

***TANACETUM ARMENUM (DC) SCH. BIP.***  
**BITKİSİNİN KİMYASAL KOMPOZİSYONU ve**  
**BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Kevser AYÇİÇEK**

**Eskişehir 2021**

**TANACETUM ARMENUM (DC) SCH. BIP. BİTKİSİNİN KİMYASAL  
KOMPOZİSYONU ve BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ**

**Kevser AYÇİÇEK**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Farmakognozi Anabilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. Gülmira ÖZEK**

**Eskişehir  
Anadolu Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Haziran 2021**

## JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Kevser AYÇİÇEK'in "*Tanacetum armenum* (DC) Sch. Bip. Bitkisinin Kimyasal Kompozisyonu ve Biyolojik Aktiviteleri" başlıklı tezi 15/06/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakognozi Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

## ÖZET

### TANACETUM ARMENUM (DC) SCH. BIP. BİTKİSİNİN KİMYASAL KOMPOZİSYONU ve BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ

Kevser AYÇİÇEK

Farmakognozi Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Haziran 2021

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gülmira ÖZEK

Bu çalışmada, ülkemizde yetişen *Tanacetum armenum* (DC) Sch. Bip. bitkisi üzerinde fitokimyasal ve biyolojik aktivite taramaları gerçekleştirilmiştir. Bitkinin uçucu yağı (TAUY), *n*-hegzanlı, metanollü ve sulu ekstraları (TAHE, TAME, TASE) ve metillenmiş sabit yağ asitleri elde edilmiştir. TAUY ve yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonları GC-FID/MS ile incelenmiştir. Major uçucu bileşikler olarak kafur (%48.3), borneol (%13.6) ve  $\gamma$ -ödesmol (%13.5) tespit edilmiştir. Yağ asitleri profilinde palmitik (%43.8), nonadekanoik (%18.3), linoleik (%10.9), araşidik (%7.8) ve linolenik (%4.8) asitleri tespit edilmiştir. Uçucu yağ ve ekstraların antioksidan aktiviteleri TEAC (Troloksa eşdeğer antioksidan kapasite), DPPH (difenil pikrilhidrazil),  $\beta$ -Karoten soldurma ve ORAC (oksijen radikal absorbans kapasitesi) testleri ile değerlendirilmiştir. TAME, TASE ve TAUY önemli derecede antioksidan aktivite göstermiştir. GC/MS ve LC/MS ile kombine biyotografik yöntemlerle antioksidan aktiviteden sorumlu bileşiklerin 3,5-dikafeoilkuinik asit, luteolin glukozit, 5-kafeoilkuinik asit, ikarisid b5, luteolin, kafur, 1,8-sineol ve borneol olduğu tespit edilmiştir. Ekstrelerde toplam fenol ve flavonoid miktarları değerlendirilip en yüksek değerler TASE ve TAME’de saptanmıştır. Antidiyabetik potansiyelin tespiti için  $\alpha$ -amilaz enzimini inhibe etme etkisi incelenmiştir. En yüksek inhibisyon değerleri TAME (İnh % 33.92) ve TAHE’de (İnh % 33.84) saptanmıştır. Antimikrobiyal araştırmaların sonucunda TAUY’nın *B. subtilis*, *K. aerogenes* ve *Candida* türlerine karşı etkili olduğu tespit edilmiştir. TAHE’nin Gram (+) ve (-) suşlara karşı aktivite gösteren en etkili ekstre olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, ekstraların, standart antimikrobiyal ajanlara kıyasla suşlara karşı zayıf bir şekilde etkili olduğu gözlemlenmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** *Tanacetum armenum*, Uçucu yağ, Ekstre, Aktivite.

## ABSTRACT

CHEMICAL COMPOSITION and BIOLOGICAL ACTIVITY of *TANACETUM*

*ARMENUM* (DC) SCH. BIP

Kevser AYÇİÇEK

Department of Pharmacognosy

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, June 2021

Supervisor: Prof. Dr. Gülmira ÖZEK

In this study, comprehensive phytochemical studies and screening of biological activities of *Tanacetum armenum* (DC) Sch. Bip have been carried out. For this purpose the essential oil (TAUY), *n*-hexane, methanol and water extracts (TAHE, TAME, TASE) and the fatty acids were obtained. The chemical compositions of TAUY and fatty acids were investigated by GC-FID/MS technique. Camphor (48.3%), borneol (13.6%) and  $\gamma$ -eudesmol (13.5%) were determined as major volatile compounds. Palmitic (43.8%), nonadecanoic (18.3%), linoleic (10.9%), arachidic (7.8%) and linolenic (4.8%) acids were found in the fatty acids profile. Antioxidant activities evaluated by TEAC, DPPH,  $\beta$ -Carotene bleaching and ORAC tests. TAME, TASE and TAUY demonstrated significant antioxidant activity. The compounds responsible for antioxidant activity were determined by bioautography method in combination with LC-MS/MS and GC/MS as 3,5-dicaffeoylquinic acid, luteolin glucoside, 5-dicaffeoylquinic acid, icaraside 5b, luteolin, camphor, 1,8-cineole and borneol. The highest values of total phenol and flavonoid contents of the extracts were found in TASE and TAME. In order to determine the anti-diabetic potential the inhibitory effect on  $\alpha$ -amylase enzyme was tested. Highest inhibition values were found in TAME (Inh 33.92%) and TAHE (Inh 33.84%). As a result of antimicrobial studies, it has been determined that TAUY is effective against *B. subtilis*, *K. aerogenes* and *Candida* species. TAHE has been found to be the most effective extract showing activity against Gram (+) and (-) strains. Although, it has been observed that the extracts are weakly effective against the strains compared to the standard antimicrobial agents.

**Keywords:** *Tanacetum armenum*, Essential oil, Extract, Activity.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimi boyunca hem ders hem tez döneminde bana danışmanlık yapan, bilgilerini sabır ve güler yüzle aktaran danışman hocam Prof. Dr. Gülmira ÖZEK'e,

Laboratuvar çalışmalarımızda ve analizlerde bana destek veren Doç. Dr. Fatih GÖGER'e,

Araştırma konusu olan bitkinin toplanması ve teşhisini gerçekleştiren Öğr.Gör. Dr. Koray YAYLACI'ya,

Antimikrobiyal analiz testlerini gerçekleştiren Dr. Öğr. Üyesi Gamze GÖGER'e,

Yüksek lisans eğitimini aldığım Prof. Dr. Temel ÖZEK'e ve tüm Farmakognozi Anabilim Dalı üyelerine,

Tez dönemi boyunca benimle tecrübe ve bilgilerini cömertçe paylaşan, her zaman yardıma koşan arkadaşlarım Uz. Biol. Süleyman YUR ve Tuğbanur TÜYSÜZ'e,

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

Bu alanda çalışmak ve gelişmek istememin nedeni olan ve içinde sakladığı potansiyelleri hala tam olarak çözemediğimiz bitkiler alemine,

Teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK .....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI .....	ii
ÖZET .....	iii
ABSTRACT .....	iv
TEŞEKKÜR .....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
TABLolar DİZİNİ .....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xv
GİRİŞ ve AMAÇ .....	1
1. KAYNAK BİLGİSİ .....	4
2. 2.1. Asteraceae Familyası Morfolojik Özellikleri .....	4
2.1.1. <i>Tanacetum</i> L. cinsi morfolojik özellikleri .....	4
2.1.2. <i>Tanacetum armenum</i> (DC.) Sch.Bip. morfolojik özellikleri ...	5
2.2. <i>Tanacetum</i> Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri .....	5
2.3. <i>Tanacetum</i> Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Araştırmalar ..	9
2.3.1. <i>Tanacetum</i> türlerinin uçucu bileşikleri .....	13
2.4. Antioksidan Aktivite Çalışmaların Önemi .....	15
2.4.1. Serbest radikaller .....	15
2.4.2. Antioksidanların önemi .....	16
2.4.3. Antioksidan aktivite tayinleri .....	16
2.4.3.1. <i>Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC)</i> <i>değerlendirmesi</i> .....	16
2.4.3.2. <i>Serbest radikal süpürücü etki (DPPH Testi)</i> .....	17
2.4.3.3. <i>β-Karoten soldurma yöntemi</i> .....	18
2.4.3.4. <i>Oksijen radikali absorban kapasitesi (ORAC) testi</i> .....	19
2.4.3.5. <i>Toplam fenol miktar tayini</i> .....	19

	<u>Sayfa</u>
2.4.3.6. <i>Toplam flavonoit miktar tayini</i> .....	20
2.5. Antidiyabetik Araştırmaların Önemi .....	20
2.5.1. $\alpha$ -Amilaz enzim inhibitörleri .....	20
2.5.1.1. <i><math>\alpha</math>-Amilaz inhibisyon testi</i> .....	21
3. MATERYAL VE METOT.....	22
3.1. Kimyasal Maddeler .....	22
3.1.1. Antimikrobiyal aktivite araştırılmasında kullanılan kimyasal maddeler .....	23
3.2. Cihaz ve Apareyler .....	24
3.3. Bitkisel Materyal .....	24
3.4. Uçucu Yağ Eldesi .....	25
3.5. Sabit Yağ Asitlerinin Eldesi .....	26
3.6. Ekstrelerin Elde Edilmesi .....	27
3.7. Gaz Kromatografik Analizi .....	28
3.8. Uçucu Bileşiklerin Teşhisi .....	29
3.9. Sıvı Kromatografisi Analizi (LC-MS/MS) .....	29
3.10. Biyolojik Aktivite Çalışmaları .....	29
3.10.1. Antioksidan aktivite testleri .....	30
3.10.1.1. <i>Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) değeri</i> .....	30
3.10.1.2. <i>Serbest radikal süpürücü etki (DPPH testi)</i> .....	31
3.10.1.3. <i><math>\beta</math>-Karoten soldurma yöntemi</i> .....	31
3.10.1.4. <i>Oksijen radikali absorban kapasitesi (ORAC) testi</i> .....	32
3.10.1.5. <i>Toplam fenol miktar tayini</i> .....	33
3.10.1.6. <i>Toplam flavonoit miktar tayini</i> .....	34
3.10.2. Antidiyabetik aktivite testi .....	35
3.10.2.1. <i><math>\alpha</math>-Amilaz inhibisyon testi</i> .....	35
3.11. HPTLC-Biyootografik Analiz .....	36
3.12. Antimikrobiyal Aktivite Araştırması .....	39



	<u>Sayfa</u>
3.12.1. Antibakteriyal ve antikandidal etkilerin test edilmesi .....	39
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>41</b>
4.1. Uçucu Yağ Özellikleri .....	41
4.1.1. Uçucu yağ verimi .....	41
4.2. Ekstrelerin Özellikleri .....	41
4.2.1. Ekstrelerin verimi .....	41
4.3. Fitokimyasal Araştırmaların Sonuçları .....	42
4.3.1. Uçucu yağ kimyasal kompozisyonu .....	42
4.3.2. Sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonu .....	45
4.3.3. Ekstrelerin kimyasal kompozisyonu .....	45
4.4. Biyolojik Aktivite Sonuçları .....	46
4.4.1. Antioksidan aktivite bulguları .....	46
4.4.1.1. <i>Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) değerleri ...</i>	46
4.4.1.2. <i>Serbest radikal süpürücü etki (DPPH testi) değerleri .....</i>	47
4.4.1.3. <i><math>\beta</math>-Karoten soldurma etkisi .....</i>	48
4.4.1.4. <i>Oksijen radikali absorban kapasitesi (ORAC) değerleri .....</i>	49
4.4.1.5. <i>Toplam fenol miktarı değerleri .....</i>	50
4.4.1.6. <i>Toplam flavonoid miktarı değerleri .....</i>	50
4.4.2. Antidiyabetik aktivite bulguları .....	51
4.4.2.1. <i><math>\alpha</math>-Amilaz inhibisyon verileri .....</i>	51
4.5. HPTLC-Biyootografik Analiz Verileri .....	52
4.6. Antimikrobiyal Aktivite Araştırması Bulguları .....	58
4.6.1. Antibakteriyal etki verileri .....	58
4.6.2. Antikandidal etki verileri .....	59
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>60</b>
5.1. Uçucu Yağ Profili .....	60
5.2. Sabit Yağ Asitleri Profili .....	62
5.3. Ekstrelerin Profili.....	64
5.4. Biyolojik Aktivite Araştırmaları .....	64

	<u>Sayfa</u>
5.4.1. Antioksidan aktivite potansiyeli .....	64
5.4.2. Antidiyabetik potansiyel .....	68
5.5. HPTLC-Biyootografik Analiz .....	69
5.6. Antimikrobiyal Aktivite Araştırılması .....	70
6. SONUÇ .....	71
KAYNAKÇA .....	72
EKLER .....	92
ÖZGEÇMİŞ .....	98

## TABLolar DİZİNİ

### Sayfa

<b>Tablo 2.1.</b>	<i>Tanacetum</i> türleriyle ilgili Türkiye’de yapılan etnobotanik çalışmalar .....	6
<b>Tablo 2.2.</b>	<i>Tanacetum</i> türleriyle ilgili yapılan aktivite çalışmaları .....	6
<b>Tablo 2.3.</b>	<i>Tanacetum</i> türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu tespit edilen sekonder metabolitler .....	9
<b>Tablo 2.4.</b>	<i>Tanacetum</i> türlerinde tespit edilen uçucu bileşikler .....	13
<b>Tablo 3.1.</b>	<i>T. armenum</i> uçucu yağ ve ekstreleri için uygulanan HPTLC analiz şartları .....	37
<b>Tablo 4.1.</b>	Farklı çözücülerle hazırlanan ekstrelerin verimleri .....	41
<b>Tablo 4.2.</b>	<i>T. armenum</i> uçucu yağının kimyasal kompozisyonu .....	42
<b>Tablo 4.3.</b>	<i>T. armenum</i> uçucu yağındaki majör grupların dağılımı .....	44
<b>Tablo 4.4.</b>	<i>T. armenum</i> sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonu .....	45
<b>Tablo 4.5.</b>	<i>T. armenum</i> metanollü ekstresinin kimyasal kompozisyonu .....	45
<b>Tablo 4.6.</b>	<i>T. armenum</i> uçucu yağ ve ekstrelerinin Trolox’a eşdeğer antioksidan kapasite değerleri .....	47
<b>Tablo 4.7.</b>	<i>T. armenum</i> uçucu yağ ve ekstrelerinin DPPH testinde gösterdikleri IC <sub>50</sub> ve % İnhibisyon değerleri .....	48
<b>Tablo 4.8.</b>	<i>T. armenum</i> uçucu yağ ve ekstrelerinin β-karoten soldurma testinde inhibisyon değerleri .....	49
<b>Tablo 4.9.</b>	<i>T. armenum</i> uçucu yağ ve ekstrelerinin Trolox’a eşdeğer ORAC değerleri .....	50
<b>Tablo 4.10.</b>	<i>T. armenum</i> ekstrelerinin gallik asite eşdeğer toplam fenol miktarı .....	50
<b>Tablo 4.11.</b>	<i>T. armenum</i> ekstrelerinin kersetine eşdeğer toplam flavonoid miktarları .....	51
<b>Tablo 4.12.</b>	<i>T. armenum</i> uçucu yağ ve ekstrelerinin α-amilaz enzimi üzerinde gösterdikleri % inhibisyon değerleri .....	52
<b>Tablo 4.13.</b>	Gram (+) ve Gram (-) bakteri suşlarında uçucu yağ, ekstre ve standart antimikrobiyal madde ile görülen bakteri konsantrasyonları .....	58

<b>Tablo 4.14.</b>	Çeşitli <i>Candida</i> suşlarında uçucu yağ, ekstre ve standart antimikrobiyal maddeler ile görülen <i>Candida</i> konsantrasyonları .....	59
<b>Tablo 5.1.</b>	<i>T. armenum</i> metanollü ve sulu ekstrelerinden antioksidan aktiviteden sorumlu bileşikler .....	70

## ŞEKİLLER DİZİNİ

		<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1.	<i>Tanacetum armenum</i> (DC.) Sch.Bip. Türkiye'deki yayılışı .....	5
Şekil 2.2.	ABTS'nin indirgenme ve yükseltgenme mekanizmaları .....	17
Şekil 2.3.	DPPH radikalinin indirgenme mekanizması .....	18
Şekil 2.4.	$\beta$ -Karoten'in linoleik asit ile tepkimesi .....	18
Şekil 2.5.	Peroksil radikal ve antioksidan maddenin flöresan proba etkisi ....	19
Şekil 2.6.	Flavonoitlerin $AlCl_3$ ile tepkimesi .....	20
Şekil 2.7.	Nişastanın $\alpha$ -amilaz enzimi aracılığıyla parçalanması .....	21
Şekil 3.1.	Kurutulmuş bitkisel materyal .....	25
Şekil 3.2.	Uçucu yağ eldesinde kullanılan Clevenger apareyi .....	25
Şekil 3.3.	Toplam lipitleri içeren ekstrenin katı faz kartuşundan geçirme işlemi .....	26
Şekil 3.4.	Extrelerdeki çözücülerin rotavaporla uzaklaştırılması .....	27
Şekil 3.5.	Sulu ekstrenin liyofilizatörde kurutulması (Freeze Dryer) .....	27
Şekil 3.6.	GC-MS ve GC-FID sistemi .....	28
Şekil 3.7.	Shimadzu 20A HPLC - ABSciex 3200 Q trap MS/MS .....	29
Şekil 3.8.	Trolox kalibrasyon eğrisi .....	30
Şekil 3.9.	Gallik asit kalibrasyon eğrisi .....	34
Şekil 3.10.	Kersetin kalibrasyon eğrisi .....	35
Şekil 3.11.	CAMAG Automathic TLC Sampler 4 ve CAMAG Automathic Developing Chamber .....	38
Şekil 3.12.	CAMAG Reprostar 3 ve CAMAG Chromatogram Immersion Device III .....	39
Şekil 4.1.	Metanollü ekstrenin LC-MS kromatogramı .....	46
Şekil 4.2.	<i>T. armenum</i> uçucu yağ ve ekstrelerinin DPPH serbest radikal süpürme etkisi .....	47
Şekil 4.3.	$\beta$ -Karoten rengindeki değişim .....	48
Şekil 4.4.	<i>T. armenum</i> uçucu yağ, ekstrelerinin ve Trolox'un fluoresein'in floresans solmasını geciktirmesi .....	49
Şekil 4.5.	<i>T. armenum</i> ekstrelerinin Folin-Ciocalteu reaktifiyle gösterdiği renk değişimi .....	50

<b>Şekil 4.6.</b>	<i>T. armenum</i> ekstralarının $AlCl_3$ reaktifi ile girdiği tepkime sonucunda ortaya çıkan renk değişimleri .....	51
<b>Şekil 4.7.</b>	<i>T. armenum</i> uçucu yağ ve ekstralarının $\alpha$ -amilaz enzimi üzerindeki etkileri .....	52
<b>Şekil 4.8.</b>	Uçucu yağın ve hegzanlı ekstrenin (TAUY ve TAHE) anisaldehit ve DPPH reaktiflerine daldırıldıktan sonra gösterdikleri renk değişimleri .....	53
<b>Şekil 4.9.</b>	Metanollü ve sulu ekstraların (TAME ve TASE) NPR-PEG ve DPPH reaktiflerine daldırıldıktan sonra gösterdiği renk değişimleri .....	54
<b>Şekil 4.10.</b>	TAME'den biyootografik yöntemle izole edilen 3,5-dikafeoilkuinik asit kromatogramı ve spektrumu .....	54
<b>Şekil 4.11.</b>	TAME'den biyootografik yöntemle izole edilen luteolin glukozit kromatogramı ve spektrumu .....	55
<b>Şekil 4.12.</b>	TAME'den biyootografik yöntemle izole edilen 5-kafeoilkuinik asit kromatogramı ve spektrumu .....	55
<b>Şekil 4.13.</b>	TAME'den biyootografik yöntemle izole edilen ikarisid b/5 kromatogramı ve spektrumu .....	55
<b>Şekil 4.14.</b>	TAME'den biyootografik yöntemle izole edilen pirogallol benzeri madde kromatogramı ve spektrumu .....	56
<b>Şekil 4.15.</b>	TASE'den biyootografik yöntemle izole edilen luteolin kromatogramı ve spektrumu .....	56
<b>Şekil 4.16.</b>	TASE'den biyootografik yöntemle izole edilen 3,5-dikafeoilkuinik asit kromatogramı ve spektrumu .....	57
<b>Şekil 4.17.</b>	TASE'den biyootografik yöntemle izole edilen luteolin glukozit kromatogramı ve spektrumu .....	57
<b>Şekil 4.18.</b>	TASE'den biyootografik yöntemle izole edilen 5-kafeoilkuinik asit kromatogramı ve spektrumu .....	57
<b>Şekil 4.19.</b>	TASE'den biyootografik yöntemle izole edilen ikarisid b/5 kromatogramı ve spektrumu .....	58
<b>Şekil 5.1.</b>	<i>T. armenum</i> bitkisinin uçucu yağındaki majör grupların dağılımı	60

<b>Şekil 5.2.</b>	<i>T. armenum</i> uçucu yağı kromatografik profili ve tespit edilen majör bileşenlerin yapıları .....	61
<b>Şekil 5.3.</b>	<i>T. armenum</i> sabit yağının kimyasal kompozisyonunda tespit edilen yağ asitleri .....	63
<b>Şekil 5.4.</b>	<i>T. armenum</i> uçucu yağ ve ekstrelerinin Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasite değerleri .....	65
<b>Şekil 5.5.</b>	<i>T. armenum</i> uçucu yağ ve ekstrelerinin DPPH serbest radikali süpürme etkileri (IC50 değerleri) .....	65
<b>Şekil 5.6.</b>	<i>T. armenum</i> uçucu yağ ve ekstrelerinin lipit peroksidasyonu inhibe etme potansiyeli (IC50 değerleri) .....	66
<b>Şekil 5.7.</b>	<i>T. armenum</i> uçucu yağ ve ekstrelerinin Trolox'a eşdeğer ORAC değerleri .....	67
<b>Şekil 5.8.</b>	<i>T. armenum</i> ekstrelerinin gallik asite eşdeğer toplam fenol miktarları .....	67
<b>Şekil 5.9.</b>	<i>T. armenum</i> ekstrelerinin kersetine eşdeğer toplam flavonoit miktarları .....	68
<b>Şekil 5.10.</b>	<i>T. armenum</i> uçucu yağ ve ekstrelerinin $\alpha$ -amilaz enzimi inhibe etme etkileri .....	69

## SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

% Inh	: Yüzde İnhibisyon
a/a	: Ağırlık/Ağırlık
AAPH	: 2,2,-Azobis(2-metilpropinamidin) dihidroklorür
Abs	: Absorbans
ABTS	: 2,2'-Azino-bis(3-etilbenztiyazoline-6-sulfonik asit)
ACh	: Asetilkolin
ATCC	: American Type Culture Collection
AUC	: Eğrinin Altındaki Alan
BF <sub>3</sub>	: Boron Triflorure
BHA	: Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	: Bütillenmiş Hidroksi Toluen
CLSI	: Klinik Laboratuar Standartları Enstitüsü
dk	: Dakika
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikril hidrazil radikali
Eu. Ph.	: European Pharmacopeia
FCR	: Folin-Ciocalteu Reaktifi
FID	: Alev İyonlaşma Dedektörü
GA	: Gallik Asit
GAE	: Gallik Asit'e Eşdeğer Miktar
GC/MS	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
GC-FID	: Gaz Kromatografisi-Alev İyonlaşma Detektörü
HBV	: Hepatit B Virüsü
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü
IC <sub>50</sub>	: %50 İnhibisyon gösteren değer
LC-MS/MS	: Sıvı Kromatografisi Kütle Spektrometresi
MBC	: Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MHA	: Mueller Hilton Agar
MIC	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
NCCLS	: National Committee for Clinical Laboratory Standards
NPR	: Natural Product Reagent
ORAC	: Oksijen Radikali Absorblama Kapasitesi



PDA	: Patato Dextrose Agar
PEG	: Polietilen Glikol
RNS	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RPMI	: Roswell Park Memorial Institute Besiyeri
RRI	: Relatif Tutunma İndisi
SDA	: Sabroused Dextrose Agar
TAHE	: <i>Tanacetum armenum</i> hegzanlı ekstre
TAME	: <i>Tanacetum armenum</i> metanollü ekstre
TASE	: <i>Tanacetum armenum</i> sulu ekstre
TAUY	: <i>Tanacetum armenum</i> uçucu yağ
TEAC, TEAK	: Trolox'a Eşdeğer Antioksidan Kapasite
TRAP	: Toplam Radikal Yakalama Parametresi
TTC	: Tetrazolyum Klorür
UV	: Ultraviyole

## 1. GİRİŞ ve AMAC

İnsanoğlunun var oluşundan beri bitkiler birçok alanda kullanılmıştır ve kullanılmaktadır. Yiyecek, hayvancılık, tekstil ve kozmetik alanlarının çok geniş bir kısmında bitkilerden faydalanılmaktadır. Ayrıca, tıbbi ve aromatik bitkiler eski tarihlerden beri sağlıklı yaşam sürmek, hastalıkların önüne geçmek ve hastalıkları tedavi etmek için kullanılmıştır [1].

Bilindiği gibi geleneksel ilaçların çoğu bitkisel kaynaklardan hazırlanmaktadır ve artık geleneksel bitkisel tedavi yöntemleri tarih kitaplarından çıkararak günlük hayatımıza girmiştir. Dünya üzerinde birçok insan geleneksel tedavi yöntemleri ve doğal ilaçları modern ilaçlara tercih etmektedir [2]. Bitkisel droglardan elde edilen fizyolojik etkinin bitkilerin ürettiği sekonder metabolitlerden kaynaklandığı bilinmektedir. Bitkiler doğadan aldıkları hava, su ve mineralleri kullanarak kendi bünyelerinde çeşitli sekonder bileşikler üretirler ve bu bileşikler insan vücudunda pek çok hastalığın tedavisinde kullanılabilir. Örneğin; uçucu yağlar, alkaloidler ve tanenler vücutta savunma mekanizmasını güçlendirmek ve sağlığı desteklemek için kullanılabilir bileşenlerdendir [3]. Bununla birlikte, birçok sekonder metabolitlerin biyolojik aktiviteye sahip olduğu yapılan araştırmalarla bilimsel olarak ortaya konmuştur. Bu etkiler arasında antioksidan, anti-inflamatuar, anti-kolinesteraz aktiviteler örnek olarak verilebilir [4]. Bugün dünya üzerinde yaklaşık bir milyon bitki türü var olduğunu düşünülmektedir ve bunların sadece yarısına yakını tanımlanmıştır ve çok daha azının üzerinde çalışmalar yapılmış ve araştırılmıştır [5]. Potansiyel ilaç hammaddesi geliştirmek ve var olan maddeleri tanımlayıp analiz etmek için doğal kaynaklar ve özellikle bitkiler üzerinde yapılan çalışmalar büyük önem arz etmektedir.

Asteraceae familyası çiçekli bitkilerin en büyük familyalarından biridir ve dünyada yaklaşık 23.000 türü bulunmaktadır. Türkiye florasının çok büyük bölümü bu familyanın bitkilerinden meydana gelmektedir. *Tanacetum* L. ise bu familyada dahilinde en büyük 3. cinstir ve dünya genelinde 160 türü bulunmaktadır. Türkiye’de ise cinse ait 46 *Tanacetum* türü bulunmaktadır. *Tanacetum* türleri aynı zamanda Asya, Avrupa, Kuzey Amerika ve Kuzey Afrika bölgelerinde de yayılım göstermektedir [6, 7].

*Tanacetum* türleri geleneksel yöntemler dahilinde bazı hastalıkların tedavisi veya önlenmesi için uzun zamandır kullanılan bitki grubundandır. Yüzyıllar boyunca halk

arasında ilaç olarak uygulanan *Tanacetum* türlerinden en bilinenleri olan *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz. Bip. bitkisinin adet düzenleyici, ateş düşürücü, kulak çınlaması, baş ağrısı, migren ve baş dönmesi gibi durumlarda fayda gösterdiği bilinmektedir [8]. Bir diğer yaygın olarak kullanılan *Tanacetum vulgare* L. türü ise halk arasında antihelmintik özelliği nedeniyle kullanılmaktadır. Diğer *Tanacetum* türleri stomaşik, sedatif, antiseptik, antioksidan, antibiyotik, antienflamatuvar etkileri için genel olarak kullanılmaktadır [9, 10]. *Tanacetum parthenium* herbası için Avrupa Farmakopesinde “Tanaceti parthenii herba” monografi kayıtlıdır [8].

*Tanacetum* türleriyle ilgili gerçekleştirilen fitokimyasal çalışmalar ve incelemeler göstermiştir ki bu bitki türlerinin kompozisyonlarını çoğunlukla seskiterpenoit ve flavonoitler oluşturmaktadır. Buradan yola çıkarak *Tanacetum* türlerinin gösterdiği biyolojik aktivitelerin kaynağının bitkide bulunan seskiterpenoitler olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda bazı çalışmalarda türlerde bulunan flavonoitlerin ve elde edilen uçucu yağlarının da biyolojik aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir [9].

*Tanacetum armenum* (DC.) Sch. Bip ülkemizde doğal olarak yetişen bir türdür. Halk arasında “Kaya Papatyası” geleneksel adıyla bilinmektedir. Yapılan kaynak taraması sonucu görülmüştür ki *Tanacetum armenum* türüyle ilgili şu ana kadar yapılan çalışmalar çok kapsamlı olmayıp sadece uçucu yağ kompozisyonu ve metanollü ekstresinin antioksidan aktivitesi araştırılmıştır [11, 12].

Bu tez kapsamında *T. armenum* türünün toprak üstü kısımlarının uçucu yağını, sabit yağ asitlerini ve farklı polariteli ekstrelerinin kimyasal kompozisyonlarının aydınlatılması amaçlanmıştır. Ayrıca, uçucu yağ ve ekstrelerinin biyolojik aktivite potansiyellerinin kapsamlı incelenmesi de amaçlanmıştır. Bu amaçlar doğrultusunda *T. armenum* ile ilgili aşağıdaki araştırmaların gerçekleştirilmesi hedeflenmiştir:

- *T. armenum* bitkisi uçucu yağın elde edilmesi,
- *T. armenum* bitkisi sabit yağ asitlerin elde edilmesi,
- *T. armenum* farklı polaritelerde çözücülerle ekstrelerin elde edilmesi,
- Uçucu yağ ve sabit yağ asitlerin kompozisyonlarının GC-FID ve GC/MS teknikleri ile belirlenmesi,
- Ekstrelerin kompozisyonlarının LC-MS/MS tekniği ile belirlenmesi.
- Ekstrelerin toplam flavonoit ve toplam fenol miktarlarının tespit edilmesi,

- Ekstrelerin ve uçucu yağın Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasitelerinin (TEAC), serbest radikal süpürücü etkilerinin (DPPH testi), lipid peroksidasyonu inhibe etme etkisini ( $\beta$ -karoten soldurma testi), oksijen radikali absorban kapasitesini (ORAC) belirlenmesi,
- Ekstre ve uçucu yağın antidiyabetik etkilerinin ( $\alpha$ -amilaz enzimi inhibisyonu) belirlenmesi,
- Ekstre ve uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesinin değerlendirilmesi.

*Tanacetum armenum* türü üzerinde daha önce sabit yağ asitleri analizi, antimikrobiyal araştırma,  $\beta$ -karoten soldurma yöntemi, oksijen radikali absorban kapasitesi (ORAC) testi,  $\alpha$ -amilaz enzim deneyi uygulanmamış olup bu tezle birlikte ilk defa ortaya konulması hedeflenmektedir. Bu çalışmalar aynı zamanda *Tanacetum armenum* türüyle ilgili kapsamlı biyolojik aktivite tarama sonuçlarını ortaya koyacağı için bilim dünyasına ve eczacılık alanına katkı sağlayacaktır.

## 2. KAYNAK BİLGİSİ

### 2.1. Asteraceae Familyası Morfolojik Özellikleri

Asteraceae familyasının çoğunluğu ılıman bölgelerde yaygın olarak bulunan otsu bitkilerdir. Akdeniz havzası, Meksika ve Güney Afrika gibi tropik ve subtropik alanların yarı kurak bölgelerinde görülürler ve genel olarak dünyada yaygın olarak bulunurlar [13]. Familya genellikle tek, iki veya çok yıllıktır, küçük veya orta büyüklükte bitkiler bulunabilir ve familyaya dahil olan bitkilerden bazıları zehirlidir [14].

Familyadaki bitkiler içinde süt içeren otsular, çalılar ve daha seyrek olarak ağaç ve tırmanıcı bitkiler vardır. Bitkilerin yaprak dizilimleri çoğunlukla alternat veya karşılıklıdır; daire, basit veya bileşik olduğu da görülür. Bitkinin çiçekleri baş veya kapitulum durumundadır, kapitulumun etrafı ise involukrum brakerleri ile çevrelenmiştir. Kaliksin yapısı papus şeklindedir veya neredeyse bulunmamaktadır, petaller 4-5 adet birleşiktir; korolla 2 durumda tüpsü veya dilsidir. 5 adet stamen petallere bağlı, filamentler serbest, anterler ise bileşiktir. 1 adet pistil bulunur ve ovaryum alt durumludur. Bitkinin meyvesi aken tiptedir ve uç kısmında sıklıkla bir papus veya kaliks kalıntısı bulunur [15, 16].

Familyanın ismi yıldız şeklinde çiçekleri bulunan bir cins olan *Aster* türünden gelmektedir. Familya aynı zamanda Compositeae olarak da bilinmektedir [17]. Asteraceae familyası çiçekli bitkilerin en büyük familyalarından bir tanesidir ve dünyada yaklaşık 23.000 türü bulunmaktadır. Türkiye açısından ise endemik tür bakımından en kalabalık familyadır [18]. Türkiye’de Asteraceae familyasına ait 1.209 tür mevcuttur, bu türler içinde 447 tür endemiktir [19, 20].

#### 2.1.1. *Tanacetum* L. cinsi morfolojik özellikleri

*Tanacetum* cinsi küçük, orta boyda veya uzun, rizomlu veya yarı çalı formunda bulunmaktadır. Bitkinin gövde kısmı sıklıkla yapraklı ve dallanmıştır. Dişi çiçekler genellikle beyaz, sarı ve pembe renkte olup dilsel formda bulunurlar [21]. Bitki genel olarak Haziran ve Temmuz ayında çiçek açmakta, kireçtaşı uçurum alanlarında ve kayalarda büyüme alanı bulmaktadır [22].

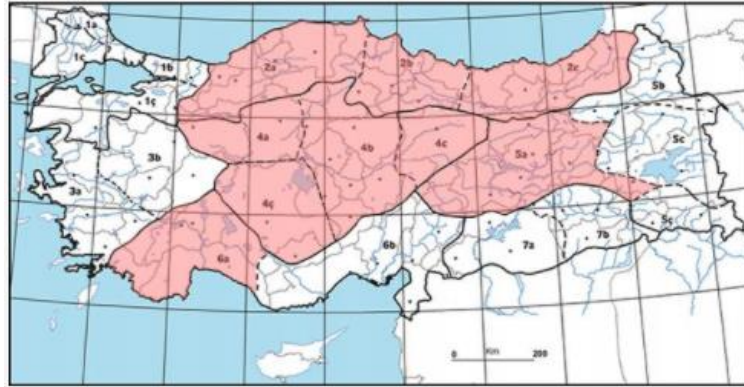
Cinsin toplamda 160 türü bulunmaktadır ve Batı Asya’dan Avrupa’ya, Kuzey Afrika ve Kuzey Amerika’da yayılış gösterir. Türkiye’de ise cinse ait 46 *Tanacetum* türü bulunmaktadır [6].

### 2.1.2. *Tanacetum armenum* (DC.) Sch.Bip. morfolojik özellikleri

Kaya papatyası ismiyle de bilinen *Tanacetum armenum* (DC.) Sch.Bip. çok yıllık bir bitki olup ülkemizde geniş olarak yayılım göstermektedir. Bolu, Kars, Amasya, Ankara, Antalya, Erzincan, Gümüşhane, Isparta, Kayseri, Konya, Kahramanmaraş ve Niğde bölgelerinde rastlamak mümkündür (Şekil 2.1.).

*T. armenum* morfolojik özellikleri Flora of Turkey’de aşağıdaki gibi açıklanmıştır:

Bitki kısa, kubbeli veya dağınık bir biçimde duran çalimsı formdadır. Çiçek sapları 6-12 cm arasında, seyrek tüylü yukarıdan bakıldığında gümüş yeşilindedir. Pinnatisekt yapraklar seyrek veya bazen yoğun beyazımsı tüylü ve noktalı boyu 1.5-3.5 cm arasında, eliptik veya lanseolat yaprakların yanal segmentleri 2-5 çiftlidir. Kapitulum çıplak pediküller üzerinde bir tane, involukrum 0.5-0.8 cm genişliğindedir. Yaprakları şerit biçimli olan türler beyaz, 10mm. Ligula 5.5-8 x 3-4 mm. Disk şeklindeki çiçekler 5.5-8 x 3-4 mm. Aken, üzerinde 4-7 adet soluk şeritle birlikte kahverengi 2 mm, korona yok veya çok ince, 0.1mm. Kireçtaşı veya çakıl taşlarının çatlakları arasından, bazen iğne yapraklı ağaçlık alanlarda yetişirler [15].



Şekil 2.1. *Tanacetum armenum* (DC.) Sch.Bip. Türkiye’deki yayılışı (http-1)

### 2.2. *Tanacetum* Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri

*Tanacetum* türleri geniş yelpazede aktivitelere sahip olduğu hem halk arasındaki kullanım şekillerinden hem bilimsel olarak kanıtlanmış olan çalışmalardan ortaya çıkmıştır. Rapor edilen etnobotanik araştırmalar sonucunda *Tanacetum* türlerinin halk arasındaki kullanım bilgileri aşağıdaki tabloda (Tablo 2.1.) özetlenmiştir.

**Tablo 2.1.** *Tanacetum* türleriyle ilgili Türkiye’de yapılan etnobotanik çalışmalar

<i>Tanacetum</i> Türü	Halk arasındaki adı	Kullanılan kısım	Kullanım şekli	Kullanım amacı	Kaynak
<i>T. argyrophyllum</i> (C. Koch) Tvel. var. <i>argyrophyllum</i>	Çeren	Topraküstü kısımlar, sap, çiçek	Dekoksiyon İnfüzyon	Akçığır hastalıkları, soğuk algınlığı	
<i>T. balsamita</i> L.	Marsuvan otu	Topraküstü kısımlar	İnfüzyon	Ateş düşürücü, safra kesesi hastalıkları, diüretik	[23]
<i>T. punctatum</i> (Desr.) Grierson	Sendel	Topraküstü kısımlar	İnfüzyon	Emanogog, anti-inflamatuar	
<i>T. vulgare</i> L.	Solucan otu	Topraküstü kısımlar	İnfüzyon	İhtaş açıcı, midevi	[24]
<i>T. zahlbruckneri</i> (Nâb.) Grierson	Papatya	Topraküstü kısımlar, yapraklar	Dekoksiyon	Soğuk algınlığı	[25]
<i>T. chiliophyllum</i> (Fisch. & Mey) Schultz Bip. var. <i>chiliophyllum</i>	Bevüjan	Topraküstü kısımları	İnfüzyon	Şeker hastalığı	[26]
<i>T. parthenium</i> Sch. Bip.	Papatya	Çiçek	Dekoksiyon	Öksürük, bademcik iltihabı	[27]
<i>T. coccineum</i> (Willd.) Grierson	Sendel otu	Topraküstü kısımlar,	İnfüzyon	Soğuk algınlığı, boğaz ağrısı, öksürük kesici	[28]

Tablo 2.1.’den görüldüğü gibi halk arasında *Tanacetum* türlerinin çoğunlukla toprak üstü kısmının infüzyonundan veya dekoksiyonundan tedavi amaçla faydalanılmıştır.

*Tanacetum* türleriyle ilgili yapılan biyolojik aktivite çalışmalarının sonuçları aşağıdaki tabloda (Tablo 2.2.) derlenmiştir.

**Tablo 2.2.** *Tanacetum* türleriyle ilgili yapılan aktivite çalışmaları

Biyolojik Aktivite	<i>Tanacetum</i> Türü	Çalışılan Kısım	Kullanım Şekli	Kaynak
Antiinsektisidal	<i>T. abrotanifolium</i> (L.) Druce <i>T. vulgare</i> (L.) <i>T. parthenium</i> (L.) Schultz Bip. <i>T. L.</i> (emend. Briq.) <i>chiliophyllum</i> (Fisch.& Mey.) var. <i>monocephalum</i> Grierson	Çiçek/Yaprak	Piretrin	[29]
		Gövde	Ekstre (hegzan)	[30]
		Çiçek	Uçucu Yağ	[31]
		Çiçekli topraküstü kısımlar	Ekstre (CO <sub>2</sub> )	[32]
		Topraküstü kısımlar/Kök	Ekstre (hegzan/etilasetat/metanol)	[33]

**Tablo 2.2. (devam)** *Tanacetum* türleriyle ilgili yapılan aktivite çalışmaları

Biyolojik Aktivite	<i>Tanacetum</i> Türü	Çalışılan Kısım	Kullanım Şekli	Kaynak	
Antimigren	<i>T. parthenium</i> (L.) Schultz-Bip	Çiçek	Ekstre (CO <sub>2</sub> )	[34]	
	<i>T. sonbolii</i> Mozaff	Topraküstü kısımlar	Ekstre - [etanol:distile su (1:1)]	[35]	
Antienflamatuar	<i>T. microphyllum</i> DC.	Topraküstü kısımlar	Santin- Ermanin- Centaureidin Flavonoidleri	[36]	
	<i>T. argenteum</i> subsp. <i>argenteum</i>	Topraküstü kısımlar	Ekstre (Kloroform)	[37]	
	<i>T. vulgare</i> L.	Topraküstü kısımlar	Uçucu yağ	[38]	
		Topraküstü kısımlar	Ekstre (diklorometan)	[39]	
		<i>T. microphyllum</i> DC.	Topraküstü kısımlar	Ekstre (hegzan/diklorometan/etil asetat/metanol)	[40]
		<i>T. alyssifolium</i> (Bornm.) Grierson	Topraküstü kısımlar	Ekstre (etil asetat)	[41]
Antikanser	<i>T. polycephalum</i> L. Schutz-Bip	Yaprak	Ekstre (hegzan)	[42]	
	<i>T. argentum</i> ssp. <i>argentum</i>	Yaprak	Ekstre (metanol/hegzan/etil asetat)	[43]	
	<i>T. gracile</i> Hook's F & Thomson	Çiçekli Sürgün	Uçucu Yağ	[44]	
	<i>T. parthenium</i> (L.) Schultz-Bip	Yaprak	Ekstre (etanol)	[45]	
		<i>T. vulgare</i> ssp. <i>sicilum</i>	Çiçek	Ekstre (diklorometan)	[46]
Antioksidan	<i>T. vulgare</i> L.	Topraküstü kısımlar	Ekstre (metanol)	[47]	
	<i>T. sonbolii</i> Mozaff.	Topraküstü kısımlar	Ekstre (distile su)	[48]	
	<i>T. parthenium</i> (L.) Schultz-Bip	Çiçek	Ekstre (etanol)	[49]	
	<i>T. balsamita</i> L.	Topraküstü kısımlar	Ekstre (etanol:su)	[50]	
		<i>T. vulgare</i> L.	Topraküstü kısımlar	Ekstre (etanol:su)	[50]
		<i>T. parthenium</i> (L.) Schultz-Bip	Çiçek başları	Ekstre (etanol)	[51]
		<i>T. vulgare</i> L.	Topraküstü kısımlar	Ekstre (metanol)	[52]



**Tablo 2.2. (devam)** *Tanacetum* türleriyle ilgili yapılan aktivite çalışmaları

Biyolojik Aktivite	<i>Tanacetum</i> Türü	Çalışılan Kısım	Kullanım Şekli	Kaynak
Antioksidan	<i>T. corymbosum</i> (L.) Sch. Bip	Topraküstü kısımlar	Ekstre (metanol)	[52]
	<i>T. macrophyllum</i> (Waldst. et Kit.) Sch.	Yaprak	Ekstre (metanol)	[52]
	<i>T. armenum</i> (DC.) Schultz Bip.	Topraküstü kısımlar	Ekstre (metanol)	[12]
	<i>T. cadmeum</i> (Boiss.) Heywood ssp. <i>cadmeum</i>	Topraküstü kısımlar	Ekstre (metanol)	[11]
	<i>T. cilicicum</i> (Boiss.) Grierson	Topraküstü kısımlar	Ekstre (metanol)	[11]
	<i>T. praeteritum</i> (Horw.) Heywood ssp. <i>massicyticum</i> Heywood	Topraküstü kısımlar	Ekstre (metanol)	[11]
	<i>T. praeteritum</i> (Horw.) Heywood ssp. <i>praeteritum</i>	Topraküstü kısımlar	Ekstre (metanol)	[11]
	HSV 1 ve HSV 2 Replikasyon İnhibisyonu	<i>T. vulgare</i> L.	Kök	Ekstre (metanol)
Antidepresan	<i>T. parthenium</i> (L.) Schultz-Bip	Yaprak	Ekstre (distile su)	[54]
	<i>T. polycephalum</i> Schultz Bip.	Topraküstü kısımlar	Ekstre (% 80 etanol)	[55]
AChE enzim İnhibisyonu	<i>T. abrotanifolium</i> (L.) Druce	Çiçek ve sap	Uçucu Yağ	[56]
	<i>T. vulgare</i> L.	Kök	Ekstre (etil asetat)	[57]
Antiprotozoal	<i>T. parthenium</i> (L.) Schultz-Bip	Topraküstü kısımlar	Ekstre (etanol:su)	[58]
	<i>T. sonbolii</i> Mozaff.	Çiçek	Ekstre (aseton)	[59]
		Topraküstü kısımlar	Ekstre (etil asetat)	[58]
Antimikrobiyal	<i>T. aucheranum</i> (DC.) Schultz Bip.	Topraküstü kısımlar	Uçucu Yağ	[60]
	<i>T. chiliophyllum</i> var. <i>chiliophyllum</i>	Topraküstü kısımlar	Uçucu Yağ	[60]
	<i>T. gentium</i> subsp. <i>flabellifolium</i>	Topraküstü kısımlar	Uçucu Yağ	[61]
	<i>T. balsamita</i> L.	Çiçek	Ekstre (hegzan)	[62]
	<i>T. santolinoides</i> (DC.) Feinbr. and Fertig	Çiçekli topraküstü kısımlar	Uçucu Yağ	[63]
	<i>T. vulgare</i> L.	Çiçekli topraküstü kısımlar	Ekstre (hegzan:eter)	[62]
		Çiçek başları	Uçucu Yağ	[64]
	<i>T. chiliophyllum</i> (Fisch. & Mey.) Schultz Bip. var. <i>monocephalum</i> Grierson	Çiçek/Gövde/ Kök	Uçucu Yağ	[65]

**Tablo 2.2. (devam)** *Tanacetum* türleriyle ilgili yapılan aktivite çalışmaları

Biyolojik Aktivite	<i>Tanacetum</i> Türü	Çalışılan Kısım	Kullanım Şekli	Kaynak
Antibakteriyel	<i>T. parthenium</i> (L.) Schultz-Bip	Topraküstü kısımlar	Uçucu Yağ	[66]
	<i>T. argyrophyllum</i> var. <i>argyrophyllum</i>	Topraküstü kısımlar	Seskiterpen laktonlar	[67]

Yapılan kaynak taraması sonucunda *Tanacetum* türlerinin çoğunlukla çiçek ve topraküstü kısımlarından faydalandığı görülmektedir. Bitkiden uçucu yağ ve farklı polariteli ekstraktları elde edilerek çeşitli biyolojik aktivite testlere tabi tutulmuştur. Çoğunlukla *Tanacetum*'dan elde edilen ürünler antioksidan, anti-kanser ve antimikrobiyal olarak potansiyel bulunmuştur.

### 2.3. *Tanacetum* Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Araştırmalar

*Tanacetum* türleri üzerinde sekonder metabolitleri aydınlatmak için pek çok fitokimyasal çalışma mevcuttur. Bu çalışmalar sonucunda tespit edilen bazı sekonder metabolitler aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (Tablo 2.3.).

**Tablo 2.3.** *Tanacetum* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu tespit edilen sekonder metabolitler

BİLEŞİK	TÜR	KAYNAK
<b>SESKİTERPEN LAKTONLAR</b>		
Arbuskulin A	<i>T. ferulaceum</i> (Sch. Bip)	[68]
Arglanin	<i>T. praetertum</i> ssp. <i>praeteritum</i>	[69]
Armefolin	<i>T. praeteritum</i> spp. <i>praeteritum</i> <i>T. vulgare</i>	[69]
Krizanin	<i>T. cinerariaefolium</i>	[70]
Dentatin A	<i>T. argenteum</i> ssp. <i>flabellifolium</i> <i>T. vulgare</i>	[71] [72]
Eginens	<i>T. chiliophyllum</i> var. <i>heimerlei</i> <i>T. densum</i> ssp. <i>enginense</i>	[73] [74]
Erivanin	<i>T. balsamita</i> <i>T. santolinoide</i>	[75]
Magnolialid	<i>T. vulgare</i>	[76]

**Tablo 2.3. (devam)** *Tanacetum* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu tespit edilen sekonder metabolitler

BİLEŞİK	TÜR	KAYNAK
<b>SESKİTERPEN LAKTONLAR</b>		
Praeteritenolid	<i>T. praetehtum</i> ssp. <i>praetehtum</i>	[69]
	<i>T. argenteum</i> ssp. <i>argenteum</i>	[77]
	<i>T. argenteum</i> ssp. <i>jlbellifolium</i>	[71]
	<i>T. densum</i> ssp. <i>eginense</i>	[78]
Diasetil-P-siklopiretrosin	<i>T. argyrophyllum</i> var. <i>argyrophyllum</i>	[67]
	<i>T. densum</i> ssp. <i>sivasicum</i>	[79]
	<i>T. densum</i> ssp. <i>amani</i>	[80]
	<i>T. chiliophyllum</i> var. <i>heimerli</i>	[81]
Reynosin	<i>T. parthenium</i>	[82]
	<i>T. vulgare</i>	[76]
	<i>T. praeteritum</i> ssp. <i>praeteritum</i>	[83]
	<i>T. vulgare</i>	[76]
Santamarin	<i>T. parthenium</i>	[82]
	<i>T. santolina</i>	[84]
	<i>T. argenteum</i> ssp. <i>canum</i> var. <i>canum</i>	[85]
	<i>T. praeteritum</i> ssp. <i>praeteritum</i>	[69]
Tanasetin	<i>T. tanacetoides</i>	[86]
	<i>T. vulgare</i>	[87]
	<i>T. vulgare</i>	[76]
Partenolit	<i>T. parthenium</i>	[82]
	<i>T. densum</i> ssp. <i>amani</i>	[88]
	<i>T. argenteum</i> ssp. <i>flabellifolium</i>	[80]
Dihidropartenolit	<i>T. argenteum</i> ssp. <i>canum</i> var. <i>canum</i>	[74]
	<i>T. argenteum</i> ssp. <i>canum</i> var. <i>canum</i>	[74]
Piretrosin	<i>T. cinerariaefolium</i>	[89]
Ridentin	<i>T. argenteum</i> ssp. <i>canum</i> var. <i>canum</i>	[74]
	<i>T. santolin</i>	[85]
	<i>T. vulgare</i>	[76]
	<i>T. chiliophyllum</i> var. <i>heimerlei</i>	[81]
Tamirin	<i>T. densum</i> ssp. <i>eginense</i>	[78]
	<i>T. argenteum</i> ssp. <i>flabellifolium</i>	[71]
	<i>T. myricophyllum</i>	[90]
	<i>T. chiliophyllum</i>	[91]
	<i>T. polycephalum</i>	[92]
	<i>T. argyrophyllum</i>	[90]

**Tablo 2.3. (devam)** *Tanacetum* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu tespit edilen sekonder metabolitler

BİLEŞİK	TÜR	KAYNAK
<b>SESKİTERPEN LAKTONLAR</b>		
Tanasetol A	<i>T. vulgare</i>	[93]
	<i>T. cilicium</i>	[94]
Kanin	<i>T. vulgare</i>	[83]
	<i>T. parthenium</i>	[88]
	<i>T. macrophyllum</i>	[84]
Piretrin	<i>T. parthenifolium</i>	[95]
	<i>T. odessanum</i>	[96]
Farnesol	<i>T. corymbosum</i>	
	<i>T. cilicium</i>	[9]
	<i>T. macrophyllum</i>	
	<i>T. densum</i> ssp. <i>sivasicum</i>	[79]
	<i>T. densum</i> ssp. <i>amani</i>	[80]
	<i>T. argenteum</i> ssp. <i>argenteum</i>	[77]
	<i>T. densum</i> ssp. <i>eginense</i>	[78]
Spisiformin	<i>T. argenteum</i> ssp. <i>flabellifolium</i>	[71]
	<i>T. chiliophyllum</i> var. <i>heimerlei</i>	[81]
	<i>T. ferulaceum</i>	[68]
	<i>T. ptarmicaeflorum</i>	[97]
<b>FLAVONOİTLER</b>		
	<i>T. vulgare</i>	
	<i>T. parthenium</i>	[98]
	<i>T. polycephalum</i>	
	<i>T. praeteritum</i> spp. <i>praeteritum</i>	[99]
Apigenin	<i>T. cinerariifolium</i>	[100]
	<i>T. palustre</i>	[101]
	<i>T. leptophyllum</i>	
	<i>T. corymbosum</i>	[102]
	<i>T. ferulaceum</i>	
Apigenin 4'-metileter (Asasetin)	<i>T. vulgare</i>	[103]
Asasetin 7-diglukozid	<i>T. vulgare</i>	[103]

**Tablo 2.3. (devam)** *Tanacetum* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu tespit edilen sekonder metabolitler

BİLEŞİK	TÜR	KAYNAK
<b>FLAVONOİTLER</b>		
6-Metoksiapigenin (Hispidulin)	<i>T. densum</i> spp. <i>eginense</i>	[78]
	<i>T. sibiricum</i>	[104]
	<i>T. vulgare</i>	[98]
	<i>T. densum</i> spp. <i>amani</i>	[77]
	<i>T. praeteritum</i> spp. <i>praeteritum</i>	[100]
Diosmetin (5,7,3'- Trihidroksi 4'- metoksiflavon)	<i>T. vulgare</i>	[105]
	<i>T. vulgare</i>	[98]
	<i>T. parthenium</i>	[98]
Luteolin	<i>T. boreale</i>	[106]
	<i>T. cinerariifolium</i>	[101]
	<i>T. polycephalum</i>	[99]
	<i>T. praeteritum</i> spp. <i>praeteritum</i>	[100]
Luteolin 7-glukozit	<i>T. parthenium</i>	[98]
	<i>T. vulgare</i>	[98]
<b>FLAVONLAR</b>		
Aksillarin (kuersetagetin 3,6-dimetileter)	<i>T. vulgare</i>	[98]
	<i>T. parthenium</i>	[98]
	<i>T. boreale</i>	[106]
	<i>T. sibiricum</i>	[104]
	<i>T. ferulaceum</i>	[68]
Sentaureidin (5,7,3'- Trihidroksi 3,6,4'- trimetoksiflavon)	<i>T. densum</i> spp. <i>amani</i>	[80]
	<i>T. microphyllum</i>	[39]
	<i>T. parthenium</i>	[98]
Ermanin (5,7-dihidroksi 3,4'- dimetoksiflavon)	<i>T. chiliphyllum</i>	[107]
	<i>T. microphyllum</i>	[108]
Kampferol	<i>T. palustre</i>	[102]
Kersetin	<i>T. vulgare</i>	[105]
	<i>T. boreale</i>	[106]
Tanetin (6- hidroksikamferol 3,7,4'- trimetileter)	<i>T. parthenium</i>	[109]
	<i>T. densum</i> spp. <i>sivasicum</i>	[79]

**Tablo 2.3. (devam)** *Tanacetum* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu tespit edilen sekonder metabolitler

BİLEŞİK	TÜR	KAYNAK
<b>FLAVONONLAR</b>		
Izosakuranetin (5,7-dihidroksi 4'-metoksiflavanon)	<i>T. sibiricum</i>	[104]
2',5,5',7-Tetrahidroksiflavanon	<i>T. sibiricum</i>	
Naringenin	<i>T. sibiricum</i>	

### 2.3.1. *Tanacetum* türlerinin uçucu bileşikleri

*Tanacetum* türleri üzerinde uçucu yağ kompozisyonunu aydınlatmak için yapılan pek çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalar sonucunda tespit edilen uçucu bileşikler aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (Tablo 2.4.).

**Tablo 2.4.** *Tanacetum* türlerinde tespit edilen uçucu bileşikler

Madde	<i>Tanacetum</i> türü (bileşiğin %)	Kaynak
1,8-Sineol	<i>T. argenteum</i> (Lam.) Willd. subsp. <i>canum</i> (C. Koch) Grierson var. <i>canum</i> (C. Koch) Grierson (14.8)	[110]
	<i>T. mucroniferum</i> Hub.-Mor. & Grierson (21.9)	[111]
	<i>T. nitens</i> (Boiss. et NOE) Grierson (27.6)	[112]
	<i>T. armenum</i> (DC.) Schultz Bip (yaprak/ toprak üstü kısım; 31.0/11.0)	[11]
$\alpha$ -Pinen	<i>T. argenteum</i> (Lam.) Willd. ssp. <i>argenteum</i> (L.) All (67.9)	[110]
	<i>T. argenteum</i> (Lam.) Willd. subsp. <i>canum</i> (C. Koch) Grierson var. <i>canum</i> (C. Koch) Grierson (53.6)	[110]
	<i>T. argenteum</i> ssp. <i>argenteum</i> (36.7)	[113]
	<i>T. densum</i> (Lab.) Schultz Bip. ssp. <i>amani</i> Heywood (9.7)	[113]
$\beta$ -Pinen	<i>T. argenteum</i> ssp. <i>argenteum</i> (27.5)	[113]
	<i>T. densum</i> (Lab.) Schultz Bip. ssp. <i>amani</i> Heywood (27.2)	[113]
	<i>T. argenteum</i> (Lam.) Willd. ssp. <i>argenteum</i> (L.) All. (4.8)	[110]
$\alpha$ -Tuyon	<i>T. argyrophyllum</i> var. <i>argyrophyllum</i> (52.0)	[114]
	<i>T. praeteritum</i> (Horwood) Heywood ssp. <i>massicyticum</i> Heywood (51.0)	[114]
	<i>T. alyssifolium</i> (Bornm.) Grierson (24.6)	[60]
	<i>T. argenteum</i> ssp. <i>canum</i> var. <i>canum</i> (12.0)	[114]

**Tablo 2.4. (devam)** *Tanacetum* türlerinde tespit edilen uçucu bileşikler

Madde	<i>Tanacetum</i> türü (bileşiğin %)	Kaynak
β-Tuyon	<i>T. balsamita</i> L. ssp. <i>balsamita</i> L. (20.8)	[115]
	<i>T. praeteritum</i> (Horwood) Heywood ssp. <i>massicyticum</i> Heywood (10.0)	[114]
Kafur	<i>T. parthenium</i> (L.) Schultz Bip. (60.8)	[66]
	<i>T. parthenium</i> (L.) Schultz Bip. (56.9)	[116]
	<i>T. sorbifolium</i> (Boiss.) Grierson (54.3)	[117]
	<i>T. densum</i> (Lab.) Schultz Bip. ssp. <i>eginense</i> Heywood (çiçek/sap/yaprak; 30.9/25.7/27.7)	[118]
	<i>T. chiliophyllum</i> (Fisch. Et Mey.) Schultz Bip. var. <i>chiliophyllum</i> (Fisch. Et Mey.) Schultz (28.5)	[119]
	<i>Tanacetum argyrophyllum</i> (C. Koch) Tvel. var. <i>argyrophyllum</i> (C. Koch) Tvel (çiçek/sap; 29.7/26.6)	[120]
Kamfen	<i>T. parthenium</i> (L.) Schultz (12.7)	[116]
	<i>T. densum</i> (Lab.) Schultz Bip. ssp. <i>eginense</i> Heywood (çiçek/sap; 10.6/7.0)	[118]
	<i>T. chiliophyllum</i> (Fisch. Et Mey.) Schultz Bip. var. <i>chiliophyllum</i> (Fisch. Et Mey.) Schultz (7.1)	[119]
Karvon	<i>T. balsamita</i> L. (52.0)	[11]
	<i>T. balsamita</i> L. ssp. <i>balsamita</i> L. (51.0)	[115]
β-Ödesmol	<i>T. macrophyllum</i> (Waldst. et Kit.) Schultz Bip. (89.5)	[121]
	<i>T. macrophyllum</i> (Waldst. et Kit.) Schultz Bip. (21.4)	[122]
Borneol	<i>T. densum</i> (Lab.) Schultz Bip. ssp. <i>amani</i> Heywood (31.3)	[123]
	<i>T. alyssifolium</i> (Bornm.) Grierson (35.2)	[60]
	<i>T. praeteritum</i> (Horwood) Heywood ssp. <i>praeteritum</i> (Horwood) Heywood (28.0)	[114]
	<i>T. chiliophyllum</i> (Fisch. Et Mey.) Schultz Bip. var. <i>chiliophyllum</i> (Fisch. Et Mey.) Schultz (15.4)	[60]
	<i>Tanacetum argyrophyllum</i> (C. Koch) Tvel. var. <i>argyrophyllum</i> (C. Koch) Tvel. (15.0)	[120]
	<i>T. densum</i> (Lab.) Schultz Bip. ssp. <i>sivasicum</i> Hub.- Mor. et Grierson (çiçek/sap; 5.8/6.4)	[124]
Krizantenil asetat	<i>T. parthenium</i> (L.) Schultz Bip. (30.0)	[125]
	<i>T. balsamita</i> L. ssp. <i>balsamita</i> L. (19.7)	[119]
<i>cis</i> -Krizantenol	<i>T. macrophyllum</i> (Waldst. et Kit.) Schultz Bip. (12.0)	[122]
<i>trans</i> -Krizantenil asetat	<i>T. parthenium</i> (L.) Schultz Bip.	[66]

Tablo 2.4.'ten görüldüğü gibi *Tanacetum* türlerinin uçucu yağlarında ana bileşikler olarak başta monoterpenler olmak üzere çoğunlukla oksijenli bileşikler bulunmuştur.

## 2.4. Antioksidan Aktivite Çalışmaların Önemi

### 2.4.1. Serbest radikaller

Atomların orbitallerinde eşleşmiş halde bulunan iki elektron vardır. Elektronların bu gibi eşleşmiş olarak çift halinde bulunmaları atomu kararlı kılar [126]. Bu kararlı yapı bozulur ve atomlar bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içerirlerse bu durumdaki atom veya moleküllere serbest radikal adı verilir. Bu atom veya moleküllerin son orbitallerinde eşleşmemiş elektron bulunur ve bu elektron açığını kapatmak için oldukça reaktif hale gelerek başka atom ve moleküllerle saldırırlar. Serbest radikaller eşleşmemiş elektronlarından ötürü oldukça kararsız ve kısa ömürlüdür ancak radikal olmayan başka moleküllerle hızlıca reaksiyona girerek onları da radikal haline getiriler ve zincir reaksiyonlar başlatırlar [127-129].

Serbest radikaller vücutta gerçekleşen fizyolojik süreçler içerisinde devamlı meydana gelirler. Bu oluşumların nedenleri farklı durumlardan kaynaklanabilir, bunlardan bazıları; radyasyon, UV ışınları, sigara dumanı, ilaç ve pestisitler gibi dışsal nedenlerdir ve bazı enzim reaksiyonları, oksidatif reaksiyonlar, mitokondriyal reaksiyonlar gibi organizma içinde meydana gelen olaylar bunlara örnek olarak verilebilir [130, 131]. Serbest radikaller oksijen veya nitrojen kaynaklı olabilir, oksijen kaynaklı olanlarına Reaktif Oksijen Türleri (ROS), nitrojen kaynaklı olanlara ise Reaktif Nitrojen Türleri (RNS) denilmektedir [132]. Reaktif oksijen türlerine örnek olarak süperoksit ( $O_2^-$ ), peroksil ( $ROO^\circ$ ), lipid peroksil ( $LOO^\circ$ ), alkoksil ( $RO^\circ$ ) ve hidroksil ( $OH^\circ$ ) radikalleri verilebilir. Reaktif nitrojen türleri arasında ise nitrik oksit ( $NO^\circ$ ) ve nitrojen dioksit ( $NO_2^\circ$ ) vardır. Aynı zamanda serbest radikaller arasında yer almayan (nonradikal) ancak patolojik durumlarda organizmada üretilerek canlıda serbest radikal üretimine neden olan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve ozon ( $O_3$ ) gibi oksijen türevleri de bulunmaktadır [132-134].

Serbest radikal üretimi oksijenli solunum yapan tüm canlılarda gerçekleşir ancak vücutta serbest radikaller ve antioksidan maddeler arasındaki denge bozulursa ve serbest radikal miktarı artışa geçerse bu durumda “Oksidatif Stres” denilen tablo ortaya çıkar. Oksidatif stresle birlikte hücre zarı tahribatı, lipid peroksidasyonu gibi hasarlar ortaya çıkar ve bunların ilerlemesiyle hipertansiyon, bağışıklık sistemi yetersizliği, kanser gibi hastalıklar gelişebilir. Yapılan çalışmalar sonucu günümüzde birçok hastalığın belli bir seviyede oksidatif stresle bağlantılı olduğu ortaya çıkarılmıştır [135, 136].



### 2.4.2. Antioksidanların önemi

Oksijenli solunum yapan organizmalarda hem serbest radikal üretimini yavaşlatmak hem de onların vereceği zararı engellemek için çeşitli antioksidan savunma mekanizmaları bulunmaktadır [137]. Organizmada bir çeşit koruyucu kalkan görevi yapan antioksidan maddeler, serbest radikallere kendi elektronlarından vererek onları kararlı duruma getirirler ve bunun sonucunda kendileri serbest radikal haline gelmezler [138].

Vücut için önemli bir gereksinim olan antioksidan maddeler vücutta doğal olarak sentezlenirler ancak bunların yetersiz olduğu durumda dışardan alınmaları gerekir. Dışardan alınan antioksidan maddeler doğal ve sentetik olmak üzere ikiye ayrılır. Sentetik antioksidan maddelere örnek olarak bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve Trolox verilebilir [139]. Doğal antioksidanlar ise bitkilerin bütün kısımlarında bulunmaktadır. Bu doğal antioksidan maddeler özellikle yeşil sebzelerde, tohumlarda, A, C ve E vitamini içeren bitkilerde bulunur [140, 141]. Bitkisel kaynaklı antioksidan maddeler doğal yollardan elde edilmeleri, yan etkilerinin sentetik maddelere göre çok düşük olması, maliyet açısından daha avantajlı olması nedeniyle araştırma alanlarında özellikle sentetik maddelere göre daha önemli hale gelmiştir. Doğal antioksidan maddelere örnek olarak askorbik asit, kersetin, apigenin ve tokoferoller gibi maddeler örnek verilebilir [142-144].

### 2.4.3. Antioksidan aktivite tayinleri

Antioksidan aktivite tayinleri iki grup altında incelenmektedir. Bunlar elektron transferi ve hidrojen atomu transferine dayanan yöntemlerdir.

#### 1. Elektron Transferine Dayanan Yöntemler

- DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) serbest radikal süpürme etkisi;
- FRAP, demir iyonu indirgeme kapasitesi;
- TEAC, Troloxa eşdeğer antioksidan kapasite tayini elektron transferine dayanan antioksidan kapasite tayinlerine örnek olarak verilebilir [145].

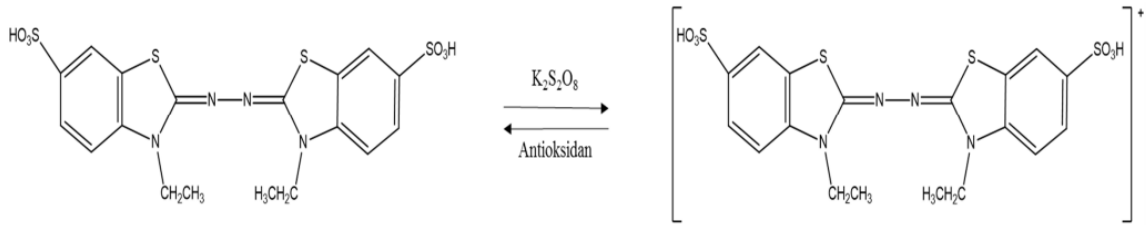
#### 2. Hidrojen Atomu Transferine Dayanan Yöntemler

- ORAC, oksijen radikali absorplama kapasitesi;
- TRAP, toplam radikal yakalama gücü,
- Krosin soldurma yöntemi,

- Linoleik asit oksidasyonunu indirgeme kapasitesi hidrojen atomu transferine dayanan yöntemler arasında sayılabilir [145].

#### 2.4.3.1. Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) değerlendirmesi

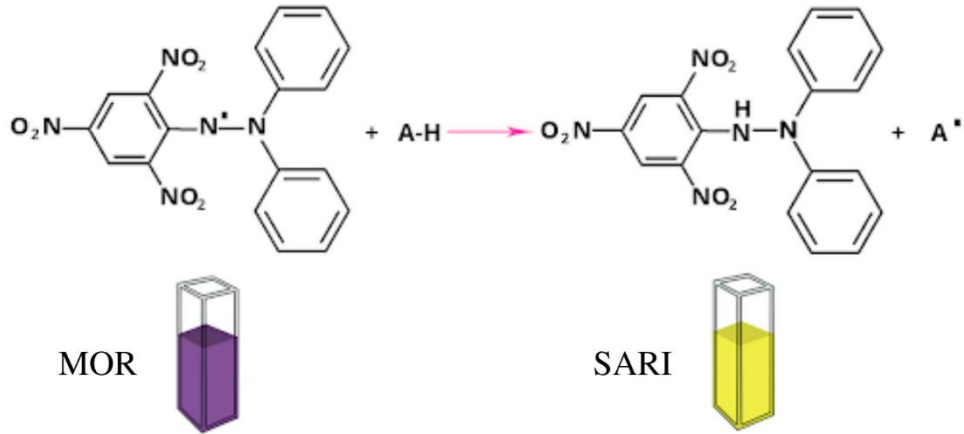
Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite tayini elektron transferine dayalı bir yöntemdir. Deneyde ABTS bileşiği potasyum persülfat ile tepkimeye girerek oksitlenir ve aktif ABTS<sup>•+</sup> radikal katyonuna dönüşür. ABTS<sup>•+</sup> radikal çözeltisine antioksidan ajan ilave edilmesiyle ABTS<sup>•+</sup> indirgenir ve absorbans değerlerindeki değişiklikler spektrofotometrik olarak 734 nm'de ölçülür [146]. Deneyde gerçekleşen kimyasal tepkime Şekil 2.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. ABTS'nin indirgenme ve yükseltgenme mekanizmaları [147]

#### 2.4.3.2. Serbest radikal süpürücü etki (DPPH Testi)

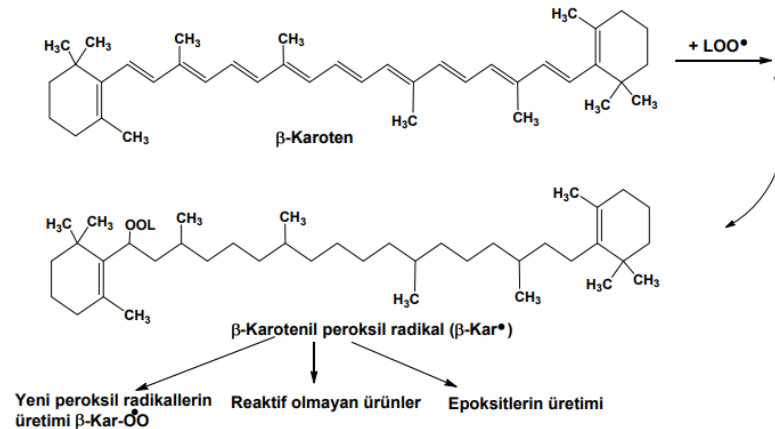
Elektron transferine dayalı bir yöntem olan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH) radikal süpürme deneyi ilk kez 1958 yılında ortaya atılmış olup, sonrasında araştırmacılar tarafından modifiye edilmiştir. Deney mekanizmasında DPPH kararlı serbest radikal görevi yapar ve bir antioksidan ajan ilavesiyle DPPH radikalinin indirgenmesi mantığına dayanmaktadır. Gerçekleşen kimyasal tepkimenin şeması Şekil 2.3.'te gösterilmiştir. İndirgenme sonunda antioksidanların serbest radikal süpürücü etkileri spektrofotometrik analiz (517 nm'de) sonuçlarına göre değerlendirilir [148].



Şekil 2.3. DPPH radikalinin indirgenme mekanizması (http-2). A-H: antioksidan ajan.

#### 2.4.3.3. $\beta$ -Karoten soldurma testi

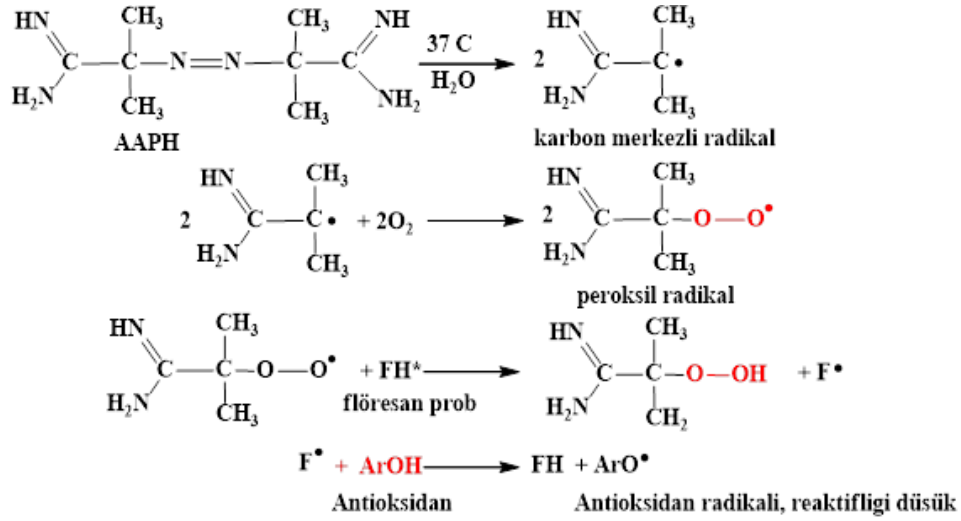
Hidrojen transferine dayalı bir yöntem olan  $\beta$ -karoten soldurma testi linoleik asitin ısı etkisi ile oksitlenerek peroksit türevleri oluşturması ve peroksit türevlerinin  $\beta$ -karoten'in rengini soldurması prensibine göre gerçekleştirilmektedir (Şekil 2.4.). Çözeltiye antioksidan bir ajan eklenmesiyle  $\beta$ -karoten'in renk solması gecikir ve rengindeki değişim spektrofotometrik olarak ölçülerek ajanın antioksidan kapasitesi değerlendirilir. Deneyde Tween 20, linoleik asit ve  $\beta$ -karoten'in sulu ortamda dağılması için emülgatör görevi görür [149].



Şekil 2.4.  $\beta$ -Karoten'in linoleik asit ile tepkimesi [150]. LOO• : lipit peroksidi

#### 2.4.3.4. Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) testi

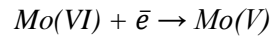
Hidrojen transferine dayalı bir yöntem olan oksijen radikali absorbans kapasitesi testi, flöresan özellik gösteren bir prob maddenin, peroksil radikalleriyle girdiği tepkime sonucunda flöresan özelliğini kaybetmesi prensibine dayanır (Şekil 2.5). Antioksidan madde ilavesiyle flöresan maddenin renginin sönmesi gecikir ve flöresan maddenin rengindeki değişim spektrofotometrik olarak ölçülerek antioksidan kapasite değerlendirilir. Bu amaçla flöresan madde olarak fleurossein, serbest radikal üreticisi olarak ise 2,2,-azobis(2-metilpropinamidin) dihidroklorür (AAPH) kullanılır [151].



Şekil 2.5. Peroksil radikal ve antioksidan maddenin flöresan proba etkisi [152]

#### 2.4.3.5. Toplam fenol miktar tayini

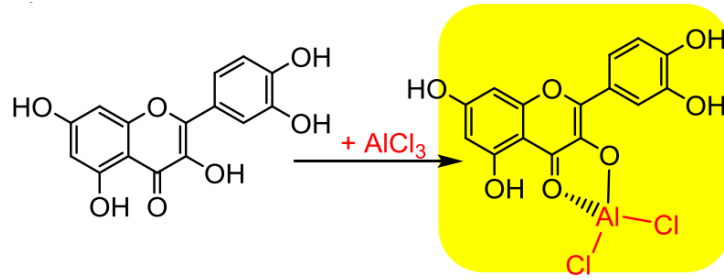
Ekstrelerdeki toplam fenol miktar tayini Folin-Ciocalteau reaktifinin bazik ortamda antioksidan etkili bileşikler ile indirgenmesi prensibine dayanmaktadır. Deneyde gerçekleşen kimyasal tepkime aşağıda gösterildiği gibidir:



Deneyde kullanılan sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) ortamı bazik hale getirmek için kullanılmaktadır. Numunede bulunan toplam fenol miktarı karışımın absorbans değerleri spektrofotometre ile (760 nm'de) ölçülerek gallik asite eşdeğer olarak hesaplanır [153].

#### 2.4.3.6. Toplam flavonoit miktar tayini

Ekstrelerde bulunan toplam flavonoit miktarı, bileşiklerin  $AlCl_3$  reaktifi ile reaksiyona girerek oluşturdukları renkli kompleks bileşenlerin absorpsiyon değerlerinin ölçülmesi prensibine dayanmaktadır (Şekil 2.6.). Flavonoitler  $AlCl_3$  reaktifi ile sarı veya yeşil renkli şelatlar meydana getirirler. Numunede bulunan toplam flavonoit miktarı karışımın absorpsiyon değerleri spektrofotometrik (415 nm'de) olarak ölçülerek kersetin/rutine eşdeğer olarak hesaplanır [154].



Şekil 2.6. Flavonoitlerin  $AlCl_3$  ile tepkimesi [155]

### 2.5. Antidiyabetik Araştırmaların Önemi

#### 2.5.1. $\alpha$ -Amilaz enzim inhibitörleri

$\alpha$ -Amilaz, nişastayı bir disakkarit olan maltoz bileşiğine parçalayan enzimdir. Proteaz grubundan bir enzim olup, enzim çalışmalarında en çok kullanılan ikinci enzim türüdür. Kandaki glukozun ana kaynaklarından olan nişastanın parçalanması  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzimlerinin yardımıyla gerçekleştirilir. Pankreatik  $\alpha$ -amilaz enziminin nişasta moleküllerini hidroliz etmesi  $\alpha$ -(1,4) glikozid bağlarını ayırarak maltoz ve diğer oligosakkaritlere parçalaması prensibiyle gerçekleşir [156, 157].

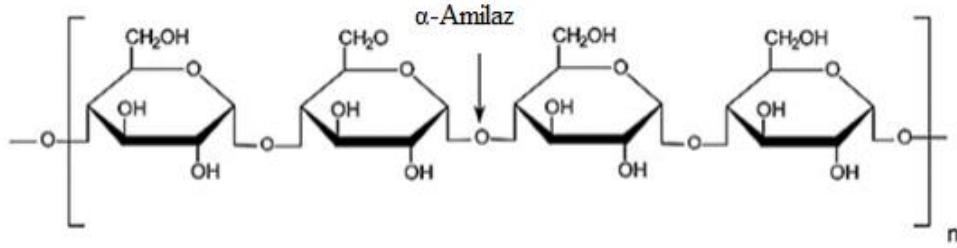
$\alpha$ -Amilaz enzim inhibitörleri, karbonhidratların parçalanmasını geciktirir ve glukoz emilim hızının yavaşlamasına neden olur. Böylece kandaki glukoz seviyesi düşürülmüş olur. Amino şekerlerden olan akarboz, pankreatik  $\alpha$ -amilaz için çok iyi inhibitör olup tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan bir bileşiktir [158].

Literatürde *Tanacetum* türleriyle ilgili antidiyabetik araştırmaların sonuçları mevcuttur. 2017 yılında Yur vd. tarafından *T. haussknechtii* Bornm. Grierson türü üzerinde yapılan çalışmada metanollü ve etil asetatlı ekstrelerin  $\alpha$ -amilaz enzimini inhibe edici potansiyel gösterdiği tespit edilmiştir [159]. Özek vd. (2018) tarafından *T.*

*praeteritum* (Horwood) Heywood subsp. *praeteritum* (Horwood) türü üzerinde yapılan araştırmada bitki uçucu yağının  $\alpha$ -amilaz enzimini inhibe edici potansiyeli saptanmıştır [160]. Khan vd. (2018) *T. nubigenum* Wall. ex DC. hipoglisemik potansiyeli protein tyrosine phosphatase-1B enzimi inhibe etme etkisine göre tespit edilmiştir [161].

### 2.5.1.1. $\alpha$ -Amilaz inhibisyon testi

Diyabet hastalığının tedavisi için kullanılan  $\alpha$ -amilaz enzim inhibitörleri *in-vitro* ortamda test edilebilmektedir. Bu amaç için potasyum iyodür (KI), nişasta çözeltisi ve  $\alpha$ -amilaz enzimi kullanılmaktadır.  $\alpha$ -Amilaz enzimi nişastayı oligomerlere kadar hidroliz eder. Hidroliz sonucunu test etmek için indikatör olarak iyot eklendiğinde iyodun rengi değişmez (Şekil 2.7.). Ortama  $\alpha$ -amilaz enzim inhibitörü eklenmesiyle nişastanın parçalanması engellenmiş olur ve iyodun nişastayla oluşturduğu kompleksin rengindeki değişim spektrofotometrik olarak ölçülerek  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyonu değerlendirilir [162].



Şekil 2.7. Nişastanın  $\alpha$ -amilaz enzimi aracılığıyla parçalanması [163]

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Kimyasal Maddeler

Proje kapsamında gerçekleştirilen fitokimyasal ve biyolojik aktivite araştırmalarında kullanılan kimyasalların listesi aşağıda verilmiştir:

- Akarboz (Sigma-Ald., Fransa)
- Alüminyum klörür - AlCl<sub>3</sub> (Merck, Almanya)
- $\alpha$ -Amilaz enzimi (Sigma-Ald., Fransa)
- Anisaldehit (Sigma-Ald., Fransa)
- Asetik asit (Sigma-Ald., Almanya)
- 2,2'-Azobis(2-metilpropinamidin) dihidroklorür - AAPH (Sigma-Ald., Fransa)
- 2,2'-Azino-bis(3-etilbenztiyazolin-6-sülfonik asit) -ABTS (Sigma-Ald., Almanya)
- $\beta$ -Karoten (Fluka, ABD)
- Borontriflorid – BF<sub>3</sub> (Merck, Almanya)
- Bütillenmiş hidroksi anisol - BHA (Sigma-Ald., Almanya)
- 1-Difenil-2-pikrilhidrazil - DPPH (Sigma-Ald., Fransa)
- Difenilborik asit- $\square$ -etilaminoester (Sigma-Ald., Fransa)
- Dimetil sülfoksit -DMSO (Sigma-Ald., ABD)
- Disodyum fosfat - Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Sigma-Ald., Fransa)
- Etanol (Sigma-Ald., Almanya)
- Etil asetat (Sigma-Ald., Fransa)
- Fluoresein (Sigma-Ald., Fransa)
- Folin-Ciocalteu reaktifi - FCR (Sigma-Ald., İsviçre)
- Formik asit (Sigma-Ald., Fransa)
- Gallik asit (Sigma-Ald., Çin)
- Glasiyel asetik asit (Sigma-Ald., Fransa)
- *n*-Hekzan (Merck, Almanya)
- Hidroklorik asit -HCl (Sigma-Ald., Almanya)
- İyot (Sigma-Ald., Fransa)
- Kersetin (Sigma- Ald., Almanya)
- Kloroform (Sigma-Ald., Fransa)

- Linoleik asit (Sigma-Ald., ABD)
- Metanol (Sigma-Ald., Polonya)
- Nişasta (Sigma-Ald., Fransa)
- Polietilen glikol-4000 (Sigma-Ald., Fransa)
- Potasyum iyodür - KI (Sigma-Ald., Fransa)
- Potasyum persulfat -  $K_2S_2O_8$  (Sigma-Ald., Almanya)
- Sodyum dihidrojen fosfat -  $NaH_2PO_4$  (Sigma-Ald., Fransa)
- Sodyum hidroksit -NaOH (Merck, Almanya)
- Sodyum karbonat -  $Na_2CO_3$  (Merck, Almanya)
- Sodyum klorür - NaCl (Riedel de Haen, Almanya)
- Sülfürik asit -  $H_2SO_4$  (Sigma-Ald., Fransa)
- Toluen (Sigma-Ald., Fransa)
- Trolox (Sigma-Ald., Almanya)
- Tween-20 (Merck, Almanya)

### **3.1.1. Antimikrobiyal aktivite araştırmalarında kullanılan kimyasal madde ve mikroorganizmalar**

- Mueller Hinton Broth (Sigma- Ald., Almanya)
- Mueller Hinton Agar (Sigma- Ald., Almanya)
- Saboroud Dextrose Agar (Sigma- Ald., Almanya)
- Potatoes Dextrose Agar (Sigma- Ald., Almanya)
- R4130- RPMI 1640 medium (with glutamin and phenol red, without bicarbonate) (Sigma- Ald., Almanya)
- 3-(N-Morpholino) propanesulfonic acid (MOPS-%99.5) 250 gr/kutu (Sigma-Ald., Almanya)
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (Sigma-Ald., Almanya)
- *Escherichia coli* ATCC 8739 (Sigma-Ald., Almanya)
- *Salmonella enterica* ATCC 14028 (Sigma-Ald., Almanya)
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 (Sigma-Ald., Almanya)
- *Bacillus subtilis* ATCC 19659 (Sigma-Ald., Almanya)
- *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048 (Sigma-Ald., Almanya)
- *Candida albicans* ATCC 10231 (Sigma- Ald., Almanya)



- *Acinobacter baumannii* ATCC 19606 (Sigma- Ald., Almanya)

### 3.2. Cihaz ve Apareyler

Proje kapsamında yapılan fitokimyasal ve biyolojik aktivite araştırmalarında kullanılan cihaz ve apareylerin listesi aşağıda verilmiştir:

- CAMAG Automatic Developing Chamber 3
- CAMAG Automatic TLC Sampler 4
- CAMAG Chromatogram Immersion Device III
- CAMAG Reprostar 3
- Clevenger (EP'ne uygun)
- Çeker ocak
- ELISA mikropalak okuyucusu (Biotek Powerwave XS)
- GC/FID Agilent 6890N (SEM Ltd, İstanbul, Türkiye)
- GC/MSD sistemi, Agilent 5975 (USA; SEM Ltd., İstanbul, Türkiye)
- Hassas Terazı, Metler Toledo, NewClassic MS
- Liyofilizatör (Freeze Dryer), Labconco Freezone 6 Plus
- Manyetik karıştırıcı, İKO KS260 pH Metre, WTW series, InoLab, pH720
- pH Metre, WTW series, InoLab, pH720
- Rotavapor sistemi, Heidolph Instrument, Laborota 4010-Digital
- Santrifüj, Eppendorf, 5804
- Ultrasonik su banyosu, Elma, S100H

### 3.3. Bitkisel Materyal

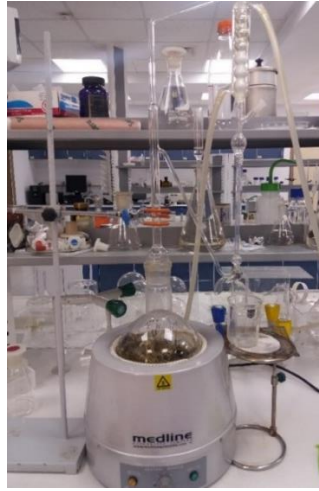
Proje materyali olarak *Tanacetum armenum* bitkisi kullanılmıştır. Bitki örneği çiçeklenme döneminde 21.05.2020 tarihinde Eskişehir Kozkayı köyü ile Sulukaraağaç köyü arasında 39°54'15''N, 30°28'51''E 1131 m lokasyonundan toplanmıştır. Bitkinin toplanması ve teşhisi Dr. Ömer Koray Yaylacı (Anadolu Üniversitesi) tarafından gerçekteştirilmiştir. Taze bitki örnekleri gölgeli ve havadar bir ortamda kurutulmuştur (Şekil 3.1.).



**Şekil 3.1.** Kurutulmuş bitkisel materyal

### 3.4. Uçucu Yağ Eldesi

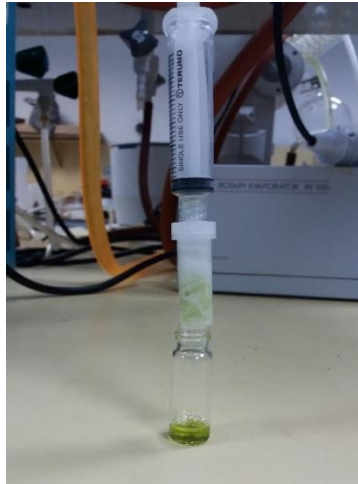
Kurumuş bitkinin toprak üstü kısımları (34.0 g, odunlaşmış sapları hariç) uygun boyuta getirildikten sonra Avrupa Farmakopesine uygun Clevenger apareyinde 3 saat boyunca hidrodistilasyon işlemine tabi tutularak uçucu yağı elde edilmiştir (Şekil 3.2.). Süre sonunda elde edilen uçucu yağ verimi kuru bitki baz üzerinden hesaplanmıştır (a/a). Uçucu yağ numunesi amber vial içinde +4°C’de buz dolabında muhafaza edilmiştir [164].



**Şekil 3.2.** Uçucu yağ eldesinde kullanılan Clevenger Apareyi

### 3.5. Sabit Yağ Asitlerinin Eldesi

Sabit yağ asitleri ekstraksiyonu kurutulmuş bitkinin çiçeklerinden gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Fatty Acid Extraction Kit kullanılmıştır [165]. Deneyde, 0,18 g çiçek tartılıp kitin içinde bulunan 3 mL çözücü içinde homojenize edilmiştir (15.000 rpm, 5 dk). Süre sonunda faz ayrımı için 1 dk bekletildikten sonra organik faz pasteur pipet ile alınmıştır. Ekstrenin üzerine 0,5 mL kitin içinde sağlanan tampon çözücü eklenmiştir. Karışım vortex ile 1 dk karıştırılmıştır. Faz ayrımı gerçekleştirildikten sonra organik faz kısmı alınarak kitin içinde bulunan kartuş katı fazından geçirilmiştir (Şekil 3.3.). Bu işlem sonunda elde edilen ekstre toplam lipitleri içermektedir. Ekstrenin içinde bulunan sabit yağ asitlerinin analizi için trans esterifikasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, elde edilen ekstreden 200 uL'lik aliquot alınarak azot gazı altında kurutulmuş ve üzerine 1 mL Boron Triflorüre (BF<sub>3</sub>) reaktifi ve 0,3 mL *n*-hegzan eklenerek geri çeviren soğutucu altında 95 °C'de 1 saat ısıtılmıştır. Süre sonunda, karışımın üzerine 1 mL saf su ve 1 mL *n*-hegzan eklenmiştir. Karışım vortex ile karıştırılmış, 1 dk bekletilmiş ve faz ayrımı gerçekleştirildikten sonra organik faz alınmıştır. Elde edilen ekstre yağ asitlerinin metil esterlerinin karışımıdır. Gaz kromatografik analizi öncesinde, karışım gaz azot altında yoğunlaştırılmıştır. Elde edilen sabit yağ asit metil esterleri amber vial içinde +4 °C'de buz dolabında muhafaza edilmiştir.



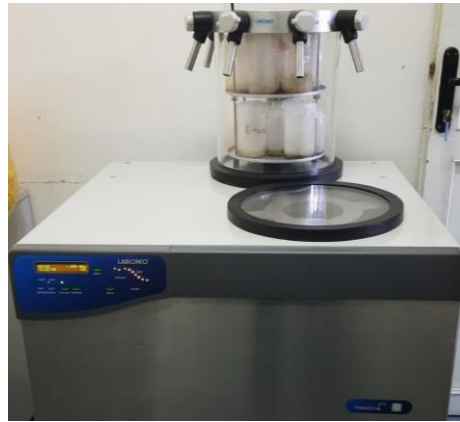
Şekil 3.3. Toplam lipitleri içeren ekstrenin katı faz kartuşundan geçirme işlemi

### 3.6. Ekstrelerin Elde Edilmesi

Bitkisel materyalden farklı polaritedeki çözücüler ile üç ekstre elde edilmiştir. Bu amaçla, kurumuş bitkinin toprak üstü kısımları (20.0 gr, odunlaşmış sapları hariç) uygun boyuta getirildikten sonra cam balonda 24 saat  $\times 2$  sırayla *n*-hegzan, metanol ve su ile masere edilmiştir. 24 saatte bir ekstreler süzülerek taze çözücü eklenmiştir. Süre sonunda 1. ve 2. gün elde edilen ekstreler birleştirilmiş ve organik çözücüler rotavaporla düşük basınç altında uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.4.). Su ile elde edilen ekstre liyofilizatörde (Şekil 3.5.) kurutulmuştur. Ekstrelerin verimleri kuru bitki baz üzerinden hesaplanmıştır. Elde edilen tüm ekstreler amber vial içinde  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de buz dolabında muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.4. Ekstrelerdeki çözücülerin rotavaporla uzaklaştırılması



Şekil 3.5. Sulu ekstrelin liyofilizatörde kurutulması (Freeze Dryer)

### 3.7. Gaz Kromatografik Analizi

Elde edilen uçucu yağın ve sabit yağ metil esterlerin kimyasal kompozisyonları, gaz kromatografik tekniği ile araştırılmıştır. Bu amaçla uçucu yağ çözeltisi *n*-hegzan içinde (%10, v/v) hazırlanmıştır. Sabit yağ asitlerinin metil esterlerinin çözeltisi analiz öncesi *n*-hegzan ile seyreltilerek analiz için hazırlanmıştır.

Uçucu yağın ve sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonları GC-FID ve GC/MS teknikleriyle aydınlatılmıştır (Şekil 3.6.). Her iki analiz için de HP-Innowax FSC kolonu (60 m × 0.25 um, 0.25 um film kalınlığı, Agilent, Walt & Jennings Scientific, Wilmington, DE, USA) ve taşıyıcı gaz olarak helyum gazı kullanılmıştır. Fırın 60 °C’de 10 dakika kaldıktan sonra 220 °C’ye dakikada 4 °C ile çıkıp, 220 °C’de 10 dakika kalıp, 240 °C’ye dakikada 1 °C ile çıkmak üzere programlanmıştır. Split oranı 40:1 olarak seçilmiştir. Alev iyonlaşma detektörü ve enjektör 250 °C’de tutulmuştur. Kütle spektrumu 70 eV, kütle menzili 35-450 m/z seçilmiştir [166].

### 3.8. Uçucu Bileşiklerin Teşhisi

Maddelerin tanımlanmasında tutunma zamanları ve kütle spektrumları standartlara ve literatür bilgilerine paralel olarak değerlendirilmiştir. Wiley GC/MS Library (Wiley, New York, NY, USA) ([http-3](http://3)), MassFinder software 4.0 (Dr. Hochmuth Scientific Consulting, Hamburg) [167], Adams Library [168] ve Başer Library of Essential Oil Constituents [169] kaynak olarak kullanılmıştır. Madde miktarların belirlenmesinde alev iyonlaşma dedektöründen (FID) elde edilen piklerin yüzde alanları kullanılmıştır.



Şekil 3.6. GC-MS ve GC-FID sistemi

### 3.9. Sıvı Kromatografisi Analizi (LC-MS/MS)

Elde edilen ekstreler %10 olacak şekilde metanollü ekstre metanolde, sulu ekstre suda çözülerek analiz için hazırlanmıştır. Sıvı kromatografik analizi aşağıda belirtilen şartlarda gerçekleştirilmiştir.

Sistem : Shimadzu 20A HPLC - ABSciex 3200 Q trap MS/MS (Şekil 3.7.)

Metod : Negatif İyonlaşma Metodu

Kolon : GL Science Intersil ODS 4.6 × 250, 5 µm

Kolon Sıcaklığı : 40°C

Hareketli Faz : (A) Su: Asetonitril: Formik asit (89:10:1)

(B) Asetonitril: Su: Formik asit (89:10:1)

Akış Hızı : 0.5 mL/dk

B çözücüsünün konsantrasyonu %10'dan başlanarak 40 dk.'da %100 olacak şekilde gradient olarak ayarlanmıştır [170].



Şekil 3.7. Shimadzu 20A HPLC - ABSciex 3200 Q trap MS/MS

### 3.10. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Biyolojik aktivite deneyleri için test edilecek numunelerin çözeltileri %10 DMSO içeren metanolde aşağıdaki gibi hazırlanmıştır.

- Uçucu yağ (30 mg/mL)
- *n*-hegzan, metanol ve sulu ekstreler (10 mg/mL).

Çözeltiler santrifüjde 5 dk 5.000 rpm santrifüj edilmiştir.

### 3.10.1. Antioksidan aktivite testleri

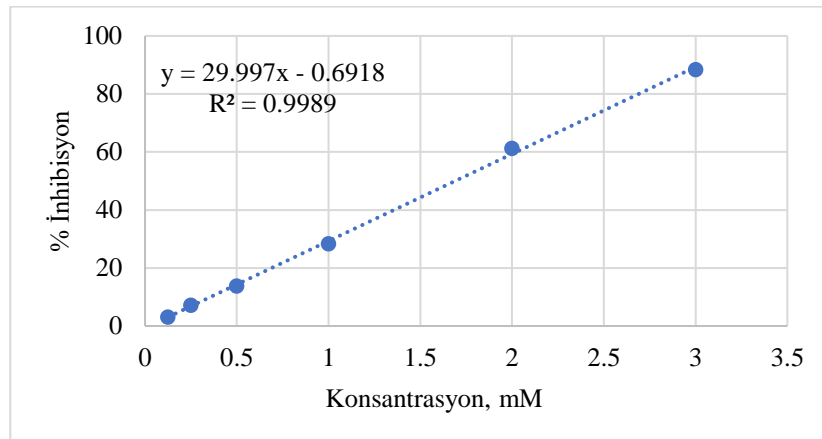
#### 3.10.1.1. Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) değerlendirilmesi

Elde edilen ekstrelerin Troloxa eşdeğer antioksidan kapasite değerlendirilmesi daha önce rapor edilmiş yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir [146]. Deney öncesi ABTS aktif reaktifi taze olarak hazırlanmıştır. Bu amaçla ABTS ve potasyum persülfat sulu ortamda, oda sıcaklığında, karanlıkta 16 saat bekletilmiştir. Süre sonunda aktif hale gelen ABTS<sup>•+</sup> aliyotu absölu etanol ile seyreltilmiştir. Deneyde, 96-derin kuyucuklu plakın kuyucuklarına 10 uL numune (uçucu yağ/ekstre/Trolox) çözeltisi ve üzerine 990 uL ABTS çözeltisi eklenerek 30 dk oda sıcaklığında karanlık ortamda inkübe edilmiştir. Süre sonunda, 12-kanallı otomatik pipetör (Eppendorf) ile alınan 300 uL numune 96-kuyucuklu mikropalak'a aktarılmıştır ve absorbans değerleri 734 nm'de ölçülmüştür. Trolox için kalibrasyon eğrisi çizilerek linear doğru denklemi elde edilmiştir. Bu denklem kullanılarak numunelerin 30 dk sonunda gösterdiği Troloksa eşdeğer antioksidan kapasiteleri hesaplanmıştır. İnhibisyon yüzde değerleri aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Inh} = \frac{Abs_{kontrol} - Abs_{numune}}{Abs_{kontrol}} \times 100 \quad (3.1)$$

Burada,  $Abs_{kontrol}$  ve  $Abs_{numune}$  kontrol ve numunelerin 734 nm'de ölçülen absorbans değerleridir.

Trolox için elde edilen kalibrasyon eğrisi ve doğru denklemi Şekil 3.8'de gösterilmiştir.



Şekil 3.8. Trolox kalibrasyon eğrisi

#### *Reaktiflerin Hazırlanması:*

- 1) ABTS reaktifi: 36 mg (7 mM) ABTS ve 6,6 mg (2,5 mM) potasyum persülfat ( $K_2S_2O_8$ ) tartılarak 10 mL suda çözülmüştür. Reaktifin aktif hale gelmesi için 16 saat boyunca karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda bu stok çözeltilerden 1 mL alınarak spektrofotometrede absorbansı 0.700-0.800 arasına gelene kadar absöü etanol ile seyreltilmiştir.
- 2) Trolox çözeltisi: Standart antioksidan olarak Trolox çözeltileri (3,0; 2,0; 1,0; 0,5; 0,25; 0,125 mM) absöü etanolde hazırlanmıştır.

#### **3.10.1.2. Serbest radikal süpürücü etki (DPPH testi)**

*T. armenum* uçucu yağ ve ekstrelerin serbest radikal süpürücü etkileri, spektrofotometrik yöntemle *in vitro* şartlarda tayin edilmiştir. Bu amaçla, taze hazırlanmış 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil stabil serbest radikali çözeltisi kullanılmıştır [171]. Deneyde, 96-kuyucuklu plak kuyusuna 100 uL numune (uçucu yağ/ekstre/standart antioksidan) 8-kanallı pipetör (Eppendorf Plus) kullanılarak aktarılmıştır. Üzerine 100 uL DPPH çözeltisi eklenmiştir. Deneyde dilüsyon tekniği kullanılmıştır. Standart antioksidan olarak gallik asit çözeltisi kullanılmıştır. Karışım yarım saat karanlıkta inkübe edilmiştir. Süre sonunda mikropalak okuyucuda 517 nm'de absorbans değerleri ölçülerek numunelerin serbest radikal süpürücü etkileri tayin edilmiştir. % İnhibisyon değerleri % 50'nin üzerinde olan numuneler için  $IC_{50}$  değerleri *SigmaPlot* programında hesaplanmıştır.

#### *Reaktiflerin Hazırlanması:*

- 1) DPPH çözeltisi: 2 mg 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) tartılıp 25 mL metanolde çözümlüp karanlık ortamda muhafaza edilmiştir.
- 2) Gallik asit çözeltisi: 0.1 mg/mL olarak metanolde hazırlanmıştır.

#### **3.10.1.3. $\beta$ -Karoten soldurma yöntemi**

Uçucu yağ ve ekstrelerin toplam antioksidan aktivitesi lipit peroksidasyonunu inhibe etme etkisine göre tespit edilmiştir. Bu amaçla  $\beta$ -karoten soldurma yöntemi kullanılmıştır [172, 173]. Deneyde, 96-kuyucuklu plak kuyusuna 60 uL numune (ekstre/uçucu yağ/BHA) otomatik pipetör (Eppendorf) kullanılarak konulmuştur. Numune çözeltisi için dilüsyon tekniği uygulanmıştır. Tüm karışımların üzerine 250 uL emülsiyon çözeltisi eklenmiştir. Emülsiyon çözeltisi kullanılmadan önce iyice çalkalanmıştır. Mikropalak okuyucu 50°C'de 0. dakikadan başlamak üzere 1 saat 45 dk



boyunca her 15 dakikada bir 492 nm dalga boyunda ölçüm alacak şekilde programlanmıştır. Sonuçlar aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır [149].

$$\%AA = \left[ 1 - \frac{(Abs_{0\ numune} - Abs_{105\ numune})}{(Abs_{0\ kontrol} - Abs_{105\ kontrol})} \right] \times 100 \quad (3.2)$$

Burada,  $Abs_{0\ numune}$  ve  $Abs_{105\ numune}$  0. ve 105. dakikada numune için ölçülen absorbans değerleridir.  $Abs_{0\ kontrol}$  ve  $Abs_{105\ kontrol}$  0. ve 105. dakikada kontrol için ölçülen absorbans değerleridir.

*Reaktiflerin Hazırlanması:*

- 1)  $\beta$ -Karoten Çözeltisi: 1 mg  $\beta$ -karoten tartılıp 1mL kloroformda çözülmüştür (1 mg/mL). Karışım amber renkli cam şişede hazırlanmış ve karanlık ortamda muhafaza edilmiştir.
- 2) Emülsiyon Çözeltisi: 200 mg Tween 20 ve 25 uL linoleik asit cam kabın içinde karıştırılmış ve üzerine önceden hazırlanmış  $\beta$ -karoten çözeltisi (1 mL) eklenmiştir. Cam kap alüminyum folyoyla sarılmış ve kloroform azot gazı altında uzaklaştırılmıştır. Kloroform tamamen uçuktan sonra karışımın üzerine 50 mL distile su eklenip iyice çalkalanmıştır.
- 3) BHA Çözeltisi: 0,2 mg BHA tartılıp 1 mL suda çözülmüştür (0,2 mg/mL).

#### **3.10.1.4. Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) testi**

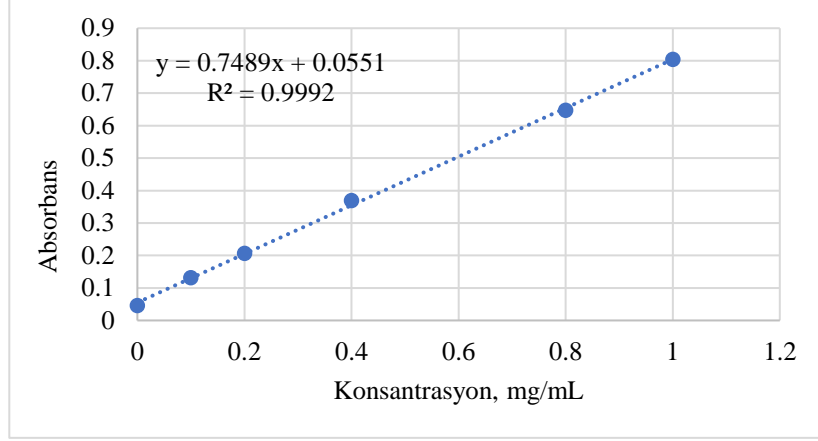
Uçucu yağ ve ekstraların toplam antioksidan aktivitesi peroksit radikallerinin flöresan probunun flöresan özelliğini söndürmesi prensibine göre test edilmiştir. Bu amaçla flöresan prob olarak fluoresein, serbest radikal üreticisi olarak 2,2,-azobis(2-metilpropinamidin) dihidroklorür (AAPH) ve standart olarak Trolox kullanılmıştır. 96-kuyucuklu plak kuyusuna 25 uL numune (uçucu yağ/ekstre/trolox) ve 150 uL 4 nM fluoresein konulmuş ve karanlık ortamda 30 dk boyunca  $37^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edilmiştir. Süre sonunda 25 uL 225 nM AAPH reaktifi ilave edilip plaktaki çözeltiler 10 sn süreyle çalkalanmıştır. Mikroplak okuyucu  $37^{\circ}\text{C}$ 'de 0. dakikadan başlamak üzere 180 dk boyunca her dakikada bir 485 nm dalga boyunda uyarılıp 535 nm dalga boyunda yayılım yapacak şekilde programlanmıştır (kinetik ölçüm). Deney sonunda her numune için eğri altında kalan alan hesaplanarak bu alandan kontrolün alanı çıkarılmış ve Net AUC hesaplanmıştır. Trolox'a ait Net AUC ve Konsantrasyon linear grafiği çizilmiş ve Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasite hesaplanmıştır [151].

#### *Reaktiflerin Hazırlanması:*

- 1)  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$  tamponu: 10,82 g disodyum hidrojen fosfat ve 3,33 g sodyum hidrojen fosfat tartılıp 800 mL ultra saf suda çözülmüştür. pH 7,4 olacak şekilde HCl ve NaOH çözeltileri kullanılarak ayarlanmıştır. Daha sonra çözelti ultra saf su ile 1 L'ye tamamlanmıştır (0,075 M, pH 7,4).
- 2) Fluoresein: 15 mg fluoresein tartılıp 10 mL tampon çözeltisinde çözünerek stok çözeltisi hazırlanmıştır. Stok çözelti karanlık ortamda ve 4 °C'de muhafaza edilmiştir. Stok çözeltiden alınan 50 uL floresein 50 mL tampon ile 1000 kat seyreltilmiştir (4 nM). Stok çözeltiden hazırlanan çözelti günlük taze olarak hazırlanmıştır.
- 3) AAPH radikali: 203,4 mg 2,2,-azobis(2-metilpropinamidin) dihidroklorür tartılıp 3,33 mL fosfat tamponunda çözülmüştür (225 mM).
- 4) Numune: Numune çözeltileri %10 DMSO içeren tampon çözeltide aşağıdaki gibi hazırlanmıştır: ekstre ve uçucu yağ (10 mg/mL, 1 mg/mL, 0,1 mg/mL), Trolox çözeltisi (200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 0 uM).

#### **3.10.1.5. Toplam fenol miktar tayini**

*T. armenum* ekstrelerindeki toplam fenol miktar tayini için Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak spektrofotometrik yöntem uygulanmıştır [153, 173]. Toplam fenol miktarı gallik asit'e eşdeğer olarak mg cinsinden hesaplanmıştır. Deneyde, 96-derin kuyucuklu plak kuyucuğuna 12 kanallı otomatik pipetörle (Eppendorf) sırayla 20 uL numune (ekstre/gallik asit), 1560 uL saf su, 100 uL Folin-Ciocalteu reaktifi ve 300 uL sodyum karbonat çözeltisi aktararak karıştırılmıştır. Karışım karanlıkta 2 saat süre ile inkübe edilmiştir. Süre sonunda karışımdan 300 uL alınarak 96-kuyucuklu mikropalak'a aktarılmıştır. Absorbans değerleri plak okuyucuda 760 nm'de ölçülmüştür. Gallik asit kalibrasyon eğrisi üzerinden ekstredeki toplam fenol miktarı hesaplanmıştır (Şekil 3.9.).



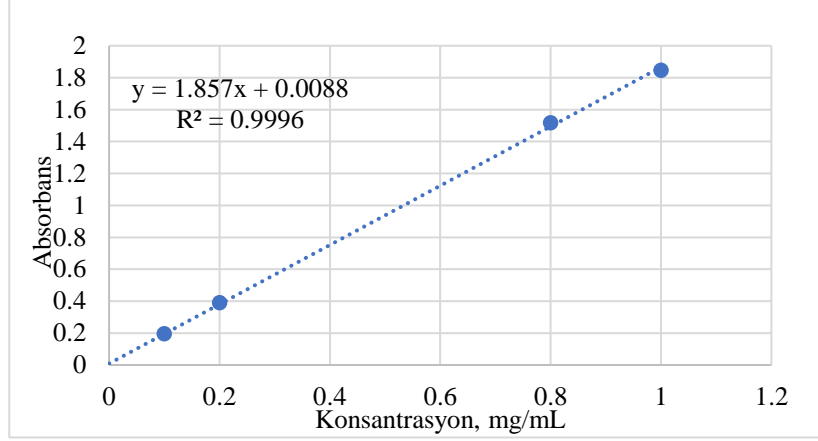
**Şekil 3.9.** Gallik asit kalibrasyon eğrisi

#### *Reaktiflerin Hazırlanması:*

- 1) Gallik asit çözeltisi: 1 mg/mL gallik asit çözeltisi metanolde hazırlanarak 0.8, 0.6, 0.4, 0.2 ve 0.1 mg/mL oranlarında seyreltilmiştir.
- 2) Sodyum karbonat çözeltisi: 20 mg sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) tartılarak 100 mL suda çözülmüştür.

#### **3.10.1.6. Toplam flavonoit miktar tayini**

*T. armenum* ekstrelerindeki toplam flavonoit miktar tayini  $\text{AlCl}_3$  reaktifi kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile tayin edilmiştir. Flavonoit miktarı mg kersetin'e eşdeğer olarak hesaplanmıştır [173, 174]. Deneyde, 96-derin kuyucuklu plak kuyucuğuna 12-kanallı otomatik pipetörle (Eppendorf) sırayla 80 uL numune (ekstre/kersetin), 80 uL  $\text{AlCl}_3$  ve 1840 uL absö etanol eklenmiştir. Blank olarak kullanılacak numunelerin üzerine  $\text{AlCl}_3$  yerine 10 uL asetik asit (% 99,8) eklenmiştir. Karışım karıştırıldıktan sonra karanlıkta 40 dk süre ile inkübe edilmiştir. Süre sonunda karışımdan 300 uL alınarak 96-kuyucuklu mikropalak'a aktarılmıştır. Absorbans değerleri plak okuyucuda 415 nm'de ölçülmüştür. Kersetin kalibrasyon eğrisi üzerinden ekstredeki toplam flavonoit miktarı hesaplanmıştır (Şekil 3.10.).



**Şekil 3.10.** Kersetin kalibrasyon eğrisi

#### Reaktiflerin Hazırlanması:

- 1) Alüminyum klorür çözeltisi: 2 g madde tartılıp 100 mL suda çözülmüştür.
- 2) Asetik asit çözeltisi: 15 mL asetik asit üzerine distile su eklenerek 100 mL'ye tamamlanmıştır (%15 v/v).
- 3) Kersetin çözeltisi: Kersetin 1 mg/mL konsantrasyonda metanolde hazırlanarak 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1 mg/ mL konsantrasyonlarına seyreltilmiştir.

### 3.10.2. Antidiyabetik aktivite testi

#### 3.10.2.1. $\alpha$ -Amilaz inhibisyon testi

Ekstre ve uçucu yağın  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyonu  $I_2/KI$  reaktifi kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile tayin edilmiştir [175]. Deneyde, 96-kuyucuklu plak kuyusuna 50 uL numune (ekstre/uçucu yağ/akarboz) otomatik pipetör (Eppendorf) kullanılarak konulmuştur. Deneyde dilüsyon tekniği uygulanmıştır. 96-kuyucuklu plak kuyusuna 50 uL enzim çözeltisi eklenmiştir. Her numune için ayrıca blank olarak kullanılacak kuyusuna 50 uL tampon çözeltisi eklenmiştir. Karışım, karanlıkta  $37^\circ C$ 'de 10 dk süre ile inkübe edilmiştir. Süre sonunda tüm karışımların üzerine 50 uL nişasta çözeltisi eklenmiştir. Karışım, karanlıkta  $37^\circ C$ 'de 10 dk süre ile inkübe edilmiştir. Süre sonunda tüm karışımların üzerine sırasıyla 25 uL HCl çözeltisi ve 100 uL  $I_2/KI$  reaktifi eklenmiştir. Absorbans değerleri plak okuyucuda 630 nm'de ölçülmüştür.

$$\% Inh = \left[ \frac{(Abs_{0 kontrol} - Abs_{kontrol blank}) - (Abs_{numune} - Abs_{numune blank})}{(Abs_{kontrol} - Abs_{kontrol blank})} \right] \times 100 \quad (3.3)$$

Burada, *Abs numune* ve *Absnumune blank* numune ve numunenin “blanki” için ölçülen absorbans değerleridir. *Abs kontrol* ve *Abskontrol blank* kontrol ve kontrol “blanki” için ölçülen absorbans değerleridir.

#### *Reaktiflerin Hazırlanması*

- 1) Nişasta Çözeltisi: 20 mg nişasta tartılıp 40 mL distile suda çözünmüştür. Karışım 10 dk boyunca, 100 °C’de ısıtıcı plakada kaynatılmıştır.
- 2) Tampon Çözeltisi: 0,185 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O ve 0,150 g Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O 80 mL distile suda çözünmüştür. Sodyum hidroksit ve potasyum hidroksit ile pH’ı 6.9 olarak ayarlanmıştır. Bu amaçla pH metre kullanılmıştır.
- 3) Enzim Çözeltisi: 1.23 mg α-amilaz enzimi tartılmış ve daha önce hazırlanmış olan tampon çözeltisi ile 20 mL’ye tamamlanmıştır.
- 4) Akarboz Çözeltisi: 0.001 g akarboz tartılıp 1 mL distile suda çözülmüştür (1mg/mL).
- 5) İyot Çözeltisi: 0.5 g I ve 1,5 g KI tartılarak amber renkli cam kavanozda 50 mL distile su ile karıştırılmıştır. Çözünmenin tam olması için 30 dk otomatik karıştırıcıda karıştırılmıştır.
- 6) Hidroklorik asit Çözeltisi: 12.5 mL distile su behere aktarılmış ve üzerine 4.1 mL derişik HCl damla damla eklenmiştir. Karışım balon jöjeye aktarılıp distile su ile 50 mL’ye tamamlanmıştır.

### **3.11. HPTLC-Biyootografik Analiz**

*T. armenum* bitkisinden elde edilen uçucu yağ ve ekstrelerin (hegzan/metanol/su) antioksidan aktivitesini DPPH reaktifi ile HPTLC tekniği kullanarak incelenmiştir. Bu amaçla uçucu yağ ve hegzanlı ekstre hegzanda, sulu ve metanollü ekstre metanolde çözülmüştür. Kromatografik ayırım için silika jel HPTLC plağı (10×10 cm) kullanılmıştır. Kromatografik ayırım için uygulanan şartlar ve kullanılan reaktifler hakkındaki bilgiler Tablo 3.1.’de açıklanmıştır [176] (http-4) (http-5).

Deneyin birinci basamağında uçucu yağ ve ekstrelerin ayırımını sağlayacak uygun hareketli fazlar seçilmiştir. Numunelerde bulunan maddelerin ayırımını gözlemleyebilme amacıyla uçucu yağ ve hegzanlı ekstreler için belirteç olarak anisaldehit reaktifi ve UV ışığı kullanılmıştır. Polar ekstrelerdeki ayrılan maddelerin belirlenmesi için UV ışık ve NPR-PEG reaktifleri kullanılmıştır.

Deneyin ikinci basamağında numunelerin plak üzerinde ayırımını sağlandıktan sonra antioksidan aktivitesi DPPH reaktifi kullanılarak tespit edilmiştir. Bu uygulama

sonunda plak yüzeyi mor renkli olurken, antioksidan aktif olan spotlar sarı renk vermiştir. Aktif olarak tespit edilen spotlar işaretlenerek Rf değerleri saptanmıştır.

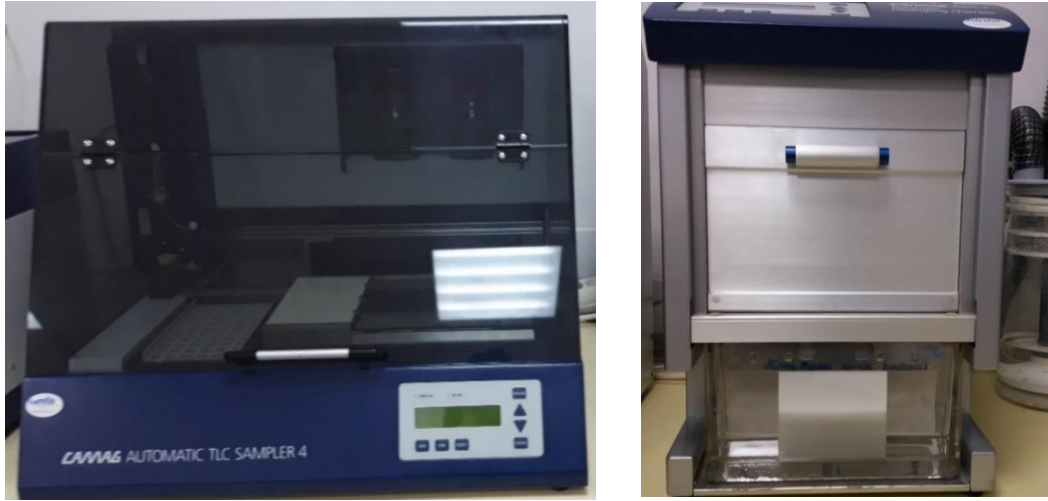
Deneyin üçüncü basamağında numuneler plak üzerine şerit olarak uygulanmış ve ayırım aynı şartlarda gerçekleştirilmiştir. Bir önceki deneyde tespit edilen Rf değerlerine göre aktif maddelerin şeritleri işaretlendi ve spatula ile kazınmıştır. Tüm aktif spotlar ayrı ayrı fraksiyon olarak 5 mL'lik Eppendorf tüplerine toplanmış ve uygun çözücüyle re-ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla fraksiyonlar ayrı ayrı pasteur pipetlere (ucu pamukla dolgulu) yüklenerek metanol ile elüe edilmiştir. Elde edilen elüatlar azot gazı altında yoğunlaştırılıp GC-FID/MS (uçucu yağ ve hegzanlı ekstreden elde edilen fraksiyonlar) ve LC-MS/MS (polar ekstrelerden elde edilen fraksiyonlar) teknikleri ile analiz edilmiştir [177].

**Tablo 3.1.** *T. armenum* uçucu yağ ve ekstreleri için uygulanan HPTLC analiz şartları

İşlem	Detaylar	Sistem
Numune hazırlama:	Uçucu yağ, hegzanlı ekstre (10 mg/mL) hegzaında hazırlanmıştır	
	Polar ekstreler metanolde çözülmüştür (10mg/mL)	
Hareketsiz Faz:	HPTLC Silica gel 60 F <sub>254</sub> , 10×10 cm	Merck
Hareketli Faz:	Uçucu yağ ve hegzanlı ekstre için Faz A kullanılmıştır: toluen: etil asetat (95:5)	
	Polar ekstreler için Faz B kullanılmıştır: etil asetat: formik asit: asetik asit: su (100:11:11:26)	
Numune Uygulama:	5 uL bant olarak (7 mm) 20 uL şerit olarak (90 mm)	CAMAG Automathic TLC Sampler 4 (Şekil 3.11.)
Yürütme:	70 mm	CAMAG Automathic Developing Chamber 3 (Şekil 3.11.)
Kurutma:	Havada	
Spotların Belirlenmesi:	Hız: 5 Süre: 1 sn Tank: 20×10 cm	CAMAG Chromatogram Immersion Device III (Şekil 3.12.)
Belirteç:	Uçucu yağ ve hegzanlı ekstre için anisaldehit reaktifi Polar ekstreler için UV ışığı (254, 366 nm) ve NPR reaktifi	CAMAG Reprstar 3 (Şekil 3.12.)

### *Reaktiflerin Hazırlanışı*

- 1) Anisaldehit reaktifi: anisaldehit (0.5 mL) glasiyel asetik asit ile (10 mL) karıştırılarak 85 mL metanol ve 5 mL der. sülfürik asit ile hazırlanmıştır. Belirteç uygulandıktan sonra plak 5 dk 100-105°C de ısıtılmıştır. Oluşan renkler UV ve beyaz ışık altında incelenmiştir.
- 2) NPR reaktifi: difenilborik asit- $\alpha$ -etilaminoester 1 g 100 mL metanolde çözüldü. NPR belirteci uygulandıktan sonra plak 100-105°C de ısıtılmıştır ve PEG reaktifi uygulanmıştır. Oluşan renkler UV (254, 366 nm) ve beyaz ışık altında incelenmiştir.
- 3) PEG reaktifi: polietilen glikol-4000 5 g 100 mL etanolde çözülmüştür. Belirteç uygulandıktan sonra plak 5 dk 100-105°C de ısıtılmıştır. Oluşan renkler UV ve beyaz ışık altında incelenmiştir.
- 4) DPPH reaktifi: 0.05 g 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil 100 mL metanolde çözülmüştür. Karanlıkta muhafaza edilmiştir. Reaktif plak üzerine uygulandıktan sonra plak 15-30 dk karanlıkta inkübe edilmiştir. Süre sonunda plak beyaz ışık altında incelenmiştir [176].



**Şekil 3.11.** CAMAG Automathic TLC Sampler 4 ve CAMAG Automathic Developing Chamber 3



Şekil 3.12. CAMAG Reprostar 3 ve CAMAG Chromatogram Immersion Device III

### 3.12. Antimikrobiyal Aktivite Araştırması

#### 3.12.1. Antibakteriyal ve antikandidal etkilerin test edilmesi

Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI veya eski adıyla NCCLS) tarafından yayınlanan aerobik mikroorganizmalar için kullanılan mikrodilüsyon tekniği (M-100-S16) ve funguslar için kullanılan mikrodilüsyon tekniği (M-27-A2) protokollerinde bazı değişiklikler yapılmak suretiyle değerlendirilmiştir [178-180].

Standart kültür suşları antimikrobiyal etki testlerinde kullanılıncaya kadar -85°C de saklanmıştır. Kültürler canlandırılmak üzere, içinde Mueller Hinton Agar MHA, Potato Dextrose Agar (PDA) veya Sabroused Dextrose Agar (SDA) bulunan petrilere ekilmiştir ve 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda besiyeri üzerinde gelişen tekli kolonilerden alınarak Mueller Hinton Broth (MHB) bulunan tüplere aktarılıp (*Candida* türleri için RPMI besi ortamı) tekrar 37°C de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. 18-24 saatlik inkübasyondan sonra sıvı besiyerinde gelişen kültürler, McFarland No: 0.5 (bakteriler için yaklaşık  $10^8$  cfu/mL, maya kültürü için  $10^6$  cfu/mL) tüpüne göre bulanıklık ayarı turbidometre kullanılarak yapılmıştır.

Deneyde 96 "U" tipi mikroplak (Brand) kuyucuklarına ekim yapılmıştır. Bu işlemlerden sonra mikroplak kapakları kapatılarak 35-37°C de 16-20 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda kuyucuklarda üremenin varlığının belirlenebilmesi için plaklar üzerine bir miktar tetrazolyum klorür (TTC) tuzunun çözeltisinden eklenmiştir. Daha sonra renklenme için 37°C de 3 saat daha inkübasyona



bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda renklenmeyen alanlar üremenin olmadığı konsantrasyonlar olarak belirlenmiştir.

Bu çalışma kapsamında ekstreler çeşitli Gram (+), Gram (-) bakteriler ve *Candida* suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite değerlendirilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Uçucu Yağ Özellikleri

*T. armenum* bitkisinin toprak üstü kısımlarının hidrodistilasyon işlemi sonucunda keskin kokulu, sarımtırak renkli uçucu yağ elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağ amber renkli cam kaba konularak +4°C’de muhafaza edilmiştir. Soğuk ortamda yağ numunesi kısmen kristalize hale gelmiştir.

#### 4.1.1. Uçucu yağ verimi

Kuru bitkisel materyalden (34 g) distilasyon sonucunda 0,196 g uçucu yağ elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağ verimi kuru bitki baz üzerinden %0,58 olarak hesaplanmıştır.

### 4.2. Ekstrelerin Özellikleri

*T. armenum* topraküstü kısmından farklı polaritelerdeki çözücülerle elde edilen ekstreler dönen buharlaştırıcı ve liyofilizatörde kurutulup amber renkli Eppendorf tüplerinde muhafaza edilmiştir. Hegzanlı ekstre keskin kokulu ve sarı-yeşil rengindedir, metanollü ekstre ise yapışkan karakterli ve koyu yeşil renklidir. Liyofilizatörde kurutulan sulu ekstre higroskopik sarı-bej renkli toz şeklinde elde edilmiştir. Numuneler +4°C’de fitokimyasal ve biyolojik aktivite deneyleri öncesi muhafaza edilmiştir.

#### 4.2.1. Ekstrelerin verimi

Kurumuş bitkinin toprak üstü kısımlarını *n*-hegzan, metanol ve su ile maserasyonu sonunda elde edilen ekstrelerin verimi kuru bitki baz üzerinden % (a/a) hesaplanmıştır. Ekstre verim bilgileri Tablo 4.1.’de gösterilmiştir.

**Tablo 4.1.** Farklı çözücülerle hazırlanan ekstrelerin verimleri

Ekstre Türü	Ekstre Miktarı, g	Verim, %
TAHE	0.95	4.53
TAME	0.24	21.19
TASE	2.47	12.37

\*TAHE:*T. armenum* hegzanlı ekstresi; TAME: *T. armenum* metanollü ekstresi; TASE: *T. armenum* sulu ekstresi

### 4.3. Fitokimyasal Araştırmaların Sonuçları

#### 4.3.1. Uçucu yağ kimyasal kompozisyonu

*T. armenum* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın kimyasal kompozisyonu gaz kromatografi tekniği ile incelenmiştir. Bileşenlerin kalitatif analizinde GC/MS, kantitatif analizinde ise GC-FID sonuçları kullanılmıştır. Uçucu yağda tespit edilen bileşenler ve eser miktardaki (e) bileşenler Tablo 4.2.'de gösterilmiştir. Uçucu bileşiklerin sıralaması HP-Innowax kapiler kolondan çıkış zamanına göre listelenmiştir.

**Tablo 4.2.** *T. armenum* uçucu yağının kimyasal kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%
1	1014	Trisiklen	e
2	1032	$\alpha$ -Pinen	e
3	1035	$\alpha$ -Tuyen	e
4	1076	Kamfen	3.5
5	1118	$\beta$ -Pinen	e
6	1132	Sabinen	e
7	1188	$\alpha$ -Terpinen	e
8	1195	Dehidro-1,8-Sineol (=1,3,3-Trimetil-2-oksabisiklo[2.2.2]okt-5-en)	e
9	1213	1,8-Sineol	2.5
10	1229	izo-Krizantenon	e
11	1244	Amil furan (2-Pentil furan)	e
12	1255	$\gamma$ -Terpinen	e
13	1280	<i>p</i> -Simen	e
14	1285	İzoamil izovalerat	e
15	1286	2-Metilbutil 2-metilbuterat	e
16	1290	Terpinolen	e
17	1299	2-Metilbutil İzovalerat	e
18	1440	$\alpha$ , <i>p</i> -Dimetilsitren ( <i>p</i> -Simenen)	e
19	1445	Filifolon (=4,7,7-Trimetil-bisiklo (3.2.0) hept-3-en-6-on)	e
20	1465	Ökarvon	e
21	1474	Kamfenilon	e
22	1487	İzoneroloksit I	e
23	1497	$\alpha$ -Kopaen	e

RRI: relativ tutunma indisi; e: eser; % miktarları FID dedektör verilerine göre verilmiştir

**Tablo 4.2. (devam)** *T. armenum* uçucu yağının kimyasal kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%
24	1505	Dihidroedulan II	e
25	1525	Krizantenon	0.4
26	1532	Kafur	48.3
27	1553	Linalol	0.2
28	1547	Dihidroahillen	e
29	1571	0.14% <i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol	0.4
30	1580	<i>cis</i> -Krizantenil asetat	e
31	1586	Pinokarvon	e
32	1590	Bornil asetat	1.6
33	1612	$\beta$ -Karyofillen	0.1
34	1614	Terpinen-4-ol	0.4
35	1651	Bornil izobutirat	e
36	1655	Safranal (=2,6,6-Trimetil-1,3-siklohegzadien-1-karboksaldehid)	0.2
37	1680	$\delta$ -Terpineol (= <i>p</i> -1(7)- <i>Menthen</i> -8-ol)	e
38	1688	Selina-4,11-dien (=4,11-Ödesmadin)	0.2
39	1706	$\alpha$ -Terpineol	0.6
40	1719	Borneol	13.6
41	1751	Karvon	0.2
42	1773	$\delta$ -Kadinen	0.2
43	1764	<i>cis</i> -Krizantenol	0.4
44	1747	<i>trans</i> -Karvil asetat	e
45	1792	$\alpha$ -Agarofuran	0.5
46	1798	Kamfolen alkol	2.2
47	1805	$\alpha$ -Kamfolen alkol	e
48	1845	<i>trans</i> -Karveol	e
49	1882	<i>cis</i> -Karveol	0.3
50	1941	$\alpha$ -Kalakoren-I	e
51	1958	(E)- $\beta$ - İnonon	e
52	1969	<i>cis</i> -Jasmon	e
53	1984	$\alpha$ -Kalakoren-II	e
54	2008	Karyofillen oksit	1.2
55	2056	13-Tetradekanolit	0.3
56	2074	Karyofilla-2(12),6(13)-dien-5-on	e

RRI: relativ tutunma indisi; e: eser; % miktarları FID dedektör verilerine göre verilmiştir

**Tablo 4.2. (devam)** *T. armenum* uçucu yağının kimyasal kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%
57	2088	1- <i>epi</i> -Kubenol	e
58	2096	Elemol	0.2
59	2073	<i>p</i> -Menta-1,4-dien-7-ol	e
60	2131	Hekzahidro-farnesilaseton	e
61	2144	Rozifoliol	0.6
62	2162	Muurola-4,10(14)-dien-1-ol	0.2
63	2183	$\gamma$ -Dekalakton	e
64	2185	$\gamma$ -Ödesmol	13.5
65	2198	Eremoligenol	1.4
66	2207	$\alpha$ -Guaiol	0.4
67	2250	$\alpha$ -Ödesmol	e
68	2257	$\beta$ -Ödesmol	2.4
69	2298	Dekanoik asit	e
70	2300	Trikozan	e
71	2357	14-Hidihroksi- $\beta$ -karyofilen	0.2
72	2324	Karyofilladienol-II	0.3
73	2670	Tetradekanoik asit (=Miristik asit)	e
74	2931	Hekzadekanoik acid (=Palmitik asit)	1.4
<b>Toplam</b>			<b>97.9</b>

RRI: relativ tutunma indisi; e: eser; % miktarları FID dedektör verilerine göre verilmiştir

*T. armenum* uçucu yağındaki majör bileşen grupları hidrokarbon ve oksijenli monoterpen ve seskiterpen olarak sınıflandırılmıştır. Uçucu yağdaki ana bileşiklerin dağılımı Tablo 4.3.'te gösterilmiştir.

**Tablo 4.3.** *T. armenum* uçucu yağındaki majör grupların dağılımı

Grup	%
Hidrokarbon Monoterpenler	3.5
Okijenli Monoterpenler	71.5
Hidrokarbon Seskiterpenler	0.3
Oksijenli Seskiterpenler	21.2
Diğer	3.5

### 4.3.2. Sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonu

*T. armenum* çiçeklerinden, Fatty Acid Extraction Kit kullanılarak elde edilen metillenmiş sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonu GC-FID ve GC/MS teknikleriyle aydınlatılmıştır. Yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonu Tablo 4.4.'te gösterilmiştir. Bileşiklerin sıralaması HP-Innowax kapiler kolondan çıkış zamanına göre listelenmiştir.

**Tablo 4.4.** *T. armenum* sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%
1	2018	Metil tetradekanoat (= Metil miristat)	2.5
2	2223	Metil hegzadekanoat (=Metil palmitat)	43.8
3	2255	Trikozan	4.6
4	2436	Metil oktadekanoat (=Metil stearat)	7.1
5	2468	Metil (Z,Z)-9,12-oktadekadienoat (=Metil linoleat)	10.9
6	2497	Metil nonadekanoat	18.3
7	2572	Metil (Z,Z,Z)-9,12,15-oktadekatrienoat (=Metil linolenat)	4.9
8	2634	Metil eikosanoat (=Metil araşidat)	7.8
<b>Toplam</b>			<b>99.9</b>

RRI: relativ tutunma indisi; e: eser; % miktarları FID dedektör verilerine göre verilmiştir

### 4.3.3. Ekstrelerin kimyasal kompozisyonu

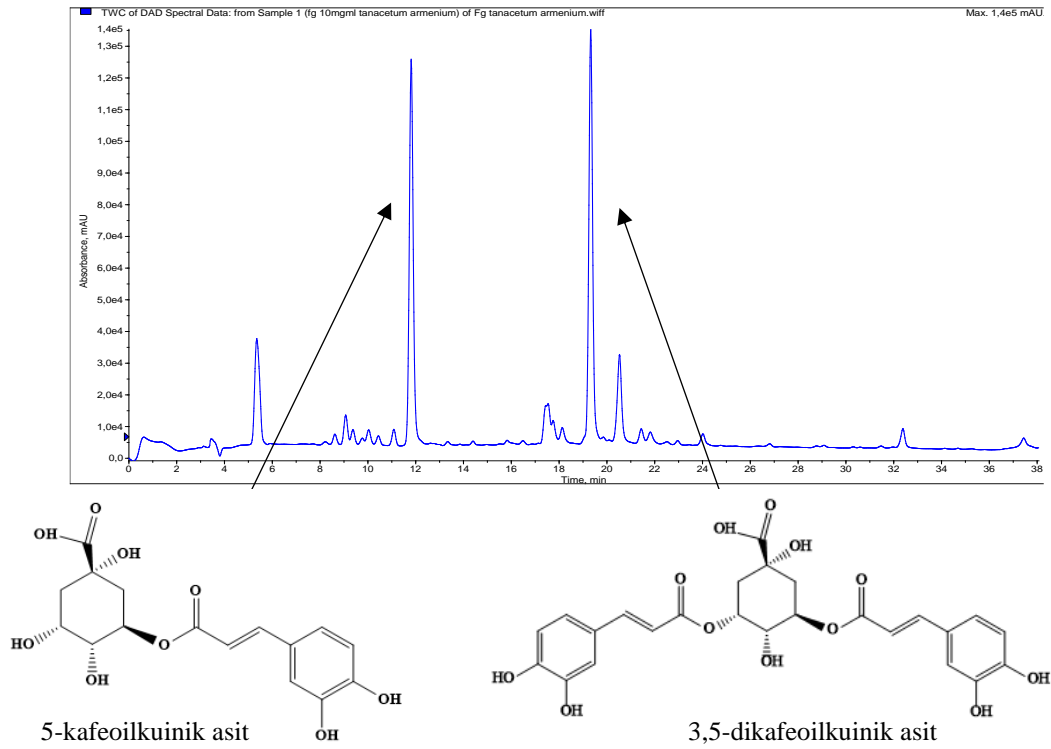
*T. armenum* toprak üstü kısmı farklı polariteli çözücülerle ekstre edilip kimyasal profilleri LC-MS/MS tekniği ile araştırılmıştır. Ekstrelerin kromatografik profilleri birbirilerine benzer olup ana bileşikler olarak 3,5-dikafeoilkuinik asit, luteolin glukozit ve 5- kafeoilkuinik asit tespit edilmiştir. Metanollü ekstrenin kimyasal kompozisyonu Tablo 4.5.'te, ana bileşenlerin profili Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.5.** *T. armenum* metanollü ekstresinin kimyasal kompozisyonu

Rt	[M-H]	Parçalanma	Tanımlama	Kaynak
3.2	341	179, 161	Kafeoil glukoz	[159]
3.5	191	173, 127	Kinik asit	[159]
8.4	315	153, 121	Protokateşik asit heksozit	[159]
9.1	177	133	Dihidroksi kumarin benzeri	

**Tablo 4.5. (devam)** *T. armenum* metanollü ekstresinin kimyasal kompozisyonu

9.5	339	177, 133	Dihidroksi kumarin glukozit benzeri	
10.1	515	353, 323	Bilinmeyen Dikafeoilkinik asit	[159]
12.0	353	191,179	5-Kafeoilkinik asit	[159]
17.8	463	301, 271,151	Kersetin glukozit	[159]
19.3	515	353, 335, 191, 179	3,5-Dikafeoilkinik asit	[159]
20.6	447	284, 133	Luteolin glukozit	[159]
32.5	359	344, 329, 314, 300, 286	Sentaureidin, Jaceidin benzeri	



**Şekil 4.1.** *Metanollü ekstrenin LC-MS kromatogramı*

#### 4.4. Biyolojik Aktivite Sonuçları

##### 4.4.1. Antioksidan aktivite bulguları

###### 4.4.1.1. Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) değerleri

*T. armenum* uçucu yağ ve ekstrelerinin antioksidan aktivitesi serbest ABTS radikalini süpürme kapasitesine göre spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir. Numunelerin antioksidan etkileri Trolox'un ABTS radikalini süpürme kapasitesi ile

karşılaştırılarak saptanmıştır. Numunelerin Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasiteleri Tablo 4.6.'te verilmiştir.

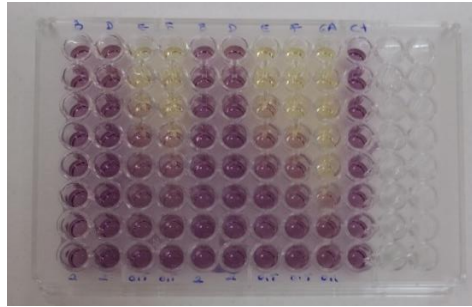
**Tablo 4.6.** *Tanacetum armenum* uçucu yağ ve ekstralarının Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasite değerleri

Numune	TEAK (mM)
TAUY	0.07±0.01
TAHE	0.29±0.03
TAME	1.32±0.09
TASE	1.67±0.06

\*TAUY: *T. armenum* uçucu yağı; TAHE: *T. armenum* hegzanlı ekstresi; TAME: *T. armenum* metanollü ekstresi; TASE: *T. armenum* sulu ekstresi; \*Tüm numuneler 2 mg/mL konsantrasyonundadır.

#### 4.4.1.2. Serbest radikal süpürücü etki (DPPH testi) değerleri

*T. armenum* uçucu yağ ve ekstralarının DPPH serbest radikalini süpürme etkileri spektrofotometrik metotla analiz edilmiştir. Standart madde olarak gallik asit kullanılmıştır, yağ ve ekstraların inhibisyon değerleri kullanılarak ve SigmaPlot programında IC<sub>50</sub> değerleri hesaplanmıştır. Deney sonunda numunelerin ve standart maddenin renk değişimi Şekil 4.2.'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.2.** *Tanacetum armenum* uçucu yağ ve ekstralarının DPPH serbest radikal süpürme etkisi

Uçucu yağ ve ekstraların % inhibisyon değerleri hesaplandıktan sonra % 50'den fazla inhibisyon etkisine sahip olan numuneler için dilüsyon tekniği kullanılarak % 50 inhibisyon sağlayan minimum konsantrasyon değerleri tespit edilmiştir. Yüzde inhibisyon değerleri ve konsantrasyon bilgileri kullanılarak SigmaPlot programı desteği ile IC<sub>50</sub> değerleri hesaplanmıştır (Tablo 4.7.).



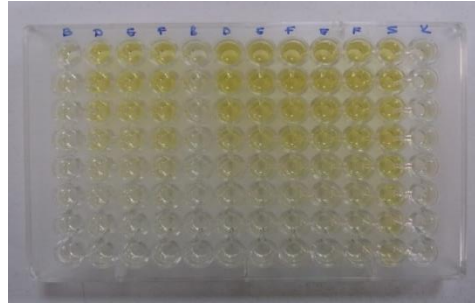
**Tablo 4.7.** *T. armenum* uçucu yağ ve ekstralarının DPPH testinde gösterdikleri IC<sub>50</sub> ve % İnhibisyon değerleri

Numune	IC <sub>50</sub> , mg/mL	İnh., %
TAUY	>2	12.48
TAHE	>2	13.40
TAME	0.10±0.01	-
TASE	0.06±0.005	-
GA	0.003±0.00	-

\*TAUY: *T. armenum* uçucu yağı; TAHE: *T. armenum* hegzanlı ekstresi; TAME: *T. armenum* metanollü ekstresi; TASE: *T. armenum* sulu ekstresi; \*IC<sub>50</sub> %50 inhibisyon gösteren konsantrasyon; %İnh. 2 mg/mL’de görülen % inhibisyon değeridir.

#### 4.4.1.3. $\beta$ -Karoten soldurma etkisi

*T. armenum* uçucu yağ ve ekstralarının  $\beta$ -karoten /linoleik asit oksidasyonunu inhibe etme kapasitesi  $\beta$ -karoten’in renginin solma derecesine göre tespit edilmiştir. Standart madde olarak BHA kullanılmıştır, yağ ve ekstraların inhibisyon değerleri kullanılarak ve SigmaPlot programında IC<sub>50</sub> değerleri hesaplanmıştır. Deney sonunda  $\beta$ -karoten’in rengindeki gözlemlenen değişim Şekil 4.3.’te gösterilmiştir



**Şekil 4.3.**  $\beta$ -Karoten rengindeki değişim

Uçucu yağ ve ekstraların % inhibisyon değerleri hesaplandıktan sonra %50’den fazla inhibisyon etkisine sahip olan numuneler için mikrodilüsyon tekniği kullanılarak lipit peroksidasyonu yarıya indiren numunelerin konsantrasyonları tespit edilmiştir. Daha sonra *SigmaPlot* programı kullanılarak IC<sub>50</sub> değerleri hesaplanmıştır (Tablo 4.8.).

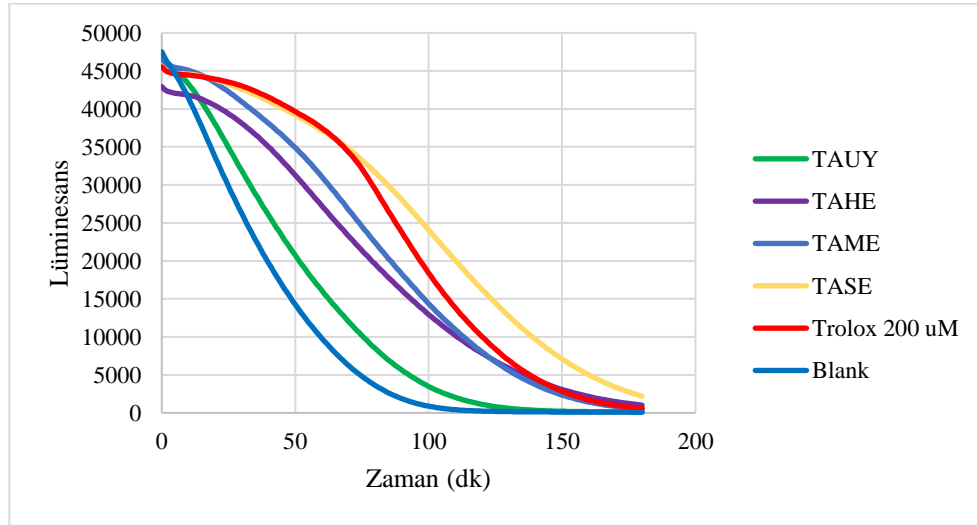
**Tablo 4.8.** *T. armenum* uçucu yağ ve ekstralarının  $\beta$ -karoten soldurma testinde inhibisyon değerleri

Numune	IC <sub>50</sub> , mg/mL	İnh., %
TAUY	>5.0	8.08
TAHE	>5.0	22.72
TAME	0.42±0.04	-
TASE	0.28±0.03	-
BHA	0,002±0.00	-

\*TAUY: *T. armenum* uçucu yağı; TAHE: *T. armenum* hegzanlı ekstresi; TAME: *T. armenum* metanollü ekstresi; TASE: *T. armenum* sulu ekstresi; IC<sub>50</sub>: %50 inhibisyon gösteren konsantrasyon; %İnh.: 5 mg/mL de görülen % inhibisyon değeri.

#### 4.4.1.4. Oksijen radikali absorban kapasitesi (ORAC) değerleri

*T. armenum* uçucu yağ ve ekstralarının oksijen radikali absorban kapasitesi fluoresein rengindeki solma derecesine göre tespit edilmiştir. *T. armenum* uçucu yağ ve ekstralarında fluoresein bileşiminin lüminesans değerlerinin zamana karşı değişimi Şekil 4.4.'te verilmiştir.



**Şekil 4.4.** *T. armenum* uçucu yağ, ekstralarının ve Trolox'un fluoresein'in floresans solmasını geciktirmesi

Standart madde olarak Trolox kullanılmış ve numunelerin antioksidan kapasiteleri Trolox'a eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Numunelerin Trolox'a eşdeğer ORAC değerleri Tablo 4.9. Verilmiştir.

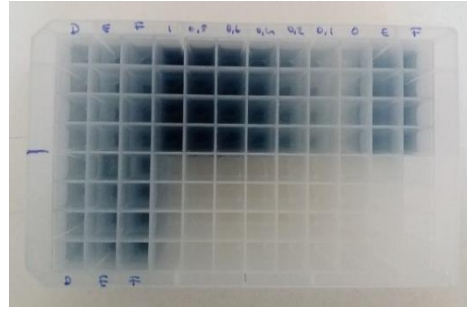
**Tablo 4.9.** *T. armenum* uçucu yağ ve ekstralarının Trolox'a eşdeğer ORAC değerleri

Numune	ORAC, TEuM
TAUY	31.24±3.58
TAHE	148.99±8.94
TAME	164.41±7.60
TASE	221.10±9.24

TAUY: *T. armenum* uçucu yağı; TAHE: *T. armenum* hegzanlı ekstresi; TAME: *T. armenum* metanollü ekstresi; TASE: *T. armenum* sulu ekstresi; \* Uçucu yağ ve hegzanlı Ekstre 1 mg/mL, Metanollü ve sulu ekstrede ise 0.1 mg/mL'lidir.

#### 4.4.1.5. Toplam fenol miktarı verileri

*T. armenum* ekstralarında toplam fenol miktarları Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak spektrofotometrik teknikle analiz edilmiştir. Standart madde olarak gallik asit kullanılmış ve numunelerin antioksidan kapasiteleri gallik asite eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Numunelerin Folin-Ciocalteu reaktifiyle verdikleri renk değişimi Şekil 4.5.'te gösterilmiştir. Ekstrelerin toplam fenol miktarı gallik asite eşdeğer olarak tablo 4.10.'da verilmiştir.



**Şekil 4.5.** *T. armenum* ekstralarının Folin-Ciocalteu reaktifiyle gösterdiği renk değişimi

**Tablo 4.10.** *T. armenum* ekstralarının gallik asite eşdeğer toplam fenol miktarı

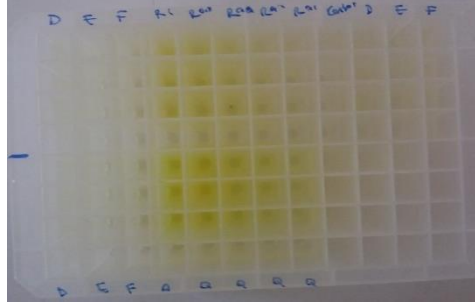
Numune	GAEmg/gekstre
TAHE	14.53±0.66
TAME	111.16±3.35
TASE	149.37±6.05

\*TAHE: *T. armenum* hegzanlı ekstresi; TAME: *T. armenum* metanollü ekstresi; TASE: *T. armenum* sulu ekstresi; \*GAE: mg/g Gallik asite eşdeğer olan fenol miktarı.

#### 4.4.1.6. Toplam flavonoid miktarı verileri

*T. armenum* ekstralarının içerdiği toplam flavonoid miktarları  $AlCl_3$  reaktifi ile spektrofotometrik teknikle analiz edilmiştir. Standart madde olarak kersetin kullanılmış ve numunelerin içerdikleri toplam flavonoid miktarı kersetine eşdeğer olarak

hesaplanmıştır. Numunelerin  $AlCl_3$  reaktifi ile girdiği tepkime sonucunda ortaya çıkan renk değişimleri Şekil 4.6.'da gösterilmiştir. Ekstrelerin içerdiği toplam flavonoit miktarı kersetin'e eşdeğer olarak Tablo 4.11'da verilmiştir.



Şekil 4.6. *T. armenum* ekstralarının  $AlCl_3$  reaktifi ile tepkime sonucunda ortaya çıkan renk değişimleri

Tablo 4.11. *T. armenum* ekstralarının kersetine eşdeğer toplam flavonoit miktarları

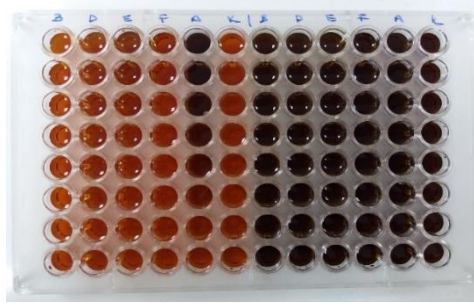
Numune	KEmg/g ekstre
TAHE	5.86±0.20
TAME	19.41±0.96
TASE	23.06±0.60

\*TAHE: *T. armenum* hegzanlı ekstresi; TAME: *T. armenum* metanollü ekstresi; TASE: *T. armenum* sulu ekstresi; \*KE: mg/g Kersetine eşdeğer flavonoit miktarı.

#### 4.4.2. Antidiyabetik aktivite bulguları

##### 4.4.2.1. $\alpha$ -Amilaz inhibisyon verileri

*T. armenum* uçucu yağ ve ekstralarının  $\alpha$ -amilaz enzimini inhibe etme kapasitesi, enzimin nişasta üzerindeki hidroliz etme özelliğine göre tespit edilmiştir. Bu tepkime sonucunu tespit etmek için kromojenik ajan olarak  $I_2+KI$  reaktifi uygulanmıştır. Standart antidiyabetik etkili madde olarak akarboz kullanılmıştır. Deney sonunda görülen renk değişimleri Şekil 4.7.'de gösterilmiştir. Uçucu yağ ve ekstraların  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyon değerleri Tablo 4.12.'de verilmiştir.



Şekil 4.7. *T. armenum* uçucu yağ ve ekstralarının  $\alpha$ -amilaz enzimi üzerindeki etkileri

Tablo 4.12. *T. armenum* uçucu yağ ve ekstralarının  $\alpha$ -amilaz enzimi üzerinde gösterdikleri % inhibisyon değerleri

Numune	İnh*., %
TAUY	19.39±0.19
TAHE	33.84±1,10
TAME	33.92±2,38
TASE	10.67±2,58
Akarboz	93.71±1.15

TAUY: *T. armenum* uçucu yağı; TAHE: *T. armenum* hegzanlı ekstresi; TAME: *T. armenum* metanollü ekstresi; TASE: *T. armenum* sulu ekstresi; \*%İnh. değerler 5 mg/mL'lik çözeltiler için saptanmıştır.

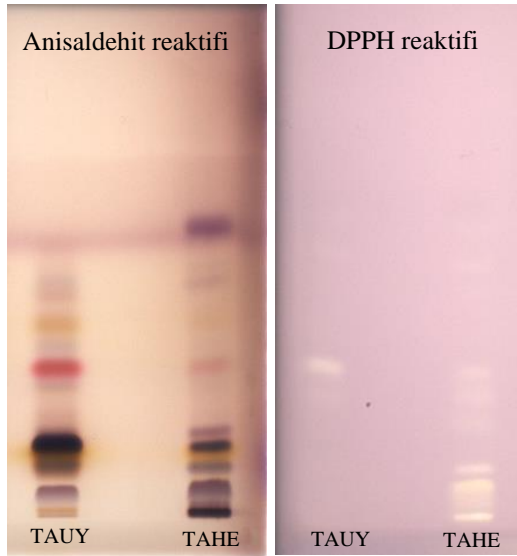
#### 4.5. HPTLC-Biyootografik Analiz Verileri

Araştırma kapsamında *T. armenum* bitkisinden elde edilen uçucu yağ ve ekstraların biyootografik olarak antioksidan aktivitesinin incelenmesi hedeflenmiştir. Bu doğrultuda uçucu yağ ve ekstralara farklı hareketli fazlarda ayrımları değerlendirilmiştir. İnce tabaka kromatografik deneylerde ekstralar ve uçucu yağ için aşağıdaki hareketli fazlar test edilmiştir:

- Etil asetat: metanol: asetik asit (3/1/1)
- Formik asit: su: etil asetat (10/5/85)
- Metanol: kloroform: hegzan (7/2/1)
- Sülfürik asit: etil alkol (1/9)
- Etil asetat: metanol: su (100/13.5/10)
- Etil asetat: formik asit: asetik asit: su (100/11/11/26)
- Toluen: etil asetat (95/5)

Polar ekstreler için en iyi ayrımı sağlayan mobil faz olarak Etil asetat: Formik asit: Asetik asit: Su (100/11/11/26) karışımı seçilmiştir. Uçucu yağ ve hegzanlı ekstre için en uygun hareketli faz olarak Toluen: Etil asetat (95/5) karışımı uygun bulunmuştur.

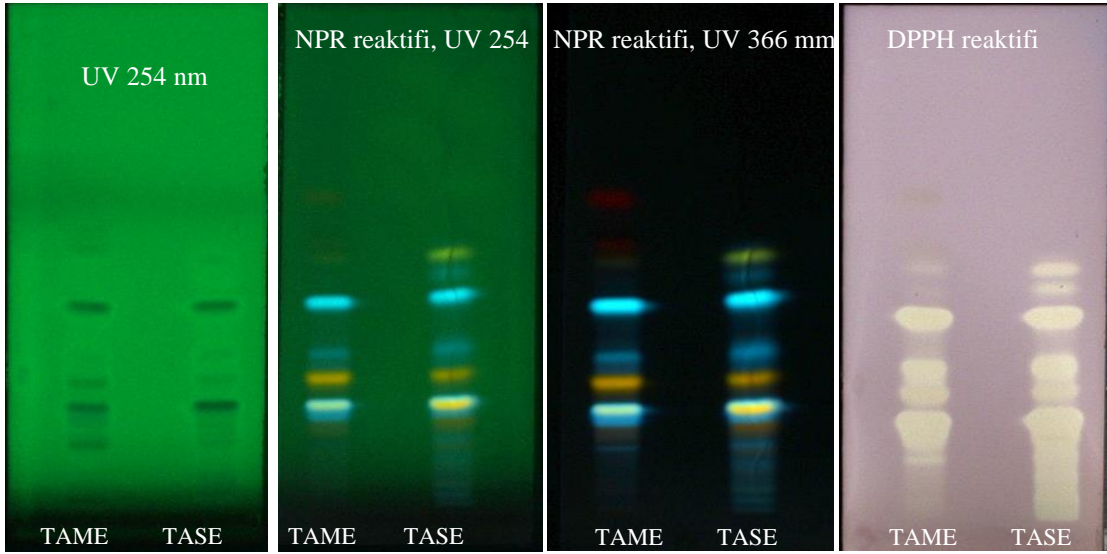
Uçucu yağ ve ekstrelerin ayrımını sağlayacak uygun hareketli fazlar seçildikten sonra numunelerde bulunan maddelerin ayrımını gözlemleyebilme amacıyla uçucu yağ ve hegzanlı ekstre anisaldehit reaktifine daldırıldıktan sonra, 5 dk 100-105°C de ısıtılmıştır ve gözlemlenen renk değişimi beyaz ışık altında incelenmiş ve kaydedilmiştir. Aynı uygulama tekrarlanmış ve plak DPPH reaktifine daldırılmıştır. DPPH reaktifi ile antioksidan aktif maddelerin verdiği sarı spotların pozisyonları işaretlenmiştir (Şekil 4.8.).



**Şekil 4.8.** Uçucu yağın ve hegzanlı ekstreinin (TAUY ve TAHE) anisaldehit ve DPPH reaktiflerine daldırıldıktan sonra gösterdikleri renk değişimleri

Uçucu yağ ve hegzanlı ekstrede toplam üç spot DPPH reaktifine karşı aktivite göstermiştir (spotların rengi sarı olmuştur). Spotlar GC/MS analizinde kütle spektrum bilgilerine göre 1,8-sineol, kafur, ve borneol olarak tanımlanmıştır.

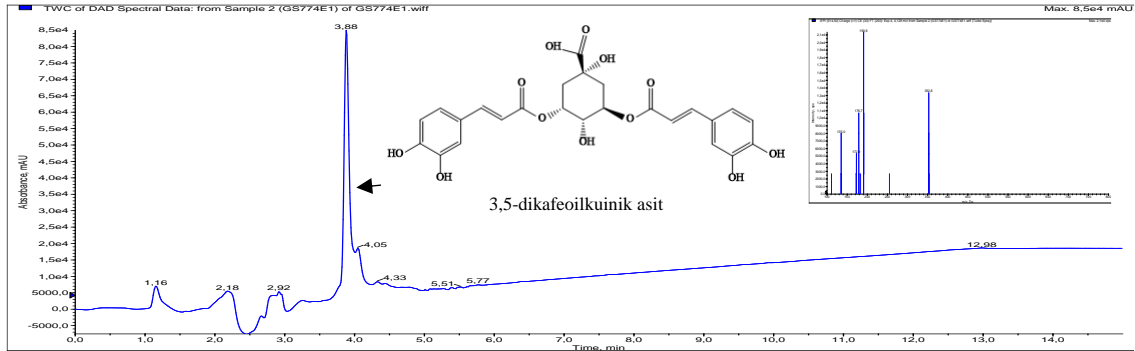
Metanollü ekstre ve sulu ekstrede ayrılan maddelerin belirlenmesi için plak NPR belirtecine daldırılıp, 5 dk 100-105°C de ısıtılmıştır ve ardından PEG çözeltilisine daldırılmıştır. Oluşan renkler UV 254 ve 366 nm altında incelenmiştir. Aynı uygulama tekrarlanmış ve plak DPPH reaktifine daldırılmıştır. DPPH reaktifi ile antioksidan aktif maddelerin verdiği sarı spotların pozisyonları işaretlenmiştir (Şekil 4.9.).



**Şekil 4.9.** Metanollü ve sulu ekstrelerin (TAME ve TASE) NPR-PEG ve DPPH reaktiflerine daldırıldıktan sonra gösterdiği renk değişimleri

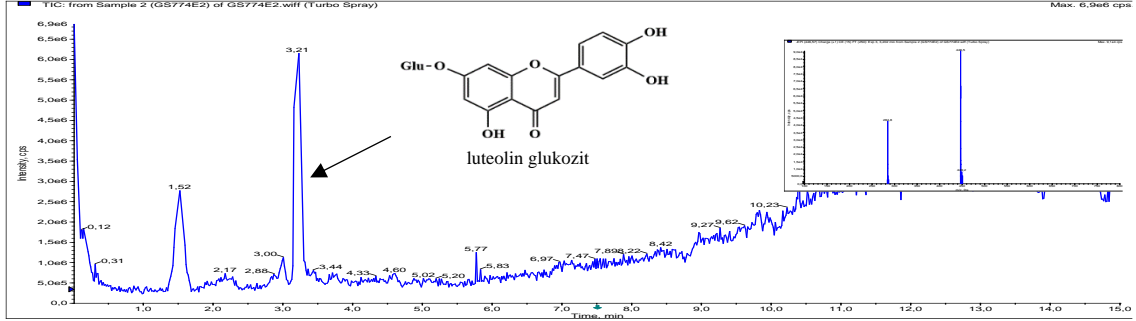
Rf değerleri tespit edildikten sonra numuneler plak üzerine şerit olarak uygulanmış ve aktif maddeler spatula ile kazınmıştır. Kazınan maddeler uygun çözücüyle re-ekstraksiyon edilmiş ve fraksiyonlar yoğunlaştırılıp GC-FID/MS ve LC-MS/MS sistemlerinde analiz edilmiştir. Analiz sonuçları aşağıdaki kromatogramlarda gösterilmiştir.

Metanollü ekstrede toplam 5 spot DPPH reaktifine karşı aktivite göstermiştir (spotların rengi sarı olmuştur). Spot №1 LC-MS/MS analizinde tek pik göstermiş olup kütle spektrum bilgilerine göre 3,5-dikafeoilkuinik asit olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.10.).



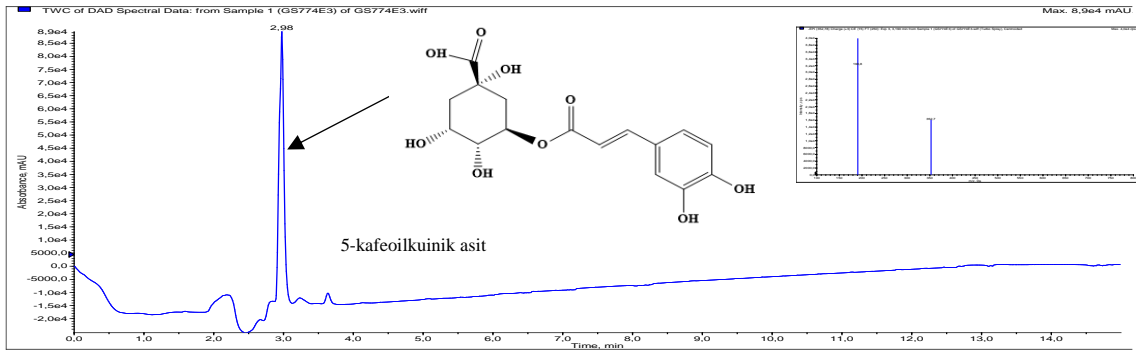
**Şekil 4.10.** TAME'den biyootografik yöntemle izole edilen 3,5-dikafeoilkuinik asit kromatogramı ve spektrumu

Spot №2 LC-MS/MS analizinde tek pik göstermiş olup kütle spektrum bilgilerine göre luteolin glukozit olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.11.).



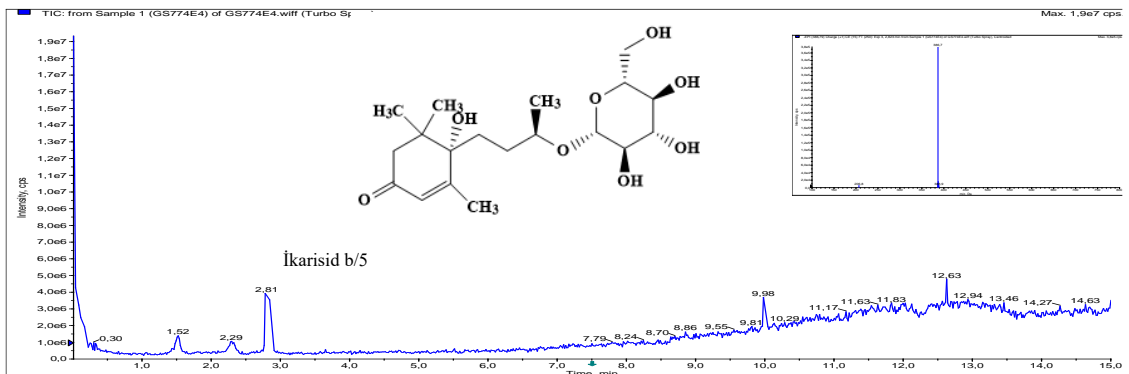
Şekil 4.11. TAME'den biyootografik yöntemle izole edilen luteolin glukozit kromatogramı ve spektrumu

Spot №3 LC-MS/MS analizinde tek pik göstermiş olup kütle spektrum bilgilerine göre 5-kafeoilkuinik asit olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.12.).



Şekil 4.12. TAME'den biyootografik yöntemle izole edilen 5-kafeoilkuinik asit kromatogramı ve spektrumu

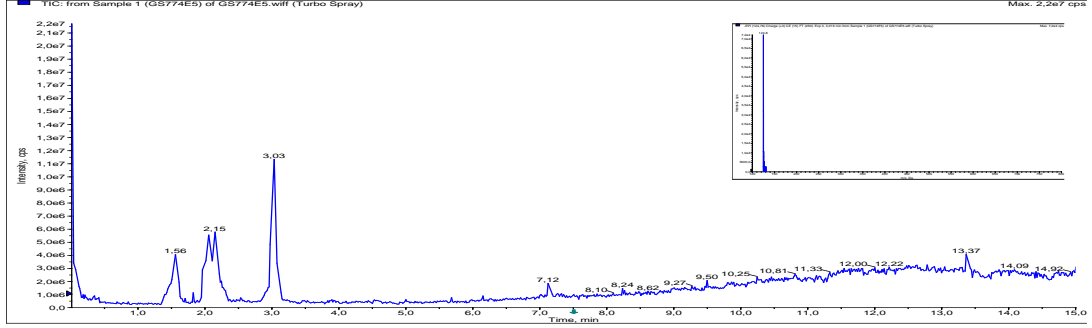
Spot №4 LC-MS/MS analizinde tek pik göstermiş olup kütle spektrum bilgilerine göre ikarisid b/5 asit olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.13.).



Şekil 4.13. TAME'den biyootografik yöntemle izole edilen ikarisid b/5 kromatogramı ve spektrumu

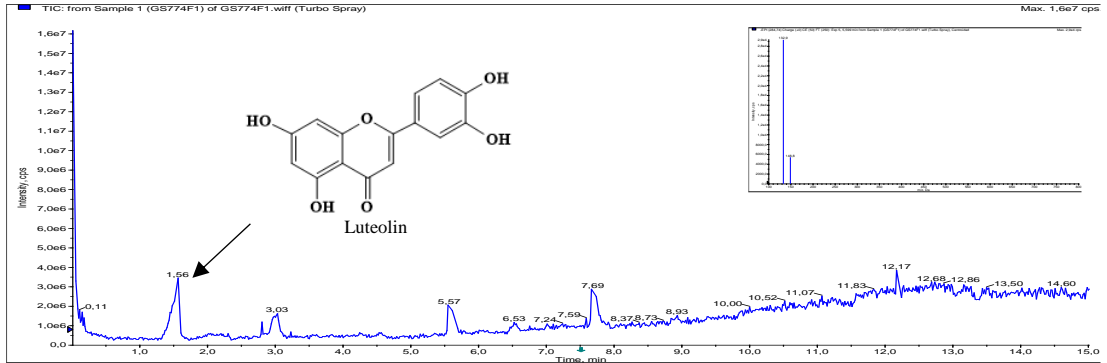


Spot №5 LC-MS/MS analizinde kütle spektrum bilgilerine göre pirogallol benzeri madde olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.14.).



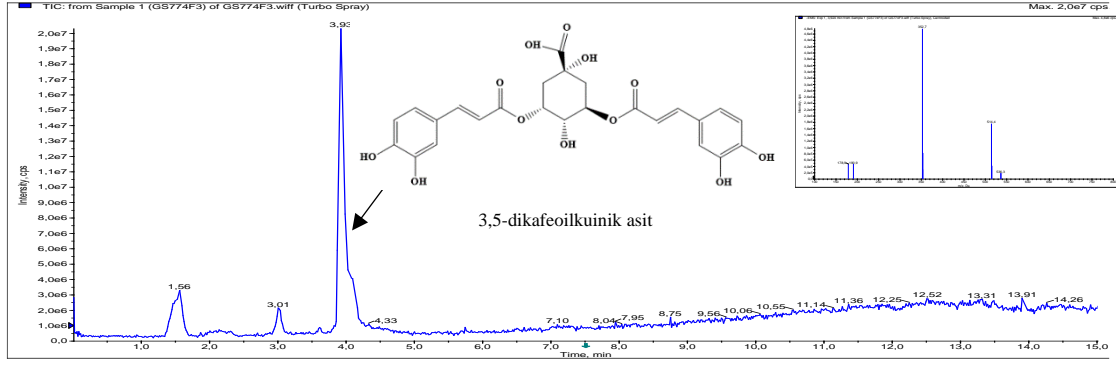
Şekil 4.14. TAME'den biyotografik yöntemle izole edilen pirogallol benzeri madde kromatogramı ve spektrumu

Sulu ekstrede toplam 7 spot DPPH reaktifine karşı aktivite göstermiştir (spotların rengi sarı olmuştur). Spot №1 LC-MS/MS analizinde kütle spektrum bilgilerine göre luteolin olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.15.).



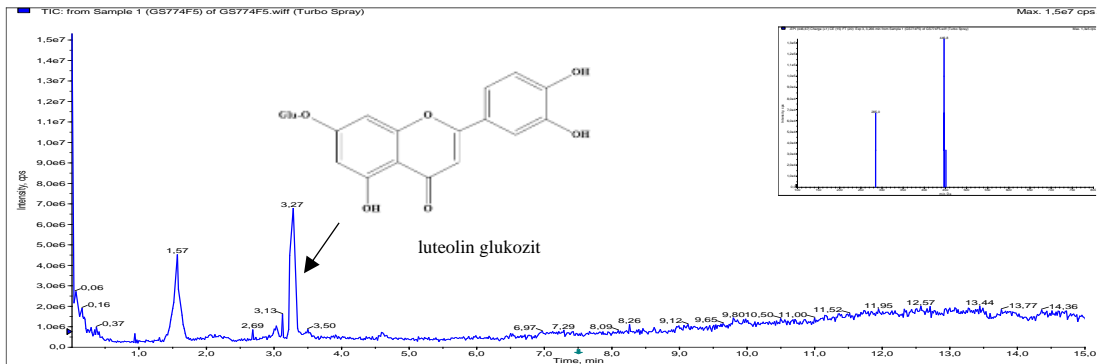
Şekil 4.15. TASE'den biyotografik yöntemle izole edilen luteolin kromatogramı ve spektrumu

Spot №3 LC-MS/MS analizinde tek pik göstermiş olup kütle spektrum bilgilerine göre 3,5-dikafeoilkuinik asit olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.16.).



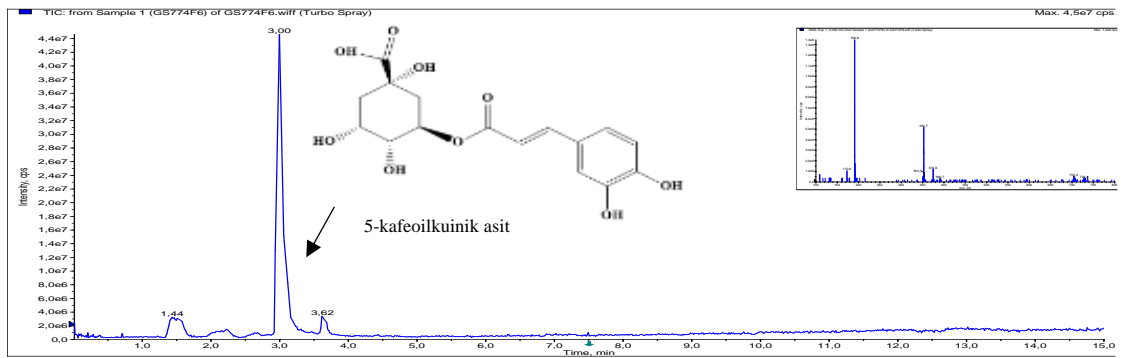
Şekil 4.16. TASE'den biyotografik yöntemle izole edilen 3,5-dikafeoilkuinik asit kromatogramı ve spektrumu

Spot №5 LC-MS/MS analizinde tek pik göstermiş olup kütle spektrum bilgilerine göre luteolin glukozit olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.17.).



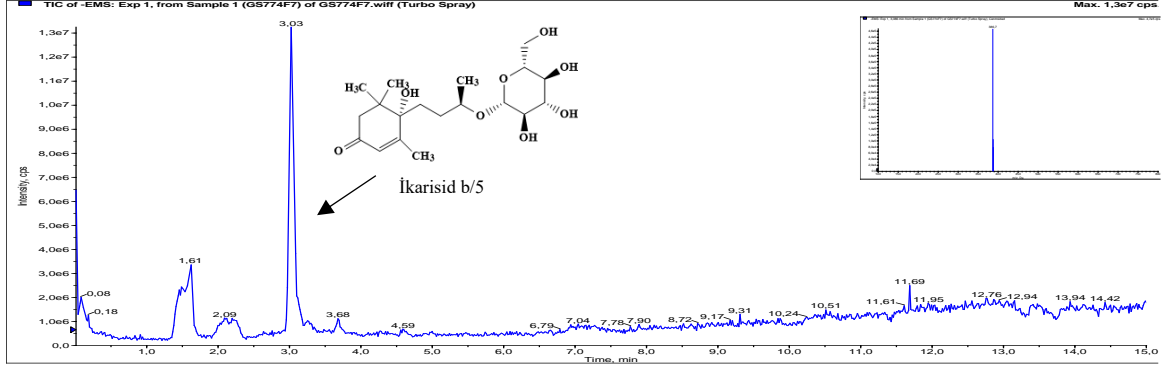
Şekil 4.17. TASE'den biyotografik yöntemle izole edilen luteolin glukozit kromatogramı ve spektrumu

Spot №6 LC-MS/MS analizinde tek pik göstermiş olup kütle spektrum bilgilerine göre 5-kafeoilkuinik asit olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.18.).



Şekil 4.18. TASE'den biyotografik yöntemle izole edilen 5-kafeoilkuinik asit kromatogramı ve spektrumu

Spot №7 LC-MS/MS analizinde tek pik göstermiş olup kütle spektrum bilgilerine göre ikarisid b/5 olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.19.).



Şekil 4.19. TASE'den biyootografik yöntemle izole edilen ikarisid b/5 kromatogramı ve spektrumu

## 4.6. Antimikrobiyal Aktivite Araştırması Bulguları

### 4.6.1. Antibakteriyel etki verileri

Ekstre ve uçucu yağın çeşitli Gram (+) ve Gram (-) bakteri suşlarına karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite Tetrazolyum klorür (TTC) tuzunun renklenen alanlarından yola çıkarak tespit edilmiştir. TTC tuzunun renklenen alanları üremenin olduğunu bakteri konsantrasyonunu vermektedir. Standart antimikrobiyal madde (Moxifloxacin) ve numunelerin bakteri konsantrasyonuna etkisi TTC tuzundaki renkli alana bağlı olarak Tablo 4.13.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.13. Gram (+) ve Gram (-) bakteri suşlarında uçucu yağ, ekstre ve standart antimikrobiyal madde ile görülen bakteri konsantrasyonları

Numuneler	Mikroorganizmalar, MIC (µg/mL)				
	SE	SA	BS	KA	AB
TAUY	1000	1000	500	500	1000
TAHE	500	500	500	500	500
TAME	1000	1000	1000	1000	1000
TASE	1000	1000	1000	1000	1000
Moxifloxacin	0.125 >	0.125 >	0.125 >	0.125 >	0.125 >

\*TAUY: *T. armenum* uçucu yağı; TAHE: *T. armenum* hegzanlı ekstresi; TAME: *T. armenum* metanollü ekstresi; TASE: *T. armenum* sulu ekstresi; \*Tüm numuneler 10 mg/mL'dir.

### 4.6.2. Antikandidal etki verileri

Ekstre ve uçucu yağın çeşitli *Candida* suşlarına karşı gösterdiği antikandidal aktivite TTC tuzunun renklenen alanlarından yola çıkarak tespit edilmiştir. TTC tuzunun renklenen alanları üremenin olduğunu *Candida* konsantrasyonunu vermektedir. Standart antikandidal madde (Terbinafin ve Fluconazole) ve numunelerin *Candida* konsantrasyonuna etkisi TTC tuzundaki renkli alana bağlı olarak Tablo 4.14.'te gösterilmiştir.

**Tablo 4.14.** Çeşitli *Candida* suşlarında uçucu yağ, ekstre ve standart antimikrobiyal maddeler ile görülen *Candida* konsantrasyonları

Numuneler	Mikroorganizmalar, MIC (µg/mL)		
	CA	CK	CP
<b>TAUY</b>	1000	1000	1000
<b>TAHE</b>	2000	2000	2000
<b>TAME</b>	2000	2000	2000
<b>TASE</b>	2000	2000	2000
<b>Terbinafin</b>	16	16	32
<b>Fluconazole</b>	0.5	0.5	0.25

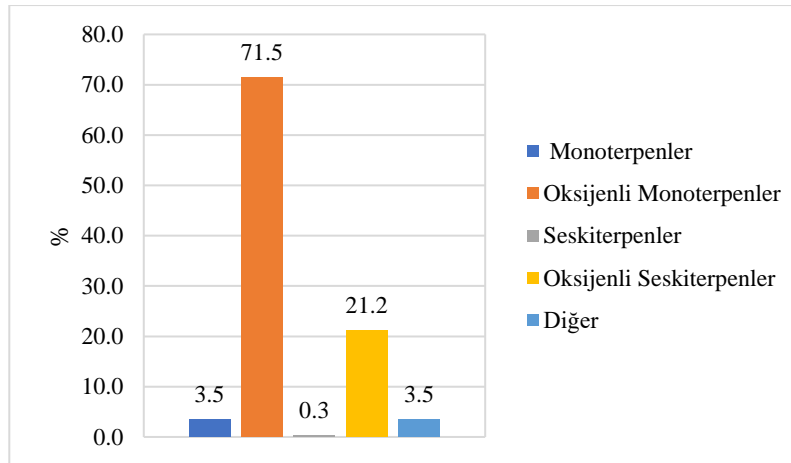
\*TAUY: *T. armenum* uçucu yağı; TAHE: *T. armenum* hegzanlı ekstresi; TAME: *T. armenum* metanollü ekstresi; TASE: *T. armenum* sulu ekstresi; \*Tüm numuneler 10 mg/mL'dir.

## 5. TARTIŞMA

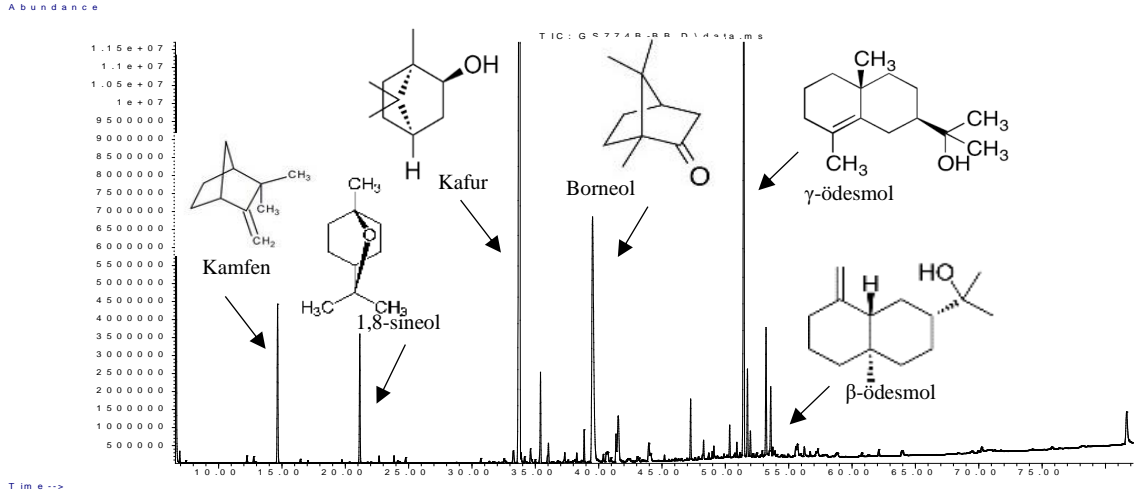
### 5.1. Uçucu Yağ Profili

*T. armenum* bitkisinin toprak üstü kısımlarının hidrodistilasyon işlemi sonucunda elde edilen uçucu yağın verimi %0.58 olarak saptanmıştır. Kaynaklarda bulunan verilerde Eskişehir ve Ankara civarında toplanan örneklerin uçucu yağ verimleri %0.62 ve %0.67 olarak rapor edilmiştir. Yağ verimlerindeki farklılık edafik faktörlerden ve bitkinin gelişme durumundan kaynaklandığı düşünülmektedir.

*T. armenum* uçucu yağında tespit edilen bileşikler dört ana grup altında toplanmıştır, bunlar; hidrokarbon monoterpener, oksijenli monoterpener, hidrokarbon seskiterpenler ve oksijenli seskiterpenlerdir. Genel olarak uçucu yağın profilinde oksijenli monoterpener yağın büyük bir kısmını (%71.5) oluşturmaktadır (Şekil 5.1.). İkinci önemli madde grubunu ise oksijenli seskiterpenler oluşturmaktadır (%21.2). Uçucu yağın kromatografik profili Şekil 5.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 5.1. *T. armenum* bitkisinin uçucu yağındaki majör grupların dağılımı



Şekil 5.2. *T. armenum* uçucu yağı kromatografik profili ve tespit edilen majör bileşenlerin yapıları

*T. armenum* uçucu yağında toplam 74 bileşik tespit edilmiş olup büyük bir çoğunluk oksijenli monoterpenlerden (31 bileşik) ibarettir. Monoterpen hidrokarbonlar ise 11 adet bileşikten meydana gelmiştir. Oksijenli seskiterpenler grubunu 16 bileşik oluşturmuştur, Seskiterpen hidrokarbonlar sadece 5 bileşikten oluşmuştur. Yağın ana bileşikleri olarak oksijenli monoterpenlerden kafur (%48.3) ve borneol (%13.6), oksijenli seskiterpenlerden  $\gamma$ -ödesmol (%13.5) tespit edilmiştir.

Başer vd. (2000) tarafından rapor edilen çalışmada *T. armenum* yaprağında 1,8-sineol miktarı %31.3 ve toprak üstü kısmında %11.3 olarak belirtilmiştir. Aynı çalışmada yağın içinde oksijenli monoterpen kafur oranı yaprakta %9, toprak üstü kısmında ise %27 olarak belirtilmiştir [11]. Tez kapsamında araştırılan örnekte ise 1,8-sineol oranı oldukça düşüktür (%2.5). Yağın yaklaşık yarısını kafur oluşturmaktadır (%48.3), kafurun yüksek oranı nedeniyle soğuk ortamda yağ kristalize hale gelmiştir. Oksijenli seskiterpen bileşiği  $\gamma$ -ödesmol Başer vd. (2000) çalışmasında yaprak kısmında bulunmayıp ancak toprak üstü kısmında %5.5 olarak tespit edilmiştir. Tezde çalışılan numunede ise bu bileşiğin oranı oldukça yüksektir (%13.5).

*T. armenum* bitkisinin ana bileşiği olarak tespit edilen kafur birçok *Tanacetum* türünde ana bileşiklerden biri olarak rapor edilmiştir. Bu türlerden bazıları şunlardır: *T. parthenium* (L.) Schultz Bip. (% 60.8) [66], *T. sorbifolium* (Boiss.) Grierson (% 54.3) [117], *T. densum* (Lab.) Schultz Bip. ssp. *eginense* Heywood (% 30.9) [118], *T. chiliophyllum* (Fisch. Et Mey.) Schultz Bip. var. *chiliophyllum* (Fisch. Et Mey.) Schultz (%28.5) [119].

*T. armenum* bitkisinin ikinci ana bileşiği olarak tespit edilen borneol birçok *Tanacetum* türünde ana bileşiklerden biri olarak rapor edilmiştir. Bu türlerden bazıları şunlardır: *T. alyssifolium* (Bornm.) Grierson (%35.2) [60], *T. densum* (Lab.) Schultz Bip. ssp. *amani* Heywood (%31.3) [123], *T. praeteritum* (Horwood) Heywood ssp. *praeteritum* (Horwood) Heywood (%28.0) [114], *T. chiliophyllum* (Fisch. Et Mey.) Schultz Bip. var. *chiliophyllum* (Fisch. Et Mey.) Schultz (%15.4) [60], *Tanacetum argrophyllum* (C. Koch) Tvetzel. var. *argrophyllum* (C. Koch) Tvetzel. (%15) [120].

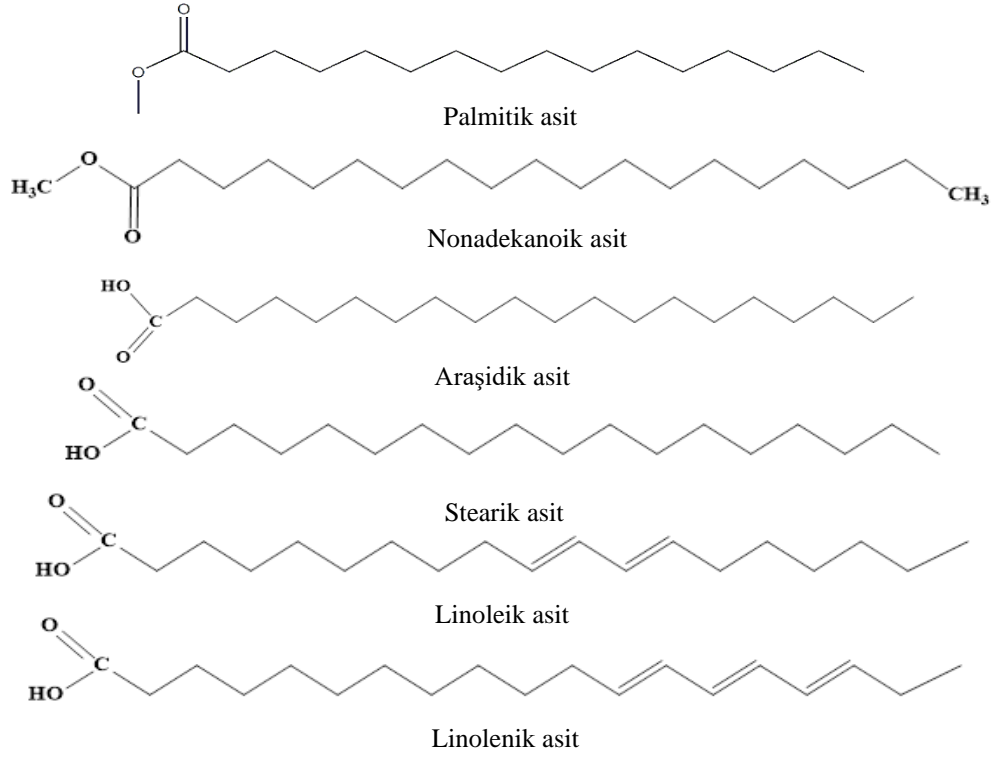
Proje kapsamında araştırılan *T. armenum* örneğinde tespit edilen 1,8-sineol oranı çok fazla olmamakla birlikte (%2.5), birçok *Tanacetum* türünde ana bileşiklerden biri olarak rapor edilmiştir. Bu türlerden bazıları şunlardır: *T. armenum* (DC.) Schultz Bip (yaprak %31.0, toprak üstü kısım %11.0) [11], *T. nitens* (Boiss. et NOE) Grierson (%27.6) [112], *T. mucroniferum* Hub.-Mor. & Grierson (%21.9) [111], *T. argenteum* (Lam.) Willd. subsp. *canum* (C. Koch) Grierson var. *canum* (C. Koch) Grierson (%14.8) [110].

$\gamma$ -Ödesmol bileşiği daha önce hiçbir *Tanacetum* türünde ana maddelerden biri olarak tespit edilmemiştir, ancak onun izomeri olan  $\beta$ -ödesmol *T. macrophyllum* (Waldst. et Kit.) Schultz Bip. (%89.5/21.4) bitkisinde yüksek oranda bulunmuştur [121, 122].

Genel olarak proje kapsamında araştırılan *T. armenum* örneğinin uçucu yağ kimyasal profili kaynaklarda rapor edilen diğer *Tanacetum* uçucu yağlarının profiline yakındır.

## 5.2. Sabit Yağ Asitleri Profili

Proje kapsamında *T. armenum* çiçek sabit yağı profili ilk kez araştırılmış olup yağ asitlerinin %99.9'u aydınlatılmıştır. Sabit yağ kompozisyonunda doymuş yağ asitleri yüksek miktarda tespit edilmiştir. Başlıca palmitik (%43.8), nonadekanoik (%18.3), araşidik (%7.8), stearik (%7.1) asitleri ana bileşikler olarak tespit edilmiştir. Doymamış yağ asitlerinden ise linoleik (%10.9) ve linolenik (%4.8) asitleri saptanmıştır. Ana bileşiklerin formülleri Şekil 5.3.'te gösterilmiştir. Kaynak taramasında *T. armenum* sabit yağ asitleriyle ilgili bir bilgiye rastlanmamıştır.



Şekil 5.3. *T. armenum* sabit yağının kimyasal kompozisyonunda tespit edilen yağ asitleri

Diğer *Tanacetum* türleri ile ilgili yapılan çalışmalarda *T. zahlbruckneri* (Náb.) Grierson kök, çiçek ve sap kısmında yağ asitleri profili karşılaştırılması yapılmıştır. Kök ve sap kısmında palmitik asit majör bileşik olarak saptanmışken (%26.1 ve %21.2) çiçekler linoleik asit açısından zengin olarak bulunmuştur (%33.8). Bununla birlikte kök ve sap kısımlarında önemli derecede  $\alpha$ -linoleik asit (%15.3 ve %18.1) ve  $\alpha$ -linolenik asit saptanmışken %17.2 oranında bulunmuştur [181].

Emre (2021) tarafından yapılan araştırmada *T. densum* subsp. *laxum*, *T. densum* ve *T. densum* subsp. *amani* türlerinde palmitik (%24.5 ve %37.5) ve stearik (%5.7 ve %9.5) asitleri majör bileşikler olarak tespit edilmiştir. Doymamış yağ asitlerinden oleik (%11.7 ve %11.4), linoleik (%28.3 ve %17.0) ve  $\alpha$ -linoleik (%16.2 ve %10.6) asitleri saptanmıştır [182].

Yur (2016) tarafından *T. haussknechtii* üzerinde yapılan araştırmada sabit yağ asit analizleri sonucunda toplam kompozisyonun % 99.2'sini oluşturan 18 sabit yağ asidi saptanmış olup ana bileşikler olarak palmitik (% 25.5), linolenik (%25.4) ve linoleik (%17.6) asitleri tespit edilmiştir [159].



Genel olarak *Tanacetum* türleri üzerinde yapılan yağ asitleri çalışmalarında doymuş yağ asitlerinden palmitik ve doymamış yağ asitlerinden linolenik ve linoleik asitleri yüksek oranda tespit edilmiştir.

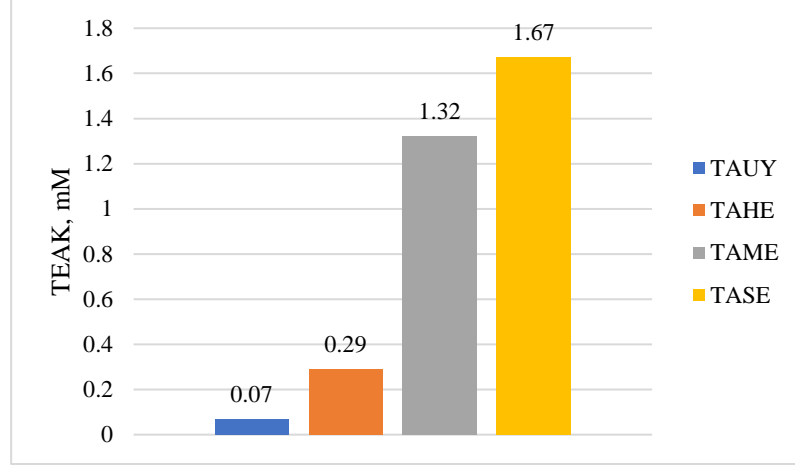
### 5.3. Ekstrelerin Profili

Proje kapsamında kullanılan *T. armenum* bitkisinin farklı polariteli çözücülerle hazırlanmış ekstralarının kimyasal profilleri LC-MS/MS tekniği ile ortaya konmuş ve ana bileşikler 3,5-dikafeoilkuinik asit, luteolin glukozit ve 5- kafeoilkuinik asit olarak tespit edilmiştir. 3,5-dikafeoilkuinik asit, luteolin glukozit ve 5- kafeoilkuinik asit daha önce başka *Tanacetum* türlerinde de tespit edilmiştir. Vasileva vd. (2019) tarafından yapılan araştırmada *T. vulgare* çiçeklerinin etil asetatlı ekstresi hazırlanmış ve ekstrenin kimyasal kompozisyonu LC–HRMS tekniği ile araştırılarak 3,5-dikafeoilkuinik asit, luteolin-7-glukozit ve 5- kafeoilkuinik asit dahil olmak üzere 26 bileşik tespit edilmiştir [183]. Zengin vd. (2020) tarafından yapılan araştırmada *T. parthenium* toprak üstü kısımlarının etanollü ekstresi farklı tekniklerle elde edilmiş ve ekstraların kimyasal kompozisyonları LC-MS tekniği ile ortaya konmuştur. Luteolin-7-glukozit ve 5- kafeoilkuinik asit maddeleri dahil olmak üzere 60 bileşik tespit edilmiştir [184]. Venditti vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada *T. macrophyllum* (Waldst. et Kit.) Schultz Bip. toprak üstü kısımlarının etanollü ekstresinin kimyasal kompozisyonu araştırılmış, 3,5-dikafeoilkuinik asit ve 5- kafeoilkuinik dahil olmak üzere 12 polar bileşik tespit edilmiştir [185]. Benassi-Zanqueta vd. (2019) tarafından yapılan araştırmada *T. parthenium* toprak üstü kısımlarının sulu etanollü ekstresi hazırlanmış ve LC-MS tekniğiyle kimyasal kompozisyonunda 3,5-dikafeoilkuinik asit ve 5- kafeoilkuinik dahil olmak üzere 23 bileşik tespit edilmiştir [186].

### 5.4. Biyolojik Aktivite Araştırmaları

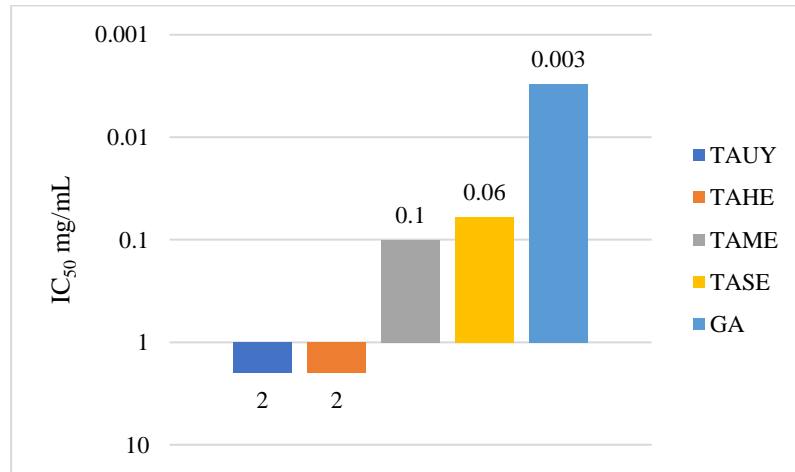
#### 5.4.1. Antioksidan aktivite potansiyeli

*T. armenum* uçucu yağ ve ekstralarının ABTS serbest radikalini süpürme etkisi Trolox'a eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Uçucu yağ ve hegzanlı ekstre bu test sonucunda kayda değer bir etki göstermemiştir, polar ekstralar ise önemli derecede aktivite göstermiştir (Şekil 5.4.).



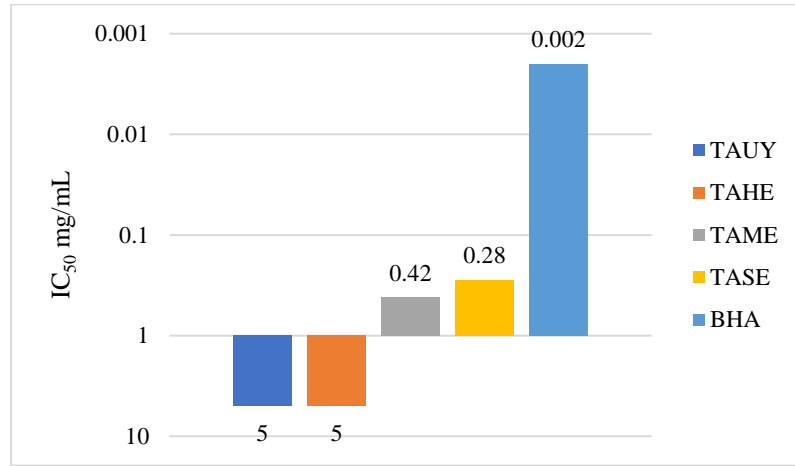
**Şekil 5.4.** *T. armenum* uçucu yağ ve ekstralarının Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasite değerleri

*T. armenum* uçucu yağ ve ekstralarının DPPH serbest radikalini süpürme etkileri spektrofotometrik metotla analiz edilmiş ve numunelerin yüzde inhibisyon değerleri standart antioksidan madde olan gallik asitle karşılaştırılarak ortaya konmuştur. İnhibisyon değerleri %50'den büyük olan numunelerin  $IC_{50}$  değerleri *SigmaPlot* programında hesaplanmıştır. Analiz sonucunda uçucu yağ ve hegzanlı ekstrenin %50'den düşük bir aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Metanollü ve sulu ekstralarının belirgin ölçüde serbest radikal süpürme etkisine sahip olduğu saptanmıştır (Şekil 5.5.).



**Şekil 5.5.** *T. armenum* uçucu yağ ve ekstralarının DPPH serbest radikali süpürme etkileri ( $IC_{50}$  değerleri)

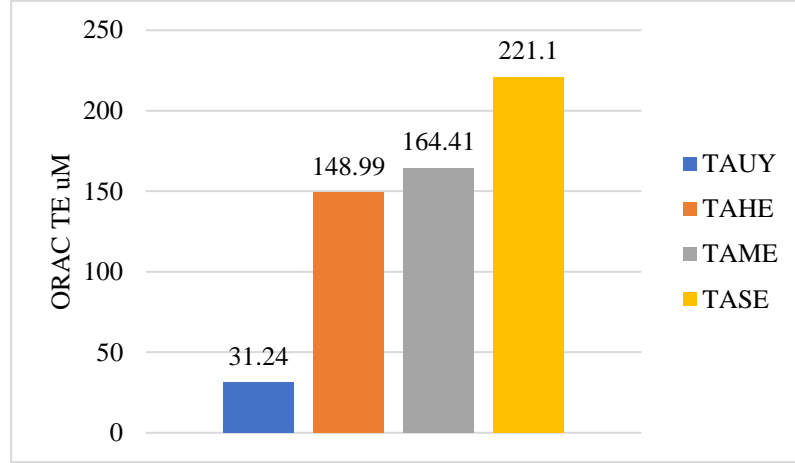
*T. armenum* uçucu yağ ve ekstralarının lipit peroksidasyonunu inhibe etme gücü  $\beta$ -karoten'in solmasını önleme kapasitesine göre değerlendirilmiştir. Numunelerin yüzde inhibisyon değerleri standart antioksidan madde olan BHA ile karşılaştırılarak ortaya konmuştur. Numunelerin IC<sub>50</sub> değerleri *SigmaPlot* programında hesaplanmıştır. Analiz sonucunda uçucu yağ ve hegzanlı ekstre ve uçucu yağın %50'den düşük bir aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Sulu ekstrelin lipit peroksidasyonunu inhibe etme gücünün yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 5.6.).



**Şekil 5.6.** *T. armenum* uçucu yağ ve ekstralarının lipit peroksidasyonu inhibe etme potansiyeli (IC<sub>50</sub> değerleri)

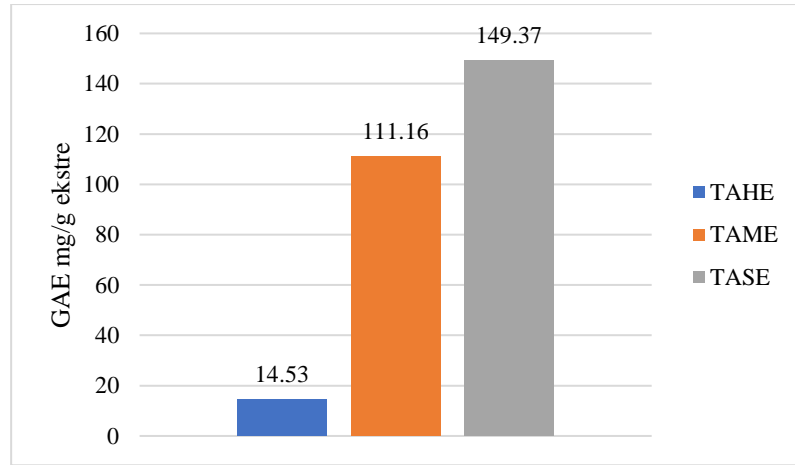
Genel olarak *T. armenum* ekstralarının ABTS ve DPPH radikallerine karşı serbest radikal süpürücü etkileri ve lipit peroksidasyonu inhibisyon değerleri arasında korelasyon görülmektedir.

*T. armenum* uçucu yağ ve ekstralarının oksijen radikali absorbans kapasitesi peroksit radikallerinin fluoresein'in flöresan özelliğini söndürmesi prensibine göre test edilmiştir. Numunelerin antioksidan kapasiteleri standart madde Trolox ile karşılaştırılarak hesaplanmıştır. Analiz sonucunda uçucu yağın düşük bir etki gösterdiği, sulu ve metanollü ekstralarının ise belirgin bir aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 5.7.).



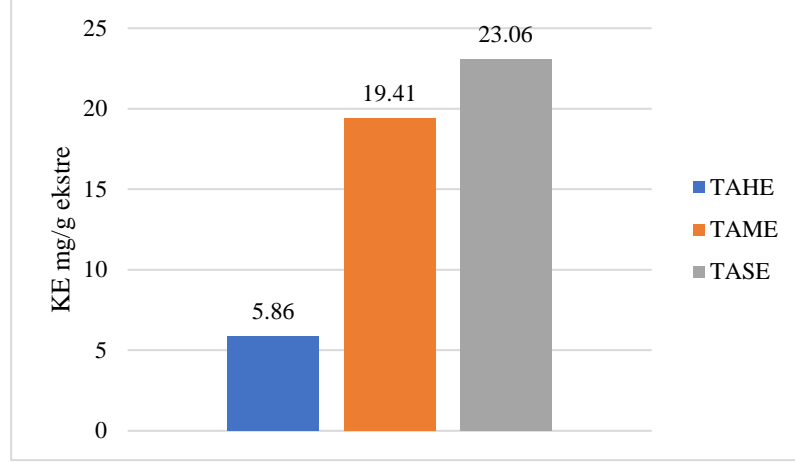
Şekil 5.7. *T. armenum* uçucu yağ ve ekstralarının Trolox'a eşdeğer ORAC değerleri

*T. armenum* ekstralarının toplam fenol miktarı tayini için Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılmış ve ekstraların oluşturduğu kompleksin rengi spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Standart madde olarak gallik asit kullanılmış ve sonuçlar gallik asite eşdeğer olarak hesaplanmıştır. En yüksek fenol miktarının sulu ekstrede bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 5.8.).



Şekil 5.8. *T. armenum* ekstralarının gallik asite eşdeğer toplam fenol miktarları

*T. armenum* ekstralarının toplam flavonoid miktarı tayini için  $AlCl_3$  reaktifi kullanılmış ve ekstraların oluşturduğu kompleksin rengi spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Standart madde olarak kersetin kullanılmış ve sonuçlar kersetine eşdeğer olarak hesaplanmıştır. En yüksek flavonoid miktarının sulu ekstrede bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 5.9.).



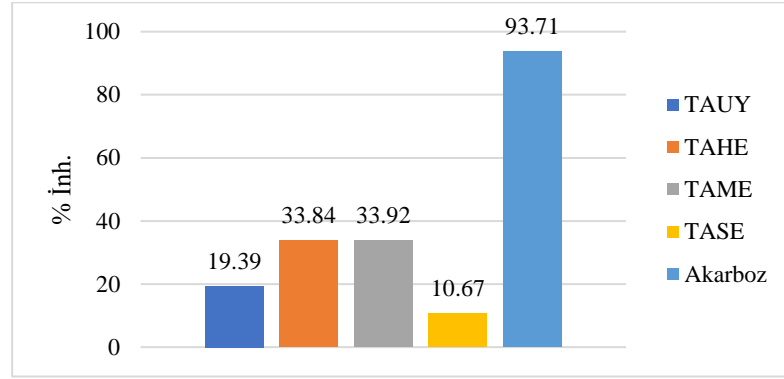
Şekil 5.9. *T. armenum* ekstrelerinin kersetine eşdeğer toplam flavonoit miktarları

Mekinic vd. (2013) tarafından yapılan araştırmada, Asteraceae familyası bitkilerinin fenolik asit içeriği ve antioksidan aktivite arasında, gözlemlenen aktiviteler için önemini gösteren yüksek pozitif doğrusal ilişkiler belirlenmiştir [187]. Klorojenik asit türevlerinin antioksidan, anti-inflamatuar, anti-HIV, anti-HBV, radikal süpürme, mutajenez ve karsinogenez inhibisyonu gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri ve insan sağlığına faydalı olduğu birçok araştırmada rapor edilmiştir [188-191]. Yüksek miktarda fenolik yapıda sekonder metabolitlerin varlığı ve biyolojik etkileri nedeniyle, birçok Asteraceae bitkileri ilaç endüstrisi, kozmetik ürünler ve gıda katkı maddesi üretiminde kullanılmaktadır. Bu bitkilerin arasında *Tanacetum*, *Helichrysum* [192], *Achillea* [193], *Carthamus* [194, 195], *Artemisia* [196], *Taraxacum* [197, 198], *Cynara* [199], *Solidago* [200], *Cichorium* [201, 202] türleri var.

#### 5.4.2. Antidiyabetik potansiyel

*T. armenum* uçucu yağ ve ekstrelerinin antidiyabetik potansiyeli *in vitro* şartlarda  $\alpha$ -amilaz enzimi inhibe etme etkisine göre değerlendirilmiştir. Mikrotiter deneyde pankreatik  $\alpha$ -amilaz enzimi, substrat olarak nişasta ve belirteç olarak iyot çözeltisi kullanılmıştır. Test edilen numunelerin enzimi inhibe etme etkisi dolaylı olarak iyot rengindeki değişimin gözlemlenmesiyle değerlendirilmiştir. Spektrofotometrik ölçümler 630 nm dalga boyunda yapılmıştır. İnhibisyon etkisinin değerlendirilmesinde standart inhibitör akarboz ile kıyaslama yapılmıştır. Test edilen numunelerin arasında hegzanlı ve metanollü ekstrelerinin en yüksek  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyonu gösterdiği

saptanmıştır. Ancak kullanılan standart maddeye göre bu ekstrelerin orta derecede (%34%) bir aktiviteye sahip olmadığı gözlemlenmiştir (Şekil 5.10.).



Şekil 5.10. *T. armenum* uçucu yağ ve ekstrelerinin  $\alpha$ -amilaz enzimi inhibe etme etkileri

Kaynaklarda Asteraceae familyası bitkileri ekstrelerinin diyabet ve obezite yönetimindeki etkisi üzerine çalışmalar mevcuttur. Spinola vd. (2017) tarafından yapılan araştırmaya göre, kafeoilkuinik asit türevleri sindirim enzimlerinin inhibisyonuna ve gelişmiş glikasyon son ürünlerinin oluşumuna katkıda bulunmaktadır [203].

### 5.5. HPTLC-Biyootografik Analiz

Proje kapsamında *T. armenum*'dan farklı polariteli çözücülerle elde edilen ekstreleri ve uçucu yağ antioksidan aktivite göstermiştir. Ekstrelerde ve uçucu yağda aktiviteden sorumlu olan bileşikler tespit edebilmek amacıyla biyootografik HPTLC araştırmaları gerçekleştirilmiştir. Belirteç olarak kullanılan DPPH reaktifine karşı etki gösteren spotlar İTK plağında kazınarak LC-MS/MS ve GC/MS teknikleriyle analize tabi tutulmuştur. Gaz kromatografik analizi sonucunda aktif bileşikler 1,8-sineol, kafur, ve borneol olarak belirlenmiştir. LC-MS analizi sonucunda serbest radikal süpürücü etkiyi gösteren bileşikler tabloda verilmiştir (Tablo 5.1.).

**Tablo 5.1.** *T. armenum* metanollü ve sulu ekstrelerinden antioksidan aktiviteden sorumlu bileşikler

Madde	Ekste Türü	
	TAME	TASE
3,5-Dikafeoilkuinik asit	+	+
Luteolin glukozit	+	+
5-Kafeoilkuinik asit	+	+
İkarisid b5	+	+
Luteolin	-	+
Pirogallol benzeri	+	-

Tabloda görüldüğü üzere, antioksidan aktiviteden sorumlu olan bileşikler fenolik asit ve flavonoit türevleridir. Kafeoilkuinik asit çeşitli izomer ve türevlerinin antioksidan aktiviteleri birçok araştırmada konu olmuştur. Didier vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada, kafeoil türevlerinin Asteraceae familyası bitkilerinde major antioksidan maddeler olduğu gösterilmiştir [204-206].

### 5.6. Antimikrobiyal Aktivite Potansiyeli

*T. armenum* uçucu yağ ve ekstrelerinin Gram (+) ve Gram (-) suşlara karşı antimikrobiyal aktiviteleri MIC değerleri 500-1000 µg/mL arasında gözlemlenmiştir. Hegzanlı ekstrenin Gram (+) ve Gram (-) suşlara karşı aktivite gösteren en etkili ekstre olduğu tespit edilmiştir (MIC= 500 µg/mL). *T. armenum* uçucu yağının çalışılan suşlar içerisinde özellikle *Bacillus subtilis* ATCC 19659 ve *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048 (KA) suşlarına karşı etkili olduğu tespit edilmiştir (MIC= 500µg/mL).

*T. armenum* uçucu yağ ve ekstrelerinin antikandidal aktivite testlerinde MIC=1000-2000 µg/mL olarak gözlenmiştir. *Candida* türlerine karşı MIC=1000 µg/mL olarak tespit edilen uçucu yağın, en etkili numune olduğu tespit edilmiştir. Ancak kullanılan standart antimikrobiyal maddelere göre ekstrelerin çalışılan suşlara karşı çok etkili olmadığı gözlemlenmiştir.

## 6. SONUÇ

- Projede Eskişehir civarında yetişen *Tanacetum armenum* bitkisi üzerinde kapsamlı biyolojik aktivite ve fitokimyasal araştırmalar gerçekleştirilmiştir.
- *T. armenum* toprak üstü kısmı uçucu yağ profili aydınlatılmış olup ana bileşikleri kafur (48.3), borneol (%13.6),  $\gamma$ -ödesmol (%13.5) olarak tespit edilmiştir.
- *T. armenum* iekli kısmının sabit yağ asitleri mikroekstraksiyonla elde edilip gaz kromatografik tekniği ile incelenmiştir. Yağ asitleri profilinde doymuş yağ asitleri çoğunluk olmak üzere palmitik (%43.8), nonadekanoik (%18.3), araşidik (%7.8) asitleri ile temsil edilmiştir. Doymamış yağ asitleri ise linoleik (%10.9) ve linolenik (%4.8) ile temsil edilmiştir.
- Polar ekstrelerin profilleri benzer olmakla beraber ana bileşikleri olarak 3-kafeoilkuinik asit, 3,5-dikafeoilkuinik asit ve luteolin glukozit tespit edilmiştir.
- *T. armenum* sulu ve metanollü ekstrelerinin belirgin derecede serbest radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Bu ekstrelerin aynı zamanda en yüksek miktarda toplam fenol ve flavonoid içerdiği tespit edilmiştir. Biyootografik yöntemi ile antioksidan aktiviteden sorumlu bileşiklerin 3,5-dikafeoilkuinik asit, luteolin glukozit, 5-kafeoilkuinik asit, ikarisid b5, luteolin, pirogallol benzeri madde olduğu tespit edilmiştir. Uçucu yağda aktif bileşikler olarak 1,8-sineol, kafur ve borneol tespit edilmiştir.
- *T. armenum* ekstre ve uçucu yağının zayıf-orta (%19-33) derecede  $\alpha$ -amilaz enzimi inhibe etme potansiyeline sahip olduğu saptanmıştır.
- *T. armenum* hegzanlı ekstresinin Gram (+) ve Gram (-) suşlara karşı aktivite gösteren en etkili ekstre olduğu tespit edilmiştir. *T. armenum* uçucu yağının *Bacillus subtilis* ve *Klebsiella aerogenes* suşlarına karşı etkili olduğu tespit edilmiştir. *Candida* türlerinin en etkin şekilde uçucu yağ tarafından inhibe edildiği tespit edilmiştir. Ancak kullanılan standart antimikrobiyal maddelere göre ekstrelerin, çalışılan suşlara karşı çok etkili olmadığı gözlemlenmiştir.
- Proje kapsamında *T. armenum* bitkisi üzerinde kapsamlı biyolojik aktivite taraması yapılmış olup biyootografi tekniği ile antioksidan aktiviteden sorumlu olan bileşikler tespit edilmiştir. Yağ asit profili ilk kez bilim dünyasına tanıtılmıştır. Bitki üzerinde ilk kez antimikrobiyal ve anti diyabetik araştırma yapılmıştır.



## KAYNAKÇA

- [1] Kürkçüoğlu, M., (2010). Sekonder Metabolitler, Bitki Kimyası ve Analiz Yöntemleri. *TC. Anadolu Üniversitesi Yayını*, 4-6.
- [2] Nakatsu, T., Lupo Jr, A.T., Chinn Jr, J.W.Kang, R.K., *Biological activity of essential oils and their constituents*, in *Studies in Natural Products Chemistry*. 2000, Elsevier. 571-631.
- [3] Faydaoğlu, E.Sürücüoğlu, M.S., (2011). Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 11(1), 52-67.
- [4] Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D.Idaomar, M., (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446-475.
- [5] Erdemir, D., (1998). *At Kestanesi (ve Prepagel) Doğanın Harika İlacı*, İstanbul: Uludağ Üniv. Tıp Fak. Nobel Kitap Evi
- [6] Korkmaz, M., Kandemir, A., Ilhan, V.Doğan, N.Y., (2015). *Tanacetum erzincanense* (Asteraceae), a new species from Erzincan, Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 39(1), 96-104.
- [7] Davis, P., Miller, R.Tan, K., (1965), *Flora of Turkey and the Aegean Islands. Vol. 1–9*, Edinburg Universty Press, Edinburg.
- [8] *Council of Europe. European Pharmacopoeia, 6.0, 1742. Strasbourg: Council of Europe.*
- [9] Gören, N., Arda, N.Çalışkan, Z., *Chemical characterization and biological activities of the genus Tanacetum (Compositae)*, in *Studies in Natural Products Chemistry*. 2002, Elsevier. 547-658.
- [10] Kumar, V.Tyagi, D., (2013). Chemical composition and biological activities of essential oils of genus Tanacetum—a review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(3), 159-163.
- [11] Başer, K.H.C., Demirci, B., Tabanca, N., Özek, T.Gören, N., (2001). Composition of the essential oils of *Tanacetum armenum* (DC.) Schultz Bip., *T. balsamita* L., *T. chiliophyllum* (Fisch. & Mey.) Schultz Bip. var. *chiliophyllum* and *T. haradjani* (Rech. fil.) Grierson and the enantiomeric distribution of camphor and carvone. *Flavour and Fragrance Journal*, 16(3), 195-200.

- [12] Arituluk, Z.C., Çankaya, I.I.T.Özkan, A.M.G., (2016). Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of some *Tanacetum* L.(Asteraceae) taxa growing in Turkey. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41(1), 17.
- [13] Heywood, V.H., Moore, D., Richardson, I.Stearn, W.T., (1978). *Flowering Plants of the World*: Oxford University Press
- [14] Mucciarelli, M., Maffei, M., Wright, C.W., (2002). *Introduction to the genus*, Newyork: Taylor and Francis Publishing. 1-51.
- [15] Davis, P.H., (1965). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, I-IX. *Edinburg University Press. p*, 355, 1978-1988.
- [16] Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., Leblebici, E., (2008).*Tohumlu Bitkiler Sitematiği*, İzmir: Ege Üniv. Basımevi
- [17] Simpson, M.G., (2006). Plant Systematics. *Elsevier Academic Press*, 345-353.
- [18] Erik, S. Tarıkahya Hacıoğlu, B., (2004). Türkiye florasi üzerine. *Kebikeç*, 17, 139.
- [19] Doğan, B., (2007). *Türkiye Jurinea Cass.(Asteraceae) Cinsinin Revizyonu*. Yüksek Lisans Tezi. Konya: Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [20] Özhatay, N.Kültür, Ş., (2006). Check-list of additional taxa to the Supplement Flora of Turkey III. *Turkish Journal of Botany*, 30(4), 281-316.
- [21] Davis, P.H., (1975). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 3. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 3*.
- [22] Kandemir, A., Sevindi, C., Korkmaz, M.Çelikoğlu, Ş., (2015). Erzincan Türkiye’ a özgü endemik bitki taksonlarının IUCN tehdit kategorileri. *Bağbahçe Bilim Dergisi*, 2(1), 43-65.
- [23] Altundag, E.Ozturk, M., (2011). Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey. *Procedia-Social and Behavioral Sciences*, 19, 756-777.
- [24] Ugulu, I., Baslar, S., Yorek, N.Dogan, Y., (2009). The investigation and quantitative ethnobotanical evaluation of medicinal plants used around Izmir province, Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(5), 345-367.
- [25] Mükemre, M., Behçet, L.Çakılcıoğlu, U., (2015). Ethnobotanical study on medicinal plants in villages of Çatak (Van-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 166, 361-374.

- [26] Kaval, I., Behçet, L.Cakilcioglu, U., (2014). Ethnobotanical study on medicinal plants in Geçitli and its surrounding (Hakkari-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 155(1), 171-184.
- [27] Günbatan, T., Gürbüz, İ.Özkan, A.M.G., (2016). The current status of ethnopharmacobotanical knowledge in Çamlıdere (Ankara, Turkey). *Turkish Journal of Botany*, 40(3), 241-249.
- [28] Karakaya, S., Polat, A., Aksakal, O., Sumbullu, Y.İncekara, U., (2019). An ethnobotanical investigation on medicinal plants in South of Erzurum (Turkey). *Ethnobotany Research & Applications*, 18(13), 1-18.
- [29] Kikuta, Y., Ueda, H., Takahashi, M., Mitsumori, T., Yamada, G., Sakamori, K., Takeda, K., Furutani, S., Nakayama, K.Katsuda, Y., (2012). Identification and characterization of a GDSL lipase-like protein that catalyzes the ester-forming reaction for pyrethrin biosynthesis in *Tanacetum cinerariifolium*—a new target for plant protection. *The Plant Journal*, 71(2), 183-193.
- [30] Özak, M., (2011). *Tanacetum abrotanifolium (L.) Druce bitkisi üzerinde fitokimyasal araştırmalar ve biyoaktivite çalışmaları*. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul: Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Fakültesi.
- [31] Pålsson, K., Jaenson, T.G., Bäckström, P.Borg-Karlson, A.-K., (2008). Tick repellent substances in the essential oil of *Tanacetum vulgare*. *Journal of Medical Entomology*, 45(1), 88-93.
- [32] Pavela, R., Sajfrtová, M., Sovová, H., Bárnet, M.Karban, J., (2010). The insecticidal activity of *Tanacetum parthenium (L.) Schultz Bip.* extracts obtained by supercritical fluid extraction and hydrodistillation. *Industrial Crops and Products*, 31(3), 449-454.
- [33] Polatoğlu, K., Karakoç, Ö.C., Gökçe, A.Gören, N., (2011). Insecticidal activity of *Tanacetum chiliophyllum (Fisch. & Mey.) var. monocephalum Grierson* extracts and a new sesquiterpene lactone. *Phytochemistry Letters*, 4(4), 432-435.
- [34] Pfaffenrath, V., Diener, H., Fischer, M., Friede, M.Henneicke-von Zepelin, H., (2002). The efficacy and safety of *Tanacetum parthenium* (feverfew) in migraine prophylaxis—a double-blind, multicentre, randomized placebo-controlled dose-response study. *Cephalalgia*, 22(7), 523-532.

- [35] Sofiabadi, M., Azhdari-Zarmehri, H., Naderi, F., Ghalandari-Shamami, M., Sonboli, A., Haghighparast, A., (2014). Effects of hydroalcoholic extract of *Tanacetum sonbolii* (Asteraceae) on pain-related behaviors during formalin test in mice. *Basic and Clinical Neuroscience*, 5(2), 162.
- [36] Guerra, J.A., Molina, M.F., Abad, M.J., Villar, A.M., Bermejo, P., (2006). Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by flavonoids isolated from *Tanacetum microphyllum*. *International Immunopharmacology*, 6(11), 1723-1728.
- [37] Özbilgin, S., Akkol, E.K., Öz, B.E., İlhan, M., Saltan, G., Acıkara, Ö.B., Tekin, M., Keleş, H., Süntar, I., (2018). In vivo activity assessment of some *Tanacetum* species used as traditional wound healer along with identification of the phytochemical profile by a new validated HPLC method. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 21(2), 145.
- [38] Coté, H., Boucher, M.-A., Pichette, A., Legault, J., (2017). Anti-inflammatory, antioxidant, antibiotic, and cytotoxic activities of *Tanacetum vulgare* L. essential oil and its constituents. *Medicines*, 4(2), 34.
- [39] Abad, M., Bermejo, P., Villar, A., Valverde, S., (1993). Anti-inflammatory activity of two flavonoids from *Tanacetum microphyllum*. *Journal of Natural Products*, 56(7), 1164-1167.
- [40] Abad, M., Bermejo, P., Valverde, S., Villar, A., (1994). Anti-inflammatory activity of hydroxyachillin, a sesquiterpene lactone from *Tanacetum microphyllum*. *Planta Medica*, 60(03), 228-231.
- [41] Şimşek, S., (2016). *Tanacetum alyssifolium* Bitkisinden Axillarin Bileşiğinin İzolasyonu, Antikanserojen ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Erzincan: Erzincan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [42] Karimian, H., Fadaeinasab, M., Moghadamtousi, S.Z., Hajrezaei, M., Zahedifard, M., Razavi, M., Safi, S.Z., Mohan, S., Khalifa, S.A., El-Seedi, H.R., (2015). The chemopreventive effect of *Tanacetum polycephalum* against LA7-induced breast cancer in rats and the apoptotic effect of a cytotoxic sesquiterpene lactone in MCF7 cells: a bioassay-guided approach. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 36(3), 988-1003.

- [43] Albayrak, G., Nalbantsoy, A.Baykan, Ş., (2017). In vitro cytotoxic and anti-inflammatory activities of *Tanacetum argenteum* (Lam.) Willd. subsp. *argenteum* extract. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(3), 231.
- [44] Verma, M., Singh, S.K., Bhushan, S., Pal, H.C., Kitchlu, S., Koul, M.K., Thappa, R.K.Saxena, A.K., (2008). Induction of mitochondrial-dependent apoptosis by an essential oil from *Tanacetum gracile*. *Planta Medica*, 74(5), 515.
- [45] Wu, C., Chen, F., Rushing, J.W., Wang, X., Kim, H.-J., Huang, G., Haley-Zitlin, V.He, G., (2006). Antiproliferative activities of parthenolide and golden feverfew extract against three human cancer cell lines. *Journal of Medicinal Food*, 9(1), 55-61.
- [46] Rosselli, S., Bruno, M., Raimondo, F.M., Spadaro, V., Varol, M., Koparal, A.T.Maggio, A., (2012). Cytotoxic effect of eudesmanolides isolated from flowers of *Tanacetum vulgare* ssp. *siculum*. *Molecules*, 17(7), 8186-8195.
- [47] Juan-Badaturuge, M., Habtemariam, S., Jackson, C.Thomas, M.J., (2009). Antioxidant principles of *Tanacetum vulgare* L. aerial parts. *Natural Product Communications*, 4(11).
- [48] Firozy, M., Talebpour, Z.Sonboli, A., (2012). Essential oil composition and antioxidant activities of the various extracts of *Tanacetum sonbolii* Mozaff.(Asteraceae) from Iran. *Natural Product Research*, 26(23), 2204-2207.
- [49] Wu, C., Chen, F., Wang, X., Wu, Y., Dong, M., He, G., Galyean, R.D., He, L.Huang, G., (2007). Identification of antioxidant phenolic compounds in feverfew (*Tanacetum parthenium*) by HPLC-ESI-MS/MS and NMR. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 18(5), 401-410.
- [50] Bączek, K.B., Kosakowska, O., Przybył, J.L., Pióro-Jabrucka, E., Costa, R., Mondello, L., Gniewosz, M., Synowiec, A.Węglarz, Z., (2017). Antibacterial and antioxidant activity of essential oils and extracts from costmary (*Tanacetum balsamita* L.) and tansy (*Tanacetum vulgare* L.). *Industrial Crops and Products*, 102, 154-163.
- [51] Fishedick, J.T., Standiford, M., Johnson, D.A., De Vos, R.C., Todorović, S., Banjanac, T., Verpoorte, R.Johnson, J.A., (2012). Activation of antioxidant

response element in mouse primary cortical cultures with sesquiterpene lactones isolated from *Tanacetum parthenium*. *Planta Medica*, 78(16), 1725.

- [52] Ivănescu, B., Tuchiluş, C., Corciovă, A., Lungu, C., Mihai, C.T., Gheldiu, A.-M. Vlase, L., (2018). Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activity of *Tanacetum vulgare*, *Tanacetum corymbosum* and *Tanacetum macrophyllum* extracts. *Farmacia*, 66(2), 282-288.
- [53] Álvarez, Á.L., Habtemariam, S., Moneim, A.E.A., Melón, S., Dalton, K.P. Parra, F., (2015). A spiroketal-enol ether derivative from *Tanacetum vulgare* selectively inhibits HSV-1 and HSV-2 glycoprotein accumulation in Vero cells. *Antiviral Research*, 119, 8-18.
- [54] Cárdenas, J., Reyes-Pérez, V., Hernández-Navarro, M.D., Dorantes-Barrón, A.M., Almazán, S. Estrada-Reyes, R., (2017). Anxiolytic and antidepressant-like effects of an aqueous extract of *Tanacetum parthenium* L. Schultz-Bip (Asteraceae) in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 200, 22-30.
- [55] Azizi, V., Allahyari, F. Rezaali, F., (2020). The anxiolytic and antidepressant effect of *Tanacetum polycephalum* in the pentylenetetrazole kindled rats. *Research Journal of Pharmacognosy*, 7(2), 13-20.
- [56] Polatoğlu, K., Karakoç, Ö.C., Yücel, Y.Y., Demirci, B., Gören, N. Başer, K.H.C., (2015). Composition, insecticidal activity and other biological activities of *Tanacetum abrotanifolium* Druce. essential oil. *Industrial Crops and Products*, 71, 7-14.
- [57] Móricz, Á.M., Ott, P.G. Morlock, G.E., (2018). Discovered acetylcholinesterase inhibition and antibacterial activity of polyacetylenes in tansy root extract via effect-directed chromatographic fingerprints. *Journal of Chromatography A*, 1543, 73-80.
- [58] Rabito, M.F., Britta, E.A., Pelegrini, B.L., Scariot, D.B., Almeida, M.B., Nixdorf, S.L., Nakamura, C.V. Ferreira, I.C.P., (2014). In vitro and in vivo antileishmania activity of sesquiterpene lactone-rich dichloromethane fraction obtained from *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip. *Experimental Parasitology*, 143, 18-23.
- [59] Tabatabaei, S.M., Ebrahimi, S.N., Salehi, P., Sonboli, A., Tabefam, M., Kaiser, M., Hamburger, M. Farimani, M.M., (2019). Antiprotozoal germacranolide

- sesquiterpene lactones from *Tanacetum sonbolii*. *Planta Medica*, 85(05), 424-430.
- [60] Salamci, E., Kordali, S., Kotan, R., Cakir, A.Kaya, Y., (2007). Chemical compositions, antimicrobial and herbicidal effects of essential oils isolated from Turkish *Tanacetum aucheranum* and *Tanacetum chiliophyllum* var. *chiliophyllum*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35(9), 569-581.
- [61] Tabanca, N., Demirci, F., Demirci, B., Wedge, D.E.Baser, K.H.C., (2007). Composition, enantiomeric distribution, and antimicrobial activity of *Tanacetum argenteum* subsp. *flabellifolium* essential oil. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 45(5), 714-719.
- [62] Kubo, A.Kubo, I., (1995). Antimicrobial agents from *Tanacetum balsamita*. *Journal of Natural Products*, 58(10),1565-1569.
- [63] El-Shazly, A., Dorai, G.Wink, M., (2002). Composition and antimicrobial activity of essential oil and hexane-ether extract of *Tanacetum santolinoides* (DC.) Feinbr. and Fertig. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57(7-8), 620-623.
- [64] Mikulášová, M.Vaverková, Š., (2009). Antimicrobial effects of essential oils from *Tanacetum vulgare* L. and *Salvia officinalis* L., growing in Slovakia. *Nova Biotechnologica*, 9(2),161-166.
- [65] Polatoğlu, K., Demirci, F., Demirci, B., Gören, N.Başer, K.H.C., (2012). Essential oil composition and antimicrobial activities of *Tanacetum chiliophyllum* (Fisch. & Mey.) Schultz Bip. var. *monocephalum* Grierson from Turkey. *Records of Natural Products*, 6(2), 184-188.
- [66] Polatoglu, K., Demirci, F., Demirci, B., Gören, N.Baser, K.H.C., (2010). Antibacterial activity and the variation of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. essential oils from Turkey. *Journal of Oleo Science*, 59(4), 177-184.
- [67] Gören, N., Jakupovic, J.Topal, Ş., (1990). Sesquiterpene lactones with antibacterial activity from *Tanacetum argyrophyllum* var. *argyrophyllum*. *Phytochemistry*, 29(5), 1467-1469.
- [68] González, A.G., Barrera, J. B., Méndez, J. T., Sanchez, M. L., & Martínez, J. L. E. , (1990). Sesquiterpene lactones and other constituents of *Tanacetum* species. *Phytochemistry*, 31(5), 1821-1822.
- [69] Gören, N., (1995). Sesquiterpene lactones from *Tanacetum praeteritum*. *Phytochemistry*, 38(5), 1261-1264.

- [70] Doskotch, R.W., El-Feraly, F.S.Hufford, C.D., (1971). Sesquiterpene lactones from pyrethrum flowers. *Canadian Journal of Chemistry*, 49(12), 2103-2110.
- [71] Gören, N., Tahtasakal, E., Krawiec, M., Watson, W.H. , (1996). A guaianolide from *Tanacetum argenteum* subsp. *flabellifolium*. *Phytochemistry*, 42(3), 757.
- [72] Yunusov, A., Abduasimov, B.Sidyakin, G., (1980). Dentatin-a from *Tanacetum vulgare*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii* (4), 573-573.
- [73] Gören, N., Tahtasakal, E., Arda, N. , (1994). Further investigation on *Tanacetum chiliophyllum* var. *Heimerlei*. *Turkish Journal of Chemistry*, 18, 296-300.
- [74] Gören, N.E., T., (1997). Sesquiterpenoids from *Tanacetum argenteum* subsp. *canum* var. *canum*. *Phytochemistry*, 45(1), 107.
- [75] Samek, Z., Holub, M., Grabarczyk, H., Drożdż, B.Herout, V., (1973). On terpenes. CCXXIX. Structure of sesquiterpenic lactones from *Tanacetum vulgare* L. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 38(7), 1971-1976.
- [76] Sanz, J.F.Marco, J.A., (1991). NMR studies of tatrudin A and some related sesquiterpene lactones from *Tanacetum vulgare*. *Journal of Natural Products*, 54(2), 591-596.
- [77] Gören, N., Tahtasakal, E., Pezzuto, J.M., Cordell, G.A., Schwarz, B., Proksch, P., (1994). Sesquiterpene lactones from *Tanacetum argenteum*. *Phytochemistry*, 36(2), 389.
- [78] Gören, N.Tahtasakal, E., (1994). Constituents of *Tanacetum densum* subsp. *Eginense*. *Phytochemistry*, 36(5), 1281.
- [79] Gören, N., Bozok-Johansson, C., Jakupovic, J., Lin, L.-J., Shieh, H.-L., Cordell, G.A.Çelik, N., (1992). Sesquiterpene lactones with antibacterial activity from *Tanacetum densum* subsp.*sivasicum*. *Phytochemistry*, 31(1), 101-104.
- [80] Gören, N., Ulubelen, A., Bozok-Johansson, C.Tahtasakal, E., (1993). Sesquiterpene lactones from *Tanacetum densum* subsp. *amani*. *Phytochemistry*, 33(5), 1157-1159.
- [81] Gören, N.Tahtasakal, E., (1993). Sesquiterpenes of *Tanacetum chiliophyllum* var. *Heimerlei*. *Phytochemistry*, 34(4), 1071.
- [82] Milbrodt, M., Schröder, F.König, W.A., (1997). 3, 4-β-Epoxy-8-deoxycumambrin B, A sesquiterpene lactone from *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry*, 44(3), 471-474.



- [83] Stefanović, M., Mladenović, S., Dermanović, M., Ristić, N., (1985). Sesquiterpene lactones from the domestic plant species *Tanacetum parthenium* L.(compositae). *Journal of the Serbian Chemical Society* 50(6), 263.
- [84] Romo, J., Romo de Vivar, A., Trevino, R., Joseph-Nathan, P., Diaz, E., (1970). Constituents of *Artemisia* and *chrysanthemum* species-the structures of chrysartemins A and B. *Phytochemistry*, 9(7), 1615.
- [85] Abduazimov, B.K., Yunusov, A., Sidiyakin, G., (1980), Santamarin, ridentin-b and isoridentin from *Tanacetum Santolina*. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, (6), 844-844.
- [86] Bohlmann, F., Suwita, A., Natu, A.A., Czerson, H., Suwita, A., (1977). Natürlich vorkommende Terpen-Derivate, 106. Über weitere  $\alpha$ -Longipinen-Derivate aus Compositen. *Chemische Berichte*, 110(11), 3572-3581.
- [87] Grabarczyk, H., (1973). Sesquiterpene Lactones. VII. Lactones in Aerial Parts of *Tanacetum Vulgare* L. *Polish Journal of Pharmacology and Pharmacy*, 25(1), 95.
- [88] Begley, M.J., Hewlett, M.J., Knight, D.W., (1989). Revised structures for guaianolide  $\alpha$ -methylenebutyro-lactones from feverfew. *Phytochemistry*, 28(3), 940-943.
- [89] Iriuchijima, S., Tamura, S., (1970). Stereochemistry of pyrethrosin, cyclopyrethrosin acetate and isocyclopyrethrosin acetate. *Agricultural and Biological Chemistry*, 34(2), 204-209.
- [90] Mnatsakanyan, V.L.V., R., (1973). Analyse phytochimique de *Tanacetum Mycropphyllum* Willd I. lactones sesquiterpeniques Tamarine *Armjanskii Khimicheskii Zhurnal*, 26, 914.
- [91] Mnatsakanyan, V., Revazova, L., (1974). Tamirin from *Tanacetum chiliophyllum*. *Chemistry of Natural Compounds*, 10(3), 394-394.
- [92] Rustaiyan, A., Zare, K., Habibi, Z., Hashemi, M., (1990). Germacranolides from *Tanacetum polycephalum*. *Phytochemistry*, 29(9), 3022-3023.
- [93] Appendino, G., Gariboldi, P., Nano, G.M., (1983). Tanacetols A and B, non-volatile sesquiterpene alcohols, from *Tanacetum vulgare*. *Phytochemistry*, 22(2), 509-512.
- [94] Öksüz, S., (1990). Sesquiterpenoids and other constituents from *Tanacetum cilicium*. *Phytochemistry*, 29(3), 887.

- [95] Yunusov, A.I.S., G.P., (1983). Pyrethrin- A new guaianolide from Pyrethrin parthenifolium. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii* 19(4), 532.
- [96] Bohlmann, F.Knoll, K., (1978). Neue farnesolderivate aus *Tanacetum odessanum*. *Phytochemistry*, 17(2), 319.
- [97] González, A.G., Barrera, J.B., Méndez, J.T., Sanchez, M.L.Martínez, J.L.E., (1992). Sesquiterpene lactones and other constituents of *Tanacetum* species. *Phytochemistry*, 31(5), 1821-1822.
- [98] Williams, C.A.H., J.B.; Geiger, H.; Hout, (1999). The flavonoids of *Tanacetum parthenium* and *T. vulgare* and their anti-inflammatory properties. *Phytochemistry* 57(3), 417.
- [99] Wollenweber, E.Rustaiyan, A., (1991). Exudate flavonoids in three persian asteraceae species. *Biochemical Systematics and Ecology* 19, 673.
- [100] Gören, N., (1994). Flavonoids of *Tanacetum praeteritum* subsp. praeteritum *İstanbul Journal of Pharmacy*, 30, 25.
- [101] Sashida, Y., Nakata, H., Shimomura, H.Kagaya, M., (1983). Sesquiterpene lactones from pyrethrum flowers. *Phytochemistry*, 22(5), 1219-1222.
- [102] Greger, H., (1969). Flavonoids and systematics of the Anthemideae (Asteraceae). *Die Naturwissenschaften*, 56(9), 467-468.
- [103] Khvorost, P.P., (1969). *Chemical Abstracts*, 71. p.19517
- [104] Stepanova, T., Glyzin, V., Smirnova, L.Isaikima, A., (1981). *Tanacetum sibiricum* flavonoids. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*, 519-520.
- [105] Adikhodzhaeva, K., Bankovskii, A., Glyzin, V.Smirnova, L., (1978). Chemical composition of the preparation tanacin from the flowers of *Tanacetum vulgare* L. II. *Farmatsiya*, 27(3), 24-28.
- [106] Stepanova, T.Glysin, V., (1980). Flavonoids of *Tanacetum Boreale*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*, 566-566.
- [107] Wollenweber, E., Mann, K.Valant-Vetschera, K., (1989). External flavonoid aglycones in *Artemisia* and some further Anthemideae (Asteraceae). *Fitoterapia*, 60(5), 460-463.
- [108] Martinez, J., Silván, A.M., Abad, M.J., Bermejo, P., Villar, A.Söllhuber, M., (1997). Isolation of two flavonoids from *Tanacetum microphyllum* as PMA-induced ear edema inhibitors. *Journal of Natural Products*, 60(2), 142-144.

- [109] Williams, C.A., Hoult, J., Harborne, J.B., Greenham, J.Eagles, J., (1995). A biologically active lipophilic flavonol from *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry*, 38(1), 267-270.
- [110] Ali, A., Tabanca, N., Kurkcuoglu, M., Duran, A., Blythe, E.K., Khan, I.A.Can Baser, K.H., (2014). Chemical composition, larvicidal, and biting deterrent activity of essential oils of two subspecies of *Tanacetum argenteum* (Asterales: Asteraceae) and individual constituents against *Aedes aegypti* *Journal of Medical Entomology*, 51(4), 824-830.
- [111] Polatoglu, K., Sen, A., Kandemir, A.Gören, N., (2012). Essential oil composition and DPPH scavenging activity of endemic *Tanacetum mucroniferum* Hub.–Mor. & Grierson from Turkey. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15(1), 66-74.
- [112] Bagci, E.Kocak, A., (2010). Essential oil composition of two endemic *Tanacetum* (*T. nitens* (Boiss. & Noe) Grierson and *T. argenteum* (Lam.) Willd. subsp. *argenteum*)(Asteraceae) taxa, growing wild in Turkey. *Industrial Crops and Products*, 31(3), 542-545.
- [113] Polatoglu, K., Demirci, F., Demirci, B., Gören, N.Baser, K.H.C., (2010). Essential oil composition and antibacterial activity of *Tanacetum argenteum* (Lam.) Willd. ssp. *argenteum* and *T. densum* (Lab.) Schultz Bip. ssp. *amani* heywood from Turkey. *Journal of Oleo Science*, 59(7), s. 361-367.
- [114] Gören, N., Demirci, B.Başer, K.H.C., (2001). Composition of the essential oils of *Tanacetum* spp. from Turkey. *Flavour and fragrance journal*, 16(3), 191-194.
- [115] Yousefzadi, M., Ebrahimi, S.N., Sonboli, A., Miraghasi, F., Ghiasi, S., Arman, M.Mosaffa, N., (2009). Cytotoxicity, antimicrobial activity and composition of essential oil from *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*. *Natural Product Communications*, 4(1).
- [116] Akpulat, H.A., Tepe, B., Sokmen, A., Daferera, D.Polissiou, M., (2005). Composition of the essential oils of *Tanacetum argyrophyllum* (C. Koch) Tvetzel. var. *argyrophyllum* and *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip.(Asteraceae) from Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33(5), 511-516.
- [117] Özer, H., Kılıç, H., Güllüce, M.Şahin, F., (2006). Essential oil composition of *Tanacetum sorbifolium* (Boiss.) Grierson from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, 21(3), 543-545.

- [118] Polatoğlu, K., Demirci, B., Demirci, F., G6ren, N.Başer, K.H.C., (2012). The essential oil composition of *Tanacetum densum* (Labill.) Heywood ssp. eginense Heywood from Turkey. *Record of Natural Products*, 6(4), 402.
- [119] Bagci, E., Kursat, M., Kocak, A.Gur, S., (2008). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Tanacetum balsamita* L. subsp. balsamita and *T. chiliophyllum* (Fisch. et Mey.) Schultz Bip. var. chiliophyllum (Asteraceae) from Turkey. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 11(5), 476-484.
- [120] Polatoglu, K., Demirci, F., Demirci, B., G6ren, N.Baser, K.H.C., (2010). Antimicrobial activity and essential oil composition of a new *T. argyrophyllum* (C. Koch) Tvetzel var. argyrophyllum chemotype. *Journal of Oleo Science*, 59(6), 307-313.
- [121] Javidnia, K., Gholami, M., Firuzi, O., 6zer, H.Kandemir, A., (2010). Antimicrobial and antioxidant activity and chemical composition of the essential oil of *Tanacetum macrophyllum* (Waldst. et Kit.) Schultz. Bip. *Journal of Essential Oil Research*, 22(2), 186-188.
- [122] Demirci, B.Başer, K.H.C., (2007). The essential oil composition of *Tanacetum macrophyllum* (Waldst. et Kit.) Schultz. Bip. *Journal of Essential Oil Research*, 19(3), 255-257.
- [123] Bagci, E., (2009). Composition of the essential oils of *Tanacetum densum* (Lab.) Schultz Bip. subsp. amani and *T. densum* (Lab.) Schultz Bip. subsp. laxum (Asteraceae) from Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 21(8), 6547-6554.
- [124] Polatoğlu, K., G6ren, N., Başer, K.H.C.Demirci, B., (2009). The essential oil composition of *Tanacetum densum* (Labill.) Heywood ssp. sivasicum Hub.-Mor. & Grierson from Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 21(3), 200-202.
- [125] Hendriks, H., Bos, R.Woerdenbag, H., (1996). The Essential Oil of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip. *Flavour and Fragrance Journal*, 11(6), 367-371.
- [126] Fırat, S., (1997). *Kobaylarda radyasyonla oluşan akciğer hasarında doku glutatyon, glutatyon peroksidaz, glutatyon-S-transferaz d6zeyleri ve N-asetil sistein'in bu sistem 6zerindeki etkisi*. Uzmanlık Tezi. Ankara: Gazi 6niversitesi Tıp Fak6ltesi Biyokimya Anabilim Dalı.
- [127] Halliwell, B., Gutteridge, J.M.Cross, C.E., (1992). Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 119(6), 598-620.

- [128] Akkuş, İ., (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. *Mimoza Yayınları*, 106-111.
- [129] Gülçin, İ., Oktay, M., Kireççi, E.Küfrevioğlu, Ö.İ., (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83(3), 371-382.
- [130] Annakkaya, P., (2012). *Turna yemişi (Vaccinium macrocarpon) ve mersinin (Myrtus communis) liyofilize edilmiş su ekstraterinin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi ve fenolik içeriklerinin aydınlatılması*. Yüksek Lisans Erzurum: Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [131] Sies, H., (1991). Oxidative stress: from basic research to clinical application. *The American Journal of Medicine*, 91(3), S31-S38.
- [132] Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M.Telser, J., (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.
- [133] Fang, Y.-Z., Yang, S.Wu, G., (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-879.
- [134] Pham-Huy, L.A., He, H.Pharm-Huy, C., (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science: IJBS*, 4(2), 89.
- [135] Çakatay, U.Kayalı, R., (2006). Serbest radikal biyokimyasının tarihsel süreçteki gelişimi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 37(4), 162-168.
- [136] Gülçin, I., (2007). Comparison of in vitro antioxidant and antiradical activities of L-tyrosine and L-Dopa. *Amino Acids*, 32(3), 431.
- [137] Halliwell, B., (1996). Commentary oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radical Research*, 25(1), 57-74.
- [138] Prior, R.L.Cao, G., (2000). Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. *HortScience*, 35(4), 588-592.
- [139] Mavi, A., (2005). *İnsan Eritrosit ve Lökositlerinden Süperoksit Dismutaz Enziminin Saflaştırılması ve Bazı İlaçların Enzim Üzerine Etkilerinin İncelenmesi*. Doktora Tezi. Erzurum: Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

- [140] Gülçin, I., Alici, H.A.Cesur, M., (2005). Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activities of propofol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53(3), 281-285.
- [141] Pratt, D.E.Hudson, B.J., *Natural antioxidants not exploited commercially*, in *Food Antioxidants*. 1990, Springer, 171-191.
- [142] Zahid, H., Rizwani, G.H., Khan, M.Khalid, S., (2016). Anti-inflammatory and Antioxidant Activities of *Mimusops elengi* L. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 1-10.
- [143] Cao, G., Sofic, E.Prior, R.L., (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, 22(5), 749-760.
- [144] Romanova, D., Vachalkova, A., Cipak, L., Ovesna, Z.Rauko, P., (2001). Study of antioxidant effect of apigenin, luteolin and quercetin by DNA protective method. *Neoplasma*, 48(2), 104-107.
- [145] Huang, D., Ou, B.Prior, R.L., (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- [146] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M.Rice-Evans, C., (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- [147] Xiao, F., Xu, T., Lu, B.Liu, R., (2020). Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, 1(1), 60-69.
- [148] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E.Berset, C., (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- [149] Kassim, N.K., Lim, P.C., Ismail, A.Awang, K., (2019). Isolation of antioxidative compounds from *Micromelum minutum* guided by preparative thin layer chromatography-2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (PTLC-DPPH) bioautography method. *Food Chemistry*, 272, 185-191.
- [150] Foti, M.C.Amorati, R., (2009). Non-phenolic radical-trapping antioxidants. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 61(11), 1435-1448.
- [151] Dudonne, S., Vitrac, X., Coutiere, P., Woillez, M.Mérillon, J.-M., (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30

- plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1768-1774.
- [152] Zulueta, A., Esteve, M.J.Frígola, A., (2009). ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 114(1), 310-316.
- [153] Singleton, V.L., Orthofer, R.Lamuella-Raventós, R.M., (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- [154] Chang, C.-C., Yang, M.-H., Wen, H.-M.Chern, J.-C., (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3).
- [155] De Souza, R.F.De Giovani, W.F., (2004). Antioxidant properties of complexes of flavonoids with metal ions. *Redox Report*, 9(2), 97-104.
- [156] Hanhineva, K., Törrönen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H.Poutanen, K., (2010). Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(4), 1365-1402.
- [157] Williamson, G., (2013). Possible effects of dietary polyphenols on sugar absorption and digestion. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(1), 48-57.
- [158] Karabaş, T., (2016). *Bazı Brassicaceae sebzeleinin sindirim enzimlerdi üzerinde In Vitro inhibitör etkilerinin araştırılması*. Edirne: Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [159] Yur, S., Tekin, M., Göger, F., Başer, K.H., Özek, T.Özek, G., (2017). Composition and potential of *Tanacetum haussknechtii* Bornm. Grierson as antioxidant and inhibitor of acetylcholinesterase, tyrosinase, and  $\alpha$ -amylase enzymes. *International Journal of Food Properties*, 20, 2359-2378.
- [160] Özek, G., (2018). Chemical diversity and biological potential of *Tanacetum praeteritum* subsp. *praeteritum* essential oils. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 5(2), 493-510.
- [161] Khan, M.F., Rawat, A.K., Khatoon, S., Hussain, M.K., Mishra, A.Negi, D.S., (2018). In vitro and in vivo antidiabetic effect of extracts of *Melia azedarach*, *Zanthoxylum alatum*, and *Tanacetum nubigenum*. *Integrative Medicine Research*, 7(2), 176-183.

- [162] Zengin, G., Sarikurkcu, C., Aktumsek, A., Ceylan, R., (2014). Sideritis galatica Bornm: a source of multifunctional agents for the management of oxidative damage, Alzheimer's's and diabetes mellitus. *Journal of Functional Foods*, 11, 538-547.
- [163] Voet, D., Voet, J.G., (1995). *Biochemistry*, America: John Wiley & Sons. 1361.
- [164] Commission, E.P., (1980). *European pharmacopoeia*: Maisonneuve.
- [165] Möller, R., Nürnberg, G., Albrecht, E., Ruth, W., Brockmann, G.A., Dannenberger, D., (2019). A method for analyzing fatty acids in cattle hair, with special emphasis on lauric acid and myristic acid. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(11).
- [166] Özek, G., Özek, T., Işcan, G., Başer, K., Hamzaoglu, E., Duran, A., (2007). Comparison of hydrodistillation and microdistillation methods for the analysis of fruit volatiles of *Prangos pabularia* Lindl., and evaluation of its antimicrobial activity. *South African Journal of Botany*, 73(4), 563-569.
- [167] Joulain, D., König, W., Hochmuth, D., (2001). *Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils: Library of Mass Finder 2.1*, Hamburg, Germany.
- [168] Adams, R.P., (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*: Allured publishing corporation Carol Stream, IL.
- [169] Berger, R.G., (2007). *Flavours and fragrances: chemistry, bioprocessing and sustainability*: Springer Science & Business Media.
- [170] Akkol, E.K., Göger, F., Koşar, M., Başer, K.H.C., (2008). Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. *Food Chemistry*, 108(3), 942-949.
- [171] Krishnaiah, D., Sarbatly, R., Nithyanandam, R., (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioprocesses Processing*, 89(3), 217-233.
- [172] Marco, G.J., (1968). A rapid method for evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 45(9), 594-598.
- [173] Koşar, M., Göger, F., Can Başer, K.H., (2008). In vitro antioxidant properties and phenolic composition of *Salvia virgata* Jacq. from Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(7), 2369-2374.



- [174] Miliauskas, G., Venskutonis, P., Van Beek, T., (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85(2), 231-237.
- [175] Yang, X.-W., Huang, M.-Z., Jin, Y.-S., Sun, L.-N., Song, Y., Chen, H.-S., (2012). Phenolics from *Bidens bipinnata* and their amylase inhibitory properties. *Fitoterapia*, 83(7), 1169-1175.
- [176] Wagner, H., Bladt, S., (1996). *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*: Springer Science & Business Media.
- [177] Rabel, F., Sherma, J., (2017). Review of the state of the art of preparative thin-layer chromatography. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 40(4), 165-176.
- [178] Amsterdam, D., (1996). Susceptibility testing of antimicrobials in liquid media. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Ed. 6. (<https://doctorlib.info/pharmacology/antibiotics-laboratory-medicine/4.html>)
- [179] Clinical Institute, L.S., (2008), *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts*, Clinical and Laboratory Standards Institute Wayne, PA.
- [180] Wikler, M.A., (2006). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. *National Committee for Clinical Laboratory Standards*, 26, M7-A7.
- [181] Erol, P.C., Sarikahya, N.B., Karakoc, O.C., Gokce, A., Demirci, F., Kirmizigul, S., Goren, N., (2017). Fatty acid composition and biological activities of *Tanacetum zahlbruckneri* (Náb.) Grierson growing in Turkey. *Records of Natural Products*, 11(4), 401-405.
- [182] Emre, İ., (2021). The biochemical content and antioxidant capacities of endemic *Tanacetum densum* (Lab.) Schultz Bip. subsp. *laxum*, and *Tanacetum densum* (Lab.) Schultz Bip. subsp. *amani* Heywood growing in Turkey. *Brazilian Journal of Biology*, 81(4), 1106-1114.
- [183] Vasileva, A., Iliev, I., Lozanov, V., Dimitrova, M., Mitev, V., Ivanov, I., (2019). In vitro study on the antitumor activity of *Tanacetum vulgare* L. extracts. *Bulgarian Chemical Communications*, 51, 249-255.
- [184] Zengin, G., Cvetanović, A., Gašić, U., Stupar, A., Bulut, G., Şenkardes, I., Dogan, A., Sinan, K.I., Uysal, S., Aumeeruddy-Elalfi, Z., (2020). Modern and

- traditional extraction techniques affect chemical composition and bioactivity of *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. *Industrial Crops and Products*, 146.
- [185] Venditti, A., Frezza, C., Sciubba, F., Serafini, M., Bianco, A., Cianfaglione, K., Lupidi, G., Quassinti, L., Bramucci, M. Maggi, F., (2018). Volatile components, polar constituents and biological activity of tansy daisy (*Tanacetum macrophyllum* (Waldst. et Kit.) Schultz Bip.). *Industrial Crops and Products*, 118, 225-235.
- [186] Benassi-Zanqueta, É., Marques, C.F., Valone, L.M., Pellegrini, B.L., Bauermeister, A., Ferreira, I.C.P., Lopes, N.P., Nakamura, C.V., Dias Filho, B.P.Natali, M.R.M., (2019). Evaluation of anti-HSV-1 activity and toxicity of hydroethanolic extract of *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip.(Asteraceae). *Phytomedicine*, 55, 249-254.
- [187] Mekinić, I.G., Burčul, F., Blažević, I., Skroza, D., Kerum, D.Katalinić, V., (2013). Antioxidative/acetylcholinesterase inhibitory activity of some Asteraceae plants. *Natural Product Communications*, 8(4).
- [188] Gorzalczany, S., Sülsen, V., Redko, F., Vescina, C., Muschietti, L., Martino, V.Acevedo, C., (2008). Choleric and antispasmodic effects of *Lippia integrifolia* aqueous extract. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(1), 16-20.
- [189] Hemmerle, H., Burger, H.-J., Below, P., Schubert, G., Rippel, R., Schindler, P.W., Paulus, E.Herling, A.W., (1997). Chlorogenic acid and synthetic chlorogenic acid derivatives: novel inhibitors of hepatic glucose-6-phosphate translocase. *Journal of Medicinal Chemistry*, 40(2), 137-145.
- [190] Kwon, H.C., Jung, C.M., Shin, C.G., Lee, J.K., Choi, S.U., Kim, S.Y.Lee, K.R., (2000). A new caffeoly quinic acid from aster scaber and its inhibitory activity against human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) integrase. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 48(11), 1796-1798.
- [191] Wang, G.-F., Shi, L.-P., Ren, Y.-D., Liu, Q.-F., Liu, H.-F., Zhang, R.-J., Li, Z., Zhu, F.-H., He, P.-L.Tang, W., (2009). Anti-hepatitis B virus activity of chlorogenic acid, quinic acid and caffeic acid in vivo and in vitro. *Antiviral Research*, 83(2), 186-190.
- [192] Albayrak, S., Aksoy, A., Sağdıç, O.Budak, Ü., (2010). Phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial properties of *Helichrysum* species collected from eastern Anatolia, Turkey. *Turkish Journal of Biology*, 34(4), 463-473.

- [193] Vitalini, S., Beretta, G., Iriti, M., Orsenigo, S., Basilico, N., Dall'Acqua, S., Iorizzi, M.Fico, G., (2011). Phenolic compounds from *Achillea millefolium* L. and their bioactivity. *Acta Biochimica Polonica*, 58(2).
- [194] Kim, E.-O., Oh, J.-H., Lee, S.-K., Lee, J.-Y., Choi, S.-W., (2007). Antioxidant properties and quantification of phenolic compounds from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seeds. *Food Science and Biotechnology*, 16(1), 71-77.
- [195] Yu, S.-Y., Lee, Y.-J., Kim, J.-D., Kang, S.-N., Lee, S.-K., Jang, J.-Y., Lee, H.-K., Lim, J.-H., Lee, O.-H., (2013). Phenolic composition, antioxidant activity and anti-adipogenic effect of hot water extract from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed. *Nutrients*, 5(12), 4894-4907.
- [196] Carvalho, I.S., Cavaco, T., Brodelius, M., (2011). Phenolic composition and antioxidant capacity of six artemisia species. *Industrial Crops and Products*, 33(2), 382-388.
- [197] Majewski, M., Lis, B., Juśkiewicz, J., Ognik, K., Borkowska-Sztachańska, M., Jedrejek, D., Stochmal, A., Olas, B., (2020). Phenolic fractions from dandelion leaves and petals as modulators of the antioxidant status and lipid profile in an in vivo study. *Antioxidants*, 9(2), 131.
- [198] Jędrejek, D., Kontek, B., Lis, B., Stochmal, A., Olas, B., (2017). Evaluation of antioxidant activity of phenolic fractions from the leaves and petals of dandelion in human plasma treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe. *Chemico-biological Interactions*, 262, 29-37.
- [199] Gostin, A.-I., Waisundara, V.Y., (2019). Edible flowers as functional food: A review on artichoke (*Cynara cardunculus* L.). *Trends in Food Science & Technology*, 86, 381-391.
- [200] Marksa, M., Zymone, K., Ivanauskas, L., Radušienė, J., Pukalskas, A., Raudone, L., (2020). Antioxidant profiles of leaves and inflorescences of native, invasive and hybrid *Solidago* species. *Industrial Crops and Products*, 145.
- [201] Jaiswal, R., Kiprotich, J., Kuhnert, N., (2011). Determination of the hydroxycinnamate profile of 12 members of the Asteraceae family. *Phytochemistry*, 72(8), 781-790.
- [202] Güneş, A., Kordali, Ş., Turan, M., Bozhüyük, A.U., (2019). Determination of antioxidant enzyme activity and phenolic contents of some species of the

Asteraceae family from medicinal plants. *Industrial Crops and Products*, 137, 208-213.

- [203] Spínola, V.Castilho, P.C., (2017). Evaluation of Asteraceae herbal extracts in the management of diabetes and obesity. Contribution of caffeoylquinic acids on the inhibition of digestive enzymes activity and formation of advanced glycation end-products (in vitro). *Phytochemistry*, 143, 29-35.
- [204] Didier, F., Catherine, F., Odile, T.Jean-Louis, L., (2011). Caffeoyl derivatives: major antioxidant compounds of some wild herbs of the Asteraceae family. *Food and Nutrition Sciences*, 2011.
- [205] Danino, O., Gottlieb, H.E., Grossman, S.Bergman, M., (2009). Antioxidant activity of 1, 3-dicaffeoylquinic acid isolated from *Inula viscosa*. *Food Research International*, 42(9), 1273-1280.
- [206] Hong, S., Joo, T.Jhoo, J.-W., (2015). Antioxidant and anti-inflammatory activities of 3, 5-dicaffeoylquinic acid isolated from *Ligularia fischeri* leaves. *Food Science and Biotechnology*, 24(1), 257-263.

http-1 <http://www.bizimbitkiler.org.tr>, (Erişim tarihi: 02.04.2021)

http-2 <http://chimactiv.agroparistech.fr/en/aliments/antioxydant-dpph/principe>, (Erişim tarihi: 01.04.2021).

http-3 <https://sciencesolutions.wiley.com/solutions/technique/gc-ms/>, (Erişim tarihi: 02.04.2021)

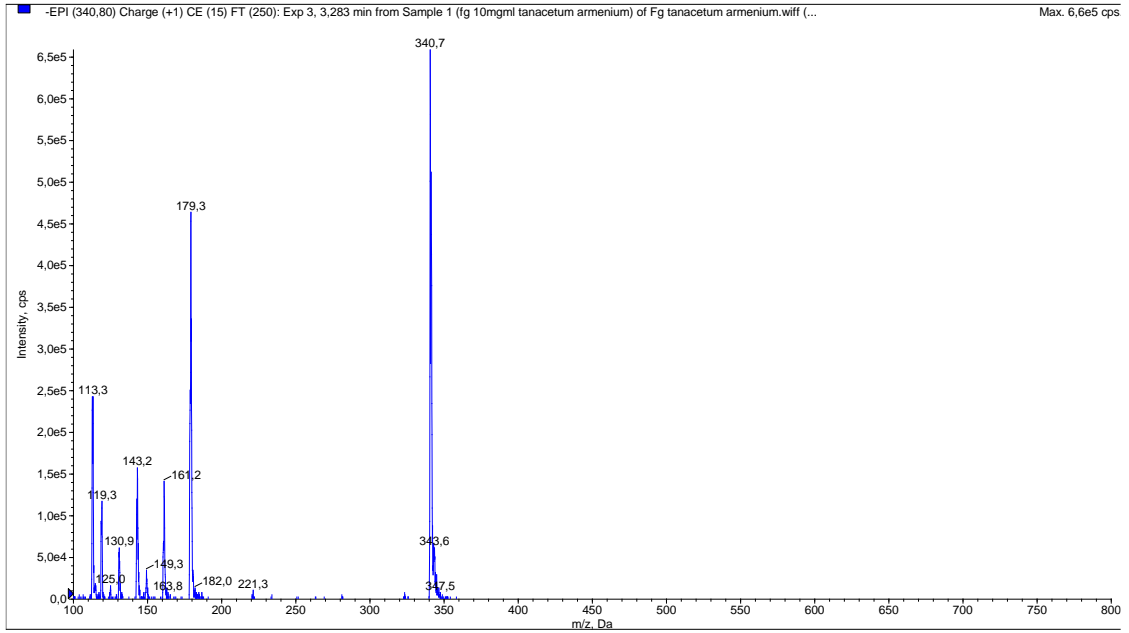
http-4 <https://www.camag.com/applications/application-Notes>, (Erişim tarihi: 01.04.2021)

http-5 <https://www.hptlc.com/version-2016/pdf/2011basel/P3g.pdf>, (Erişim tarihi: 06.04.2021)

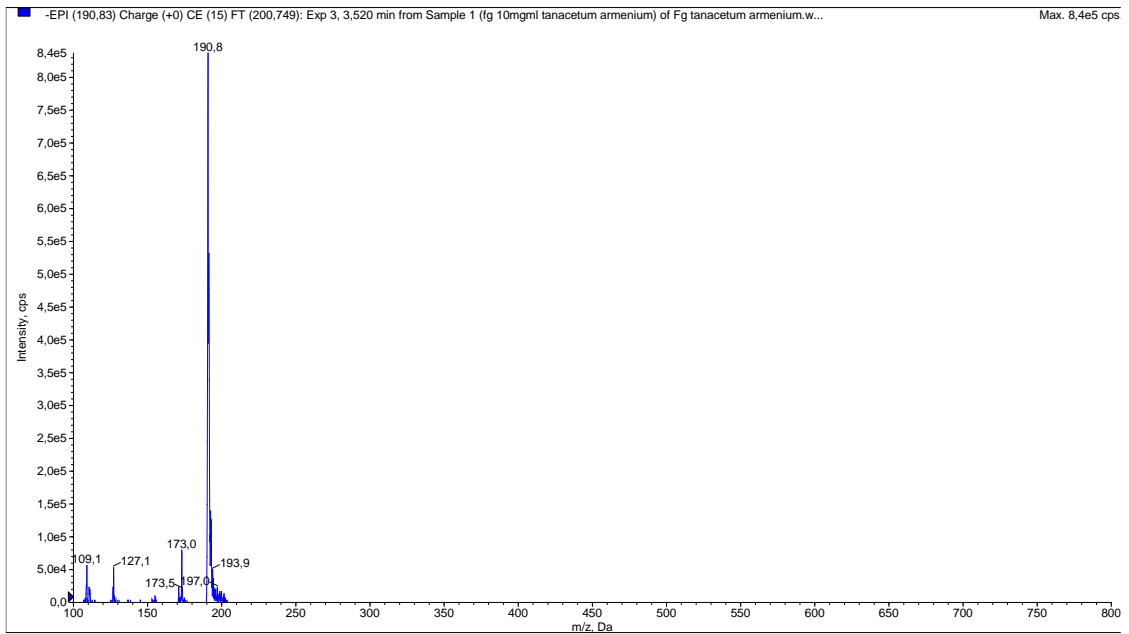
## EKLER

### EK-1. *T. armenum* metanollü ekstresindeki bileşenlerin kütle spektrumları

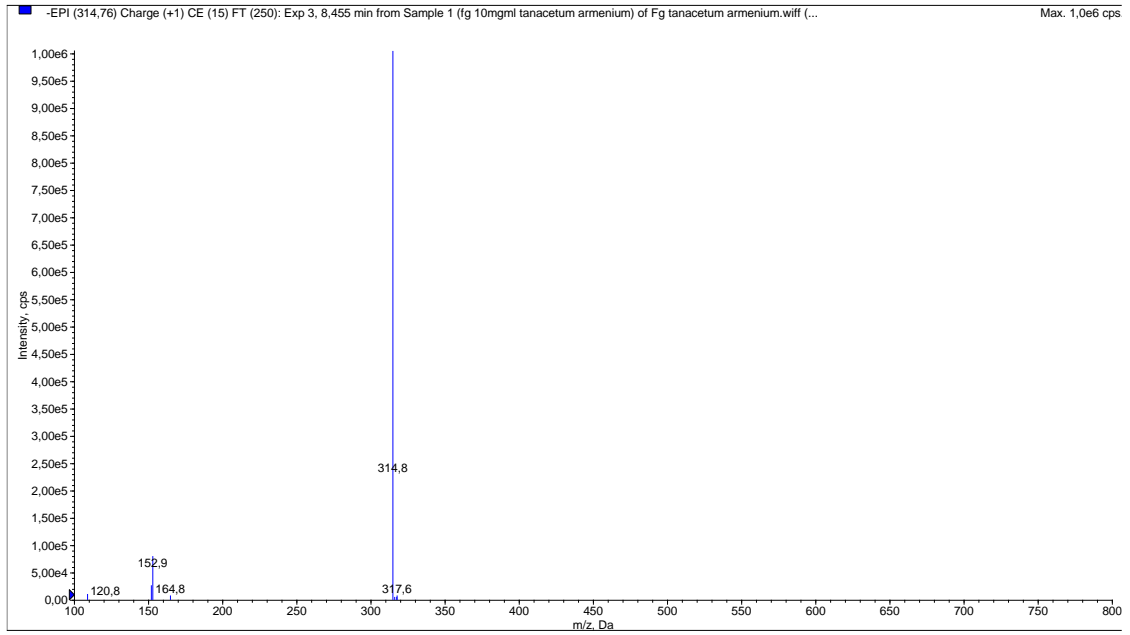
#### a) Kafeoil glukozit



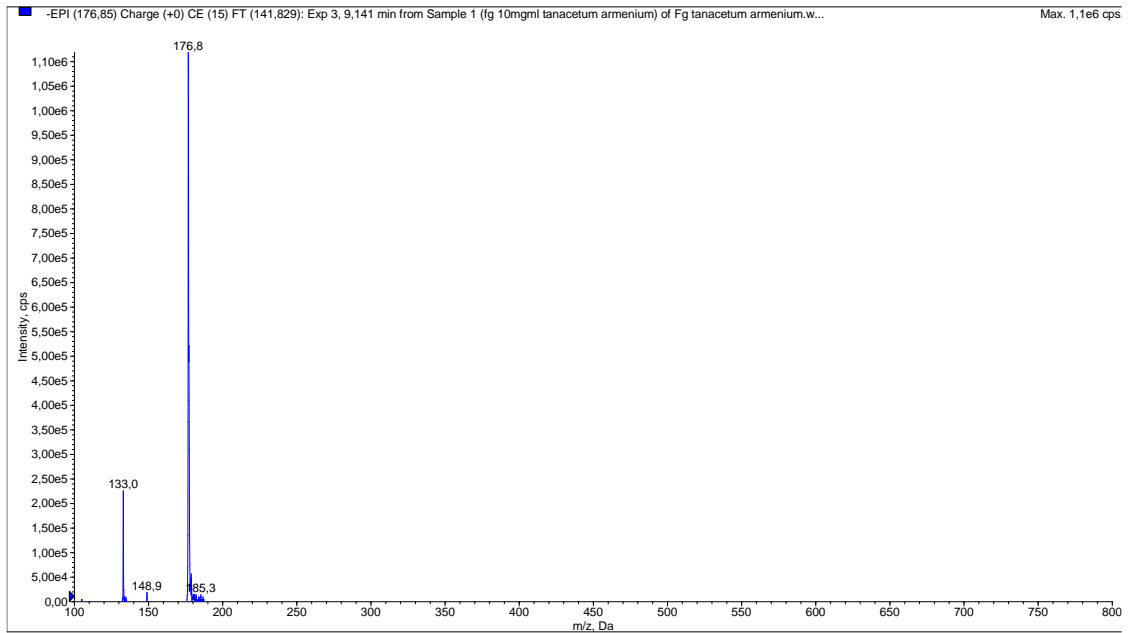
#### b) Kinik asit



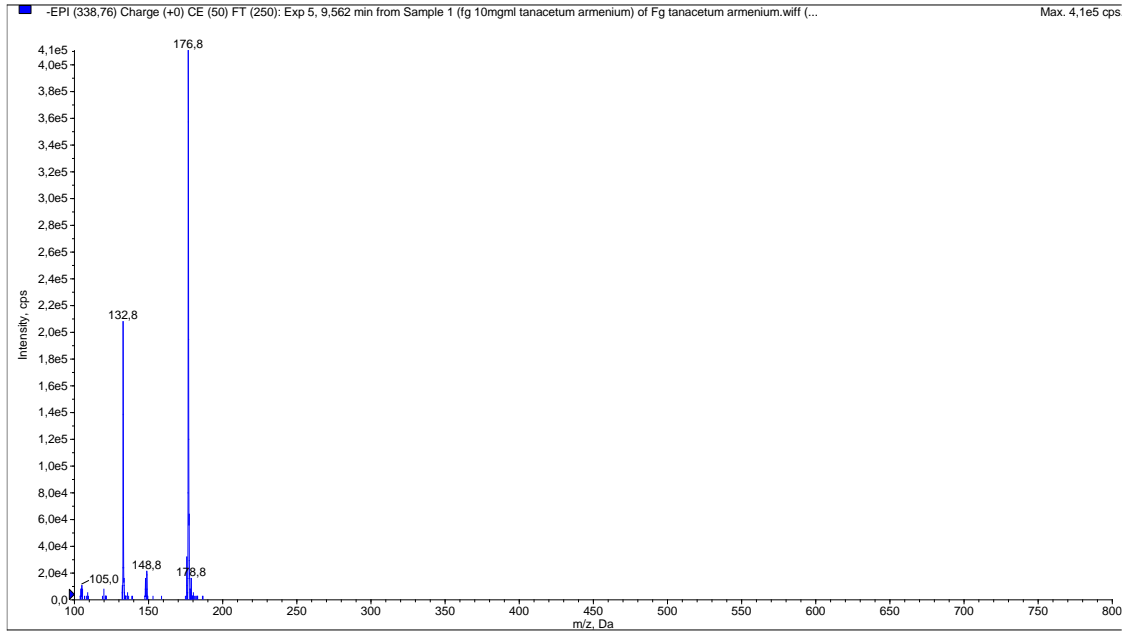
### c) Protokateşik asit heksozit



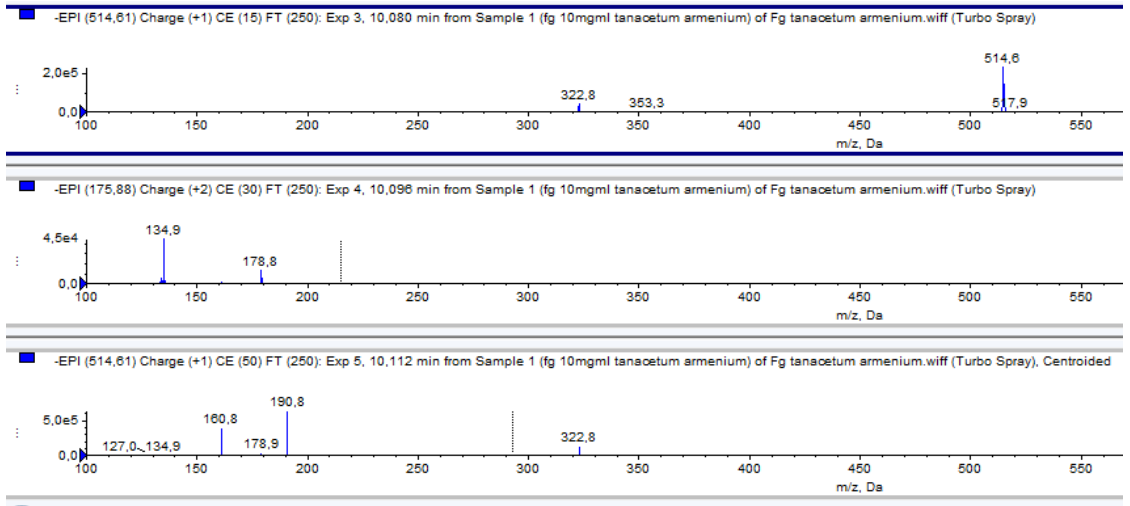
### d) Dihidroksi kumarin benzeri



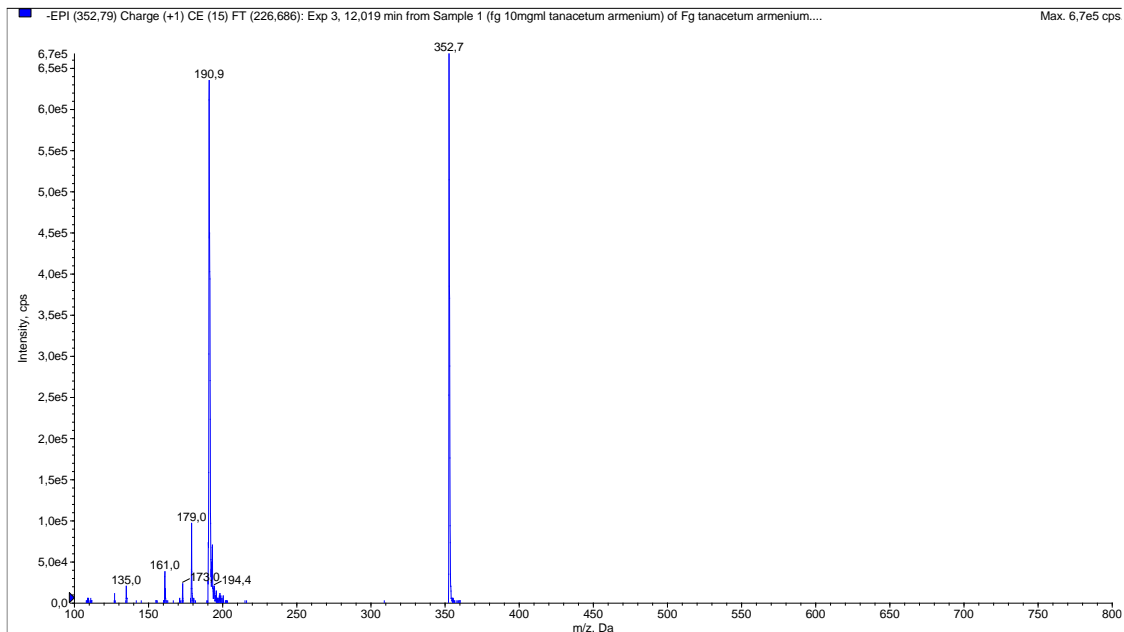
### e) Dihidroksi kumarin glukozit benzeri



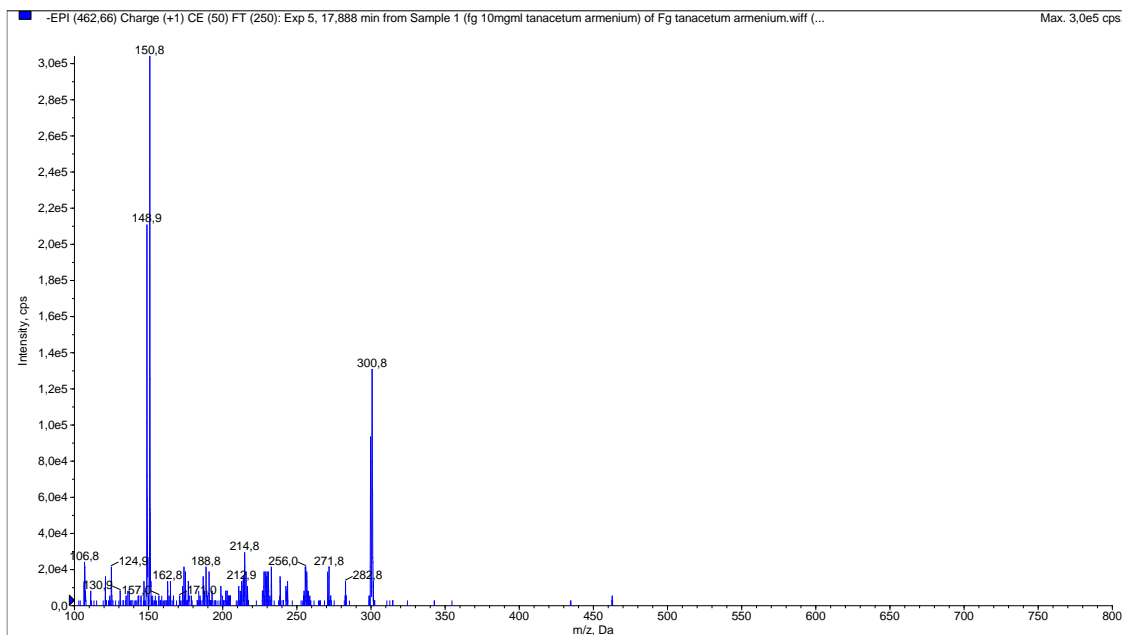
### f) Bilinmeyen dikafeoilkinik asit



### g) 5-Kafeoilkinik asit

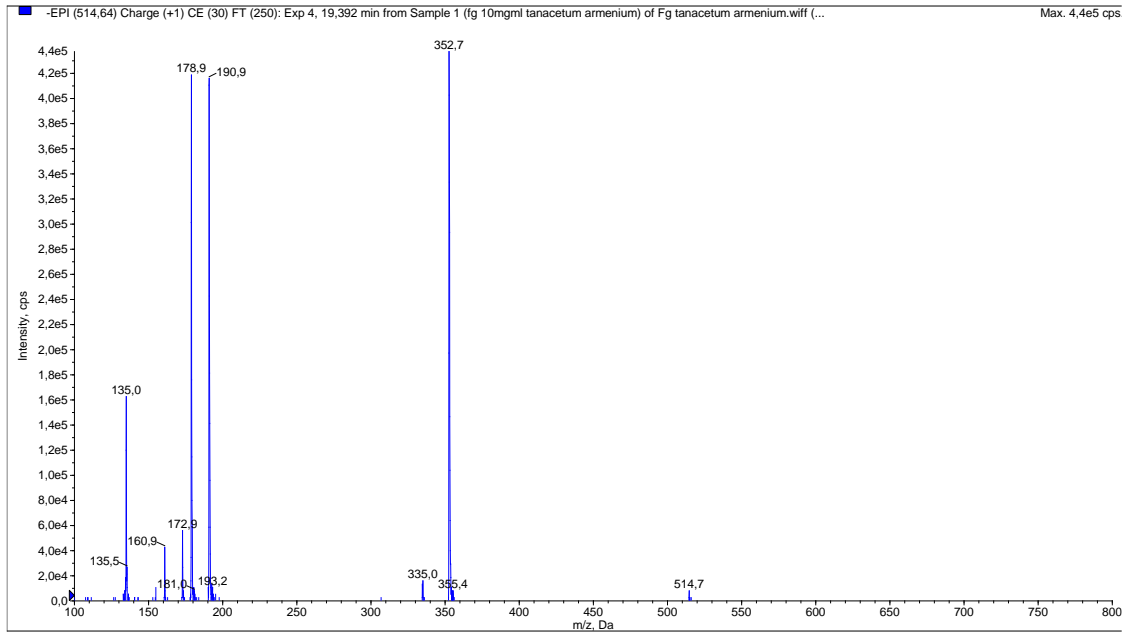


### h) Kersetin glukozit

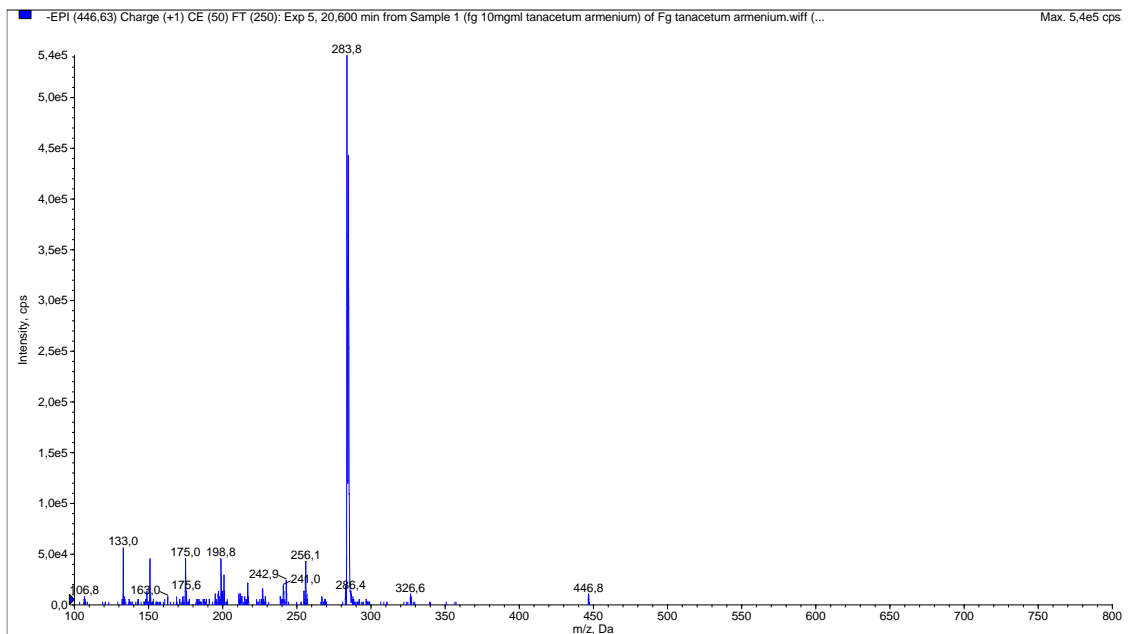




### i) 3,5-Dikafeoilkinik asit



### j) Luteolin glukozit



### k) Sideritoflavon benzeri trimetoksiflavon

