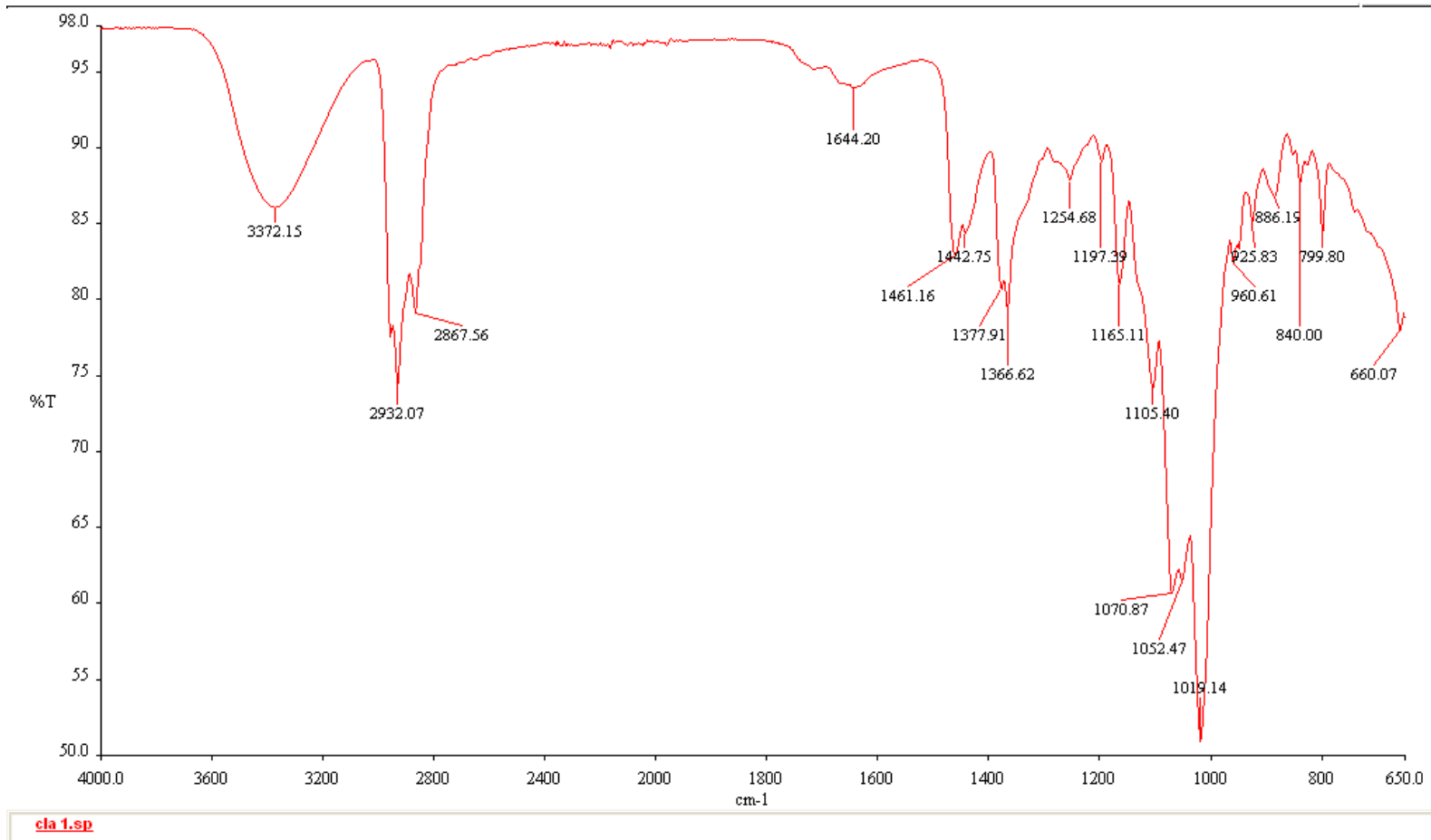
Spektral değerleri literatürdeki değerler ile karşılaştırılan CLA 1 bileşiğinin β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit olduğu belirlendi (Lee ve ark. 2002) (Şekil 4-10).

Tablo 4-4: CLA 1' in ^{13}C -NMR ve ^1H -NMR Değerleri (DMSO, *J* değerleri parantez içinde verildi)

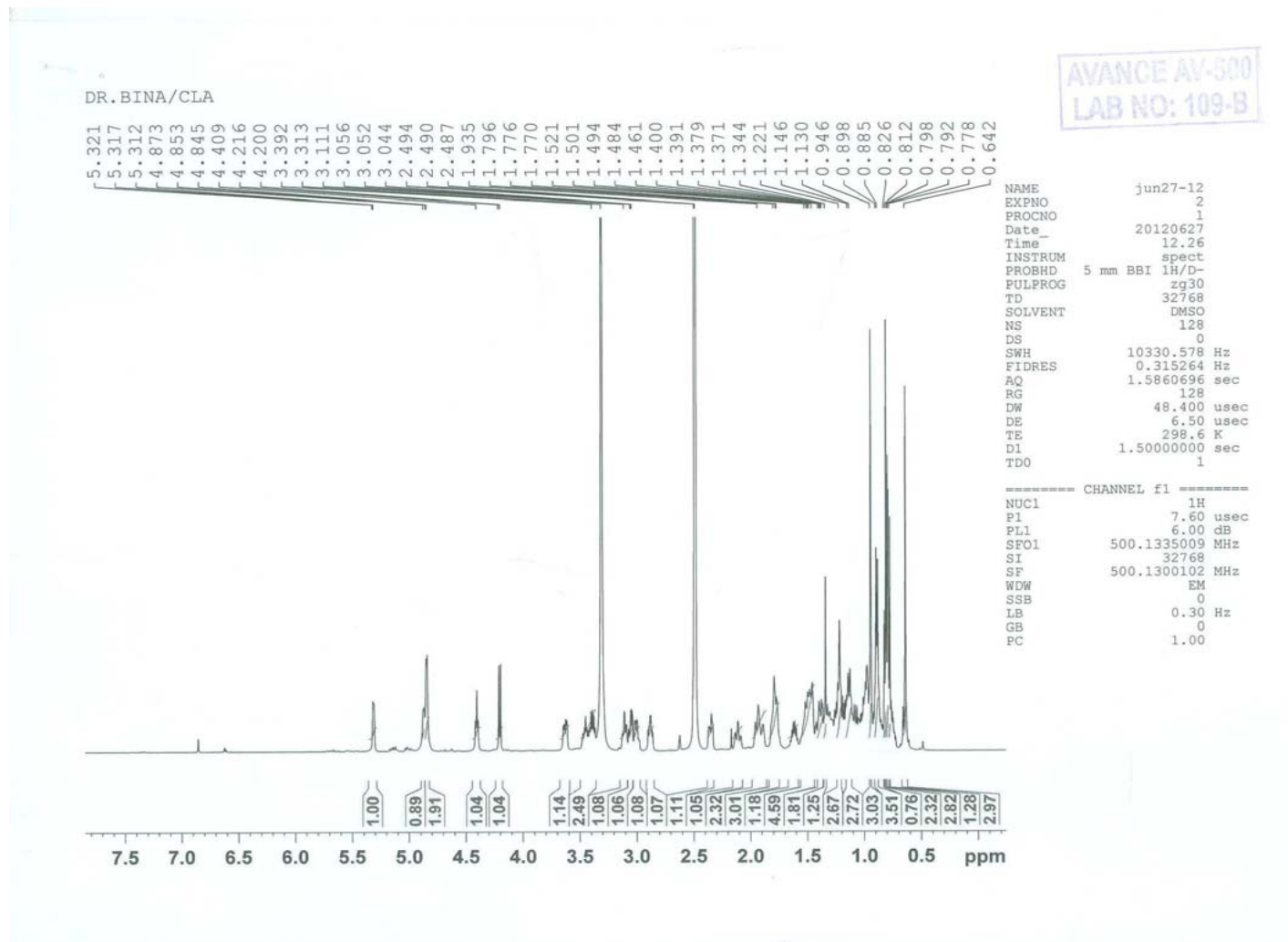
Pozisyon	^{13}C -NMR	^1H -NMR
1	36,83	
2	29,27	
3	76,90	3,46 m
4	38,31	
5	140,45	-
6	121,20	5,31 m
7	31,42	
8	31,37	
9	49,60	
10	36,21	-
11	20,60	
12	39,85	
13	41,85	-
14	56,17	
15	23,86	
16	27,80	
17	55,43	
18	11,67	0,64 s
19	19,10	0,95 s
20	35,48	
21	18,62	0,89 d (6,5 Hz)
22	33,34	
23	25,44	
24	45,14	
25	28,70	
26	19,70	0,78-0,83 m
27	18,94	0,78-0,83 m
28	22,60	
29	11,78	0,78-0,83 m
1'	100,78	4,21 d (8,0 Hz)
2'	73,46	2,88 m
3'	76,77	3,00-3,12 m
4'	70,10	3,00-3,12 m
5'	76,75	3,00-3,12 m
6'	61,09	3,63 dd (10,1; 5,0 Hz) 3,39 dt (10,1; 5,0 Hz)
OH	-	4,87 brs
2xOH	-	4,85 d (4,5 Hz)
6'-OH	-	4,41 t (5,8 Hz)



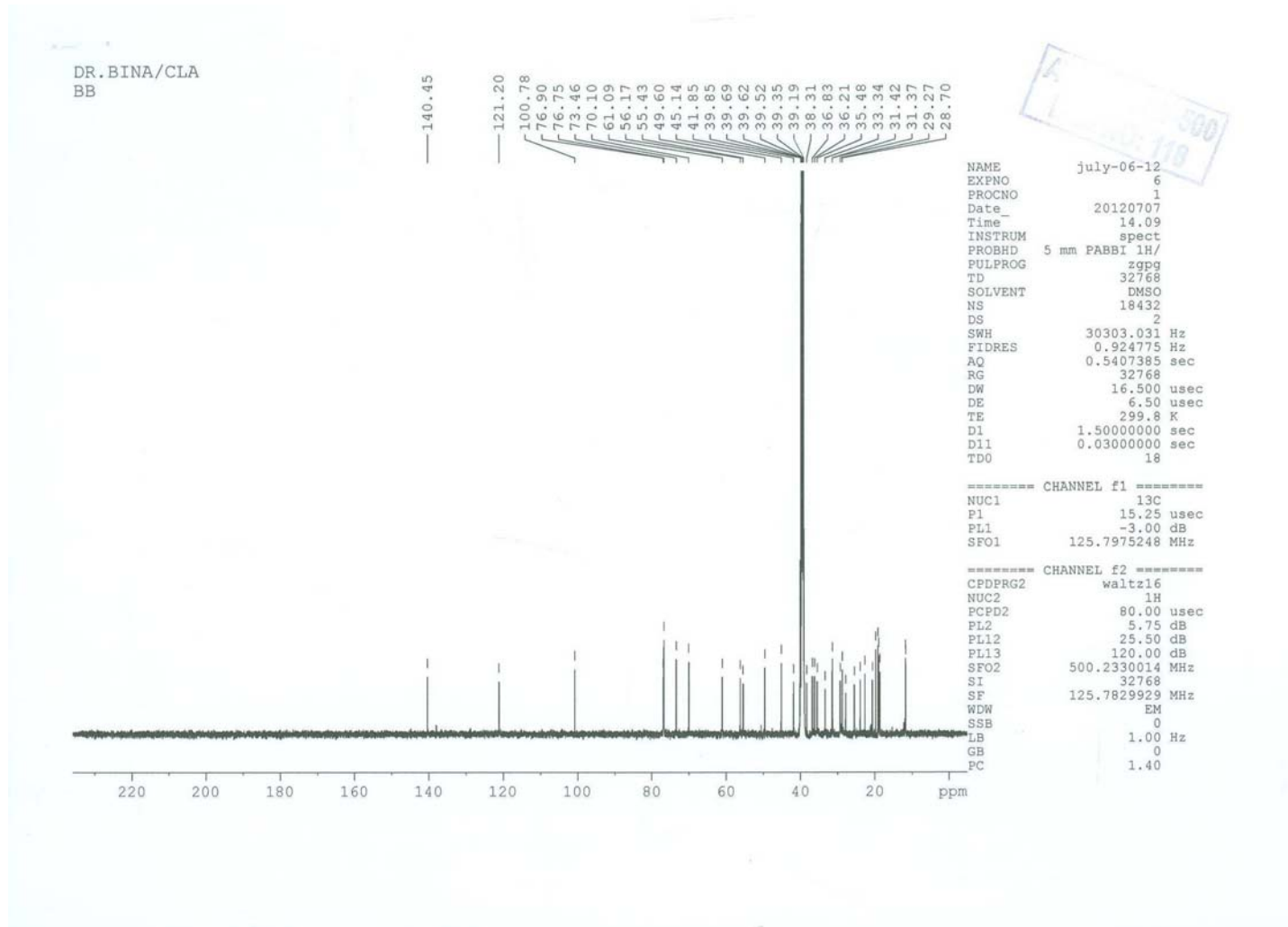
Şekil 4-11: β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit' in UV Spektrumu



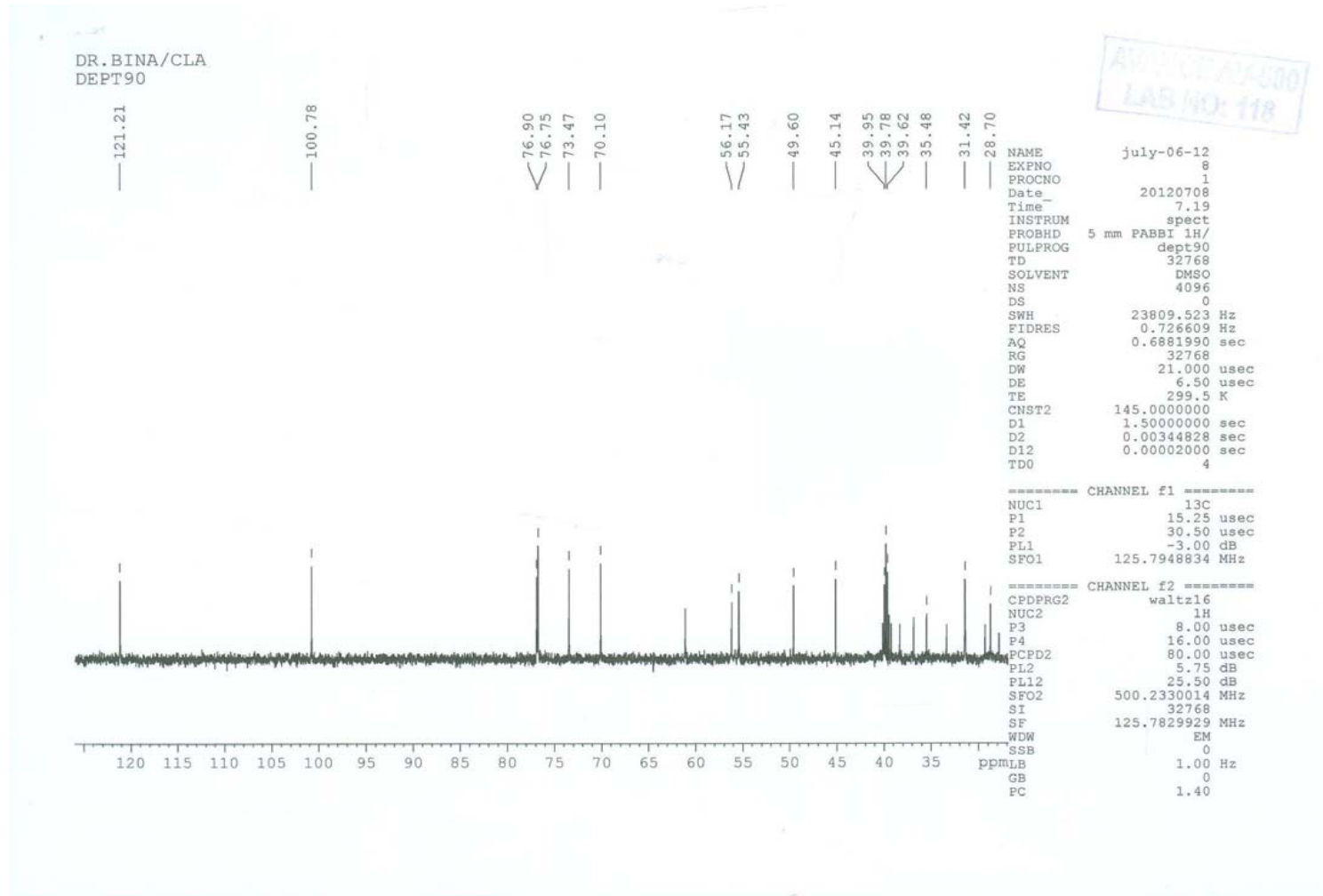
Şekil 4-12: β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit' in IR Spektrumu



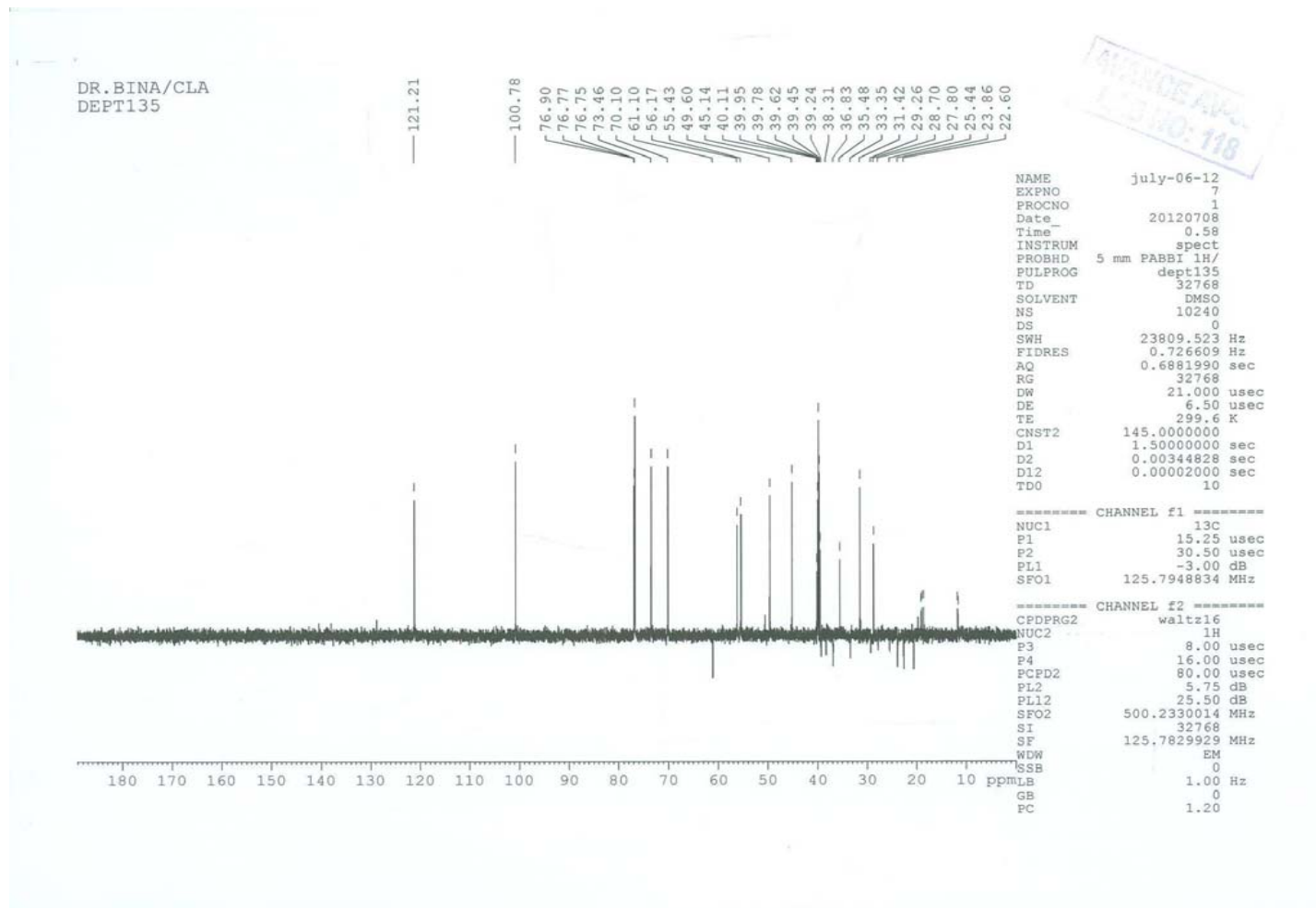
Şekil 4-13: β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit' in $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (DMSO)



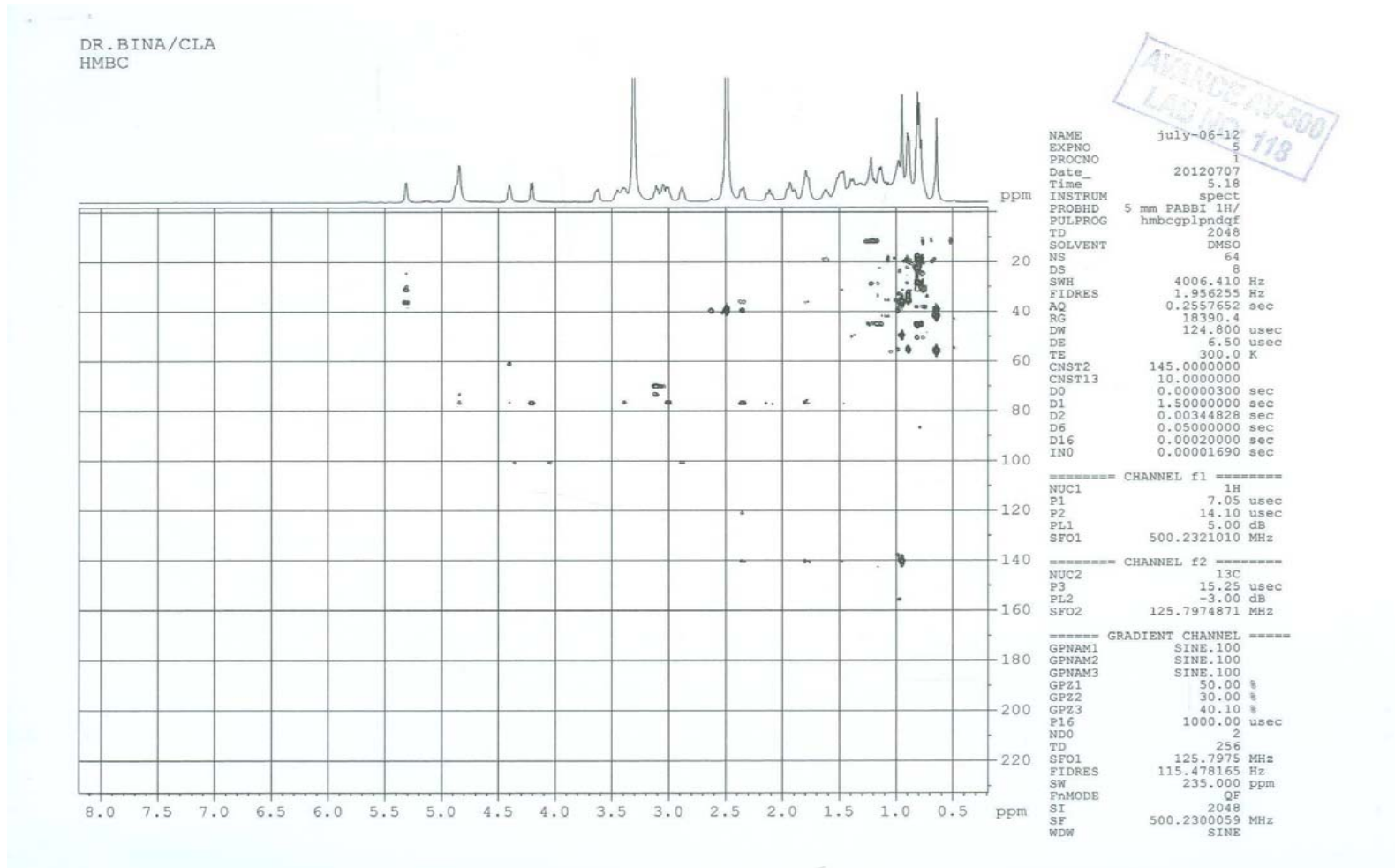
Şekil 4-14: β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit' in ^{13}C -NMR (BB) Spektrumu (DMSO)



Şekil 4-15: β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit' in ^{13}C -NMR (DEPT 90) Spektrumu (DMSO)

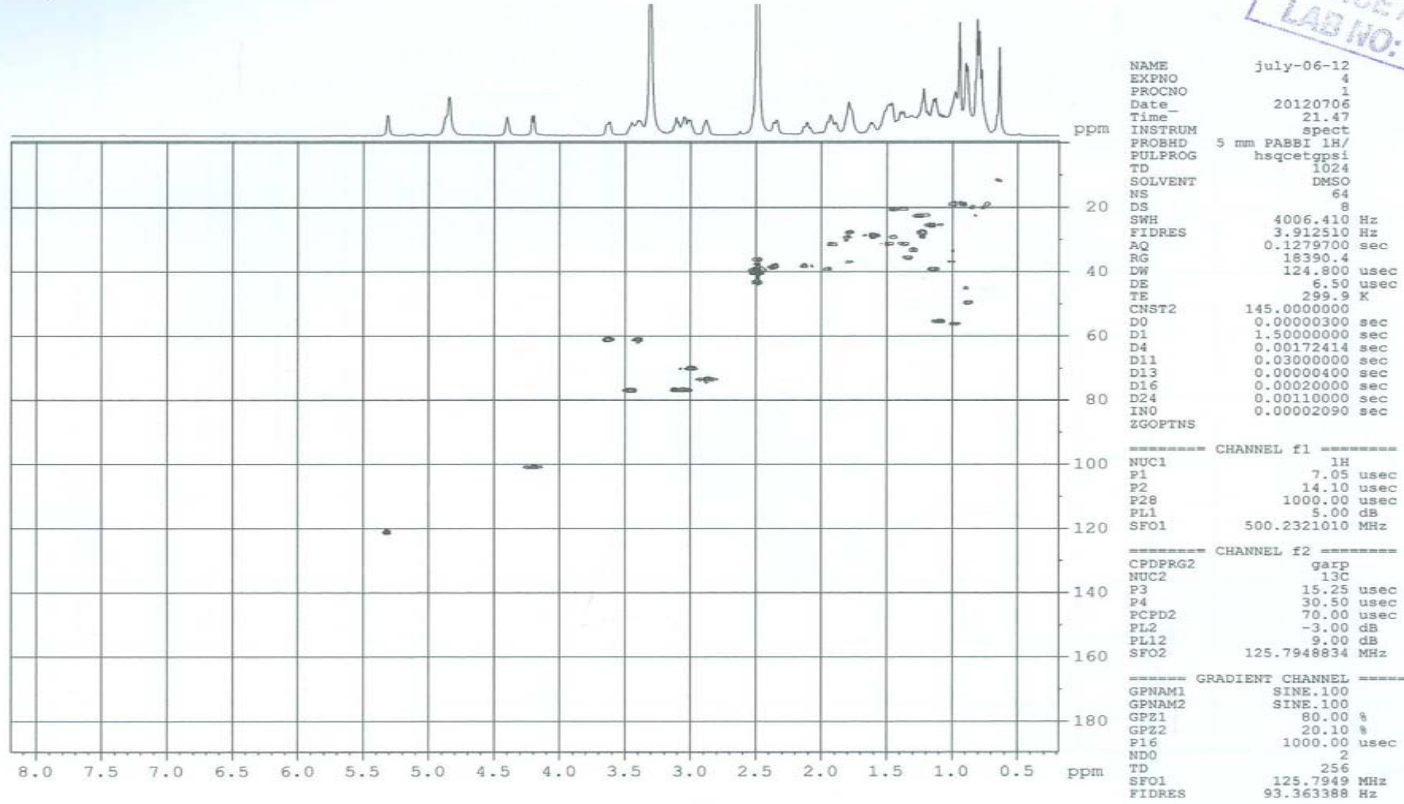


Şekil 4-16: β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit' in ^{13}C -NMR (DEPT 135) Spektrumu (DMSO)



Şekil 4-17: β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit' in HMBC Spektrumu (DMSO)

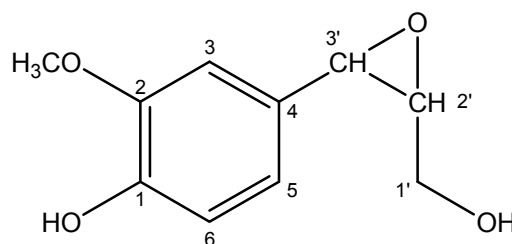
DR. BINA/CLA
HSQC



AVANCE AV-500
LAB NO: 118

Şekil 4-18: β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit' in HSQC Spektrumu (DMSO)

4.4.2.2. CLA 2= *cis*-Epoksikoniferil alkol



Şekil 4-19

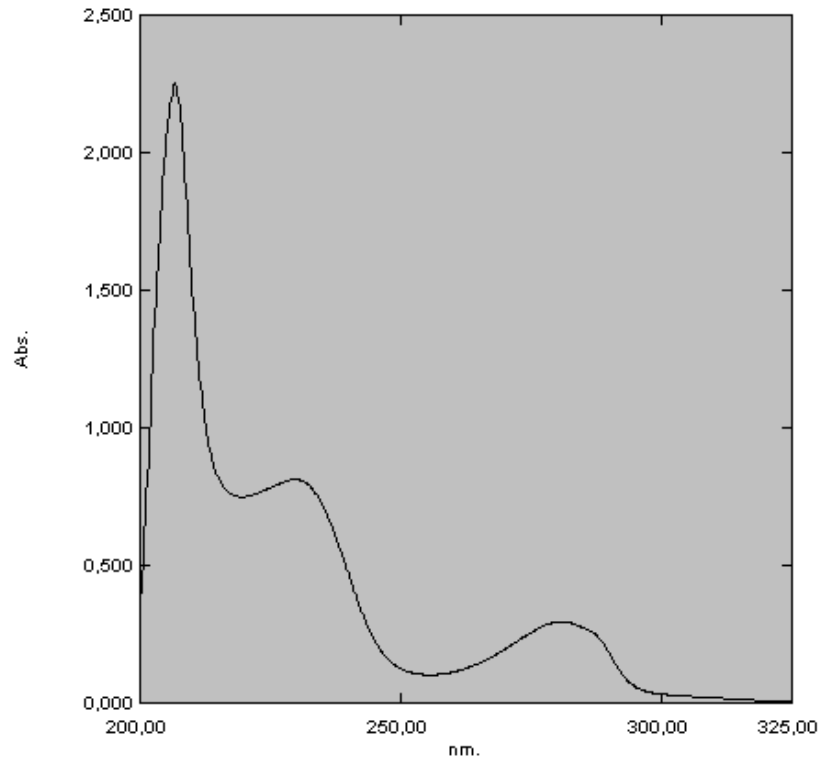
Sarı renkli olan CLA 2 bileşiği katı halde elde edildi (10,5 mg). Silika jel plakta UV lamba altında (254 nm) görülen bileşik, serik sülfat belirteci püskürtülüp etüvde 110°C’de yakıldığında kahverengi renk aldı.

UV spektrumunda (MeOH) 206, 229 ve 280 nm’de bantlar görüldü (Şekil 4-18). IR spektrumunda (CHCl₃) 3370 (O-H), 2956-2852 (C-H), 1731 (epoksi), 1658-1516 (C=C) cm⁻¹, de bantlar izlendi (Şekil 4-19).

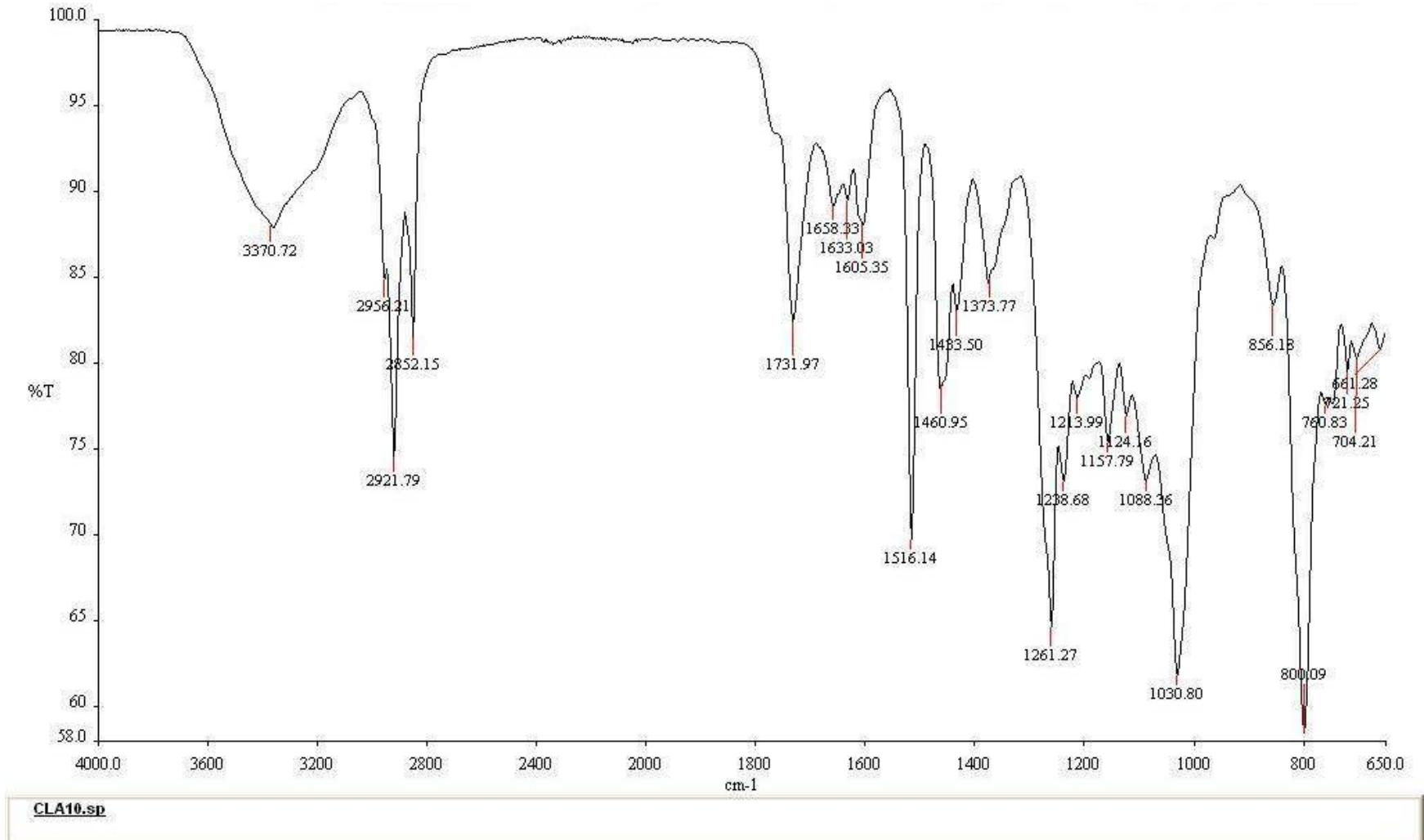
Spektral değerleri literatürdeki değerler ile karşılaştırılan CLA 2 bileşiğinin *cis*-epoksikoniferil alkol olduğu belirlendi (Guz ve Stermitz 2000, Hacıbekiroğlu ve Kolak 2011) (Şekil 4-17). Bu bileşik *Cirsium* türlerinden ilk kez elde edildi.

Tablo 4-5: CLA 2’ nin ¹³C-NMR, HMQC ve HMBC Değerleri (CDCl₃, *J* değerleri parantez içinde verildi)

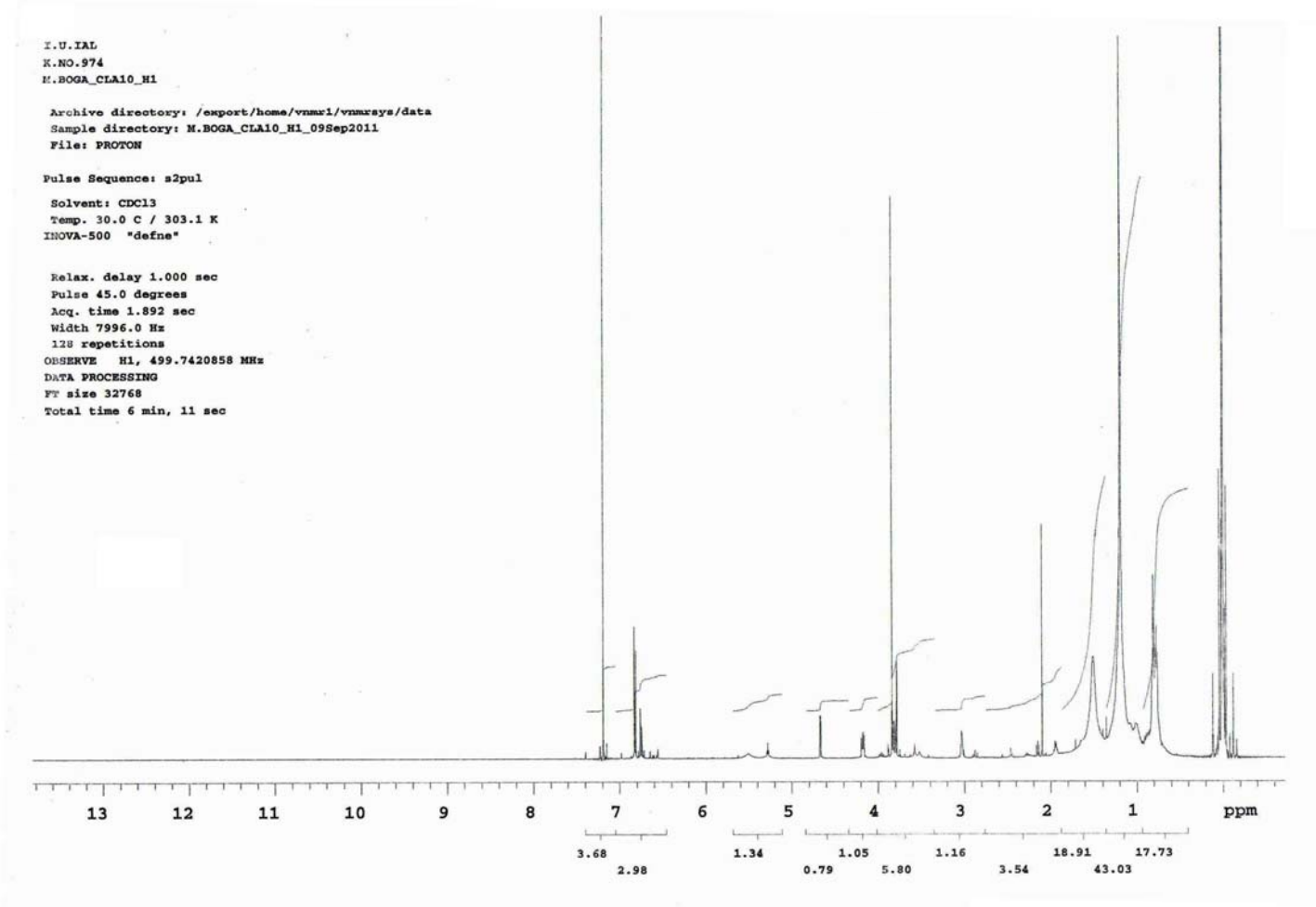
Pozisyon	¹³ C-NMR	HMQC	HMBC
1	144,27	-	H-3, H-5
2	145,71	-	H-6, OCH ₃
3	107,60	6,83 d (1,47 Hz)	H-5
4	131,97	-	H-3
5	117,96	6,75 dd (8,30; 1,95 Hz)	H-3
6	113,26	6,82 d (8,30 Hz)	
1'	70,69	α 4,18 dd (9,27; 6,83 Hz) β 3,81 dd (9,27; 3,42 Hz)	
2'	53,19	3,03 m	
3'	84,85	4,67 d (4,40 Hz)	H-5, H-6, OCH ₃
OCH ₃	54,98	3,84 s	



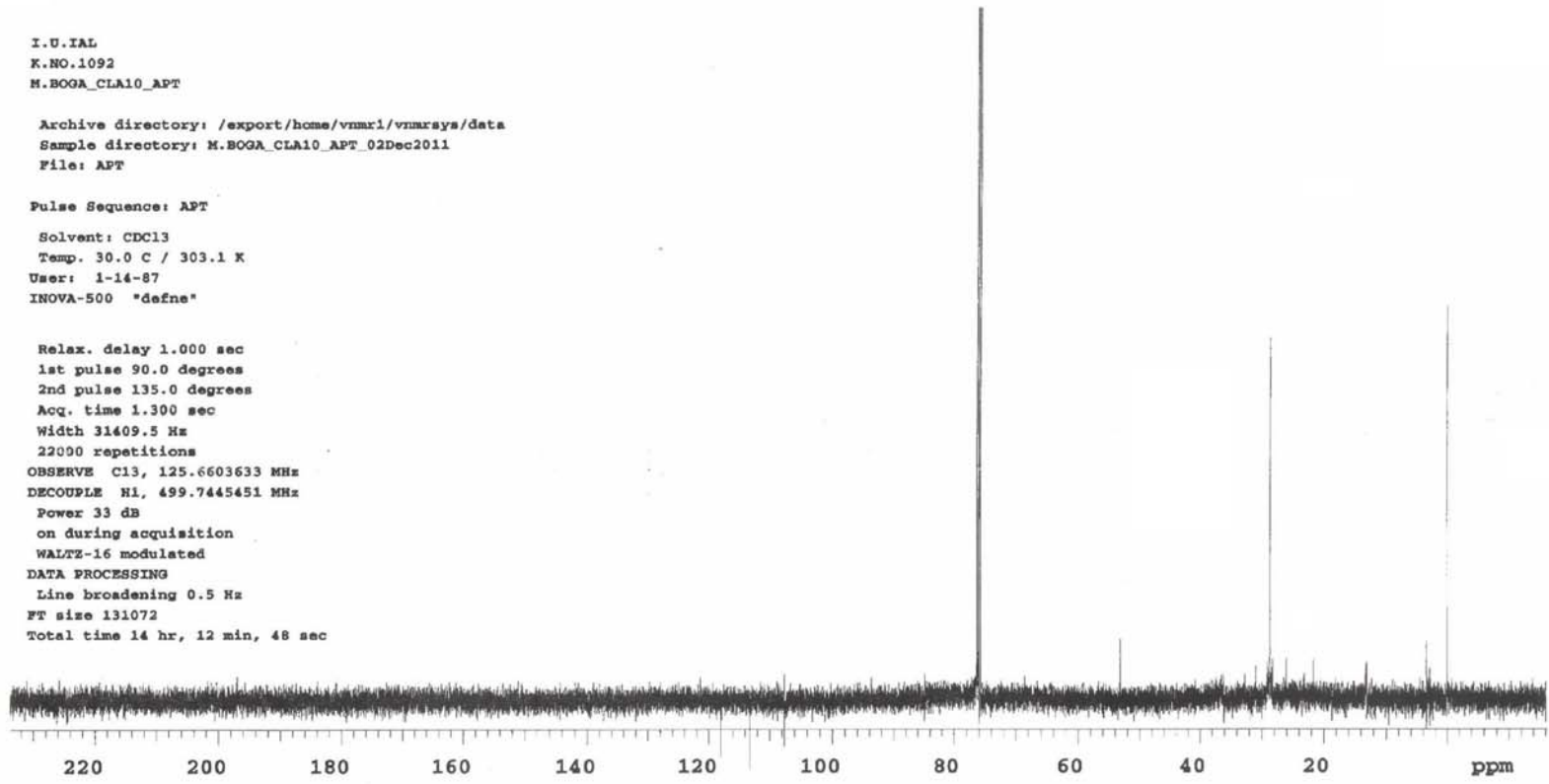
Şekil 4-20: *cis*-Epoksikoniferil alkol ' ün UV spektrumu



Şekil 4-21: *cis*-Epoksikoniferil alkol ' ün IR Spektrumu



Şekil 4-22: *cis*-Epoksikoniferil alkol' ün ¹H-NMR Spektrumu (CDCl₃)



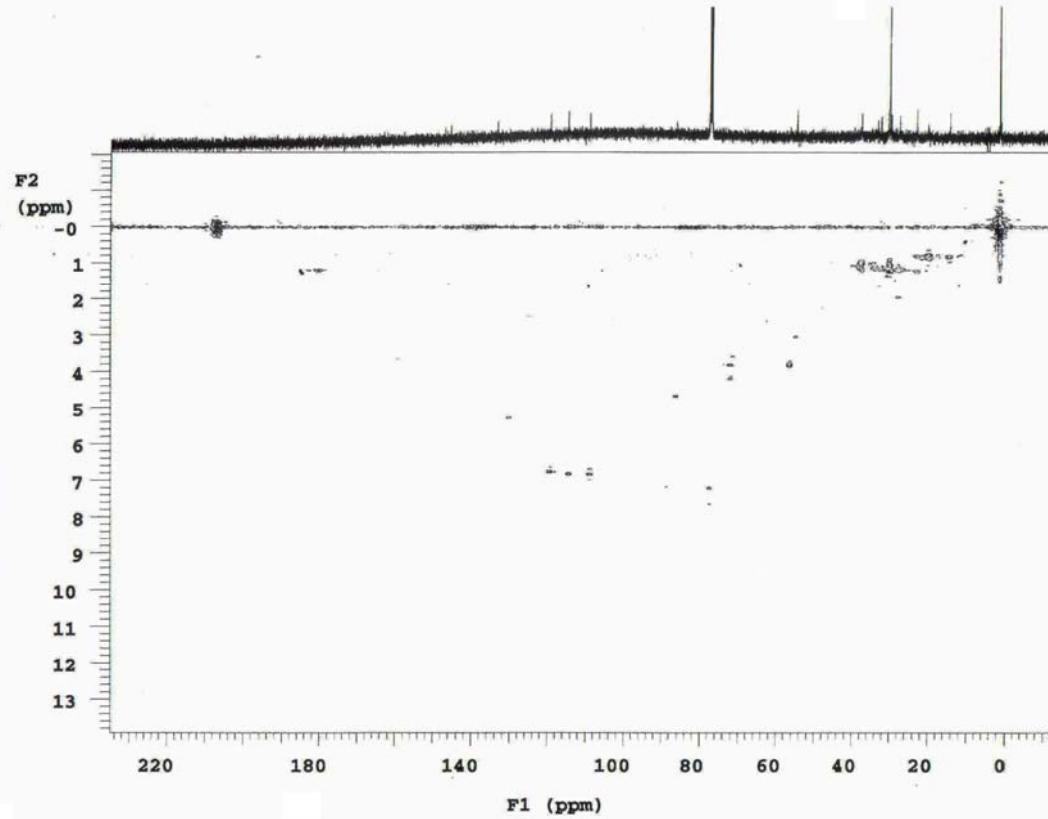
Şekil 4-23: *cis*-Epoksikoniferil alkol' ün ¹³C-NMR (APT) Spektrumu (CDCl₃)

I.U.IAL
K.NO.1092
M.BOGA_CLA10_2D

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory: M.BOGA_CLA10_2D_02Dec2011
File: gHMQC

Pulse Sequence: gHMQC
Solvent: CDCl3
Temp. 30.0 C / 303.1 K
User: 1-14-87
INOVA-500 "defne"

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.128 sec
Width 7996.0 Hz
2D Width 31409.5 Hz
128 repetitions
2 x 128 increments
OBSERVE H1, 499.7420853 MHz
DECOUPLE C13, 125.6740302 MHz
Power 44 dB
on during acquisition
off during delay
W40_ID_6435 modulated
DATA PROCESSING
Gauss apodization 0.059 sec
F1 DATA PROCESSING
Gauss apodization 0.011 sec
FT size 2048 x 2048
Total time 10 hr, 45 min, 44 sec



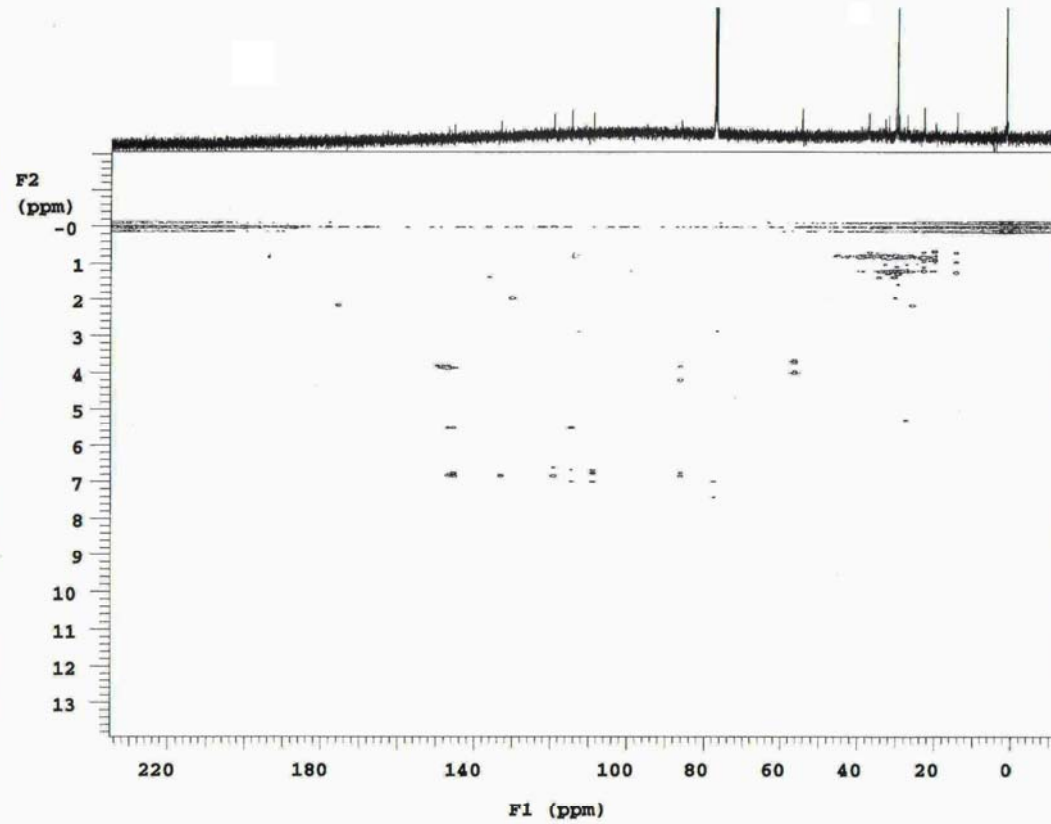
Şekil 4-24: *cis*-Epoksikoniferil alkol' ün HMQC Spektrumu (CDCl₃)

I.U.IAL
K.NO.1092
M.BOGA_CLA10_2D

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory: M.BOGA_CLA10_2D_02Dec2011
File: gHMBC

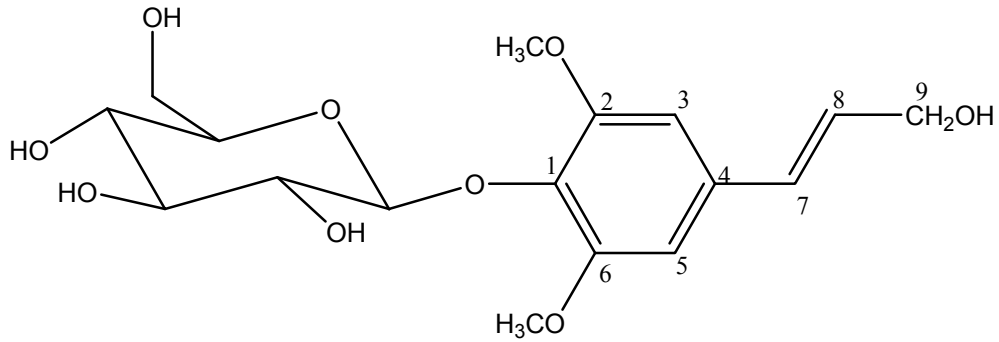
Pulse Sequence: gHMBC
Solvent: CDCl₃
Temp. 30.0 C / 303.1 K
User: 1-14-87
INOVA-500 "defne"

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.128 sec
Width 7996.0 Hz
2D Width 31409.5 Hz
128 repetitions
300 increments
OBSERVE H1, 499.7420853 MHz
DATA PROCESSING
Sine bell 0.064 sec
F1 DATA PROCESSING
Sine bell 0.007 sec
FT size 2048 x 2048
Total time 12 hr, 57 min, 58 sec



Şekil 4-25: *cis*-Epoksikoniferil alkol' ün HMBC Spektrumu (CDCl₃)

4.4.2.3. CLA 3=Syringin



Şekil 4-26

Beyaz renkli olan CLA 3 bileşiği 2,6 mg olarak elde edildi. Erime noktası 186-188°C olduğu belirlendi.

UV spektrumunda (MeOH) 228 ve 267 nm'de absorpsiyon bandları görüldü (Şekil 4-27). IR spektrumunda (MeOH) 3335 (O-H), 2923-2853 (C-H), 1641-1517 (C=C) cm^{-1} 'de bantlar izlendi (Şekil 4-28).

ESI-MS spektrumunda (Şekil 4-33) m/z 395 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ piki $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_9$ yapısını belirtti.

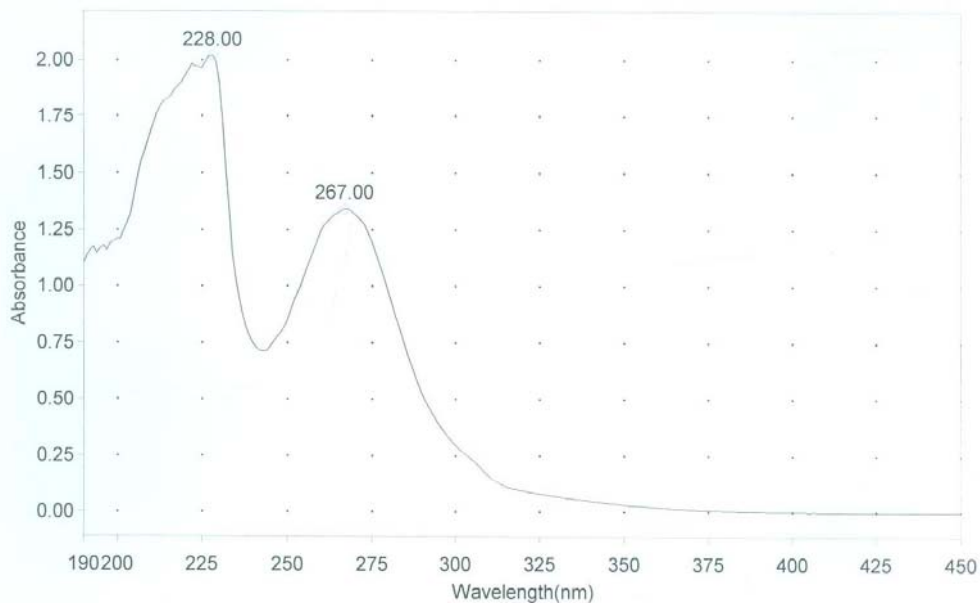
CLA 3 bileşiğinin spektral değerleri literatürde verilen değerler ile uyumlu olduğu belirlendi ve yapısı syringin olarak tespit edildi (Şekil 4-26) (Kim ve ark. 2007).

Tablo 4-6: CLA 3'ün ¹³C-NMR, HSQC ve HMBC Değerleri (DMSO, *J* değerleri parantez içinde verildi)

Pozisyon	¹³ C-NMR	HMQC	HMBC
1	-	-	-
2	152,71	-	2-OCH ₃
3	104,54	6,71 s	H-7
4	132,60	-	H-8
5	104,54	6,71 s	H-7
6	152,71	-	6-OCH ₃
7	128,44	6,45 d (16,0 Hz)	H-3, H-5
8	130,17	6,32 td (16,0; 7,7 Hz)	H-7
9	61,45	4,09 t (4,5; 2,2 Hz)	H-7, H-8
1'	102,61	α 4,89 d (7,5 Hz)	-
2'	74,19	3,0-3,5 m	-
3'	77,20	3,0-3,5 m	-
4'	69,97	3,0-3,5 m	-
5'	76,56	3,0-3,5 m	-
6'	60,92	α 3,57 d (10,5 Hz) β 3,43 dd (11,5; 5,5 Hz)	-
OCH ₃	56,38	3,76 s	
OCH ₃	56,38	3,76 s	

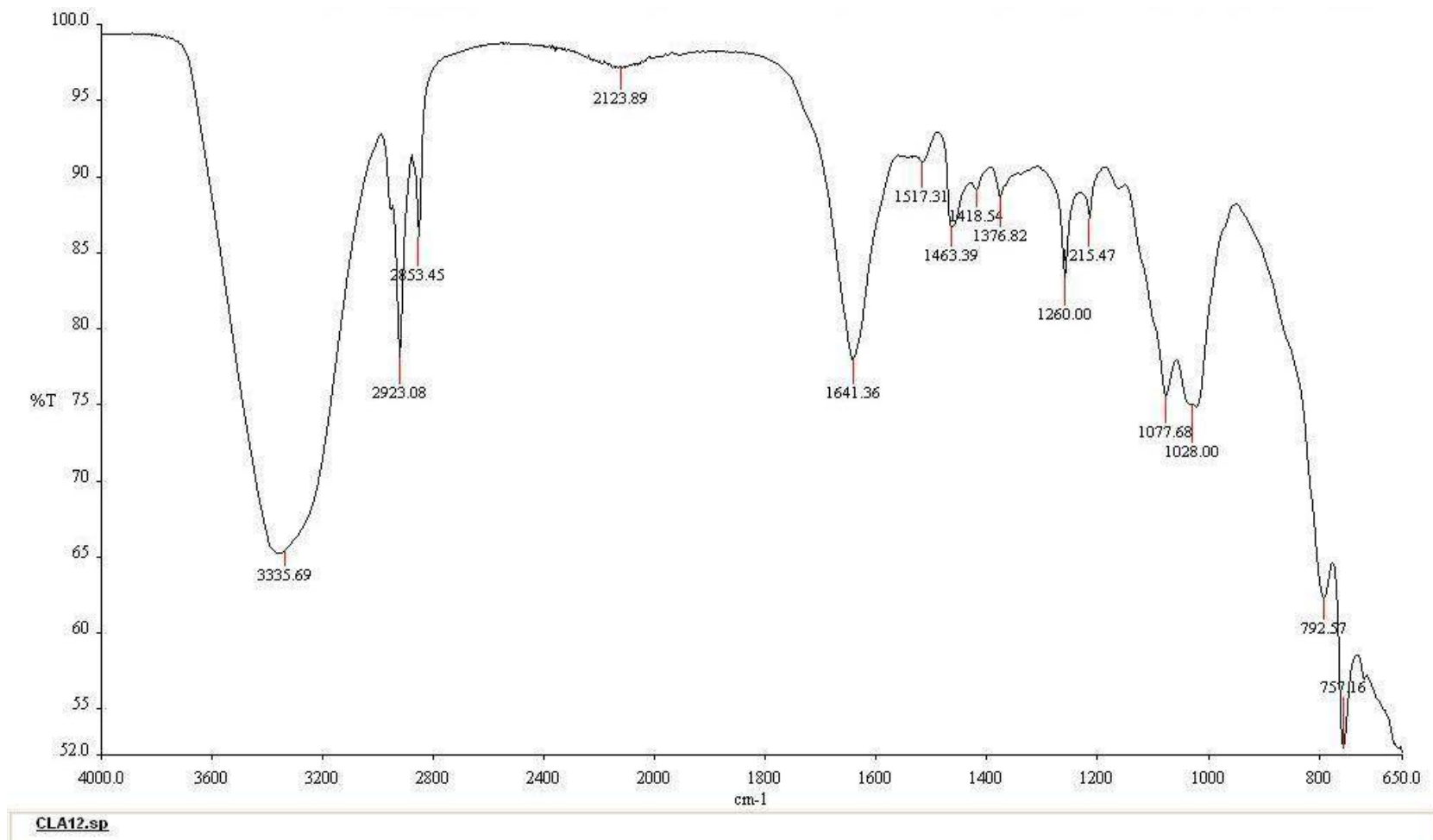
THERMO ELECTRON ~ VISIONpro SOFTWARE V4.10

Operator Name ARSHAD ALAM Date of Report 6/23/2012
Department Analytical Laboratory TWC-001 Time of Report 10:01:34AM
Organization ICCBS, Karachi University
Information UV / UV - Visible Scanning

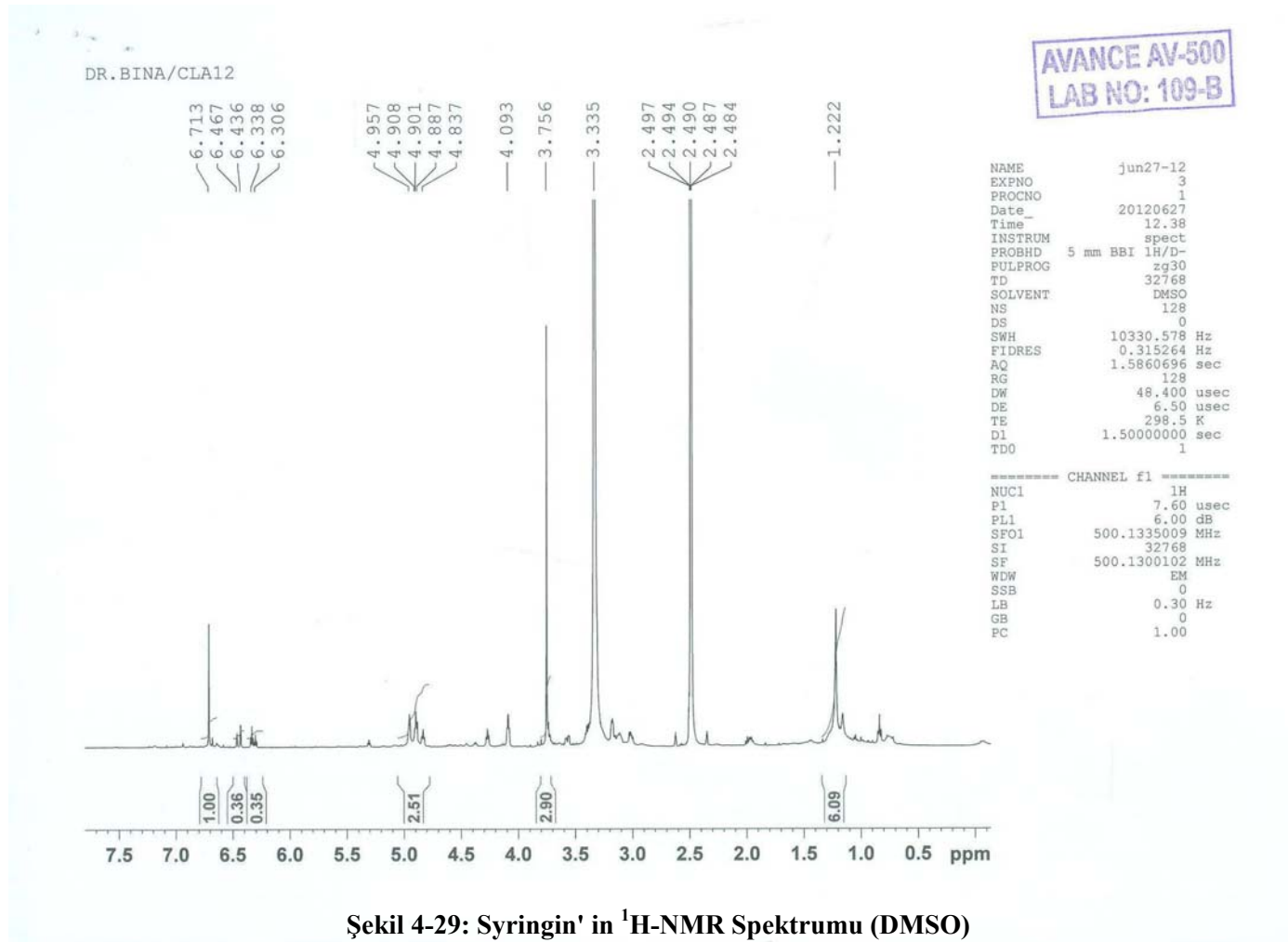
Scan Graph**Results Table - scan013.sre,CLA-12,Cycle01**

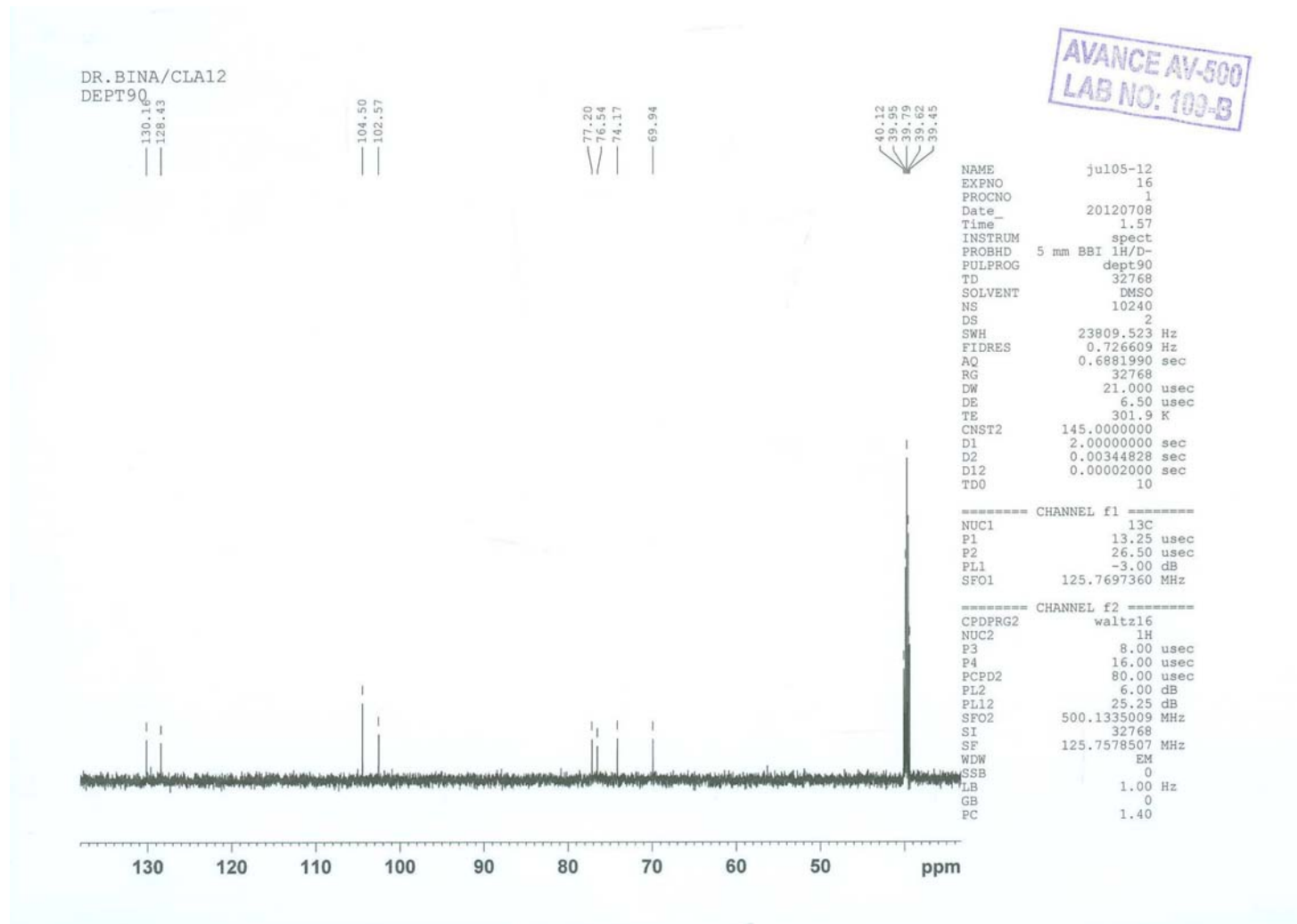
nm	A	Peak Pick Method
228.00	2.019	Find 8 Peaks Above -3.0000 A
267.00	1.344	Start Wavelength 190.00 nm
		Stop Wavelength 450.00 nm
		Sort By Wavelength
Sensitivity	Auto	

Şekil 4-27: Syringin' in UV Spektrumu

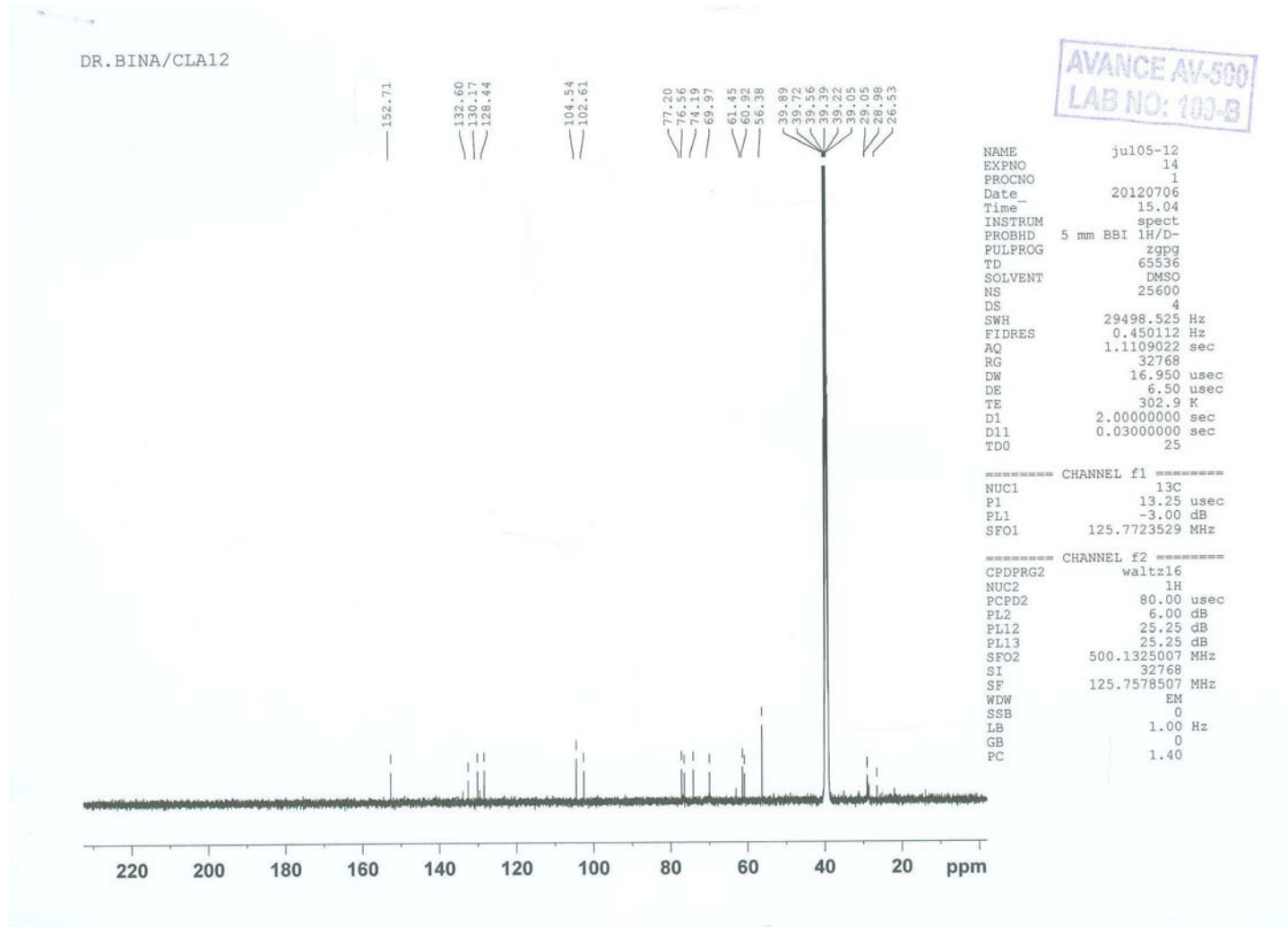


Şekil 4-28: Syringin' in IR Spektrumu

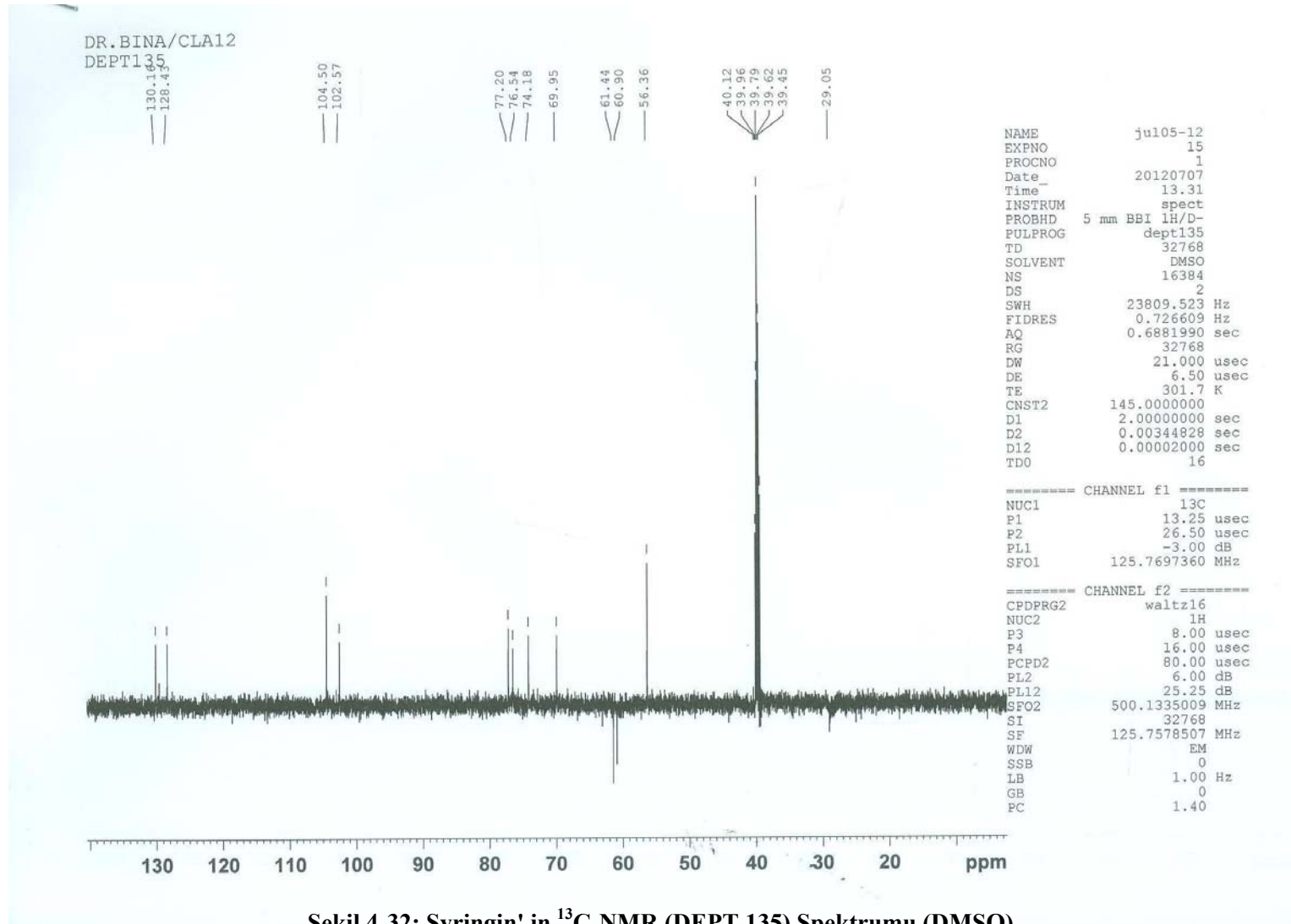




Şekil 4-30: Syringin' in ^{13}C -NMR (BB) Spektrumu (DMSO)



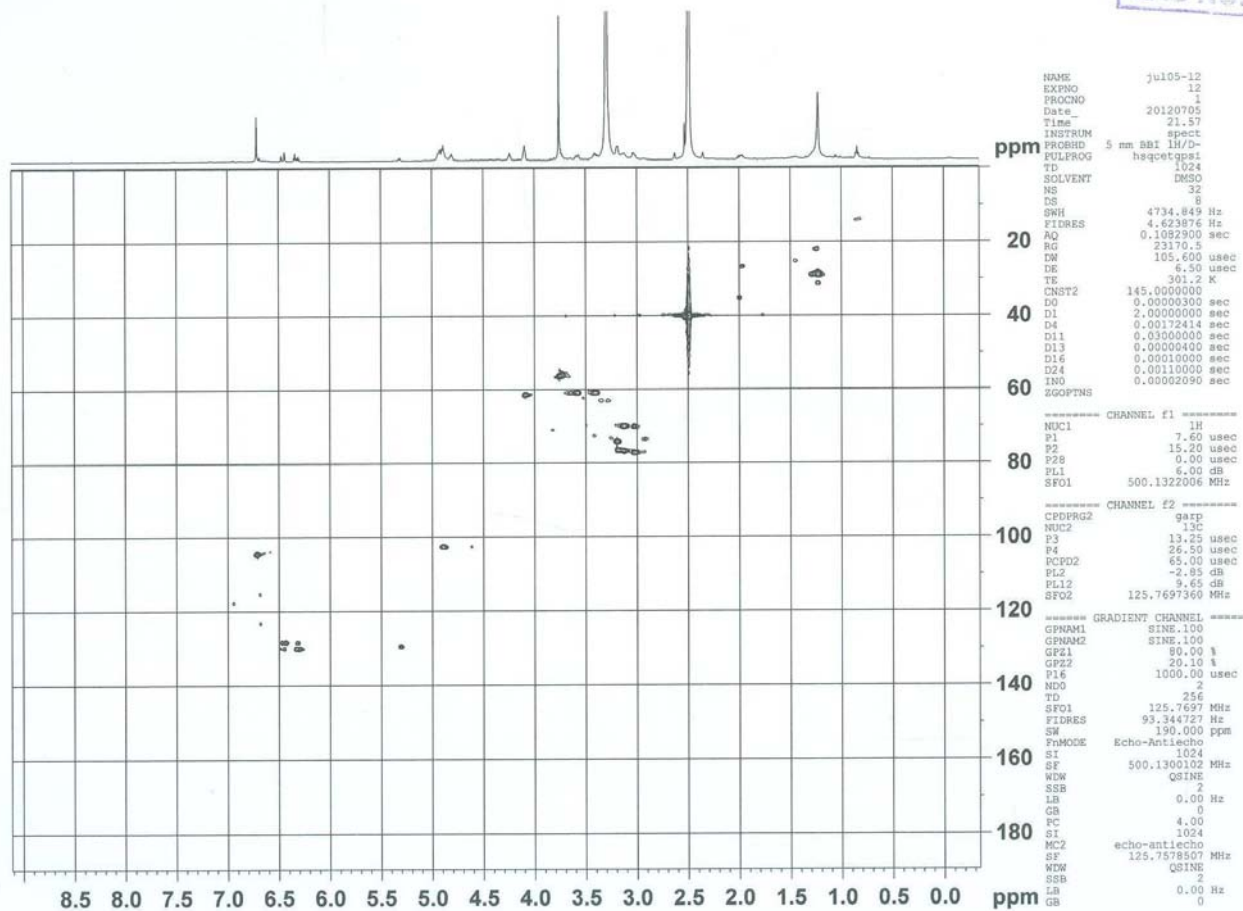
Şekil 4-31: Syringin' in ^{13}C -NMR (DEPT 90) Spektrumu (DMSO)



Şekil 4-32: Syringin' in ^{13}C -NMR (DEPT 135) Spektrumu (DMSO)

DR. BINA/CLA12

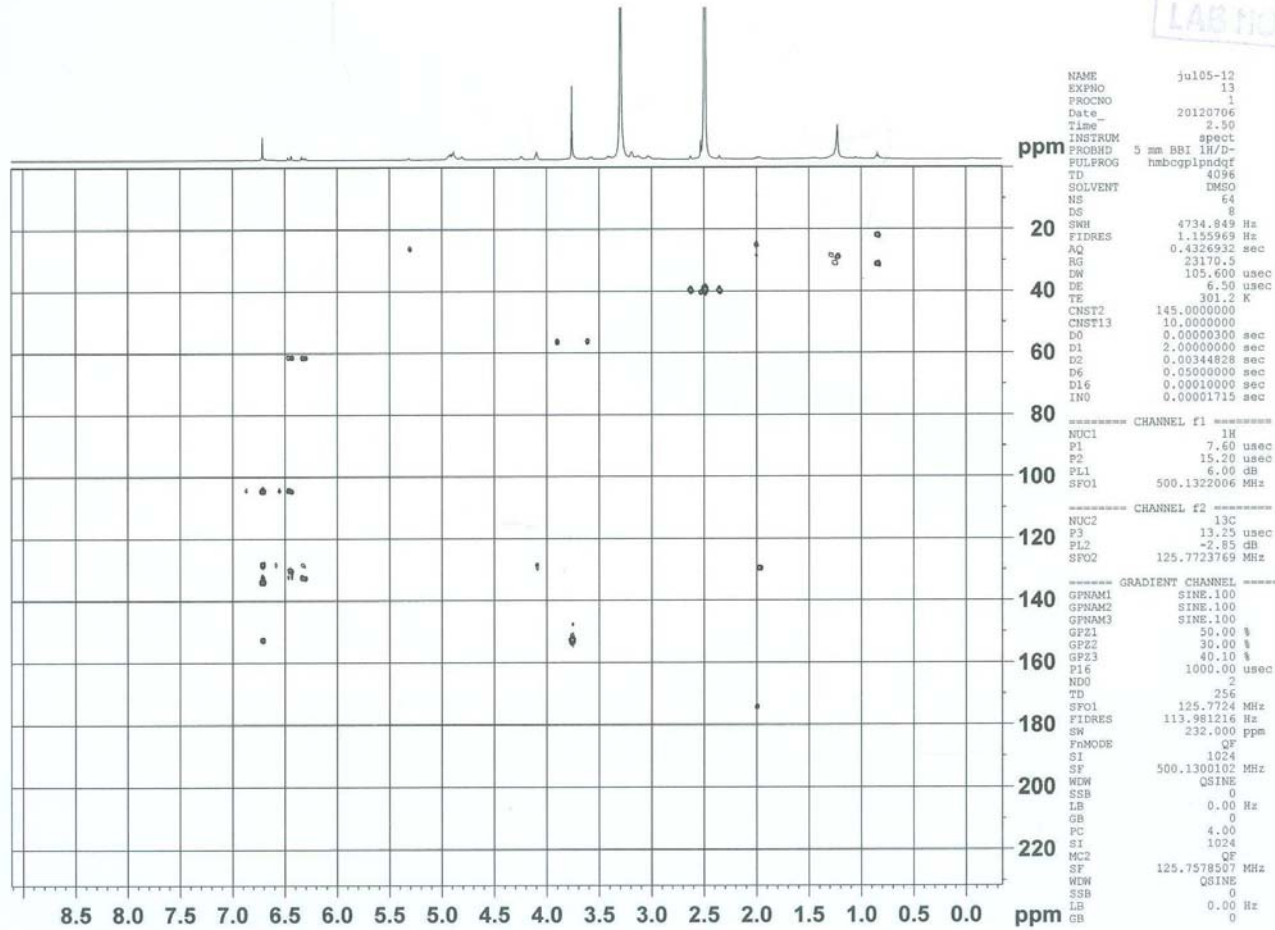
AVANCE AV-500
LAB NO: 109-B



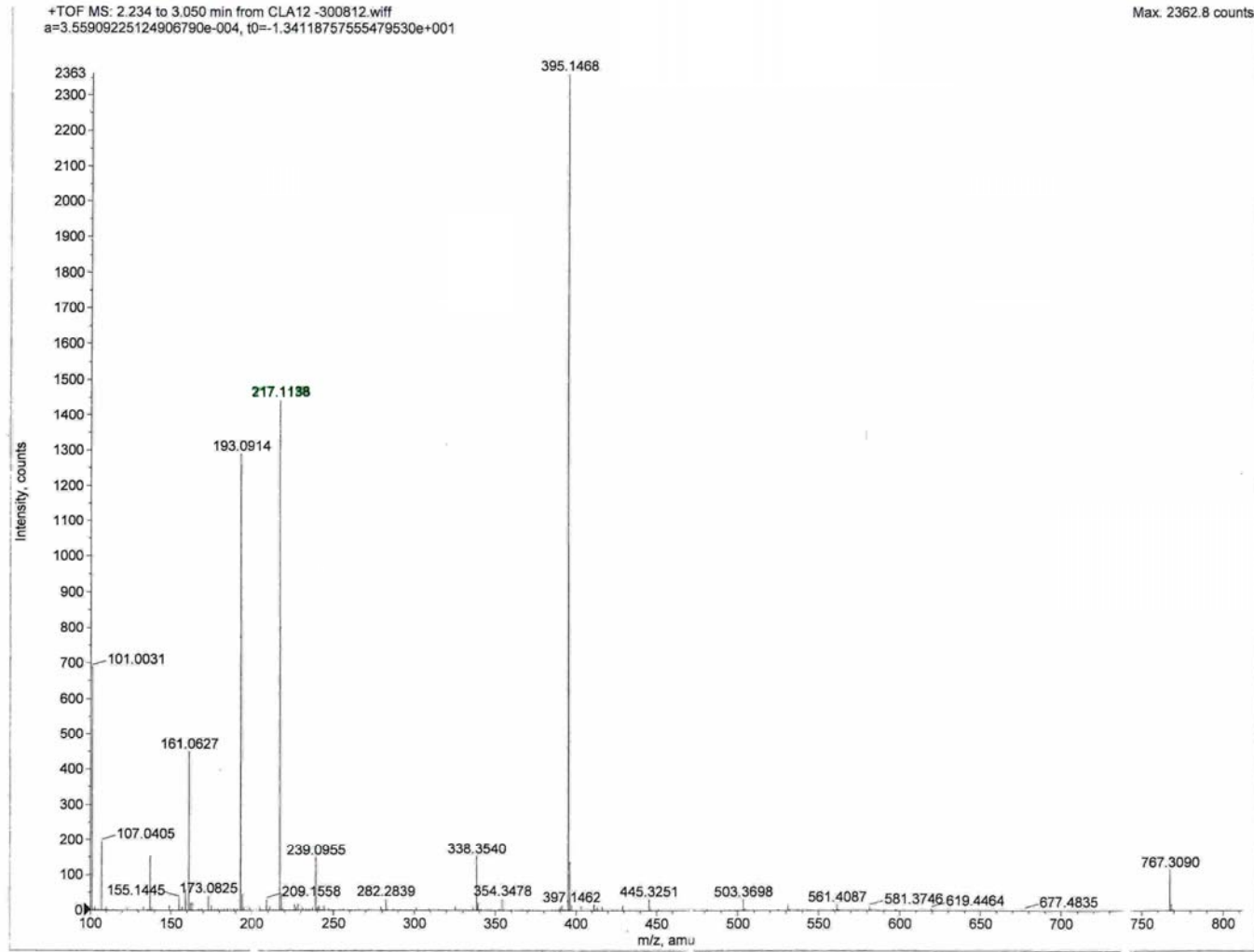
Şekil 4-33: Syringin' in HSQC Spektrumu (DMSO)

DR.BINA/CLA12

AVANCE AV-500
LAB NO: 102-B



Şekil 4-34: Syringin' in HMBC Spektrumu (DMSO)



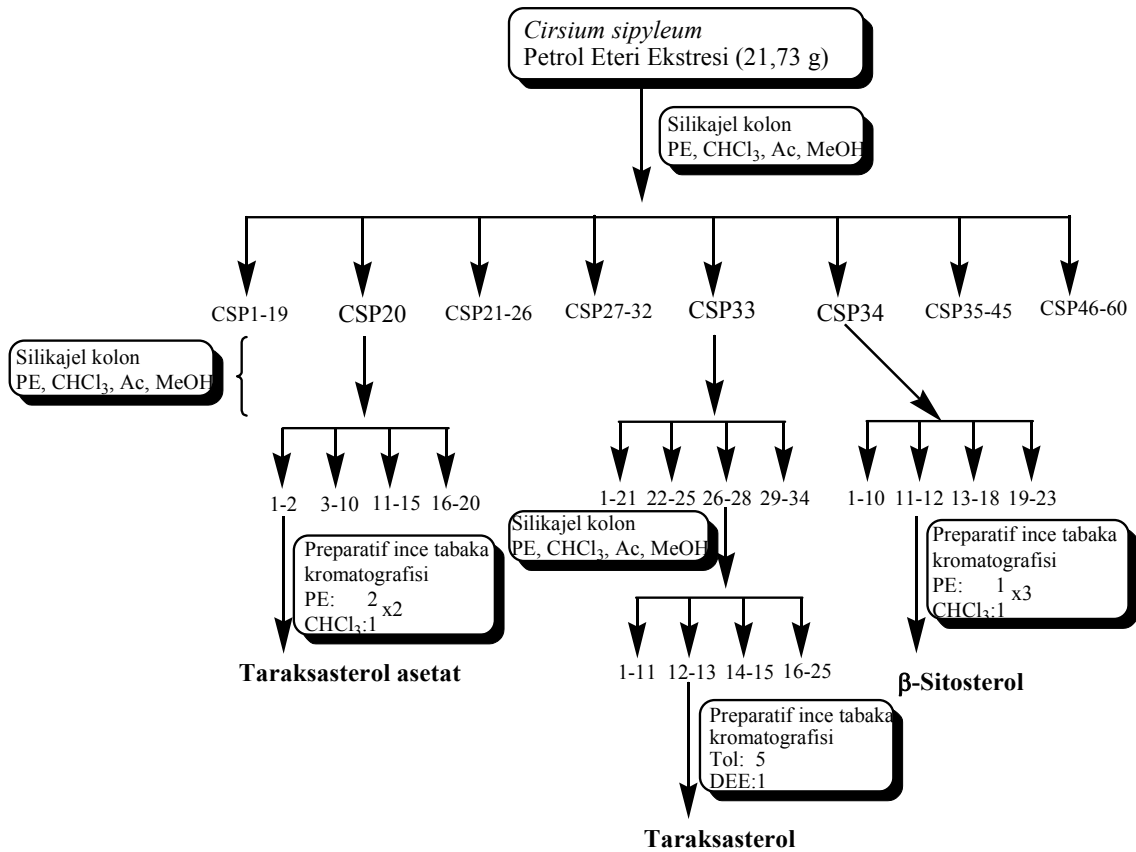
Şekil 4-35: Syringin' in ESI-MS Spektrumu

4.4.3. *Cirsium leucopsis* Bitkisinin Metanol Ekstresinin (CLM) Fraksiyonlandırılması

CLM silika jel içeren sütunda fraksiyonlandırıldı. Elüsyona %100 petrol eteri ile başlandı ve elüsyona %5 çözücü polaritesi artırılarak sırasıyla kloroform, aseton ve metanol ile devam edildi, %100 metanole ulaşılnca elüsyon tamamlandı. İTK ile benzer fraksiyonlar birleştirildi. Toplam 9 fraksiyon elde edildi. Bu fraksiyonlardan silika jel sütun ve silika jel preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemleri kullanılarak syringin ve apigenin bileşikleri elde edildi. Saf bileşiklerin yapı tayinleri spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatıldı.

4.4.4. *Cirsium sipyleum* Bitkisinin Petrol Eteri Ekstresinin (CSP) Fraksiyonlandırılması

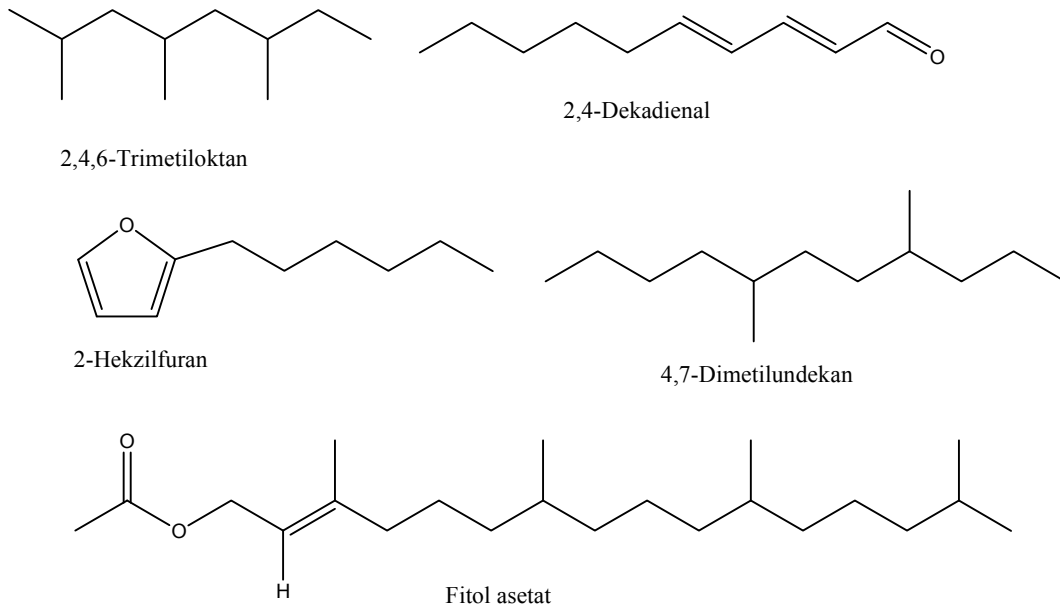
CSP silika jel içeren sütunda fraksiyonlandırıldı. Elüsyona %100 petrol eteri ile başlandı ve elüsyona %5 çözücü polaritesi artırılarak sırasıyla kloroform, aseton ve metanol ile devam edildi, %100 metanole ulaşıncaya elüsyon tamamlandı. İTK ile benzer fraksiyonlar birleştirildi. Toplam 8 fraksiyon elde edildi. Bu fraksiyonlara sütun ve preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemleri uygulanarak CSP1 (taraksasterol asetat), CSP2 (taraksasterol) ve CSP3 (β -sitosterol) elde edildi. Saf maddelerin yapı tayini spektroskopik yöntemler kullanılarak yapıldı. Ayrıca CSP' nin silika jel sütunda %100 petrol eteri ile elüsyonundan elde edilen apolar fraksiyonlar birleştirilerek GC/MS analizi ile bileşimi tayin edildi. GC/MS analizi sonucunda apolar fraksiyonda bulunan 22 bileşenin yapısı belirlendi (Tablo 4-7) (Şekil 4-36) .



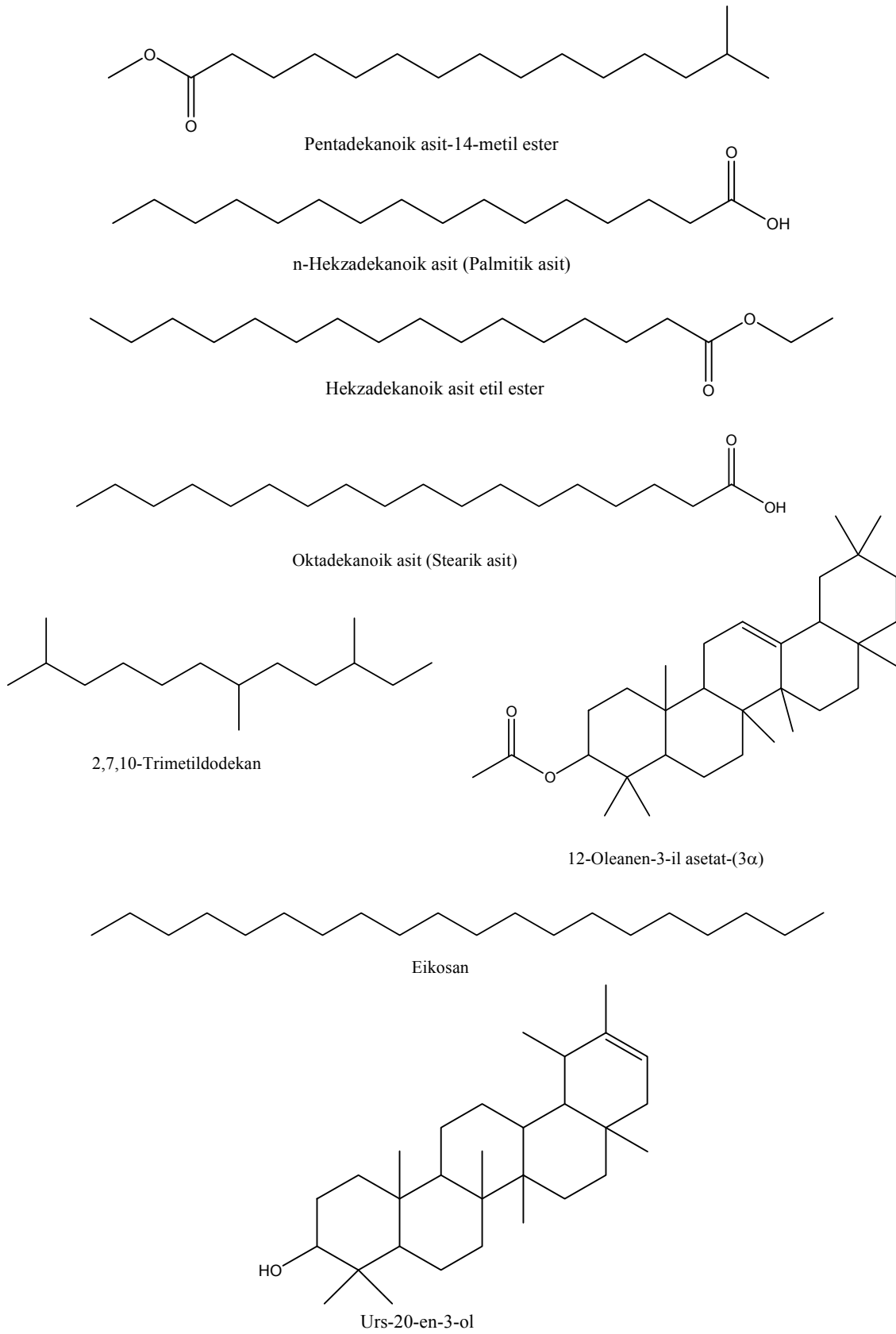
Şekil 4-36: *Cirsium sipyleum* Bitkisinin Petrol Eteri Ekstresinin İzolasyon Şeması

Tablo 4-7: CSP' nin Apolar Fraksiyonlarının GC-MS Analiz Sonucu

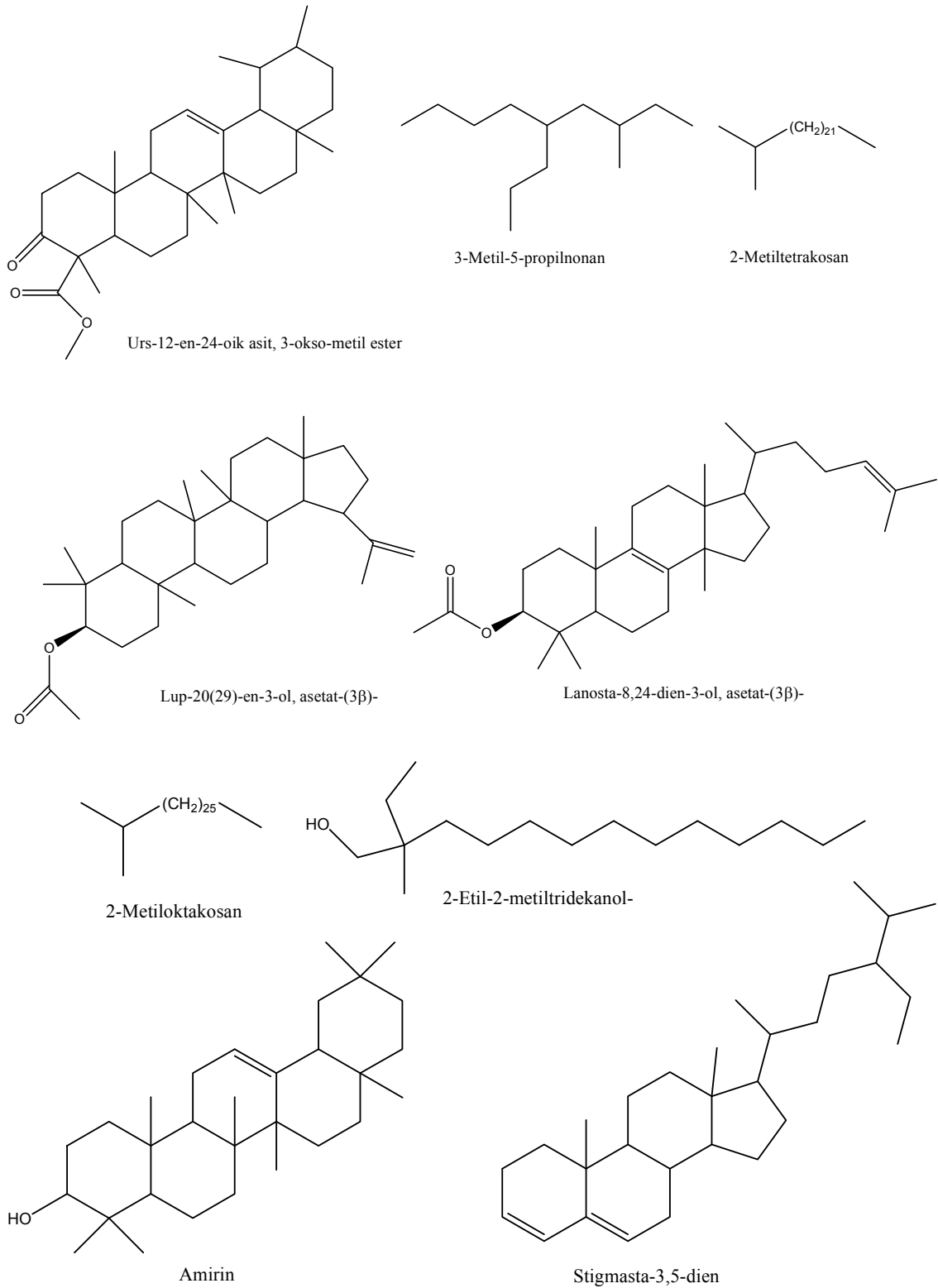
Tarama Numarası	Bileşik Adı	M ⁺	Gözlenen Pik	Temel Pik	Alkonma Zamanı
313	2,4-Dekadienal	152	152	81	14.95
330	2-Hekzilfuran	152	152	81	15.60
385	2,4,6-Trimetiloktan	156	98	57	17.72
513	4,7-Dimetilundekan	184		57	22.62
650	Fitol asetat	338		68	27.87
695	Pentadekanoik asit-14-metil ester	270	270	74	29.58
720	n-Hekzadekanoik asit	256	256	73	30.55
730	Hekzadekanoik asit etil ester	284	284	88	30.93
816	Oktadekanoik asit	284	284	73	34.22
873	2,7,10-Trimetildodekan	212		57	36.40
896	12-Oleanen-3-il asetat-(3 α)-	468	468	218	37.28
958	Eikosan	282		57	39.67
1039	Urs-12-en-24-oik asit, 3-okso-metil ester	468	468	218	42.45
1043	3-Metil-5-propilnonan	184		57	42.92
1053	Lup-20(29)-en-3-ol, asetat-(3 β)-	468	189	43	43.30
1068	Lanosta-8,24-dien-3-ol, asetat-(3 β)-	468	468	44	43.87
1094	2-Metiloktakosan	408		57	44.87
1146	A-Neoolean-3(5), 12-dien	408	408	365	46.87
1164	2-Etil-2-metiltridekanol	242		57	47.55
1261	Amirin	426		218	51.27
1328	Stigmastan-3,5-dien	396	396	396	53.83
1387	Urs-20-en-3-ol (3 β , 18 α , 19 α)	426	408	189	56.10



Şekil 4-37: CSP' nin Kimyasal Bileşimi

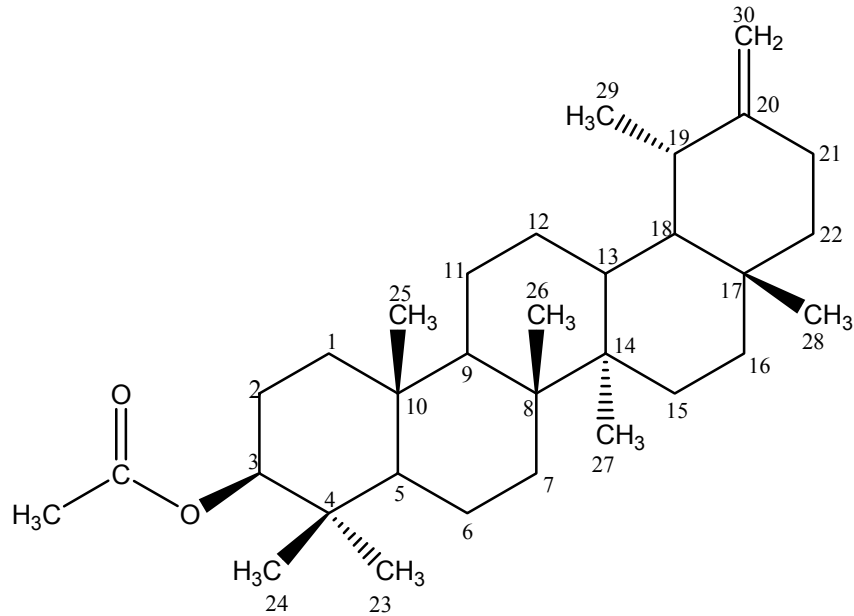


Şekil 4-38: CSP' nin Kimyasal Bileşimi (Devamı)



Şekil 4-39: CSP' nin Kimyasal Bileşimi (Devamı)

4.4.4.1. CSP 1= Taraksasterol asetat



Şekil 4-40

Beyaz renkli olan CSP 1 bileşiği (40,6 mg) amorf halde elde edildi.

UV spektrumunda (MeOH) 240 ve 208 nm’de bantlar görüldü (Şekil 4-41), IR spektrumunda (CHCl₃) 2933-2855 (C-H), 1727 (C=O), 1640 (C=C) cm⁻¹, de bantlar izlendi (Şekil 4-42)

EI-MS spektrumunda (Şekil 4-49) m/z 468 [M]⁺ piki C₃₂H₅₂O₂ yapısını belirtti. m/z 453 [M-CH₃]⁺ metil grubunun, m/z 425 [M-(CH₃-C=O)]⁺ grubunun, m/z 409 [M-(CH₃-COO)]⁺ grubunun ayrıldığını gösterdi.

UV, IR, ¹H- ve ¹³C-NMR (Tablo 4-8) ve kütle değerleri literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında bileşiğin taraksasterol asetat olduğu belirlendi (Khalilov ve ark. 2003).

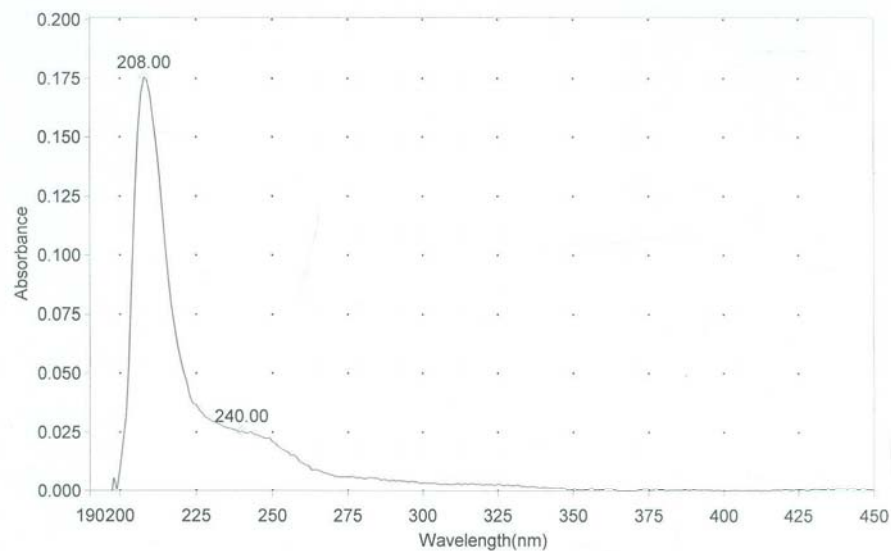
Tablo 4-8: CSP 1' in ^{13}C -NMR ve ^1H -NMR Değerleri (CDCl_3 , J değerleri parantez içinde verildi)

Pozisyon	^{13}C -NMR	^1H -NMR
1	38,04	
2	23,94	
3	81,22	4,42 m
4	38,04	
5	55,64	
6	18,43	
7	33,97	
8	41,17	
9	50,66	
10	37,30	
11	21,71	
12	26,89	
13	39,41	
14	42,28	
15	27,68	
16	38,69	
17	34,63	
18	48,92	
19	39,47	2,02 q (6,8 Hz)
20	154,87	
21	26,39	2,41 m 2,12 m
22	38,53	
23	28,34	
24	16,72	
25	16,12	
26	16,55	
27	14,95	
28	19,41	
29	25,47	
30	107,36	4,53 d (1,95 Hz) 4,55 d (1,46 Hz)
OOCCH_3	171,20	
OOCCH_3	21,53	1,95 s

THERMO ELECTRON ~ VISIONpro SOFTWARE V4.10

Operator Name ARSHAD ALAM Date of Report 6/23/2012
Department Analytical Laboratory TWC-001 Time of Report 2:59:33PM
Organization ICCBS, Karachi University
Information UV / UV - Visible Scanning

Scan Graph

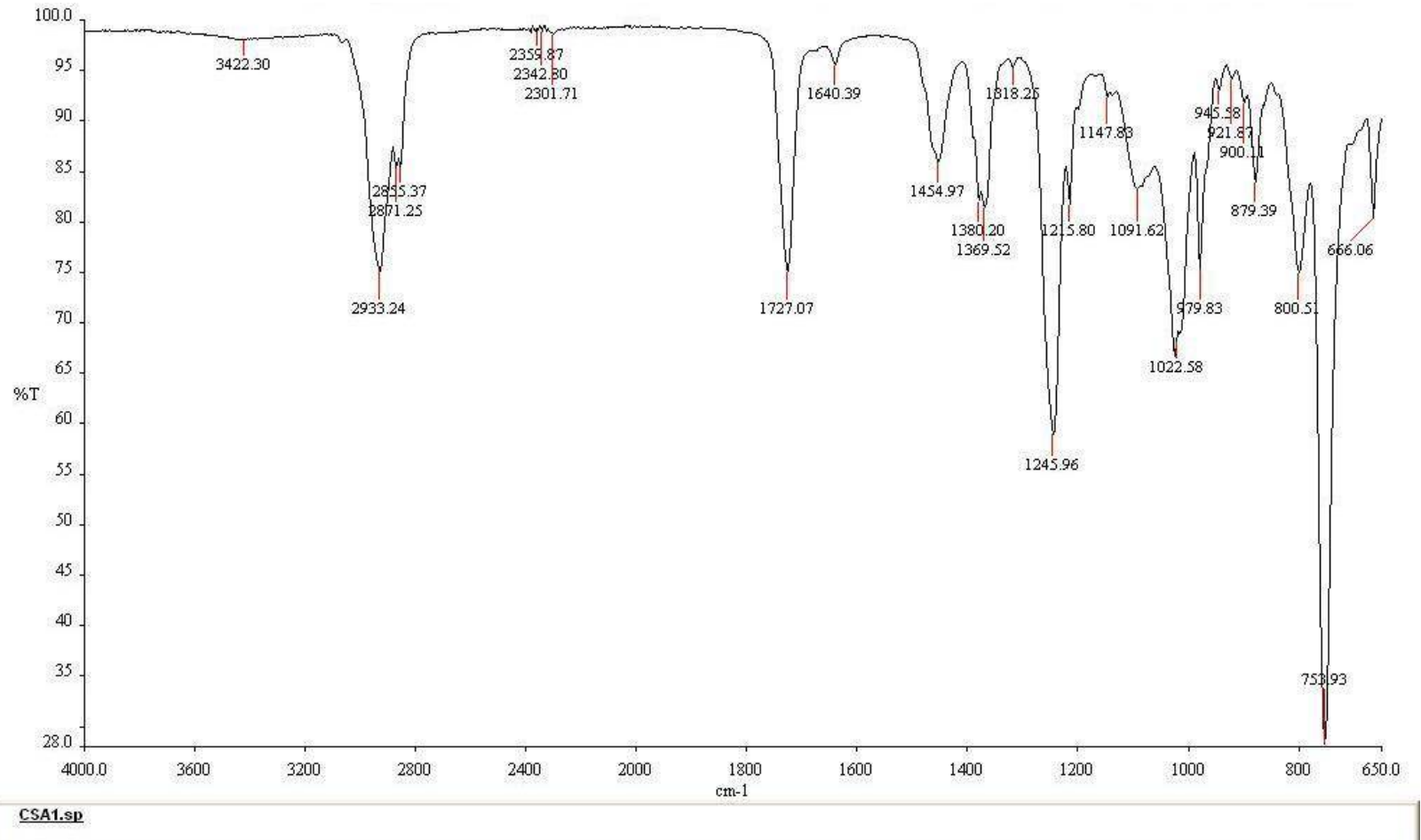


Results Table - scan014.sre,CSA-1,Cycle01

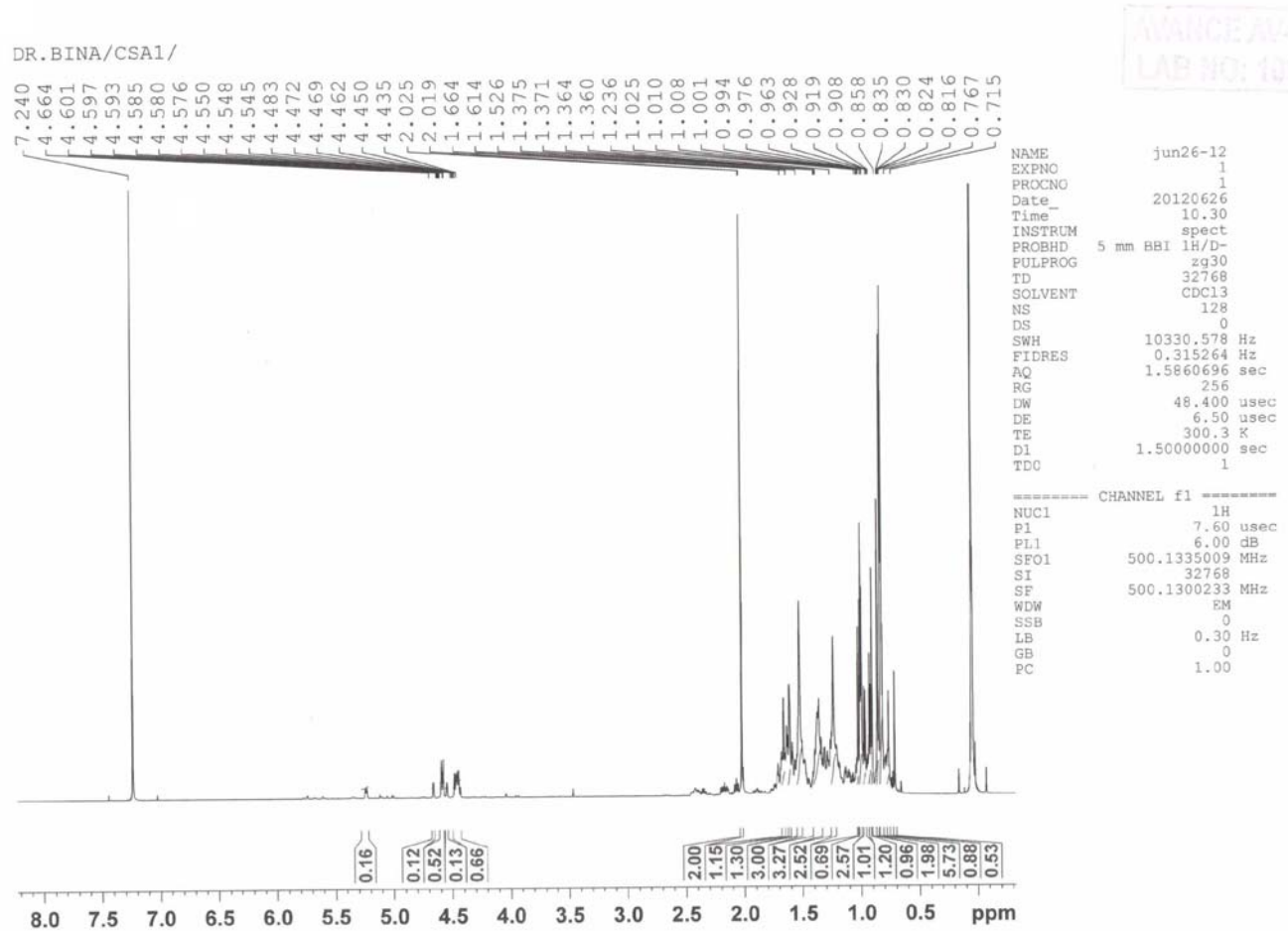
nm	A	Peak Pick Method
208.00	0.176	Find 2 Peaks Above 0.0000 A
240.00	0.025	Start Wavelength 190.00 nm
		Stop Wavelength 450.00 nm
		Sort By Wavelength

Sensitivity Very High

Şekil 4-41: Taraksasterol asetat' ın UV Spektrumu

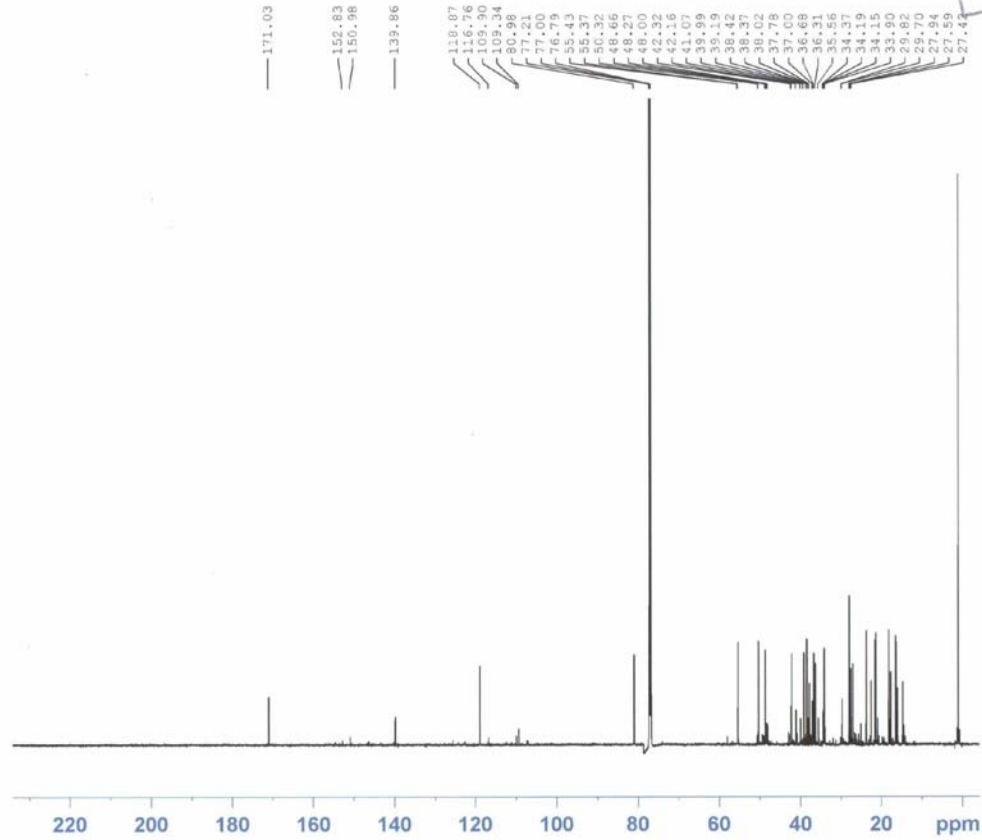


Şekil 4-42: Taraksasterol asetat' ın IR Spektrumu



Şekil 4-43: Taraksasterol asetat' ın ¹H-NMR Spektrumu (CDCl₃)

DR. BINA/CSAI/CDCL3
/BB



AVANCE AV-600
CPDPRG2
LAB NO: 108

NAME July-11-12
EXPNO 12
PROCNO 1
Date_ 20120712
Time 4.22
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm CPTCI 1H-
PULPROG zgpg
TD 65536
SOLVENT CDCl3
NS 8007
DS 2
SWH 35971.223 Hz
FIDRES 0.548877 Hz
AQ 0.9110143 sec
RG 32768
DW 13.900 usec
DE 6.50 usec
TE 300.0 K
D1 1.50000000 sec
D11 0.03000000 sec
TDO 10

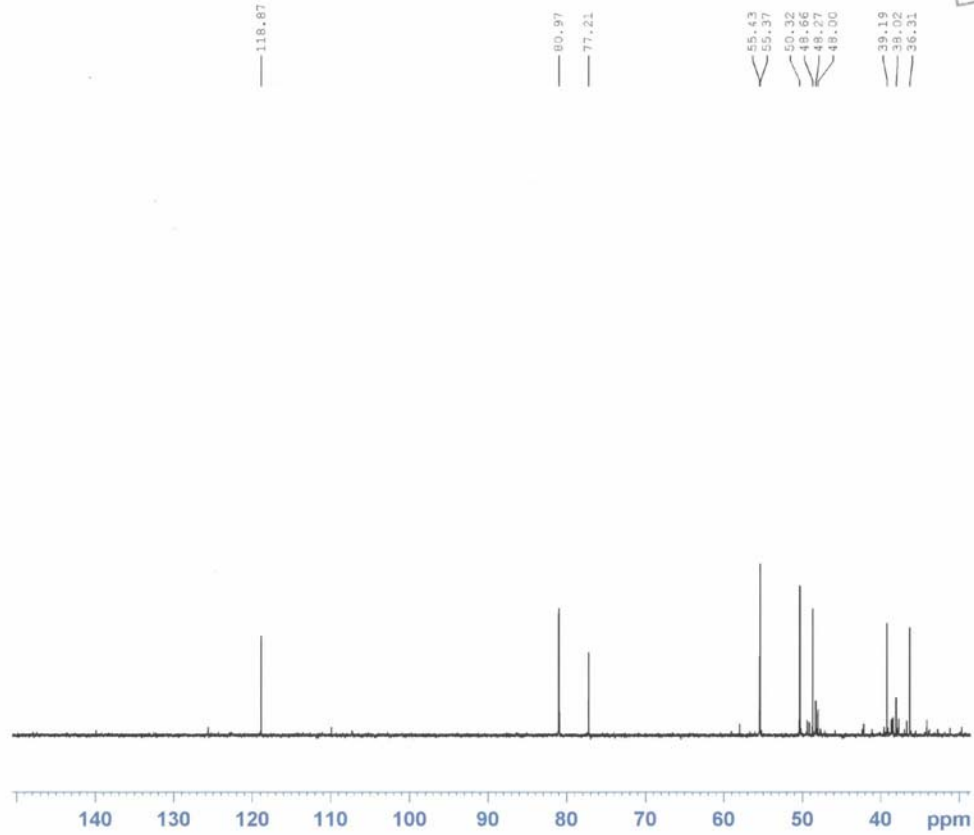
----- CHANNEL f1 -----
NUC1 13C
P1 16.00 usec
PL1 2.00 dB
PL1W 66.40702820 W
SFO1 150.9453107 MHz

----- CHANNEL f2 -----
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 65.00 usec
PL2 3.30 dB
PL12 22.06 dB
PL13 27.00 dB
PL2W 9.16420078 W
PL12W 0.12192553 W
PL13W 0.03909260 W
SFO2 600.2336014 MHz
SI 32768
SF 150.9279562 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.10

Şekil 4-44: Taraxasterol asetat' in ¹³C-NMR (BB) Spektrumu (CDCl₃)

DR. BINA/CSAI/CDCL3
/DEPT90

AVANIS 400-600
C-13 DEPT
LAB NO: 108



NAME July-11-12
EXPNO 14
PROCNO 1
Date_ 20120712
Time_ 12.12
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm CPTCI 1H-
PULPROG deptsp90
TD 65536
SOLVENT CDCl3
NS 4096
DS 2
SWH 30303.031 Hz
FIDRES 0.462388 Hz
AQ 1.0814195 sec
RG 32768
DW 16.500 usec
DE 6.50 usec
TE 300.0 K
CNST2 145.0000000
D1 1.50000000 sec
D2 0.00344828 sec
D12 0.00002000 sec
TD0 4

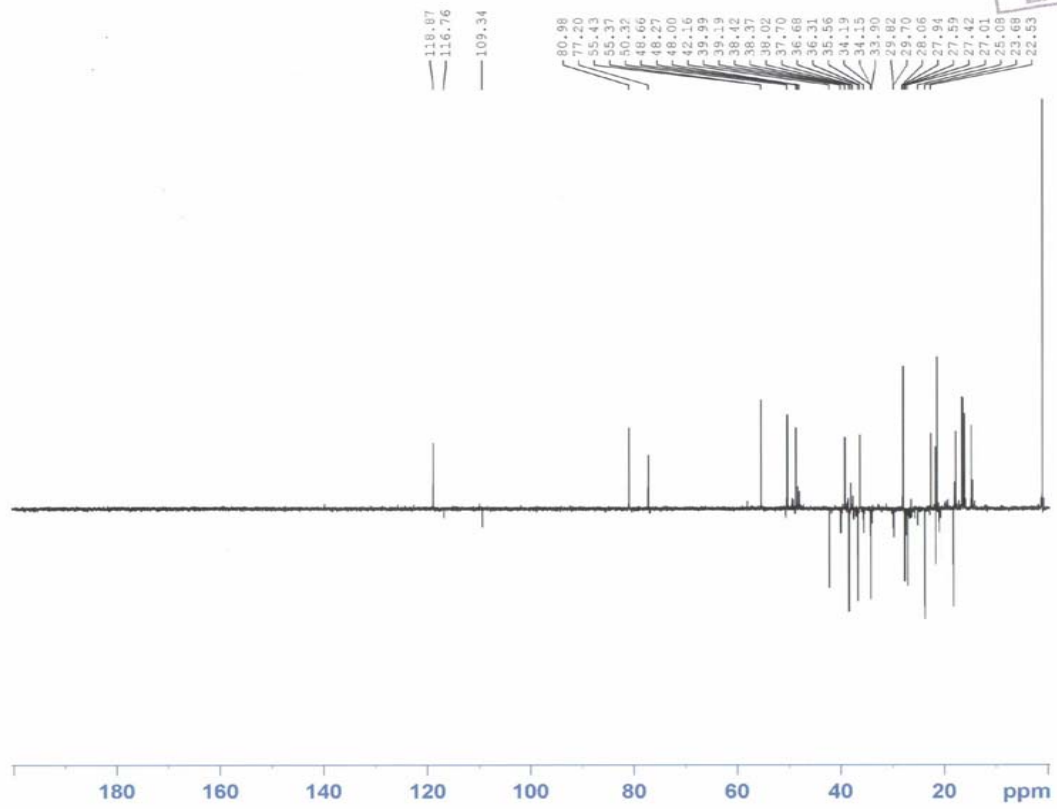
----- CHANNEL f1 -----
NUC1 13C
P1 16.00 usec
P12 2000.00 usec
PLO 120.00 dB
PL1 2.00 dB
PL1W 0.00000000 W
PL1W 66.40702820 W
SFO1 150.9430463 MHz
SP2 1.99 dB
SPNAM2 Crp60comp.4
SFOAL2 0.500
SFOFFS2 0.00 Hz

----- CHANNEL f2 -----
CFDPRG2 waltz16
NUC2 1H
P3 7.50 usec
P4 15.00 usec
PCPD2 65.00 usec
PL2 3.30 dB
PL12 22.06 dB
PL2W 9.16420078 W
PL12W 0.12192553 W
SFO2 600.2324009 MHz
SI 32768
SF 150.9279562 MHz
NDW EN
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40

Şekil 4-45: Taraksasterol asetat' ın ¹³C-NMR (DEPT 90) Spektrumu (CDCl₃)

DR. BINA/CSAI/CDCL3
/DEPT135

AVANCE AV-600
CPDPRG2
LAB NO: 108



NAME July-11-12
EXPNO 13
PROCNO 1
Date 20120712
Time 9.55
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm CPTCI 1H-
PULPROG deptapl35
TD 65536
SOLVENT CDCl3
NS 3133
DS 2
SWH 30303.031 Hz
FIDRES 0.462388 Hz
AQ 1.0814105 sec
RG 32768
DW 16.500 usec
DE 6.50 usec
TE 300.0 K
CNST2 145.0000000
D1 1.500000000 sec
D2 0.00344828 sec
D12 0.00002000 sec
TDO 8

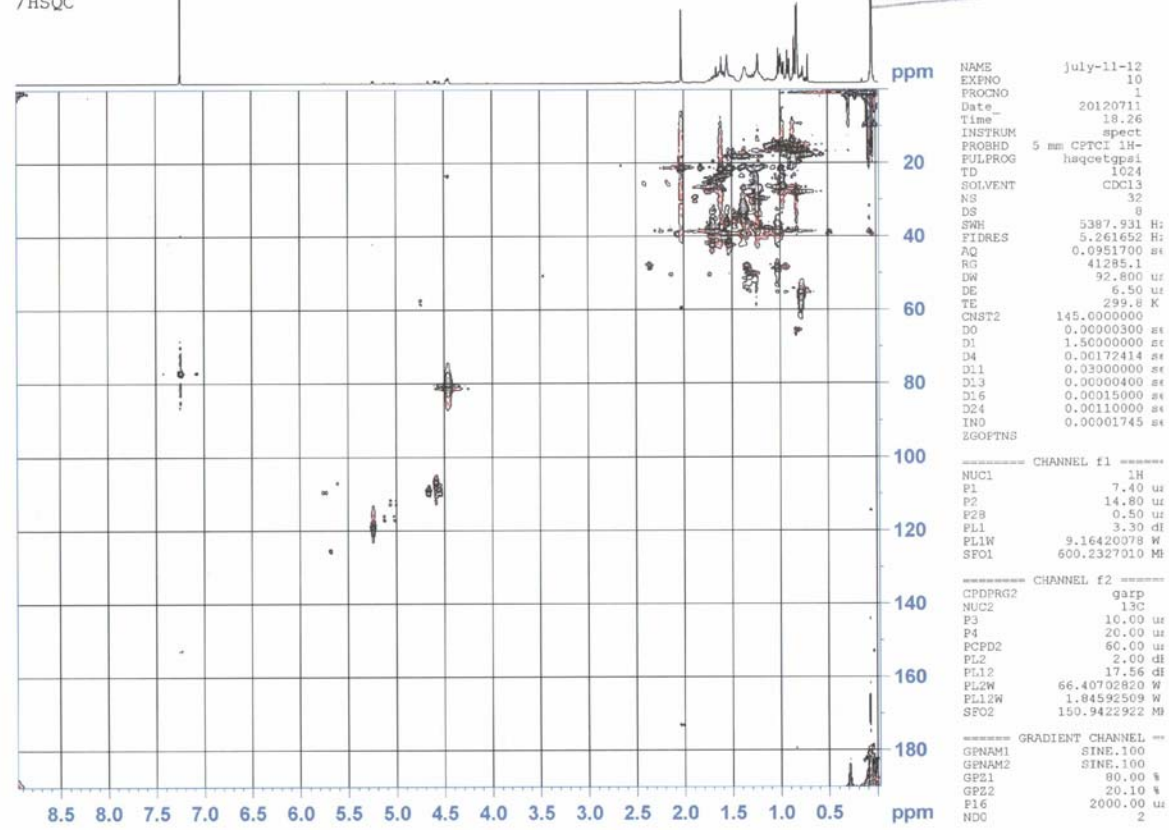
CHANNEL f1
NUC1 13C
P1 16.00 usec
P12 2000.00 usec
PL0 120.00 dB
PL1 2.00 dB
PLW 0.00000000 W
PL1W 66.40702820 W
SFO1 150.9430463 MHz
SP2 1.99 dB
SPNAM2 Crp60comp.4
SFOAL2 0.500
SFOFFS2 0.00 Hz

CHANNEL f2
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
F3 7.50 usec
P4 15.00 usec
PCPD2 65.00 usec
PL2 3.30 dB
PL12 22.06 dB
PL2W 9.16420078 W
PL12W 0.12192553 W
SFO2 600.2324009 MHz
SI 32768
SF 150.9279562 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.00

Şekil 4-46: Taraksasterol asetat' ın ¹³C-NMR (DEPT 135) Spektrumu (CDCl₃)

DR. BINA/CSAI/CDCL3
/HSQC

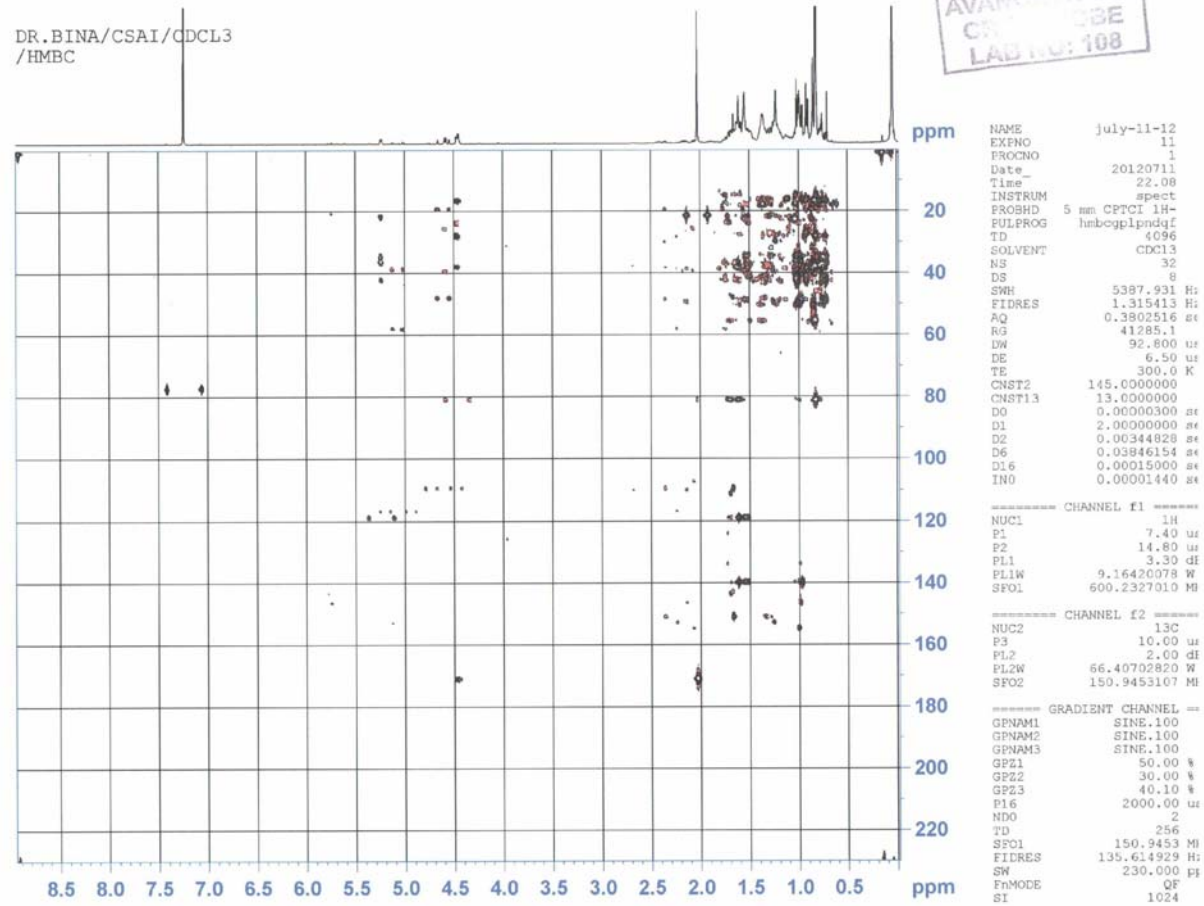
AVANCE AV-600
CPDPRG2
LAB NO: 108



Şekil 4-47: Taraksasterol asetat' ın HSQC Spektrumu (CDCl₃)

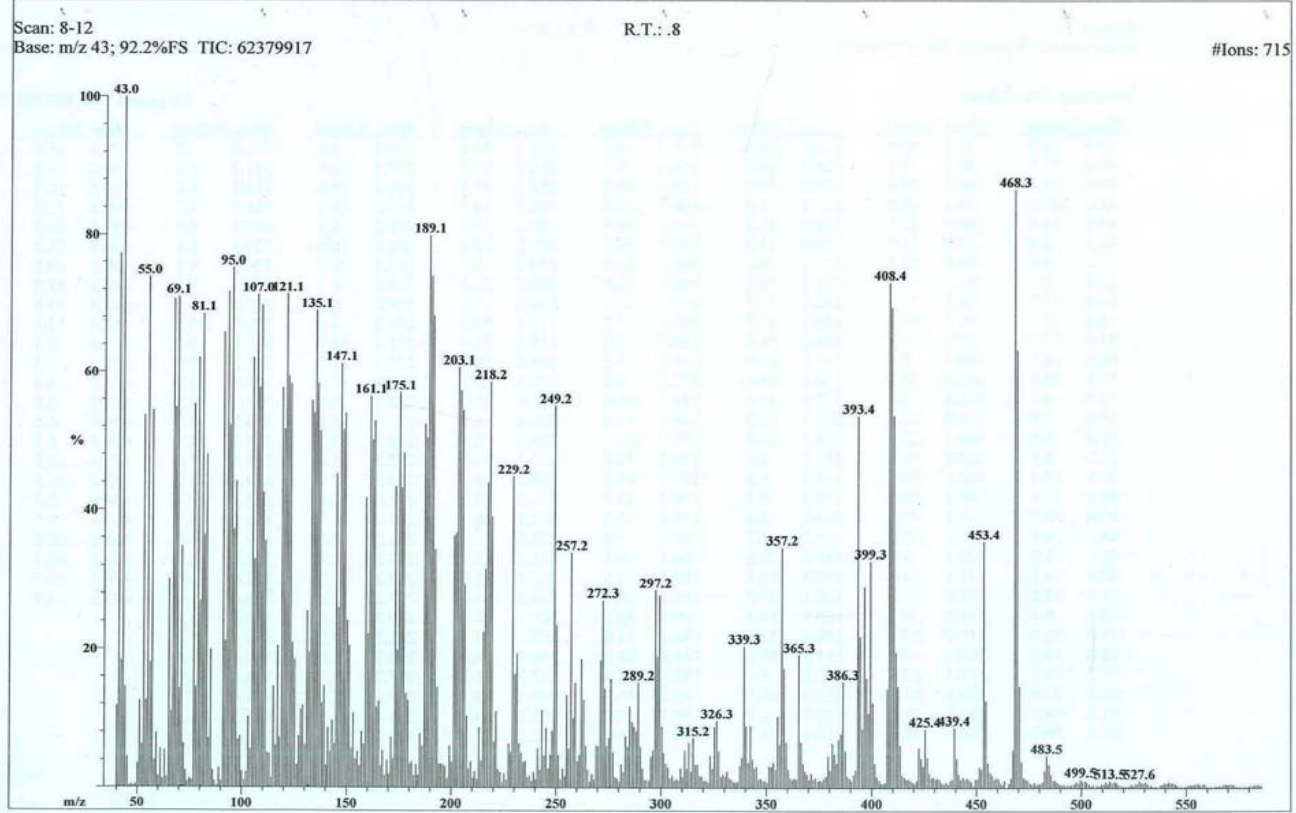
DR. BINA/CSAI/CDCL3
/HMBC

AVANCE AV-600
CP
LAB NO: 108



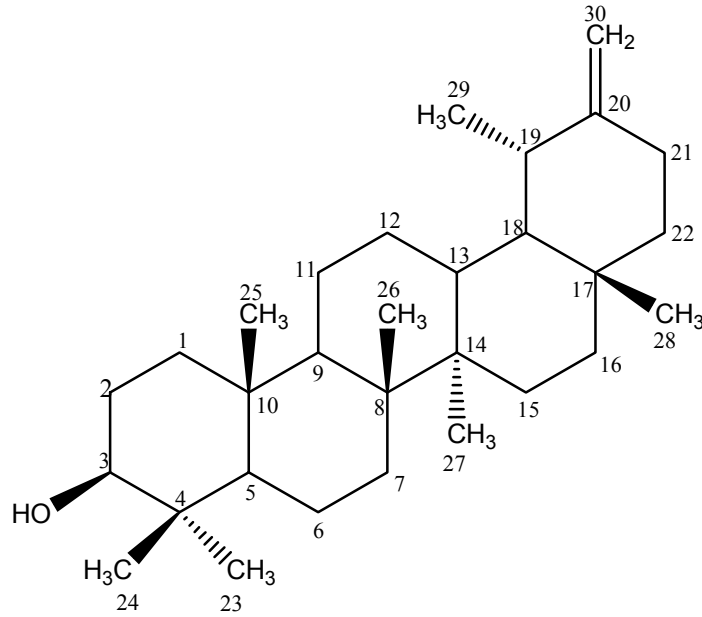
Şekil 4-48: Taraksasterol asetat' ın HMBC Spektrumu (CDCl₃)

File: CSA-1 Date Run: 07-03-2012 (Time Run: 09:39:07)
Sample: MEHMET BOGA / DR.BINA S.SIDDIQUI
Instrument: JEOL MSRoute
Inlet: My Inlet Ionization mode: EI+



Şekil 4-49: Taraksasterol asetat' ın Kütle Spektrumu

4.4.4.2. CSP 2= Taraksasterol



Şekil 4-50

Beyaz renkli olan CSP 2 bileşiği (43,3 mg) amorf halde elde edildi.

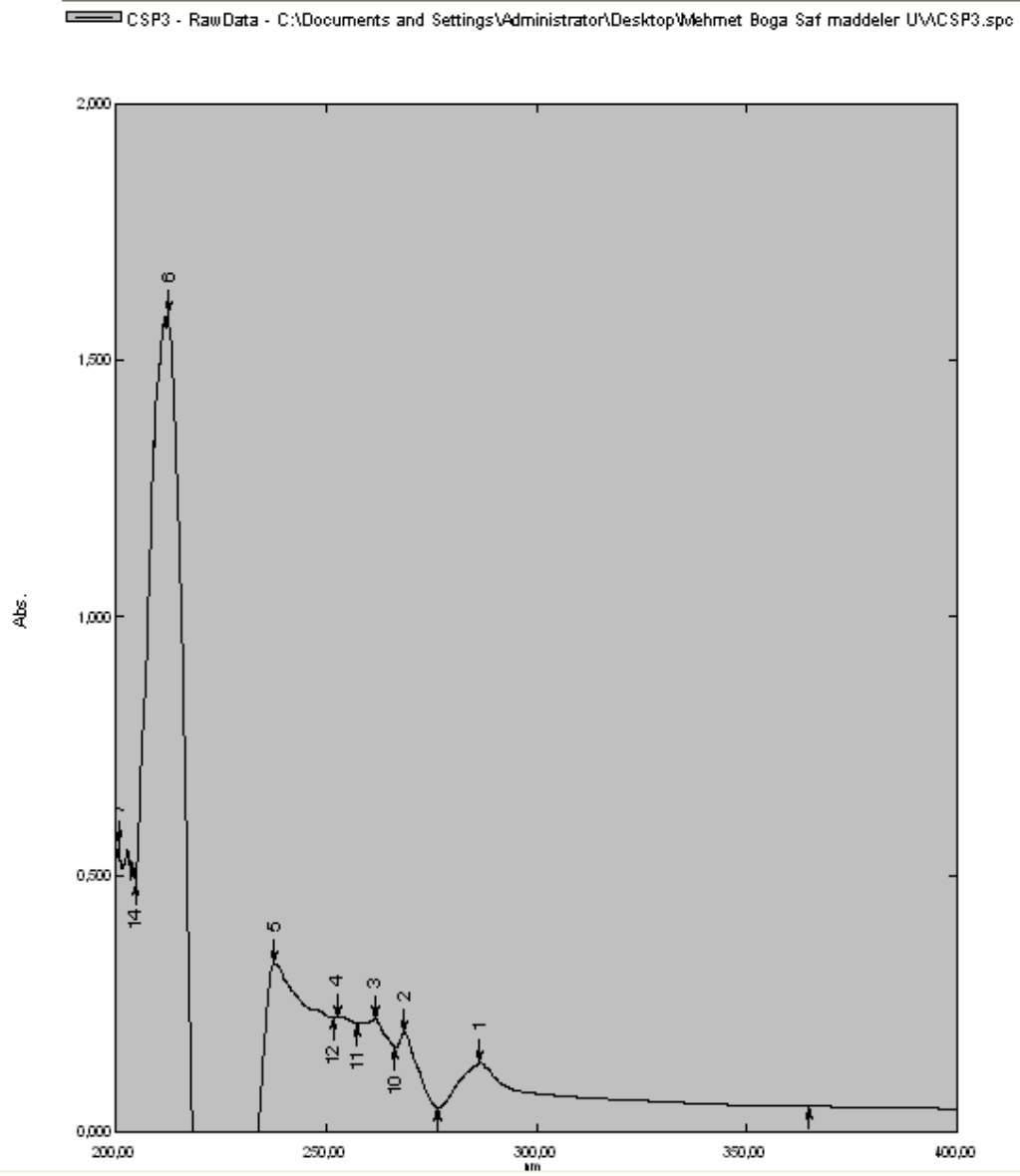
UV spektrumunda (MeOH) 237 ve 212 nm’de bantlar görüldü (Şekil 4-51). IR spektrumunda (CHCl₃) 3382 (O-H), 2936-2855 (C-H), 1641 (C=C) cm⁻¹, de bantlar izlendi (Şekil 4-52).

EI-MS spektrumunda (Şekil 4-56) m/z 426 [M]⁺ piki C₃₀H₅₀O yapısını belirtti. m/z 411 [M-CH₃]⁺ metil grubunun ayrıldığı gösterdi.

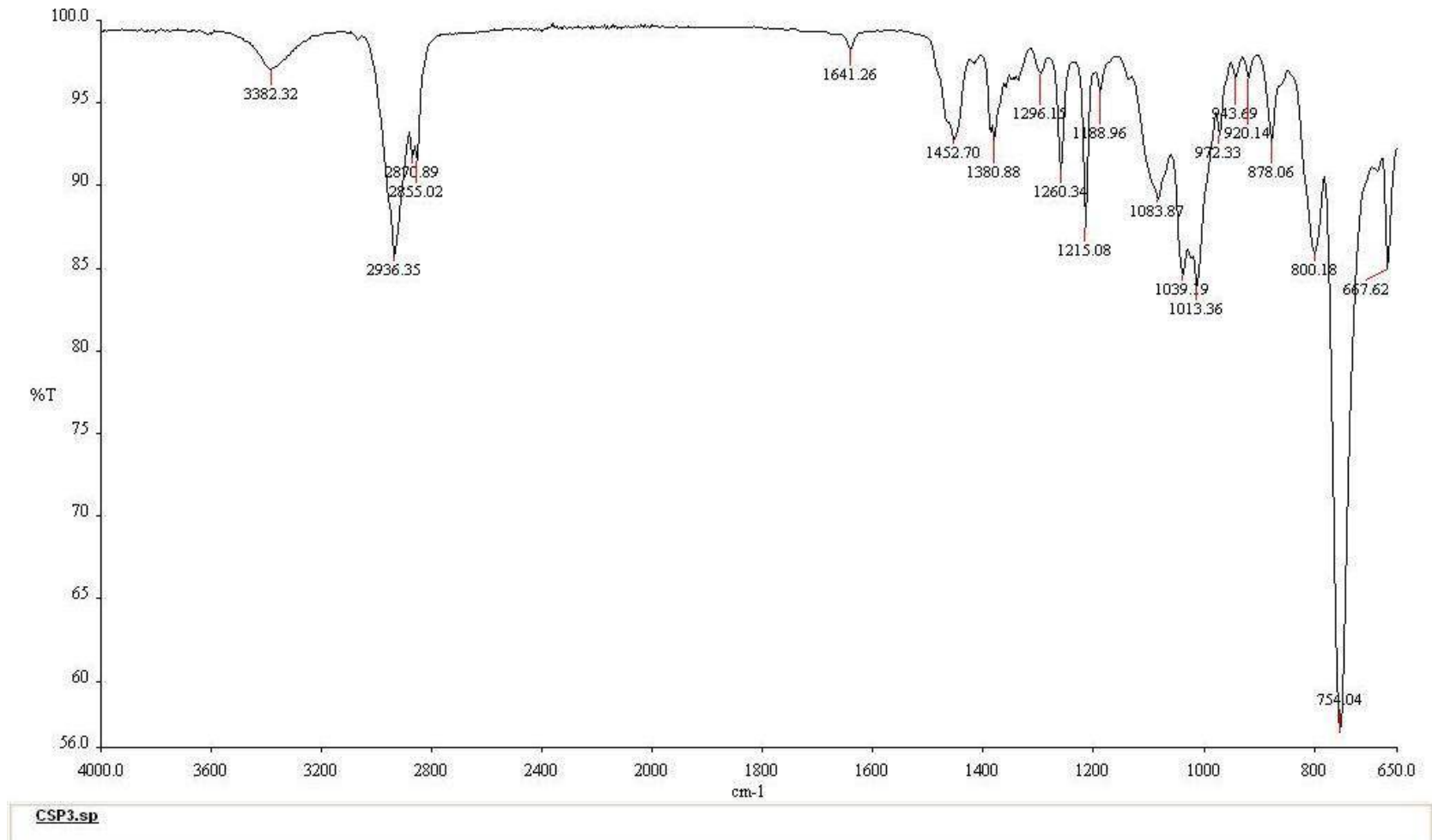
Tablo 4-9’ da verilen ¹H-NMR ve ¹³C-NMR değerleri ile literatürde verilen spektral değerler karşılaştırıldığında bileşiğin taraksasterol olduğu belirlendi (Khalilov ve ark. 2003).

Tablo 4-9: CSP 2' ün ^{13}C -NMR ve ^1H -NMR Değerleri (CDCl_3 , J değerleri parantez içinde verildi)

Pozisyon	^{13}C -NMR	^1H -NMR
1	39,00	1,72 m
2	27,48	1,62 m
3	79,23	3,13 m
4	37,35	-
5	55,56	0,62 bd (9,0 Hz)
6	18,65	α 1,52 m β 1,37 m
7	34,37	1,40 m
8	40,10	-
9	50,75	1,29 m
10	36,36	-
11	21,80	1,55 m
12	26,48	α 1,64 m β 1,16 m
13	39,43	1,58 m
14	42,28	-
15	27,19	α 1,68 m β 1,00 m
16	38,56	α 1,26 m β 1,16 m
17	34,63	-
18	48,94	1,16 m
19	38,31	2,14 dq (7,1; 7,0 Hz)
20	154,82	-
21	25,40	α 2,38 m β 2,30 m
22	39,10	1,44 m
23	28,23	0,67 s
24	16,32	0,70 s
25	15,60	0,73 s
26	16,50	0,78 s
27	14,99	0,85 s
28	19,71	0,83 s
29	25,73	1,08 d (7,0 Hz)
30	107,39	4,54 d (1,95 Hz) 4,53 d (1,45 Hz)



Şekil 4-51: Taraksasterol' ün UV Spektrumu



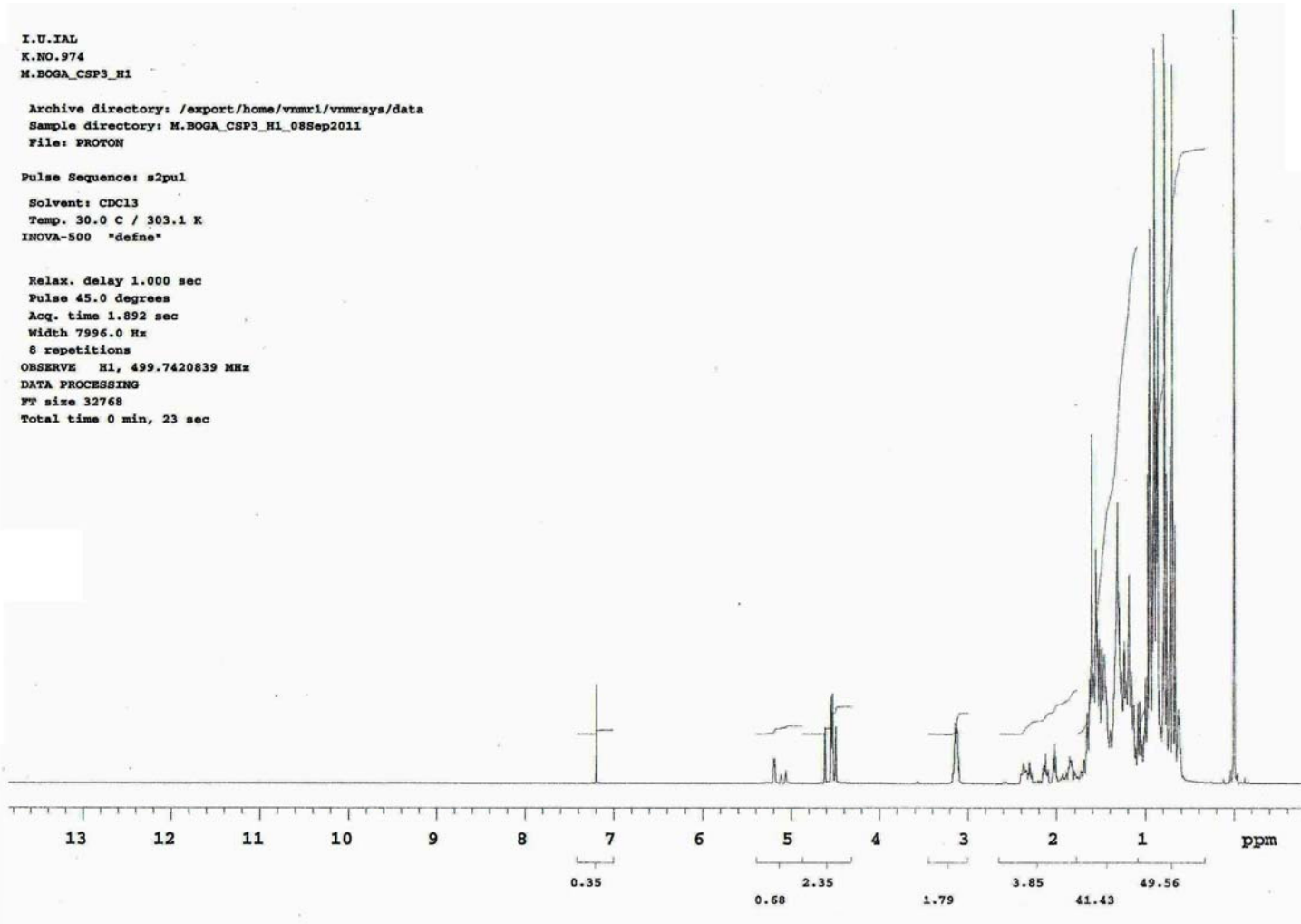
Şekil 4-52: Taraxasterol' ün IR Spektrumu

I.U.IAL
K.NO.974
M.BOGA_CSP3_H1

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory: M.BOGA_CSP3_H1_08Sep2011
File: PROTON

Pulse Sequence: s2pul
Solvent: CDCl3
Temp. 30.0 C / 303.1 K
INOVA-500 "define"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.892 sec
Width 7996.0 Hz
8 repetitions
OBSERVE H1, 499.7420839 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 0 min, 23 sec



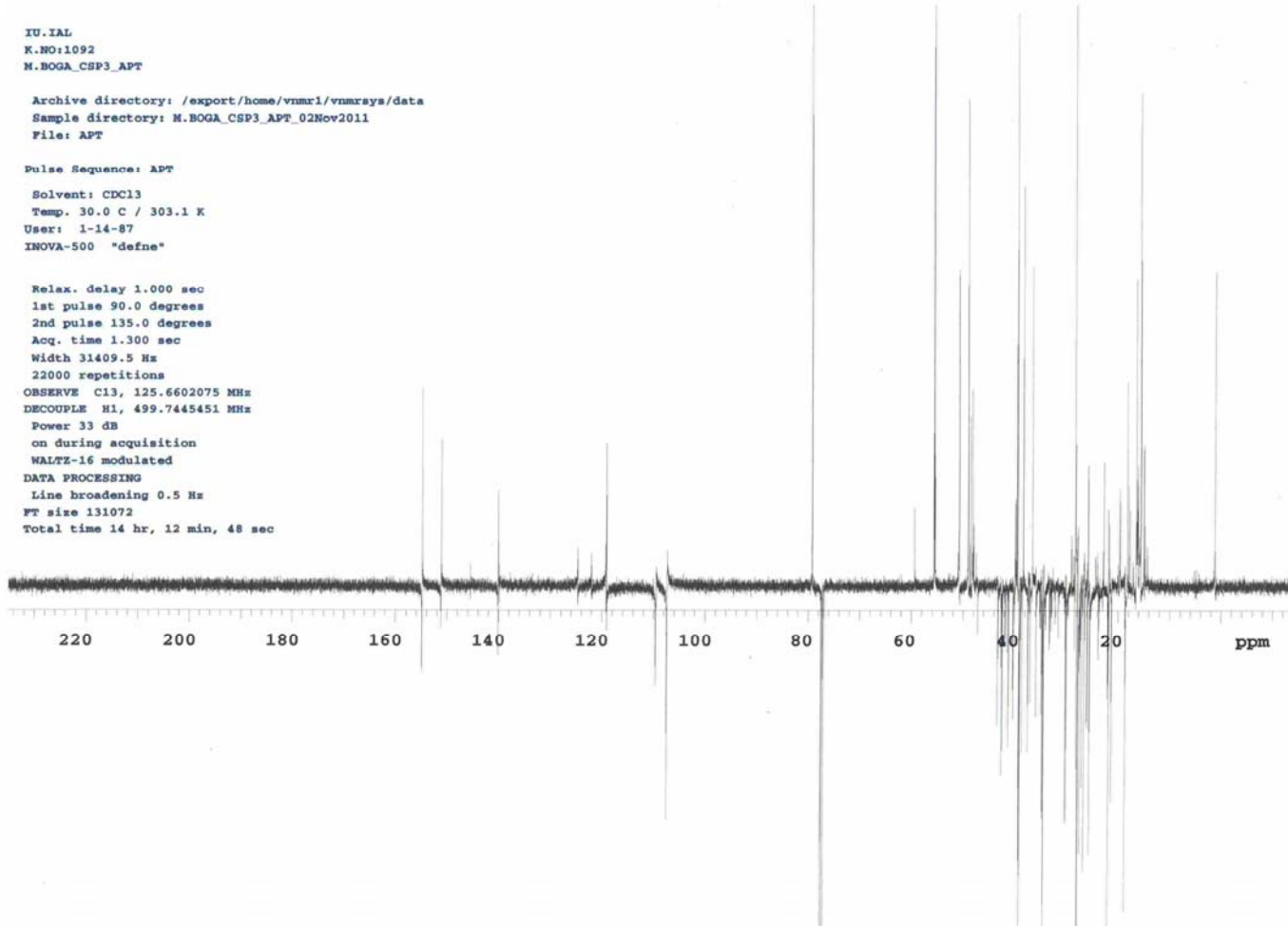
Şekil 4-53: Taraksasterol' ün ¹H-NMR Spektrumu (CDCl₃)

IU.XAL
K.NO:1092
M.BOGA_CSP3_APT

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory: M.BOGA_CSP3_APT_02Nov2011
File: APT

Pulse Sequence: APT
Solvent: CDCl3
Temp. 30.0 C / 303.1 K
User: 1-14-87
INOVA-500 "defne"

Relax. delay 1.000 sec
1st pulse 90.0 degrees
2nd pulse 135.0 degrees
Acq. time 1.300 sec
Width 31409.5 Hz
22000 repetitions
OBSERVE C13, 125.6602075 MHz
DECOUPLE H1, 499.7445451 MHz
Power 33 dB
on during acquisition
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 131072
Total time 14 hr, 12 min, 48 sec



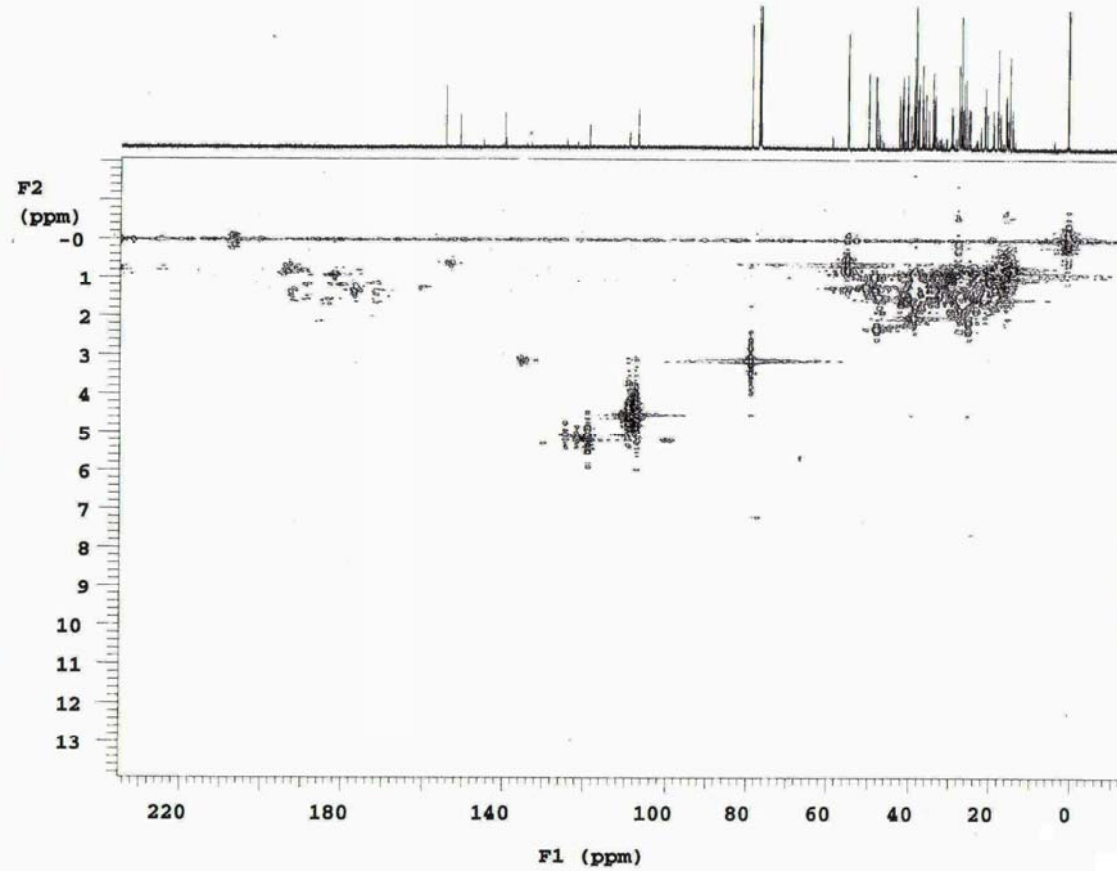
Şekil 4-54: Taraksasterol' ün ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (CDCl_3)

IU.IAL
K.NO:1092
M.BOGA_CSP3_2D

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrswa/data
Sample directory: M.BOGA_CSP3_2D_02Nov2011
File: gHMQC

Pulse Sequence: gHMQC
Solvent: CDCl₃
Temp. 30.0 C / 303.1 K
User: 1-14-87
INOVA-500 "defne"

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.128 sec
Width 7996.0 Hz
2D Width 31409.5 Hz
64 repetitions
2 x 128 increments
OBSERVE H1, 499.7420839 MHz
DECOUPLE C13, 125.6740302 MHz
Power 44 dB
on during acquisition
off during delay
W40_ID_6435 modulated
DATA PROCESSING
Gauss apodization 0.059 sec
F1 DATA PROCESSING
Gauss apodization 0.011 sec
FT size 2048 x 2048
Total time 5 hr, 23 min, 11 sec



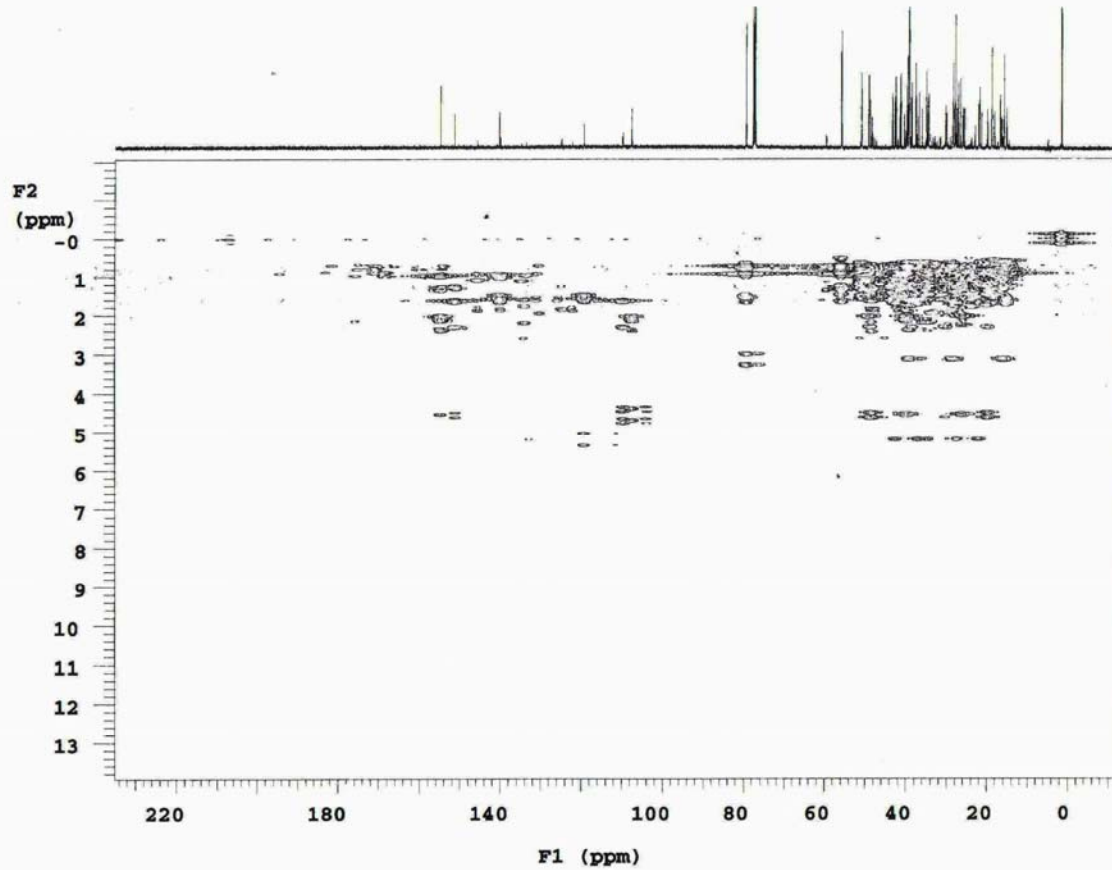
Şekil 4-55: Taraksasterol' ün HMQC Spektrumu (CDCl₃)

IU.IAL
K.NO:1092
M.BOGA_CSP3_2D

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory: M.BOGA_CSP3_2D_02Nov2011
File: gHMBC

Pulse Sequence: gHMBC
Solvent: CDCl3
Temp. 30.0 C / 303.1 K
User: 1-14-87
INOVA-500 "defne"

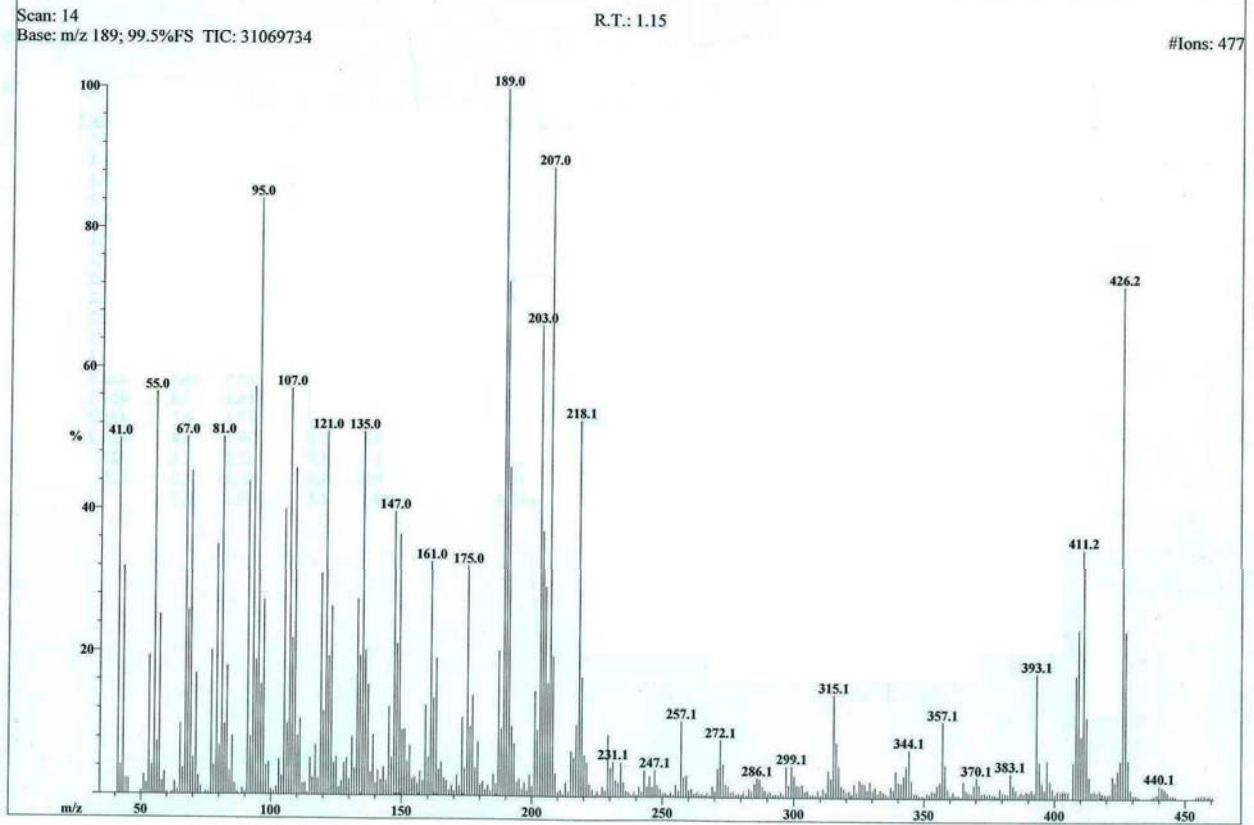
Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.128 sec
Width 7996.0 Hz
2D Width 31409.5 Hz
64 repetitions
200 increments
OBSERVE H1, 499.7420839 MHz
DATA PROCESSING
Sine bell 0.064 sec
F1 DATA PROCESSING
Sine bell 0.003 sec
FT size 2048 x 2048
Total time 4 hr, 19 min, 25 sec



Şekil 4-56: Taraksasterol' ün HMBC Spektrumu (CDCl₃)

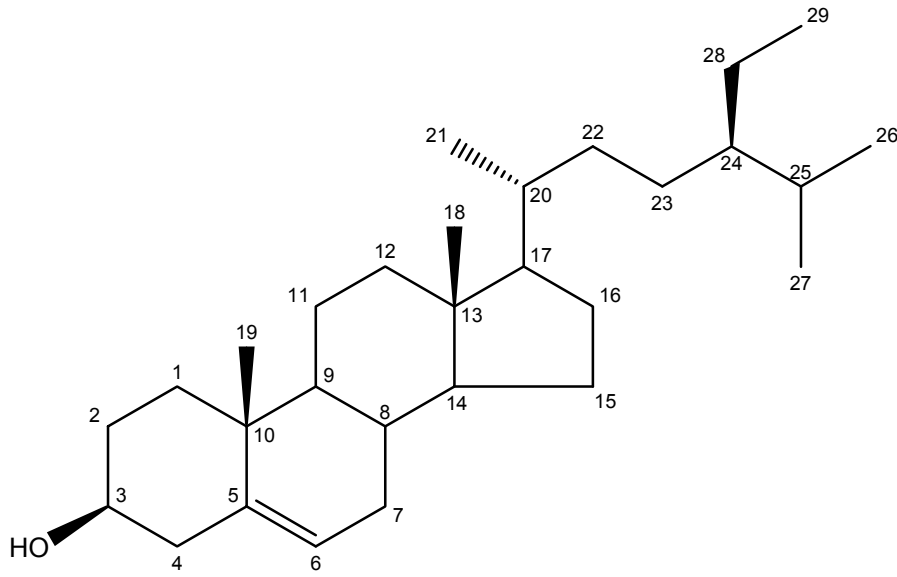
File: CSP-3 Date Run: 07-03-2012 (Time Run: 10:12:02)
Sample: MEHMET BOGA / DR.BINA S.SIDDIQUI
Instrument: JEOL MSRoute
Inlet: My Inlet

Ionization mode: EI+



Şekil 4-57: Taraxasterol' ün Kütle Spektrumu

4.4.4.3. CSP 3 = β -Sitosterol



Şekil 4-58

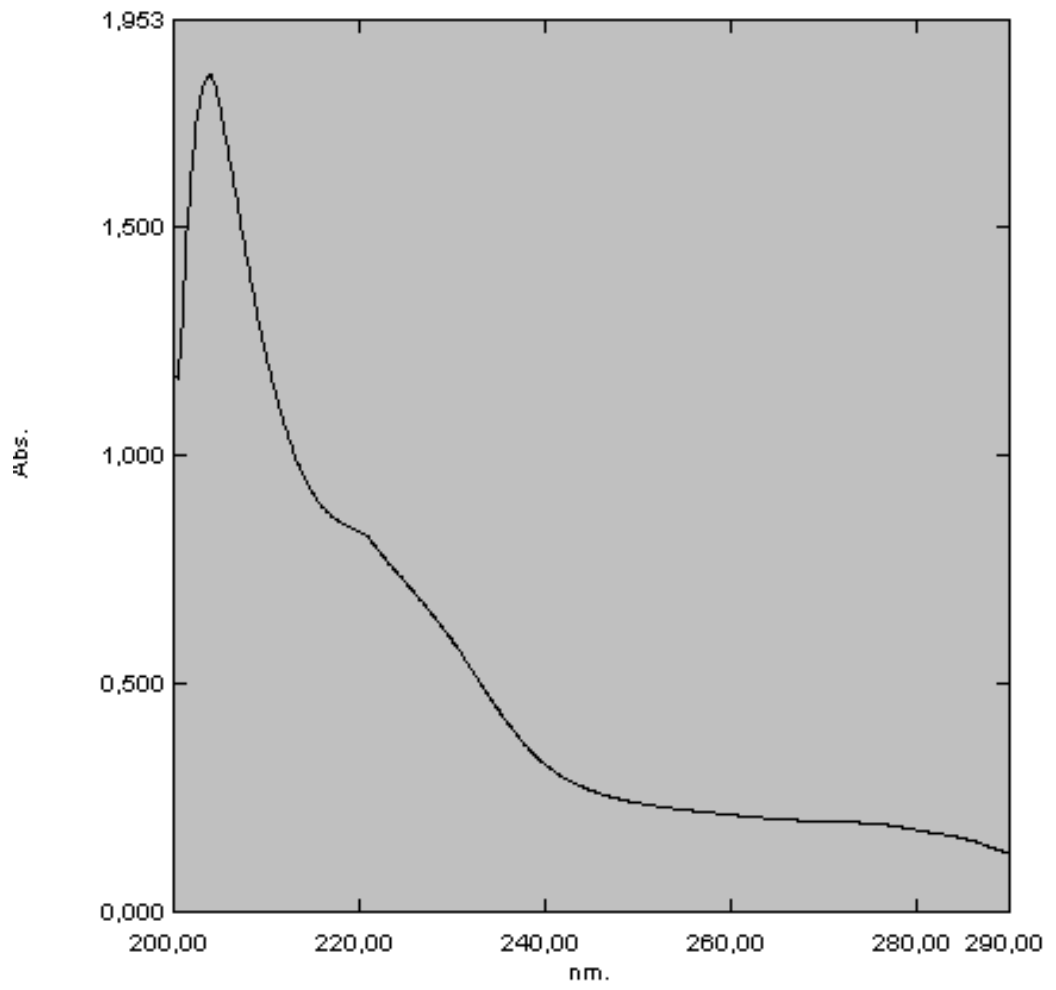
Beyaz renkli olan CSP 3 bileşiği 12,6 mg olarak elde edildi. Silika jel plakta UV lamba altında (254 nm) görülmeyen bileşik, serik sülfat belirteci püskürtülüp etüvde 110°C’de yakıldığında önce turkuaz sonra kahverengi renk aldı.

UV spektrumunda (MeOH) 203 nm’de uç absorpsiyon bandı görüldü (Şekil 4-59). IR spektrumunda (CHCl₃) 3368 (O-H), 2957-2852 (C-H), 1646 (C=C) cm⁻¹, de bantlar izlendi (Şekil 4-60).

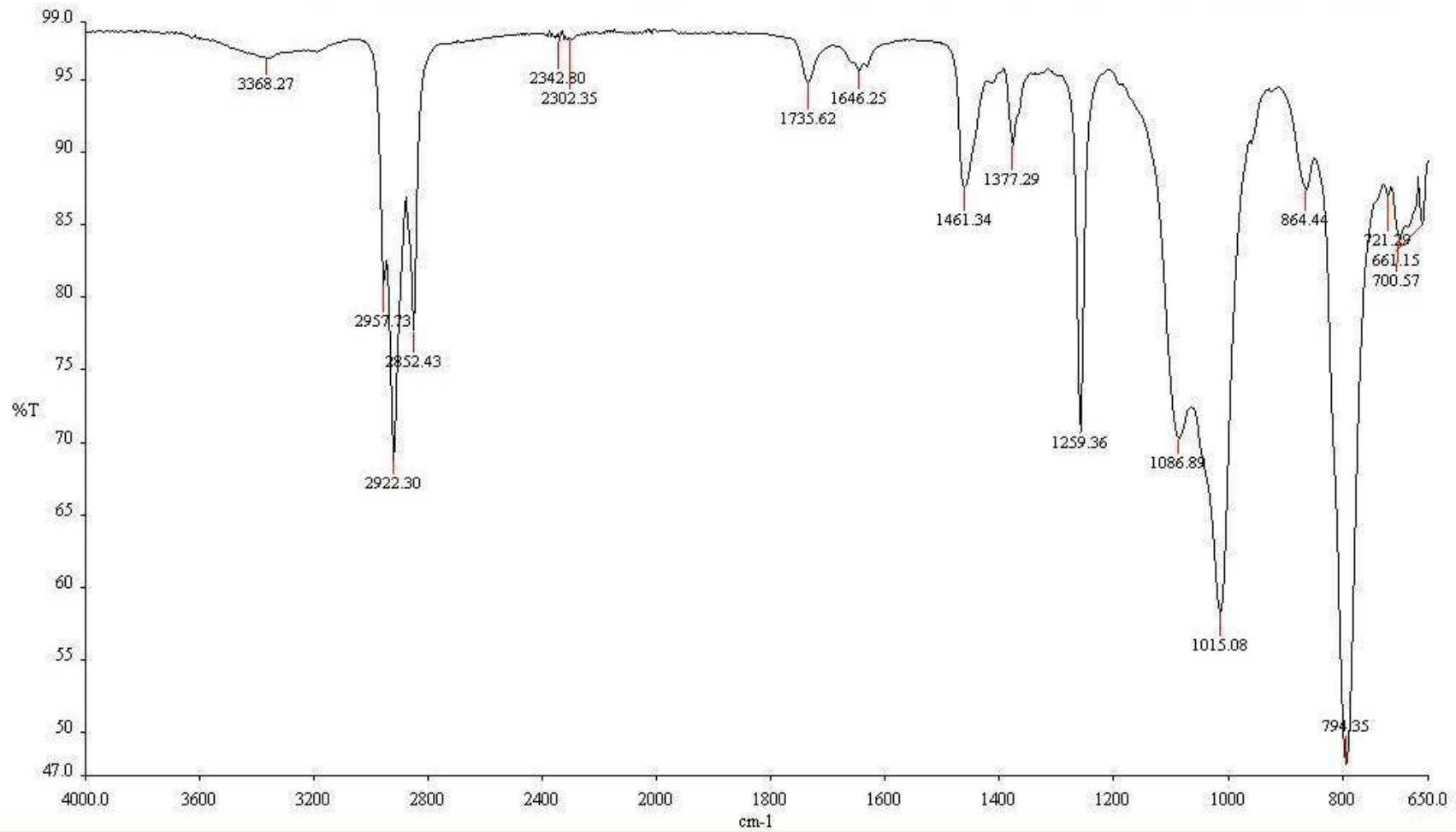
İnce tabaka kromatografisinde yapılan karşılaştırma sonucunda standart madde ile aynı olduğu belirlenen CSP3 bileşiğinin spektral değerleri literatürde verilen değerler ile uyumlu olduğu belirlendi ve yapısı β -sitosterol olarak tespit edildi (Şekil 4-58) (Kolak ve ark. 2005).

Tablo 4-10: CSP 3' ün ^{13}C -NMR ve ^1H -NMR Değerleri (CDCl_3 , J değerleri parantez içinde verildi)

Pozisyon	^{13}C -NMR	^1H -NMR
1	36,27	
2	30,66	
3	70,83	3,45 m
4	41,33	
5	139,77	
6	120,70	5,28 m
7	30,91	
8	30,92	
9	49,16	
10	35,51	
11	20,09	
12	38,79	
13	41,33	-
14	55,78	
15	23,30	
16	27,24	
17	55,08	
18	10,98	0,61 s
19	18,39	0,96 s
20	35,14	
21	18,04	0,93 d (6,43 Hz)
22	32,97	
23	25,10	
24	44,86	
25	28,19	
26	18,72	0,84 d (6,84 Hz)
27	18,80	0,80 d (6,84 Hz)
28	22,09	
29	10,82	0,78 t (7,82 Hz)



Şekil 4-59: β -Sitosterol' ün UV Spektrumu



CSP4.sp

Şekil 4-60: β -Sitosterol ' ün IR Spektrumu

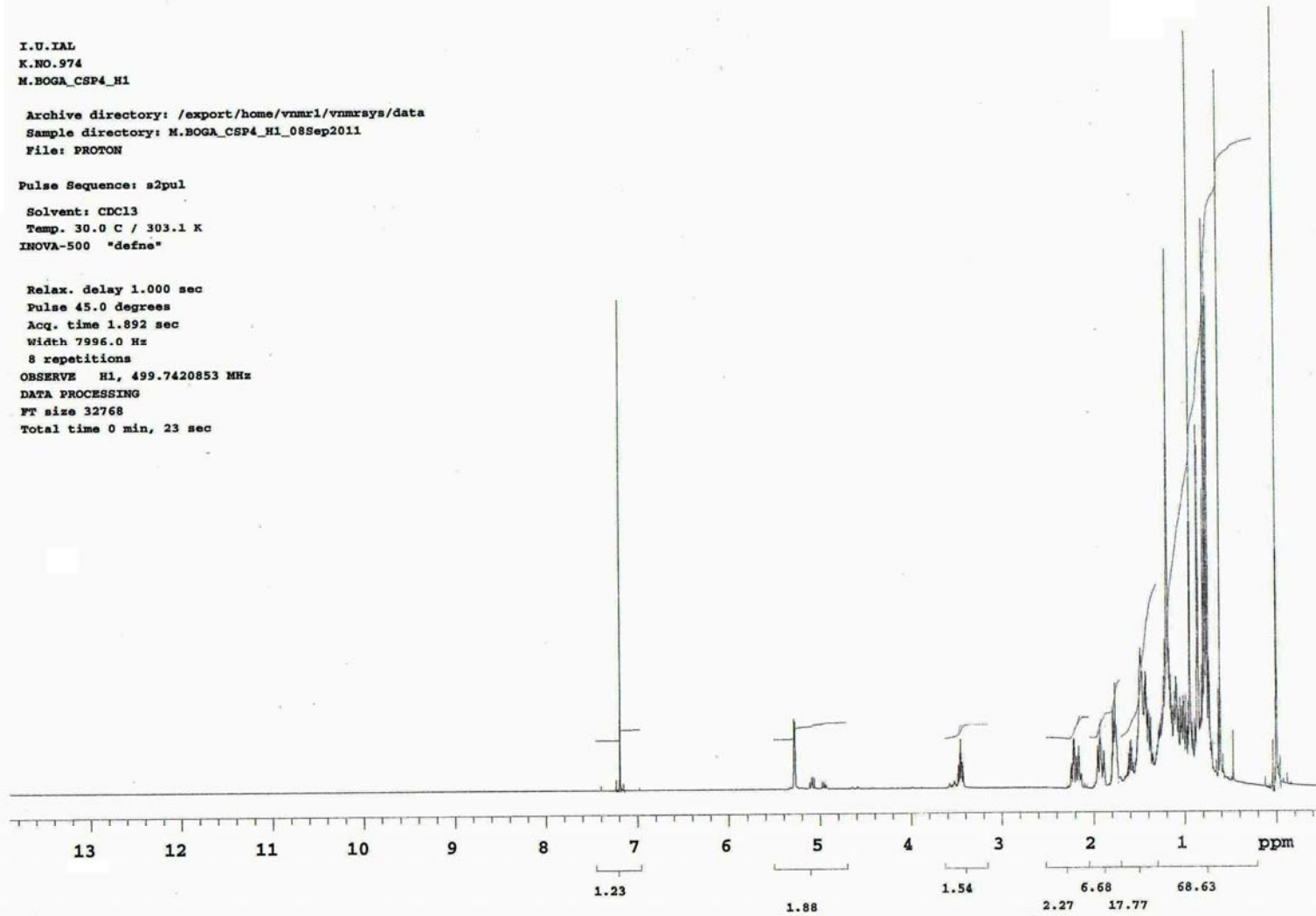
I.U.IAL
K.NO.974
M.BOGA_CSP4_H1

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory: M.BOGA_CSP4_H1_08Sep2011
File: PROTON

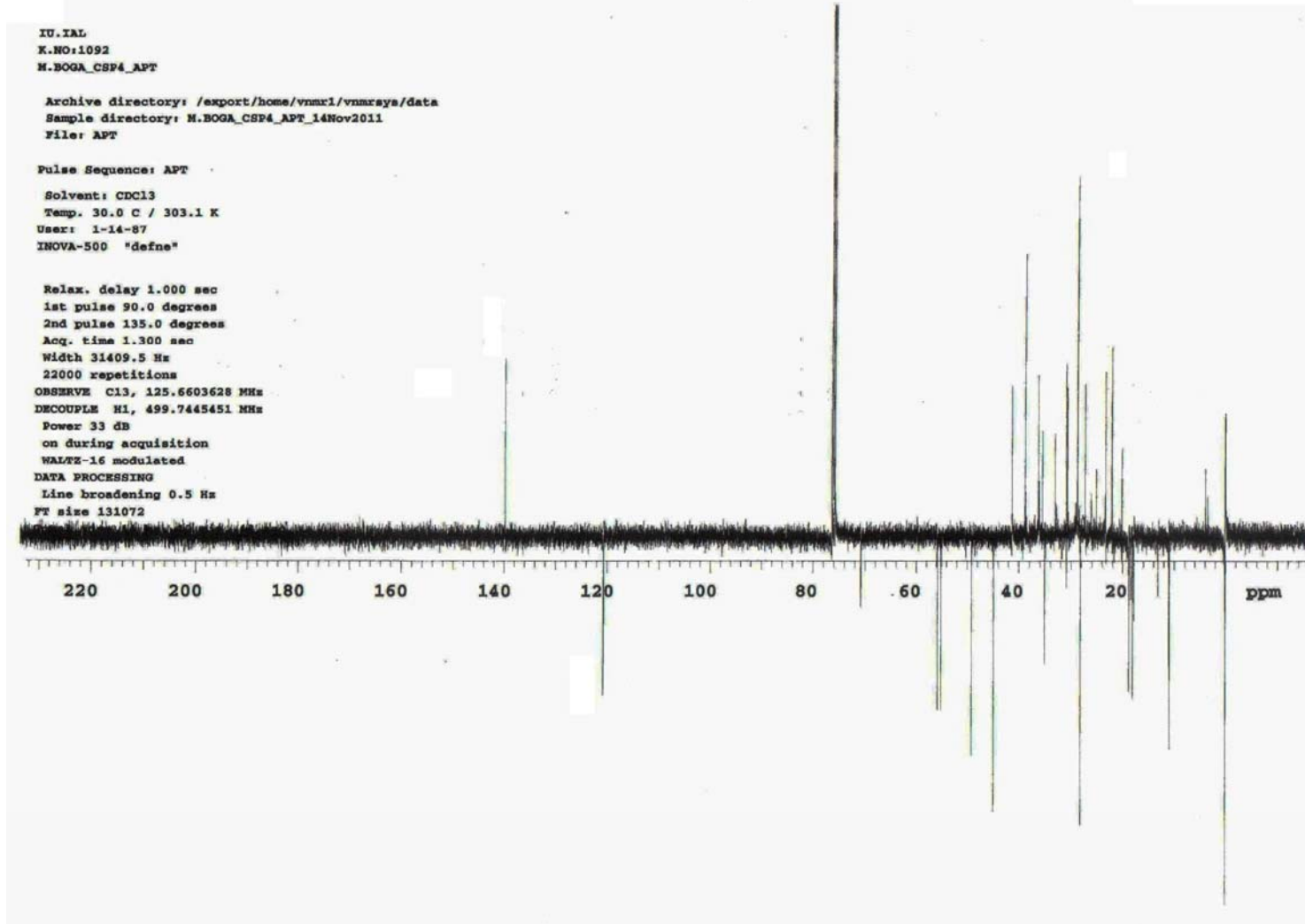
Pulse Sequence: s2pul

Solvent: CDCl₃
Temp. 30.0 C / 303.1 K
INOVA-500 "defne"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.892 sec
Width 7996.0 Hz
8 repetitions
OBSERVE H1, 499.7420853 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 0 min, 23 sec



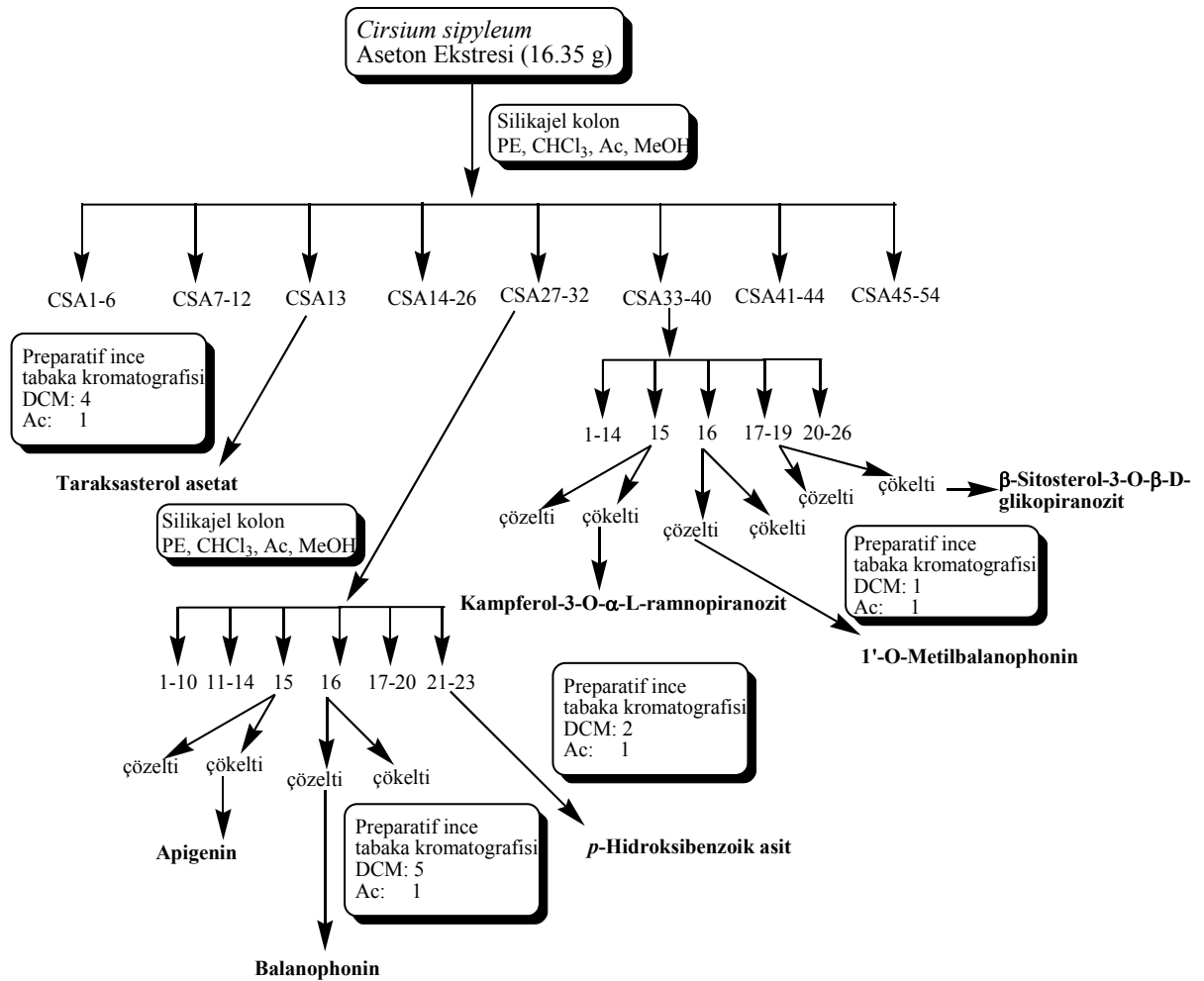
Şekil 4-61: β-Sitosterol ' ün ¹H-NMR Spektrumu (CDCl₃)



Şekil 4-62: β -Sitosterol' ün ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (CDCl_3)

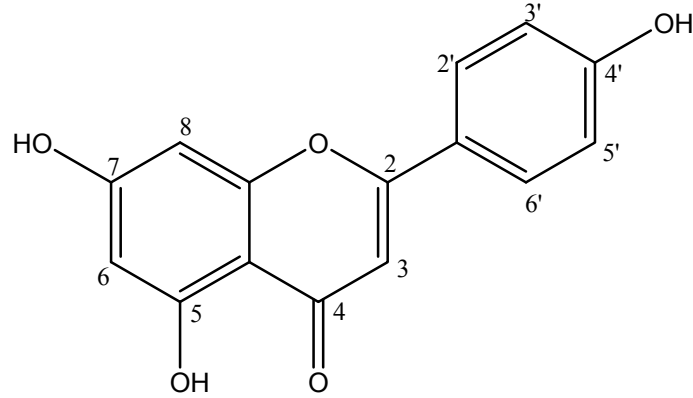
4.4.5. *Cirsium sipyleum* Bitkisinin Aseton Ekstresinin (CSA) Fraksiyonlandırılması

CSA silika jel içeren sütunda fraksiyonlandırıldı. Elüsyona %100 petrol eteri ile başlandı, %5 çözücü polaritesi artırılarak sırasıyla kloroform, aseton ve metanol ile elüsyona devam edildi, %100 metanole ulaşıncaya elüsyon tamamlandı. İTK ile benzer fraksiyonlar birleştirildi. Toplam 8 fraksiyon elde edildi. Bu fraksiyonlara silika jel ve Sephadex LH-20 sütun, silika jel preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemleri uygulanarak CSA1 (apigenin), CSA2 (balanophonin), CSA3 (*p*-hidroksibenzoik asit), CSA4 (1'-O-metilbalanophonin), taraksasterol asetat, β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit ve kampferol-3-O- α -L-ramnopiranozit elde edildi. Saf maddelerin izolasyonu Şekil 4-63' de verilmiştir. Saf maddelerin yapı tayinleri spektroskopik yöntemler kullanılarak yapıldı.



Şekil 4-63: *Cirsium sipyleum* Aseton Ekstresinin İzolasyon Şeması

4.4.5.1. CSA1=Apigenin



Şekil 4-64

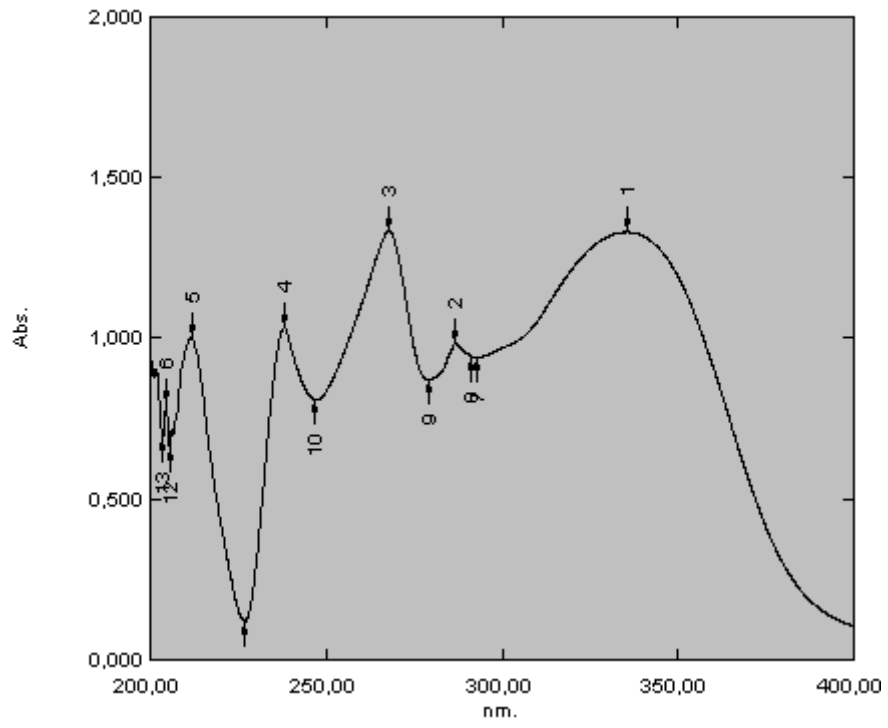
Sarı renkli olan CSA 1 bileşiği (42,5 mg) toz halde elde edildi.

UV spektrumunda (MeOH) 335, 284, 268 ve 212 nm'de bantlar görüldü (Şekil 4-65). IR spektrumunda (MeOH) 3308 (O-H), 2959-2851 (C-H), 1643-1486 (C=C) cm^{-1} de bantlar izlendi (Şekil 4-67).

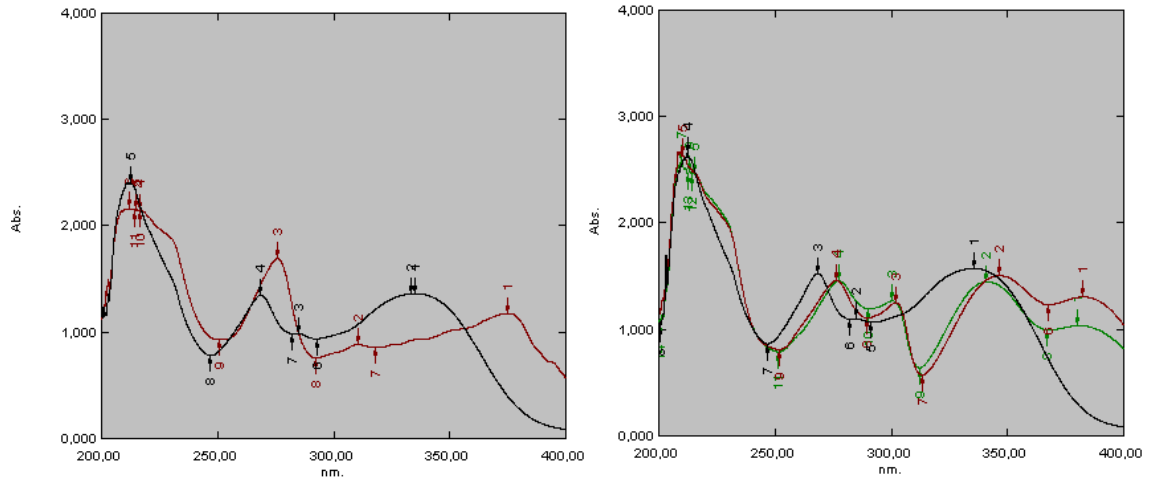
Tablo 4-11'de verilen $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ sonuçları literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında ve standartla İTK'da karşılaştırıldığında bileşiğin apigenin olduğu belirlendi (Goulas ve ark. 2012).

Tablo 4-11: CSA 1' in $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ Değerleri (CD_3COCD_3 , J değerleri parantez içinde verildi)

Pozisyon	$^1\text{H-NMR}$	$^{13}\text{C-NMR}$
2	-	
3	6,49 s	103,73
4	-	
5	-	
6	6,12 d (1,95 Hz)	100,56
7	-	
8	6,40 d (1,95 Hz)	95,37
9		
10		
1'	-	
2', 6'	7,80 dd (6,84; 1,95 Hz)	129,41
3', 5'	6,89 dd (6,83; 1,95 Hz)	117,08
5-OH	12,86 s	



Şekil 4-65: Apigenin' in UV Spektrumu



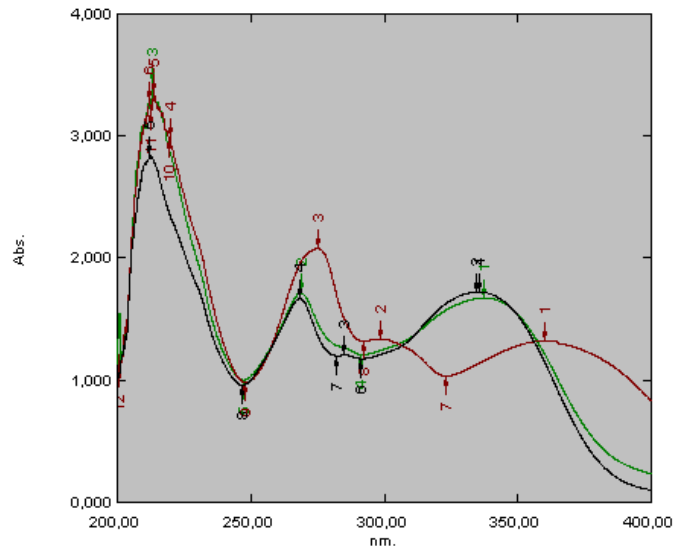
— MeOH (335, 284, 268 212 nm)

— +NaOMe (375, 310, 275, 212 nm)

— MeOH

— +AlCl₃ (382, 346, 302, 276, 210 nm)

— +AlCl₃/HCl (380, 340, 300, 277, 209 nm)

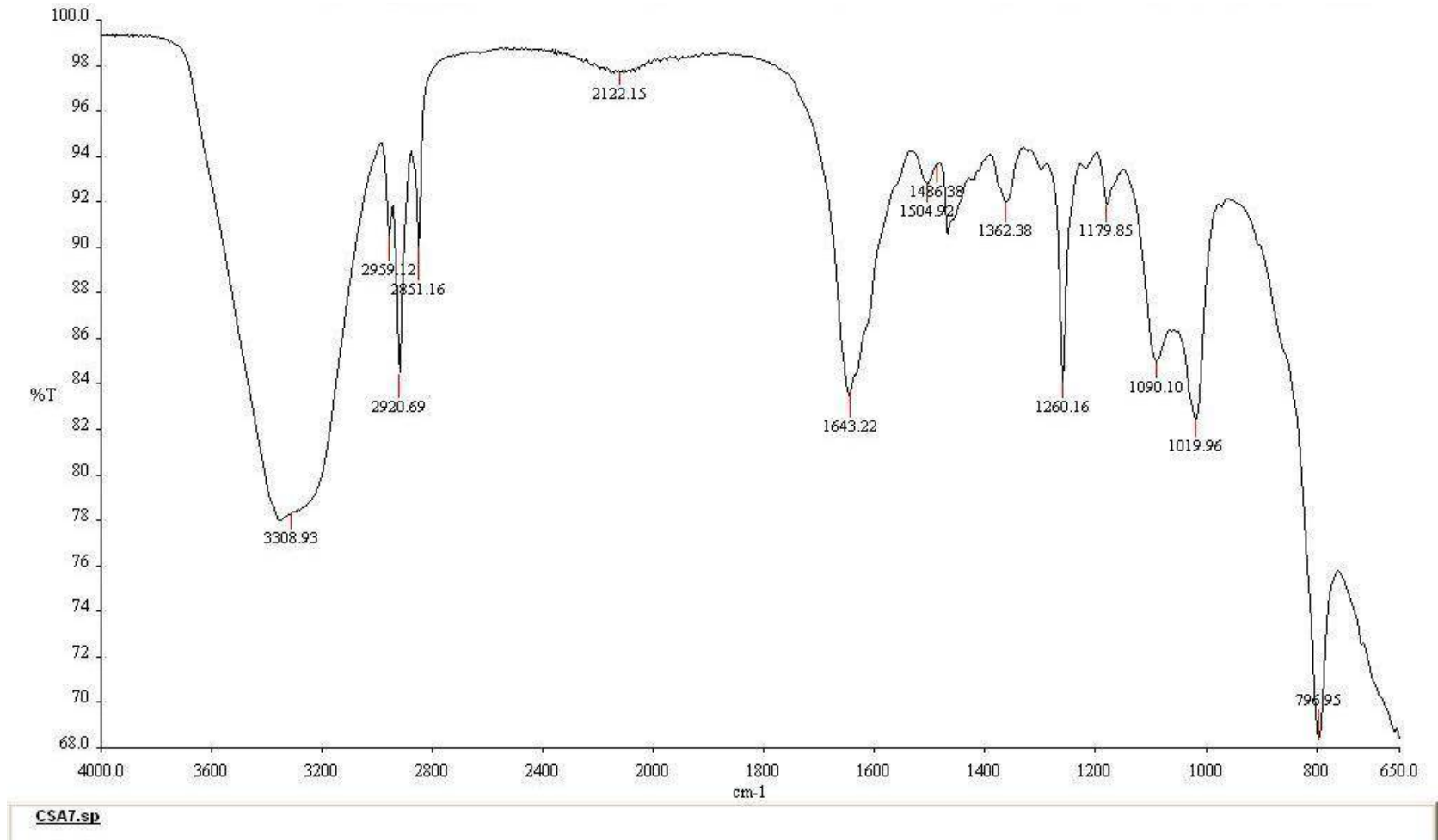


— MeOH

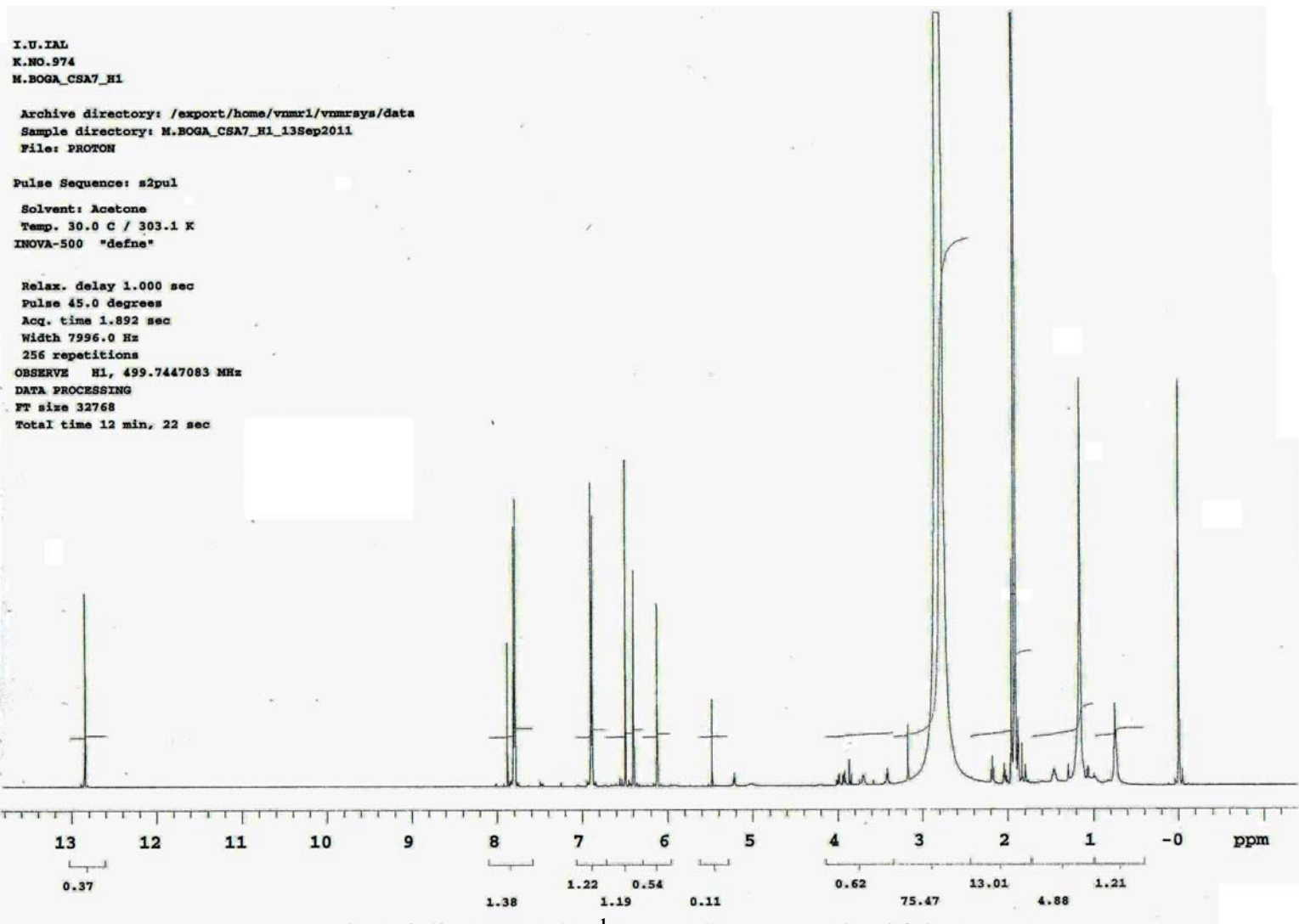
— +NaOAc (360, 298, 275, 213 nm)

— +NaOAc/ H₃BO₃ (337, 268, 213 nm)

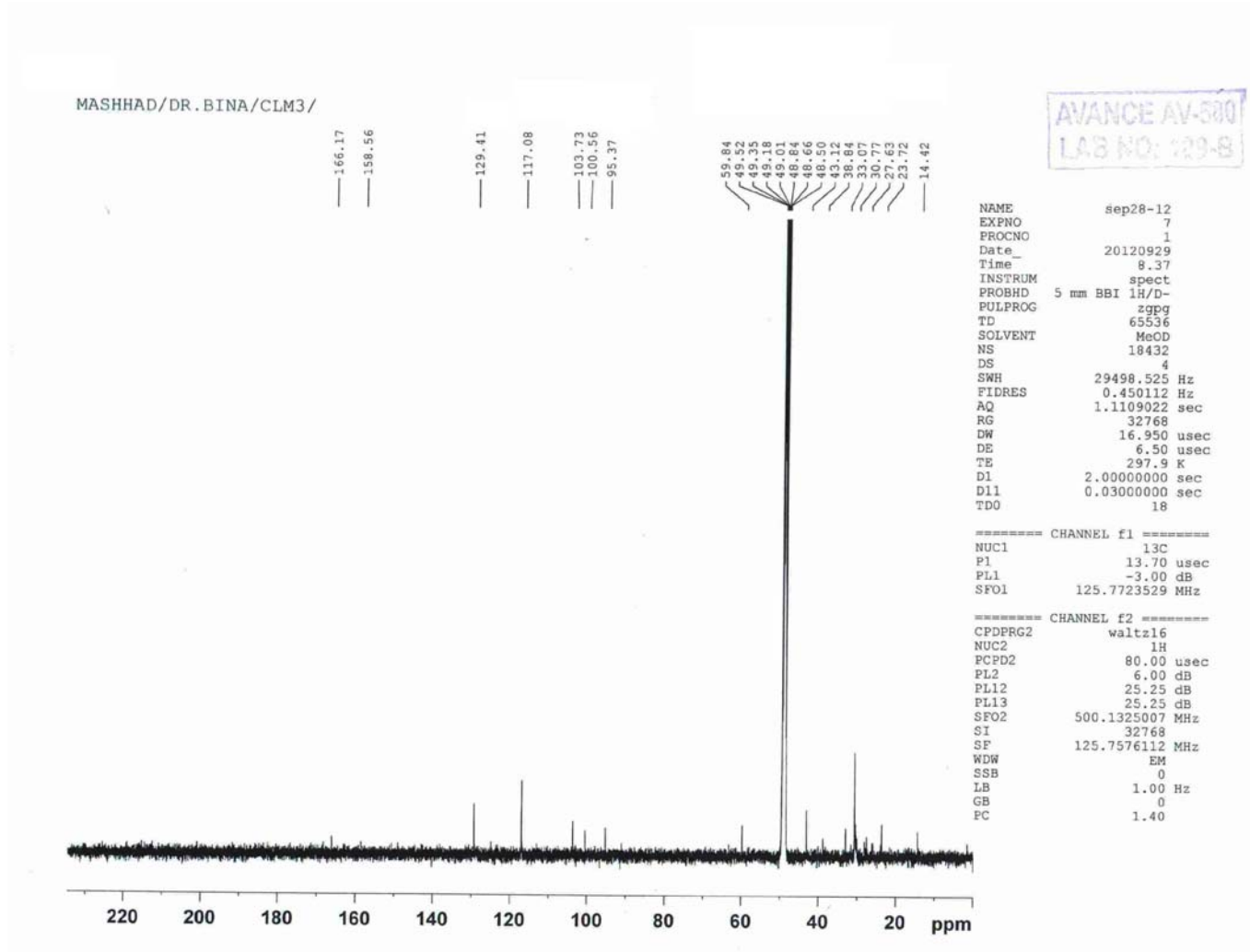
Şekil 4-66: Apigenin' nin Kayma Belirteçleri ile Alınan UV Spektrumları



Şekil 4-67: Apigenin' in IR Spektrumu

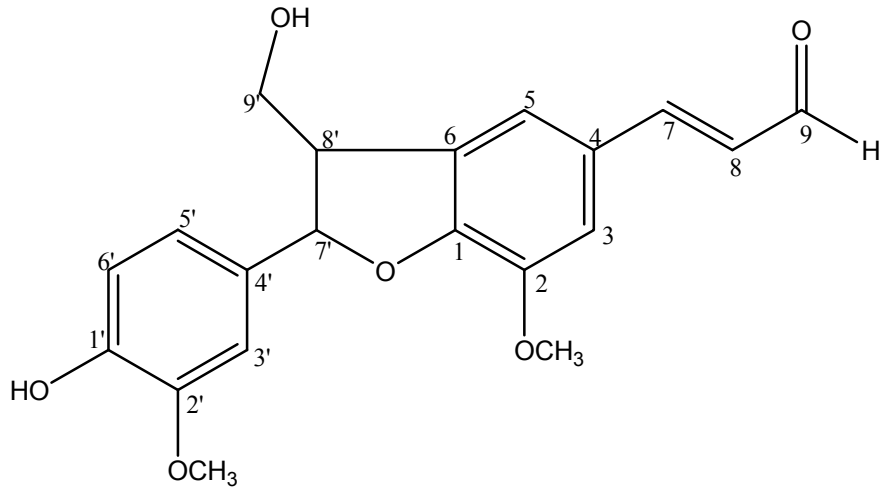


Şekil 4-68: Apigenin' in ¹H-NMR Spektrumu (CD₃COCD₃)



Şekil 4-69: Apigenin' in ^{13}C -NMR (BB) Spektrumu (CD_3COCD_3)

4.4.5.2. CSA 2=Balanophonin



Şekil 4-70

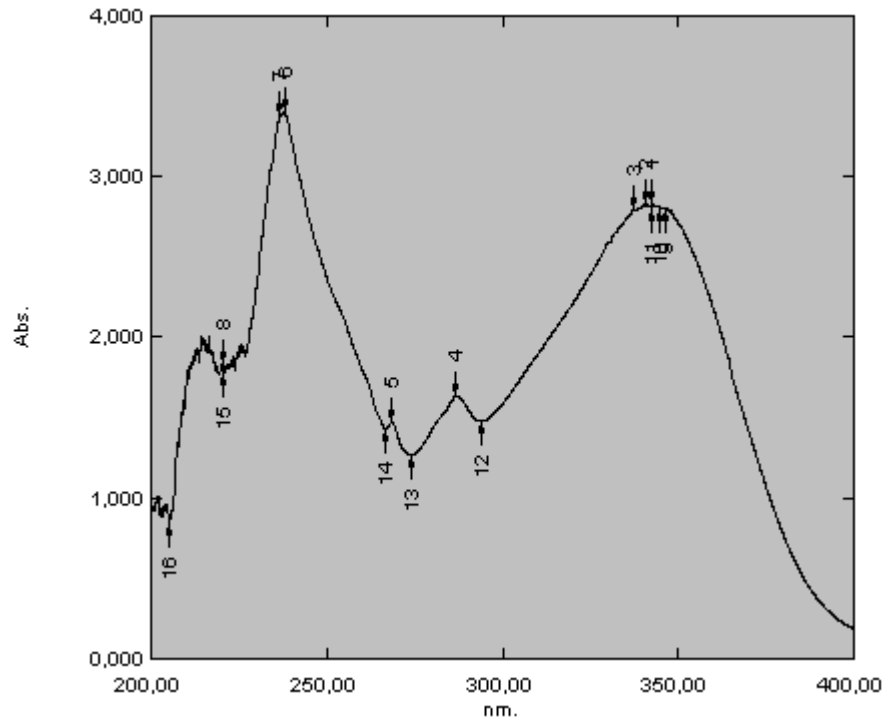
Sarı renkli olan CSA 2 bileşiği (3,8 mg) amorf halde elde edildi.

UV spektrumunda (MeOH) 342, 286, 268 ve 238 nm'de bantlar görüldü (Şekil 4-71), IR spektrumunda (MeOH) 3329 (O-H), 2959-2854 (C-H), 1730 (C=O), 1649-1516 (C=C) cm^{-1} de bantlar izlendi (Şekil 4-72).

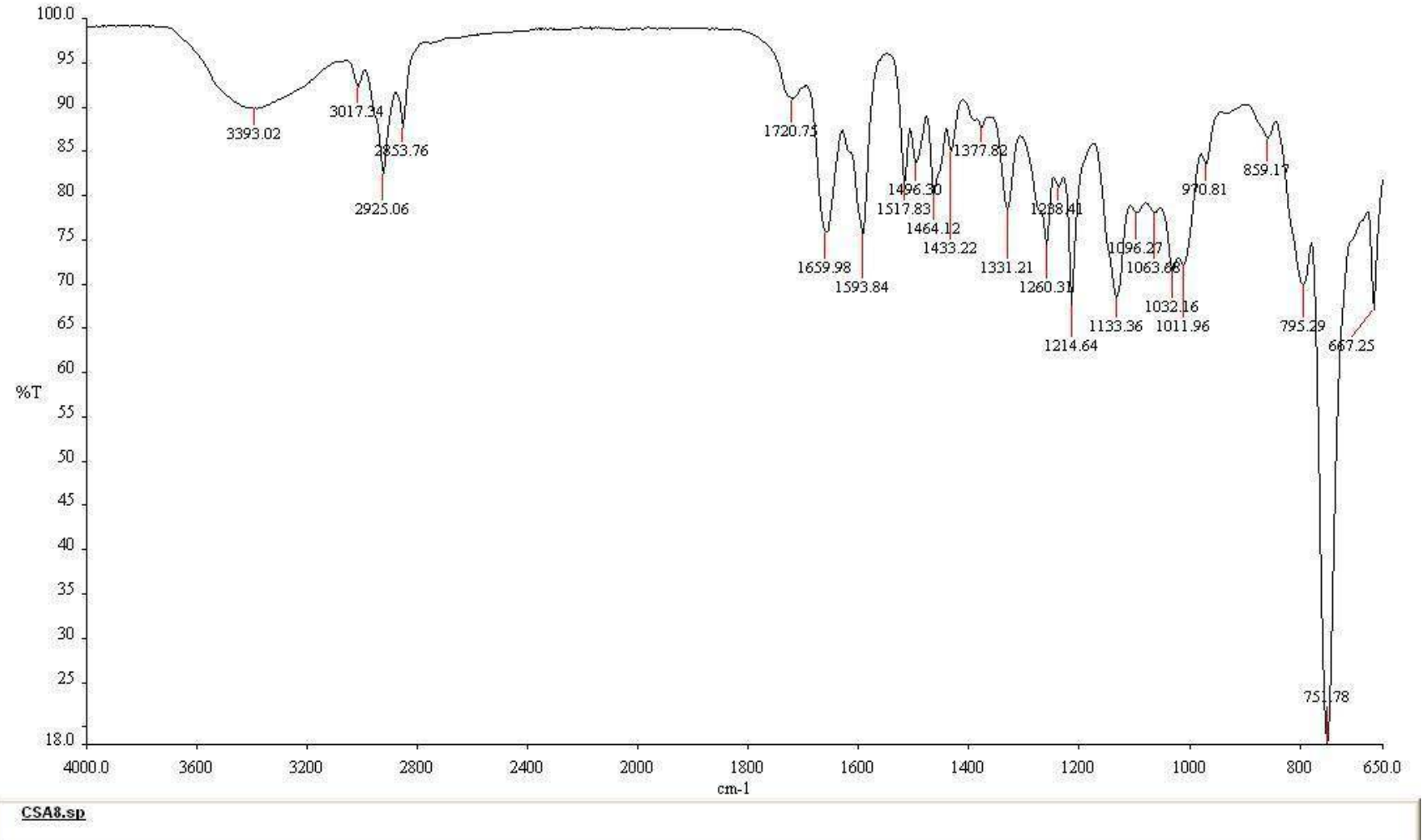
Tablo 4-12'de verilen ^{13}C -NMR, HMQC ve HMBC sonuçları literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında bileşiğin balanophonin olduğu belirlendi (Sy ve Brown 1999). Bu bileşik *Cirsium* türlerinden ilk kez elde edildi.

Tablo 4-12: CSA 2' in ^{13}C -NMR, HMQC ve HMBC Değerleri (CDCl_3 , J değerleri parantez içinde verildi)

Pozisyon	^{13}C -NMR	HMQC	HMBC
1	151,87	-	H-3, H-5
2	144,00	-	H-3, 2-OCH ₃
3	112,40	6,98 s	H-5, H-7
4	128,00	-	H-8
5	117,12	7,06 s	H-7
6	129,28	-	-
7	152,04	7,35 d (15,61 Hz)	H-3, H-5
8	125,57	6,54 dd (16,10; 7,80 Hz)	H-9
9	192,42	9,58 d (7,81 Hz)	H-7
1'	145,75	-	H-3', H-5', H-6'
2'	146,20	-	H-3', 2'-OCH ₃
3'	107,74	6,83 brs	H-5', H-7'
4'	132,72	-	H-3', H-5', H-6', H-7', H-8'
5'	118,43	6,83 brs	H-3', H-6', H-7'
6'	113,46	6,83 brs	H-5'
7'	87,97	5,58 d (6,83 Hz)	H-3', H-5', H-8', H-9'
8'	52,04	3,62 m	H-5, H-7'
9'	64,00	3,95 m	H-7', H-8'
2-OCH ₃	54,98	3,87 s	-
2'-OCH ₃	55,04	3,81 s	-



Şekil 4-71: Balanophonin' nin UV Spektrumu



Şekil 4-72: Balanophonin' nin IR Spektrumu

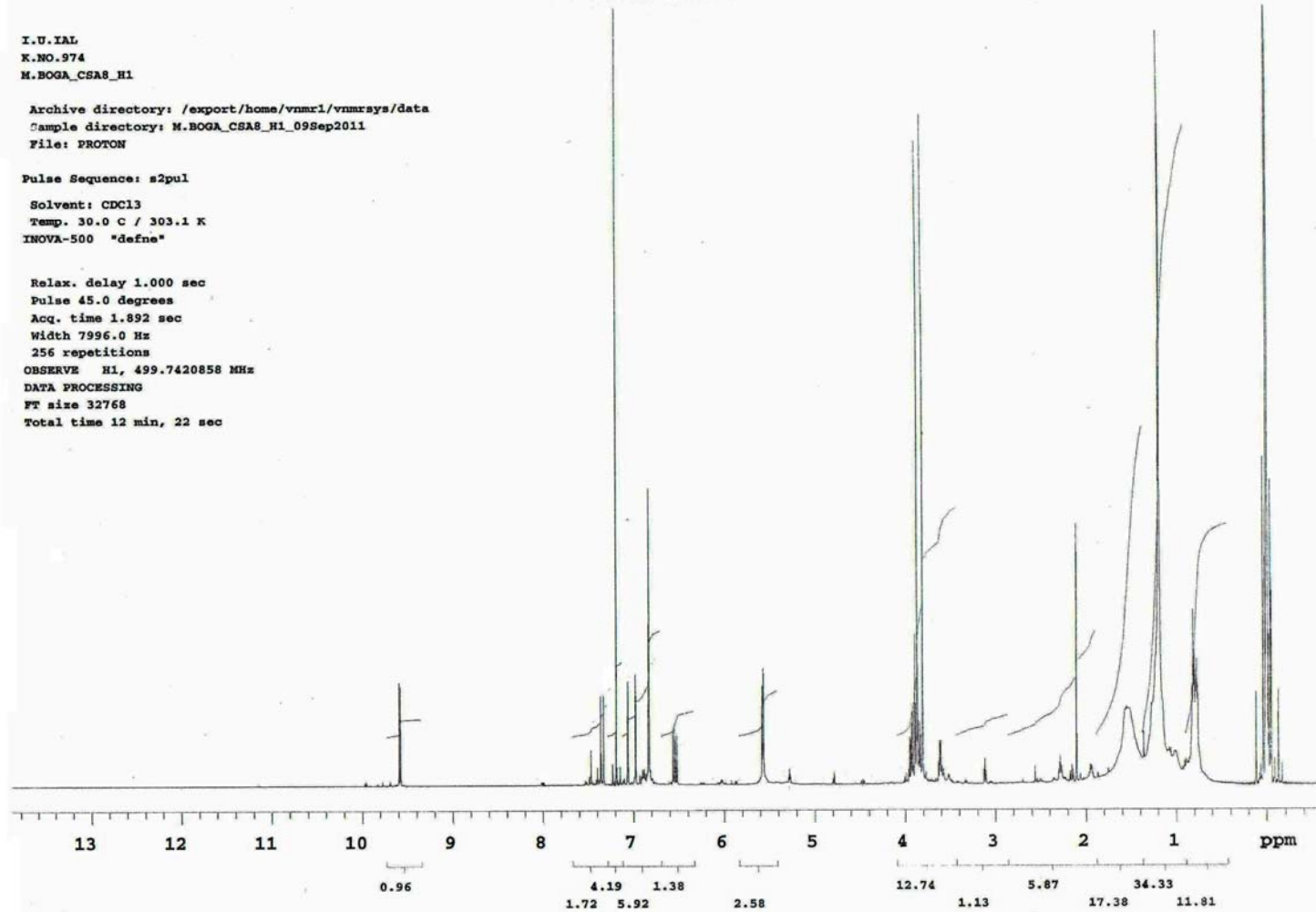
I.U.IAL
K.NO.974
M.BOGA_CSAS_H1

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory: M.BOGA_CSAS_H1_09Sep2011
File: PROTON

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: CDCl3
Temp. 30.0 C / 303.1 K
INOVA-500 "defne"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.892 sec
Width 7996.0 Hz
256 repetitions
OBSERVE H1, 499.7420858 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 12 min, 22 sec



Şekil 4-73: Balanophonin' nin ¹H-NMR Spektrumu (CDCl₃)

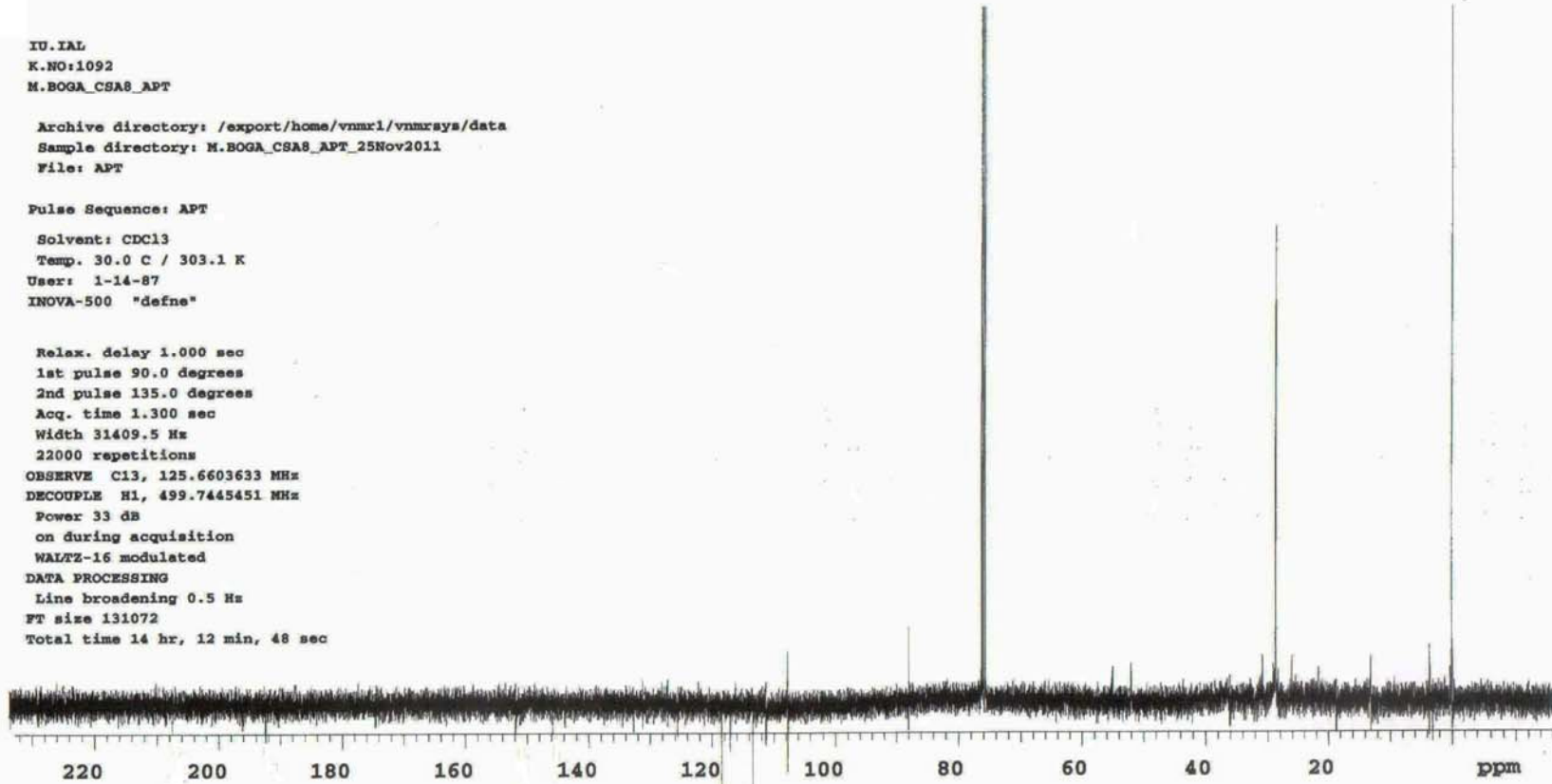
IU.IAL
K.NO:1092
M.BOGA_CSAS_APT

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory: M.BOGA_CSAS_APT_25Nov2011
File: APT

Pulse Sequence: APT

Solvent: CDCl₃
Temp. 30.0 C / 303.1 K
User: 1-14-87
INOVA-500 "defne"

Relax. delay 1.000 sec
1st pulse 90.0 degrees
2nd pulse 135.0 degrees
Acq. time 1.300 sec
Width 31409.5 Hz
22000 repetitions
OBSERVE C13, 125.6603633 MHz
DECOUPLE H1, 499.7445451 MHz
Power 33 dB
on during acquisition
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 131072
Total time 14 hr, 12 min, 48 sec



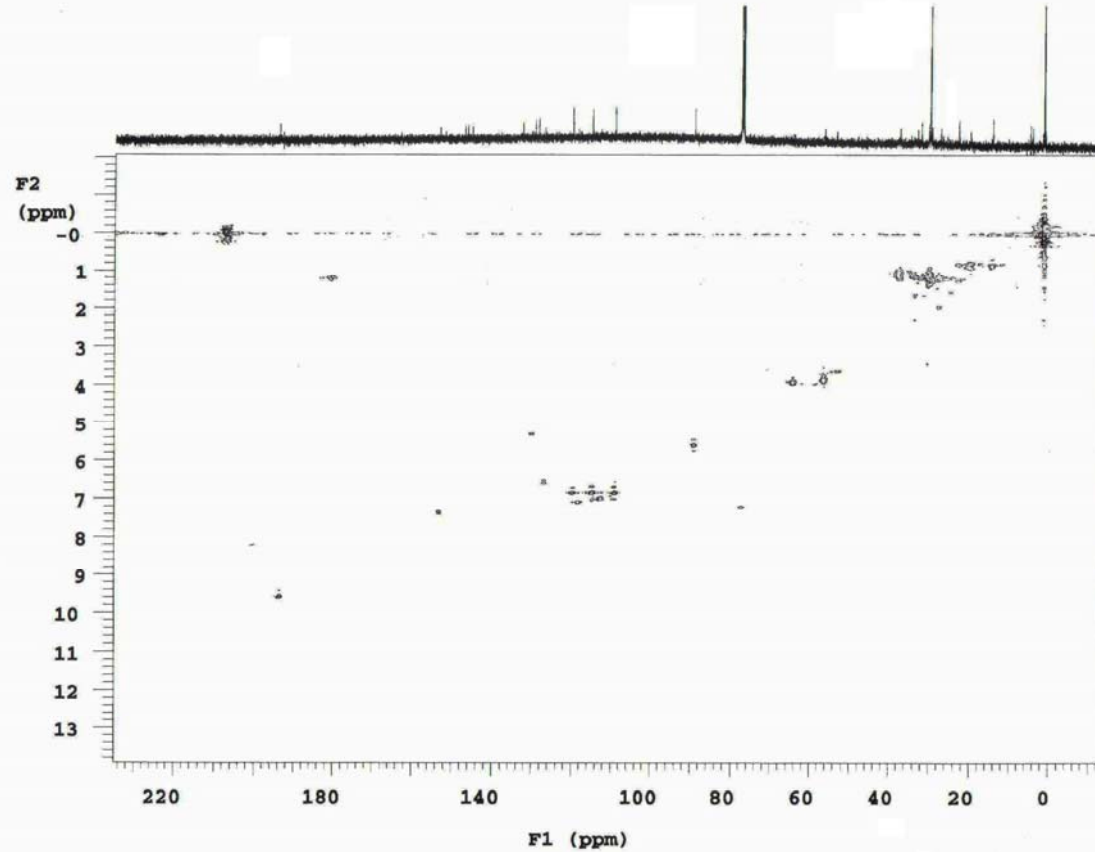
Şekil 4-74: Balanophonin' nin ¹³C-NMR (APT) Spektrumu (CDCl₃)

IU.IAL
K.NO:1092
M.BOGA_CSAS_2D

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory: M.BOGA_CSAS_2D_25Nov2011
File: gHMQC

Pulse Sequence: gHMQC
Solvent: CDCl3
Temp. 30.0 C / 303.1 K
User: 1-14-87
INOVA-500 "defne"

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.128 sec
Width 7996.0 Hz
2D Width 31409.5 Hz
128 repetitions
2 x 128 increments
OBSERVE H1, 499.7420053 MHz
DECOUPLE C13, 125.6740302 MHz
Power 44 dB
on during acquisition
off during delay
W40_ID_6435 modulated
DATA PROCESSING
Gauss apodization 0.059 sec
F1 DATA PROCESSING
Gauss apodization 0.011 sec
FT size 2048 x 2048
Total time 10 hr, 45 min, 44 sec



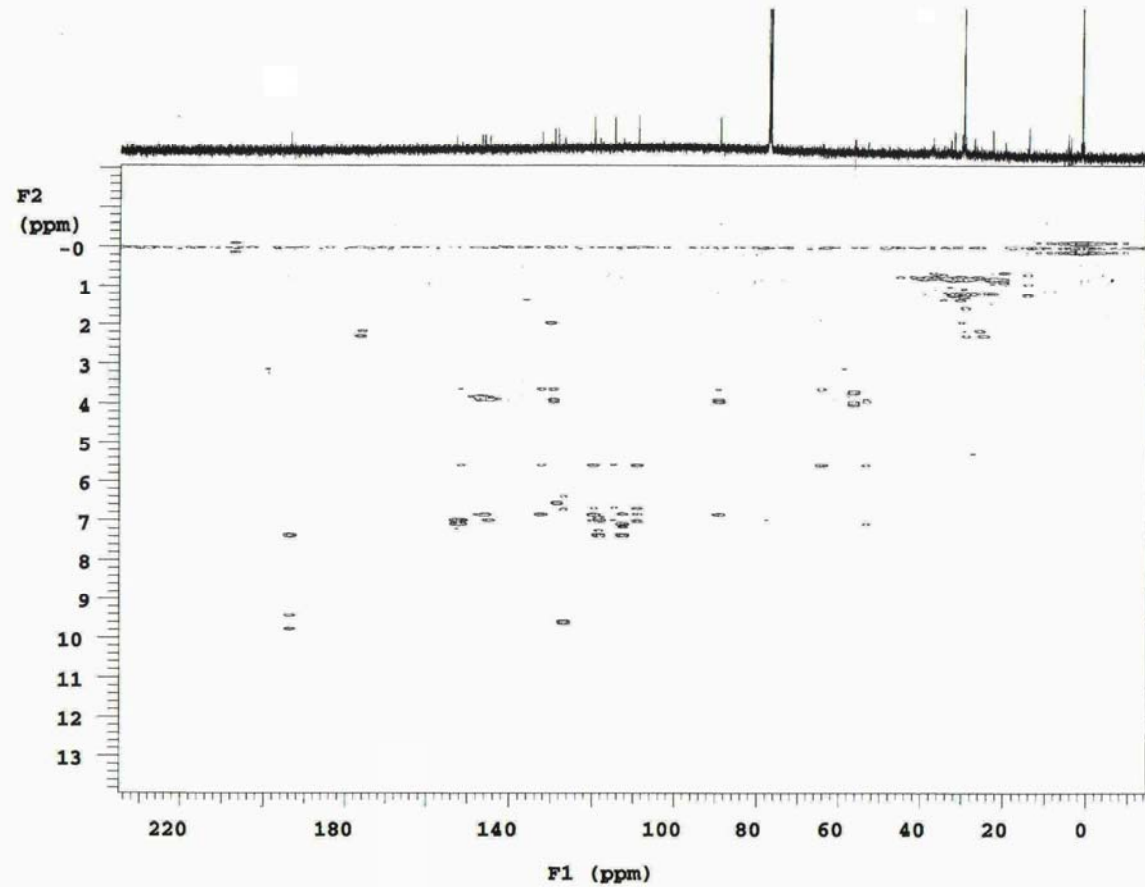
Şekil 4-75: Balanophonin' nin HMQC Spektrumu (CDCl₃)

IU-IAL
K.NO:1092
M.BOGA_CSA8_2D

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory: M.BOGA_CSA8_2D_25Nov2011
File: gHMBC

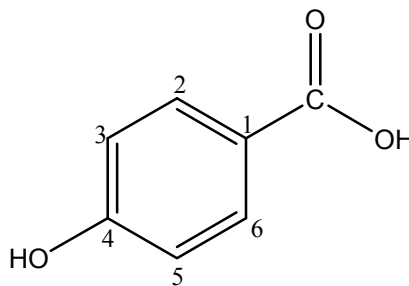
Pulse Sequence: gHMBC
Solvent: CDCl₃
Temp. 30.0 C / 303.1 K
User: 1-14-87
INOVA-500 "defne"

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.128 sec
Width 7996.0 Hz
2D Width 31409.5 Hz
128 repetitions
300 increments
OBSERVE H1, 499.7420853 MHz
DATA PROCESSING
Sine bell 0.064 sec
F1 DATA PROCESSING
Sine bell 0.003 sec
FT size 2048 x 2048
Total time 12 hr, 57 min, 58 sec



Şekil 4-76: Balanophonin' nin HMBC Spektrumu (CDCl₃)

4.4.5.3. CSA 3=*p*-Hidroksibenzoik asit



Şekil 4-77

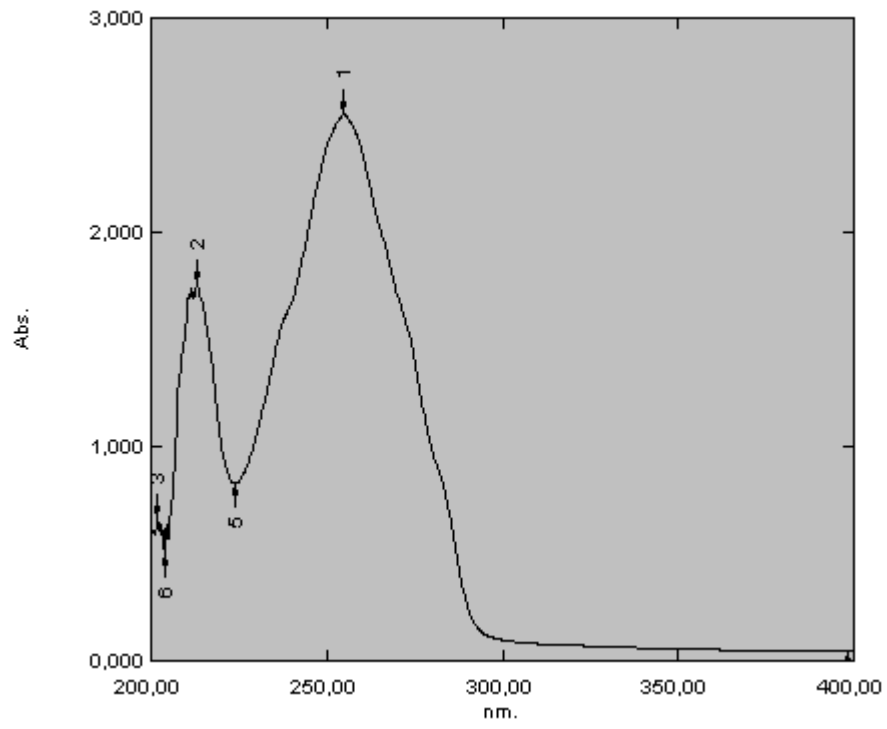
Beyaz renkli olan CSA 3 bileşiği (35,7 mg) amorf halde elde edildi.

UV spektrumunda (MeOH) 254 ve 213 nm’de bantlar görüldü (Şekil 4-78), IR spektrumunda (CH₃COCH₃) 3526, 3459 (O-H), 3023 (Aromatik C-H), 2825 (C-H), 1754 (C=O), 1657-1516 (C=C) cm⁻¹’de bantlar izlendi (Şekil 4-79).

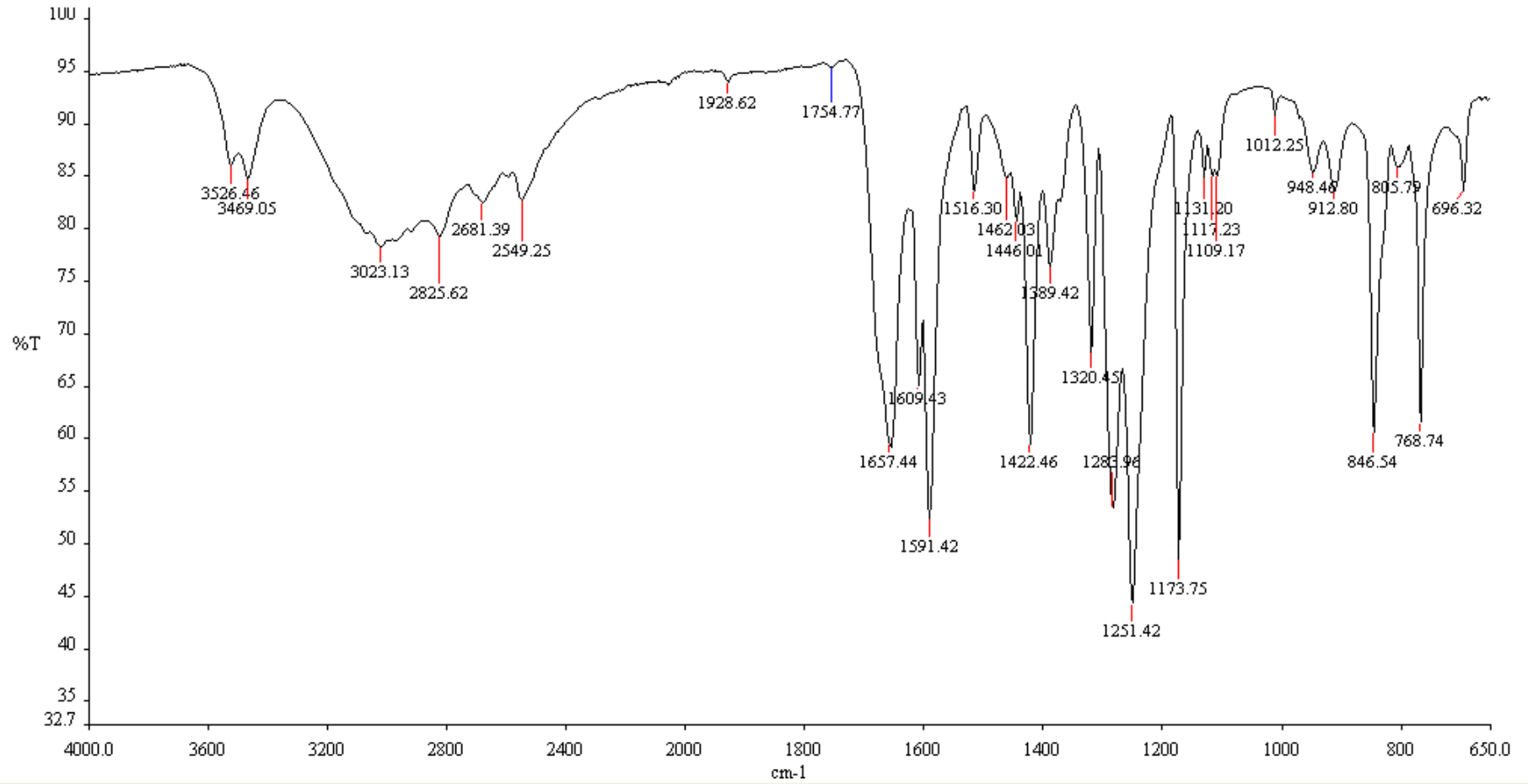
Tablo 4-13’ da verilen ¹³C-NMR, HSQC ve HMBC sonuçları literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında bileşiğin *p*-hidroksibenzoik asit olduğu belirlendi (Zhang ve ark. 2009).

Tablo 4-13: CSA 3’ nin ¹³C-NMR, HSQC ve HMBC Değerleri (CD₃OD, *J* değerleri parantez içinde verildi)

Pozisyon	¹³ C-NMR	HSQC	HMBC
1	122,91	-	H-2, H-3, H-5, H-6
2, 6	116,06	6,81 d (8,5 Hz)	H-2, H-3, H-5, H-6
3, 5	133,05	7,87 d (9,0 Hz)	H-3, H-5
4	163,39	-	H-2, H-3, H-5, H-6
COOH	170,16	-	-

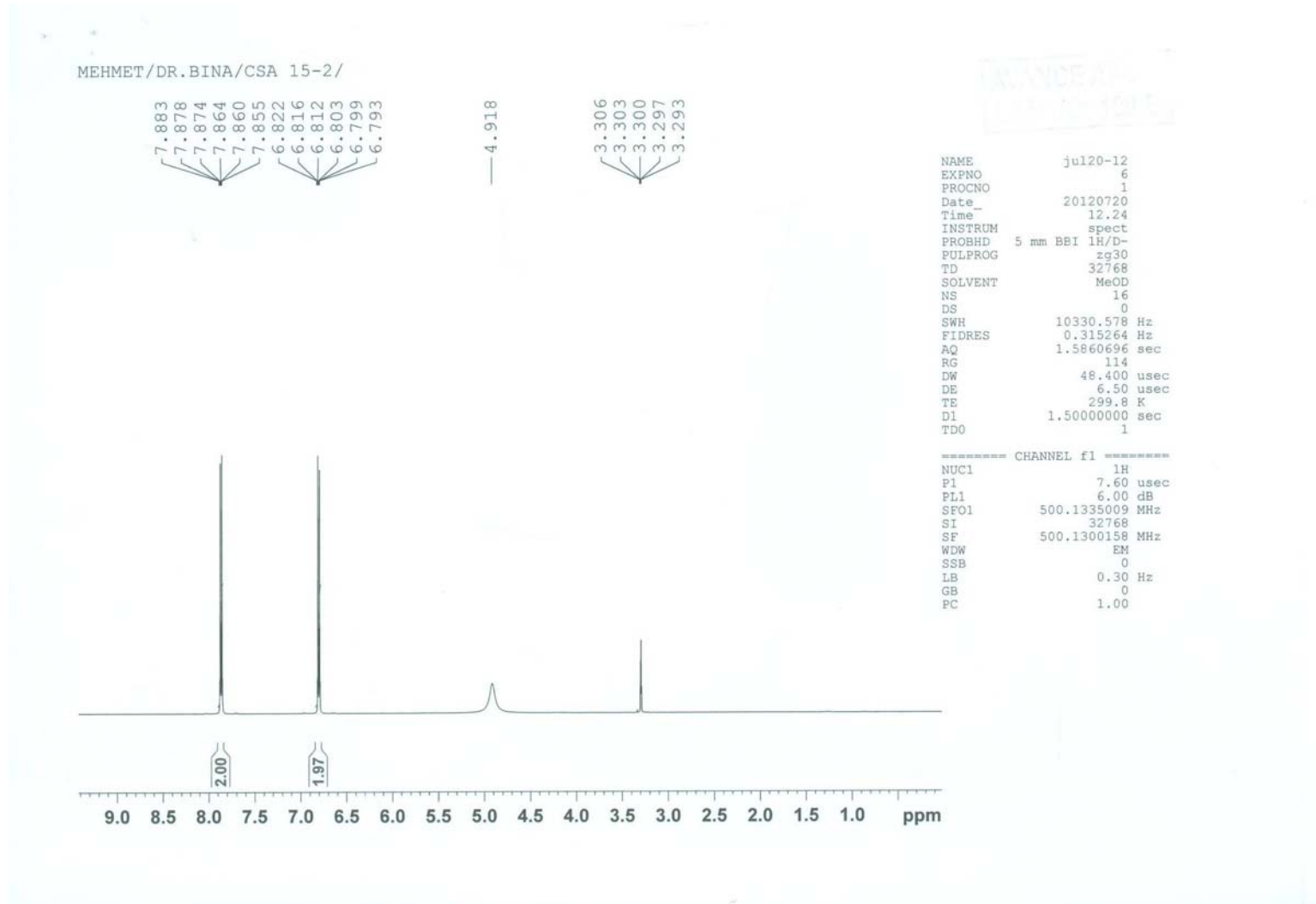


Şekil 4-78: *p*-Hidroksibenzoik Asit' in UV Spektrumu



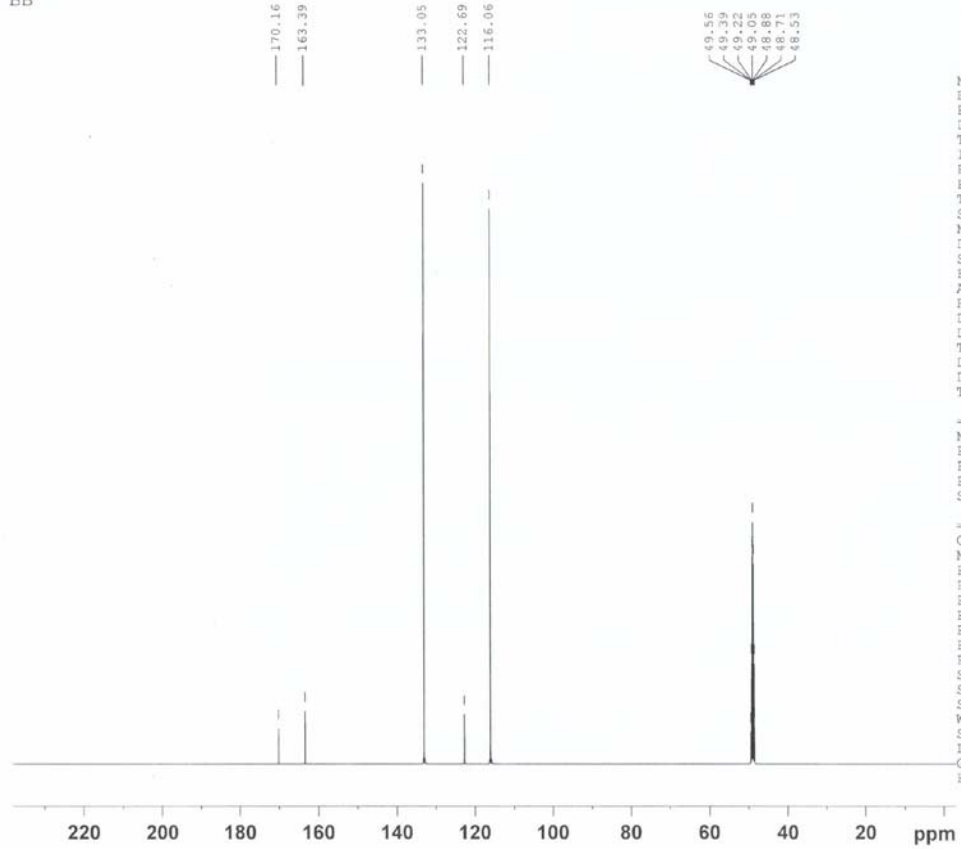
csa15-2.sp

Şekil 4-79: *p*-Hidroksibenzoik Asit' in IR Spektrumu



Şekil 4-80: *p*-Hidroksibenzoik Asit' in ^1H -NMR Spektrumu (CD_3OD)

MEHMET/DR.BINA/CSA15-2/
BB



AVANCE AV-500
17 AUG 2012 13:33

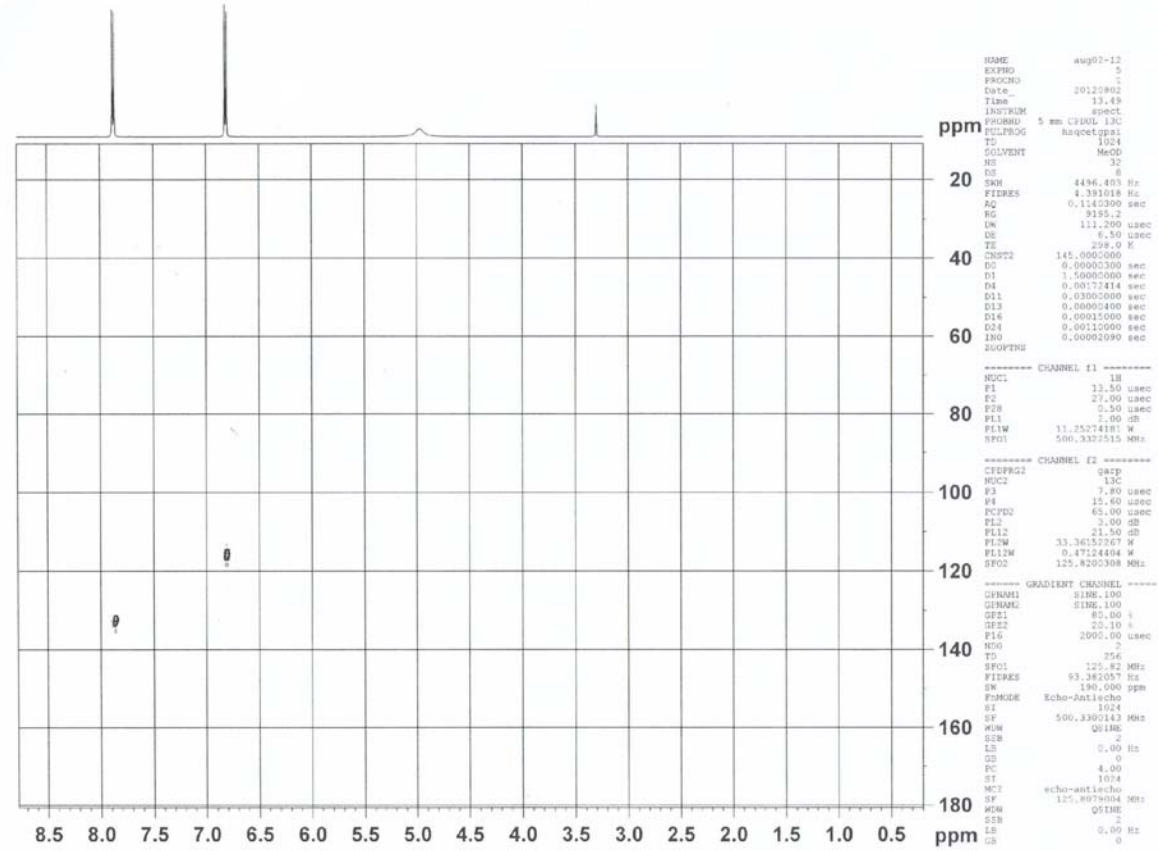
NAME aug02-12
EXPNO 7
PROCNO 1
Date_ 20120802
Time 23.52
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm CPDCL 13C
PULPROG zgpg
TD 32768
SOLVENT MeOD
NS 8192
DS 2
SWH 30303.031 Hz
FIDRES 0.924775 Hz
AQ 0.5407385 sec
RG 32768
DW 16.500 usec
DE 6.50 usec
TE 295.6 K
D1 1.50000000 sec
D11 0.03000000 sec
TD0 8

----- CHANNEL f1 -----
NUC1 13C
P1 7.80 usec
PL1 3.00 dB
PL1W 33.36152267 W
SFO1 125.8226727 MHz

----- CHANNEL f2 -----
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 80.00 usec
PL2 2.00 dB
PL12 17.46 dB
PL13 24.00 dB
PL2W 11.25274161 W
PL12W 0.32007992 W
PL13W 0.07100000 W
SFO2 500.3335023 MHz
SI 32768
SF 125.8079004 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.50 Hz
GB 0
PC 1.40

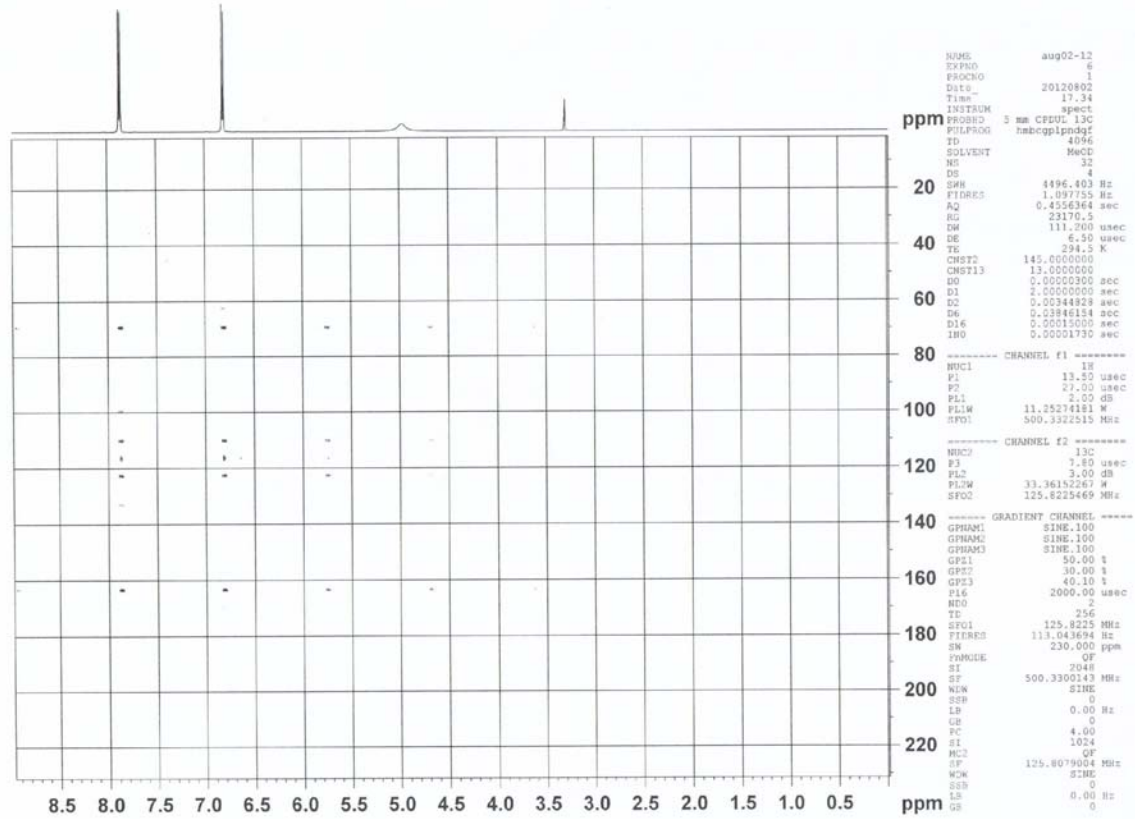
Şekil 4-81: *p*-Hidroksibenzoik Asit' in ^{13}C -NMR (BB) Spektrumu (CD_3OD)

MEHMET/DR.BINA/CSA15-2/
HSQC



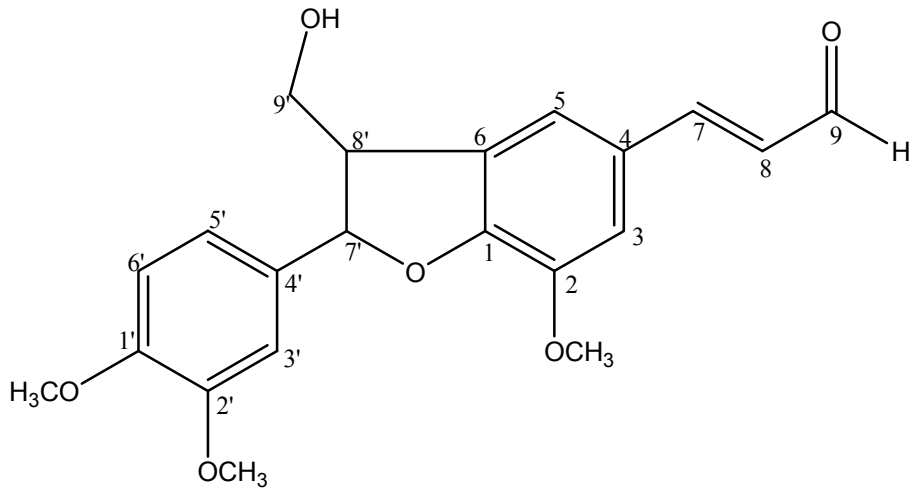
Şekil 4-82: *p*-Hidroksibenzoik Asit' in HSQC Spektrumu (CD₃OD)

MEHMET/DR.BINA/CSA15-2/
HMBC



Şekil 4-83: *p*-Hidroksibenzoik Asit' in HMBC Spektrumu (CD₃OD)

4.4.5.4. CSA 4=1'-O-Metilbalanophonin



Şekil 4-84

Sarı renkli olan CSA 4 bileşiği (2,7 mg) amorf halde elde edildi.

UV spektrumunda (MeOH) 342, 284 ve 213 nm'de bantlar görüldü (Şekil 4-85). IR spektrumunda (CH_3COCH_3) 3018 (Aromatik C-H), 2958-2854 (C-H), 1727 (C=O), 1655-1516 (C=C) cm^{-1} 'de bantlar izlendi (Şekil 4-86).

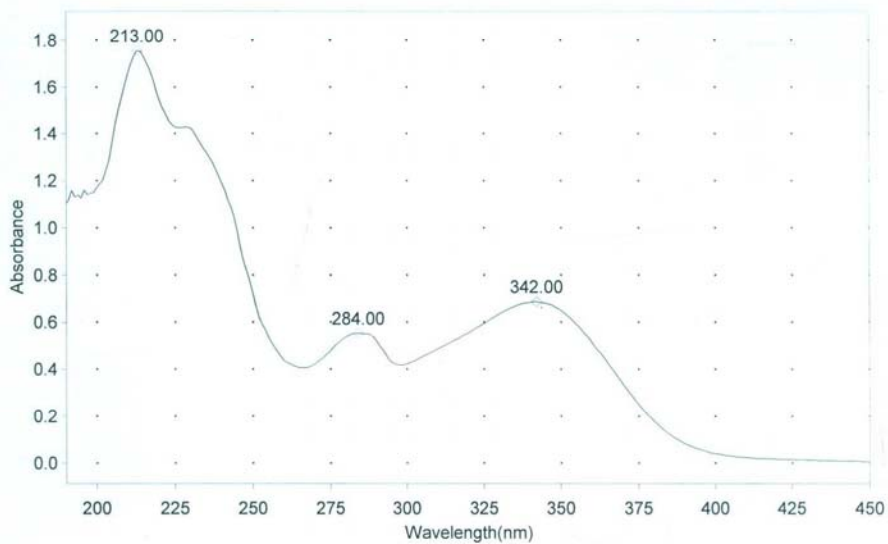
Tablo 4-14' da verilen ^{13}C -NMR, HSQC ve HMBC sonuçları literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında bileşiğin 1'-O-metilbalanophonin olduğu belirlendi (Ho ve ark. 2004). Bu bileşik Asteraceae familyasından ve *Cirsium* türlerinden ilk kez elde edildi.

Tablo 4-14: CSA 4' ün ^{13}C -NMR, HSQC ve HMBC Değerleri (CD_3COCD_3 , J değerleri parantez içinde verildi)

Pozisyon	^{13}C -NMR	HSQC	HMBC
1	-	-	-
2	148,22	-	H-3, 2- OCH ₃
3	109,99	7,20 d (2,0 Hz)	H-5
4	-	-	-
5	127,03	7,25 d (2,0 Hz)	H-7
6	-	-	-
7	154,84	7,51 dd (15,61; 2,44 Hz)	H-3
8	126,77	6,60 q (15,61; 7,81 Hz)	H-7, H-9
9	192,57	9,61 d (7,32 Hz)	H-8
1'	148,22	-	H-3', H-5', H-6'
2'	148,22	-	-
3'	110,29	6,98 d (2,0 Hz)	H-5', H-7'
4'	-	-	-
5'	119,34	6,83 dd (8,0; 2,0 Hz)	H-3', H-7'
6'	115,56	6,75 d (8,0 Hz)	H-5'
7'	88,26	5,49 d (7,0 Hz)	H-3'
8'	54,93	3,42 m	H-5, H-7'
9'	63,12	3,95 m	H-8'
OCH ₃	56,15	3,72 s	-
OCH ₃	56,31	3,89 s	-
OCH ₃	56,15	3,79 s	-

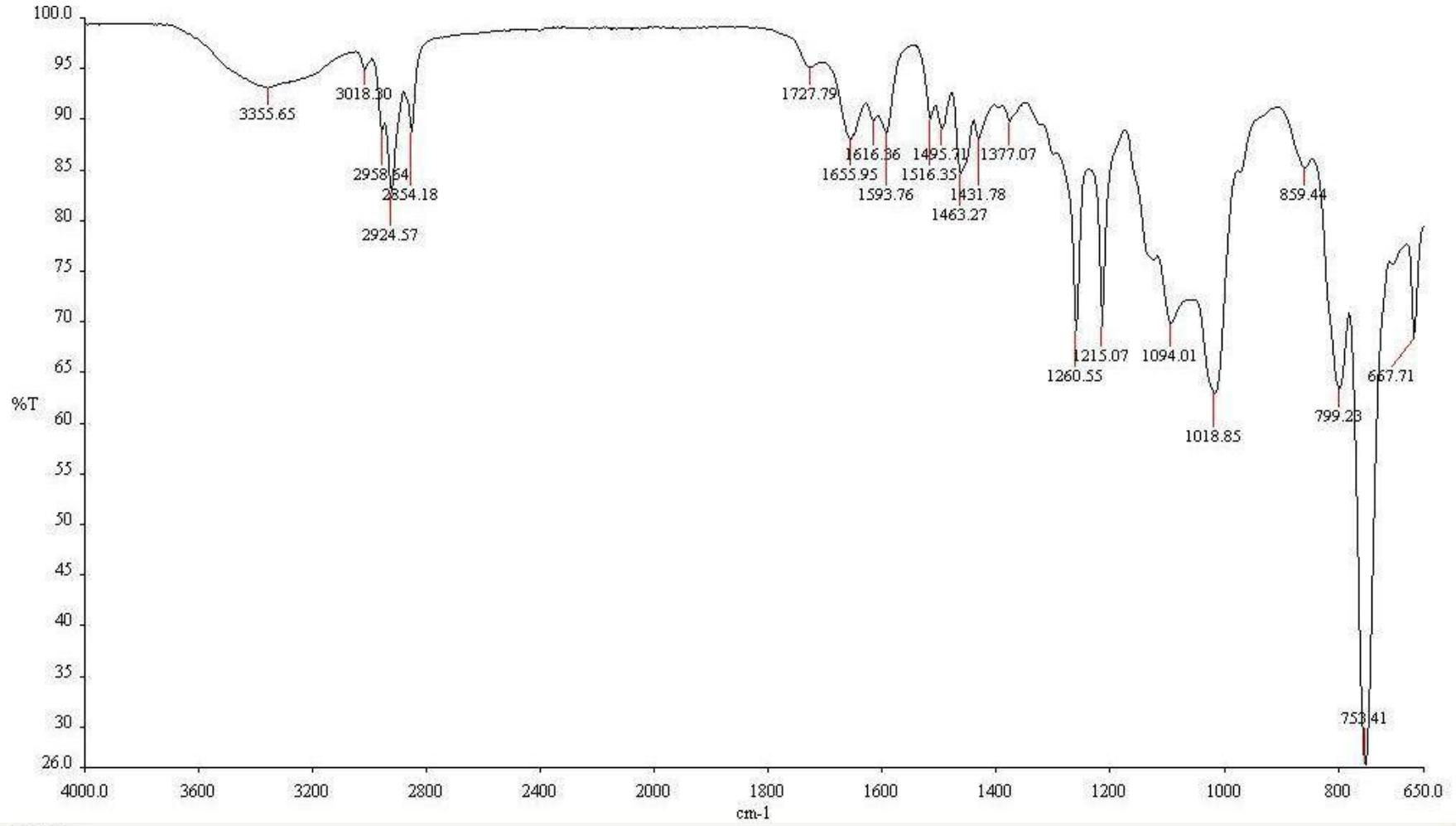
THERMO ELECTRON ~ VISIONpro SOFTWARE V4.10

Operator Name ARSHAD ALAM Date of Report 6/23/2012
Department Analytical Laboratory TWC-001 Time of Report 9:35:41AM
Organization ICCBS, Karachi University
Information UV / UV - Visible Scanning

Scan Graph**Results Table - scan005.sre,csa-16,Cycle01**

nm	A	Peak Pick Method
213.00	1.755	Find 8 Peaks Above -3.0000 A
284.00	0.552	Start Wavelength 190.00 nm
342.00	0.686	Stop Wavelength 450.00 nm
		Sort By Wavelength
Sensitivity	Medium	

Şekil 4-85: 1'-O-Metilbalanophonin' nin UV Spektrumu

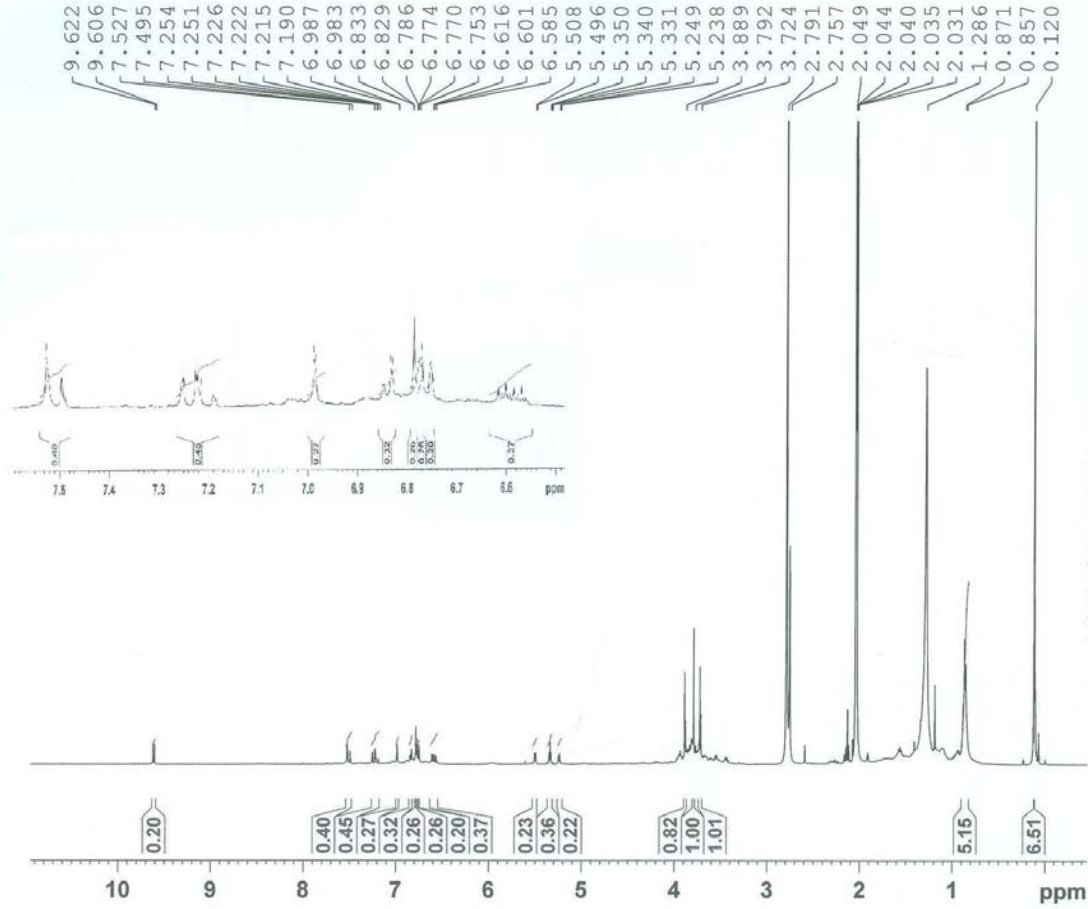


CSA16.sp

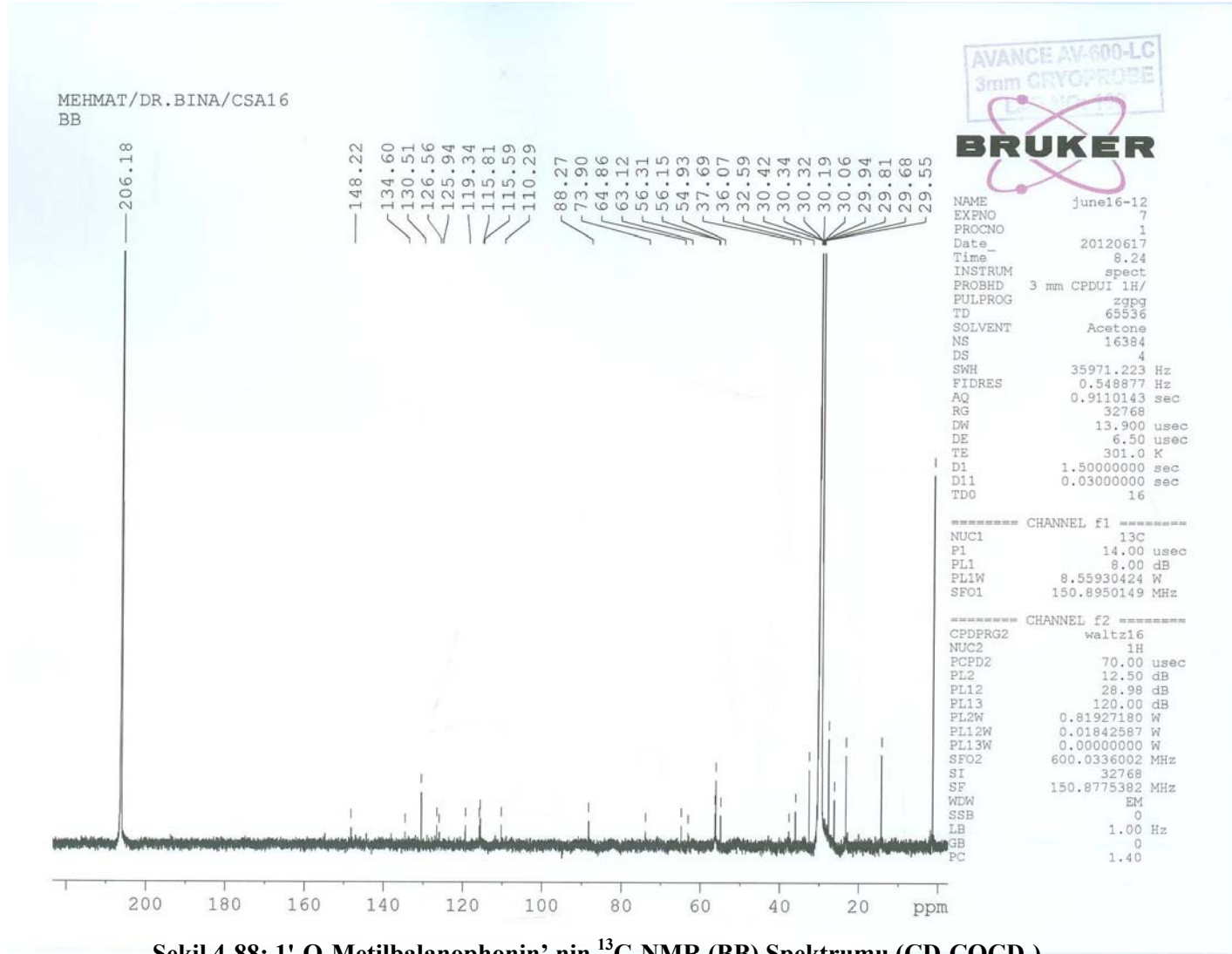
Şekil 4-86: 1'-O-Metilbalanophonin' nin IR Spektrumu

MEHMET/DR. BINA/CSA16/

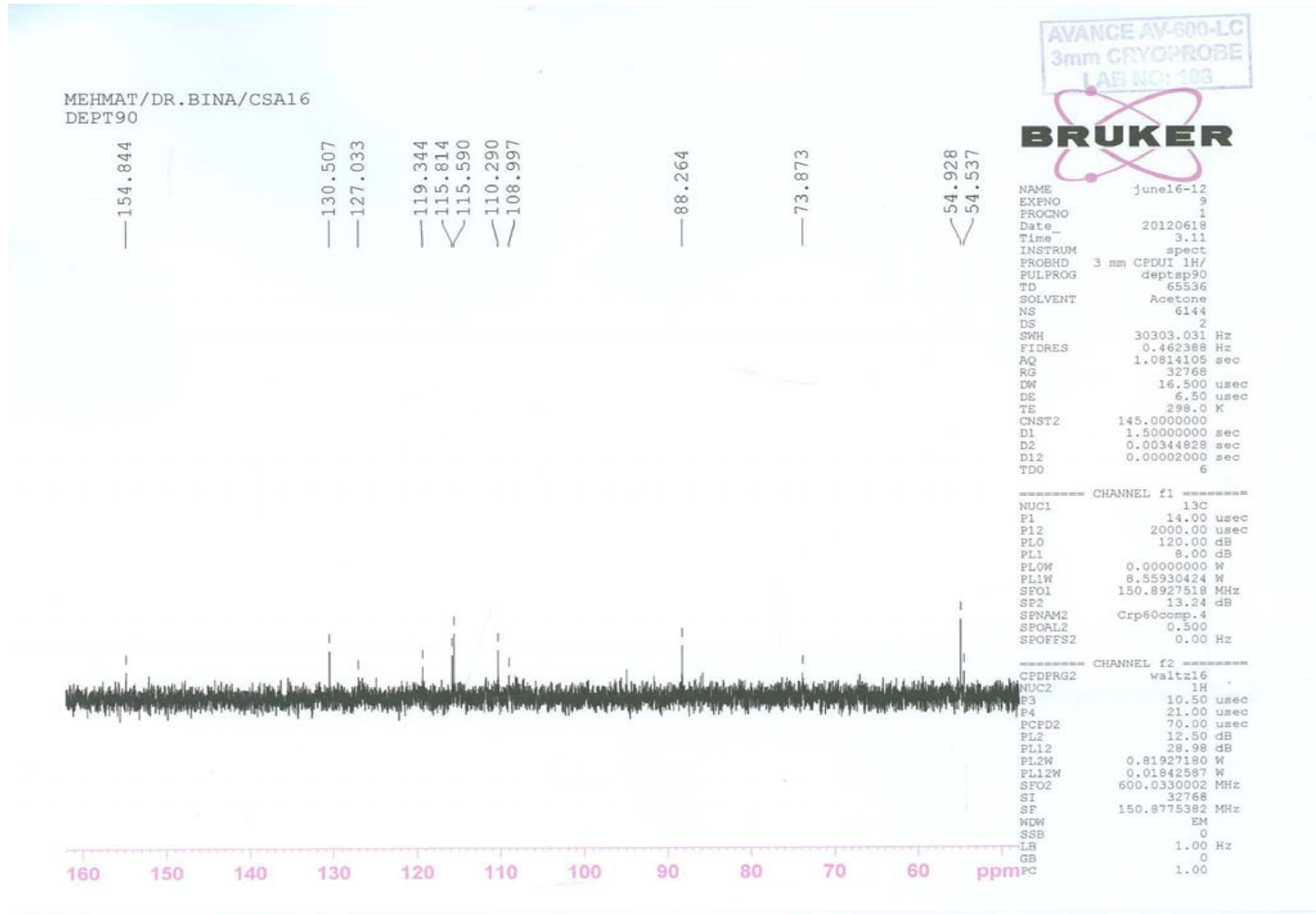
AVANCE AV-500
LAB NO: 109-B



Şekil 4-87: 1'-O-Metilbalanophonin' nin ¹H-NMR Spektrumu (CD₃COCD₃)



Şekil 4-88: 1'-O-Metilbalanophonin' nin ^{13}C -NMR (BB) Spektrumu (CD_3COCD_3)

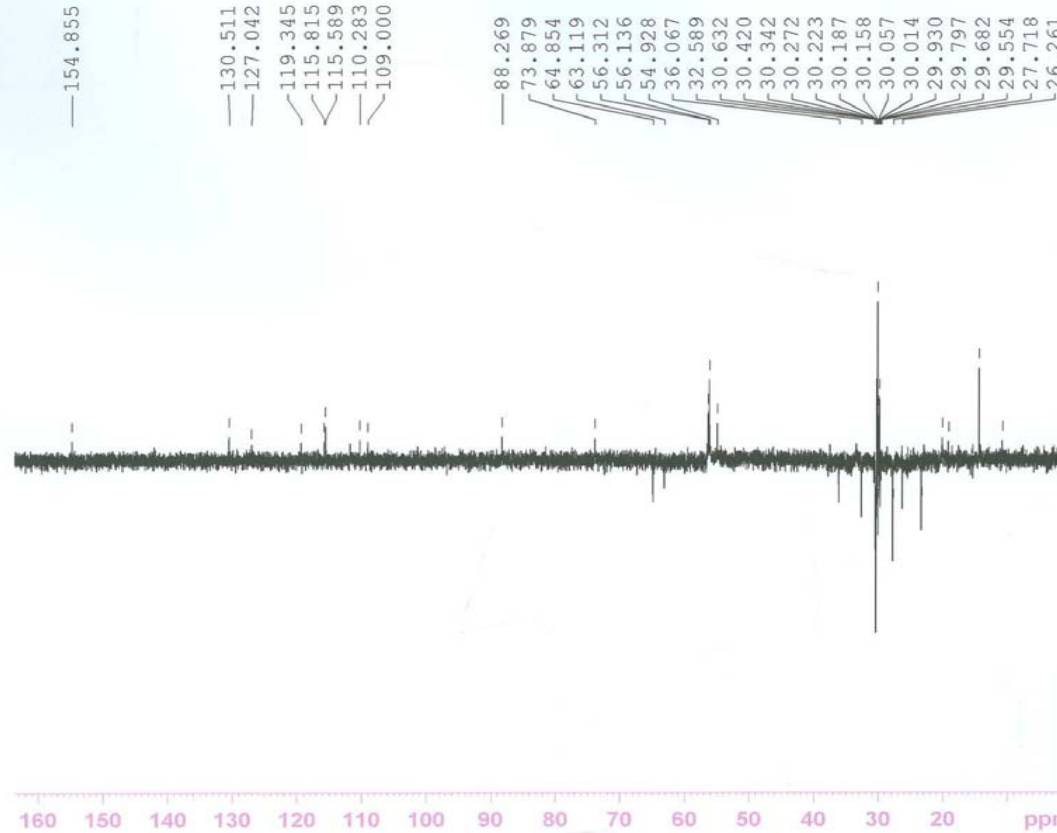


Şekil 4-89: 1'-O-Metilbalanophonin' nin ¹³C-NMR (DEPT 90) Spektrumu (CD₃COCD₃)

MEHMAT/DR. BINA/CSA16
DEPT135

AVANCE AV-600-LC
3mm CRYOPROBE
LAB NO: 108

BRUKER

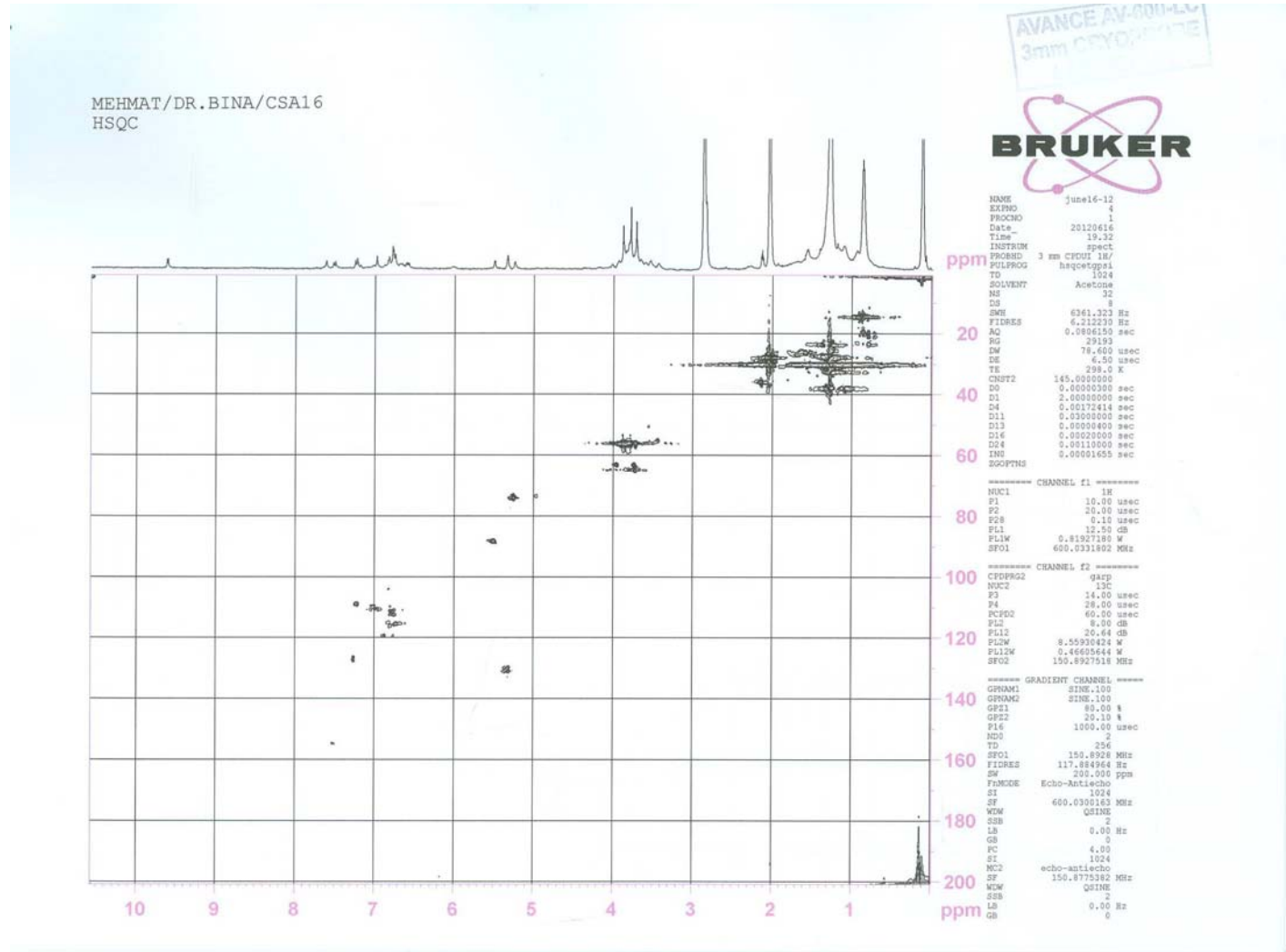


NAME June16-12
EXPNO 8
PROCNO 1
Date_ 20120617
Time 19:43
INSTRUM spect
PROBHD 3 mm CPDUI 1H/
PULPROG deptsp135
TD 65536
SOLVENT Acetone
NS 10240
DS 2
SWH 30303.031 Hz
FIDRES 0.462388 Hz
AQ 1.0814105 sec
RG 32768
DW 16.500 usec
DE 6.50 usec
TE 298.0 K
CNST2 145.0000000
D1 1.50000000 sec
D2 0.00344828 sec
D12 0.00002000 sec
TD0 10

----- CHANNEL f1 -----
NUC1 13C
P1 14.00 usec
PL2 2000.00 usec
PL0 120.00 dB
PL1 8.00 dB
PL0W 0.00000000 W
FL1W 8.55930424 W
SFO1 150.8927518 MHz
SP2 13.24 dB
SFO2 600.0330002 MHz
SI 32768
SF 150.8775382 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40

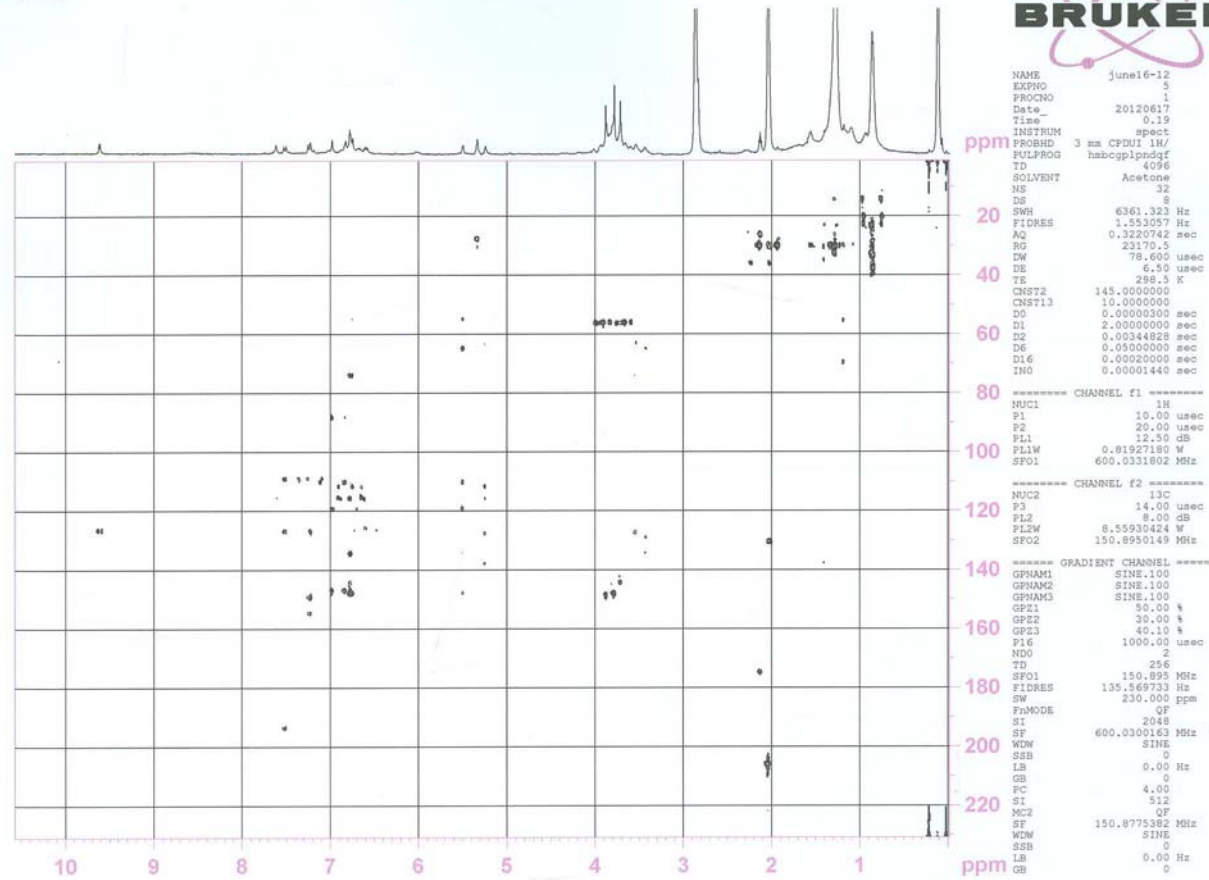
----- CHANNEL f2 -----
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
P3 10.50 usec
P4 21.00 usec
PCPD2 70.00 usec
PL2 12.50 dB
PL12 28.98 dB
PL2W 0.81927180 W
PL12W 0.01842587 W
SFO2 600.0330002 MHz
SI 32768
SF 150.8775382 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40

Şekil 4-90: 1'-O-Metilbalanophonin' nin ¹³C-NMR (DEPT 135) Spektrumu (CD₃COCD₃)



Şekil 4-91: 1'-O-Metilbalanophonin' nin HSQC Spektrumu (CD₃COCD₃)

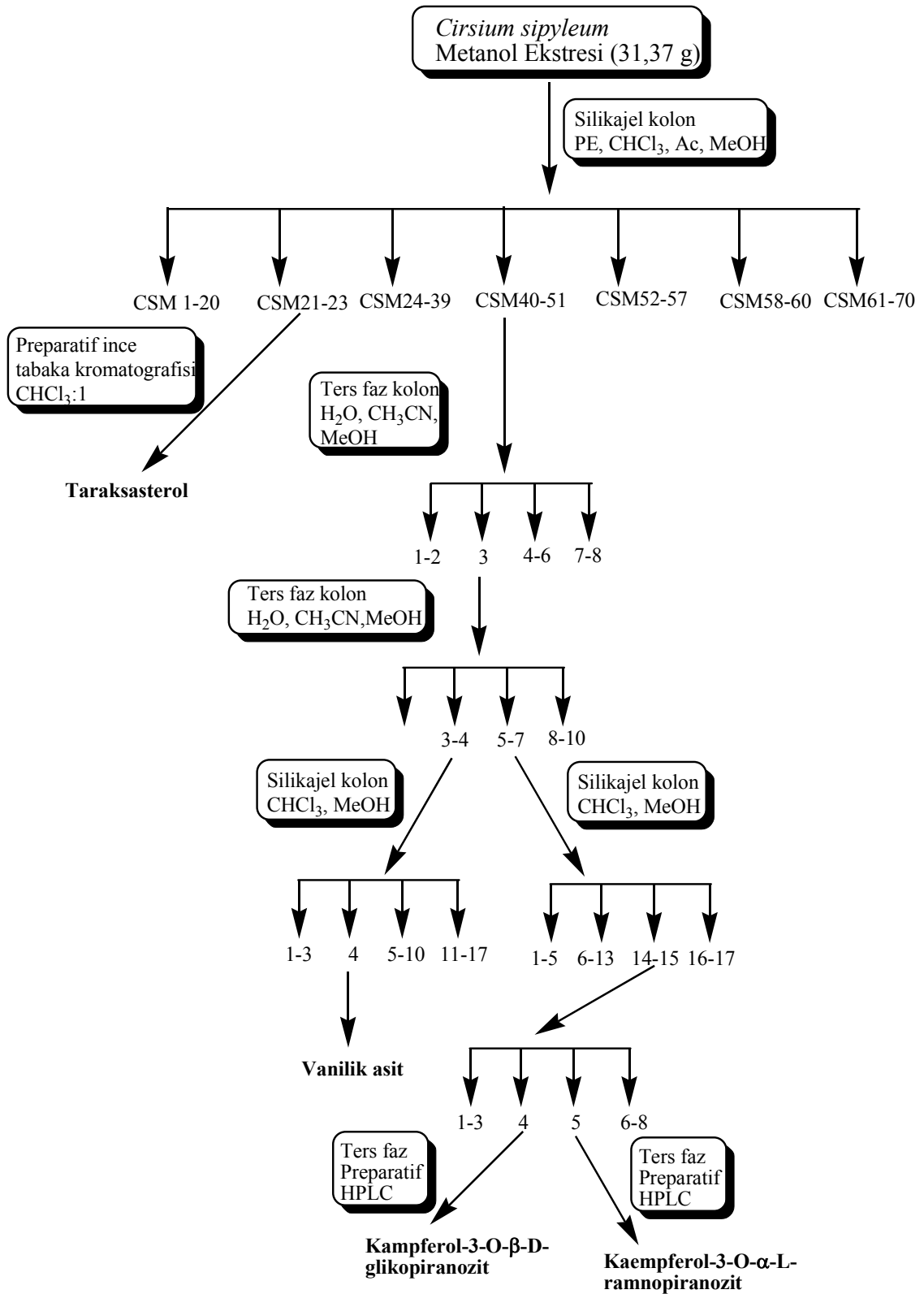
MEHMAT/DR. BINA/CSA16
HMBC



Şekil 4-92: 1'-O-Metilbalanophonin' nin HMBC Spektrumu (CD₃COCD₃)

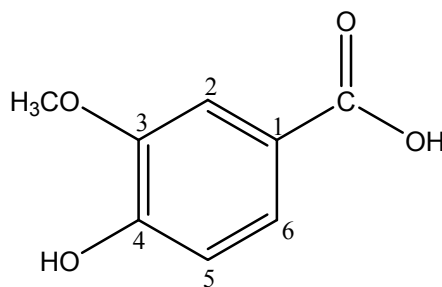
4.4.6. *Cirsium sipyleum* Bitkisinin Metanol Ekstresinin (CSM) Fraksiyonlandırılması

CSM silika jel içeren sütunda fraksiyonlandırıldı. Elüsyona %100 petrol eteri ile başlandı ve elüsyona %5 çözücü polaritesi arttırılarak sırasıyla kloroform, aseton ve metanol ile devam edildi, %100 metanole ulaşılnca elüsyon tamamlandı. İTK ile benzer fraksiyonlar birleştirildi. Toplam 7 fraksiyon elde edildi. Bu fraksiyonlardan silika jel ve ters faz sütun, silika jel preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemleri ve preparatif HPLC kullanılarak CSM1 (vanilik asit), CSM2 (kampferol-3-O- β -D-glikopiranozit), CSM3 (kampferol-3-O- α -L-ramnopiranozit) ve taraksasterol elde edildi. Saf bileşiklerin yapı tayinleri spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatıldı.



Şekil 4-93: *Cirsium sipyleum* Metanol Ekstresinin İzolasyon Şeması

4.4.6.1. CSM 1= Vanilik asit



Şekil 4-94

Beyaz renkli olan CSM 1 bileşiği (7,2 mg) amorf halde elde edildi.

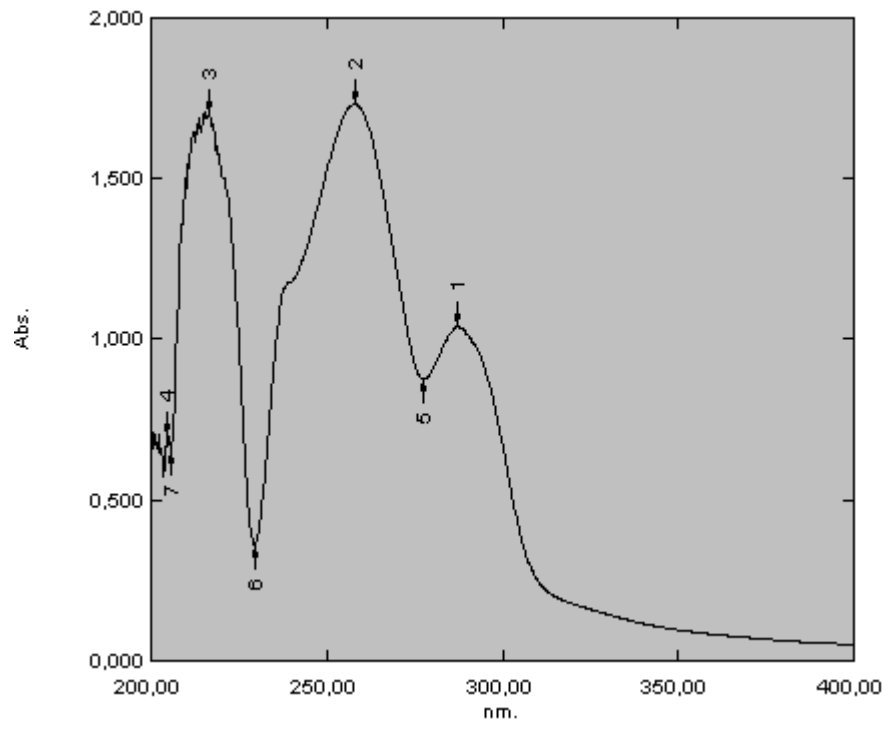
UV spektrumunda (MeOH) 287, 258 ve 216 nm’de bantlar görüldü (Şekil 4-95). IR spektrumunda (CH_3COCH_3) 3343 (O-H), 2922-2851 (C-H), 1664-1517 (C=C) cm^{-1} , de bantlar izlendi (Şekil 4-96).

EI-MS spektrumunda m/z 168 $[\text{M}]^+$ piki $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$ yapısını belirtti (Şekil 4-103).

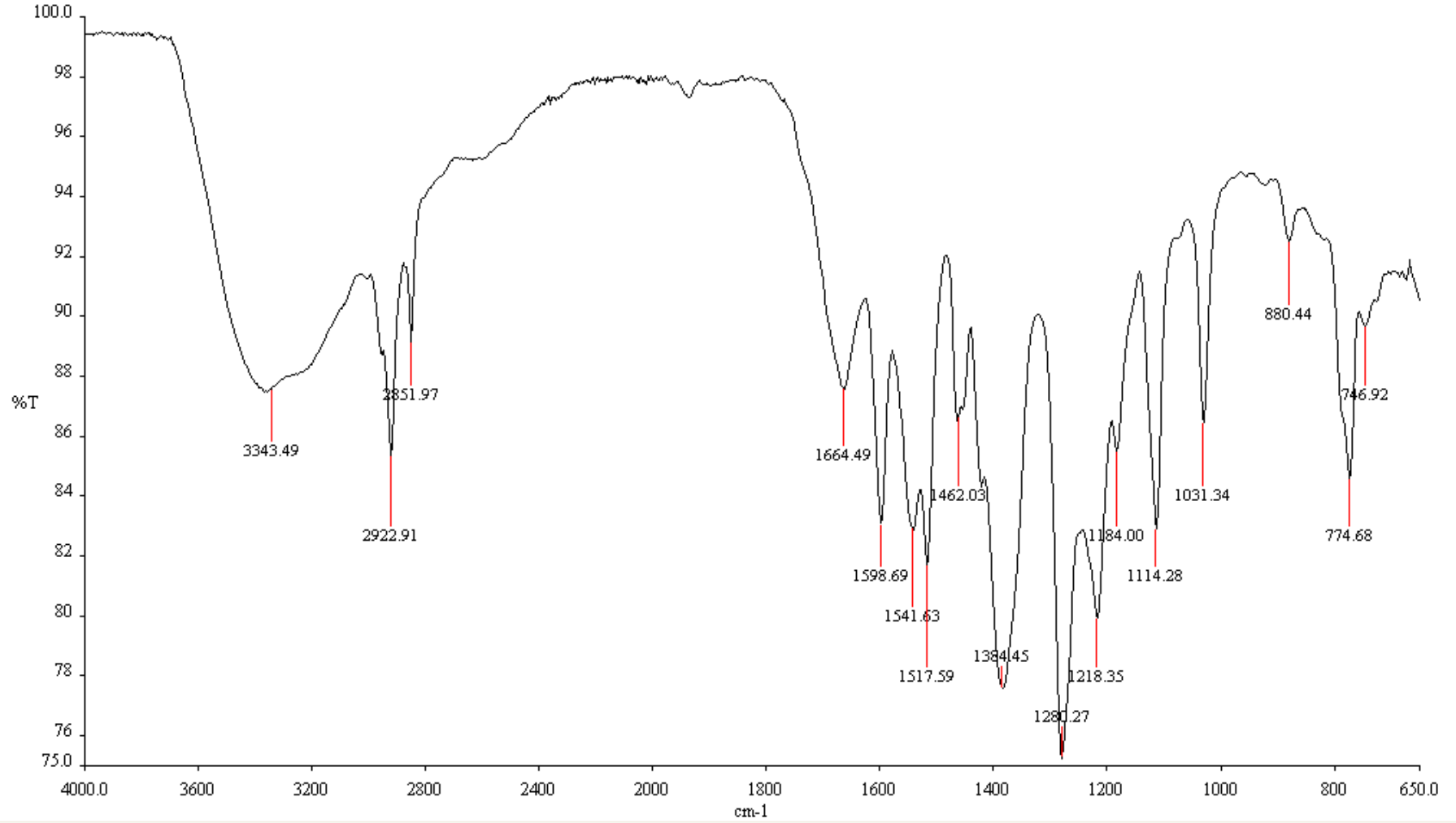
Tablo 4-15’ de verilen ^{13}C -NMR, HSQC ve HMBC sonuçları literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında bileşiğin vanilik asit olduğu belirlendi (Zhang ve ark. 2009).

Tablo 4-15: CSM 10’ nun ^{13}C -NMR, HSQC ve HMBC Değerleri (CD_3OD , J değerleri parantez içinde verildi)

Pozisyon	^{13}C -NMR	HSQC	HMBC
1		-	-
2	115,74	7,55 d (1,8 Hz)	H-5
3	148,58	-	H-2, H-5, OCH_3
4	152,35	-	H-5, H-6
5	113,81	6,82 d (8,4 Hz)	H-6
6	125,14	7,52 dd (8,4; 1,8Hz)	H-2, H-5
OCH_3	56,36	3,88 s	-
COOH	170,16	-	H-6

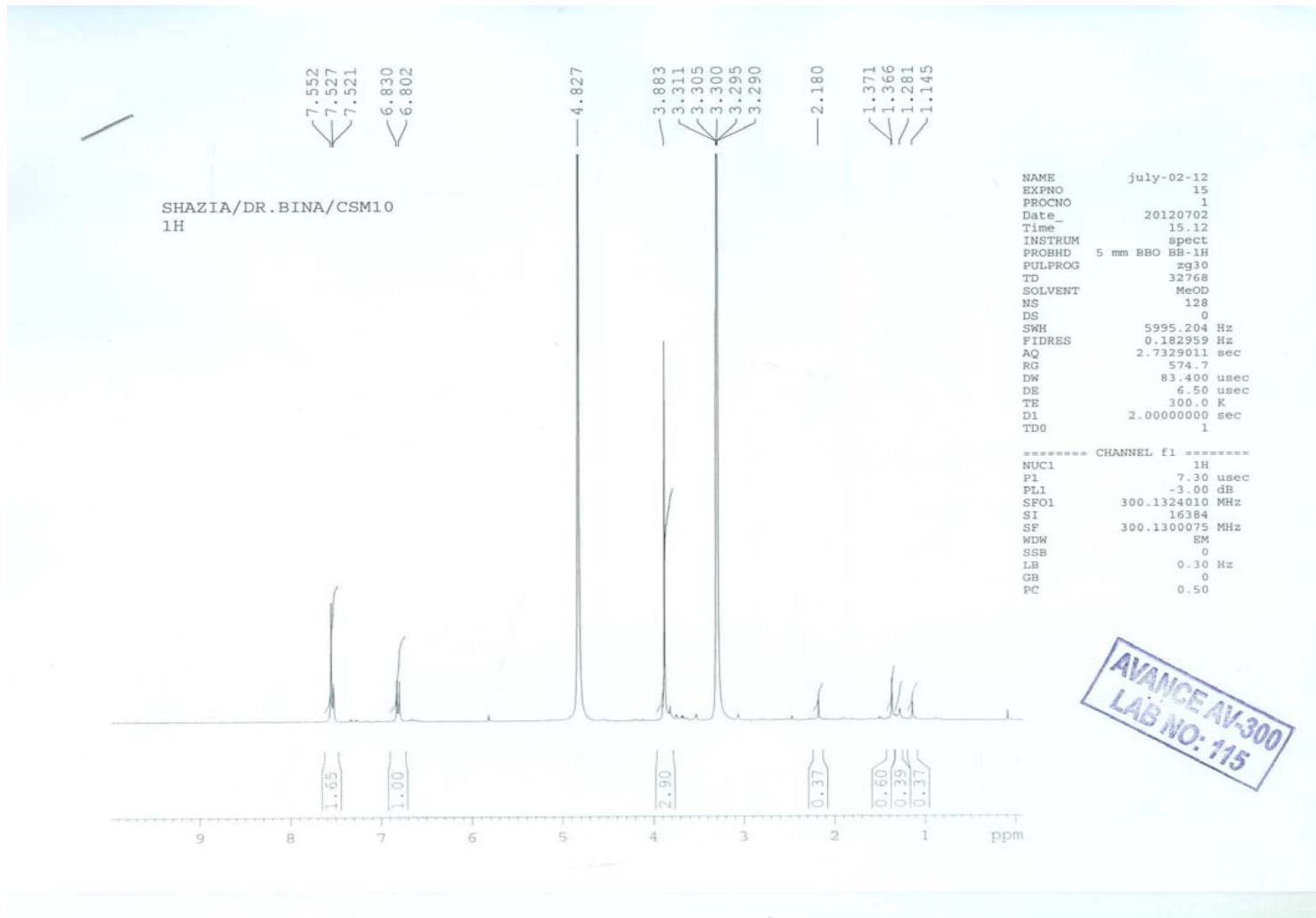


Şekil 4-95: Vanilik Asit' in UV Spektrumu

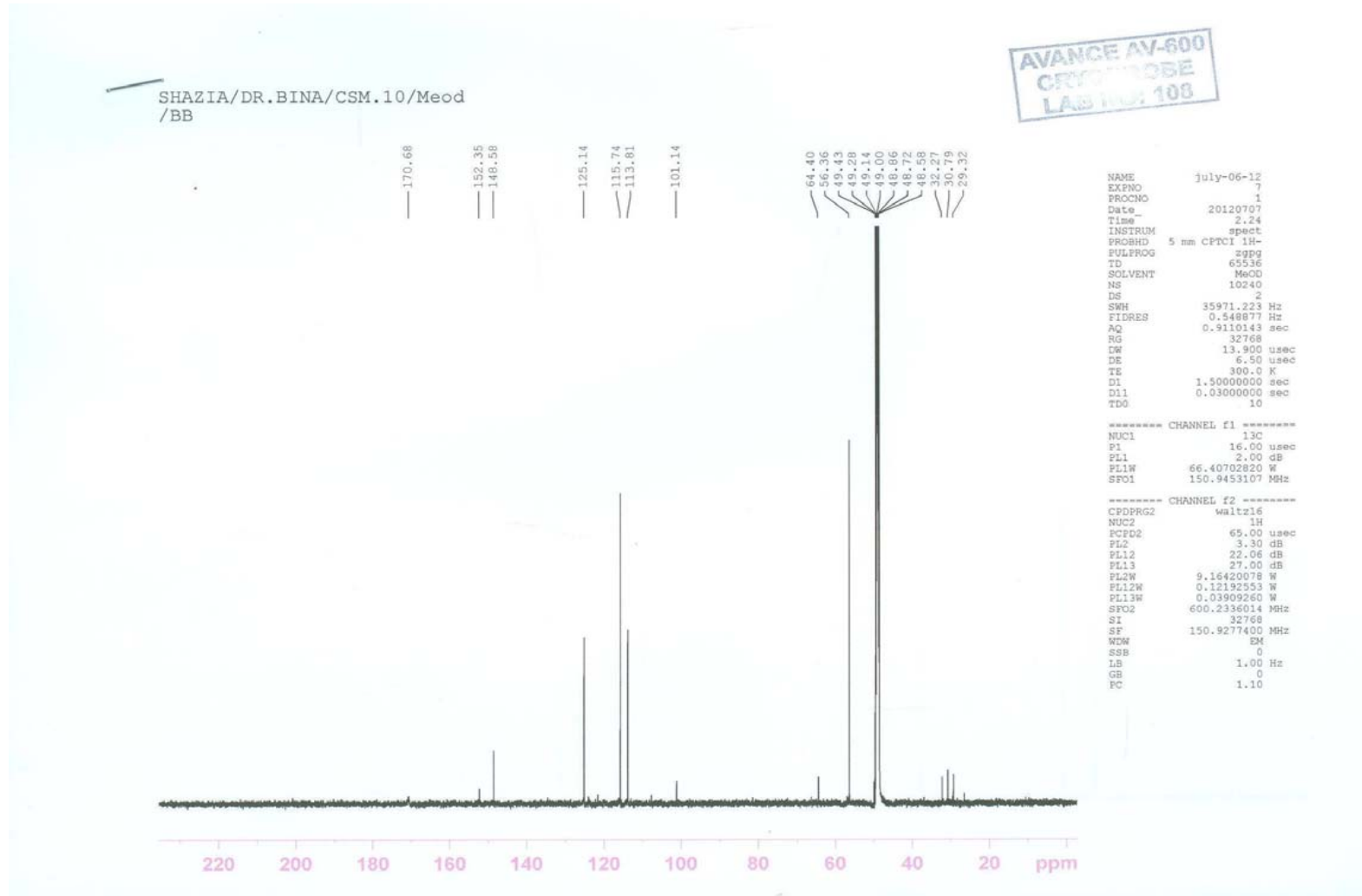


csm10.sp

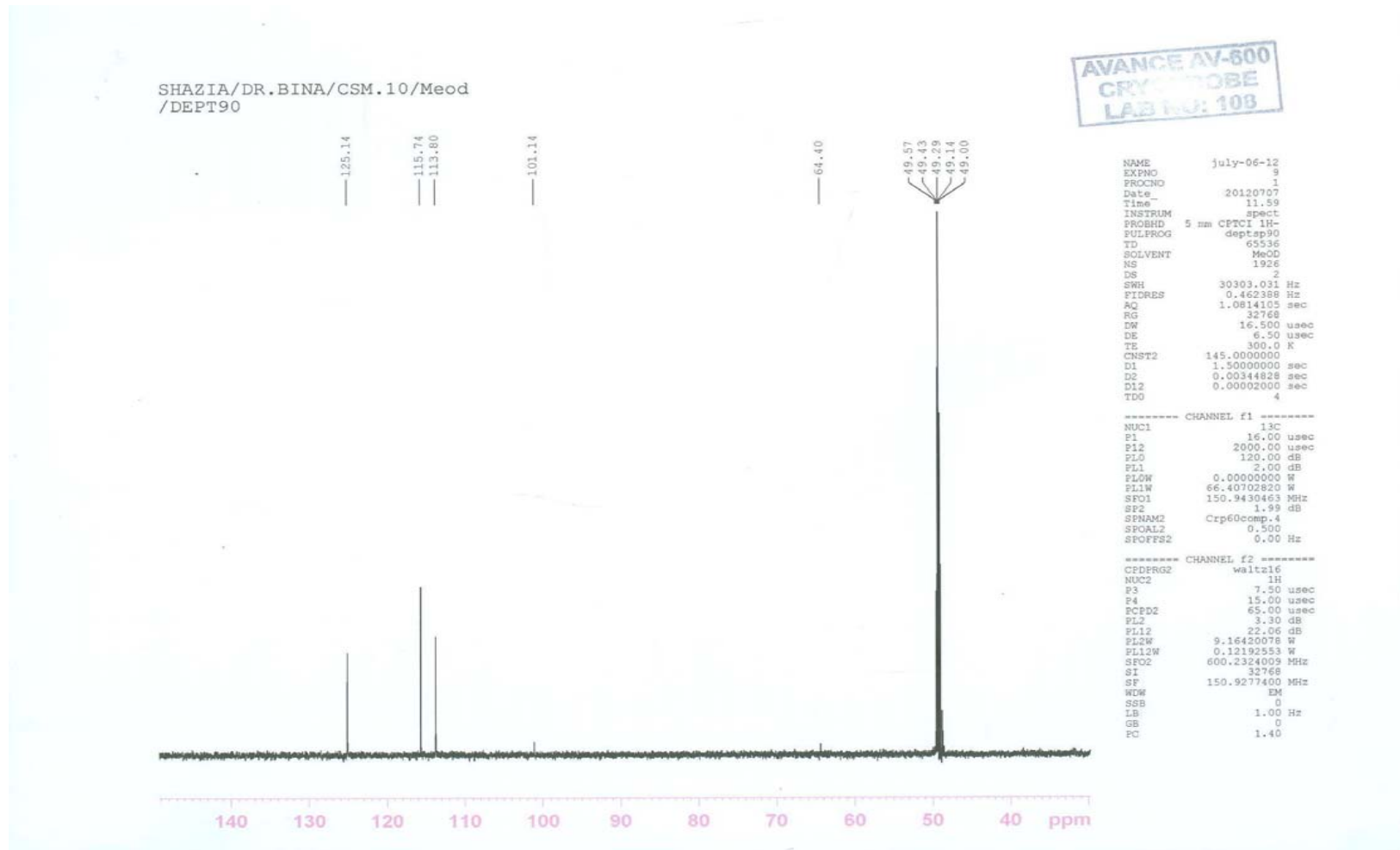
Şekil 4-96: Vanilik Asit' in IR Spektrumu



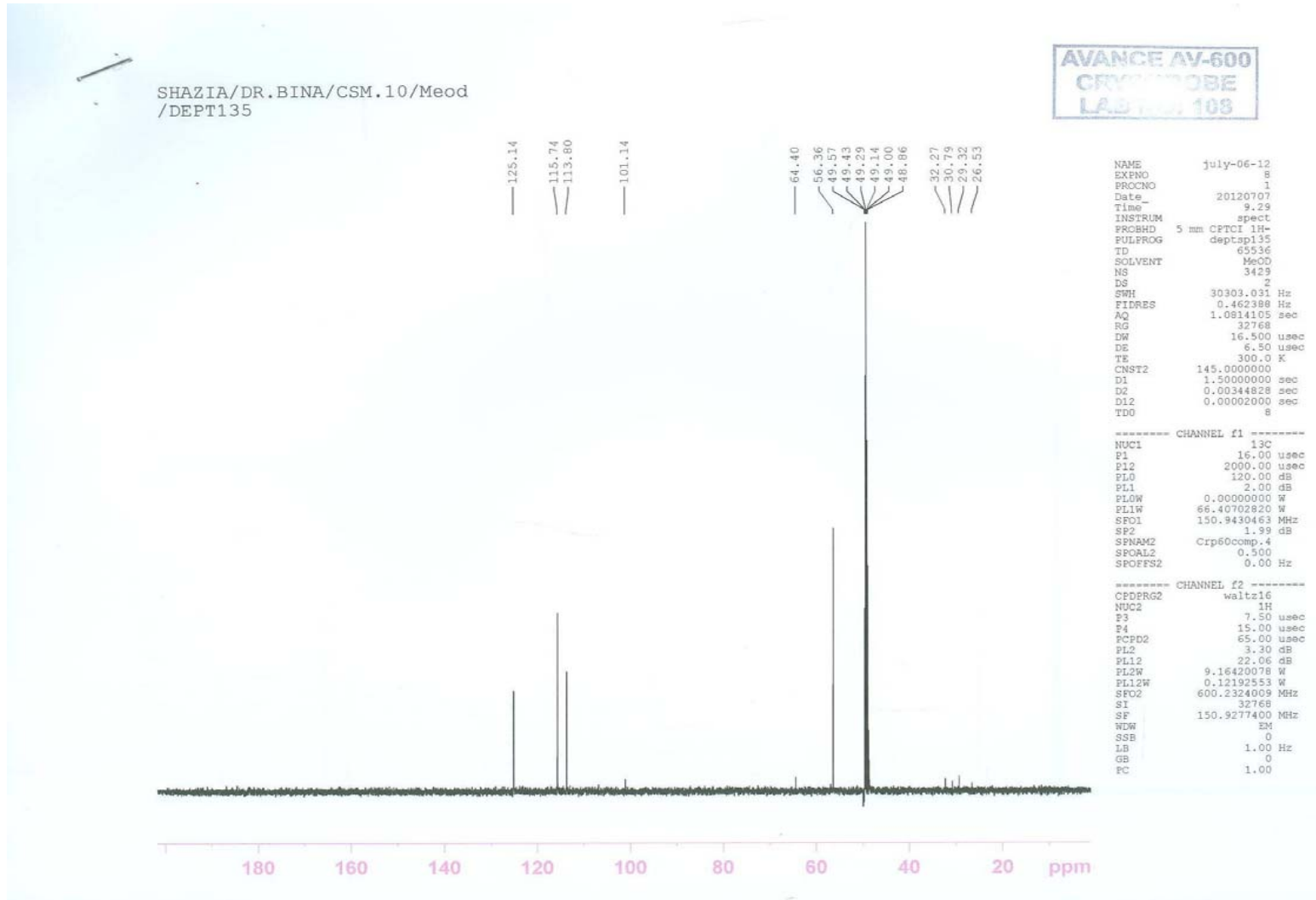
Şekil 4-97: Vanilik Asit' in ^1H -NMR Spektrumu (CD_3OD)



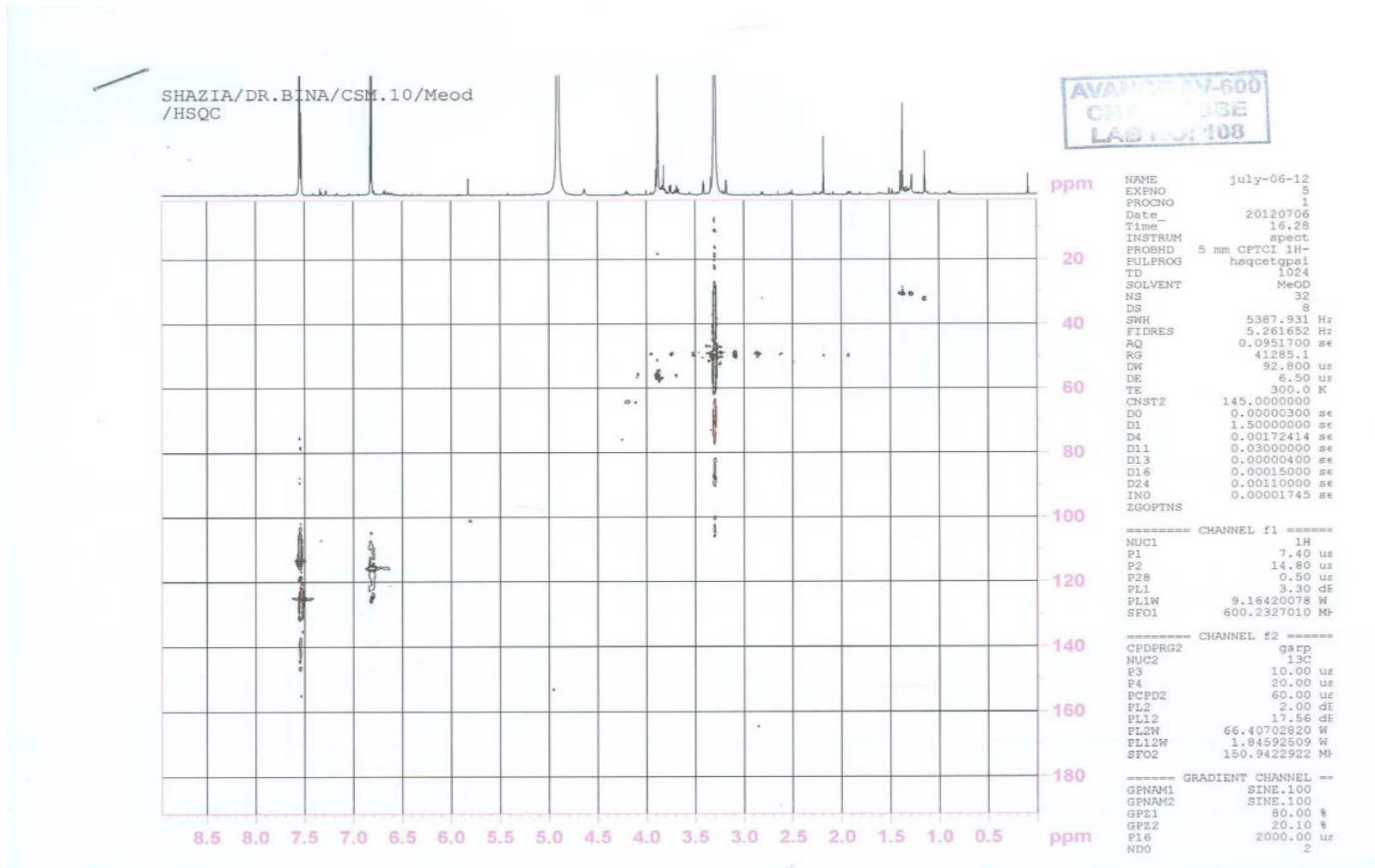
Şekil 4-98: Vanilik Asit' in ^{13}C -NMR (BB) Spektrumu (CD_3OD)



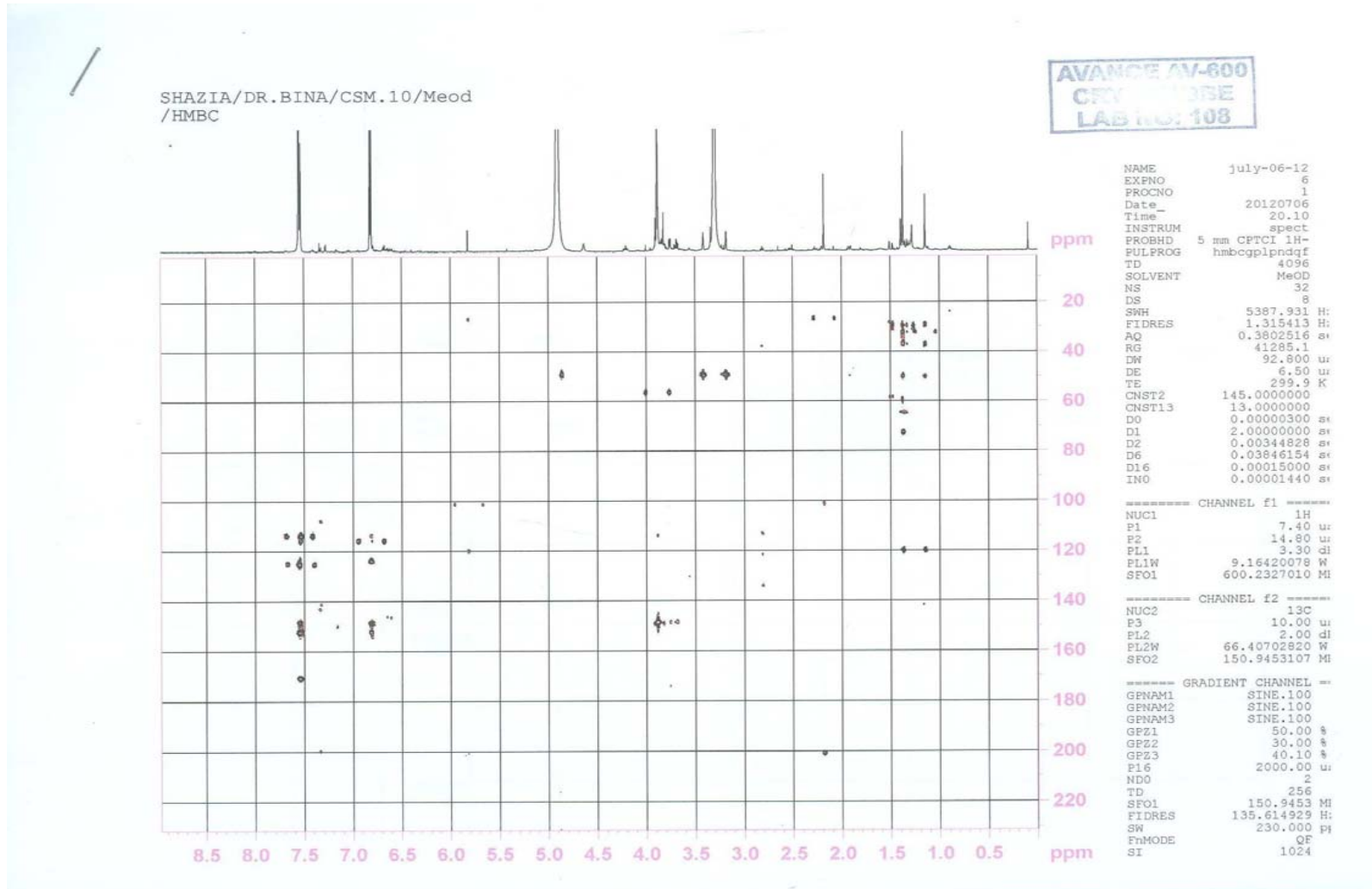
Şekil 4-99: Vanilik Asit' in ^{13}C -NMR (DEPT 90) Spektrumu (CD_3OD)



Şekil 4-100: Vanilik Asit' in ^{13}C -NMR (DEPT 135) Spektrumu (CD_3OD)

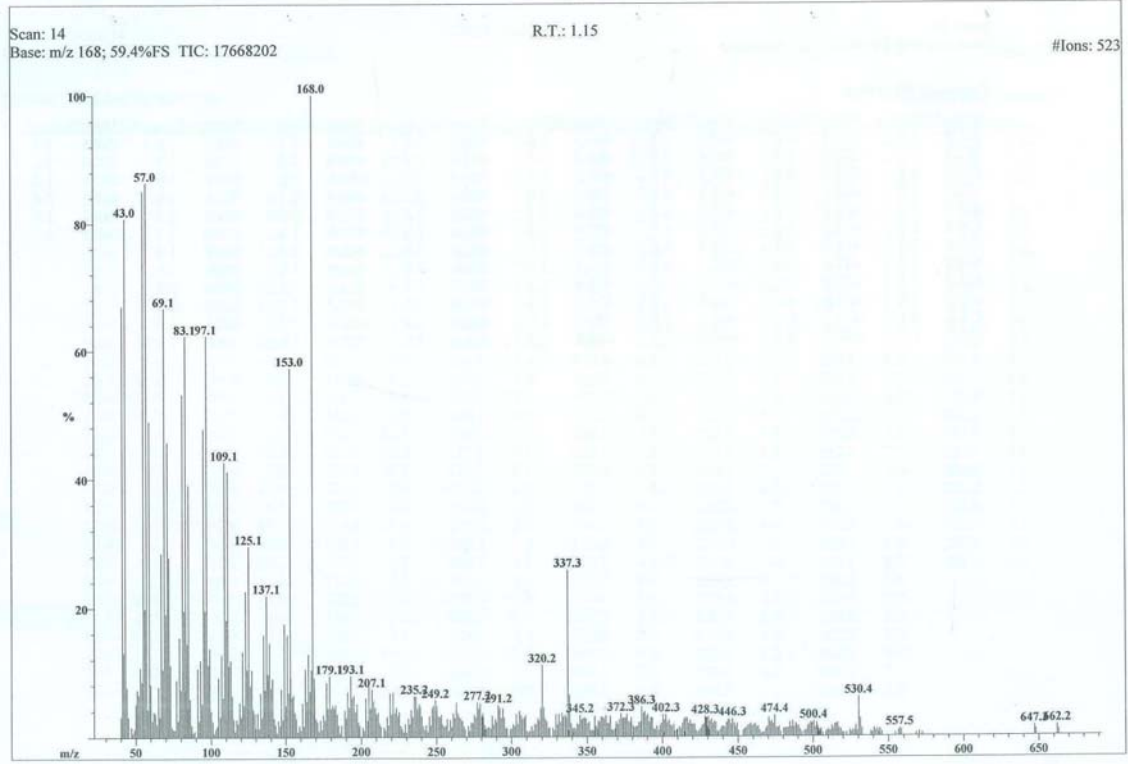


Şekil 4-101: Vanilik Asit' in HSQC Spektrumu (CD₃OD)



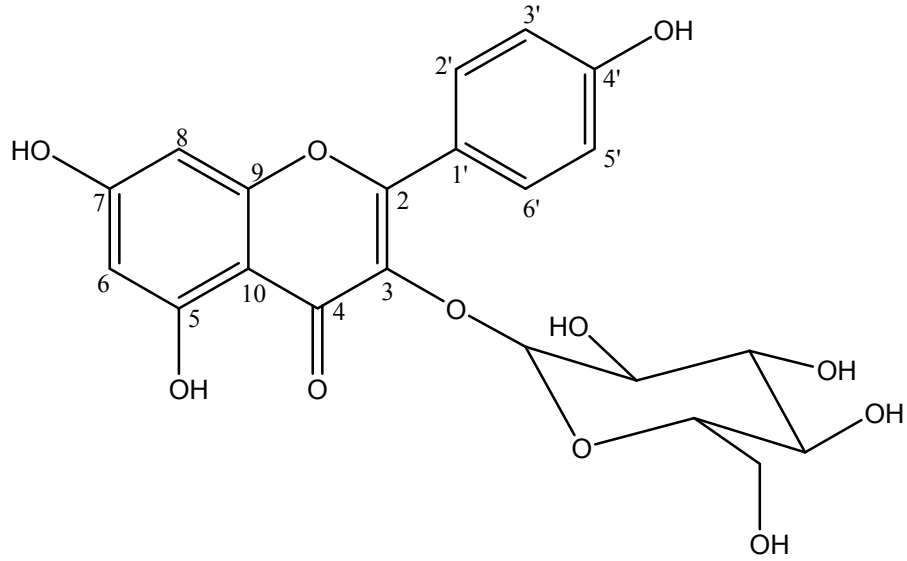
Şekil 4-102: Vanilik Asit' in HMBC Spektrumu (CD₃OD)

File: CSM10 Date Run: 06-27-2012 (Time Run: 12:32:26)
Sample: MEHMET BOGA / DR .BINA S.SIDDIQUI
Instrument: JEOL MSRoute
Inlet: My Inlet Ionization mode: EI+



Şekil 4-103: Vanilik Asit' in Kütle Spektrumu

4.4.6.2. CSM 2=Kampferol-3-O- β -D-glikopiranozit



Şekil 4-104

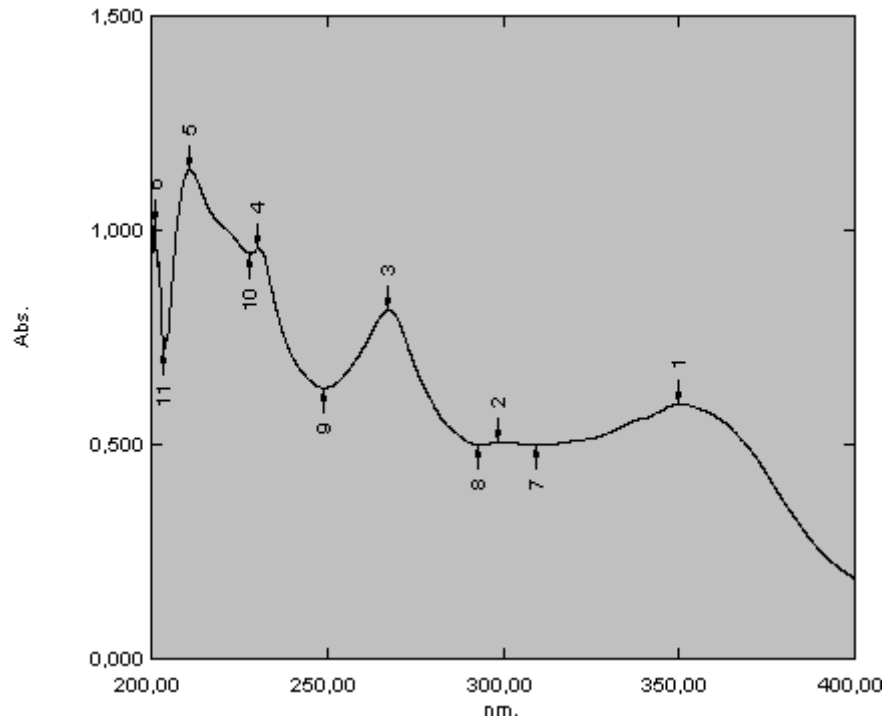
Sarı renkli olan CSM 2 bileşiği (1 mg) amorf halde elde edildi.

UV spektrumunda (MeOH) 350, 267, 230 ve 210 nm'de bantlar görüldü (Şekil 4-105).

Tablo 4-16' da verilen $^1\text{H-NMR}$ sonuçları literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında bileşiğin kampferol-3-O- β -D-glikopiranozit olduğu belirlendi (Wu ve ark. 2009).

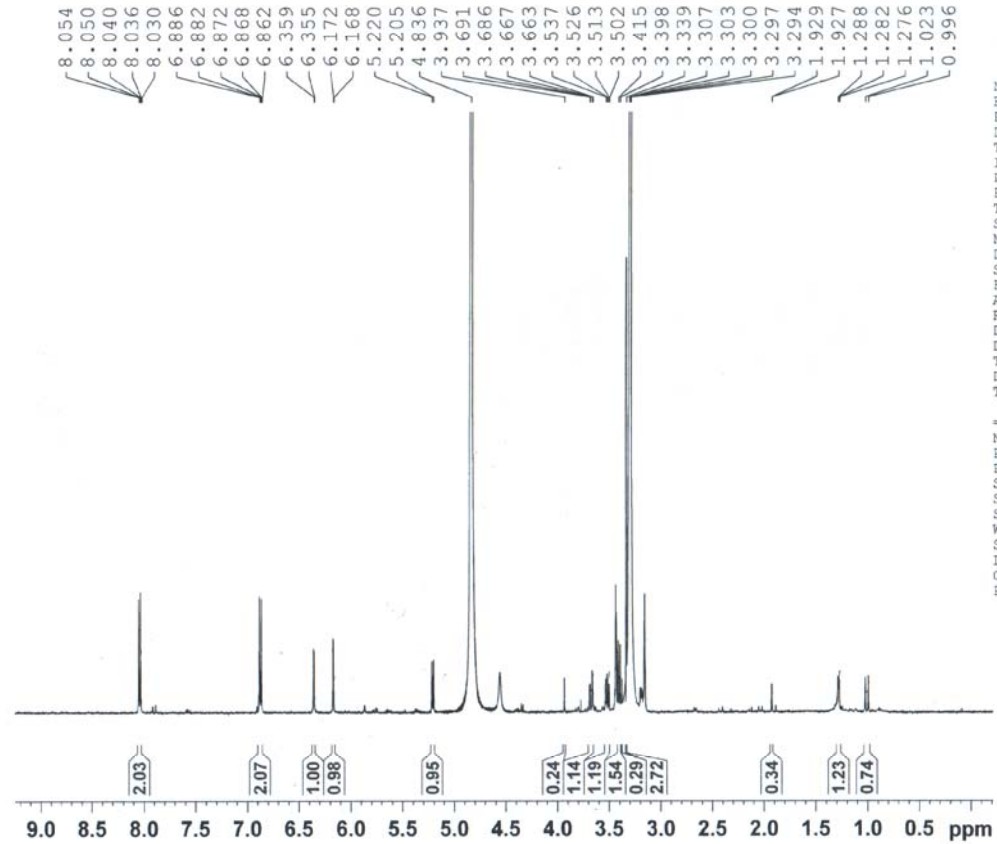
Tablo 4-16: CSM 2 Bileşiminin $^1\text{H-NMR}$ Değerleri (CD_3OD , J değerleri parantez içinde verildi)

Pozisyon	$^1\text{H-NMR}$
2	-
3	-
4	-
5	-
6	6,17 d (1,8 Hz)
7	-
8	6,35 d (1,8 Hz)
9	-
10	-
1'	-
2', 6'	8,04 d (9,0 Hz)
3', 5'	6,87 d (9,0 Hz)
4'	-
1''	5,21 d (7,5 Hz)
2''	3,52 dd (9,0; 7,8 Hz)
3''	3,41 m
4''	3,20 t (9,0 Hz)
5''	3,30 m
6''	α 3,67 dd (12,0; 1,8 Hz) β 3,40 m



Şekil 4-105: Kampferol-3-O-β-D-glikopiranozit Bileşiğinin UV Spektrumu

MEHNET/DR.BINA/CSM 12/



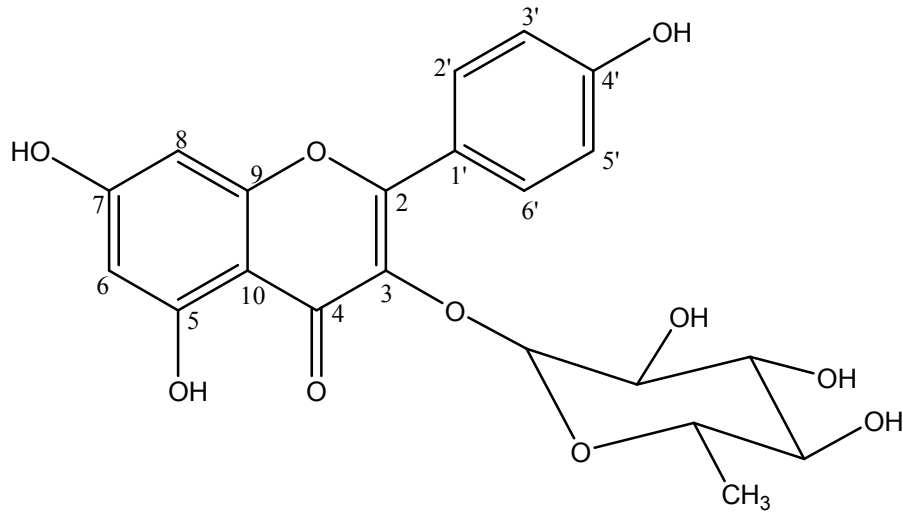
AVANCE AV-51
LAB INK 100-B

NAME aug10-12
EXPNO 1
PROCNO 1
Date 20120810
Time 10.15
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H/D-
PULPROG zg30
TD 32768
SOLVENT MeOD
NS 128
DS 0
SWH 10330.578 Hz
FIDRES 0.315284 Hz
AQ 1.5860696 sec
RG 574.7
DW 48.400 usec
DE 6.50 usec
TE 299.1 K
D1 1.50000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 1H
P1 7.60 usec
PL1 6.00 dB
SFO1 500.1335009 MHz
SI 32768
SF 500.1300158 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00

Şekil 4-106: Kaempferol-3-O-β-D-glikopiranozit' in ¹H-NMR Spektrumu (CD₃OD)

4.4.6.3. CSM 3=Kaempferol-3-O- α -L-ramnopiranozit



Şekil 4-107

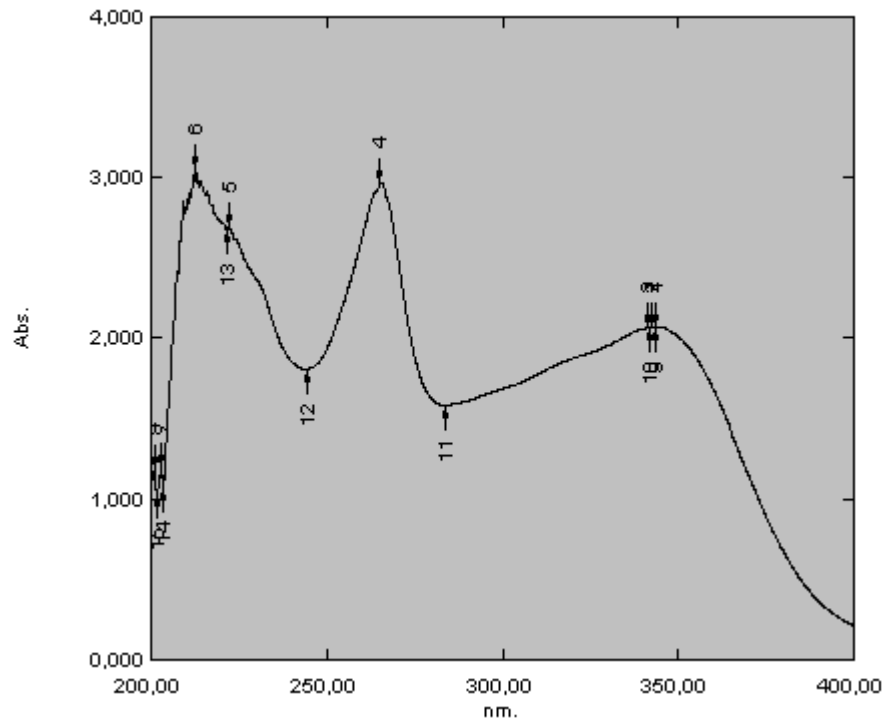
Sarı renkli olan CSM 3 bileşiği (22 mg) amorf halde elde edildi.

UV spektrumunda (MeOH) 343, 265 ve 212 nm'de bantlar görüldü (Şekil 4-108). IR spektrumunda (MeOH) 3361 (O-H), 2927 (C-H), 1654-1504 (C=C) cm^{-1} ' de bantlar izlendi (Şekil 110).

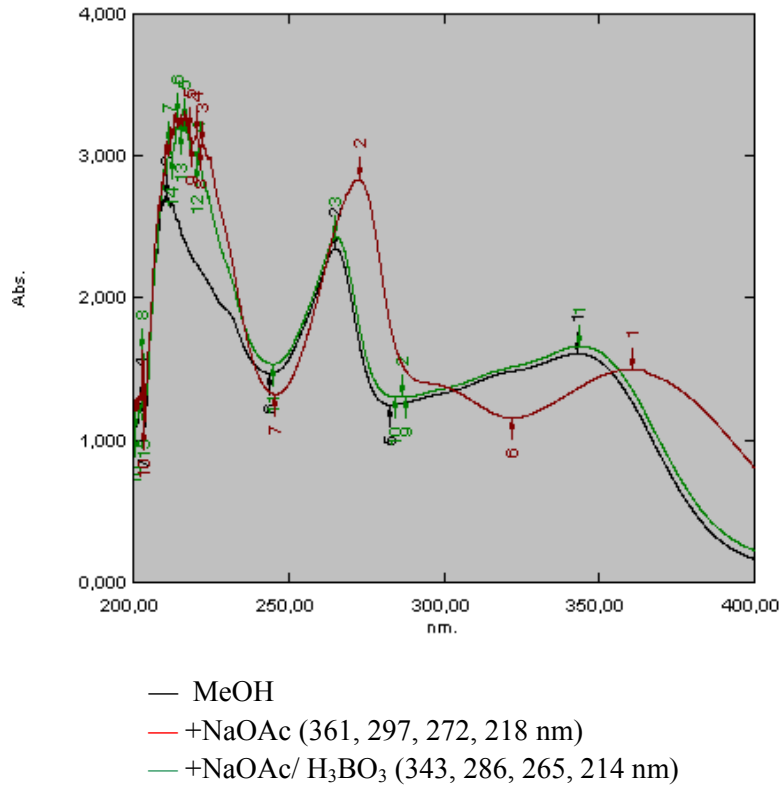
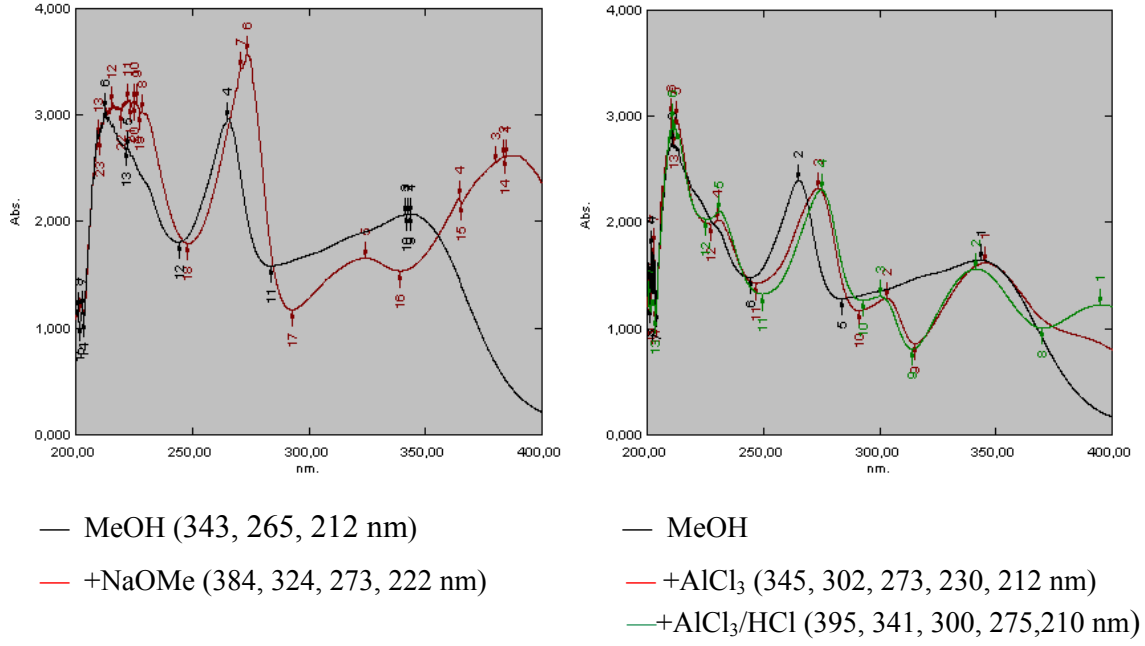
Tablo 4-17' de verilen ^{13}C -NMR, HSQC ve HMBC sonuçları literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında bileşiğin kaempferol-3-O- α -L-ramnopiranozit olduğu belirlendi (Correia ve ark. 2008).

Tablo 4-17: CSM 3' ün ¹³C-NMR, HSQC ve HMBC Değerleri (CD₃OD, *J* değerleri parantez içinde verildi)

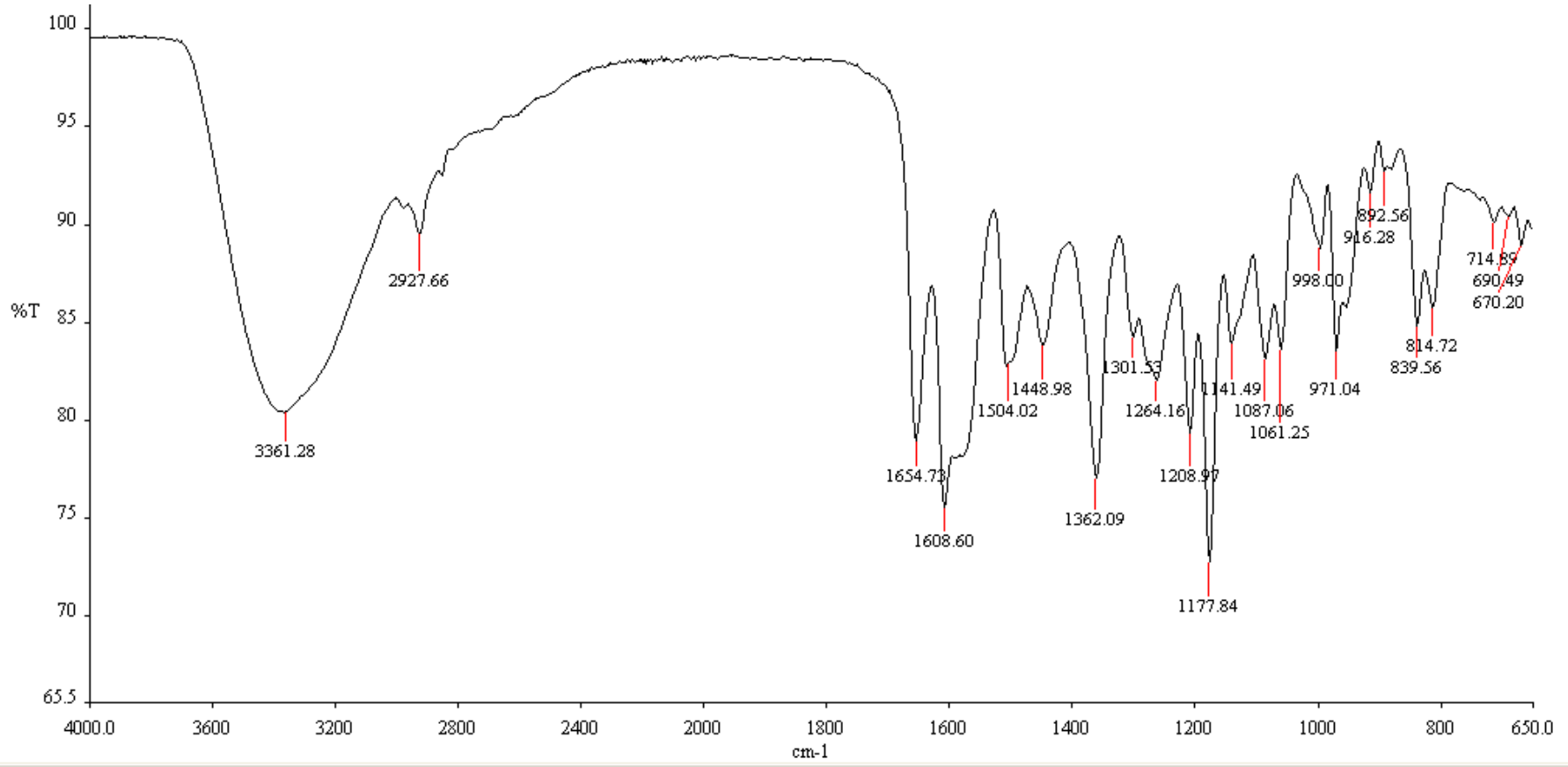
Pozisyon	¹³ C-NMR	HSQC	HMBC
2	158,71	-	H-8, H-2', H-6'
3	136,05	-	H-1''
4	179,40	-	-
5	163,13	-	H-6
6	100,48	6,16 d (2,0 Hz)	H-8
7	-	-	
8	95,19	6,30 d (2,0 Hz)	H-6
9	159,04	-	H-8
10	105,34	-	H-6, H-8
1'	122,64	-	H-3', H-5'
2', 6'	131,87	7,75 dd (9,0; 2,0 Hz)	H-2', H-6'
3', 5'	116,53	6,92 dd (9,0; 2,0 Hz)	H-3', H-5'
4'	161,64	-	H-3', H-5'
1''	103,48	5,36 d (1,50 Hz)	-
2''	72,02	4,20 q (3,5; 2,0 Hz)	-
3''	72,07	3,70 dd (6,0; 3,0 Hz)	-
4''	73,14	3,30-3,32 m	-
5''	71,91	3,30-3,32 m	-
6''	17,65	0,91 d (6,0 Hz)	-



Şekil 4-108: Kaempferol-3-O- α -L-ramnopyranozit' in UV Spektrumu

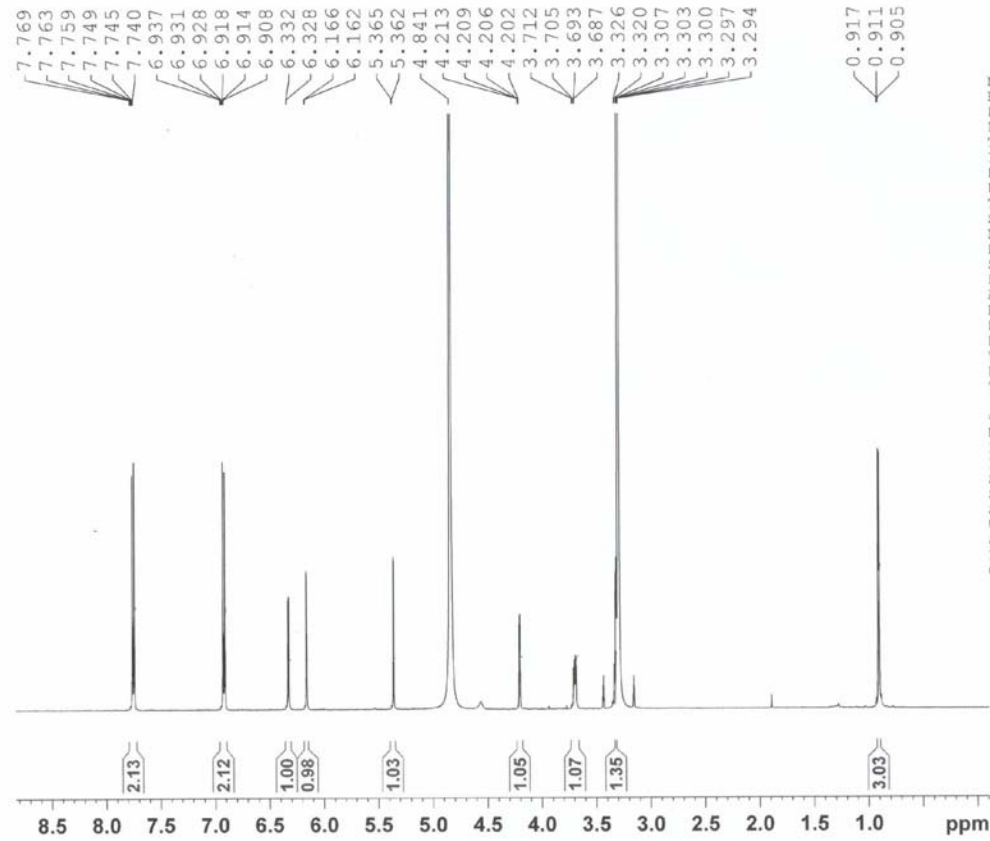


Şekil 4-109: Kaempferol-3-O- α -L-ramnopiranozit' in Kayma Belirteçleri ile Alınan UV Spektrumları



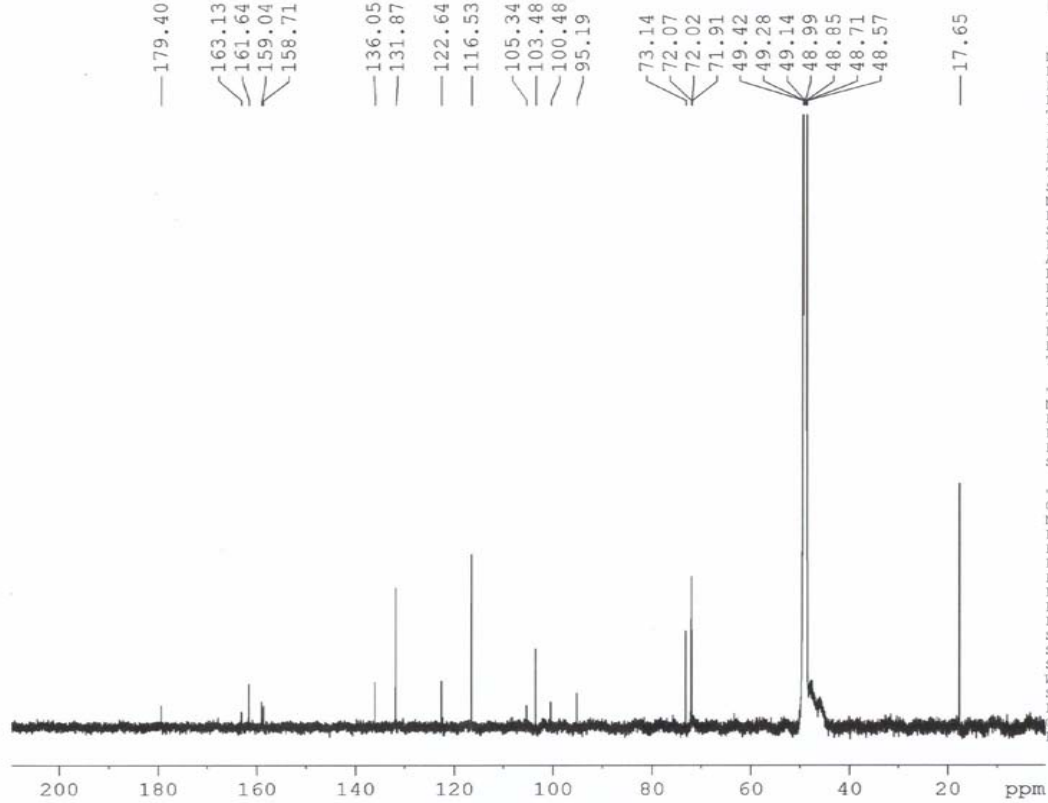
Şekil 4-110: Kaempferol-3-O- α -L-ramnopiranozit'in IR Spektrumu

MEHNET/DR.BINA/CSM 16/



Şekil 4-111: Kaempferol-3-O- α -L-ramnopiranozit'in $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (CD_3OD)

MEHMET/DR. BINA/CSM16
BB



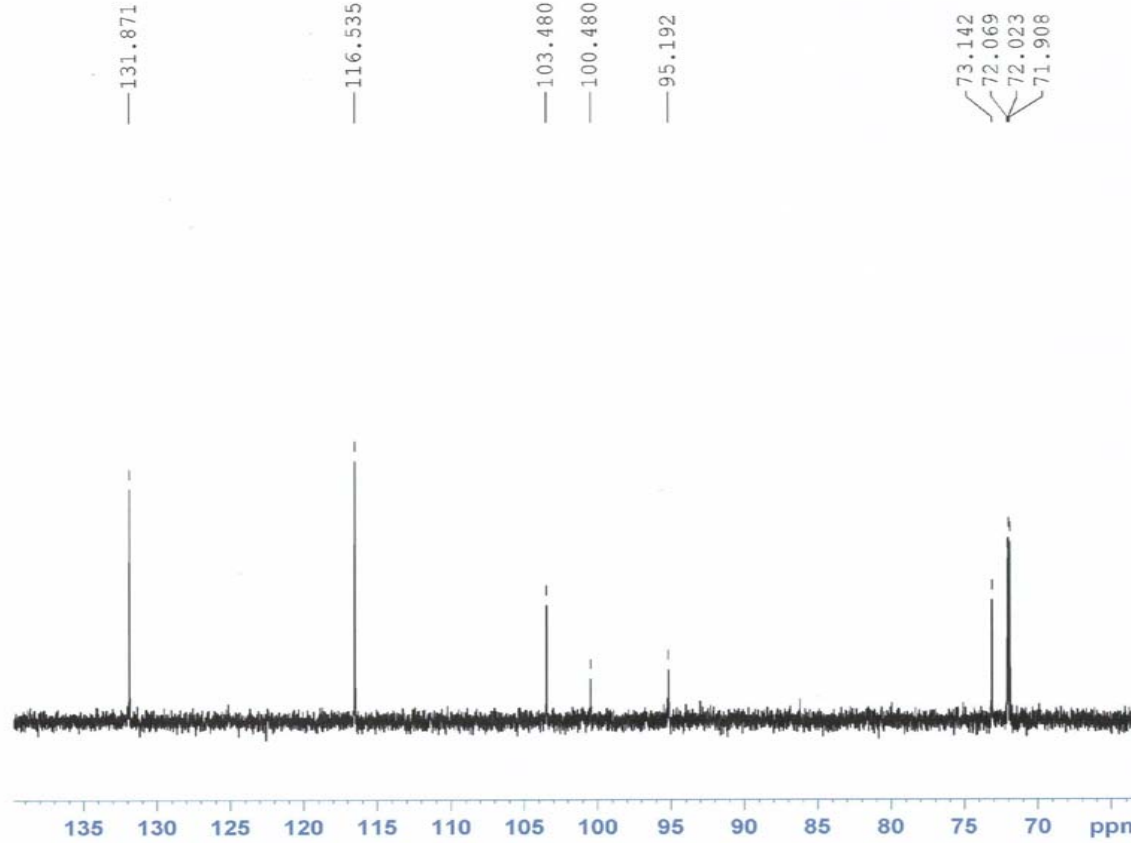
NAME aug17-12
EXPNO 7
PROCNO 1
Date_ 20120818
Time_ 6.05
INSTRUM spect
PROBHD 3 mm CPDUI 1H/
PULPROG zgpg
TD 65536
SOLVENT MeOD
NS 16384
DS 4
SWH 35971.223 Hz
FIDRES 0.548877 Hz
AQ 0.9110143 sec
RG 32768
DW 13.900 usec
DE 6.50 usec
TE 297.6 K
D1 1.50000000 sec
D11 0.03000000 sec
TD0 16

----- CHANNEL f1 -----
NUC1 13C
P1 14.00 usec
PI1 8.00 dB
PL1W 8.55930424 W
SFO1 150.8950149 MHz

----- CHANNEL f2 -----
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 70.00 usec
PL2 12.50 dB
PI2 28.98 dB
PI13 120.00 dB
PL2W 0.81927180 W
PL12W 0.01842587 W
PL13W 0.00000000 W
SFO2 600.0336002 MHz
SI 32768
SF 150.8774529 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
FC 1.00

Şekil 4-112: Kaempferol-3-O- α -L-ramnopyranozit'in ^{13}C -NMR (BB) SSpektrumu (CD_3OD)

MEHMET/DR.BINA/CSM16
DEPT90



AVANCE 400 MHz
3mm CPDUI 1H/2
LAB NO: 103



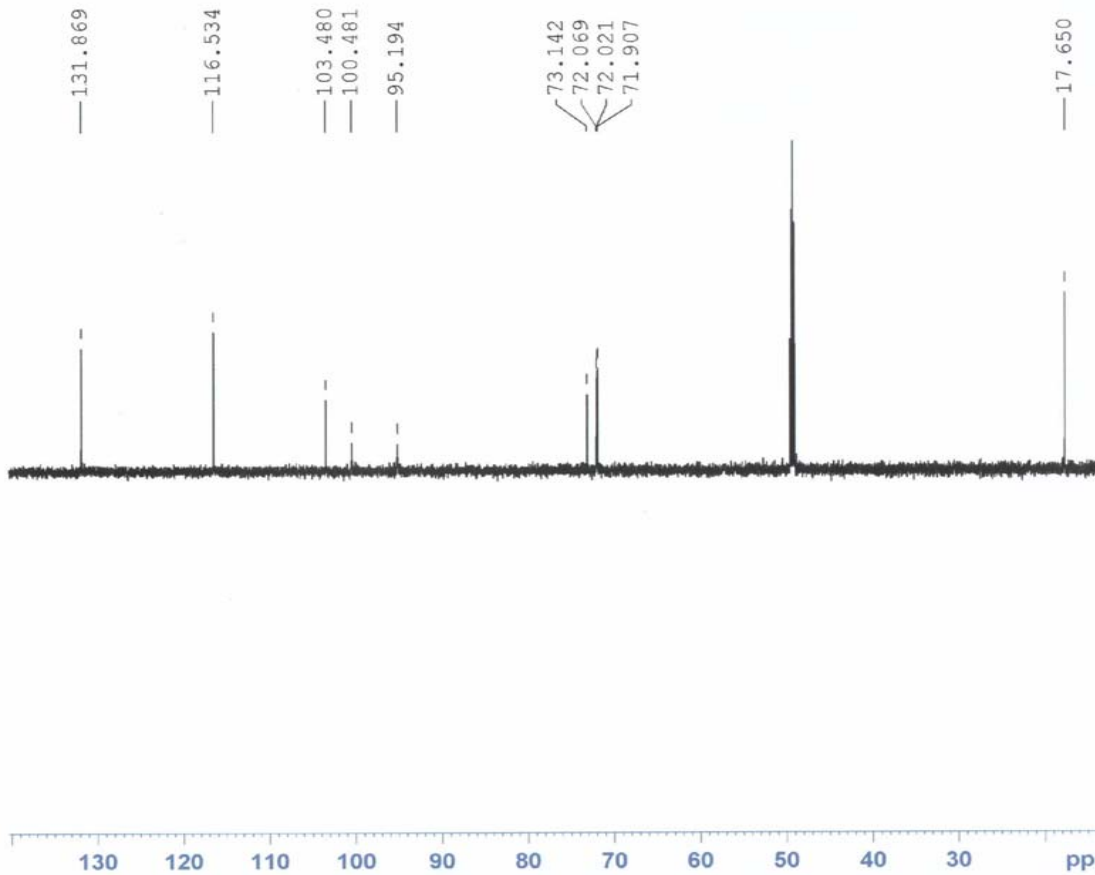
NAME aug17-12
EXPNO 9
PROCNO 1
Date_ 20120818
Time 23.22
INSTRUM spect
PROBHD 3 mm CPDUI 1H/
PULPROG deptsp90
TD 65536
SOLVENT MeOD
NS 4096
DS 2
SWH 30303.031 Hz
FIDRES 0.462388 Hz
AQ 1.0814105 sec
RG 32768
DW 16.500 usec
DE 6.50 usec
TE 298.0 K
CNST2 145.0000000
D1 1.50000000 sec
D2 0.00344828 sec
D12 0.00002000 sec
TD0 4

----- CHANNEL f1 -----
NUC1 13C
P1 14.00 usec
PL1 120.00 dB
PL2 8.00 dB
PL0 0.00000000 W
PL1W 0.55930424 W
SFO1 150.8927518 MHz
SF2 13.24 dB
SFO2 Crp60comp.4
SFOAL2 0.500
SFOFFS2 0.00 Hz

----- CHANNEL f2 -----
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
P3 10.50 usec
P4 21.00 usec
PCPD2 70.00 usec
PL2 12.50 dB
PL12 28.98 dB
PL2W 0.81927180 W
PL12W 0.01842587 W
SFO2 600.6330002 MHz
SI 32768
SF 150.8774529 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.00

Şekil 4-113: Kaempferol-3-O- α -L-ramnopiranozit'in ^{13}C -NMR (DEPT 90) Spektrumu

MEHMET/DR.BINA/CSM16
DEPT135



BRUKER

```

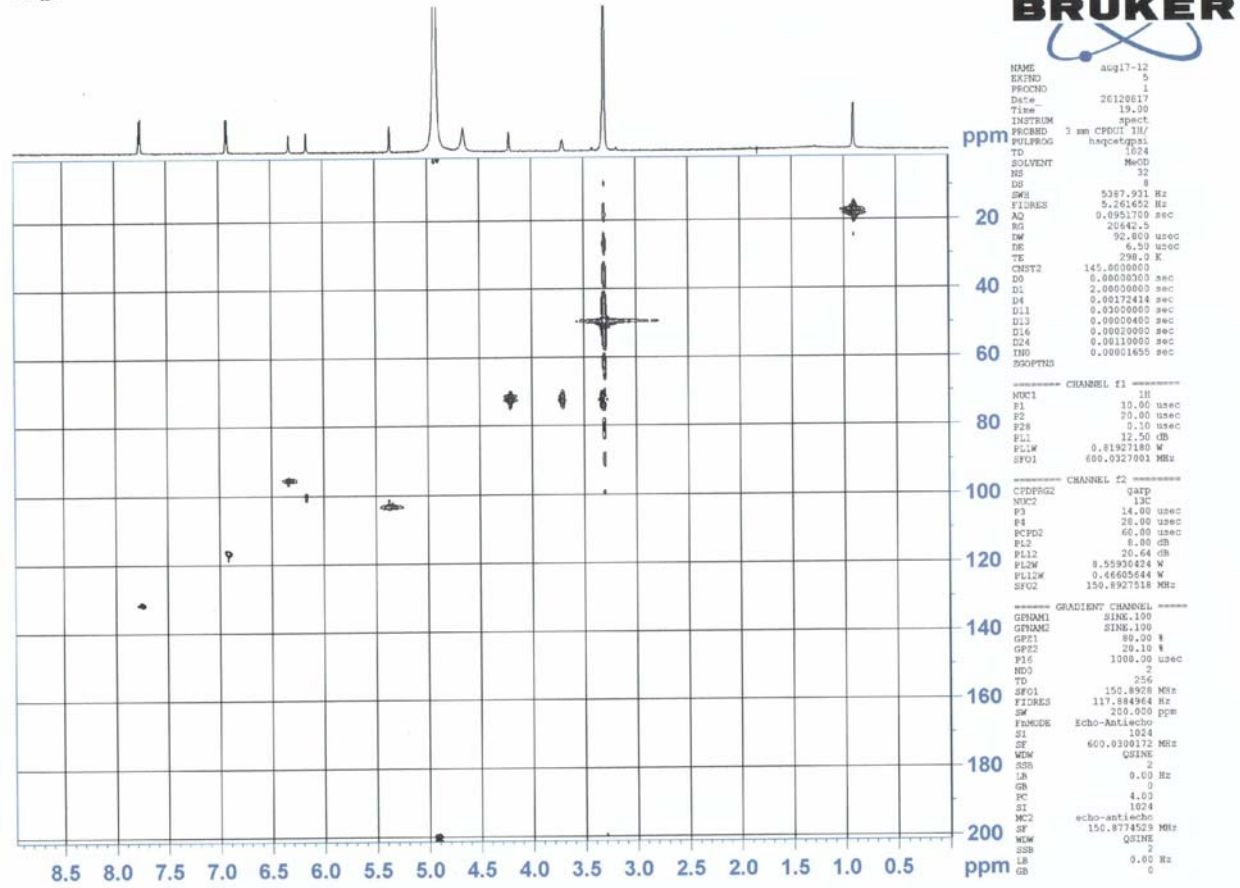
NAME          aug17-12
EXPNO         8
PROCNO        1
Date_         20120818
Time          17.23
INSTRUM       spect
PROBHD        3 mm CPDUI 1H/
PULPROG       deptspl35
TD            65536
SOLVENT       MeOD
NS            8192
DS            2
SWH           30303.031 Hz
FIDRES        0.462388 Hz
AQ            1.0814105 sec
RG            32768
DW            16.500 usec
DE            6.50 usec
TE            298.0 K
CNST2         145.0000000
D1            1.50000000 sec
D2            0.00344828 sec
D12           0.00002000 sec
TDO           8

===== CHANNEL f1 =====
NUC1          13C
P1            14.00 usec
PL2           2000.00 usec
PL0           120.00 dB
PL1           8.00 dB
PLOW          0.00000000 W
PL1W          8.55930424 W
SFO1          150.8927518 MHz
SP2           13.24 dB
SPNAM2        Crp60comp.4
SFOAL2        0.500
SPOFFS2       0.00 Hz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2       waltz16
NUC2          1H
P3            10.50 usec
P4            21.00 usec
PCPD2         70.00 usec
PL2           12.50 dB
PL12          28.98 dB
PL2W          0.81927180 W
PL12W         0.01842587 W
SFO2          600.0330002 MHz
SI            32768
SF            150.8774529 MHz
WFW           EM
SSB           0
LB            1.00 Hz
GB            0
PC            1.40
  
```

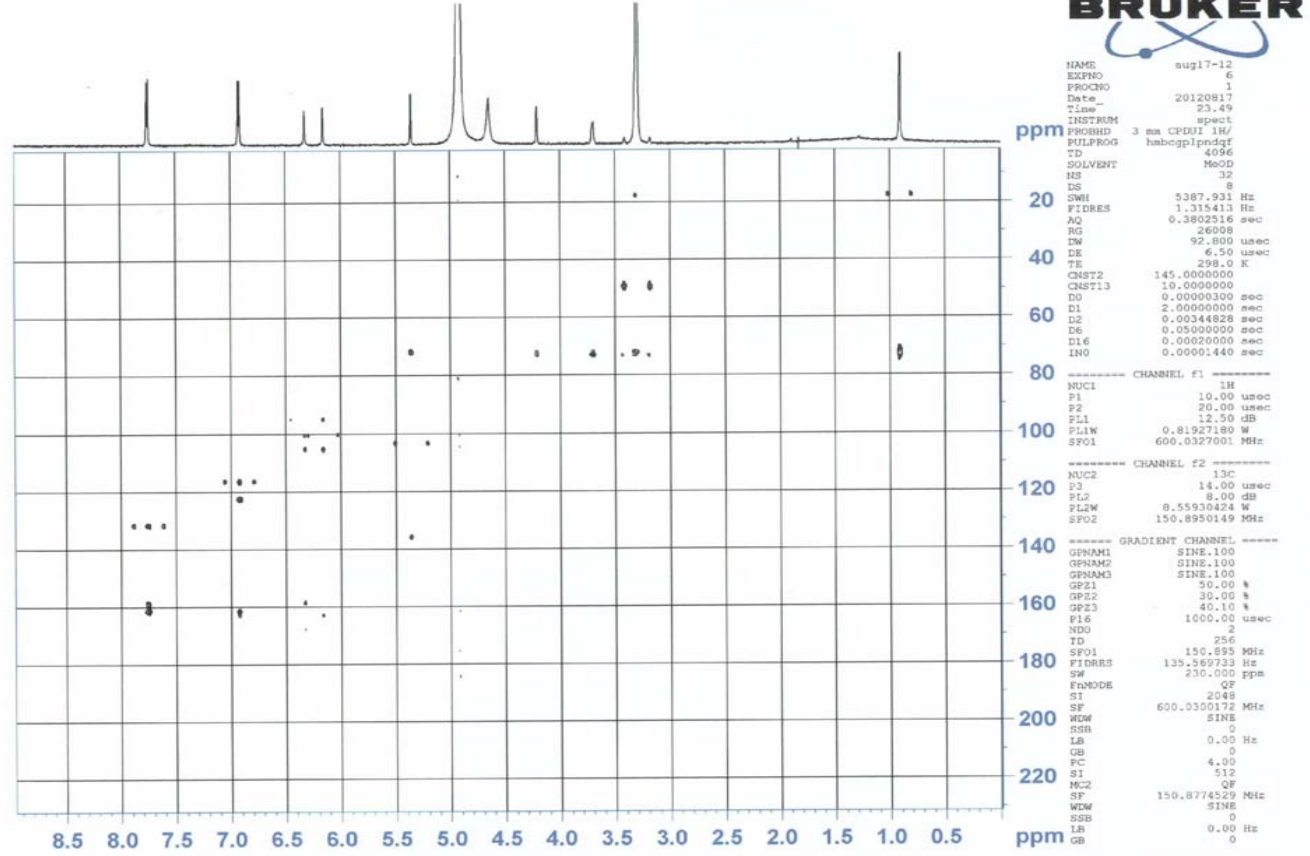
Şekil 4-114: Kaempferol-3-O- α -L-ramnopiranozit' in ^{13}C -NMR (DEPT 135) Spektrumu (CD_3OD)

MEHMET/DR. BINA/CSM16
HSQC



Şekil 4-115: Kaempferol-3-O- α -L-ranpöpiranozit' in HSQC Spektrumu (CD₃OD)

MEHMET/DR. BINA/CSM16
HMBC



Şekil 4-116: Kaempferol-3-O- α -L-ranopiranozit'in HMBC Spektrumu (CD₃OD)

4.4.7. *C. leucopsis* ve *C. sipyleum* Bitkilerinden Elde Edilen Saf Maddelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları

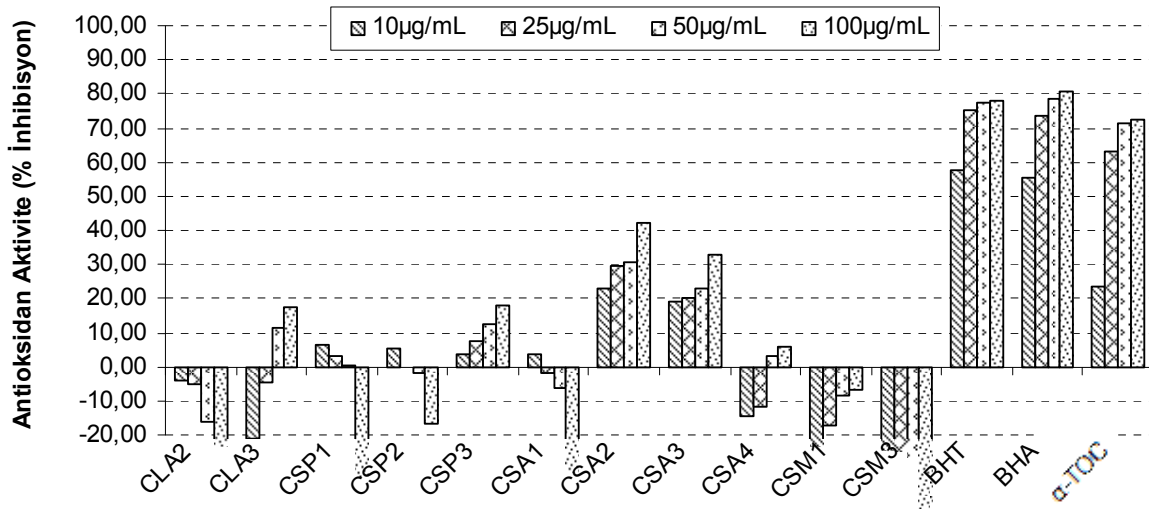
Tablo 4-18’ de her iki bitkiden elde edilen saf maddelerin daha önce antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri ile ilgili çalışma yapıp yapılmadığı gösterildi.

Tablo 4-18: Saf Maddeler ile Yapılan Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktvite Çalışmaları

Saf Maddeler	β -Karoten	DPPH	ABTS	Superoksit	CUPRAC	AChE/ BChE	Kaynaklar
CLA1(β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit)	-	+	+	-	-	-	Luo ve ark. 2009
CLA2 (<i>cis</i> -Epoksikoniferil alkol)	+	-	-	-	+	+	Hacıbekiroğlu ve Kolak 2011
CLA3 (Syringin)	-	+	-	-	-	-	Sun ve ark. 2007
CSP1 (Taraksasterol asetat)	-	-	-	-	-	-	-
CSP2 (Taraksasterol)	-	-	-	-	-	+	Gurovic ve ark. 2010
CSP3 (β -Sitosterol)	+	+	+	+	+	+	Kolak ve ark. 2009, Kolak ve ark. 2011
CSA1 (Apigenin)	+	+	+	+	+	-	Yu ve ark. 2005, Sghaier ve ark. 2011
CSA2 (Balanophonin)	-	+	+	-	-	-	Yi ve ark. 2010
CSA3 (<i>p</i> -Hidroksibenzoik asit)	+	+	-	-	-	+	Rattanapan ve ark. 2012, Jung ve ark. 2010
CSA4 (1'-O-Metilbalanophonin)	-	-	-	-	-	-	-
CSM1 (Vanilik asit)	+	+	+	+	-	+	Shyamala ve ark. 2007, Tai ve ark. 2011, Li ve ark. 2005, Szwajgier ve Borowiec 2012
CSM2 (Kampferol-3-O- β -D-glikopiranozit)	-	+	-	+	-	-	Parejo ve ark. 2004
CSM3 (Kampferol-3-O- α -L-ramnopiranozit)	-	+	+	-	-	-	Nazemiyeh ve ark. 2010, Badria ve ark. 2007

4.4.7.1. Saf Maddelerin β -Karoten Renk Açılım Yöntemi ile Antioksidan Aktivite Sonuçları

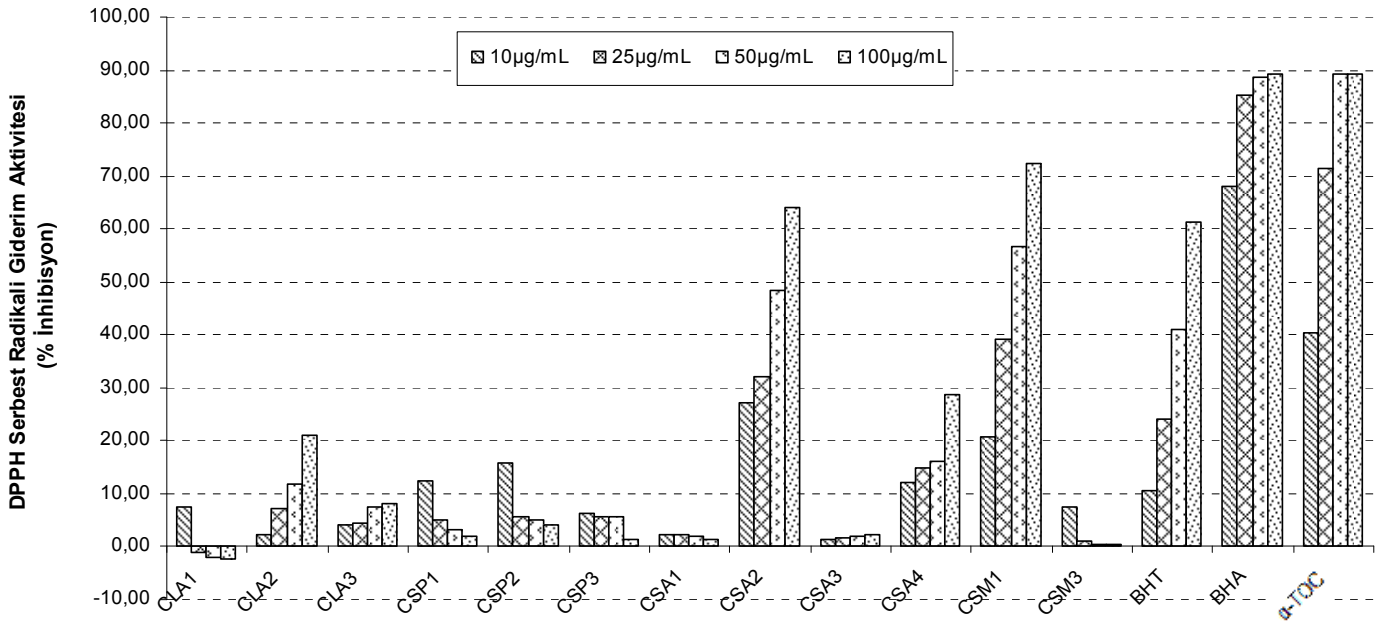
β -Karoten renk açılım yönteminde test edilen saf maddeler arasında en yüksek aktiviteyi 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda %42 inhibisyon ile standartlardan daha düşük değerde *C. sipyleum* bitkisinin aseton ekstresinden elde edilen CSA 2 kodlu balanophonin gösterdi (Şekil 4-117).



Şekil 4-117: Saf Maddelerin β -Karoten Renk Açılım Yöntemi ile Antioksidan Aktiviteleri

4.4.7.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivite Sonuçları

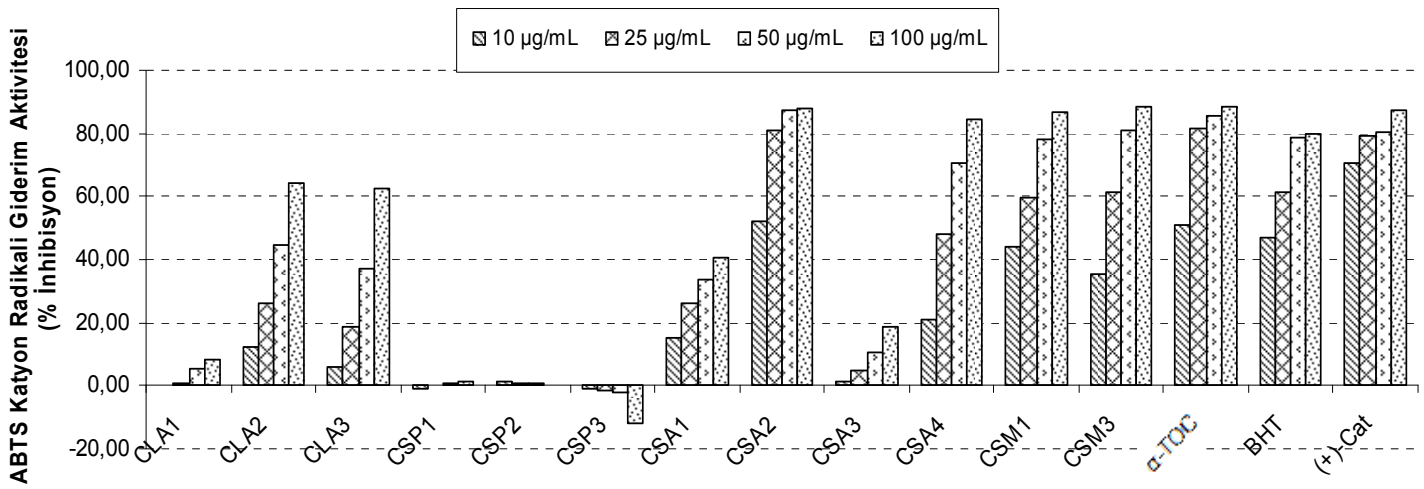
DPPH serbest radikali giderim yönteminde test edilen saf maddeler arasında en yüksek aktiviteyi *C. sipyleum* bitkisinin metanol ekstresinden elde edilen CSM 1 kodlu vanilik asit gösterdi. Vanilik asit ve CSA 2 kodlu balanophonin bileşikleri (10, 25, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda) standart olarak kullanılan BHT' den daha yüksek aktivite gösterirken diğer saf maddelerin aktif olmadıkları belirlendi (Şekil 4-118).



Şekil 4-118: Saf Maddelerin DPPH Serbest Radikali Giderim Aktiviteleri

4.4.7.3. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları

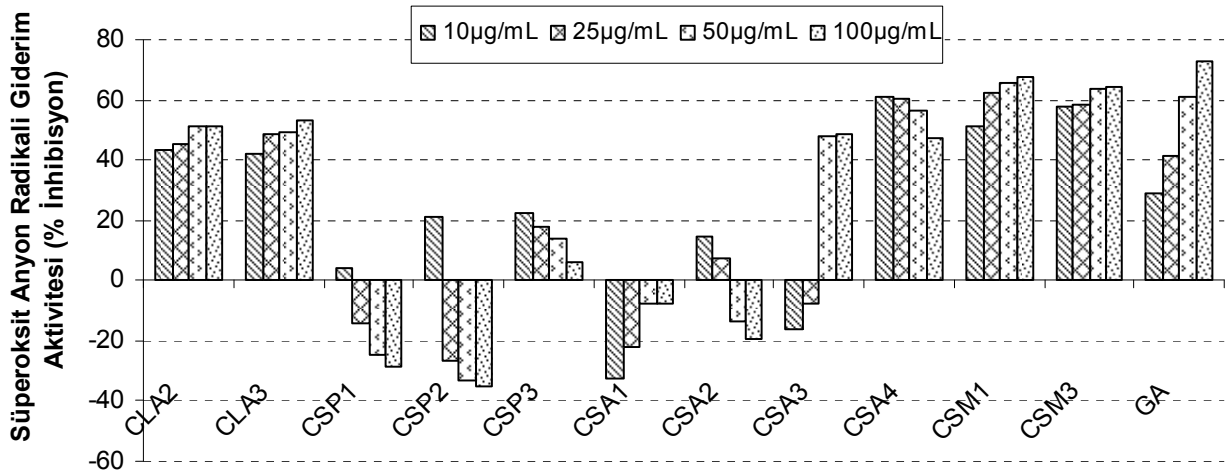
ABTS katyon radikali giderim yönteminde test edilen saf maddeler arasında en yüksek aktiviteyi (25, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda) standartlardan daha yüksek değerde *C. sipyleum* bitkisinin aseton ekstresinden elde edilen CSA 2 kodlu balanophonin gösterdi. CSA 4 (1'-O-metilbalanophonin), CSM 1 (vanilik asit) ve CSM 3 (kempferol-3-O- α -L-rampiranozit) bileşiklerinin de yüksek değerde aktivite gösterdikleri belirlendi (Şekil 4-119).



Şekil 4-119: Saf Maddelerin ABTS Katyon Radikali Giderimi Aktivitesi

4.4.7.4. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları

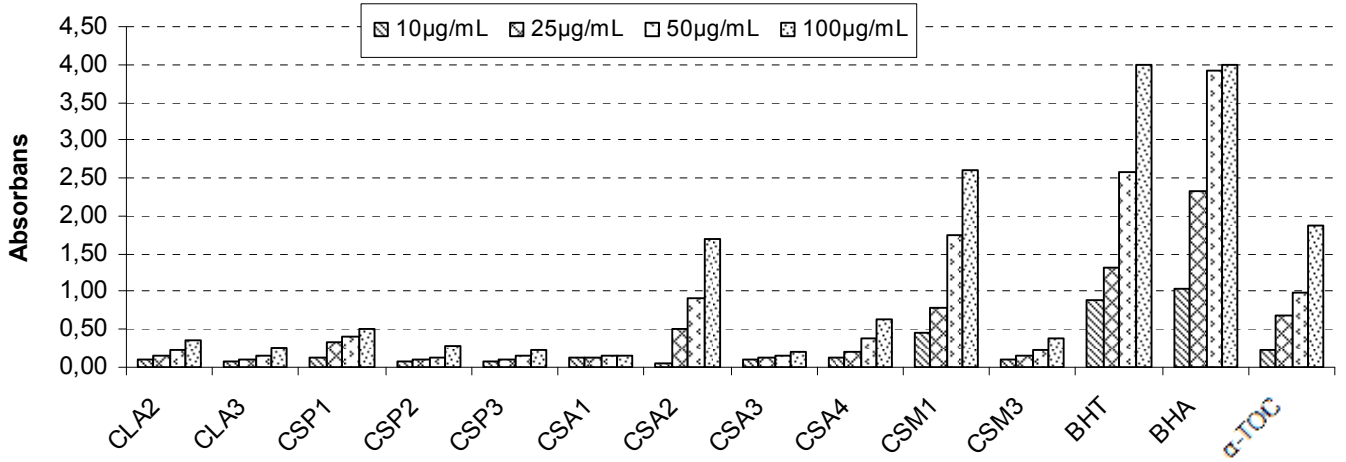
Süperoksit anyon radikali giderim yönteminde test edilen saf maddeler arasında *C. sipyleum* bitkisinin metanol ekstresinden elde edilen CSM 1 kodlu vanilik asit ve CSM 3 kodlu kampferol-3-O- α -L-ramnopiranozit bileşikleri 10, 25 ve 50 μ g/mL konsantrasyonlarda standart olarak kullanılan gallik asitten daha yüksek değerde aktivite gösterdi. CLA 2 (*cis*-epoksikoniferil alkol), CLA 3 (syringin) ve CSA 4 (1'-O-metilbalanophonin) bileşiklerinin CSM 1 ve CSM 3 hariç diğer saf maddelerden daha yüksek değerde aktivite gösterdikleri belirlendi (Şekil 4-120).



Şekil 4-120: Saf Maddelerin Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi

4.4.7.5. CUPRAC Yöntemi ile Antioksidan Aktivite Sonuçları

CUPRAC yönteminde test edilen saf maddeler arasında en iyi aktiviteyi gösteren *C. sipyleum* bitkisinin metanol ekstresinden elde edilen CSM 1 kodlu vanilik asit bileşiğinin 10, 25, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda standart olarak kullanılan α-tokoferol' den daha yüksek değerlerde etki gösterdiği belirlendi (Şekil 4-121). CSA 2 (balanophonin) bileşiğinin de orta derecede aktiviteye sahip olduğu belirlendi.



Şekil 4-121: Saf Maddelerin CUPRAC Aktivitesi Sonuçları

4.4.8. Saf Maddelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları

Antikolinesteraz aktivite sonuçlarına göre test edilen saf maddeler arasında en yüksek aktiviteyi *C. sipyleum* bitkisinin petrol eteri ekstresinden elde edilen CSP 2 kodlu taraksasterol bileşiğinin gösterdiği belirlendi (Tablo 4-19). Ayrıca butirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesinde CSA 1 (apigenin) ve CSA 4 (1'-O-Metilbalanophonin) bileşiklerinin orta derecede aktif oldukları tespit edildi.

Tablo 4-19: Saf Maddelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları^a

Saf Maddeler	AChE(%İnhibisyon)	BChE (%İnhibisyon)
CLA1= β -Sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit	AD	AD
CLA2= <i>cis</i> -Epoksikoniferil alkol	16,67 \pm 0,28	41,71 \pm 0,78
CLA3= Syringin	AD	46,08 \pm 1,13
CSP1= Taraksasterol asetat	30,20 \pm 2,22	AD
CSP2= Taraksasterol	55,49 \pm 1,27	72,55 \pm 1,55
CSP3= β -Sitosterol	AD	28,61 \pm 1,65
CSA1= Apigenin	39,02 \pm 1,05	56,11 \pm 1,19
CSA2= Balanophonin	AD	6,19 \pm 1,61
CSA3= <i>p</i> -Hidroksibenzoik asit	16,99 \pm 0,97	AD
CSA4= 1'-O-Metilbalanophonin	20,00 \pm 1,11	59,29 \pm 1,06
CSM1= Vanilik asit	AD	28,02 \pm 1,22
CSM3= Kampferol-3-O- α -L-ramnopiranozit	AD	AD
Galantamin ^b	76,08 \pm 0,39	76,52 \pm 0,41

^a 200 μ g/mL

^b Standart madde

AD: Aktif değil

5. TARTIŞMA

Bu doktora tez çalışmasında, Asteraceae familyasının üyeleri olan *Cirsium leucopsis* DC. ve *C. sipyleum* O. Schwarz bitkilerinin kimyasal içerikleri, apolar bileşenleri, antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri ilk kez belirlendi.

Endemik olan her iki bitkinin toprak üstü kısımları sırasıyla petrol eteri, aseton ve metanol ile ekstre edildi. Ekstrelerin toplam fenolik ve flavonoit miktarları tayin edildikten sonra β -karoten renk açılım, DPPH serbest radikali giderim, ABTS katyon radikali giderim, süperoksit anyon radikali giderim ve CUPRAC yöntemleri ile antioksidan aktiviteleri ve Ellman yöntemi ile antikolinesteraz etkileri belirlendi. Ayrıca her iki bitkinin petrol eteri ekstralarının sütun kromatografisi ile ayrılması sonucu elde edilen apolar fraksiyonların bileşimi GC/MS analizi ile tayin edildi. Tüm ekstralardan kromatografik yöntemler kullanılarak elde edilen saf maddelerin yapıları spektroskopik yöntemlerle aydınlatıldı. Miktarı yeterli olan saf maddelerin antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri belirlendi.

Hem toplam fenolik içerik hem de toplam flavonoit içerik bakımından *C. leucopsis* aseton ekstresinin (CLA) ve *C. sipyleum* aseton ekstresinin (CSA) flavonoit içerik bakımından diğer ekstralardan daha zengin oldukları belirlendi.

β -karoten renk açılım yönteminde tüm konsantrasyonlarda (10, 25, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$) CLA en yüksek aktiviteyi gösterdi. DPPH serbest radikali giderim aktivitesinde de CLA'nın en yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Bu yöntemde tüm ekstraların inhibisyonu %50'nin altında bulundu.

ABTS katyon radikali giderim ve süperoksit anyon radikali giderim aktivitelerinde tüm ekstralar %50'nin altında inhibisyon gösterirken adı geçen ilk yöntemde sadece CSM (*C. sipyleum* metanol ekstresi) 100 $\mu\text{g/mL}$ 'de %58 inhibisyon, ikinci yöntemde ise sadece CLM (*C. leucopsis* metanol ekstresi) 100 $\mu\text{g/mL}$ 'de %57 inhibisyon gösterdi. CUPRAC yönteminde hiçbir ekstrenin aktif olmadığı belirlendi. Antioksidan aktivitelerin belirlenmesinde kullanılan beş yöntem içinde sadece β -karoten renk açılım yönteminde tek bir ekstre (CLA) %80'in üzerinde aktivite gösterdi.

Antikolinesteraz aktivite bakımından hiçbir ekstrenin aktif olmadığı tespit edildi.

C. leucopsis bitkisinin petrol eteri ekstresinden elde edilen apolar fraksiyonların GC/MS analizi sonucu bileşimindeki 19 bileşenin yapıları belirlendi. Aynı şekilde *C. sipyleum* bitkisinin petrol eteri ekstresinden elde edilen apolar fraksiyonların GC/MS analizi ile 22 bileşeni tayin edildi.

C. leucopsis bitkisinin petrol eteri ekstresinden taraksasterol (triterpen), aseton ekstresinden β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit (steroit glikozit), *cis*-epoksikoniferil alkol (lignan) ve syringin (lignan), metanol ekstresinden apigenin (flavon) elde edildi.

C. sipyleum bitkisinin petrol eteri ekstresinden taraksasterol asetat (triterpen), taraksasterol (triterpen) ve β -sitosterol (steroit), aseton ekstresinden apigenin (flavon), balanophonin (neolignan), p-hidroksibenzoik asit (fenolik bileşik) ve 1'-O-metilbalanophonin (neolignan), metanol ekstresinden vanilik asit (fenolik bileşik), kampferol-3-O- β -D-glikopiranozit (flavonoit glikozit) ve kampferol-3-O- α -L-ramnopiranozit (flavonoit glikozit) elde edildi.

Sonuç olarak her iki bitkiden tümü bilinen iki triterpen, iki lignan, iki neolignan, iki fenolik bileşik, iki flavonoit glikozit, bir flavon, bir steroit ve bir steroit glikozit olmak üzere toplam 13 bileşik elde edildi.

Bu bileşiklerden *cis*-epoksikoniferil alkol, balanophonin ve 1'-O-metilbalanophonin *Cirsium* türlerinden ilk kez elde edildi. Ayrıca 1'-O-metilbalanophonin Asteraceae familyasından ilk kez elde edildi.

β -karoten renk açılım yönteminde test edilen maddeler arasında en iyi aktiviteye sahip olan balanophonin 100 μ g/mL konsantrasyonda %50' nin altında inhibisyon gösterdi.

DPPH serbest radikali giderim aktivitesinde vanilik asit, standart olarak BHT' den tüm konsantrasyonlarda daha yüksek aktivite gösterdi. Test edilen maddeler arasında ikinci en iyi aktiviteye sahip olan madde ise balanophonin' dir.

ABTS kayon radikali giderim aktivitesinde 10, 25 ve 50 μ g/mL konsantrasyonlarda en yüksek aktiviteyi balanophonin gösterirken 100 μ g/mL' de kampferol-3-O- α -L-ramnopiranozit ve balanophonin α -TOC' den çok az daha iyi bir etki gösterdi. Kampferol-3-O- α -L-ramnopiranozit, balanophonin, vanilik asit ve 1'-O-metilbalanophonin 100 μ g/mL konsantrasyonda BHT' den daha iyi bir etki gösterdi. Ayrıca balanophonin 25 μ g/mL' de (+)-catechin kadar, 50 μ g/mL' de ise daha yüksek

bir etki gösterdi. 1'-O-Metilbalanophonin, vanilik asit ve kampferol-3-O- α -L-ramnopiranozitin 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ' de (+)-catechin kadar etkiye sahip olduğu belirlendi.

Süperoksit anyon radikali giderim aktivitesinde 10, 25 ve 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ' de vanilik asit ve kampferol-3-O- α -L-ramnopiranozid gallik asitten daha yüksek etki gösterdi.

CUPRAC yönteminde 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ' de vanilik asit en iyi aktiviteyi gösterdi, diğer maddelerin aktif olmadıkları belirlendi.

Antikolinesteraz aktivite bakımından taraksasterol' ün test edilen saf maddeler arasında en iyi asetil-(%55,49 inhibisyon) ve butiril-kolinesteraz (%72,55 inhibisyon) enzim inhibitörü olduğu belirlendi.

Neolignan yapısındaki balanophonin antioksidan bakımından kuvvetli etkiye sahipken bu bileşiğin metil türevi olan 1'-O-metilbalanophonin' in ise aktif olmadığı belirlendi. Buna karşılık antikolinesteraz etki bakımından balanophonin aktif değilken, metil türevinin orta düzeyde (%59,29 inhibisyon) etkili olduğu tespit edildi.

Taraksasterol ve taraksasterol asetat antioksidan bakımdan aktif değilken taraksasterol' ün, asetat türevine göre çok daha yüksek antikolinesteraz aktivite gösterdiği saptandı.

Sonuç olarak hem antioksidan hem de antikolinesteraz etkili doğal aktif bileşikler bulmak açısından *Cirsium* türleri üzerinde yapılacak kimyasal ve biyolojik çalışmalar faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Aboul-Ela, M.A., Abdul-Ghani, M.M., El-Fiky, F.K., El-Lakany, A.M., Mekky, H.M. ve Ghazy, N.M. (2002). Chemical constituents of *Cirsium syriacum* and *Cichorium intybus* (Asteraceae) growing in Egypt. *Alexandria Journal of Pharmaceutical Sciences*, **16**, 152-156.
- Aixian, Y., Junjun, F. ve Zhiqun, Y. (2007). Manufacture of traditional Chinese medicine decoction for treating acute sinusitis, *Faming Zhuanli Shenging Gongkai Shuomingshu*, CN 1916299 A 20070221.
- Akalın, H.Ü. (2003). Alzheimer hastalarının lenfositlerinde rRNA ifadenmesinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Amarowicz, R. ve Shahidi, F. (1996). A rapid chromatographic method for separation of individual catechins for green tea. *Food Research International*, **29**, 71-76.
- Anggård, E. (1994). Nitric oxide: Mediator, murderer and medicine. *The Lancet*, **343**, 1199-1206.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamin C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 7970-7981.
- Appleyard, M.E. (1992). Secreted acetylcholinesterase: non-classical aspects of a classical enzyme. *Trends in Neurosciences*, **15**, 485-490.
- Aquino, R., Behar, I., Simone, F.D. ve Menichini, F. (1987). Preliminary investigation on *Cirsium vallis demoni*. *Fitoterapia*, **58**, 428-429.
- Aruoma, O.I. ve Cuppett, S.L. (1997). *Antioxidant Methodology in vivo and in vitro Concept*. Illinois: Champaign, AOCS Press, pp. 241.
- Aruoma, O.I., Halliwell, B. ve Dizdaroglu, M. (1989). Iron ion-dependent modification of bases in DNA by the superoxide radical-generating system hypoxanthine/xanthine oxidase. *The Journal of Biological Chemistry*, **264**, 13024-13028.
- Auld, D.S., Kornecook, T.J., Bastianetto, S. ve Qirion, R. (2002). Alzheimer's disease and the basal forebrain cholinergic system: relations to β -amyloid peptides, cognition, and treatment strategies, *Progress in Neurobiology*, **68**, 209-245.

- Babior, B.M. ve Woodman, R.C. (1990). Chronic granulomatous disease. *Seminars in Hematology*, **27**, 247-259.
- Badria, F., Ameen, M. ve Akl, M.R. (2007). Evaluation of cytotoxic compounds from *Calligonum comosum* L. growing in Egypt. *Zeitschrift für Naturforschung*, **62c**, 656-660.
- Baek, N-I., Park, J.D., Lee, Y.H., Jeong, S.Y. ve Kim, S.I. (1995). A novel polyacetylene from *Cirsium* ssp. *Yakhak Hoechi*, **39**, 268-275.
- Bai-cui, H., Ning, L. ve Xian, L. (2008). Isolation and identification of chemical constituents from *Cirsium setosum* (Willd.) MB. *Shenyang Yaoke Daxue Wuebbao*, **25**, 793-795.
- Benzie, I. F. F. ve Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, **239**, 70-76.
- Binder, R.G., Benson, M., Haddon, W.F. ve French, R.C. (1992). Aplotaxene derivatives from *Cirsium arvense*. *Phytochemistry*, **31**, 1033-1034.
- Binder, R.G. ve French, R.C. (1994). Volatile components of Canada thistle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **42**, 2942-2945.
- Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**, 1199-1200.
- Bohlmann, F. ve Abraham, W.R. (1981). Aplotaxene epoxide from *Cirsium hypoleucum*. *Phytochemistry*, **20**, 855-856.
- Boiteau, P., Pasich, B. ve Ratsimamanga, A.R. (1964). Les Triterpenoids. Paris, Gauthier-Villards, pp. 3, 32, 184, 469.
- Borawska, M.H., Czechowska, S.K., Markiewicz, R., Socha, K., Nazaruk, J., Palka, J. ve ark. (2010). Enhancement of antibacterial effects of extracts from *Cirsium* species using sodium picolinate and estimation of their toxicity. *Natural Product Research*, **24**, 554-561.
- Bracca, A.B.J. ve Kaufman, T.S. (2008). An alternative and convenient synthesis of oct-7-enal, a naturally-occurring aldehyde isolated from the Japanese thistle *Cirsium dipsacolepis*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **19**, 1125-1128.
- Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medical Plants*, Paris, Lavoisier Publishing, pp. 280-288.

- Buchanan, B.B., Schurmann, P., Decottignies, P.T. ve Lozano, R.M. (1994). Perspectives in biochemistry and biophysics: thioredoxin: a multifunctional regulatory protein with a bright future in technology and medicine. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **314**, 257-260.
- Chen, Y., Zheng, R., Zhongjian, J. ve Yong, J. (1990). Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radicals Biology & Medicine*, **9**, 19-21.
- Chin-Wen, H., Szu-Chen, D., Chien-Nan, C. ve Pei-Sheng, C. (2008). Superoxide anion and hydroxyl radical scavenging activities of *Lropetalum chinense*, *Cirsium japonicum* DC. var *australe* Kitamura., and *Acanthopanax trifoliatum* (L.) Merr. using ultraweak chemiluminescence analyzer, *Abstracts of Papers, 236th ACS National Meeting, Philadelphia, PA, United States*, August 17-21, AGFD-127.
- Christensen, L.P. (1992). Aplotaxene derivatives from *Cirsium helenioides*. *Phytochemistry*, **31**, 2039-2041.
- Cook, N.C. ve Saman, S. (1996). Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **7**, 66-76.
- Correia, S.J., David, J.M., Silva, E.P., David, J.P., Lopes, L.M.X. ve Guedes, M.L.S. (2008). Flavonoids, norisoprenoids and other terpenes from leaves of *Tapirira guianensis*. *Quimica Nova*, **31**, 2056-2059.
- Cram, D. J. ve Hammond G. S. (1964). *Organic Chemistry*. New York: McGraw-Hill Book Company, pp. 671-673.
- Dapkevicius, A., Venskutonis, R., Van Beek, T.A. ve Linssen, P.H. (1998). Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **77**, 140-146.
- Davis, P.H ve Parris, B.S. (1975). İçinde Davis, P.H (Ed.) *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, **5**, Edinburgh: Edinburg University Press, pp. 370-412.
- Davis, P.H., Mill, R.R. ve Tan, K. (1988). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. **10** (suppl. 1). Edinburgh: Edinburg University Press, pp. 164-165.
- Deliorman-Orhan, D., Ergun, F., Yeşilada, E., Tsuchiya, K., Takaishi, Y. ve Kawazoe, K. (2007). Antioxidant activity of two flavonol glycosides from *Cirsium hypoleucum* DC. through bioassay-guided fractionation. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, **4**, 1-14.

- Devon, T.K. ve Scott, A.I. (1972). Terpenes. In: *Handbook of Naturally Occurring Compounds*. Volume II, New York and London, Academic Press, pp. 5-200.
- Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C. ve Almeida, L. M. (1994). Action of phenolic derivatives as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **315**, 161-169.
- Do, J.C., Jung, K.Y. ve Son, K.H. (1994). Isolation of pectolinarin from the aerial parts of *Cirsium nipponicum*. *Saengyak Hakhoechi*, **25**, 73-75.
- Dominguez, X.A., Gonzalez, A., Angeles, Z.M. ve Garza, A. (1974). Taraxasterol from *Stevia berlandieri* and *Cirsium texanum*. *Phytochemistry*, **13**, 2001.
- Dutta, C.P., Ray, L.P.K. ve Roy, D.N. (1972). Taraxasterol and its derivatives from *Cirsium arvense*. *Phytochemistry*, **11**, 2267-2269.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. ve Featherstone, R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, **7**, 88-95.
- Floyd, R.A., Watson, J.J., Haris, J., West, M. ve Wong, P.K. (1986). Formation of 8-hydroxydeoxyguanosine, hydroxyl free radical adduct of DNA in granulocytes exposed to tumor promoter, tetradecanoylphorbolacetate. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **137**, 841-846.
- Floyd, R.A., West, M.S., Eneff, K.L., Hogsett, W.E. ve Tingey, D.T. (1988). Hydroxyl free radical mediated formation of 8-hydroxyguanine in isolated DNA. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **262**, 266-272.
- Fridovich, I. (1986). Superoxide dimutases. *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*, **58**, 61-97.
- Ganzera, M., Pöcher, A. ve Stuppner, H. (2005) Differentiation of *Cirsium japonicum* and *C. setosum* by TLC and HPLC-MS. *Phytochemical Analysis*, **16**, 205-209.
- Gardner, R.C. (1973). Acacetin-7-O-rutinoside and pectolinarin from *Cirsium coloradense*. *Phytochemistry*, **12**, 223.
- Geissman, T.A. (1962). *The Chemistry of Flavonoid Compounds*. New York: The Macmillan Company, pp. 72.
- Geissman, T.A. ve Crout, D.H.G. (1969). *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism*. California: Freeman, Cooper and Company, pp. 4, 137-166, 217, 241, 291, 293, 300,305, 309.

- Ghiselli, A., Serafini, M., Maiani, G., Azzini, E. ve Ferro-Luzzi, A. (1995). A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. *Free Radical Biology and Medicine*, **18**, 29-36.
- Glyzin, V.I., Shelyuto, V.L., Patudin, A.V. ve Bubon, N.T. (1977). *Flavonoids of Cirsium Mill Species*. İçinde Urvantsev, I.F. (Ed.), *Mater. S'ezda Farm. B. SSR*, (3rd), pp. 153-156.
- Goulas, V., Gomez-Caravaca, A.M., Exarchou, V., Gerothanssis, I.P., Segura-Carretero, A. ve Gutierrez, A.F. (2012). Exploring the antioxidant potential of *Teucrium polium* extracts by HPLC-SPE-NMR and on-line radical-scavenging activity detection. *LWT-Food Science and Technology*, **46**, 104-109.
- Gu, Y. ve Tu, Y. (1992a). Chemical constituents of *Cirsium japonicum* D.C. *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, **17**, 489-490.
- Gu, Y. ve Tu, Y. (1992b). Chemical constituents of *Cirsium segetum* (Bge.) Kitam. *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, **17**, 547-548.
- Guoliang, C., Xinli, L., Linggang, S. ve Shujun, Z. (2007). Chemical constituent from *Cirsium pendulum* Fisch. Ex DC., *Zhongyaocai=Journal of Chinese Medicinal Materials*, **30**, 291-294.
- Gurovic, M.S.V., Castro M.J., Richmond, V., Faraoni, M.B., Maier, M.S. ve Murray, A.P. (2010). Triterpenoids with acetylcholinesterase inhibition from *Chuquiraga erinacea* D. Don. subsp. *erinacea* (Asteraceae). *Planta Medica*, **76**, 607-610.
- Gutierrez, R.M.P. (2005). Pentacyclic triterpenes from *Cirsium pascuarense*. *Journal of the Chilean Chemical Society*, **50**, 587-589.
- Guyton, K.Z. ve Kensler, T.W. (1993). Oxidative mechanism in carcinogenesis. *British Medical Bulletin*, **49**, 523-544.
- Guz, N.R. ve Stermitz, F.R. (2000). Spectral comparisons of coniferyl and cinnamyl alcohol epoxide derivatives with a purported *cis*-epoxyconiferyl alcohol isolate. *Phytochemistry*, **54**, 897-899.
- Güner, A., Özhatay, F.N., Ekim, T. ve Başer, K.H.C. Eds. (2000). *Flora of Turkey and the East Aegean islands*, **11**. Edinburgh: Edinburgh University Press, pp. 161-162.
- Hacıbekiroğlu, I. ve Kolak, U. (2011). Antioxidant and anticholinesterase constituents from the petroleum ether and chloroform extracts of *Iris suaveolens*. *Phytotherapy Research*, **25**, 522-529.

- Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutrition Reviews*, **52**, 253-265.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J.M.C. (1989). *Free Radicals in Biology and Medicine*. (2nd ed.), Oxford: Clarendon Press, pp. 543.
- Harborne, J.B., Mabry, T.J. ve Mabry, H. (1975). *The Flavonoids*. London-New York: Chapman and Hall, pp. 35-37, 865-867.
- Hartman, R. E., (2010). Actions of Bioactive Phytochemicals in Cell Function and Alzheimer's Disease Pathology. İcinde Cadenas, E ve Packer, L. (Eds.) *Micronutrients and Brain Health*. Taylor & Francis Group.
- Henry, J.P. ve Stephens-Larson, P. (1984). Reduction of chronic psychosocial hypertension in mice by decaffeinated tea. *Hypertension*, **6**, 437-444.
- Hertog, M.G.L., Feskens, E.J.M., Hollman, P.C.H., Katan, M.B. ve Kromhout, D. (1993). Dietary antioxidant flavonoids and the risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study. *The Lancet*, **342**, 1007-1011.
- Hickey, M. ve King, C.J. (1981). *100 Families of Flowering Plants*, Cambridge: Cambridge University Press.
- Ho, C-T., Chen, C-W., Wanasundara, U.N. ve Shahidi, F. (1997) Natural antioxidants from tea. *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects and Applications*. Champaign IL: AOCS Press, pp. 213-223.
- Ho, C.T., Chen, Q., Shi-Zhang, K.Q. ve Rosen, R.T. (1992). Antioxidative effect of polyphenol extract prepared from various Chinese teas. *Preventive Medicine*, **21**, 520-525.
- Ho, J-C., Chen, C-M. ve Row, L-C. (2004). Neolignans from the parasitic plants part 2. *Cassytha filiformis*. *Journal of the Chinese Chemical Society*, **51**, 221-223.
- Hsu, T.Y., Sheu, S.C., Liaw, E.T., Wang, T.C. ve Lin, C.C. (2005) Antioxidant activity and effect of *Pinus morrisonicola* on the survival of leukemia cell line U937. *Phytomedicine*, **12**, 663-669.
- Hu, W., Gray, N.W. ve Brimijoin, S. (2003). Amyloid-beta increases acetylcholinesterase expression in neuroblastoma cells by reducing enzyme degradation. *Journal of Neurochemistry*, **86**, 470-478.
- Hualin, Li. (2007). Oral solution for treating prostatitis, *Faming Zhuanli Shenging Gongkai Shuomingshu*, CN 1903338 A 20070131.

- Hudson, B.J.F. (1990). *Food Antioxidants*. London and New York: Elsevier Applied Science pp.: 1-316.
- Husain, S.R., Cillard, J. ve Cillard, P. (1987). Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry*, **26**, 2489-2491.
- Ito, N., Fukushima, S., Haqlwara, A., Shibata, M. ve Ogiso, T. (1983). Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *Journal of the National Cancer Institute*, **70**, 343-352.
- Iwashina, T., Kamenosono, K. ve Ueno, T. (1999). Hispidulin and nepetin 4'-glucosides from *Cirsium oligophyllum*. *Phytochemistry*, **51**, 1109-1111.
- Jeong, D.M., Jung, H.A. ve Choi, J.S. (2008). Comparative antioxidant activity and HPLC profiles of some selected Korean thistles. *Archives of Pharmacal Research*, **31**, 28-33.
- Jiang, X., Fan, C. ve Ye, W. (2006). Study on chemical components in the roots of *Cirsium japonicum* DC. *Zhongcaoyao*, **37**, 510-512.
- Jordon-Thaden, I.E. ve Louda, S.M. (2003). Chemistry of *Cirsium* and *Carduus*: a role in ecological risk assessment for biological control of weeds? *Biochemical Systematics and Ecology*, **31**, 1353-1396.
- Jung, H.A., Jung, Y.J., Hyun, S.K., Min, B.S., Kim, D.W., Jung, J.H. ve Choi, J.S. (2010). Selective cholinesterase inhibitory activities of a new monoterpene diglycoside and other constituents from *Nelumbo nucifera* stamens. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **33**, 267-272.
- Jung, H.A., Kim, Y.S. ve Choi, J.S. (2009). Quantitative HPLC analysis of two key flavonoids and inhibitory activities against aldose reductase from different parts of the Korean thistle, *Cirsium maackii*. *Food and Chemical Toxicology*, **47**, 2790-2797.
- Kabouche, A., Kabouche, Z., Öztürk, M., Kolak, U., ve Topçu, G. (2007). Antioxidant abietane diterpenoids from *Salvia barrelieri*. *Food Chemistry*, **102**, 1281-1287.
- Karaman, Y. (2002). Alzheimer Hastalığı ve Diğer Demanslar, pp. 90-210, Kayseri.
- Kawazu, K., Nishii, Y. ve Nakajima, S. (1980). Studies on naturally occurring nematocidal substances. Part 2. two nematocidal substances from roots of *Cirsium japonicum*. *Agricultural and Biological Chemistry*, **44**, 903-906.
- Ke, P., Yongqin, Y. ve Lingyi, K. (2006). Chemical constituents of *Cirsium setosum* (Willd.) MB. *Zhongguo Xiandai Zhongyao*, **8**, 7-9.

- Khafagy, S.M., Halim, A.F. ve Gohar, A.A. (1981). Chemical study of *Cirsium syriacum*. *Fitoterapia*, **52**, 21-23.
- Khalilov, L.M., Khalilova, A.Z., Shakurova, E.R., Nuriev, I.F., Kachala, V.V., Shashkov, A.S ve ark. (2003). PMR and ¹³C NMR spectra of biologically active compounds. XII. Traxasterol and its acetate from the aerial part of *Onopordum acanthium*. *Chemistry of Natural Compounds*, **39**, 285-288.
- Kim, M.R., Moon, H.T., Lee, D.G. ve Woo, E.R. (2007). A new lignan glycoside from stem bark of *Styrax japonica* S. et Z. *Archives of Pharmacal Research*, **30**, 425-430.
- Kohen, R., Beit-Yannai, E., Berry, E. M. ve Tirosh, O. (1999). Overall low molecular weight antioxidant activity of biological fluids and tissues by cyclic voltammetry. *Methods in Enzymology*, **300**, 285-296.
- Koike, K. ve Ariyoshi, U. (1980). Studies of polysaccharide from the roots of *Cirsium nipponicum* Makino var. *incomptum* Kitamura. *Nihon Daigaku Yakugaku Kenkyu Hokoku*, **20**, 11-14.
- Kolak, U., Topçu, G., Birteksöz, S., Ötük, G. ve Ulubelen, A. (2005). Terpenoids and steroids from the roots of *Salvia blepharochlaena*. *Turkish Journal of Chemistry*, **29**, 177-186.
- Kolak, U., Boğa, M., Akalın Uruşak, E. ve Ulubelen, A. (2011). Constituents of *Plantago major* subsp. *intermedia* with antioxidant and anticholinesterase capacities. *Turkish Journal of Chemistry*, **35**, 637-645.
- Kolak, U., Hacibekiroğlu, I., Öztürk, M., Özgökçe, F., Topçu, G. ve Ulubelen, A. (2009). Antioxidant and anticholinesterase constituents of *Salvia pocolata*. *Turkish Journal of Chemistry*, **33**, 813-823.
- Kolak, U., Öztürk, M., Özgökçe, F. ve Ulubelen, A. (2006). Norditerpene alkaloids from *Delphinium linearilobum* and antioxidant activity. *Phytochemistry*, **67**, 2170-2175.
- Krzysztofik, B. ve Ludwiczak, R.S. (1970). Triterpenes and sterols of *Cirsium olaraceum*. *Herba Hungarica*, **9**, 99-104.
- Krzysztofik, B. ve Ludwiczak, R.S. (1971). Triterpenes and sterols of *Cirsium olaraceum*. *Roczniki Chemii*, **45**, 355-364.
- Ku, K-L., Tsai, C-T., Chang, W-M., Shen, M-L., Wu, C-T. ve Liao, H-F. (2008) Hepatoprotective effect of *Cirsium arisanense* Kitamura in tacrine-treated hepatoma

- Hep 3B Cells and C57BL mice. *The American Journal of Chinese Medicine*, **36**, 355-368.
- Kyung, C.A., Cheol, K.H., Zin, C.S., Deuk, M.Y., Ok, L.S., Bin, L.W. ve ark. (2002). Norisoprenoids from *Cirsium rhinoceros*. *Saengyak Hakhoechi*, **33**, 81-84.
- Lanari, A., Silvestrelli, G., Tomassoni, D. ve Pametti, L. (2006). Neurotransmitter deficits in behavioural and psychological symptoms of Alzheimer's disease. *Mechanism of Ageing and Development*, **127**, 158-165.
- Larson, R.A. (1988). The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, **27**, 969-978.
- Lee, S.H., Heo, S-I., Li, L., Lee, M.J. ve Wang, M-H. (2008). Antioxidant and hepatoprotective activities of *Cirsium setidens* NAKAI against CCl₄-induced liver damage. *The American Journal of Chinese Medicine*, **36**, 107-114.
- Lee, H.B., Kwak, J.H., Zee, O.P. ve Yoo, S.J. (1994). Flavonoids from *Cirsium rhinoceros*. *Archives of Pharmacal Research*, **17**, 273-277.
- Lee, W.B., Kwon, H.C., Cho, O.R., Lee, K.C., Choi, S.U., Baek, N.I. ve ark. (2002). Phytochemical constituents of *Cirsium setidens* Nakai and their cytotoxicity against human cancer cell lines. *Archives of Pharmacal Research*, **25**, 628-635.
- Lee, J.H. ve Lee, K.R. (2005). Phytochemical constituents of *Cirsium nipponicum* (MAX.) Makino. *Saengyak Hakhoechi*, **36**, 145-150.
- Lee, Y.C. ve Park, Y.H. (1984). Chemical studies on *Cirsium* species (V). Chemical constituents of the roots of *Cirsium xanthocanthum*. *Saengyak Hakhoechi*, **15**, 74-77.
- Li, G., Min, B.S., Zheng, C., Lee, J., Ow, S.R. ve Ahn, H.K. (2005). Neuroprotective and free radical scavenging activities of phenolic compounds from *Hovenia dulcis*. *Archives of Pharmacal Research*, **28**, 804-809.
- Lim, H., Son, K.H., Chang, H.W., Bae, K.H., Kang, S.S. ve Kim, H.P. (2008). Anti-inflammatory activity of pectolinarigenin and pectolinarin isolated from *Cirsium chanroenicum*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **31**, 2063-2067.
- Lin, C-N. (1975). Components of formosan *Cirsium* species, III. components of *Cirsium kawakamii* and *Cirsium wallichii*. *Journal of the Chinese Chemical Society (Taipei, Taiwan)*, **22**, 275-277.
- Lin, C-N., Chang, C-H. ve Wu, T-S. (1975). Components of formosan *Cirsium* species, II. components of *Cirsium arisanense*, *Journal of the Chinese Chemical Society (Taipei, Taiwan)*, **22**, 53-55.

- Ling, F., Qianfeng, G., Wuqing, L., Wuliang, Y., Xuewen, L., ve Jun, C. (2004). Determination of pectolinarin of *Cirsium japonicum* by RP-HPLC. *Zhongcaoyao*, **35**, 1306-1307.
- Liu, S., Luo, X., Li, D., Zhang, J., Qiu, D.L., Liu, W. ve ark. (2006). Tumor inhibition and improved immunity in mice treated with flavone from *Cirsium japonicum* DC. *International Immunopharmacology*, **6**, 1387-1393.
- Liu, S., Zhang, J., Li, D., Liu, W., Luo, X., Zhang, R. ve ark. (2007). Anticancer activity and quantitative analysis of flavon of *Cirsium japonicum* DC. *Natural Product Research*, **21**, 915-922.
- Liu, F., Ooi, V.E.C. ve Chang, S.T. (1997). Free radical scavenging activity of mushroom polysaccharide extracts. *Life Sciences*, **60**, 763-771.
- Loizzo, M.R., Statti, G.A., Tundis, R., Conforti, F., Ando, S. ve Menichini, F. (2004). Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Cirsium tenoreanum*. *Fitoterapia*, **75**, 577-580.
- Lu, Y., Song, W., Liang, X., Wei, D. ve Zhou, X. (2009). Chemical fingerprint and quantitative analysis of *Cirsium setosum* by LC. *Chromatographia*, **70**, 125-131.
- Luo, M., Kannar, K., Wahlqvist, M.L. ve O'Brien, R.C. (1997). Inhibition of LDL oxidation by green tea extract. *The Lancet*, **349**, 360-361.
- Luo, W., Zhao, M., Yang, B., Shen, G. ve Rao, G. (2009). Identification of bioactive compounds in *Phyllanthus emblica* L. fruit and their free radical scavenging activities. *Food Chemistry*, **114**, 499-504.
- Mabry, T.J. ve Ulubelen, A. (1980). Chemistry and utilization of phenylpropanoids including flavonoids, coumarins, and lignans. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, **28**, 188-196.
- Mabry, T.J., Markham, K.R. ve Thomas, M.B. (1970). *The Systematic Identification of Flavonoids*. Berlin-Heidelberg-New York: Springer-Verlag, pp. 41-273.
- Marga, F., Pesacreta, T.C ve Hasenstein, K.H. (2001). Biochemical analysis of elastic and rigid cuticles of *Cirsium horridulum*. *Planta*, **213**, 841-848.
- Martinez-Vazquez, M., Apan, T.O.R., Lastra, A.L. ve Bye, R. (1998). A comparative study of the analgesic and anti-inflammatory activities of pectolinarin isolated from *Cirsium subcoriaceum* and linarin isolated from *Buddleia cordata*. *Planta Medica*, **64**, 134-137.

- Matsuura, S., Kunii, T. ve Matsuura, A. (1973). Synthetic studies of the flavone derivatives. I. syntheses of sirsiliol and sirsilineol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **21**, 2757-2759.
- Mears, J.A. ve Mabry, T.J. (1972). A procedure for the UV detection of hydroxyl and methoxyl groups at C₆ in flavones and 3-O-substituted flavonols. *Phytochemistry*, **11**, 411-412.
- McGowan, S.G. ve Wallace, J.W. (1972). Flavonoid and phenolic acids from *Cirsium lanceolatum*. *Phytochemistry*, **11**, 1503-1504.
- Miller, H.E. (1971). A simplified method for the evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, **48**, 91.
- Miyaichi, Y., Matsuura, M. ve Tomimori, T. (1995). Phenolic compounds from the roots of *Cirsium japonicum* DC. *Journal of Natural Medicines*, **49**, 92-94.
- Miyazawa, M., Yamafuji, C., Kurose, K. ve Ishikawa, Y. (2003). Volatile components of the rhizomes of *Cirsium japonicum* DC. *Flavour and Fragrance Journal*, **18**, 15-17.
- Mohs, R.C., Doody, R.S., Morris, J.C., Ieni, J.R., Rogers, S.L., Perdomo, C.A. ve ark. (2001). A 1-year, placebo-controlled preservation of function survival study of donepezil in AD patients published correction appears in Neurology. *Neurology*, **57**, 481-488.
- Moncada, S, Palmer, R. ve Higgs, E. (1991). Nitric oxide physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacological Reviews*, **43**, 109-142.
- Moreno, M.I.N., Isla, M.I., Sampietro, A.R. ve Vattueno, M.A. (2000). Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*, **71**, 109-114.
- Morita, N. ve Lin, C-N. (1977). Studies on the components of formosan *Cirsium* species, Part IV. components of *Cirsium arisanense* Kitamura and *Cirsium ferum* Kitamura. *Taiwan Yaoxue Zazhi*, **28**, 40-42.
- Morita, N., Shimizu, M. ve Arisawa, M. (1973). Flavonoids of *Cirsium* VI. Two new flavone glycosides from *Cirsium lineare*. *Phytochemistry*, **12**, 421-423.
- Nakasugi, T., Nakashima, M. ve Komai, K. (2002). Antimutagens in *Cirsium maritimum*. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, **10**, 19-28.
- Namiki, M. (1990). Antioxidants/antimutagens in food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **29**, 273-300.

- Nazaruk, J., Wajs-Bonikowska, A. ve Bonikowski, R. (2012). Components and antioxidant activity of fruits of *Cirsium palustre* and *C. rivulare*. *Chemistry of Natural Compounds*, **48**, 8-10.
- Nazaruk, J. (2008). Antioxidant activity and total phenolic content in *Cirsium* five species from north-east region of Poland. *Fitoterapia*, **79**, 194-196.
- Nazaruk, J. (2009). Flavonoid compounds from *Cirsium palustre* (L.) Scop. Flower heads. *Biochemical Systematics and Ecology*, **37**, 525-527.
- Nazaruk, J., Czechowska, S.K., Markiewicz, R. ve Borawska, M.H. (2008) Polyphenolic compounds and in vitro antimicrobial and antioxidant activity of aqueous extracts from leaves of some *Cirsium* species. *Natural Product Research*, **22**, 1583-1588.
- Nazaruk, J., Gora, J., Majda, T. ve Gudej, J. (2002). Investigation of essential oil from *Cirsium rivulare* (Jacq.) All. flowers. *Herba Polonica*, **48**, 193-197.
- Nazaruk, J. ve Gudej, J. (2003). Flavonoid compounds from the flowers of *Cirsium rivulare* (Jacq.) All. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, **60**, 87-89.
- Nazaruk, J. ve Jakoniuk, P. (2005). Flavonoid composition and antimicrobial activity of *Cirsium rivulare* (Jack.) All. flowers. *Journal of Ethnopharmacology*, **102**, 208-212.
- Nazemiyeh, H., Kazemi, E.M., Zare, K., Jodari, M., Nahar, L. ve Sarker, S.D. (2010). Free radical scavengers from the aerial parts of *Euphorbia petiolata*. *Journal of Natural Medicine*, **64**, 187-190.
- Negi, R.K.S., Fakhir, T.M. ve Rajagopalan, T.R. (1989). A pyrrolizidine alkaloid from *Cirsium wallichii* DC. *Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry*, **28B**, 524-525.
- Nishikimi, M., Rao, N.A. ve Yagi, K. (1972). The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **46**, 849-854.
- Nolasco, S.N., Bertoni, M.H., Malec, L. ve Cattaneo, P. (1987). Studies on seeds of *Onopordon acanthium* L. (cardo pampa), *Carduus acanthoides* L. (cardo negro) and *Cirsium vulgare* (savi) 10 (cardo) extracted (hexane) crude oils and defatted seed meals. *Anales de l Asociacion Quimica Argentina*, **75**, 29-34.
- Ogurtsova, L.N. ve Syuzeva, Z.F. (1974). Flavonoids of *Cirsium heterophyllum*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*, **10**, 90.

- Ohmiya, T. ve Mito, K. (1977). Blood sugar lowering by the *Cirsium dipsacolips* extract, *Jpn. Kokai Tokyo Koho*, JP 52094410 19770809.
- Orhan, İ., Kartal, M., Naz, Q., Ejaz, A., Yılmaz, G., Kan, ve ark. (2007). Antioxidant and anticholinesterase evaluation of selected Turkish *Salvia* species. *Food Chemistry*, **103**, 1247-1254.
- Özhatay, F.N, Kültür, Ş. ve Gürdal, M.B. (2011). Check-list of additional taxa to the supplement flora of Turkey V. *Turkish Journal of Botany*, **35**, 589-624.
- Packer, L. ve Cadenoas E. (2002). *Oxidative Stress and Disease. Handbook of Antioxidants*. 2nd Edn., New York, Basel, USA: Marcel Dekker, pp. 5-8.
- Palade, M. (1971). o-Dihydrophenolic derivatives from *Cirsium arvense*. *Farmacia (Bucharest, Romania)*, **19**, 233-240.
- Palade, M. ve Forstner, S. (1971). Pharmacognostic study of *Cirsium arvense*. *Farmacia (Bucharest, Romania)*, **19**, 89-104.
- Papas, A.M. (1996). Determinants of antioxidant status in humans. *Lipids*, **31**, 77–82.
- Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Schmeda-Hirschmann, G., Burillo, J.S. ve Codina, C. (2004). Bioguided isolation and identification of the nonvolatile antioxidant compounds from fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 1890-1897.
- Park, J.C., Lee, J.H. ve Choi, J.W. (1995a). Isolation and biological activity of flavone glycosides from the aerial part of *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* in Korea. *Han'guk Yongyang Siklyong Hakhoechi*, **24**, 906-910.
- Park, J.C., Lee, J.H. ve Choi, J.W. (1995b). A flavone diglycoside from *Cirsium japonicum* var. *ussuriense*. *Phytochemistry*, **39**, 261-262.
- Park, J.C., Hur, J.M., Park, J.G., Kim, S.C., Park, J.R., Choi, S.H. ve ark. (2004). Effects of metanol extract of *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* and its principle, hispidulin-7-O-neohesperidoside on hepatic alcohol-metabolizing enzymes and lipid peroxidation in ethanol-treated rats. *Phytotherapy Research*, **18**, 19-24.
- Payao, S.L.M., Smith, M.A.C., Kormon-Borlotto, M.H., Toniolo, J. (1994). Investigation of the nucleolar organizer regions in Alzheimer's disease. *Gerontology*, **40**, 13-17.
- Piazzzi, L., Cavalli, A., Colizzi, F., Belluti, F., Bartolini, M., Mancini, F. ve ark. (2008). Multi-target-directed coumarin derivatives:hAChE and BACE1 inhibitors as

- potential anti-Alzheimer compounds. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **18**, 423-426.
- Pokorny, J. (1991). Natural antioxidant for food use. *Trends in Food Science & Technology*, **9**, 223-227.
- Prior, R.L. ve Cao, G. (1999). In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology & Medicine*, **27**, 1173-1181.
- Raskind, M.A., Peskind, E.R., Truyen, L., Kershaw, P. ve Damaraju, C.R.V. (2004). The cognitive benefits of galantamine are sustained for at least 36 months: A long-term extension trial. *Archives of Neurology*, **61**, 252-256.
- Rasulov, F.A., Serkerov, S.V., Ismailov, N.M. ve Novruzov, E.N. (1989). Chemical investigation of *Cirsium echinus*. *Izvestiya Akademi Nauk Azerbaidzhanskoi SSR, Seriya Biologicheshikh Nauk*, **6**, 14-16.
- Rattanapan, J., Sichaem, J. ve Tip-pyang, S. (2012). Chemical constituents and antioxidant activity from the stems of *Alyxia reinwardtii*. *Records of Natural Products*, **6**, 288-291.
- 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 & Medicine*, **26**, 1231-1237.
- Rees, T., Hammond, P.I., Soreq, H., Younkin, S. ve Birimijoin, S. (2003). Acetylcholinesterase promotes beta-amyloid plaques in cerebral cortex. *Neurobiology of Aging*, **24**, 777-787.
- Reische, D.W., Lillard, D.A. ve Eitenmiller, R.R. (2002). Oxidation. *Food Lipids Chemistry, Nutrition and Biotechnology*, New York: Marcel Dekker Inc., pp. 335-542.
- Rendyuk, T.D., Glyzin, V.I. ve Shreter, A.I. (1977a). Phytochemical study of *Cirsium setosum* (Willd.). *Acta Pharmaceutica Jugoslavica*, **27**, 135-138.
- Rendyuk, T.D., Shreter, A.I., Shelyuto, V.L. ve Glyzin, V.I. (1977b). Flavonol glycoside of *Cirsium arvense*. *Khimiya Prirodnky Soedinenii*, **2**, 282.
- Rendyuk, T.D., Krivut, B.A. ve Glyzin, V.I. (1978). Spectrophotometric method for determining acacetin in the leaves of *Cirsium setosum* (Willd.). *Farmatsiya (Moscow, Russian Federation)*, **27**, 68.
- Salvatore, S., Pellegrini, N., Brenna, O.V., Del Rio, D., Frasca, G., Brighenti, F. ve ark.

- (2005). Antioxidant characterization of some Sicilian edible wild greens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 9465-9471.
- Sawaguchi, K., Nakao, K., Shimamura, T. ve Ohsawa, K. (1994). A new antimicrobial and antioxidative component of extracts from the rhizomes of *Cirsium brevicaulis* A. Gray var. *irumtiense* Kitam. *Bakin Bobai*, **22**, 271-275.
- Serin, S. (1995). *Centaurea ptosimopappoides* Wagenitz Bitkisinin Fitokimyasal İncelenmesi. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Sghaier, M.B., Skandrani, I., Nasr, N., Franca, M.G.D., Chekir-Ghedira, L. ve Ghedira, K. (2011). Flavonoids and sesquiterpenes from *Teucrium ramosissimum* promote antiproliferation of human cancer cells and enhance antioxidant activity: a structure-activity relationship study. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **32**, 336-348.
- Shelyuto, V.L., Glyzin, V.I., Yurchenko, G.N. ve Smirnova, L.P. (1978). Flavonoids from *Cirsium oleraceum* flowers. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, **3**, 400.
- Shelyuto, V.L., Glyzin, V.I. ve Bubon, N.T. (1972a). 3-O-Methylkamferol from *Cirsium arvense* flowers. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, **8**, 118-119.
- Shelyuto, V.L., Glyzin, V.I. ve Bubon, N.T. (1972b). Flavonoids of *Cirsium palustre*. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, **8**, 241-242.
- Shelyuto, V.L., Glyzin, V.I. ve Bubon, N.T. (1972c). Flavonol glucuronides from *Cirsium arvense*. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, **8**, 240-241.
- Shelyuto, V.L., Glyzin, V.I. Ban'kovskii A.I. ve Bubon, N.T. (1971a). Flavonoid glycosides of *Cirsium oleraceum*. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, **7**, 372-373.
- Shelyuto, V.L., Glyzin, V.I., Ban'kovskii, A.I. ve Bubon, N.T. (1971b). Flavonoids of *Cirsium oleraceum* flowers. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, **7**, 371.
- Shelyuto, V.L., Glyzin, V.I. ve Ban'kovskii, A.I. (1970a). Flavonoids from *Cirsium arvense*. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, **6**, 365-366.
- Shelyuto, V.L., Kolisnichenko, Y.I. ve Bubon, N.T. (1970b). Phytochemical investigation of *Cirsium arvense*. *Farmatsevtichnii Zhurnal (Kiev)*, **25**, 60-64.
- Shen, Y-M. ve Mu, Q-Z. (1990). New furans from *Cirsium chlorolepis*. *Planta Medica*, **56**, 472-474.

- Shyamala, B.N., Naidu, M.M., Sulochanamma, G. ve Srinivas, P. (2007). Studies on the antioxidant activities of natural vanilla extract and its constituent compounds through in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 7738-7743.
- Simon, L. (2001). Alzheimer hastlığında erken tanı ve tedavi. *Novartis*, İstanbul, pp. 1-74.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. ve Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Oxidants and Antioxidants*, **299**, 152-178.
- Slinkard, K. ve Singleton, V.L. (1977). Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, **28**, 49-55.
- Sönmez U. (1995). *Salvia napifolia* Jacq. Bitkisinden Elde Edilen Yeni Diterpenoit Bileşiklerinin Yapı Araştırması. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Stampfer, M.J., Hennekens, C.H., Manson, J.E., Colditz, G.A., Rosner, B. ve Willet, W.C. (1993). Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women. *The New England Journal of Medicine*, **328**, 1444-1449.
- Standridge, J.B. (2004). Pharmacotherapeutic approaches to the treatment of Alzheimer's disease. *Clinical Therapeutics*, **26**, 615-630.
- Statti, G., Menichini, F. ve Delle, M.F. (1997). Constituents of *Cirsium vallis-demonii*. *Fitoterapia*, **68**, 472.
- Sub, S.G., Chun, L.B., Hwa, K.J. ve Bae, P.H. (2007). Cosmetic composition comprising extract of *Cirsium setidens* having skin whitening effect, hair-loss preventing effect and acne preventing effect. *Republic of Korean Kongkae Taeho Kongbo*, KR 2007021522 A 20070223.
- Sun, J.M., Yang, J.S. ve Zhang, H. (2007). Two new flavone glycosides of *Jasminum lanceolarium* and their anti-oxidant activities. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **55**, 474-476.
- Sy, L-K. ve Brown, G.D. (1999). Coniferaldehyde derivatives from tissue culture of *Artemisia annua* and *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry*, **50**, 781-785.
- Syrchina, A.I., Kostyro, Y.A., Ushakov, I.A. ve Semenov, A.A. (1999). Flavonoids of *Cirsium setosum* (Willd). Bess. *Rastitel'nye Resursy*, **35**, 38-40.

- Syrchina, A.I., Semenov, A.A. ve Zinchenko, S.V. (1998). Investigation of chemical composition of *Cirsium setosum* (Willd). Bess. *Rastitel'nye Resursy*, **34**, 47-49.
- Syrchina, A.I., Semenov, A.A. ve Zinchenko, S.V. (1997). Chemical investigation of *Cirsium setosum*. *Chemistry of Natural Compounds (Translation of Khimiya Prirodnikh Soedinenii)*, **33**, 212.
- Szwajgier, D. ve Borowiec, K. (2012). Phenolic acids from malt are efficient acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors. *Journal of Institute of Brewing*, **118**, 40-48.
- Tai, A., Takeshi, S. ve Yazama, F. (2011). Antioxidant properties of ethyl vanillin in vitro and in vivo. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, **75**, 2346-2350.
- Takaishi, Y., Okuyama, T., Nakano, K., Muarakami, K. ve Tomimatsu, T. (1991a). Absolute configuration of a triolacetylene from *Cirsium japonicum*. *Phytochemistry*, **30**, 2321-2324.
- Takaishi, Y., Okuyama, T., Nakano, K., Muarakami, K. Tomimatsu, T. ve Yamahara, J. (1991b). Poliolefinic compounds from *Cirsium nipponicum* roots. *Phytochemistry*, **30**, 1539-1542.
- Takaishi, Y., Okuyama, T., Masuda, A., Nakano, K., Muarakami, K. ve Tomimatsu, T. (1990). Acetylenes from *Cirsium japonicum*. *Phytochemistry*, **29**, 3849-3852.
- Takano, S. ve Kawaminami, S. (1988). Cyperenyl acetate and cyperenal from *Cirsium dipsacolepis*. *Phytochemistry*, **27**, 1197-1199.
- Takano, S. ve Kawaminami, S. (1987). Eight aliphatic aldehydes from *Cirsium dipsacolepis* and their stereoselective synthesis. *Phytochemistry*, **26**, 435-438.
- Takeuchi, T, Nakajima, M. ve Morimoto, K. (1994). Establishment of a human system that generates $O_2^{\bullet-}$ and induces 8-hydroxydeoxyguanosine, typical of oxidative DNA damage, by a tumor promoter. *Cancer Research*, **54**, 5837-5840.
- Taylor, M.J. ve Richardson, T. (1980). Antioxidant activity of cysteine and protein sulfhydryls in a linoleate emulsion oxidized by hemoglobin, *Journal of Food Science*, **45**, 1223-1227.
- Tedder, J.M., Nechvatal, A., Murray, A.W. ve Carnduff, J. (1972). *Basic Organic Chemistry*, Belfast: Universities Press, pp. 219.
- Tepe, B., Eminağaoğlu, O., Akpulat, H.A. ve Aydın, E. (2007). Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia verticillata* (L.) subsp.

- verticillata* and *S. verticillata* (L.) subsp. *amasiaca* (Freyn & Bornm.) Bornm. *Food Chemistry*, **100**, 985-989.
- Tubaro, F., Ghiselli, A., Rapuzzi, P., Maiorino, M., Ursini, F. (1998). Analysis of plasma antioxidant capacity by competition kinetics. *Free Radical Biology & Medicine*, **24**, 1228-1234.
- Wallace, J.W. (1974). Tricin-5-O-glucoside and other flavonoids of *Cirsium arvense*. *Phytochemistry*, **13**, 2320-2321.
- Wallace, J.W. ve Bohm, B.A. (1971). Cirsimaritin-4'-O-rutinoside, a new flavon glycoside from *Cirsium brevistylum*. *Phytochemistry*, **10**, 452-454.
- Wang, Z.Y., Huang, M.T., Lou, Y.R., Xie, J.G., Reuhl, K.R. ve ark. (1994). Inhibitory effects of black tea, green tea, decaffeinated black tea and decaffeinated green tea on ultraviolet B light-induced skin carcinogenesis in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-initiated SKH-1 mice. *Cancer Research*, **54**, 3428-3435.
- Wayner, D.D.M., Burton, G.W., Ingold, K.U. ve Locke, S. (1985). Quantitative measurement of the total peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. *FEBS Letters*, **187**, 33-37.
- Whitehead, T.P., Thorpe, G.H.G. ve Maxwell, S.R.J. (1992). Enhanced chemiluminescent assay for antioxidant capacity in biological fluids. *Analytica Chimica Acta*, **266**, 265-277.
- Winston, G.W., Regoli, F., Dugas, A.J., Fong, J.H. ve Blanchard, K.A. (1998). A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. *Free Radical Biology and Medicine*, **24**, 480-493.
- Wu, H., Dushenkov, S., Ho, C-T. ve Sang, S. (2009). Novel acetylated flavonoid glycosides from the leaves of *Allium ursinum*. *Food Chemistry*, **115**, 592-595.
- Valkonen, M. ve Kuusi, T. (1997). Spectrophotometric assay for total peroxy radical-trapping antioxidant potential in human serum. *Journal of Lipid Research*, **38**, 823-833.
- Von-Sonntag, C. (1987). *The Chemical Basis of Radiation Biology*, London: Taylor & Francis, pp. 15-49.
- Yamantürk, P. (2000). Alzheimer Hastalığı, Sendrom, **12**, 72-81.
- Yamazaki, E., Inagaki, M., Kurita, O. ve Inoue, T. (2007). Antioxidant activity of Japanese pepper (*Zanthoxylum piperitum*) fruit. *Food Chemistry*, **100**, 171-177.
- Yano, K. (1977). Hydrocarbons from *Cirsium japonicum*. *Phytochemistry*, **16**, 263-264.

- Yano, K. (1980). A new acetylenic alcohol from *Cirsium japonicum*. *Phytochemistry*, **19**, 1864-1866.
- Yaping, L. (2008). Oral Chinese medicines decoction for treating hematuria associated with benign prostatic hyperplasia and its preparation. *Faming Zhuanli Shenging Gongkai Shuomingshu*, CN 101301324 A 20081112.
- Yermilov, V., Rubio, J. ve Ohshima, H. (1995). Formation of 8-nitroguanine in DNA treated with peroxyxynitrite in vitro and its rapid removal from DNA by depurination. *FEBS Letters*, **376**, 207-210.
- Yi, B., Hu, L., Mei, W., Zhou, K., Wang, H., Luo, Y., Wei, X. ve Dai, H. (2010). Antioxidant phenolic compounds of cassava (*Manihot esculenta*) from Hainan. *Molecules*, **16**, 10157-10167.
- Yim, S-H., Kim, H.J. ve Lee, I-S. (2003). A polyacetylene and flavonoids from *Cirsium rhinoceros*. *Archives of Pharmacal Research*, **26**, 128-131.
- Yin, Y., Heo, S-I. ve Wang, M-H. (2008). Antioxidant and anticancer activities of methanol and water extracts from leaves of *Cirsium japonicum*. *Journal of Applied Biological Chemistry*, **51**, 160-164.
- Yoo, Y-M., Nam, J-W., Kim, M-Y., Choi, J. ve Park, H-J. (2008). Pectolinarin and pectolinarigenin of *Cirsium setidens* prevent the hepatic injury in rats caused by D-galactosamin via an antioxidant mechanism. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **31**, 760-764.
- Yu, D-H., Bao, Y-M., Wei, C-L ve An, L-J. (2005). Studies of chemical constituents and their antioxidant activities from *Astragalus mongholicus* Bunge. *Biomedical and Environmental Sciences*, **18**, 297-301.
- Yu, J., Wang, L., Walzem, R.L., Miller, E.G., Pike, L.M. ve Patil, B.S. (2005). Antioxidant activity of *Citrus* limonoids, flavonoids, and coumarins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 2009-2014.
- Yue, Z., Hanli, R., Yonghui, Z., Huifang, P. ve Jizhou, W. (2007). Chemical composition of *Cirsium henryi*. *Yiyao Daobao*, **26**, 1425-1426.
- Yuejin, W. (2008). Herbal toothpaste for treating halitosis. *Faming Zhuanli Shenging Gongkai Shuomingshu*, CN 101305976 A 20081119.
- Yun, H.S. ve Chang, I.M. (1978). Separation and identification of sirsimarín from *Cirsium pendulum* Fisch. *Saengyak Hakhoechi*, **9**, 145-147.

- Zhang, Z., Liao, L., Moore, J., Wu, T. ve Wang, Z. (2009). Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.). *Food Chemistry*, **113**, 160-165.
- Zheng, W.H., Bastianetto, S., Mennicken, W.M.A ve Kar, S. (2002). Amyloid beta peptide induces tau phosphorylation and loss of cholinergic neurons in rat primary septal cultures. *Neuroscience*, **115**, 201-211.
- Zhi, F., Lingyi, K. ve Sixun, P. (2003). Studies on the chemical constituents of *Cirsium japonicum* DC. *Yaoxue Xuebao=Acta Pharmaceutica Sinica*, **38**, 442-447.
- Zhou, Q., Chen, L., Liu, Z-P. ve Deng, Q-Y. (2007). Studies on chemical components of *Cirsium segestum*, *Zhongyaocai=Journal of Chinese Medicinal Materials*, **30**, 45-47.
- Ziwei, H., Changping, L., Wangsuo, W. ve Ying, Z. (2007). Lipophilic chemical constituents from *Cirsium souliei*. *Xibei Zhiwu Xuebao*, **27**, 1884-1887.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	MEHMET	Soyadı	BOĞA
Doğ.Yeri	DİYARBAKIR	Doğ.Tar.	03.10.1980
Uyruğu	T.C	TC Kim No	22309735360
Email	mehmetboga1980@gmail.com	Tel	05439780812

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Fakültesi Genel Kimya Bilim Dalı	2007
Yük.Lis.	Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Bölümü Organik Kimya Anabilim Dalı	2005
Lisans	Dicle Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü	2001
Lise	Atatürk Lisesi-Diyarbakır	1997

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Araştırma Görevlisi	Batman Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü	2010-
2.	Araştırma Görevlisi	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Genel Kimya Bilim Dalı- Analitik Kimya Anabilim Dalı	2005-2010
3.	Kimya Öğretmeni	Eğitimde Garanti Dersanesi	2005-2005
4.	Kimya Öğretmeni	Rekor Dersanesi	2004-2005
5.	Kimya Öğretmeni	Form Dersanesi	2004-2004
6.	Sınıf Öğretmeni	Sarıcak Köyü İlkokulu	2002

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	Orta	İyi	63	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	86	83	82

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	Çok iyi
Chem Office	Çok iyi

Yayımları

1. Abdülselem Ertaş, Mehmet Öztürk, **Mehmet Boğa** and Gülaçtı Topçu (2009). Antioxidant and Anticholinesterase Activity Evaluation of *ent*-Kaurane Diterpenoids from *Sideritis arguta*. *Journal of Natural Products* 72, 500–502.
2. **Mehmet Boğa**, Işıl Hacıbekiroğlu, and Ufuk Kolak (2011). Antioxidant and anticholinesterase activities of eleven plants. *Pharmaceutical Biology*, 49, 290-295.
3. Ufuk Kolak, Işıl Hacıbekiroğlu, **Mehmet Boğa**, Fevzi Özgökçe, Murat Ünal, M.Iqbal Choudhary and Ayhan Ulubelen (2011). Phytochemical Investigation of *Leontice leontopetalum* L. subsp. *ewersmannii* with Antioxidant and Anticholinesterase Activities. *Records of Natural Products*, 5:4, 309-313.
4. Ufuk Kolak, **Mehmet Boğa**, Emine Akalın-Uruşak, Ayhan Ulubelen (2011). Constituents of *Plantago major* subsp. *intermedia* with Antioxidant and Anticholinesterase Capacities. *Turkish Journal of Chemistry*, 35(4), 637-645.
5. **Mehmet Boğa**, Ufuk Kolak, Murat Kartal, Gulacti Topcu, Norman R Farnsworth (2011). Two New Indole Alkaloids from *Vinca herbacea*. *Phytochemistry Letters*, 4, 399-403.
6. Ayhan Ulubelen, Ufuk Kolak, **Mehmet Boğa** (2012). Screening Some Plants for Their Antiproliferative Compounds. *Records of Natural Products*, 6:3, 194-211.
7. Fatemeh Bahadori, Gülaçtı Topçu, **Mehmet Boğa**, Ayla Türkekul, Ufuk Kolak, Murat Kartal (2012). Indole Alkaloids from *Vinca major* and *V. minor* Growing in Turkey. *Natural Product Communications*, 7(6), 731-734.

Tebliğleri

Uluslar arası

1. **Aslı Barla**, Mehmet Öztürk, Mehmet Boğa, Şükran Kültür and Sevil Öksüz (2006). “The antioxidant activities of *Euphorbia acanthothamnus*, *E. Macroclada*, *E. Rigida* from Turkey.” 8th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS 8) 13-16 June 2006 Ankara/Turkey. (Poster)
2. **Gülaçtı Topcu**, Ufuk Kolak, Mehmet Öztürk, Mehmet Boğa, Fatemeh Bahadori and Seda Damla Hatipoglu (2009). “Anticholinesterase activity search on abietane diterpenoids isolated from Anatolian *Salvia* species” 42nd IUPAC Congress, *Chemistry for Health*, 2-7 August 2009, Glasgow, England. (Poster)
3. **Mehmet Boğa**, Mehmet Öztürk, Fatemeh Bahadori, Ufuk Kolak and Gülaçtı Topçu (2010). “Antioxidant Activity Potential of Six *Salvia* Species with Total Phenolic and Flavonoid Content” 3rd International Meeting on Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (IMPPC-3), Marmara University, Faculty of Pharmacy, Istanbul/Turkey, 9-12 June 2010. (Poster)

4. Abdulselam Ertaş, Mehmet Boğa, Mehmet Öztürk, Tuncay Dirmenci and Gülaçtı Topçu (2010). “Bioactive *Ent*-Kauranes from *Sideritis congesta*” 3rd International Meeting on Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (IMPPC-3), Marmara University, Faculty of Pharmacy, Istanbul/Turkey, 9-12 June 2010. (Poster)
5. Mehmet Öztürk, Mehmet Boğa, Demet Dincel, Seda Damla Hatipoğlu, Fatemeh Bahadori, Ufuk Kolak and Gülaçtı Topçu (2010). “Cholinesterase Inhibitory Activity of a Series *Salvia* Species” 3rd International Meeting on Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (IMPPC-3), Marmara University, Faculty of Pharmacy, Istanbul/Turkey, 9-12 June 2010. (Poster)
6. Gülaçtı Topçu, Aslı Barla, Tuba Kuşman, Mehmet Öztürk, Mehmet Boğa, Ufuk Kolak (2010). “Bioactive Constituents Of *Salvia triloba*” 3rd International Meeting on Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (IMPPC-3), Marmara University, Faculty of Pharmacy, Istanbul/Turkey, 9-12 June 2010. (Poster)
7. Burcu Çulhaoğlu, Mehmet Boğa, Gönül Yapar And Gülaçtı Topçu (2010). “Biological Activities and Composition of *Salvia chrysophylla*” 3rd International Meeting on Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (IMPPC-3), Marmara University, Faculty of Pharmacy, Istanbul/Turkey, 9-12 June 2010. (Poster)
8. Mehmet Boğa, Fatemeh Bahadori, Murat Kartal, Ufuk Kolak, Gülaçtı Topçu (2011). “Indole Alkaloids from *Vinca* Species Growing in Turkey” New Challenge in Natural Products Chemistry Conference on Honour of Prof.Dr. Ayhan Ulubelen, Istanbul University, Istanbul/Turkey, 12-13 September 2011. (Poster)
9. Işıl Hacıbekiroğlu, Mehmet Boğa, Nesrin Haşimi, Abdulselam Ertaş, Ufuk Kolak (2011). “Antioxidant and Anti-Alzheimer Activities of Bloom Extracts of Bilberry (*Vaccinium myrtillus*)” New Challenge in Natural Products Chemistry Conference on Honour of Prof.Dr. Ayhan Ulubelen, Istanbul University, Istanbul/Turkey, 12-13 September 2011. (Poster)
10. Ufuk Kolak, Işıl Hacıbekiroğlu, Mehmet Boğa, Fevzi Özgökçe, Murat Ünal, Muhammed Iqbal Choudray, Ayhan Ulubelen (2011). “Phytochemical Investigation of *Leontice leontopetalum* L. subsp. *ewersmannii* with Antioxidant and Anticholinesterase Activities” 1st International Symposium on Secondary Metabolites Chemical, Biological and Biotechnological Properties (ISSMET-1), Pamukkale University, Faculty of Science & Arts, Departments of Biology and Chemistry, Denizli/Turkey, 12-15 September 2011. (Poster)
11. Gülaçtı Topçu, Atilla Akdemir, Mehmet Öztürk, Mehmet Boğa, Ufuk Kolak (2012). “Abietane Diterpenoids as Butyrylcholinesterase Inhibitors from *Salvia* Species.” International Congress on Natural Products Research, New York – USA, July 28-August 1 2012. (Poster)

Ulusal

1. Mehmet Öztürk, Mehmet Boğa, Fatma Aydoğmuş-Öztürk ve Ufuk Kolak. "Adamotu (*Mandragora autumnalis*) kökünün antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri açısından değerlendirilmesi" XXI. Ulusal Kimya Kongresi İnönü Üniversitesi 23–27 Ağustos 2007 Malatya. (Poster)
2. Mehmet Boğa, Emine Alçitepe ve Ufuk Kolak "Campanula lyrata Subsp. lyrata Lam. Bitkisinin Topraküstü Kısımlarının Antioksidan Tayini" XXI. Ulusal Kimya Kongresi İnönü Üniversitesi 23–27 Ağustos 2007 Malatya. (Poster)
3. Ufuk Kolak, Mehmet Boğa ve Emine Alçitepe "Campanula tomentosa Lam. Bitkisinin Antioksidan Tayini" XXI. Ulusal Kimya Kongresi İnönü Üniversitesi 23–27 Ağustos 2007 Malatya. (Poster)
4. Mehmet Boğa, Ufuk Kolak, Mehmet Öztürk ve Gülaçtı Topçu "Türkiye’de Yetişen Vinca Türlerinin Antioksidan Aktivitelerinin Tayini" XXII. Ulusal Kimya Kongresi Doğu Akdeniz Üniversitesi 6–10 Ekim 2008 Mağusa / Kıbrıs. (Poster)
5. Gülaçtı Topçu, Mehmet Boğa, Ufuk Kolak ve Murat Kartal "Vinca herbacea Bitkisinin Biyoaktif İndol Alkaloidleri" XXII. Ulusal Kimya Kongresi Doğu Akdeniz Üniversitesi 6–10 Ekim 2008 Mağusa / KIBRIS. (Sözlü)
6. Mehmet Öztürk, Mehmet Boğa, Fatemeh Bahadori, Seda Damla Hatipoğlu, Işıl Hacıbekiroğlu, Gönül Yapar, Ufuk Kolak ve Gülaçtı Topçu "Bazı Salvia Türlerinden Elde Edilen Antioksidan Bileşikler" XXIII. Ulusal Kimya Kongresi Cumhuriyet Üniversitesi 16–20 Haziran 2009 Sivas. (Poster)
7. Mehmet Boğa, Ufuk Kolak, Abdülselem Ertaş, Işıl Hacıbekiroğlu, Celal Toplu "Menengiç (*Pistacia terebinthus* L.) Kahvesinin Antioksidan Etkisinin Tayini" 5. Ulusal Analitik Kimya Kongresi 21-25 Haziran 2010 Erzurum. (Poster)
8. Ufuk Kolak, Mehmet Boğa, Işıl Hacıbekiroğlu "On Bir Bitkinin Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin Tayini" 5. Ulusal Analitik Kimya Kongresi 21-25 Haziran 2010 Erzurum. (Poster)
9. Abdülselem Ertaş, Mehmet Boğa, Mehmet Öztürk, Tuncay Dirmenci, Gülaçtı Topçu "Sideritis arguta Bitkisinden Elde Edilen Diterpenlerin Yapı Tayini, Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin Belirlenmesi" 5. Ulusal Analitik Kimya Kongresi 21-25 Haziran 2010 Erzurum. (Poster)
10. Ufuk Kolak, Mehmet Boğa, Emine Akalın Uruşak "Plantago major subsp. intermedia Bitkisinden Elde Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini, Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin Belirlenmesi" Uluslararası Katılımlı XII. Ulusal Spektroskopik Kongresi, 18-22 Mayıs 2011, Side-Antalya. (Poster)

11. Pelin Köseoğlu, Mehmet Boğa, Ufuk Kolak “*Cirsium creticum*, *C. eriophorum* ve *C. hypoleucum* Bitkilerinin Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin Tayini” Uluslararası Katılımlı XII. Ulusal Spektroskopi Kongresi, 18-22 Mayıs 2011, Side-Antalya. (Poster)
12. Anıl Yılmaz, Seda Damla Hatipoğlu, Mehmet Boğa, Tuncay Dirmenci, Gülaçtı Topçu “*Nepeta sorgerae* Bitkisinin Sekonder Metabolitlerinin İzolasyonu, Antioksidan ve Antikolinesteraz Özelliklerinin İncelenmesi” Uluslararası Katılımlı 25. Kimya Kongresi, 27 Haziran – 2 Temmuz 2011, Erzurum. (Poster)
13. Demet Dinçel, Fatemeh Bahadori, Mehmet Boğa, Tuncay Dirmenci, Gülaçtı Topçu “Furokumarinlerin *Heracleum platytaenium* Bitkisinden izolasyonu, Antioksidan ve Antikolinesteraz Potansiyelinin Araştırılması” Uluslararası Katılımlı 25. Kimya Kongresi, 27 Haziran – 2 Temmuz 2011, Erzurum (Poster)
14. Anıl Yılmaz, Mehmet Boğa, Gülaçtı Topçu “Anadolu’ da Yetişen *Teucrium* Türlerinin Diterpenleri ve Biyoaktivitelerinin Araştırılması” 26. Ulusal Kimya Kongresi, 1-6 Ekim 2012, Muğla. (Poster)
15. Begüm Çakar, Demet Dinçel, Mehmet Boğa, Gülaçtı Topçu “Kaz Dağı Bölgesine Endemik *Ferulago trojana* Bitkisinin Biyoaktif Kumarinleri” 26. Ulusal Kimya Kongresi, 1-6 Ekim 2012, Muğla. (Poster)

Ödülleri

TÜBİTAK Bilimsel Yayınları Teşvik Ödülü 2009

TÜBİTAK Bilimsel Yayınları Teşvik Ödülü 2011

TÜBİTAK - ISSMET-1 Kongre Katılım Bursu 2011

NAM S&T Centre tarafından Pakistan Karachi Üniversitesi Kimya Enstitüsü Laboratuvarlarında 3 ay tam burslu olarak çalışma ICCBS Fellowship 2011

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Kitap okumak, müzik dinlemek, seyahat etmek