

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***SARGASSUM VULGARE*'DEN ELDE EDİLEN SEKONDER
METABOLİTLERİN YAPILARININ AYDINLATILMASI VE SİTOTOKSİK,
ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Asena Yuled TAŞCI

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Anabilim Dalı

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Tezli Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Işıl GAZİOĞLU

HAZİRAN 2020

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***SARGASSUM VULGARE*'DEN ELDE EDİLEN SEKONDER
METABOLİTLERİN YAPILARININ AYDINLATILMASI VE SİTOTOKSİK,
ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Asena Yuled TAŞCI
175313001**

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Anabilim Dalı

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Tezli Yüksek Lisans Programı

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Işıl GAZİOĞLU
İkinci Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU**

HAZİRAN 2020

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 175313001 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Asena Yuled TAŞCI, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “*Sargassum vulgare*’den Elde Edilen Sekonder Metabolitlerin Yapılarının Aydınlatılması ve Sitotoksik, Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Doç. Dr. Işıl GAZİOĞLU**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Eş Danışman : **Prof.Dr. Gülaçtı TOPÇU**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Nur TAN**
İstanbul Üniversitesi

Doç. Dr. Ş. Evrim TEKKELİ
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Doç. Dr. Pelin YÜKSEL MAYDA
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Teslim Tarihi :
Savunma Tarihi : 16 Temmuz 2020

Aileme ve eşime,

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgisi ve engin deneyimleri ile beni aydınlatan, hiçbir konuda desteğini esirgemeyen ve gelecekte ki meslek hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağım kıymetli ve saygıdeğer hocam Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU'ya göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında kıymetli bilgi ve birikimleri ile bana yol gösteren, destek ve katkıları gözardı edilemeyecek olan değerli danışman hocam Doç.Dr. Işıl GAZİOĞLU'na teşekkür ederim.

Mikrobiyolojik ve sitotoksik aktivite tayinlerinde bilgi ve birikimleri ile deneylerime yardımcı olan Doç. Dr. Pelin YÜKSEL MAYDA ve Arş. Gör. Ayşenur GÜNAYDIN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında beni daima motive eden, bilgi ve desteklerini esirgemeyen Dr. Öğretim Üyesi Halil ŞENOL, Arş. Gör. Rabia Sare YANIKOĞLU ve Arş. Gör. Gülbahar Özge ALİM'e sonsuz destekleri ve sabırları için teşekkür ederim.

Araştırmamın gerçekleştirilmesi sürecinde destek aldığım Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi ve Tübitak 1001 araştırma projesine teşekkür ederim.

Hayatım boyunca elimi bir an bile bırakmayan, tüm karanlıkları gülüşü ile aydınlatan, daima gücünü ve sevgisini yanımda hissettiğim canım anneme, hayatımın her alanında olduğu gibi tez çalışmamı hazırlarken de bana destek olan sevgili eşime ve tez çalışmam süresince daima yanımda olan ailem ve arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Haziran 2020

Asena Yuled TAŞCI
(Kimya Mühendisi)

BEYAN

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

Asena Yuled TAŞCI

İmza

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	v
BEYAN.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR	ix
SEMBOLLER	xi
TABLO LİSTESİ	xii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xiii
ÖZET.....	xiv
SUMMARY	xv
1. GİRİŞ	1
1.1 Tezin Amacı	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Algler	3
2.1.1 Alglerin kullanım alanları	8
2.1.2 Algler ile yapılan kimyasal araştırmalar	11
2.2 Botanik Bilgiler.....	16
2.2.1 Türün sistematikteki yeri.....	16
2.2.2 Sargassaceae familyası.....	17
2.2.3 <i>Sargassum</i> türleri üzerinde yapılan kimyasal araştırmalar	18
2.2.4 <i>Sargassum vulgare</i> ile yapılan kimyasal araştırmalar	22
2.2.5 <i>Sargassum vulgare</i> cinsinin genel özellikleri.....	23
2.3 Sekonder Metabolitler.....	24
2.3.1 Sekonder metabolitlerin genel özellikleri	25
2.3.2 Fenolik bileşikler.....	27
2.3.3 Polisakkaritler.....	28
2.3.4 Terpenoidler	28
2.3.5 Yağ asitleri	29
2.3.6 Alkaloidler.....	29
2.3.7 Biyoaktif peptitler ve proteinler	30
2.3.8 Karotenoidler.....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1 Bitkisel Materyal.....	31
3.2 Ekstrelerin Hazırlanması.....	31
3.3 Kimyasal Maddeler Çözücüler ve Çözeltiler	33
3.3.1 Kimyasal maddeler ve çözücüler	33
3.3.2 Çözeltiler	33
3.3.2.1 İnce tabaka kromatografisinde kullanılan belirteç	33
3.4 Cihazlar ve Gereçler	34
3.5 Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri	34
3.5.1 MİK yöntemi ile antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi.....	34

3.6	Sitotoksik Aktitive Tayin Yöntemleri.....	35
3.6.1	MTT testi ile hücre proliferasyonunun ölçülmesi.....	35
3.7	İstatiksel Yöntemler.....	35
3.8	Kromatografik Yöntemler.....	36
3.8.1	Kolon kromatografisi.....	36
3.8.2	İnce tabaka kromatografisi.....	37
3.9	Spektroskopik Yöntemler.....	38
3.9.1	NMR spektroskopisi.....	38
3.9.2	Kütle Spektrometresi.....	38
3.9.2.1	Sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (LC-MS).....	38
3.9.2.2	Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS).....	38
4.	DENEYSEL BÖLÜM.....	39
4.1	Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri.....	39
4.2	Sitotoksik Aktivite Yöntemleri.....	40
4.3	<i>Sargassum vulgare</i> Alginin İzolasyon ve Saflaştırma Yöntemleri.....	41
5.	BULGULAR.....	42
5.1	Elde Edilen Saf Bileşiklerin Yapı Tayini.....	42
5.1.1	SV-2 (SV-55-57-10-22-1).....	42
5.1.2	SV-7 (SV-58-59-4).....	44
5.1.3	SV-1 (SV-55-57-7-9-2).....	45
5.1.4	SV-64-65.....	47
5.1.5	SV-27.....	49
5.2	İzole Saf Bileşiklerin ve Fraksiyonların Antimikrobiyal ve Sitotoksik Aktivite Sonuçları.....	50
5.2.1	Antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	50
5.2.2	Sitotoksik aktivite sonuçları.....	50
6.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	55
	KAYNAKLAR.....	56
	EKLER.....	68
	ÖZGEÇMİŞ.....	88

KISALTMALAR

A549	: Akciğer Kanseri Hücre Hattı
APT	: Attached Proton Test
BAP	: Bilimsel Araştırma Projesi
BB¹³C	: Broadband ¹³ C
CAT	: Catalase (Katalaz)
Cd	: Kadmiyum
CD₃OD	: Döterometanol
CDCL₃	: Döterokloroform
Cfu	: Koloni oluşturan birim (colony forming unit)
CO₂	: Karbondioksit
Cu	: Coper
Da	: Dalton
DCM	: Diklorometan
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	: Dimetilsülfoksit
GSH-px	: Glutathione Peroxidase (Glutasyon Peroksidaz)
GTP	: Guanozintrifosfat
HCT-15	: Hematokrit
HDL	: High Density Lipoprotein (Yüksek densiteli lipoprotein)
Hep-2	: Anti-nükleer antikor
HepG2	: İnsan karaciğer kanseri hücresi
Hg	: Civa
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
HMBC	: Heteronuclear Multiple Bond Coherence
HMQC	: Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HRMS	: High Resolution Mass Spectrometry
HT-29	: Kolon Kanseri
IL-1	: İnterlökin-1
IL-6	: İnterlökin-6
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
KDa	: Kilodalton
LDL	: Low Density Lipoprotein (Düşük Dansiteli Lipoprotein)
MCF-7	: Meme Kanseri Hücre Hattı
MeOH	: Metanol
MGC-8C3	: Viyolonsel Hücre Dizisi
Mn	: Manganez
MUFA	: Tekli Doymamış Yağ Asitleri
NA	: Not Applicable
NC	: Negatif Control
Ni	: Nikel
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
-OH	: Hidroksil

Pb	: Kurşun
pH	: Hidrojen Gücü
PHB	: Polihidroksibütirat
Prep TLC	: Preparative Thin Layer Chromatography
PTP1B	: Protein Tirozinfosfataz 1B
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
Rf	: Analitin İlerleme Yüksekliği / Çözücünün İlerleme Yüksekliği
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RT	: Retention Time (Alıkonma Zamanı)
<i>S.vulgare</i>	: <i>Sargassum vulgare</i>
sp.	: Tür
SV1	: <i>Sargassum vulgare</i> 1
TG	: Trioglobulin
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
UCP1	: Ayırma Proteini
UV	: Ultraviyole
UVB	: Ultraviyole B
yy.	: Yüzyıl
Zn	: Çinko

SEMBOLLER

cm	: Santimetre
Da	: Dalton
g	: Gram
kDa	: Kilodalton
kg	: Kilogram
L	: Litre
ln	: Doğal Logaritma
m	: Metre
mg	: Miligram
mHz	: MegaHertz
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
nm	: Nanometre
°C	: Santigrat derece
ppm	: Milyonda bir birim
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1: Avrupa Birliği Tarafından Finanse Edilen Yosun Araştırma Girişimleri.....	3
Tablo 2.2: <i>Sargassum</i> Türlerinden Elde Edilen Bileşikler	21
Tablo 5.1: SV-1 Numunesi GC-MS’de Tayin Edilen Bileşiklerin Yapıları	47
Tablo 5.2: SV-64-65 Numunesi GC-MS’de Tayin Edilen Bileşiklerin Yapıları.....	49
Tablo 5.3: Mikroorganizmalara Karşı Etkili MİK Değerleri.....	50

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1:	Alglerin Sınıflandırılması.....	6
Şekil 2.2:	Türün Sistematikteki Yeri.....	17
Şekil 2.3:	<i>Sargassum</i> Türlerinin Dünya Üzerindeki Yayılışı.....	18
Şekil 2.4:	<i>Sargassum vulgare</i> C. Agardh'ın Korunmuş Türü.....	24
Şekil 2.5:	Sekonder Metabolitlerin Oluşumu.....	26
Şekil 2.6:	Flavonoid Yapısı.....	27
Şekil 2.7:	Bromlu Seskiterpen Yapısı.....	29
Şekil 2.8:	Alkaloid Yapısı.....	29
Şekil 2.9:	Fukoksantin Yapısı.....	30
Şekil 3.1:	<i>Sargassum vulgare</i> Ekstraksiyon ve İzolasyon Aşamaları.....	32
Şekil 5.1:	1- Oktakozen Yapısı.....	43
Şekil 5.2:	SV-2 Pozitif GC-MS Spektrometre Bulguları.....	43
Şekil 5.3:	SV-2 Negatif Spektrometre Bulguları.....	44
Şekil 5.4:	1- Feniletan-1,2-diol.....	45
Şekil 5.5:	SV-7 Pozitif Spektrometre Bulguları.....	45
Şekil 5.6:	SV-1 Numunesi GC-MS'de Tayin Edilen Bileşikler ve % Oranları.....	46
Şekil 5.7:	SV-64-65 Numunesi GC-MS'de Tayin Edilen Bileşikler ve % Oranları.....	48
Şekil 5.8:	SV-2 Bileşiğinin MDA-MB-231 Hücre Hattı Üzerindeki Etkisi (% Canlılık).....	50
Şekil 5.9:	SV-2 Bileşiğinin 769-P Hücre Hattı Üzerindeki Etkisi (% Canlılık).....	51
Şekil 5.10:	SV-7 Bileşiğinin MDA-MB-231 Hücre Hattı Üzerindeki Etkisi (% Canlılık).....	51
Şekil 5.11:	SV-7 Bileşiğinin 769-P Hücre Hattı Üzerindeki Etkisi (% Canlılık).....	52
Şekil 5.12:	SV-27 Bileşiğinin MDA-MB-231 Hücre Hattı Üzerindeki Etkisi (% Canlılık).....	52
Şekil 5.13:	SV-27 Bileşiğinin 769-P Hücre Hattı Üzerindeki Etkisi (% Canlılık).....	53
Şekil 5.14:	SV-64-65 Bileşiğinin MDA-MB-231 Hücre Hattı Üzerindeki Etkisi (% Canlılık).....	53
Şekil 5.15:	SV-64-65 Bileşiğinin 769-P Hücre Hattı Üzerindeki Etkisi (% Canlılık).....	54

***SARGASSUM VULGARE*'DEN ELDE EDİLEN SEKONDER METABOLİTLERİN YAPILARININ AYDINLATILMASI VE SİTOTOKSİK, ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

ÖZET

Eski çağlardan günümüze kadar bitkiler aktif olarak tedavi de kullanılmaktadır. Üçte biri endemik yaklaşık 11.000 civarında bir bitki zenginliğine sahip olan ülkemizde bitkilerin tıbbi amaçla kullanılması oldukça yaygındır. Günümüzde birçok hastalığın tedavisinde kullandığımız ilaçlar eski çağlardan itibaren kullanılan bitkilerin sekonder metabolitlerinin saflaştırılması ve aktivitelerinin belirlenmesi sonucu ortaya çıkmıştır.

Geçmişe bakıldığında zaman dünyada ortalama ömrün uzadığı bilinmektedir. Dünya genelinde ortalama yaşam süresi beklentisi 1950'de 46 yıl iken 2015'te 71'e yükseldiği belirtilmiştir. Fakat hala pek çok insan önlenebilir hastalıklar sebebiyle hayatını kaybetmektedir. Bu durum araştırmacıları yeni ilaç keşifleri için doğanın farklı kaynaklarını incelemeye yönlendirmiştir. Bu nedenle son 20-30 yıldır araştırmacılar ilaç keşfi için deniz fauna ve florasını daha yoğun olarak incelemektedirler. Çünkü karasal organizmaların aksine deniz kaynaklarının çok küçük bir yüzdesi kimyasal olarak araştırılmıştır. Yapılan araştırmalar sonucunda denizlerde bulunan bitkiler ve diğer canlılar ve organizmaların çok yönlü aktivitelerle sahip, ekolojik ve ekonomik değerleri olan spesifik moleküller içerdiği gösterilmiştir. Algler, dünya atmosferine sundukları muazzam katkılarıyla, canlılığın türemesine ve bugünkü türlerin oluşmasına imkan oluşturdukları gibi yeni ilaç keşiflerinin yanı sıra kozmetik, enerji, gıda, tarım ve diğer bazı endüstriyel sektörlere kadar uzanan pek çok alanda bizlere hizmet etmektedir. Aynı zamanda algler doğada en yüksek biyolojik aktivite sergileyen kaynaklardan biri olup, yapılarında birçok biyoaktif bileşen barındırmaktadırlar.

Türkiye ise üç tarafından denizlerle çevrili, geniş bir alg flora ve faunasına sahiptir. Tuzluluk oranları, sıcaklıkları, barındırdığı canlılar ve iklimsel özellikleri açısından zengin bir biyoçeşitlilikle denizlerimizde dağılım gösteren algler, eşsiz kimyasal bileşimleri sayesinde ülkemiz için ekonomik ve bilimsel olarak büyük bir değer sağlayabilirler.

Bu yüksek lisans tez çalışmasında Antalya Serik bölgesinden toplanan *Sargassum vulgare* C. Agardhdeniz yosununun diklorometan-metanol (2:1) ekstresi hazırlanmış ve bu müteakiben bu ekstreden kromatografik yöntemlerle başlıca iki sekonder metabolit izole edilip saflaştırılmış ve bu bileşiklerin yapıları başlıca tek ve çift dimensiyonlu nükleer manyetik rezonans (1D ve 2D NMR) ve yüksek rezölüsyonlu kütle spektrometrisi analizi de dahil kütle (Mass) spektroskopisi yöntemleriyle aydınlatılmıştır. Saf olarak elde edilemeyen yağ yapısındaki bileşiklerinin kompozisyonu ise gaz kromatografisi-kütle spektrumu (GC-MS) analiziyle belirlenmiştir. Elde edilen saf bileşiklerin antimikrobiyal ve sitotoksik aktiviteleri ise *in vitro* yöntemlerle incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: Deniz, Alg, *Sargassum vulgare*, izolasyon, yapı tayini, spektroskopisi, NMR, GC-MS, LC-MS, biyoaktivite, antimikrobiyal, sitotoksik

STRUCTURE ELUCIDATION OF THE ISOLATED SECONDARY METABOLITES FROM *SARGASSUM VULGARE* AND DETERMINATION OF THEIR CYTOTOXIC AND ANTIMICROBIAL EFFECTS

SUMMARY

From ancient times to the present day, plants have been actively used in the treatment of many ailments. In Turkey, use of the plants for medicinal purposes is fairly common due to our very rich flora with approximately 11.000 plant species, which of 1/3 species being endemic. The drugs we use today for the treatment of many diseases have emerged as a result of purification and determination of the activities of secondary metabolites found in the core of the plants used since ancient times.

It is known that the average life span in the world is extended. The average life expectancy worldwide was 46 years in 1950's, rising to 71 in 2015. However, many people still lose their lives due to preventable diseases. This situation has directed the researchers to investigate other sources of the nature for new drug discoveries. Therefore, since last 20-30 years researchers have been investigated marine fauna and flora, more deeply. Because, unlike terrestrial organisms, a very small percentage of marine resources have been chemically investigated. As a result of research, plants found in marine have rich content and multifaceted activities and contain specific molecules that are ecologically and economically valuable.

Algae, with their enormous contribution to the earth's atmosphere, provide opportunities for the emergence of life and the formation of today's species, as well as new drug discoveries, cosmetics, energy, food, agriculture and other industrial sectors until they reach the service in many fields. At the same time, algae is one of the sources in nature which exhibit the highest biological activity with many bioactive components.

Turkey, on the other hand, has a large algal flora/fauna surrounded by the seas on the three sides. Salinity ratios, temperature, algae inhabiting Turkish seas host a rich biodiversity of the organisms, and climatic characteristics and unique chemical compositions may offer great value for our country economically and scientifically.

In this master thesis study, first of all, a seaweed *Sargassum vulgare* C. Agardh was collected from Serik region of Antalya, and a dichloromethane-methanol (2:1) extract was then prepared. From this extract, two compounds were isolated and purified by using chromatographic methods. Structure elucidation of the pure secondary metabolites were made based on spectroscopic methods, mainly 1D and 2NMR and mass techniques including also HR-MS. For the detection of non-polar fatty compounds composition, GC-MS analysis was carried out. Antimicrobial and cytotoxic activities of the pure compounds obtained were investigated by *in vitro* tests.

Key Words: Marine, Alg, *Sargassum vulgare*, isolation, structure elucidation, spectroscopy, NMR, GC-MS, LC-MS, bioactivity, antimicrobial, cytotoxic

1. GİRİŞ

1.1 Tezin Amacı

İnsanlığın varoluşundan beri tıbbi bitkiler halk arasında zengin biyolojik aktiviteleri sebebiyle birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Zengin içeriği ve çok yönlü aktiviteleri ile algler günümüzde pek çok sektöre yön vermektedir. Bir çok canlının barınmasını sağlayan ve deniz ekosisteminin en önemli dengesini oluşturan alglerden, tanısı konulmuş veya henüz konulmamış hastalıkların tedavisinde kullanılmak üzere ilaç keşfi için de yararlanılmaktadır.

Pek çok ülkede besin değeri yüksek olduğu için *Sargassum* türleri gıda maddesi olarak kullanılmaktadır. Ülkemiz denizlerinde dağılım gösteren birçok önemli türlerin üzerinde yapılan araştırmalarda alglerden aljinik asit, karragen, agar, vitamin B12 ve bazı organik asitler elde edilmiştir. Bununla birlikte ülke endüstrisine katkı sağlayacak hayvan yemi eldesi ve gübre olarak kullanılabilen aynı zamanda kozmetikte de yararlanılabilecek türlerin varlığı ülkemizin kıyılarında saptanmıştır. Ülkemizde *Sargassum vulgare* ile yapılan çalışmalarda, yapısında antilipidemik madde içerdiği tespit edilmiştir. Diğer *Sargassum* türleri de antikoagülan ve analjezik özelliği olan alglerdendir.

Bu tez çalışmasında Antalya şehrinin Serik bölgesine bağlı olan Boğazak'dan toplanan *Sargassum vulgare* C. Agardh deniz yosununun toprak üstü kısımları 2:1 oranında diklorometan-metanol ekstresi elde edilmiş olup, içerdikleri sekonder metabolitler çeşitli kromatografik yöntemler (prep. TLC, kolon kromatografisi) ile izole edildikten sonra saflaştırılmıştır. Saf bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemlerle (NMR, MASS) aydınlatılarak antimikrobiyal ve sitotoksik aktiviteler incelenmiştir.

Mikrobiyal kaynaklı hastalıklar ve çağımızın vebası olarak bilinen kanser günümüzde hala tam olarak çözüme ulaşmamıştır. Tez çalışmamızda bir BAP projesi ve bir TÜBİTAK projesi çerçevesinde araştırdığımız *Sargassum vulgare* bitkisinden sekonder metabolitlerin incelenmesi ve yapılarının aydınlatılmasını, miktarı yeterli olan saf maddelerin antimikrobiyal ve sitotoksik aktivitelerinin tayin edilmesini ve ilaç olma potansiyellerinin araştırılmasını amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Algler

Canlılığın devam etmesi için gerekli olan su, içerisinde pek çok canlı türünü barındırır. Tüm canlılar için metabolik bir kaynaktır. İnsanoğlu için yüzyıllardır vazgeçilemez olması su altında gerçekleşen hayata dikkat çekmektedir. Bu ortamda yaşayan canlıların tespiti son derece önemlidir [1]. Su altında yaşayan algler ekolojik dengeyi sağlamada önemli bir role sahiptir ve ekolojik sistemde birinci halkada yer alır [2].

Son yirmi yıl içinde çeşitli araştırma grupları deniz faunasındaki doğal ürünlerin kimyasına ilgi göstermiştir. Bu alan özellikle caziptir, çünkü denizlerde ve okyanuslarda (karasal organizmaların aksine) bulunması gereken türlerin çok küçük bir yüzdesi kimyasal olarak araştırılmıştır, aynı zamanda birçok deniz bileşiğinin büyüleyici yapısal özellikte ve olağandışı moleküler yapılarla sahiptir [3].

Deniz faunasına gösterilen yoğun ilgi ve merak doğrultusunda araştırmacılar, deniz altında yaşayan birbirinden farklı yapılara sahip olan, çok yönlü aktiviteleri bulunan deniz alglerine yoğunlaşmışlardır. Avrupa Birliği ise deniz altında bulunan yosunlar ile ilgili araştırmaları daha çok arttırmak adına araştırmacılara belirli projeler ile finanse edilmiş araştırma girişimleri ile teşviklemiştir [4].

Tablo 2.1: Avrupa Birliği Tarafından Finanse Edilen Yosun Araştırma Girişimleri

Proje İsimleri	Amaç
SWAFAX	Gıda, sağlık ve sağlıklı yaşam ürünlerinde deniz yosunundan biyoaktif bileşikler elde etmek
HYFFI	Aljinat ve Agar taşıyan deniz yosunlarından gıda ve sağlık ve wellness ürünlerinde uygulamalar için düşük molekül ağırlıklı polisakkaritler üretmek
MAREX	Biyoaktif bileşikler için deniz kaynaklarını araştırmak
NETALGAE	Deniz makroalg sektörü içinde ilgili paydaşlardan oluşan bir Avrupa ağı oluşturmak
NutraMara	Deniz bazlı malzemeleri işlemek için geliştirilmiş model gıdalar geliştirmek

Kaynak: Kadam, S.U., (2013)

Deniz kaynakları, Dünya'nın biyoçeşitliliğinin yaklaşık %25'ini temsil etmektedir. Sucul ortamda yaşayan algler basınç, sıcaklık, ozmolarite, değişken pH ve suyun dalgalanma oranı gibi zorlu koşullara uyum sağlamakla birlikte, deniz organizmalarında ikincil metabolitlerin üretimini indükleyebilir. Alglere olan ilginin artmasının sebebi, geniş bir biyoçeşitliliğe sahip olmasıdır. Aynı zamanda bulunduğu konumda ekolojik ve ekonomik olarak değerli olan spesifik moleküller içerebilir ve bu moleküllerde yeni ilaç potansiyellerinin biyolojik keşfi açısından araştırmacılar için ilgi çekmektedir [5]. Fakat okyanusların birbirine bağlanması ve türlerin dağılımını yönlendiren makroevrimsel süreçler algleri incelemeyi zorlaştırmaktadır [6].

Deniz fauna ve florası içerisinde yer alan algler çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir. Alglerin zengin biyoaktif kaynaklar olarak kabul edilmeleri sebebi ile son yıllarda farmasötik ajan kaynakları şeklinde kullanımları yaygınlaşmıştır. Birçok deniz alginin bazı Gram-pozitif ve Gram-negatif patojenlerin gelişmesini engellediği bildirilmiştir [7].

Algler denizlerin en önemli canlı kaynaklarından biridir ve besin zincirinin önemli bir parçasını oluştururlar. Bu organizmalar atmosferdeki oksijenin büyük çoğunluğunu yaptıkları fotosentez ile karşılarlar ve besin zincirinin ilk halkasını oluştururlar [8]. Su ortamında primer üretici olan alglerden eczacılık, tarım, kozmetik ve ilaç endüstri sinde faydalanılmaktadır [9]. Algler, yüksek biyolojik aktiviteli sekonder metabolitlere sahiptirler. Bu sekonder metabolitler eczacılık alanında yeni farmasötik ajanların geliştirilmesine fayda sağlamaktadır [10].

Deniz organizmaları, insan beslenmesi takviyesi ve hastalık tedavisi için nutrasötikler ve ilaçlar olarak geliştirilebilen çeşitli biyoaktif moleküller üretir. Deniz yosunu tek hücreli mikroalgleri ve çok hücreli makroalgleri içerir. Yüksek protein içeriği deniz yosunlarında, genellikle kahverengi alglerde kuru ağırlığın %5-15'i ve kırmızı ve yeşil alglerde kuru ağırlığın %10-47'si bulunur. Amino asit sekansına bağlı olarak, deniz yosunu kaynaklı biyopeptitler, antioksidan, antikanser, antihipertansif, antiaterosklerotik ve immünomodülatör etkiler de dahil olmak üzere çeşitli biyolojik fonksiyonlarda yer alabilir [11].

Algler, deniz altı ve deniz üstüyosun florasının başlıca üyelerinden biridir ve birçoğu bulunduğu bölgeye özel olan farklı konumlarda bulunmayan denizaltında yaşayan hayvan ve bitki grupları için eşsiz bir ortam sağlamaktadır [12, 13]. Deniz yosunları,

hem su altı hem de su üstünde geniş bir alana yayılıp yüzen biyokütlelerinin yanı sıra yüzey sularında büyük ölçekli sürüklenen biyokütle oluşturur [14].

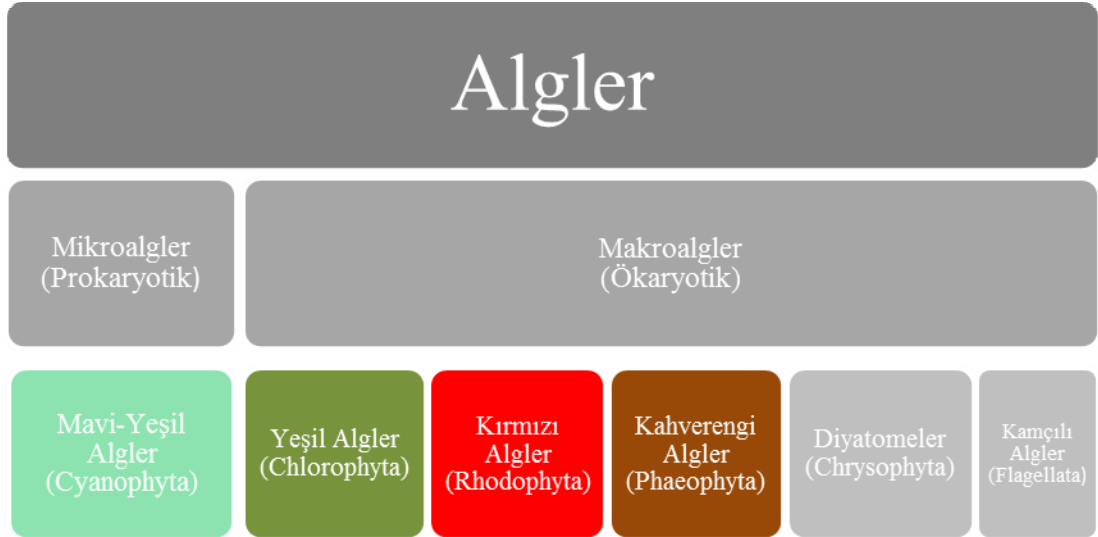
Ekolojik açıdan algler yeryüzündeki her bir alanda bulunabilirler. Fakat büyük çoğunluğunun yayılış alanı sulak bölgelerdir. Gövdeye benzeyen yapıları sayesinde deniz, göl ve nehirlerde yaşayabildiği gibi karada ise iskeleti sayesinde ağaç, kaya ve toprağa tutunarak yaşayabilirler. Bitki ve hayvanlar ile simbiyotik yaşam sağlayabilirler. Buzla kaplı alanlarda, yüksek sıcaklıktaki kaynak sularında, tuz oranı ve basıncı yüksek olan su ortamlarında fotosentezi karşılayabilecek kadar ışık bulabildikleri sürece yaşayabilirler [9].

Algler doğada bulunan biyolojik aktivitesi en yüksek kaynaklardan olup, yapısında birçok biyoaktif bileşen barındırmaktadır. Alglerin protein, aminoasit, vitamin ve çeşitli mineral maddeler yönünden zengin olduğu ayrıca polisakkarit, sterol ve yağ asitleri içerdiği, bu nedenle de kullanım alanının geniş olduğu bilinmektedir [15]. Aynı zamanda ekolojik, toksikolojik ve farmakolojik öneme sahip olan alkaloidler, fenolik bileşikler, streoidler ve terpenoidler gibi sekonder metabolitleride bünyesinde taşımaktadır [16, 17].

Deniz yosunu, özellikle Doğu Asya ülkelerinde, aktif biyolojik bileşenlerin varlığı sonucu sağlık üzerinde yararlı etkiler sundukları için kabul edilen en popüler gıda elementlerinden biridir. Faydalı kimyasal bileşikler üreten en kararlı deniz kaynakları arasında, makroalgler çok çeşitli ikincil biyolojik olarak aktif metabolitler üretir. Bu aktif metabolitlerin ayrılması ve tanımlanması birçok araştırmacının dikkatini çekmiştir [18]. Yosun içeriğinde polisakkarit, polifenoller, doymamış yağ asitleri, mineraller ve vitaminler içeren iyi bir diyet lifi kaynağıdır. Bu bileşiklerin her biri antidiyabetik, anti-enflamatuar, anti-oksidan, anti-bakteriyel ve anti-viral aktivite gibi birçok biyolojik aktiviteye sahiptir [19].

Geçmişten günümüze dek ait oldukları sınıflar ve akrabalık ilişkilerine dair birçok hipotez oluşturulmuş ve farklı şekillerde sınıflandırmaları yapılmıştır. Alg türlerinin ordoları ve sınıfları ilk olarak morfolojik özelliklerine göre sınıflandırılmaya başlanmış, ancak yapılan sınıflandırmalar yeni kayıtlar buldukça ve türler arasındaki bazı farklılıkları tam olarak karşılamadığı için daha sonraları yeni sınıflandırma yöntemleri geliştirilerek morfolojilerinin yanı sıra anatomik ve ultrastrüktürel yapıları da incelenmiştir [20].

Algler; Mikro Algler (prokaryotik) ve Makro Algler (ökaryotik) olarak iki grup altındadır. Mikro Algler, Mavi-Yeşil Algler (Cyanophyta) olarak bilinir; Cyanobacteria, Dinoflagelata, Bacillariophyta olarak sınıflandırılır. Makro algler ise kamçı taşımalarına veya pigmentasyonlarına göre; Yeşil algler (Chlorophyta), Kırmızı algler (Rhodophyta), Kahverengi algler (Phaeophyta), Diyatomeler (Chrysophyta) ve Kamçılı algler (Flagellata) olarak sınıflandırılmaktadır [10].



Şekil 2.1: Alglerin Sınıflandırılması

Deniz makroalgası, küresel birincil üretime ve mavi karbon tutulumuna önemli ölçüde katkıda bulunan geniş ve çeşitli bir fotoototrof grubudur [21]. Bu sebepten makro algler biyolojik çeşitlilik ve ekosistem işleyişinin yapılandırılmasında ve sürdürülmesinde önemli rol oynarlar çünkü fiziksel çevreyi değiştirirler, omurgasızlar ve balıklar gibi çok sayıda ilişkili tür için barınak, yiyecek, üreme alanı ve fidanlık sağlarlar [22-24].

Kıyı deniz ortamlarında yaşayan makroalgler, sıcaklık ve tuzluluk değişimleri, ışığa maruz kalma, UV radyasyonu, kuruma ve dalga hareketi nedeniyle sıklıkla sert koşullarla karşı karşıya kalırlar. Bu koşullarda alg fizyolojisini, yaşam döngülerini, topluluk yapılarını ve dinamiklerini etkilemektedir [25-29]. Deniz yosunları birincil üreticilerindedir ve okyanuslarda besin zincirinin tabanını oluştururlar [25], deniz biyoçeşitliliğini desteklemede önemli bir rol oynarlar [30]. Deniz yosunları genellikle termal ortamlara iyi adapte olmasına rağmen, fazla sıcaklık artışı deniz yosunlarının enzimatik ve metabolik işleyişini etkiler, hücresel ve alt hücresel hasara neden olabilir, yavaş büyüme ve gelişmeye yol açar [31].

Deniz yosunlarının üretimleri çevresel faktörlerle sınırlanmıştır. Bu faktörler ışık, sıcaklık ve besindir. Bu faktörler iyileştirildiği takdirde, üretim düzeyi artar. Üretim artışının belirli bir düzeyi geçmesi durumunda ise çevresel denge bozulur ve ötrofikasyon meydana gelir. Ötrofik bir ortamda besin madde girdisinin fazlalığından dolayı, (özellikle azotlu bileşikler ve fosfat gibi alglerin gelişimin arttıran bileşikler) alg ve bakteri faaliyetleri ile bulanıklık artar ve ışığın suyun alt kısmına geçmesini engeller. Oksijen dip kısımlarda sınırlayıcı bir özellik kazanır. Buda bentik bölgede yaşayan canlılar için ölümle sonuçlanabilmektedir [32].

Deniz yosunları, deniz suyuna konsantre olma yeteneğine sahip oldukları için zengin bir temel element kaynağı olarak bilinir. Mikro ve makroelementlerin yanı sıra, deniz makroalgleri zamanla sudan ağır metalleri emme ve biriktirme eğilimine sahiptir (örneğin, kadmiyum (Cd), coper (Cu), manganez (Mn), nikel (Ni), kurşun (Pb), çinko (Zn), cıva (Hg)) [33].

Ülkemizde algler üzerine yapılan çalışmalar ilk olarak deniz florasının incelenmesi ile başlamıştır. İç sularla ilgili olan çalışmalar 1970'li yıllarda göl, gölet ve barajlar üzerinde yoğunlaşmıştır [34]. Ülkemizde alg florası araştırmaları içinde göl ve göletlerle ilgili çalışmalar her geçen gün artmaya devam etmektedir [35, 36].

Deniz yosunları, düşük lipit içeriği, yüksek polisakkarit içeriği, çoklu doymamış yağ asitleri, vitaminler, mineraller ve diğer biyoaktif metabolitler nedeniyle yüksek kaliteli, sağlıklı bir besin kaynağı olarak ünlüdür [37].

Deniz yosununun kimyasal bileşimini ve aktivitelerini belirlemede önemli rol oynayan çeşitli faktörler vardır. Bu faktörler türler, fizyolojik durum, çevresel yönler, (konum, iklim, sıcaklık ve tuzluluk) büyüme koşulları, kirlilik, toplama süresi, thallus bölgesi ve epifitik organizmalardır. Alg türlerinin her biri kendi benzersiz özelliklere sahiptir ve bu onları birbirlerinden farklı kılar. Araştırmalarda birçok yosunun aktivitelerini etkileyen kimyasal bileşimlerinin mevsim şartlarına göre değişiklik gösterdiği kanıtlanmıştır. Antimikrobiyal aktivite için, maksimum potansiyelin çoğunlukla ilkbaharda meydana geldiğini yapılan araştırmalar ile desteklenmiştir. Bu durum ise muhtemelen belirlenen sezonda bazı aktif bileşiklerin baskınlığından kaynaklanmaktadır. Kış mevsimi sonunda yapılan çalışmalarda ise fenolik içerik ve antioksidan aktivitenin potansiyelinin yüksek olduğu belirlendi. Alg türlerine göre bakılacak olursa yeşil algler yıl boyunca aktif, fakat kahverengi deniz

algleri belirli mevsimlerde aktivite eksikliği gösterdiği belirlenmiştir. Diğer yandan kırmızı algler ise mevsim boyunca varyasyonlar göstermiştir [38].

2.1.1 Alglerin kullanım alanları

Alglerden elde edilen ürünler ve alglerin kullanıldığı alanlar ekonomik ve ekolojik bakımdan önemli bir değere sahiptir [32]. Algler insanlar tarafından ilkçağlardan itibaren günümüze kadar farklı amaçlarla kullanılmıştır. Deniz yosunlarının ilk kullanım alanlarının gübre, kozmetik ve tıp olduğu bilinmektedir. Ancak 17 yy.'dan sonra keşfedilen yeni maddelerle çok farklı alanlarda kullanılmaya devam edilmişlerdir. Örneğin bazı algler protein, karbonhidrat, vitamin ve mineral bakımından zengin olduklarından dolayı çeşitli ülkelerde insanlarca besin maddesi olarak tüketilirler. Alglerin tüm vitamin öğelerini içermeleri nedeniyle insan beslenmesinde kullanımı başta Uzakdoğu ülkelerinde yaygındır. Birçok kara bitkisi B12 vitamini içermezken bütün algler bu vitamini içerir. Bazı deniz alglerinin 1 g kuru ağırlıkta 1 µg vitamin içerdiği bilinmektedir [39]. Binlerce yıldır yosunlar yenilebilir ve sağlığı artırıcı bir kaynak olarak değerlendirilmiştir; kolesterolü düşürdüğü, kan basıncını düşürdüğü, sağlıklı sindirimi teşvik ettiği gösterilen birçok biyoaktif madde içerdikleri bilinmektedir ve önemli potansiyel antioksidanlardır [40].

Deniz yosunları, sanayinin neredeyse her alanında kullanılmaktadır. Doğal olarak toplanmalarının yanısıra, kültürleri de yapılmakta ve denizlerde de karalar gibi ekilip biçilmektedir. Algler, brom, iyot, organik asitler, monosakkaritler, polisakkaritler, agar, aljinik asit, steroller, proteinler ve vitaminler içermektedirler [41].

Eski zamanlarda deniz yosunlarının terapötik kullanımları sadece geleneksel tedavi ile sınırlıydı, Fakat günümüzde yapılan çalışmalar doğrultusunda alglerin, diğer bitkisel ürünlere kıyasla tüberküloz, artrit, soğuk algınlığı ve grip tedavisi için iyileştirici bir etkiye sahip olduğu ileri sürülmüştür [42]. Deniz yosunlarının çoğunlukla Asya ülkelerinde uzun bir geçmişe sahiptir. Bu ülkelerde işlevsel gıda ve şifalı otlar olarak yaygın olarak kullanılmaktadır [43]. Günümüzde algler Japonya, Çin, Kore, Malezya, Tayland, Endonezya, Filipinler ve diğer Güney Doğu Asya gibi birçok ülke tarafından yüksek protein içeriğine sahip olduğundan salata veya kurutulmuş olarak tüketilmektedir. Çoğunlukla *Ulva*, *Enteromorpha*, *Caulerpa*, *Codium*, *Monostroma*, *Sargassum*, *Hydroclathrus*, *Laminaria*, *Undaria*,

Macrocystis, Porphyra, Gracilaria, Eucheuma, Laurencia ve *Acanthophora* türleri kullanılmaktadır [44].

Günümüzde yine tıp alanında alglerden elde edilen bazı kimyasalların anti-kanser, anti-amoebik (anti-parazitik etki), spazmolitik (spazm engelleyici), diüretik (idrar arttırıcı), analjezik (ağrı kesici), anti-anjiyogenik (damar açıcı), immünoestimulan (uyarıcı), anti-alzheimer, anti-fungal, anti-viral, anti-tümör, anti-alerjik etki, hipotensiv (tansiyon düşürücü), kolestrol düşürücü, obeziteyi önleyici, sitotoksik etkisi olduğu bildirilmektedir [45].

Yeni ilaçların geliştirilmesi için ilaç şirketlerinden en çok dikkat çeken maddeler sülfatlı polisakkaritler (anti-tümörler ve anti-viraller), halojenli furanonlar (zehirli bileşikler) ve kahhalide F (anti-kanser ve anti-AIDS bileşikleri) olmuştur [46].

Yaşam kalitesi üzerinde önemli bir etkisi olan en yaygın halk sağlığı sorunlarından biri olan diş çürüğü için doğal kaynaklara sahip alternatif tedaviler araştırılmaktadır. Bir grup araştırmacı, diş ve tıbbi alanda fayda sağlayacağını düşünerek *Sargassum polycystum* ekstraktının *Streptococcus mutans* ve *Lactobacillus casei*'ye karşı minimum inhibitör konsantrasyonunu ve bakterilerin büyüme eğrilerinin belirlenmesi üzerine çalışmıştır. *Sargassum polycystum* çalışılmış ve umut verici olan antibakteriyel, analjezik, anti enflamatuvar, sitotoksisite ve antitümör aktivitelere sahip kahverengi bir deniz yosunudur. Bu çalışmanın sonuçlarında ise etanol ekstresinin kullanılan patojenlere karşı kısmi inhibasyon gösterdiği belirlenmiştir [47].

Araştırmacılar, deniz yosunlarının diş çürüklerine veya periodontal hastalıklara neden olan oral patojenlere karşı potansiyelini keşfetmeye dikkatlerini çekmeye başladılar. Deniz yosunu, antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu kanıtlanmış olduğu için ağız hastalığının önlenmesinde yardımcı bir materyal olarak ilgi görmektedir [38].

Algoterapi, yosun özlerinin sağlık veya güzellik bakımlarında kullanıldığı bir bilimdir. 19. yüzyılın sonunda ve 20. yüzyılın başında yosun özleri ile bakım yapılması, birçok sahil beldelerinde yaşayan insanların ortak bir özelliğiydi. Bu bakımlar artrit, romatizma ve diğer ağrılar için bir tedavi olarak kullanılmaktaydı. Günümüzde ise yosun özlerinin kozmetik uygulamalarda zengin ve değerli olduğu

düşünülmesiyle birlikte ticari olarak da gelişmektedir. Piyasa da bulunan bir çok güzellik ve vücut bakım ürünleri yosun özleri bulundurmaktadır [42].

Deniz ortamındaki yaşayan algler, stres koşulları altında hayatta kalmak için ikincil metabolitlerin biyosentezine sahiptir. Alglerde bulunan ve biyolojik olarak aktif olan bileşenler, güçlü cilt koruma yetenekleri nedeniyle kozmetik endüstrilerinde aktif bir bileşen olarak kullanılmaktadır. Deniz yosunlarının aktif bileşenleri antioksidan, antibakteriyel, beyazlatma ajanı, anti-aging, anti-akne, ve nemlendirici olarak kozmetik endüstrilerinde kullanılmaktadır [48].

Alglerden elde edilen vitamin, pigment, yağ asitleri, polisakkaritler, kabuklulardan elde edilen kitin ve kitosan, balıklardan elde edilen kollajen, jelatin, peptit gibi maddeler kozmesötik ürünlerde kullanılmaktadır [49]. Mantarlar, mantar benzeri protistler ve bakteriler gibi denizel organizmalar da içerdikleri, mikosporin benzeri aminoasitler, karotenoitler, yağ asitleri ve kitosan gibi biyoaktif maddeler sayesinde yaşlanma karşıtı, cilt beyazlatıcı, zararlı ışınlarla karşı koruyucu özellikleriyle yüz, vücut ve saç bakımında kullanılırlar [50].

Kahverengi deniz yosununun kloroplastlarında bulunan pigment olarak işlev gören bir tür ksantofil olan fukoksantin, anti-mikrobiyal ve anti-kanser dahil olmak üzere çok sayıda sağlık yararı özelliği içerdiği bildirilmiştir [51]. Bu deniz bitkisi aynı zamanda doğal antioksidanlar olarak yüksek potansiyel sergileyen yüksek miktarda polifenol içerir. Deniz yosunlarındaki polifenoller serbest radikal temizleyiciler ve antimikrobiyal ajanlar olarak kanıtlanmıştır ve şu anda majör dejeneratif ve eksiklik hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır [52].

Deniz yosunu, geniş coğrafi dağılımı ve karasal bitki üzerindeki avantajları nedeniyle biyoenerji üretimi için umut verici bir hammaddedir. Yosun biyokimyasal, biyoetanol, biyogaz ve gübre gibi çeşitlendirilmiş üretimler ile sağlıklı ve karlı bir iş alanı oluşturmaktadır. Bununla birlikte, muazzam potansiyeli ve benzersiz kimyasal bileşimi ile makroalgler iyi bir pazar potansiyeline sahiptir ve muhtemelen enerji üretimi için sürdürülebilir bir çevreye iyi huylu alternatif hammadde için önemli bir katkı sağlayacaktır [53].

Alglerin en umut verici kullanım alanlarından biri ise atık arıtımı alanıdır. Arıtılmak istenen atıklar üzerine yetiştirilen algler, bakteriler tarafından biyolojik olarak parçalanır ve maddeyi okside etmek için kullanılan oksijeni üretir. Bu işlem,

özellikle azotu sabitleyebildikleri için siyanobakterilere uygundur [54]. Makroalglar de dahil olmak üzere ticari su bitkilerinin toplam dünya üretimi, 2016 yılında 31.2 milyon tona ulaşmıştır [55].

Kahverengi alglerden elde edilen, önemli ürünlerin başında aljinik asit ve aljinatlar gelmektedir. Aljinik asit ve aljinatların Amerika'daki üretimi 1929 yılında başlamış ve endüstri kolu olarak gelişmiştir. Alg endüstrisinin kaynak sorunu ile karşılaşmaması için, denizde doğal olarak üreyen alglerden faydalanmanın yanında, bu bitkilerin kültürlerinden de yararlanma yoluna gidilmiştir [41].

2.1.2 Algler ile yapılan kimyasal araştırmalar

Deniz organizmaları, biyolojik aktivitelere sahip büyük bir doğal ürün kaynağıdır. Alkaloitler, fenolik maddeler, steroidler, terpenoitler gibi sekonder metabolitleri içermekle birlikte yaşam süreçlerini korumak için birincil metabolitler de içermektedirler. Ekolojik, toksikolojik ve farmakolojik olarak da anti-oksidan, anti-tümör, anti-herpes ve anti-fouling (çürüme önleyici etki) gibi aktiviteleri kapsamaktadır [56].

Deniz yosunları, nişasta sindirim enzimlerinin inhibisyonu ve oksidatif stresin düzenlenmesi yoluyla diyabet gibi kronik hastalıkları tedavi etmek için kullanılabilecek bir biyoaktif bileşik kaynağıdır [57]. Ayrıca, deniz yosunu polisakkaritleri serbest radikalleri emmede ve organizmalardaki oksidatif stresten kaynaklanan hasarı önlemede önemli bir rol oynamaktadır [10].

Yapılan bir çalışmada bakır zehirlenmesi semptomları görülen koyunlara verilen taze deniz yosunlarının terapötik etkiye sahip olduğu olduğu ve bakır düzeyini düşürdüğü bildirilmiştir [58].

2003 yılında kırmızı alg olan *Laurencia obtusa* üzerine Prof. Dr. Topçu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise antimalaryal aktivite gösteren ve bir bromlu seskiterpen olan (8R*)-8-bromo-10-epi- α -snyderol izole edilmiştir [59].

Kırmızı bir alg olan *Gracilaria verrucosa*'nın kimyasal bileşenleri üzerine ise 2008 yılında yapılan bir çalışmada yeni bir sterol glukozid olan (24R)-5-stigmast-9-(11)-en-3-D-glucopyranoside metanol ekstraktından elde edilmiştir. Diklorometan ve aseton ekstraktından ise kolesterol ve (Z)-9-heksadekenoik asit (palmitoleik asit) elde edilmiştir [60].

Yosun güçlü antimikrobiyal özelliklere sahip olsa da, özellikleri bir türden diğerine farklılık gösterir. Çeşitli çalışmalar, farklı deniz yosunu grupları arasındaki antimikrobiyal aktivitelerdeki değişimleri bildirmektedir. Bu varyasyon, farklı ekstraksiyon yöntemleri, ekstraksiyonda kullanılan çözücüler ve numunelerin toplandığı farklı mevsimlere bağlı olabilir [61].

Deniz alg özlerinin kabakulak, enfluenza B gibi viral replikasyonlar (virüslerin üremesi) üzerindeki inhibitör etkileri 1958'den beri bilinmektedir. Uzun yıllar boyunca yapılan çalışmalarda ise antiviral ve antitümör aktivite, sulu alg ekstraktlarında sülfatlı polisakkaritlerin varlığına atfedilmiştir [62].

Sülfatlı polisakkaritlerin ise bir retrovirüs olan insan immun yetmezlik virüsüne (HIV) karşı farklı antiviral etki mekanizmalarına sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca yapılan bir çalışmada ise sülfatlı polisakkaritlerin insan T hücresi lenfotropik virüs tip 1 kaynaklı sinsiyum oluşumunun etkili inhibitörleri olduğunu göstermiştir [63].

Alglerde bulunan fenol, flavonoid ve tanen gibi fenolik yapıdaki bileşenler antioksidan aktiviteden ve serbest radikal kovucu etkiden sorumludur [64, 65]. Alg ekstraktları ile yapılan çalışmalarda ekstrede bulunan polifenollerin antioksidan etki gösterdiği belirtilmiştir [64].

Ascophyllum nodosum kahverengi alglerden elde edilen sulu ve etanolik ekstraktların anti-diyabetik özellikleri ve α -glukozidaz enzimi için inhibitör potansiyeli sergilediği Zhang ve arkadaşları tarafından değerlendirildi. Bu ekstraktların polifenol bakımından zengin ve polisakkarit içerdiği belirlendi [66]. Apostolidis ve meslektaşları tarafından 2011 yılında yapılan bir başka çalışmada, Kuzeydoğu ABD sahil şeridinden *Ascophyllum nodosum* toplanmıştır. Bu çalışma, bu alglerin ekstraktının antioksidan aktiviteye sahip olan ve α -glukozidaz ve α -amilaz üzerinde inhibitör bir etki gösteren fenolik bileşikler içerdiğini göstermiştir [67].

İngiltere'de toplanan bazı makroalglerin fenolik ekstraktlarının antidiyabetik etkileri Nwosu ve arkadaşları tarafından test edildi. Bu çalışmada, *Alaria* ve *Ascophyllum* kahverengi alglerin fenolik ekstraktları α -amilaz enzim aktivitesi üzerinde inhibitör etki gösterdi. *Ascophyllum*'un fenolik özü, α -glukozidaz üzerinde inhibitör bir etki sergiledi [68].

Farklı türdeki algler ile yapılan bir çalışmada *Gracilaria gracilis*'in β -karoten (provitamin A) yönünden en zengin, *Utricularia rigida*'nın Vitamin C (askorbik

asit), ve *Dictyopteris membranacea*' nin ise α - tokoferol (vitamin E) yönünden en zengin alg olduğu belirlenmiştir [69].

Tip 2 diyabetli hastalarda deniz yosununun lipid profili takviyesi üzerine etkisinin sonuçları, deniz yosunlarının TG (tiroglobulin) ve LDL'yi (düşük yoğunluklu lipoprotein) düşürmede etkili olabileceğini ve HDL'de (yüksek yoğunluklu lipoprotein) belirgin bir artış olabileceğini göstermiştir [70].

Lakshmana S. ve arkadaşları, Hindistan'ın Güneydoğu kıyı bölgesinden 10 deniz yosununda çeşitli çözücüler kullanarak α -amilazın inhibitör aktivitesinin incelemiş ve *Padina gymnaspora* etil asetat ekstraktının α -amilaz üzerinde güçlü bir inhibitör etkiye sahip olduğunu bulmuştur [71].

Min ve arkadaşları ise diyabetli kişilerde *Undaria pinnatifida* ve *Saccharina japonica* dahil olmak üzere deniz yosunu takviyelerinin fizyolojik etkilerini değerlendirdi. Çalışmaları, bu deniz yosunlarının ekstraktlarının kan glikozunu kontrol ettiğini ve kan lipitlerini ek olarak düşürdüğünü, anti-oksidan enzimlerin GSH-px (glutasyon peroksidaz) ve CAT (katalaz) aktivitesini arttırdığını buldu [72].

Metastazlı yirmi ileri kanser hastalarında fukoidanın oral uygulama etkinliğini değerlendirmek için prospektif, açık etiketli bir klinik çalışma yapılmıştır. Sonuçlar, fucoidan'ın iki haftalık alımdan sonra IL1 (interlökin-1), IL6 (interlökin-6) ve TNF (tümör nekrozis faktör) seviyelerini düşürdüğünü gösterdi. Bu nedenle, sülfatlanmış bir polisakkarit olan fukoidan kemoterapi gören kanser hastaları için destekleyici bakım olarak kullanılabilir. Benzer sonuçlar, on beş sağlıklı postmenopozal kadının *Undaria pinnatifida* içeren kapsüller kullanılarak tek kör plasebo kontrollü bir çalışmada işe alındığı günlük deniz yosunu tüketimi ile Japonya'daki meme kanseri insidansı arasındaki ilişkinin araştırılması sırasında bulundu. Çalışmanın sonunda, daha düşük ürokinaz tipi plazminojen aktivatör seviyeleri önemli ölçüde azaldığı ve muhtemelen kanser hücresi proliferasyonu ve invazivliği azalttığı görüldü [70].

Kang ve arkadaşları, *Petalonia binghamiae*'den izole edilen fukoksantin, lipogenezi azaltarak ve β -oksidasyonu artırarak protein kinazını aktive ederek obeziteyi hafiflettiğini göstermiştir [73]. Kore plajlarından 37 deniz yosunu türünün metanolik özleri toplanarak yapılan diğer bir çalışmada ise *Undaria pinnatifida*'nın metanolik ekstraktının, anti enflamatuar etkileri ve insülin direncinde bir azalma ile

ilişkili olan omega-3 yağ asitlerinin (PUFA) içeriğinin ilişkili olduğunu göstermiştir [74].

Koreli araştırmacılar, kahverengi makroalg *Fucus vesiculosus*'un hücre duvarının, HCT-116 kolorektal kanser hücrelerinde apoptozu indükleyerek antikanser aktivitesini gösteren sülfat polisakkarit bileşiği olan fukoidan içerdiğini bildirdi [75].

Yapılan bir çalışmada biyolojik olarak nadir görülen bir aminoasit olan d-aspartat'ın varlığı 38 tür deniz yosununda değerlendirilmiştir. Her yerde bulunan serbest L-aspartat varlığına rağmen, Sargassaceae ailesinde sadece 5 türde serbest D-aspartat tespit edilmiştir. Fakat yeşil ve kahverengi alg türlerinin hiçbirinde bulunamamıştır. Bu sonuçlar ise deniz makroalglerinde serbest D-aspartat varlığının teretia bölümündeki türler hariç, sadece Sargassaceae ailesiyle sınırlı olduğunu göstermektedir [76].

Kahverengi algler, yeşil ve kırmızı alglere göre daha yüksek miktarda E vitamini içermektedir. Kahverengi makroalgler içinde E vitamini miktarı en yüksek *Ascophyllum* ve *Fucus* türlerinde 200-600 mg tokoferol/kg (kuru ağırlık) olarak belirlenmiştir. Yeşil ve kırmızı algler sadece alfa tokoferol içerirken, kahverengi algler alfa, beta ve gama tokoferolleri içerir [77]. Yapılan çalışmalarda kahverengi alglerden elde edilen ürünlerin anti-bakteriyel, antioksidan, anti-viral, anti-kanser gibi aktiviteleri nedeniyle tercih edilmeleri sağlıklı beslenme açısından önemlidir [45].

Maeda ve arkadaşları diyabetik sıçanlarda beyaz yağda UCP1'in (ayırma proteini) görünümünün *Anundaria pinnatifida* alglerinden elde edilen karotenoid, fukoksantin beslenmesi ile düzenlendiğini göstermişlerdir [78].

Kim ve ark. (2009), *Ishige okamurae* alglerinin biretanol ekstraktının, makrofajlarda NF-kappa β -transkripsiyon faktörünü devre dışı bırakarak diyabete bağlı oksidatif stresi inhibe ettiğini göstermiştir [75].

Undaria pinnatifida (Wakame)'nin yemeklerden sonra glikoz alım metabolizması ve insülin metabolizması üzerine etkileri Tanemura ve arkadaşları tarafından gözden geçirilmiştir. Çalışma, Wakame kullanımının insülin fonksiyonunu geliştirdiğini belirlemiştir [79].

Makro deniz yosunlarında gıda analizleri ile yüksek düzeyde karbonhidrat, mineraller, ve vitaminler saptanmıştır [80]. Makro alglerden yapılan nori, %30-50

protein (yaklaşık %75'i sindirilebilir), önemli miktarda A vitamini, C vitamini, niasin ve folik asit içermektedir [81].

Bir diğer çalışmada *Synechocytis sp.*'nin 6 farklı suşunun PHB (Polihidroksibütirat) üretim yeteneği ve anti-mikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Sadece *Synechocytis sp.* B6 suşu *Mariniluteicoccus flavus* ve *Proteus vulgaris* üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir [82].

Türkiyede yapılan bir çalışmada Karadeniz kıyılarından toplanan deniz yosunu türlerinin eser element içeriği araştırılmıştır. Yapılan araştırmanın sonucunda çinko, demir, krom, kurşun gibi birçok elementin konsantrasyonunun yüksek seviyede olduğu belirtilmekle birlikte birçok ülkede diyet olarak tüketilmekte olduğu bildirilmiştir [83].

Deniz yosunlarının biyoprotektif özelliklerinin belirlenmesini amaçlayan bir çalışmada, toplam fenolik içeriğinin kantitatif analizinde *Gelidella acerosa* ve *Haligra sp.*'nin yüksek fenolik içeriklere sahip olduğunu ve bu yosunların antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteler gösterdiği belirlenmiştir [84].

Üç kahverengi yosun olan *Dictyota dichotoma*, *Padaina pavonia* ve *Sargassum vulgare*'nin anti-oksidan, anti-mikrobiyal ve sitotoksik potansiyellerini belirlemeyi hedefleyen bir çalışmada, test edilen üç yosundan en iyi antioksidan aktiviteyi *Padaina pavonia* gösterirken, en iyi antimikrobiyal ve sitotoksik aktiviteyi *Dictyota dichotoma* göstermiştir [85].

Yalnızca kahverengi alglerde %3-4 oranında bulunan fucoidan, kendi hücre duvarlarına bağlı olan polisakkarittir. Düzenli kullanımı metabolizmadaki T-cell sayısını artırır. Dolayısıyla bağışıklık sisteminin güçlenmesine neden olur ve hücre yenilenmesini destekler. Antioksidan seviyesini artırır, beyaz kan hücrelerinin bakteri ve virüs gibi patojenlere saldırarak yok ettikleri süreç ile fagositozleri artırarak, bağışıklık sistemine destek verir. In vitro çalışmalar, fucoidan'ın anti-tümör, anti-anjiyojenik, anti-viral ve immünomodülatör etkileri olduğunu göstermiştir [86].

Dolastatin 10, ilk olarak *Dolabella auricularia*'dan izolasyonu yapılmıştır. Daha sonra *Symploca sp.*'da da var olduğu bulunmuştur. Dolastatin peptitleri neoplastik ajanlardır. Mikrotübül spinlerini yıkar ve mikrotübül bileşimini engeller. Dolastatin 3, 12, 15, 16, 40 gibi birçok dolastatin mavi-yeşil alglerden elde edilmiştir. Tübülün

bağımlı GTP (Guanozin trifosfat) hidrolizi ve nükleotit değişimi etkili bir şekilde dolastatin 10 tarafından inhibe edilir. Lenfoma hücre hatlarında Bcl-2 yolu ile apoptozu tetikler ve p53 gen ekspresyonunu artırır [87].

Kahverengi deniz yosunları ile yapılan çalışmalarda, anti-obezite ve anti-diyabetik etkiler saptanmıştır [88].

Tubinaria conoides'den elde edilen fukoidanözütünün aktif fraksiyonları ile yapılan bir çalışmada, fukoidanın pankreas kanserinin ilerlemesini düzenlediğini ve pankreas hücrelerinde apoptozu dikte edebileceğini göstermektedir [89].

Ascophyllum nodosum ve *Schizochytrium spp* olmak üzere iki alg türü üzerindeki antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerin değerlendirilmesi üzerine yapılan bir çalışmada, *Ascophyllum nodosum*, *Escherichia coli* O138'e karşı antimikrobiyal etki gösterdiği ve her iki yosunun da sinerjik bir etki ile antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir [90].

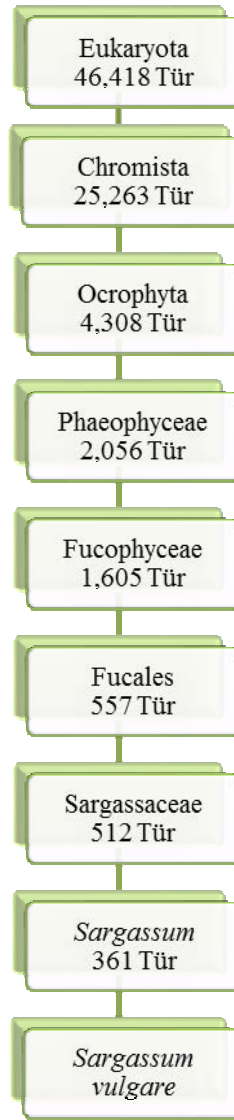
Tunus deniz kıyılarından toplanan kahverengi alg olan *Cystoseria schiffneri* ile yapılan bir çalışmada ise, 2 yeni madde izole edilmiş, mevsimsel değişiklikleri araştırılmıştır. Galaktolipidler, tilakoid membranların ana bileşenleri, dikkata değer mevsimsel değişiklikler gösterdiği belirlenmiştir [91].

Kırmızı ve kahverengi algler ile yapılan bir çalışmada alg kökenli halojenli monoterpenerin meme kanseri hücrelerine karşı antiproliferatif etkili olduğu tespit edilmiştir [92].

2.2 Botanik Bilgiler

2.2.1 Türün sistematikteki yeri

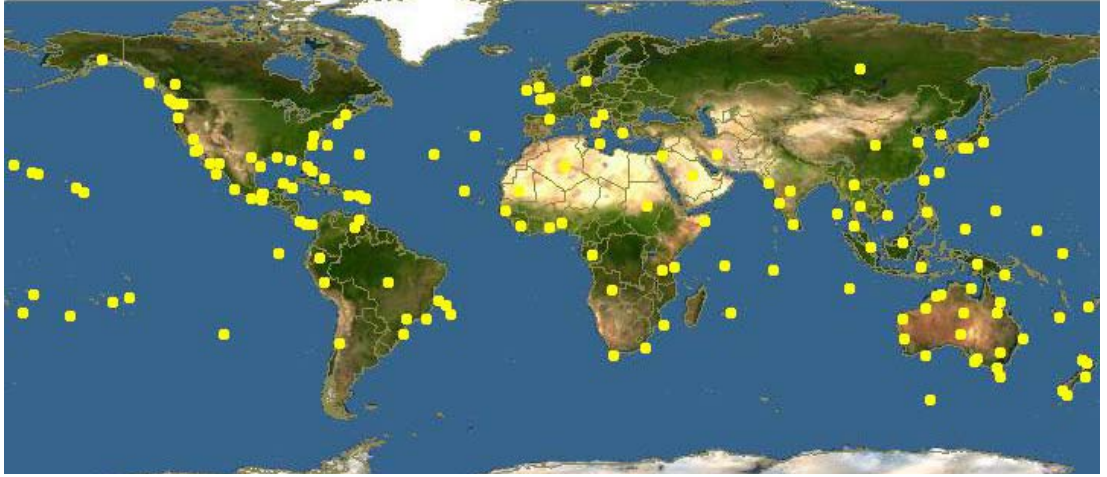
Alem : Chromista
Şube : Ochrophyta
Sınıf : Phaeophyceae
Takım : Fucales
Familya : Sargassaceae
Cins : *Sargassum*
Tür : *Sargassum vulgare* C. Agardh



Şekil 2.2: Türün Sistematikteki Yeri

2.2.2 Sargassaceae familyası

Sargassaceae familyası 512 türü ve karakteristik özellikleriyle kolaylıkla ayırt edilebilir. Genellikle tropikal enlemlerde bulunmasına rağmen dünyada pek çok bölgede yayılış göstermektedir.



Şekil 2.3: *Sargassum* Türlerinin Dünya Üzerindeki Yayılışı

Bu familya genel olarak tallus dallı ve yapraklı, kısa sürgünlüdür. Bir çoğu hava keseleri barındırır. Bu familyaya bağlı türler suda serbestçe veya takımlar halinde yapışarak yüzer [91].

2.2.3 *Sargassum* türleri üzerinde yapılan kimyasal araştırmalar

Sarı Deniz ve Doğu Çin Denizi'nde yaygın olarak bulunan *Sargassum pallidum* aminoasitler, polisakkaritler ve eser elementler bakımından oldukça zengin bir kahverengi deniz yosunudur. *Sargassum pallidum* ile yapılan çalışmalarda *S. pallidum*'dan elde edilen polisakkaritlerin, in vitro olarak HepG2 hücreleri, A549 hücreleri ve MGC-803 hücrelerine karşı anlamlı derecede yüksek anti-tümör aktivitesine sahip olduğunu belirlenmiştir. Aynı zamanda antioksidan aktivitesi gözlemlenen bu yosunun, insan mide kanseri hücre hattı MGC-803'e karşı in vitro antitümör aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir [93].

Sargassum türleri ile yapılan bir başka çalışmada MCF-7 (meme kanseri) ve Hep-2 (karaciğer kanseri) hücre hatlarına karşı antitümör etkisi araştırılmıştır. *Sargassum* türleri ekstresinin sırasıyla her iki hücre hattına karşı potansiyel sitotoksik aktivite gösterdiği belirlenmiştir [94].

Kahverengi alg türü olan *Sargassum*, anti-diyabetik çalışmalarda araştırmacılar için ilgi kaynağıdır. Kim ve arkadaşları, *Sargassum yezoense* alglerinden izole edilmiş sargaquinoik asidin ve sargahidrokinoinik asitin insülin direncini azaltmada yardımcı olabileceğini belirlemiştir [95].

Kumar ve meslektaşları, Hint kıyılarından çıkarılan *Sargassum wightii*'den elde edilen fukoidanın α -glukozidaza karşı inhibitör aktivite sergilediğini gösterdi [96].

Diğer bir çalışmada ise, *Sargassum coreanum* özü, farelerde hiperglisemi ve geliştirilmiş insülin direncini azaltmıştır [97].

Hwang ve arkadaşları, *Sargassum hemiphyllum* kahverengi alglerinin sulu, etanolik ve asetonik ekstraktlarından türetilen ana polifenollerin ve fukoksantin enzimleri inhibe ettiğini gösterdi [98].

Motahari ve arkadaşları *Sargassum polycystum*'un sulu veya etanolik ekstraktlarını incelediler ve bu ekstraktların insülin duyarlılığını artırarak tip 2 diyabetin neden olduğu hiperglisemi, dislipidemi ve oksidatif stresi azalttığını göstermişlerdir. Ayrıca ateroskleroz riskini azaltmaya yardımcı olabileceği belirtilmiştir [99].

Maneesh ve arkadaşları *Sargassum wightii* üzerinde ki çalışmalarında oksidatif stres üzerinde etkilenen etil asetat veya metanol özlerinden izole edilen bileşiklerin, anti-enflamatuar ve anti diyabetik etkileri gösterdiğini bulmuştur [100].

Diğer bir çalışmada ise, *Sargassum wightii*'nin etanolik ekstraktlarının anti-diyabetik ve anti-enflamatuar potansiyelleri in vitro olarak ölçüldü. Bu çalışmanın sonuçları, etanolik ekstrenin α -amilaz ve α -glukozidaz enzimleri üzerinde güçlü bir inhibitör etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Etanolik ekstrakt ayrıca glikasyon ve albümin ile ilgili enflamatuar etkileşimlerin etkilerini de inhibe etti. *Sargassum wightii*'deki antidiyabetik ve anti enflamatuar aktivitenin, askorbik asit 2,6-diheksadekanoatın varlığının yanı sıra flavonoidler, polifenoller, alkaloidler, tanenler, karbonhidratlar, proteinler, yağlar ve yağlar etanolik ekstrenin varlığına bağlı olduğu belirlenmiştir [101].

Başka bir çalışmada *Sargassum cinereum*'dan HCT-15 fukoidan'a karşı antioksidan ve sitotoksik aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır. Saflaştırılan fukoidanın antioksidan etkisi belirlenmiştir. Sitotoksikite test sonuçlarında ise hücre ölümünün yaklaşık %15'ine neden olduğu belirlenmiştir [43].

Suudi Arabistan Krallığı Jazan Eyaleti Kızıldenizde yapılan bir çalışmada kahverengi deniz yosunu olan *Sargassum aquifolium* (Turner) C.Agardh'ın kimyasal bileşimi ve antibakteriyel aktiviteleri araştırılmıştır. Antibakteriyel etkisinin sonuçları patojenik bakterilere karşı geniş bir aktivite spektrumu gösterdiği belirtilmiştir [102].

Sargassum thunbergii'den izole edilen ve bir alkaloid olan thunberol, obezite ve diyabetle bağlantısı olan PTP1B enzimini aktive ettiği belirlenmiştir [103].

Yine *Sargassum thunbergii*'den elde edilen ve bir peptit olan İndol-2-karboksaldehit aşağı regülasyon ile lipid birikimini engellediği belirlenmiştir [104].

Deniz algleri yapılan bir çalışmada ise *Sargassum polycystum*'un HeLa hücrelerinde göstermiş olduğu aktivite ve fitokimyasal bileşimi araştırılmıştır. Bu çalışmanın sonunda *Sargassum polycystum* ekstraktlarının flavonoid, steroid, tanen ve glikozit metabolitleri içerdiği ve HeLa hücreleri üzerinde güçlü bir antikanser aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. *Sargassum polycystum*'un umut verici doğal antioksidan ve anti-rahim ağzı kanseri ajanları olduğunu doğrulanmıştır [105].

2013'te Çin'den araştırmacılar, su makroalgleri *Sargassum oligocystum* ekstraktının lösemi kanser hücrelerinin çoğalmasını inhibe ettiğini, kahverengi makroalga *Sargassum filipendula*'dan izole edilen heterofucan bileşiklerinin servikal ve prostat kanseri hücreleri üzerinde antiproliferatif etkiler gösterdiğini ortaya koydu [106].

Sargassum fusiforme, kun Ming farelerinde UVB kaynaklı oksidatif stresi azalttı ve kozmetik bir cilt koruyucu olarak umut verici bir kullanıma sahipti [107].

Sargassum wightii'nin farmakolojik faaliyetlerini araştıran bir çalışmada, *Sargassum wightii*'nin hipertansiyon, diyabet ve enflamatuvar bozukluklar gibi ROS kaynaklı hastalıkların ortaya çıkmasını önlemek için fonksiyonel gıda takviyeleri olarak kullanılabileceğini belirtilmiştir [100].

Sargassum türleri üzerine yapılan bir diğer ilgi çekici çalışmada ise, kahverengi deniz yosunlarından elde edilen fucoidana deodorizasyon yöntemleri uygulamanın kimyasal özellikleri, uçucu bileşimi ve antioksidan aktivitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Fucoidan birçok biyoaktivite sergileyen eşsiz bir alg türevidir. Fakat hoş olmayan kokusu gıda ürünlerinde kullanılmasını sınırlandırmaktadır. Yapılan deodorizasyon yöntemlerinden sonra koku aktif bileşiklerinin önemli ölçüde azaldığı tespit edilmekle birlikte kimyasal bileşimini de değiştirmedeğini, bazı durumlarda antioksidan aktivitelerini arttırdığını doğrulamaktadır [108].

Dört tıbbi sargassum deniz yosununun yağ asidi içeriklerinin incelendiği bir çalışmada (*Sargassum fusiforme*, *Sargassum pallidum*, *Sargassum horneri*, *Sargassum thunbergii*), kardiyovasküler sağlık ile ilgili olarak çalışılan tüm türler, özellikle *Sargassum fusiforme* içeriği tatmin edici beslenme indeksleri içermektedir. *Sargassum*'un kardiyovasküler sağlık için yararlı olabileceği belirtilmiştir [109].

Sargassum wightii Greville ile yapılan bir çalışmada etanolik özlü kuru bitki tozunun farelerde ki antikanser aktivitesi araştırılmıştır. Sonuç olarak ekstraktın uygulanmasının antioksidan aktiviteyi arttırdığı ve antikanser aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir [110].

Sargassum boveanum ile yapılan bir çalışmada antitüberküloz aktivitesi ve farklı fraksiyonlarının sitotoksitesi araştırılmıştır. Metanol-etil asetat çözücülerini kullanarak maserasyon yöntemiyle ekstre edilip, Kupchan yöntemiyle buharlaştırılıp bölünmüştür. Yapılan testler sonucunda *Sargassum boveanum*'un ham özü tüberküloza karşı aktif olmadığı belirlenmiştir. Fakat farklı bölümlerinin kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir [111].

Yapılan bir diğer çalışmada, *Sargassum polycystum*'un anti-oksidan aktivitesi belirlenmiştir. Bunun yanında *Sargassum polycystum*'un sitotoksik testi ile kolon kanseri (HT-29) hücrelerine karşı aktivite gösterdiği belirlenmiştir [112].

Tablo 2.2: *Sargassum* Türlerinden Elde Edilen Bileşikler

Bileşikler	Türler
Meroterpenoitler	
Chromequinolide	<i>S. sagamianum</i>
Nahocol A	<i>S. autumnale</i>
Isonahocol D1;20E-Isomer, 100,110-dihydro, 120-ketone	<i>S. siliquastrum</i>
Fallachromenoicacid	<i>S. fallax</i>
Sargahydroquinoicacid	<i>S. sagamianum</i>
Florotaninler	
Bisfucopentaphlorethol A,4D-Chloro (orChlorobisfucopentaphloretholA)	<i>S. spinuligerum</i>
Nonafuhalol A	<i>S. muticum</i>
Fitosteroller	
4(3-2)-Abeo-4-hydroxy-2-oxostigmasta-5,24(28)-dien-3-oic acid;Ester	<i>S. carpophyllum</i>
Stigmasta-5,23,25-trien-3-ol; (3b,23E)-form	<i>S. polycystum</i>
Glikolipitler	
1-O-(6-Deoxy-6-sulphoglucopyranosyl)glycerol; a-D-form, 3-Hexadecanoyl	<i>S. wightii</i>
Glycerol 1,2-dialkanoates;Glycerol1-tetradecanoate2-(9Z-octadecenoate), 3-O-a-D-Glucopyranoside	<i>S. fulvellum</i>
Kumarinler	
Melanettin	<i>S. pallidum</i>
Stevenin	<i>S. pallidum</i>
Flavonoitler	
Calycosin	<i>S. pallidum</i>
Liquiritigenin	<i>S. pallidum</i>
Diterpenler	
Sargassinone	<i>S. crispum</i>
Crinitol	<i>S. tortile</i>

Kaynak: Liu, L., (2012)

2.2.4 *Sargassum vulgare* ile yapılan kimyasal araştırmalar

Sargassum vulgare'nin pamuk yaprağı solucanı olan *Spodoptera littoralis*'in hayatta kalma ve biyolojik özellikleri üzerine toksik etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak *Sargassum vulgare*'nin potansiyel bir doğal pestisit kaynağı olarak etkinliğini ortaya koymuştur [113].

Bir çalışmada ise Süveyş kanalından toplanan *Sargassum vulgare*'nin fitokimyasal ve farmasötik faaliyetlerini araştırmaktadır. Yapılan araştırmalar sonucunda *Sargassum vulgare* ekstrelerinin hücre büyümesini etkili bir şekilde inhibe ettiği belirlenmiştir. Farmakolojik çalışmalar incelenen tüm konsantrasyonlarda yüksek antioksidan kapasitesini ortaya koymuştur [114].

Brezilya'da yapılan bir çalışmada deniz yosunlarının mevsimsel değişikliğine bağlı anti-oksidan ve anti-HIV aktiviteleri araştırılmıştır. Araştırmacılar *Sargassum vulgare*'nin hem ekstre verimlerinden hem de biyoaktivitelerinden yağışlı mevsimde en çok umut veren alg olduğunu belirtilmişlerdir [115].

Bir çalışmada *Liagora ceranoides* (Rhodophyta), *Halopteris scoparia* (Ocrophyta), *Padina pavonica* (Ocrophyta) ve *Sargassum vulgare* (Ocrophyta) alglerinin etanol ve metanol ekstraktlarının hasta gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nden izole edilen *Yersinia ruckeri* suşları üzerine antibakteriyel aktiviteleri değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda anti-bakteriyel aktivite göstermediği tespit edilmiştir [7].

Sargassum vulgare'den izole edilen aljinatların renal etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, elde edilen aljinatın böbrek fonksiyon parametrelerini değerliştirdiği belirlenmiştir. *Sargassum vulgare* düşük viskoziteli aljinatın böbrek etkileri *Sargassum vulgare* yüksek viskoziteli aljinattan daha güçlü olarak belirlenmiştir. Bu etkinin fizikokimyasal bir etki olduğu savunulmaktadır [5].

Sargassum vulgare ile yapılan diğer bir çalışmada ise, *Sargassum vulgare*'den izole edilen aljinatın in vivo olarak proenflamatuar aktivite gösterdiği belirlenmiştir [116].

Sargassum vulgare gibi diğer deniz yosunları, sıçan modellerinde antitromboz ve anti-enflamatuar tepkiler gösterdi. *S. vulgare*'nin SV1'İ, karrageenan kaynaklı akut sıçan modeli kullanılarak 10, 30 ve 50 mg/kg konsantrasyon aralıklarında enflamatuar aktivite açasından değerlendirildi. *Laminaria japonica* ayrıca gliserol kaynaklı akut yaralanma sıçanlarda renoprotektif olarak değerlendirildi [107].

Ischia Adasındaki volkanik CO₂ delikleri doğal bir laboratuvar olarak kullanılarak yapılan bir çalışmada *Sargassum vulgare*'nin farklı zaman ölçeklerinde asitleşmeye olan metabolik tepkisini araştırmak hedeflenmiştir. Bu çalışmanın sonucu olarak gözlemlenen metabolik değişikliklerin alglerin asitleşmeyle başa çıkmasını destekleyen iklime bağlı olabileceğini ve uzun zaman ölçeğinde azalmış pH seviyesinin adaptasyona yol açabileceğini göstermektedir [117].

Bir başka çalışmada ise, Brezilyadan toplanan *Sargassum vulgare*'nin NMR ile aydınlatılmış olan bileşiğinin anti-Herpes aktivitesi tespit edilmiştir [56].

Daha önce yapılan çalışmalarda *Sargassum* türlerinden olan *Sargassum vulgare*'nin, yapısında antilipidemik madde içerdiği keşfedilmiştir. Diğer *Sargassum* türleri de antikoagülan ve analjezik özelliği olan alglerdendir. *Cyctoseria barbata* da yapısında antilipidemik madde bulunan ve denizlerimizde yayılış gösteren türlerdendir. *Macrocystis pyrifera* türü B12 vitamini yönünden zengin olduğundan anemide kullanılmaktadır. Kırmızı alglerden *Acanthopeltis japonica* türü besin olarak kullanılmakta olup kolesterol oranını düşürdüğü de bilinmektedir. *Porphyra atropurpurea* gibi bazı kırmızı algler ise “yara lapası” olarak kullanılmaktadır [84].

2.2.5 *Sargassum vulgare* cinsinin genel özellikleri

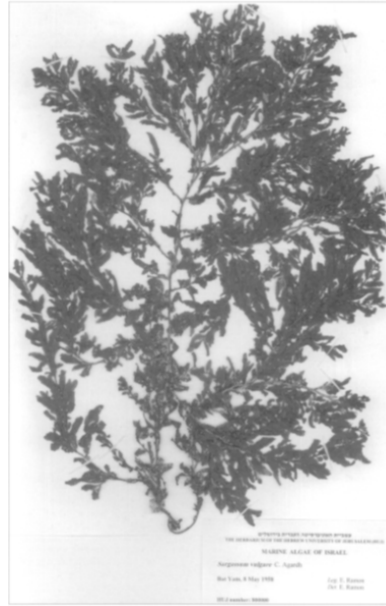
Sargassum vulgare, protein, karbohidrat, vitamin ve mineral değerlerinden dolayı iyi bir besindir. Doğu ülkelerinde geleneksel olarak tüketilen bir deniz yosunudur. *Sargassum vulgare* ile yapılan çalışmalarda kimyasal bileşiminin büyük çoğunluğunu (%67.80) karbonhidratlar oluşturduğunu, lipit yüzdesinin (%0.45) çok düşük olup, yüksek lif yüzdesi (%7.7) ve protein içeriği %15.76 olduğu belirlenmiştir [118].

Sargassum ekstrelerinin antioksidan özelliği yüksek olduğu için doğal bir kaynak olarak gıda katkı maddesi olarak kullanılabilir. Ayrıca lipid peroksidasyonu ve glutatyon-S-transferaz aktivitesi bulunduğundan besinlerin saklanması için kullanılabilir [119]. *Sargassum* türleri kirlenmemiş bölgelerde dağılım gösterirler ve ülkemizde Akdeniz sularında yaygın olarak bulunurlar [120].

Sargassum'un sağlık üzerinde yararlı etkileri olduğu iyi bilinmektedir ve geleneksel olarak Doğu Asya topluluğu tarafından çeşitli enflamatuar ilişkili hastalıkları tedavi etmek için kullanılmaktadır. *Sargassum*'un çeşitli biyoaktif bileşikleri, hem akut hem de kronik koşullarda potansiyel anti-enflamatuar aktivite gösterir. Anti-enflamatuar

ajan kaynağı olarak tropikal *Sargassum*'un gücü henüz tam olarak araştırılmamıştır. Tropikal *Sargassum*'dan sülfatlı polisakkaritler, anti-enflamatuar aktiviteleri için en çok çalışılan bileşiklerdir. Bununla birlikte, polar olmayan bileşikler (yağ asitleri ve türevleri, karotenoidler ve türevleri, steroidler ve polar lipidler), çekirge ketonu, poliketid makrolakton ve fenolik bileşenler gibi diğer potansiyel olarak biyoaktif bileşikler vardır [121].

Sargassum vulgare, dalları sivri uçlara sahip olan, yaprakları kalabalık ve kısmen bükülmüş doğrusal mızrak şeklinde doğrusal, 1-3 cm uzunluğunda, 2-4 cm genişliğinde düzensizdir. Üreme dalları maksimum 7-10 cm uzunluğunda kısa, bazen ikiye ayrılmış şekilde silindirik kaplı dallı basit ve sterildir. Akdeniz'deki tür ile diğer *Sargassum* türleri arasındaki en büyük fark üreme dallarının yapılarıdır. C. Agardh, *Sargassum vulgare*'yi sıkıştırılmış gövdeler, doğrusal, tırtıklı ve küresel yapraklar, kısa ve mukronat vezikülleri olmayan, dallı veya rasemöz kapları olan bir alg olarak tanımlamıştır [122].



Şekil 2.4: *Sargassum vulgare* C. Agardh'ın Korunmuş Türü

Kaynak: İsrail, Bat Yam, 8 Mayıs 1958, E. Ramon s.n. (HUI 800000)

2.3 Sekonder Metabolitler

Canlılar tarafından üretilen ve günümüzde ham madde olarak bir çok sektörde kullanılmakta olan canlının büyüme, gelişme ve üremesiyle ilişkisi doğrudan olmayan, birincil metabolitlerin nihai ürünleri olan, ve birincil metabolitler

kadarönemli organik kimyasal maddelerdir. Bu bileşiklerin canlı organizmada devamlı bir üretimi yoktur. Canlı organizmaların savunma mekanizmasında ve dış etkilere korunmasında önemli rol oynarlar [123].

Sekonder metabolitler, bitkilerin değişen çevre koşullarına uyumunda önemli rol oynarlar. Meydana gelen stres etkilerini azaltırlar [124]. Sekonder metabolitler, bitkilere besin olmanın yanında, uyarıcı içecek, baharat, lif, ilaç, şifalı bitki özü, zehir ve psikoaktif madde özelliği kazandırır. Yapılan çalışmalarda kompleks bileşiklerin organdan organa, bazen de bitki ve türleri arasında farklılık gösterdiği ve bunların bazen bitki sınıflandırmasında taksonomik karakter olarak kullanılabilereği bildirilmiştir [125].

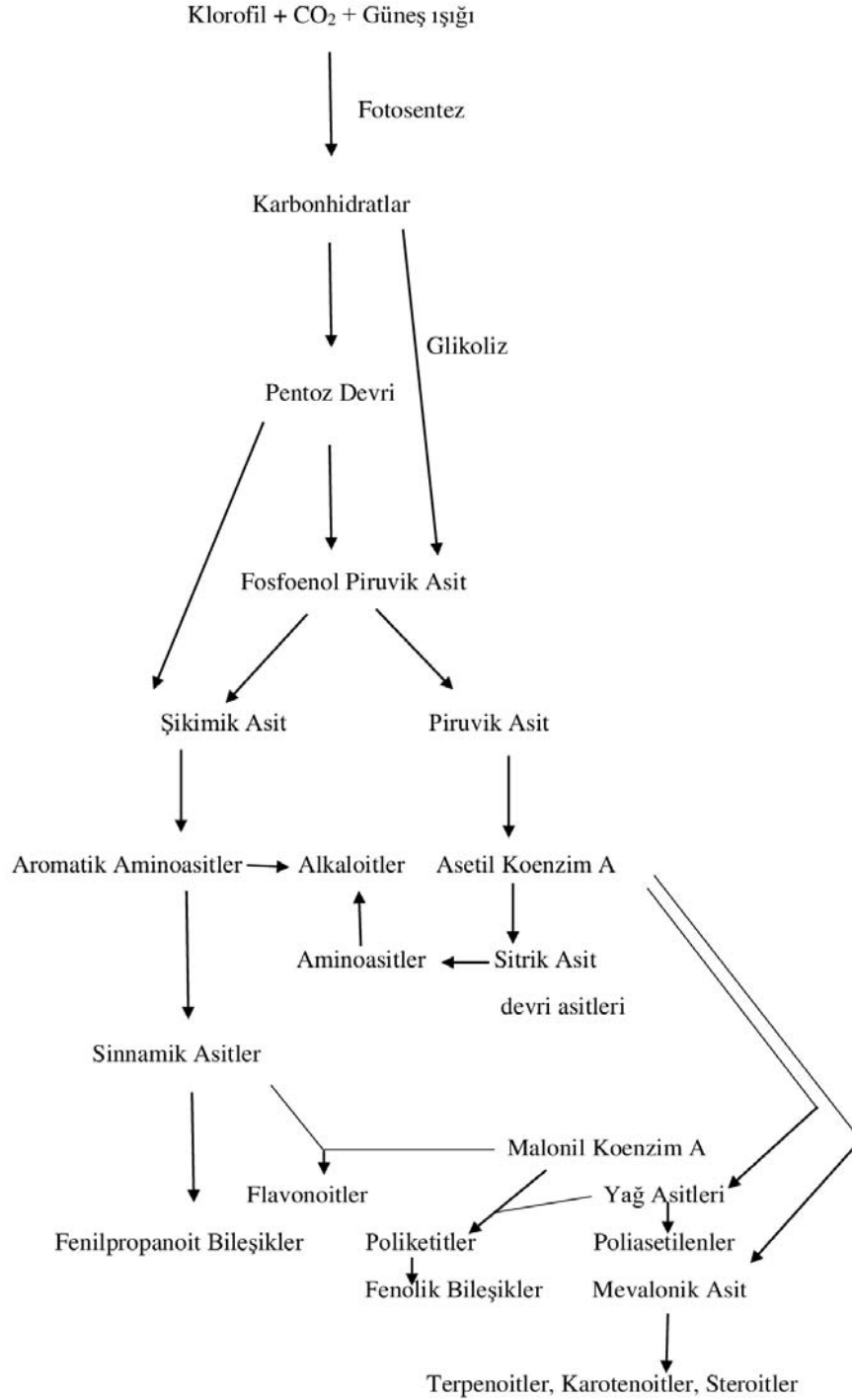
Sekonder metabolitler, bitkinin büyüme, fotosentez, ürün dönüşümü gibi gelişim faaliyetleri ile doğrudan ilişkili değildirler. Bu bileşikler bitkide doku, organ ve gelişme kısımlarında spesifik biyosentetik enzimler tarafından spesifik yollarla sentezlenir. Bitki organlarında yüksek konsantrasyonlarda depolanırlar. Sekonder metabolitler suda veya yağda çözünebilirler [125].

İnsanlar tarafından binlerce yıldır sekonder metabolitler bilinmesine ve boya (örn. indigo, shikonin), baharat (vanilin, capsaicin, hardal yağı), koku (gül, lavanta ve diğer uçucu yağlar), uyarıcı (kafein, nikotin, efedrin), halusinojenler (morfin, kokain, scopolamin, tetrahydrocannabinol), insektisit (nikotin, piperin, pyrethrin, rotenone), omurgalılar ve insan zehirleri (coniine, strchnine, acanitrine, colchicine, kardiyak glikozitler) ve tedavi edici (atropin, quinine, cardenolide, kodein) olarak kullanılmasına rağmen varsayılan biyolojik fonksiyonları tartışılmaktadır. Genellikle tıpta kullanılan ilaç hammaddeleri ve gıdalarda kullanımları dolayısıyla gerekli olan sekonder metabolitler doku kültürü ile elde edilebilmektedir [126].

2.3.1 Sekonder metabolitlerin genel özellikleri

Sekonder metabolitlerin amaçları farklılık göstermektedir. Mikrobiyal patojenlere karşı sitotoksik etkileri olan sekonder metabolitler antimikrobiyal madde olarak da kullanılmaktadır. Bazı sekonder metabolitlerin merkezi sinir sistemi üzerine etkisi nörotoksik şekildedir. Bu sekonder metabolitler anti-depresan, sakinleştirici, kas gevşetici olarak ya da anestetik ilaçların keşfinde yararlanılmaktadır. Algleri, herbivor hayvanlara karşı sıcaklık değişimleri, su, ışık, ultraviyole ve mineral madde gibi abiotik stres faktörlerine karşı korur. Günümüzde en fazla çalışılan alg sekonder

metabolitleri alkaloidler, halojenli bileşikler, terpenoidler ve fenolik bileşikler ile toksinlerdir [127]. Yaşamsal faaliyetler gerçekleştirmek için gerekli olan birincil metabolitlerden enzimatik yollarla sekonder metabolitler oluşur. Sekonder metabolitlerin oluşumu aşağıda gösterilmiştir [128].

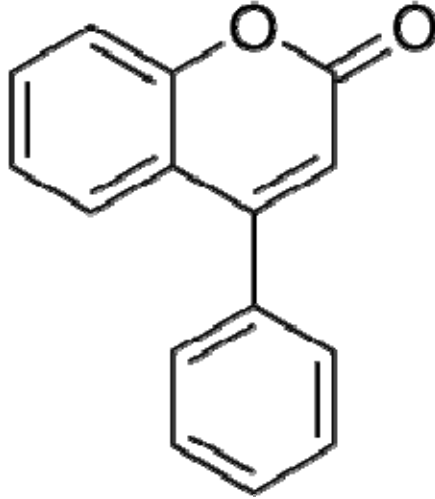


Şekil 2.5: Sekonder Metabolitlerin Oluşumu

2.3.2 Fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler, aromatik bir hidrokarbon parçası üzerinde hidroksil ($-OH$) eklenen maddeleri içeren bir bileşik grubudur. Alglerde fenolik bileşiklerin varlığı ilk olarak Crato tarafından bildirilmiştir. Alglerde polifenoller fenolik asitler, tanenler, flavonoidler, kateşinler ve aninlerdir gibi bileşikler bulunmaktadır. Genel olarak, kahverengi alger, kırmızı ve yeşil algere kıyasla daha yüksek miktarda phlorotannin içerir. Bu phlorotannins, antioksidan, antiproliferatif, antibiyotik, antidiyabetik, anti-HIV, antialerjik ve anti enflamatuvar özellikler gibi önemli biyolojik aktivitelere sahiptir [129].

Polifenoller, kendine özgü antioksidan, anti-enflamatuvar aktiviteleri ve diyabet, hipertansiyon, nörodejeneratif hastalıklar ve kanser yönetimi için etkinliği için deniz alg metabolitleri sınıfı üzerinde çalışılmıştır [130]. Fenolik asitler, phlorotannins, bromofenoller ve flavonoidler [131] içeren geniş bir bileşik grubudur. Kahverengi alger, geniş yapısal çeşitliliğe sahip zengin bir fenolik metabolit kaynağıdır. Moleküler ağırlıkları 162 Da ile 650 kDa arasında dağıtılan polar hidrofilik bileşiklerdir [132].



Şekil 2.6: Flavonoid Yapısı

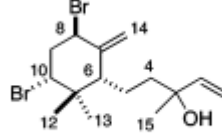
2.3.3 Polisakkaritler

Polisakkaritler, basit şekerler olan monosakkaritlerin polimerleridir. Algler, aljinatlar ve karrageenan gibi fikokolloid üretmek için dünyanın birçok bölgesinde yetiştirilmiştir. Bu polisakkaritlerin bazıları gıdaya fonksiyonel değer verir. Fukoidan gibi sülfatlı polisakkaritlerin, sülfatsız polisakkarit laminarin ile birlikte biyolojik aktiviteleri gösterdiği gösterilmiştir. Genel olarak, bu polisakkaritler çözücü olarak su veya su ile ekstrakte edilebilir, alginatları ayırmak için kalsiyum klorür kullanılarak gerçekleştirilir [133].

Alg polisakkaritleri, alg türüne göre yapılarında farklılıklar gösterir. Phaeophyceae (kahverengi algler), fukoidan (sülfatlı fukoz zengin glikanlar) aljinat gibi anyonik polisakkaritler ve selüloz, laminarin ve mannitol dahil olmak üzere nötrpolisakkaritler bakımından zengindir. Rhodophyceae (kırmızı algler) selüloz, xylans, mannans, porfirin, floridean nişastası ve agarlar ve karrageenanlar gibi sülfatlı galaktanlar içerir. Klorofillerdeki (yeşil algler) polisakkaritler ulvan, selüloz, sülfatlı galaktanlar, ksilanlar, nişasta ve β -D-mannanlardır. Algal polisakkaritlerin yararı kısmen sindirilmeyen diyet liflerinin yüksek içeriğinden kaynaklanmaktadır. Bu lifler tokluk duygularını artırır ve hacim kapasiteleri ile sindirim sürecine yardımcı olur. Yosun lifi tüketimi, obezite, diyabet ve hipertansiyon gibi kronik hastalıkları azaltmaya etki edebilir [134].

2.3.4 Terpenoidler

Alglerdeki terpenoidler büyük bir yapısal çeşitliliğe sahiptir. Sadece kahverengi alglerde ve diatomlarda bulunan en bol karotenoidlerden biri olan fukoksantin, antioksidan ve anti-obezite özelliklerine büyük ilgi göstermiştir. Fukoksantin, yağ dokusunun birikimini inhibe edebilir, insülin duyarlılığını artırabilir, obeziteye bağlı sitokin üretimini azaltabilir ve lipid metabolizması ve enerji harcaması ile ilgili genlere aracılık edebilir [135]. *Sargassum fusiforme* ile yapılan bir çalışmada farelerde streptozotosin kaynaklı hiperglisemiyi hafifletir. Bağırsak bakterilerine neden olan diyabeti azaltır [136]. *Laurencia* türlerinden elde edilen bromlu seskiterpen synderol, sıtma (malarya) hastalığı etkeni olan *Plasmodium falciparum*'a karşı antimalaryal aktivite göstermiştir.



(8*R**)-8-bromo-10-epi- β -snyderol

Şekil 2.7: Bromlu Seskiterpen Yapısı

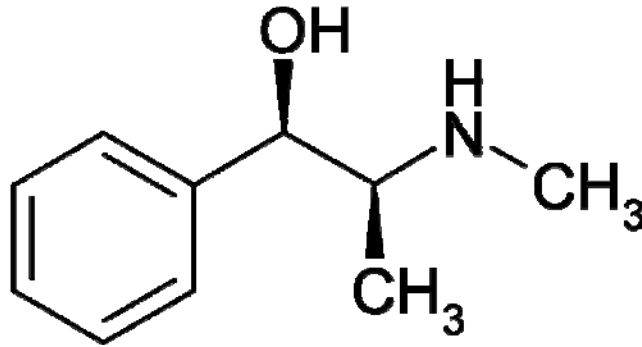
2.3.5 Yağ asitleri

Deniz yosunları, kuru ağırlığının %2'sini temsil eden nispeten düşük miktarda yağ asidi içerir. Mono ve çoklu doymamış yağ asitleri (MUFA ve PUFA) nin insülin duyarlılığını arttırarak glikoz intoleransı olan kişilerde t2dm'ye karşı geniş terapötik etkiler sergilediği bildirilmiştir [137].

Wang, Paul ve Luesch (2013), *Ulva lactuca*'dan MUFA türevlerinin antioksidan ve anti-enflamatuar aktivitelerini bildirmişlerdir [138].

2.3.6 Alkaloidler

Son araştırmalarda, diğer doğal ürün kategorilerine kıyasla daha az olarak alg alkaloidlerine önem verilmiştir. Alglerde bulunan alkaloidlerin çoğu feniletilamin alkaloidleri, indol ve halojenli indol alkaloidleri altına düşer. Halojenli indol alkaloidleri sadece algler de dahil olmak üzere deniz organizmalarında bulunur. Hordenine, 1969 yılında deniz yosunlarından izole edilen ilk bildirilen alkaloiddir. Bununla birlikte, hordenine (Şekil 2.8) toksik bir metabolittir, yüksek dozlarda ciddi yan etkilere neden olabilir [139].



Şekil 2.8: Alkaloid Yapısı

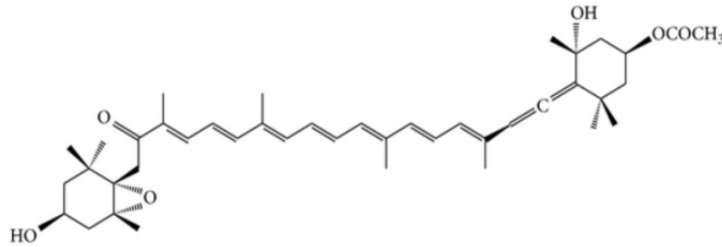
2.3.7 Biyoaktif peptitler ve proteinler

Biyoaktif Peptitler ve proteinler, Deniz yosunlarının protein içeriği türlere göre farklılık gösterir. Genel olarak, kahverengi deniz yosunlarının protein fraksiyonu, yeşil veya kırmızı deniz yosunlarına (kuru ağırlık bazında %10-47) kıyasla daha düşüktür (kuru ağırlık bazında %3-15). Birçok deniz yosununda histidin, lösin, izolösin ve valin gibi esansiyel amino asit bulunur [140].

Peptitler, anti-hipertansif (ACE inhibitör) etkileri ile ünlüdür. Alglerden türetilmiş ACE inhibitör peptidlerin çoğunluğu, 1.5 ila 220 μM arasında değişen IC_{50} değerlerine sahip 2-5 amino asitten oluşurlar [141].

2.3.8 Karotenoidler

Karotenoidler, bitkiler, mantarlar ve alger tarafından fotosentezlenen izoprenoid moleküllerdir. Yeşil alg türleri β -karoten, lutein, violaksantin, neoksantin ve zeaksantin içerirken, kırmızı alg türleri esas olarak α - ve β - karoten, lutein ve zeaksantin içerir. β -carotene, violaxanthin ve fucoxanthine kahverengi alg türlerinde bulunur. Fukoksantin, *Undaria pinnatifida*, *Hijikia fusiformis*, *Laminaria japonica* ve *Sargassum fulvellum* gibi yenilebilir kahverengi deniz yosunlarında bulunan karakteristik bir turuncu ksantofildir. Karotenoidlerin tahmini toplam doğal üretiminin yaklaşık %10'unu oluşturur. Fukoksantin antioksidan, antikanser, antiobezite, antidiyabetik ve antiphotaging aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur [142, 143].



Şekil 2.9: Fukoksantin Yapısı

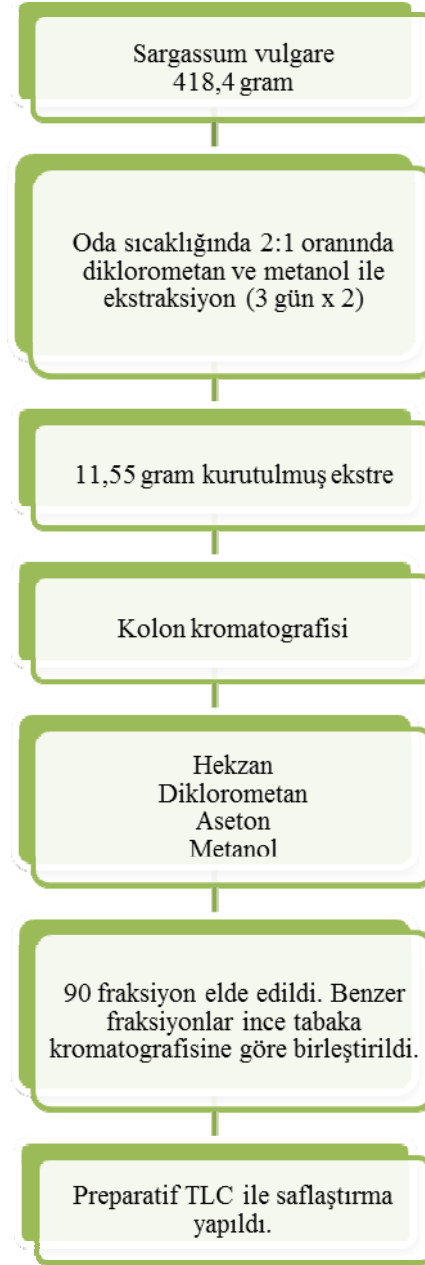
3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Bitkisel Materyal

Sargassum vulgare C.Agardh 1820, 05.08.2016 tarihinde Antalya şehrinin Serik bölgesine bağlı olan Boğazak'dan 1-2 metre derinlikten toplanmıştır. Dr. Emine Şükran OKUDAN tarafından teşhis edildi. Bitki örneği Akdeniz Üniversitesi Herbaryumunda E82 kodu ile saklanmaktadır.

3.2 Ekstrelerin Hazırlanması

Deniz yosunu olan *Sargassum vulgare*'nin toprak üstü kısmı gölgede kurutulduktan sonra tartıldı. Tartısı 418.4 g olan *Sargassum vulgare* ilk olarak öğütücüde küçük parçalara ayrıldı. Öğütülmüş olan *Sargassum vulgare* ise 396.74 g olarak tartılmıştır. *Sargassum vulgare*'nin oda sıcaklığında 2:1 diklorometan: metanol (v/v) ile ekstraksiyonu (3gün×2) yapıldı. Rotaevaporatörde çözücüleri uçurulduktan sonra 11.55 g kuru ekstre elde edildi.



Şekil 3.1: *Sargassum vulgare* Ekstraksiyon ve İzolasyon Aşamaları

3.3 Kimyasal Maddeler Çözücüler ve Çözeltiler

3.3.1 Kimyasal maddeler ve çözücüler

- Merck 1.07734.1000 Silica gel 60 (0.063-0.200 mm)
- Merck 1.05554.0001 TLC Silica gel 60 F254
- Sigma-Aldrich metanol
- Sigma-Aldrich aseton
- Sigma-Aldrich etanol
- Sigma-Aldrich etil asetat
- Merck petrol eteri
- Riedel-de Haen diklorometan
- Riedel-de Haen kloroform
- Merck BHT (Bütillenmişhidroksi toluen)
- Aldrich Chemistry Serium (IV) sülfat
- Riedel-de Haen sodyum karbonat
- Merck Sodyum bikarbonat
- Merck Dimethylsulfoxide
- Merck Triton X-100
- Merck DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium)
- Merck TWEEN® 80

3.3.2 Çözeltiler

3.3.2.1 İnce tabaka kromatografisinde kullanılan belirteç

Serik sülfat belirtecinin hazırlanması: 2,0 g seryum (IV) sülfat tetrahidrat 100mL %10'luk H_2SO_4 'de çözülerek hazırlandı. Belirteç, uygun çözücü sisteminde yürütülen ince tabaka plaklarına pulvarizatör kullanılarak püskürtüldü.

Dragendorff belirteci hazırlanması: 100 g tartarik asit 400 ml su içinde çözüldü. 8.5 g temel bizmut nitrat ilave edildi ve çözelti 2 saat çalkalandı. Daha sonra 200 ml

%40 potasyum iyodür eklendi, ve çözelti şiddetli bir şekilde çalkalandı. 24 saat bekletildikten sonra çözelti süzüldü.

3.4 Cihazlar ve Gereçler

- Hassas terazi (Ohaus Adventurer-Pro ve Shimadzu AUW220D)
- Manyetik Karıştırıcı ve Isıtıcı (IKA RCT basic hot plate)
- Binder Redline RI 53 İnkübatör
- Vortex Velp Scientifica Vortex ZX
- UV kabin ve lamba (Camag UV)
- Nükleer Manyetik Rezonans Cihazı (NMR): Saf bileşiklerin ¹H NMR analizleri 500 MHz, ¹³C NMR analizleri 125 MHz Bruker BioSpin AG Z115311/ MSC10022 serili smart problu NMR spektrometrelerinde yapılmıştır.
- Döner Buharlaştırıcı (Stuart RE300 DB Evaporatör, BFC S2500 Pompalı Vakum Filtre Seti)
- Ultrasonik Banyo (VWR mx1000)
- Otomatik tekli ve çoklu pipetler (0,5-10 µL, 20–200 µL, 100–1000 µL, 1000–5000 µL) (Eppendorf),
- Azot Tüpü
- Strata® SI-1 Silica (55 µm, 70 Å), 100 mg / 1 mL, Tubes, 100/Pk
- LC-HRMS (Thermo Scientific Qexactive-1007SL)
- GC-MS/MS (Thermo Scientific TSQ9N18)

3.5 Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri

3.5.1 MİK yöntemi ile antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivitede kullanılacak olan bakteri ve fungusların, *Escherichia coli* (ATCC® 25922™), *Staphylococcus aureus* (ATCC® 25923™) ve *Aspergillus flavus* (ATCC® 22547™) olarak belirlenmiştir.

Testte kullanılacak olan antimikrobiyal aktiviteyi belirlemek için MIC yöntemi uygulanmıştır. Katı besiyerinde difüzyon yoluyla MİK (minimum inhibitör konsantrasyon) değerlerinin saptanması amaçlanılmıştır. MİK bir mikroorganizmanın üremesini önleyen en düşük ilaç konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır. Plaklar 24 saat 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra plaklarda MİK değerlendirilmesi yapılmıştır. İnkübasyon sonrası kuyucuklardaki pembe renk üreme varlığı, mor renk ise üreme olmadığını göstererek değerlendirme yapılmıştır.

3.6 Sitotoksik Aktitive Tayin Yöntemleri

3.6.1 MTT testi ile hücre proliferasyonunun ölçülmesi

MTT [3-(4,5-dimethyl-2-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H tetrazolium bromide] metodu, bir ilacın veya ajanın hücre üzerindeki sitotoksik etkisini renk değişikliğine bağlı yorumlamaya yarayan bir yöntemdir. Hücre canlılığı ve proliferasyon miktarı ve ilacın IC50 (%50 inhibitör konsantrasyon) değerini sayısal verilerle ifade etmeye yardımcı olur. MTT, uygulandığı ortamdaki canlı hücrelerin mitokondrisindeki enzimlerin yapısına bağlanır. İnkübasyon döneminin ardından kültürler %1’lik DMSO katılır. Oluşan renk mor rengin tonlarına dönüşür.

Canlılığın ve proliferasyonun çok olduğu hücre koyu mor boyanırken, sitotoksik etki oluşmuş canlılığı azalmış veya kaybolmuş hücreler açık mor veya pembe renkte boyanır. MTT analizi hücre canlılığını gösteren güvenilir bir testtir. Bu test, hücreler kimyasal bir madde veya bir malzemenin etkisinde kaldıktan sonra, hücre mitokondrisinin fonksiyonel durumunu değerlendirilmesi yoluyla sitotoksik etkiyi belirler. Canlı hücrelerde mitokondrial dehidrojenaz (redüktaz) hücrenin içinde tutunan sarı tetrazolium tuzunu azaltır, MTT’yi, mavi renkli formazana dönüştürür.

3.7 İstatiksel Yöntemler

Aktivite sonuçlarında elde edilen veriler 3 paralel testin ortalama \pm standart sapması olarak verildi. Sonuçlar Student-t testine göre %95 güven sınırları içinde bulundu. Konsantrasyon ile absorbanslar arasında ölçü eğrileri çizildi ve ilgili regresyon denklemleri bulundu. En küçük kareler yönteminin kullanıldığı doğrusal regresyon analizi eğim, intersept ve korelasyon katsayılarının değerlendirilmesiyle yapıldı.

3.8 Kromatografik Yöntemler

Kromatografi, maddeler karışımının bir sabit faz üzerinden, bir hareketli faz yardımıyla geçirilerek bileşenlerine ayrılması yöntemidir. Kromatografik yöntemin ilkesi; belirli bir karışımı oluşturan bileşenlerin her birinin hareketli faz ile sürüklenme ve sabit fazda tutunma meyillerinin birbirinden farklı olmasıdır.

Karışımı oluşturan bileşenler ayrı ayrı kromatografik modelde farklı hızlarda ilerleyerek birbirlerinden uzaklaşırlar. 1850'li yıllarda Runge, 1890'lı yıllarda Reed, 1900'lü yıllarda D.T. Day tarafından kromatografik yöntemler geliştirilmiştir. Fakat kromatografi denilince akla gelen ilk isim Polonyalı botanikçi M. S. Tswett olmaktadır. Polonyalı botanikçi 1906 yılında bir cam boru içine doldurulan adsorbanlar üzerinden bitki ekstraktlarını aktarmış ve karoten, ksantofil gibi pigmentlerin kolonun farklı bölgelerinde renkli parçalar halinde ilerlediğini gözlemlemiştir. Bu sebeple kromatografi terimi adını, renklerin grafiği ya da renklerin ayrılması anlamından almaktadır.

Bu tez çalışması sırasında hazırlanan ekstrelerin fraksiyonlandırılması için kolon kromatografisi, benzer fraksiyonları birleştirmek ve saf madde elde etmek için ince tabaka kromatografisi teknikleri kullanılmıştır [144].

İnce tabaka kromatografisinde, alüminyum üzerine silikagel kaplı hazır plaklar (20 x 20 cm) ve cam plaklar (20 x 20; 20 x 10) kullanıldı. Cam plakları hazırlamada adsorban olarak Silikagel GF254 kullanıldı. Ekstrelerin kolon kromatografisi ile ayrılmasıyla elde edilen fraksiyonların karşılaştırılmasında ince tabaka kromatografisi plakları kullanıldı. Maddeleri saflaştırmak için preparatif ince tabaka kromatografisinden yararlanıldı.

3.8.1 Kolon kromatografisi

Hazırlanan Ekstrelerin fraksiyonlandırılması ve elde edilen fraksiyonlardan saf madde izolasyonu için kolon kromatografisinden yararlanılmıştır. Bu çalışmada elde edilen madde miktarlarına göre birbirinden farklı genişlik ve uzunluklarda cam kolonlar kullanıldı. Kolonların dolgu maddesi olarak ise silikajel (Merck 1.07734) kullanıldı. Hazırlanan ekstreler az miktarda uygun bulunan çözücüde çözülerek adsorban ile karıştırıldı. Karışım oda sıcaklığında kurutuldu. Kuruyan karışım daha sonra toz kıvamına getirildi. Elde edilen toz karışım dibine az miktarda pamuk

yerleştirilmiş, ekstre miktarına uygun olarak seçilmiş ve boyunun 2/3 oranında silikajel ile doldurulmuş kolonun üst kısmına eklendi. Bu işlem uygulanırken adsorban ve üzerine doldurulan maddenin üst yüzeyinin düzgün olmasına önem gösterildi. Elüsyona (bileşiklerin kolon boyunca ilerlemesi) apolar bir çözücü olan %100 Hekzan ile başlandı ve sırasıyla diklorometan, aseton ve metanol ile polarite artırılarak elüsyona devam edildi, sonunda %100 metanol ile elüsyon tamamlandı. Bileşiklerin renkli olması durumunda ise bu bileşikler renkli halkalar halinde kolonda gözlenip, farklı erlenlerde toplandı. Maddelerin renkli olmaması durumunda ise; bileşenleri saf halde elde edebilmek için erlen olabildiğince sık aralıklarla (100'er ml'lik erlenlerde) değiştirildi. Benzer fraksiyonlar ince tabaka kromatografisi yardımıyla birleştirildikten sonra saflaştırma için preparatif ince tabaka kromatografisi veya daha küçük boyuttaki kolonlar (adsorban silikajel) kullanıldı.

3.8.2 İnce tabaka kromatografisi

İnce tabaka kromatografisi (İTK) için, arkası alüminyum kaplı hazır silikajel plaklar (20 x 20 cm) (Merck 1.05554) ve cam plaklar (20 x 20 ; 20 x 10) kullanıldı. Cam plaklar hazırlanırken adsorban olarak Silikajel 60 GF254 (Merck 1.07730) kullanıldı. Tatbik edilen maddeler için uygun çözücü sistemleri seçildi. Çözücü ile yürütme işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra ortaya çıkan lekeler UV ışık altında incelendi ve işaretlendi. İşaretlenen lekeler özel bir belirteç olan serik sülfatve dragendorf belirteci ile etüvde 105°C'de 5 dakika bekletilerek belirgin lekelerin gözlemlenmesini sağlandı. İnce tabaka kromatografisinde maddelere özgü Rf değerleri sayesinde farklı maddeler ayırt edilebildi, aynı fraksiyonlar birleştirildi.

Maddeleri saflaştırmak için ise preparatif ince tabaka kromatografisinden yararlanıldı. İlk olarak uygun çözücü sistemleri belirlendi. Preparatif ince tabaka kromatografisinde içindeki bileşikleri ayrılmış bir şekilde izole etmek istediğimiz madde plaklara başlangıç çizgisi boyunca düzgün bir şekilde tatbik edildi. Daha sonra maddelerin birbirlerinden ayrılmasını sağlayacak polaritesi uygun olan önceden belirlediğimiz çözücü sistemi ile yürütüldü. UV ışık altında birbirlerinden ayrılmış halde yürüyen maddeler tespit edildi. Her biri ayrı ayrı erlenlere alındı. Son olarak uygun çözücülerle maddeler saf halde geri kazanıldı.

3.9 Spektroskopik Yöntemler

3.9.1 NMR spektroskopisi

Bu çalışmada; kromatografik yöntemlerle saflaştırılan bileşiklerin ^1H NMR, ^{13}C NMR, APT, spektrumları alındı. Referans olarak tetrametilsilan (TMS) ve çözücü olarak döterokloroform (CDCl_3), döterometanol (CD_3OD) kullanıldı. Saf bileşiklerin ^1H NMR analizleri 500 MHz, ^{13}C NMR analizleri 125 MHz Bruker BioSpin AG Z115311/ MSC10022 serili smart problu NMR spektrometrelerinde Bezmialem İlaç Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır.

3.9.2 Kütle Spektrometresi

Kütle spektrometresi, analiz örneğinin buharlaştırılması, iyonlaştırılması ve oluşan iyonların kütle/yük değerlerine göre ayrılarak kaydedilmesi işlemleri için geliştirilmiş bir cihazdır [145, 146].

3.9.2.1 Sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (LC-MS)

Kütle spektrometrisi, uçucu olmayan bileşenler içeren numunelerin analizi için sıvı kromatografi ile birleştirilmiştir. Madde ya da madde karışımı uygun çözücülerde çözüldükten sonra cihaza yerleştirilir. Numunedeki her bir madde yüksek basınçlı sıvı kromatografi kısmında ayrılarak kütle spektrometresi bölümüne gelir ve her bir maddenin ayrı ayrı kütle spektrumu elde edilerek analiz gerçekleştirilir [145].

3.9.2.2 Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS)

Kütle spektrometrisi, yüksek duyarlılığı ve tarama çabukluğu ile gaz kromatografiden elde edilen çok az miktarda maddelerin yapısı hakkında bilgi edinmek için en uygun yöntemdir. Bir karışımdaki organik bileşikler gaz kromatografisi ile kolayca ayrıldıktan sonra tanınmaları mümkün olabilmektedir. İki tekniğin birleştirilmesi, doğal ve sentetik organik karışımdaki bileşiklerin yapı analizi için son derece uygun bir yöntem oluşturmaktadır. Gaz kromatografisi ile birkaç saniyede ayrılan nanogram miktarda bileşiklerin kütle spektrumları alınabilmektedir [145].

4. DENEYSEL BÖLÜM

4.1 Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri

MİK testi için mikroplak kullanılarak seri dilüsyonlar elde edilmiştir. Testte kullanılacak olan *Escherichia coli* (ATCC® 25922™), *Staphylococcus aureus* (ATCC® 25923™) ve *Aspergillus flavus* (ATCC® 22547™) standart kökenleri 0,5 McFarland'a ayarlanmış olup, 1/100 oranında sulandırılarak 105cfu/ml konsantrasyonda bakteri elde edilmiştir. Her bir kuyucuğa bakteriler için 50µl Muller Hinton Broth, *A.flavus* için RPMI 1640 Medium'dan 50µl eklenmiştir. Negatif kontrol olarak DMSO pozitif kontrol olarak da bakteri kökenleri kullanılmıştır.

- Pozitif kontrol için seri dilüsyon ile 10⁵cfu/ml konsantrasyonda hazırlanan bakteri solüsyonundan 10 µl ilk kuyucuğa eklenmiştir ve her bir kuyucuktan tekrar 10µl çekilerek bir sonraki kuyucuğa aktarılmış olup, son kuyucuktan artan 10 µl karışım atılmıştır.
- Negatif kontrol için ilk kuyucuğa 10 µl DMSO eklenmiş olup, seri dilüsyon yapılmıştır. Son kuyucuktan 10 µl çekilerek atılmıştır.
- Antimikrobiyal kontrol için 83 µg/ml rifampisin kullanılmıştır. İlk kuyucuğa 10 µl rifampisin konsantrasyonundan eklenip, seri dilüsyon yapılmıştır. Son kuyucuktan 10 µl çekilerek atılmıştır.
- Test grubu için; Kimyasal maddeden 50µl alınıp, ilk kuyucuğa eklenmiştir. Sonrasında seri dilüsyon yapılmış olup, son kuyucuktan 50 µl çekilerek atılmıştır. Bu işlem her bir kimyasal madde için ayrı ayrı uygulanmış olup sonrasında her kuyucuğa 10 µl bakteri eklenmiştir.

Bu çalışma da kullanılan 4 maddenin başlangıç konsantrasyonları aşağıda belirtildiği gibidir;

1. SV-27: 830 µg/ml
2. SV-64-65: 1250 µg/ml
3. SV-2: 1625 µg/ml

4. SV-7: 1875 µg/ml

Plaklar 24 saat 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır (*A.flavus* 24°C" ve SV-27, SV-64-65, SV-7 ve SV-2 maddeleri MDA-MB-231 (ATCC® HTB-26™) ve sonrasında 10 µl rezasurin ile birlikte 10µl %20’lik tween 80 ilave edilmiştir. *S.aureus* ve *E.coli* için 2-4 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra, plaklarda MİK değerlendirilmesi yapılmıştır. *A.flavus* için rezasurin ilavesi sonrasında bir gece 24°C’ de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında kuyucuklardaki pembe renk üreme varlığını, mor renk ise üreme olmadığını göstererek değerlendirme yapılmıştır.

4.2 Sitotoksik Aktivite Yöntemleri

SV-27, SV-64-65, SV-7 ve SV-2 maddeleri MDA-MB-231 (ATCC® HTB-26™) ve 769-P (ATCC® CRL-1933™) hücre serileri ile 96 kuyucuklu plakalara 10⁴ hücre/kuyucuk olacak şekilde ekildi. Kullanılan hücre serilerinden MDA-MB-231 (ATCC® HTB-26™) insan meme kanseri, 769-P (ATCC® CRL-1933™) ise sıçan böbrek kanseri organizmalardır. %10 FBS ve 50 ünite/mL penisilin/streptomisin içeren DMEM F12 besiyerinde, 24 saat boyunca 37°C inkübatörde yüzeye tutunmalarına izin verildi. 24 saat sonunda besiyeri değiştirilen hücrelere farklı konsantrasyonda test maddeleri triplike olarak 400 ug/ml, 200 ug/ml, 100 ug/ml, 50 ug/ml, 25 ug/ml, 12.5 ug/ml, 6.25 ug/ml olmak üzere kademeli dilüsyon ile 6 farklı konsantrasyon uygulandı. Negatif kontrol olarak %1’lik DMSO kullanıldı. Pozitif kontrol olarak %0,1 Triton X-100 eklendi. Test maddeleri 24 saat inkübe edildikten sonra son konsantrasyon 0,5 mg/mL olacak şekilde MTT eklendi ve 3 saat karanlıkta ve 37 °C’de inkübe edildi. Bu süre içerisinde sarı renkli MTT ajanı mor renkli çökeltiler oluşturması beklendi. 3 saatin sonunda besiyeri dökülerek MTT kristallerini çözünür hale getirmek için 100 uL DMSO eklendi ve 540 nm’de çoklu pleyt okuyucuda absorpsiyon ölçüldü. Absorbans miktarı hücre canlılığı ile orantılıdır. Sitotoksite düzeyleri aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$$(örnek OD_{540} - pozitif kontrol OD_{540})$$

$$\% Canlılık = \frac{\text{-----}}{\text{-----}} \times 100$$

$$(negatif kontrol OD_{540} - pozitif kontrol OD_{540})$$

4.3 *Sargassum vulgare* Alginin İzolasyon ve Saflaştırma Yöntemleri

Sargassum vulgare deniz yosununun toprak üstü kısımlarının tamamı gölgede kurutulduktan sonra küçük parçalara ayrıldı. Daha sonra öğütücüde öğütüldü. Öğütülen deniz yosunu (418,4 g) oda sıcaklığında üç kez 2:1 oranında diklorometan ve metanol ile masere edildi. Rotaevaporatörde çözücü uçurulduktan sonra 2:1 oranında diklorometan-metanol ekstresi elde edildi. Elde edilen ekstre (11,55 g) kurutulduktan sonra silikajelin adsorban olarak kullanıldığı bir kolon üzerinden fraksiyonlandırıldı. Elüsyon sistemine apolar bir çözücü olan %100 hekzan ile başlanmış ve polarite belli oranda arttırılarak sırasıyla diklorometan, aseton ve %100 metanole kadar devam edilerek 81 fraksiyona ulaşılmıştır. İTK sonuçlarına göre benzer fraksiyonlar birleştirilmiştir.

5. BULGULAR

5.1 Elde Edilen Saf Bileşiklerin Yapı Tayini

Ana kolon, heksan ile elüsyona tabii tutuldu, hekzan ile kolon tamamen yıkandıktan sonra önce gradient olarak %10 diklorometan ilave edilerek yıkamaya devam edildi, ve ince tabaka kromatografisi ile kontrol edilerek tedricen diklorometan yüzdesi artırılıp 17. fraksiyonda %100 kloroforma geçildi ve müteakiben 19. fraksiyonda %5 asetona geçildi, 43. fraksiyonda %100 asetona geçildi ve 49. fraksiyonda %5 metanole geçildi. 78. fraksiyonda ise %100 metanole geçip 81. fraksiyonda ise kolonun elüsyonu sonlandırılmıştır.

5.1.1 SV-2 (SV-55-57-10-22-1)

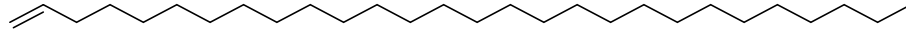
Toz halinde elde edilen bileşiğin CDCl_3 'de alınan $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda en üst alanda 0.81 ppm'de gözlenen metilin 7 Hz'lik tripletinin ($J= 7.0$ Hz) yanı sıra bu metil ile bölünen bir çift CH_2 protonu (metilen çifti) 1.98 ve 1.95 ppm'de broadened (genişlemiş) dubletler ($J= 6.9$) olarak izlendiler.

Bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda izlenen diğer kayda değer sinyali oldukça alt alanda 5.74 ppm'de izlenen bir protonluk dddd ($J= 17.1, 10.3, 6.8, 6.8$ Hz) şeklindeki karakteristik sinyal ve bu protonla 17.1 ve 10.3 Hz'lik sırasıyla *trans* ve *cis* kapling yapan iki sinyal 4.92 ve 4.88 ppm'de gözlemlendi. Bu protonlardan 4.92 ppm'de gözlenen 17.1 Hz'lik bir *trans* bölünmenin yanı sıra 4.88 ppm'de ki protonla ile 2 Hz'lik bir geminal bölünme yapmaktaydı. Doğal olarak 4.88 ppm'deki sinyalde 2 Hz'lik geminal kapling'in yanı sıra 5.74 ppm'deki proton sinyali ile 10.3 Hz'lik bölünmesini yapıyordu ki bu durum bir uç metilen grubunun varlığına işaret ediyordu. 1.20-1.30 ppm arası sinyaller çok sayıda CH_2 grubunun varlığına işaret etmekteydi, ancak kesin metilen grubunun sayısının 27 olduğu, dolayısıyla toplam karbon sayısının 28 olduğu GC-MS kütle spektrumunun alınmasıyla M^+ 392 olarak belirlendi.

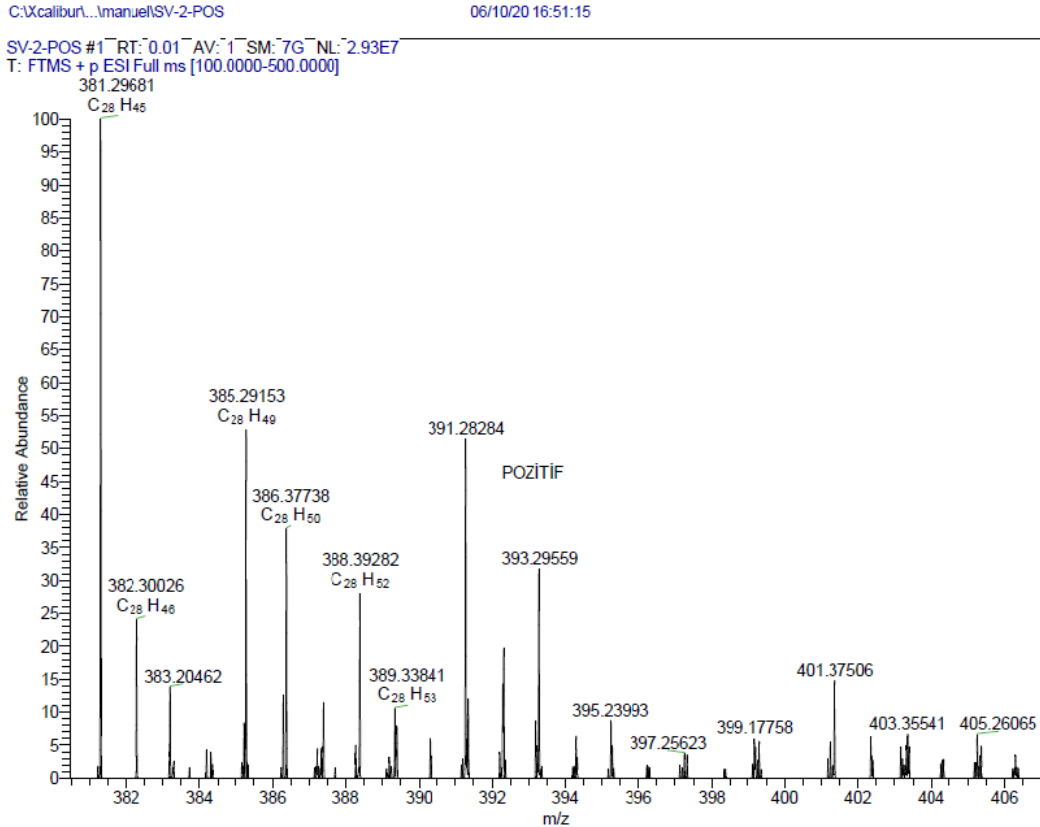
Nitekim BB ve APT teknikleriyle ^{13}C spektrumları alınmıştır. Uzun zincirli bir yapıya sahip olduğu, bileşiğin 22.71 ppm ile 33.85 ppm arasında izlenen

karbonlarından anlaşılmıştır, en uçtaki ppm metil grubunun karbonu ise 14.15 ppm'de izlenmiştir. Müteakiben alınan HSQC spektrumunda 5.74 ppm'deki metil (CH) protonuna 139,31 ppm'deki C sinyali karşılık gelirken olefinik yapıya sahip olan diğer uç, yani CH₂ grubunun karbonu ise 114,08 ppm'de izlenmiştir. CH₂ zinciri karbonları 22.71 ppm ile 33.85 ppm arasında izlenmesi ile anlaşılmıştır. Uzun zincire ait alifatik metilen protonlarından en alt alanda çıkan 33.85 ppm sinyali çifte bağa komşu olan CH₂ karbonuna aittir, proton ile C arasındaki korelasyon böylece HSQC spektrumunda açıkça izlenmiştir.

Elektrospray iyonlaşma ESI-HRMS tekniğiyle pozitif ve negatif modda alınan GC-MS spektrumunda [M-1]⁺ ve [M+1]⁺ sinyallerinin 393.29559 ve 391.25284 olarak izlenmesiyle bileşiğin C₂₈H₅₆ kapalı formülüne sahip olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak kütle ve 1D ve 2D NMR spektrumlarına dayanarak bu bileşiğin yapısının 1-Oktakozen (1-Octacosen) ve IUPAC isminin octacos-1-ene olduğu belirlenmiştir.

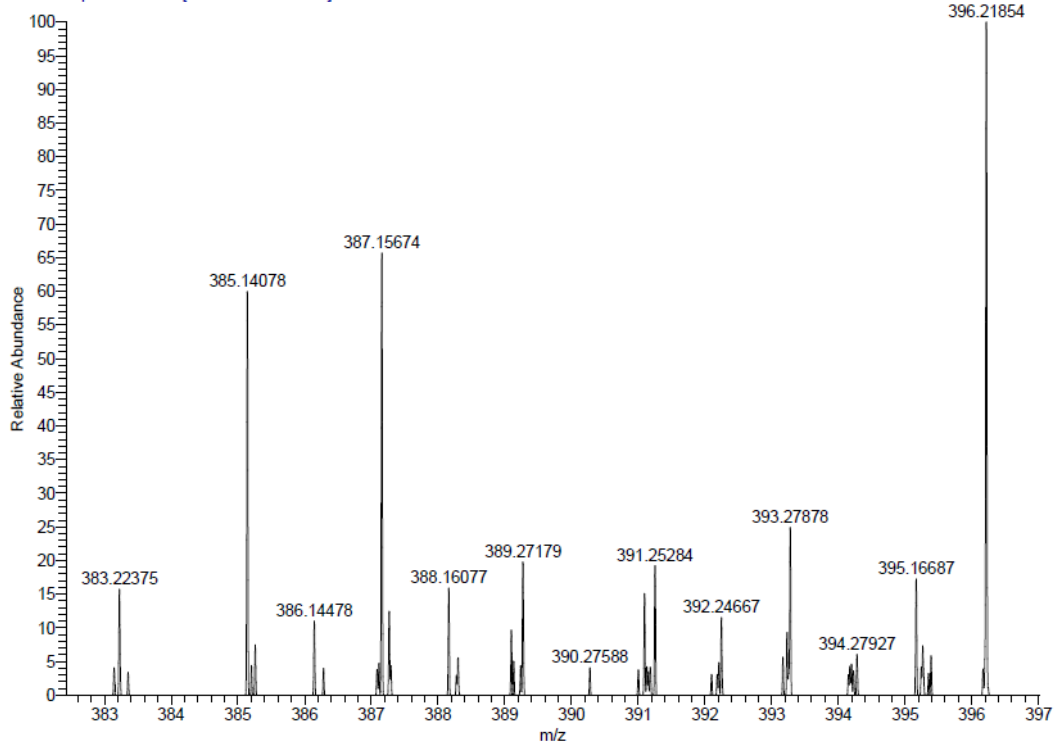


Şekil 5.1: 1- Oktakozen Yapısı



Şekil 5.2: SV-2 Pozitif GC-MS Spektrometre Bulguları

SV-2-NEG #1 RT: 0.01 AV: 1 SM: 7G NL: 1.04E7
T: FTMS - p ESI Full ms [100.0000-500.0000]

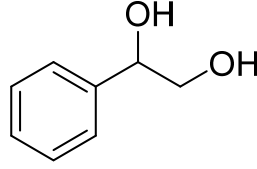


Şekil 5.3: SV-2 Negatif Spektrometre Bulguları

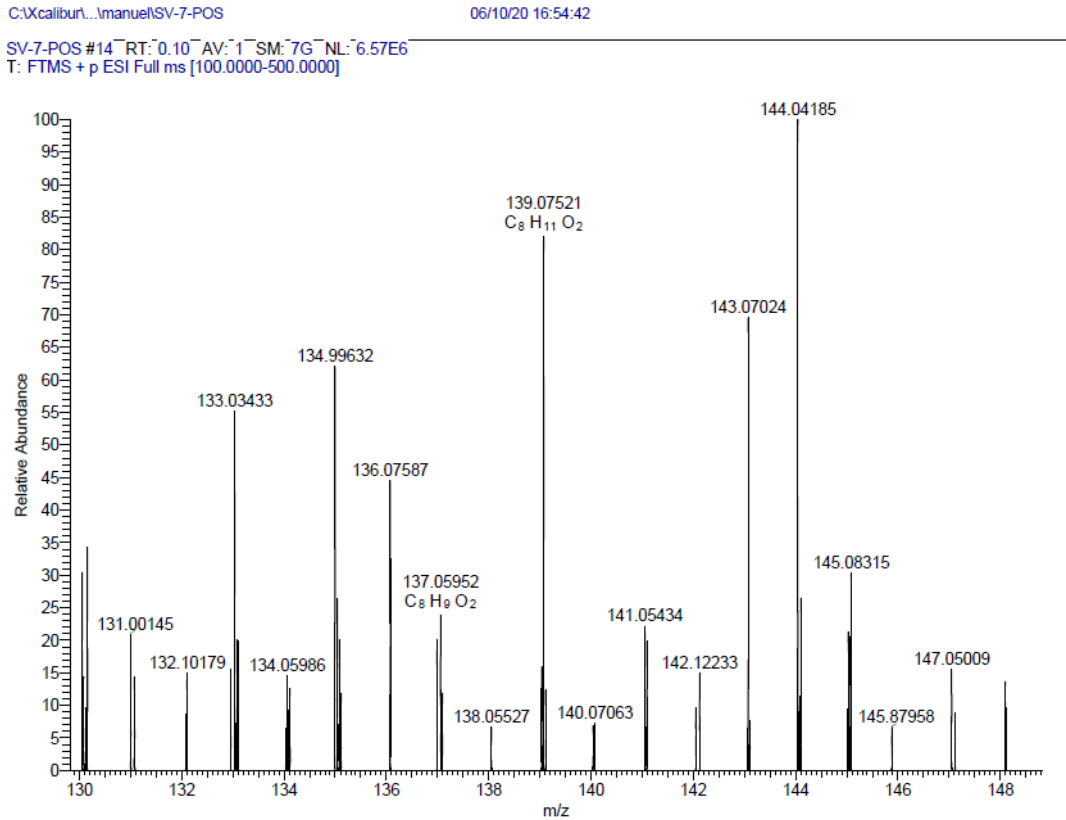
5.1.2 SV-7 (SV-58-59-4)

Toz halinde elde edilen bileşiğin $CDCl_3$ 'de alınan 1H -NMR spektrumunda 3.5-4.8 ppm arasında üç proton sinyali izlenmiştir. Bunlardan iki proton sinyalinin bir hidroksimetilen grubuna ait olduğu 3.6 ve 3.7 ppm de sırasıyla (2.5 ve 12) Hz'lik ve (8 ve 12) Hz'lik protonlar olarak izlenmiş, diğer bir H ise bunlarla (2.5 ve 8) Hz'lik visinal kapling yapan proton sinyali olarak 4.77 ppm de izlenmiştir. Bileşiğin alt alanında çıkan protonlar ise monosüstitüe bir benzen halkasının (fenil halkasının) varlığına işaret ediyordu ki bu protonlardan biri NMR çözücüsü $CDCl_3$ 'ün altında, yani 7.19 ppm de, diğer dört proton ise 7.29 ile 7.30 ppm arasında multipler olarak izlenmiştir. Bileşiğin APT tekniğiyle alınan ^{13}C NMR spektrumunda ise 5 methin (CH) karbonunun 3 karbon sinyali halinde ve bir katerner C sinyalinin izlenmesi bileşikteki monosüstitüe benzen halkasının varlığını onaylamıştır. Yani bu sinyallerden en alt alanda 140.45 ppm de izlenen sinyal katerner C sinyaline aitti. Diğer 5 CH karbon sinyalinin ikisi 128.59 ppm de, diğer ikisi 126.08 ppm de ve en uçtaki izole CH sinyali ise 128.06 ppm de izlendi. Yukarıdaki NMR verilerine dayanarak bileşiğin yapısının 1-Feniletan-1,2 diol olduğu düşünülmüş ve alınan (+)

LC-HRMS spektrumuyla yapının kapalı formülünün $C_8H_{10}O_2$ olduğu ve moleküler pikinin $[M+1]^+$ 139.07521 olarak açıkça izlenmiştir.



Şekil 5.4: 1-Feniletan-1,2-diol



Şekil 5.5: SV-7 Pozitif Spektrometre Bulguları

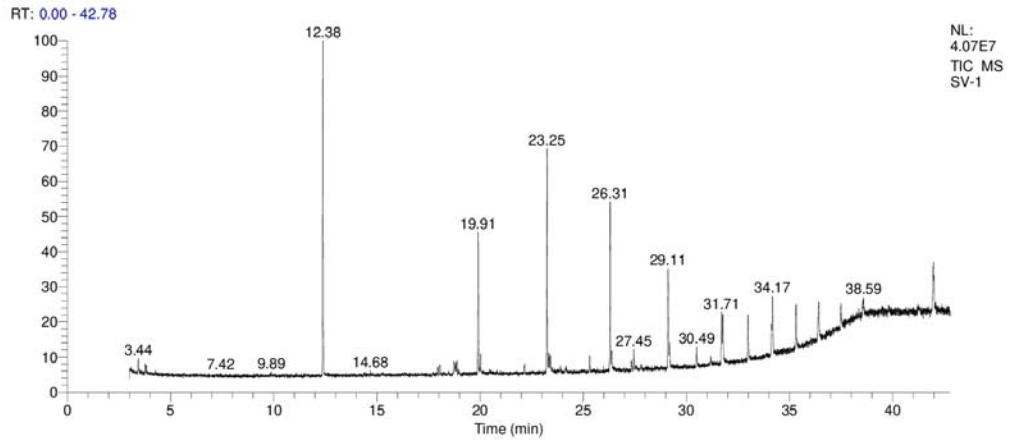
5.1.3 SV-1 (SV-55-57-7-9-2)

55-57. fraksiyonlar silikajel ile doldurulmuş küçük bir kolona yüklendi, önce diklorometan ile elüsyona başlandı, akabinde %90 diklorometan -%10 asetonla alınan 7-9 fraksiyonları birleştirilip prep TLC plağa uygulandı ve %95 aseton %15 metanol çözeltisi içeren kromatografi tankında yürütülerek çıkarılıp kurutuldu, kesilen lekelerden üstten ikincisine SV-1 kodu verildi.

SV-1 bileşiği bir aneleke taşınmasına rağmen üst üste gelmiş (overlap yapmış) pek çok bileşiğin bir arada tek bir leke gibi görünüm vermesi nedeniyle metillemeden ve

silillemeden (direkt) GC-MS analizine tabi tutuldu, sonuçlar Tablo 5.1’de verilmiştir. Tablo 5.1’de görüleceği gibi bu fraksiyon bazı uzun zincirli alkan ve yanı sıra hidroksialkanlardan oluşmaktadır ki bu bileşikler; Tetradecane, 1-Hexadecanol, 1-Octadecanol, 1-Eicosanol, 1-Heptacosane, Nonacosanol ve 11-Decyl-docosane’dan ibarettir. Fraksiyonun ana bileşeni %12. ile doymuş düz zincirli Tetradekan iken bu nu üç adet hidroksi alkan yapısındaki 1-Octadecanol, 1-Hexadecanol ve 1-Eicosanol takip etmiştir.

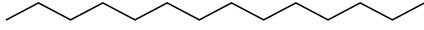
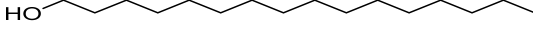
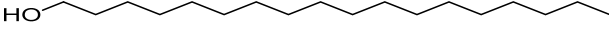
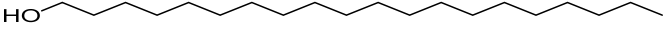
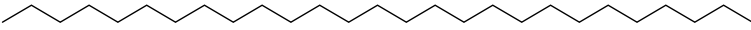

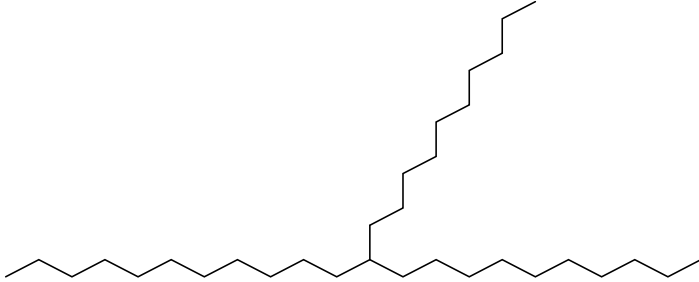
Tablo 2. SV-1 numunesi GCMS de tayin edilen bileşikler ve % oranları



RT	BİLEŞİK ADI	MOLEKUL FORMULU	% ALAN
12.38	Tetradecane	C ₁₄ H ₃₀	32.74
19.91	1-Hexadecanol	C ₁₆ H ₃₄ O	15.89
26.31	1-Octadecanol	C ₁₈ H ₃₈ O	18.30
29.11	1-Eicosanol	C ₂₀ H ₄₂ O	15.15
31.71	Heptacosane	C ₂₇ H ₅₆	5.92
31.76	Nonacosane	C ₂₉ H ₆₀	6.07
32.99	Docosane,11-Decyl	C ₃₂ H ₆₆	5.92
TOPLAM			100

Şekil 5.6: SV-1 Numunesi GC-MS’de Tayin Edilen Bileşikler ve % Oranları

Tablo 5.1: SV-1 Numunesi GC-MS’de Tayin Edilen Bileşiklerin Yapıları

Formül	İsim	IUPAC İsmi
	Tetradekan	tetradecane
	Heksadekanol	hexadecan-1-ol
	Oktadekanol	octadecan-1-ol
	Eikosanol	icosa-n-1-ol
	Heptakosan	heptacos-1-ene
	Nonakosanol	nonacosan-1-ol
	11-Desildokosan	11-decyl docosane

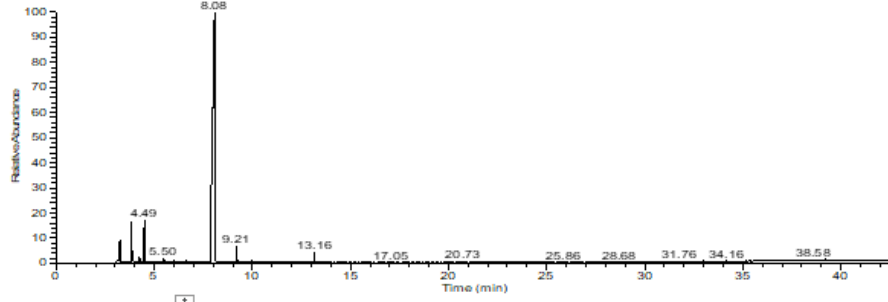
5.1.4 SV-64-65

Bir diğer GC-MS analizi yapılan fraksiyon ise SV-64-65 numaralı fraksiyondur. Bu fraksiyon GC-MS analizi öncesi sililenecek cihaza verilmiştir. Analiz sonucunda iki şekerin yanı sıra 1 alifatik asit ve 5 adet alkollü alkan olmak üzere toplam 7 bileşikten ibarettir. Bileşiklerden biri (1-octacosen) daha önce 53-54 nolu fraksiyondan saf olarak izole edilip SV2 kodu verilerek yukarıda yapı analizi edilerek sunulmuştur.

Bu fraksiyonun analiziyle şekerler olarak Ksiloz (Xylose) ve Fruktoz (Fructose)’ün yanısıra alkollerden önemli bir trialkol olan Glycerol (=Gliserin)’ün yanısıra Etilen Glikol, Propilen Glikol ve Silanol mevcuttur. Bir meyve asidi olan mandelik asid ise soyucu etkisi nedeniyle peelinglerde kullanılan bir α -hidroksi asitdir.

Tablo 1. SV-64-65 Numunesi GC-MS’de tayin edilen bileşikler ve % oranları

RT: 0.00 - 42.77

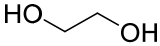
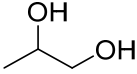
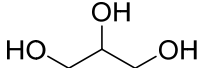
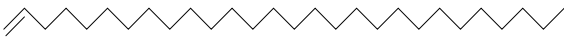
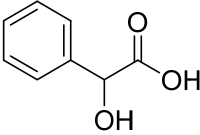
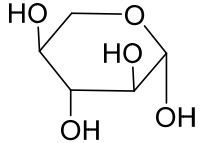
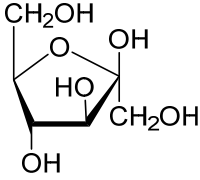


NL:
1.49E9
TIC MS
SV-64-65

RT	BİLEŞİK ADI	MOLEKUL FORMULU	% ALAN
4.24	Ethylene Glycol Bistrimethylsilyl Ether	C8H22O2Si2	6.61
4.49	Propylene Glycol-DITMS	C9H24O2Si2	48.57
9.21	Silanol, trimethyl-, benzoate	C10H14O2Si	22.14
9.97	Glycerol-Tri-TMS Ether	C12H32O3Si3	3.75
13.16	Mandelic acid, trimethylsilyl ester ether	C11H16O3Si	15.00
20.72	D-Xylopyranose, 1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)	C17H42O5Si4	2.32
20.81	D-Fuructose, 1,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)	C21H52O6Si5	1.61
TOPLAM			100

Şekil 5.7: SV-64-65 Numunesi GC-MS’de Tayin Edilen Bileşikler ve % Oranları

Tablo 5.2: SV-64-65 Numunesi GC-MS’de Tayin Edilen Bileşiklerin Yapıları

Formül	İsim	IUPAC İsmi
	Etilen glikol	Ethane-1,2-diol
	Propilen glikol	Propane-1,2-diol
H_3Si-OH	Silanol	Silanol
	Gliserol	Propane-1,2,3-tirol
	1-Octacosene	Octacos-1-ene
	Mandelicacid	2-Hydroxy-2-phenylacetic acid
	D-Xylopyranose	(3R,4S,5R)-Oxane-2,3,4,5-tetrol
	D-Fructose	(3S,4R,5R)-2-(Hydroxymethyl)oxane-2,3,4,5-tetrol

5.1.5 SV-27

Bu bileşik saflaştırılmaya çalışılmış, fakat 1H -NMR ve ^{13}C spektrumlarında izlenebileceği gibi muhtemelen yağ alkolleri yapısında en az iki madde karışımından ibaret olduğu anlaşılmıştır. Miktarının az olması nedeniyle daha fazla saflaştırılmaya gidilememiş, fakat *in vitro* antimikrobiyal ve sitotoksik aktivite testleri yapılabilmektedir.

5.2 İzole Saf Bileşiklerin ve Fraksiyonların Antimikrobiyal ve Sitotoksik Aktivite Sonuçları

5.2.1 Antimikrobiyal aktivite sonuçları

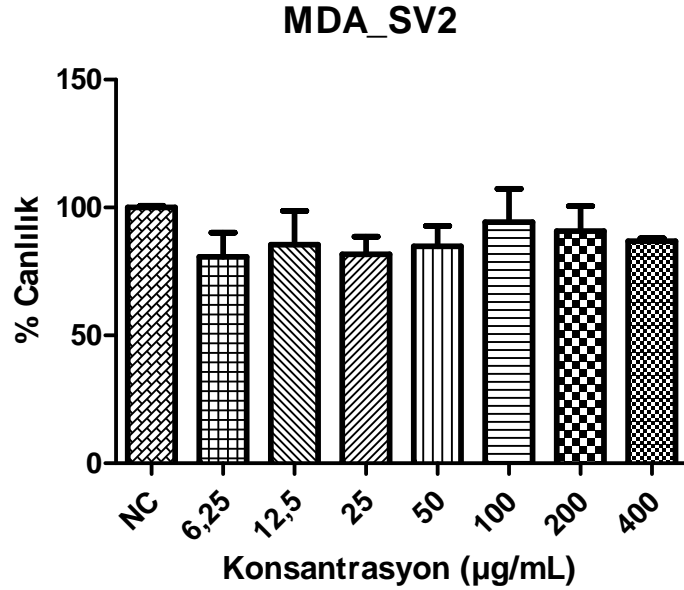
Mikroorganizmalara karşı etkili MİK sonuçları tabloda yer almaktadır.

Tablo 5.3: Mikroorganizmalara Karşı Etkili MİK Değerleri

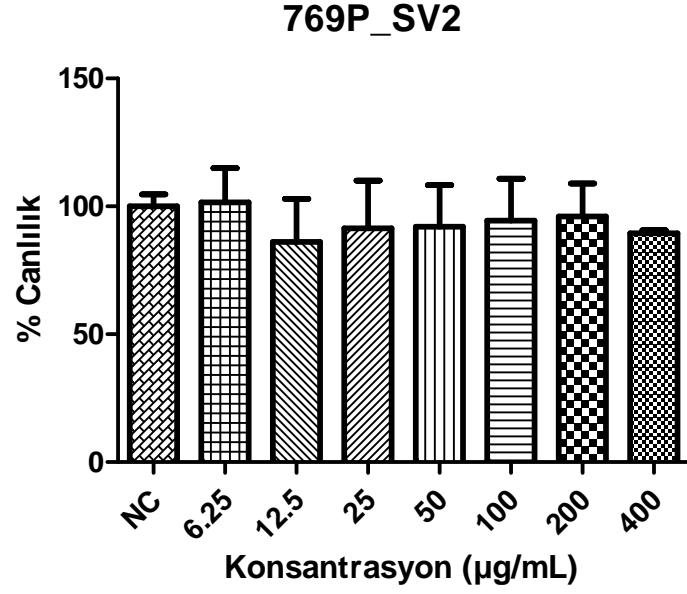
Mikroorganizma	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu			
	SV-2	SV-7	SV-27	SV-64-65
<i>E.coli</i>	NA	468,75 µg/mL	103,75 µg/mL	625 µg/mL
<i>S.aureus</i>	406,25 µg/mL	14,64 µg/mL	3,24 µg/mL	9,76 µg/mL
<i>A.flavus</i>	812,5 µg/mL	14,64 µg/mL	25,93 µg/mL	312,5 µg/mL

Bu sonuçlara göre; SV-7 ve SV-27 bileşikleri ve SV-64-65 nolu fraksiyon *S.aureus*'a karşı oldukça etkin bulunmuştur. Ayrıca SV-7 ve SV-27 bileşikleri *A.flavus*'a karşı orta-iyi derecede antifungal aktivite göstermişlerdir.

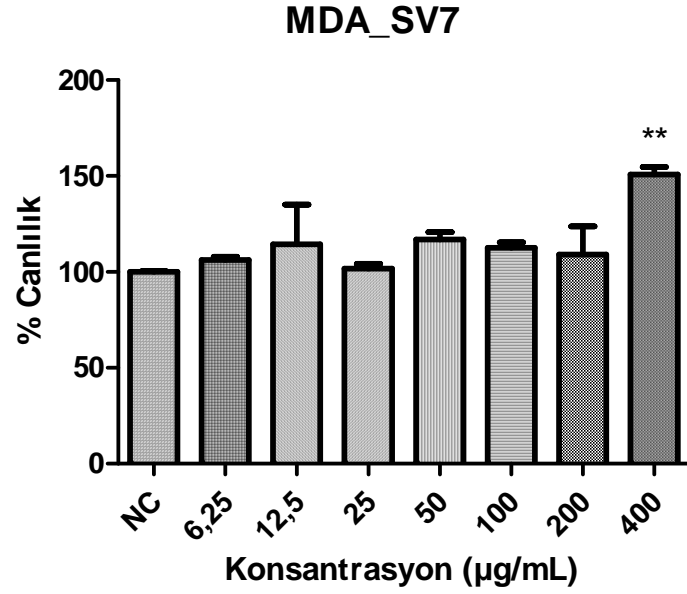
5.2.2 Sitotoksik aktivite sonuçları



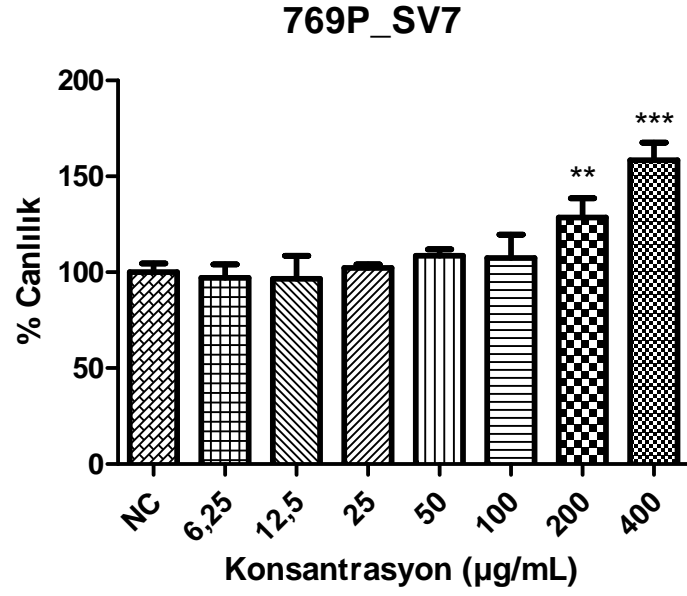
Şekil 5.8: SV-2 Bileşiğinin MDA-MB-231 Hücre Hattı Üzerindeki Etkisi (% Canlılık)



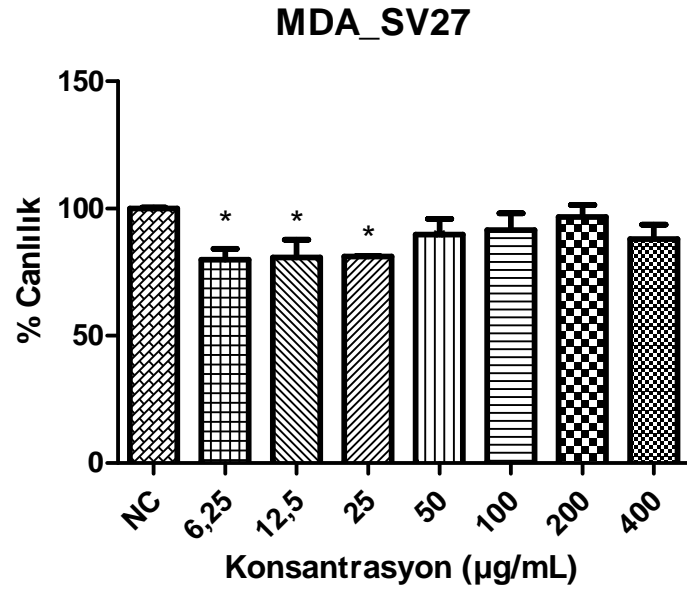
Şekil 5.9: SV-2 Bileşiğinin 769-P Hücre Hattı Üzerindeki Etkisi (% Canlılık)



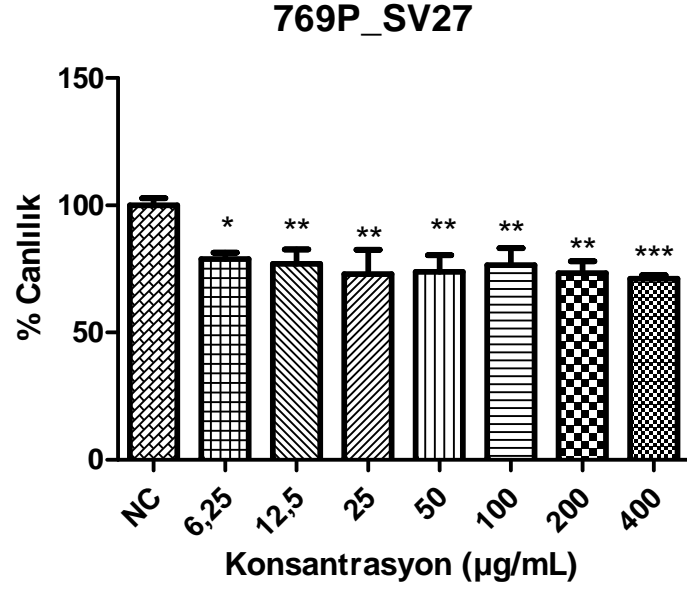
Şekil 5.10: SV-7 Bileşiğinin MDA-MB-231 Hücre Hattı Üzerindeki Etkisi (% Canlılık)



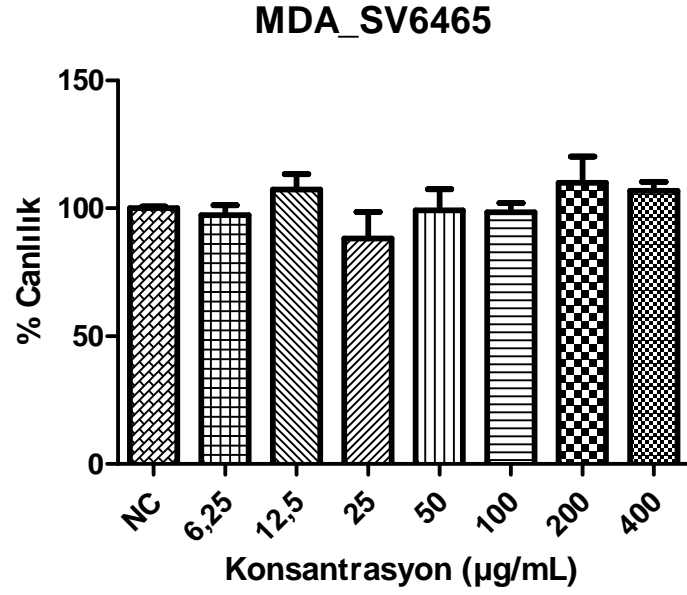
Şekil 5.11: SV-7 Bileşiğinin 769-P Hücre Hattı Üzerindeki Etkisi (% Canlılık)



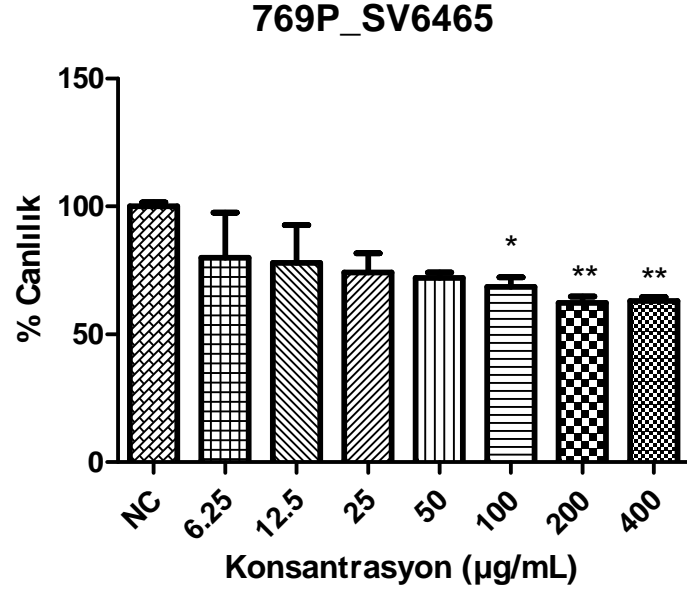
Şekil 5.12: SV-27 Bileşiğinin MDA-MB-231 Hücre Hattı Üzerindeki Etkisi (% Canlılık)



Şekil 5.13: SV-27 Bileşiğinin 769-P Hücre Hattı Üzerindeki Etkisi (% Canlılık)



Şekil 5.14: SV-64-65 Bileşiğinin MDA-MB-231 Hücre Hattı Üzerindeki Etkisi (% Canlılık)



Şekil 5.15: SV-64-65 Bileşiğinin 769-P Hücre Hattı Üzerindeki Etkisi (% Canlılık)

MDA (İnsan meme kanseri), 769P (Sıçan böbrek kanseri) hücre hatları üzerinde yapılan MTT sitotoksosite çalışmasının sonuçlarına göre:

SV-27 ve SV-64-65 maddeleri kanser hücre hatları üzerinde hücre canlılığında anlamlı inhibisyona sebep olarak sitotoksosite açısından aktif bulunmuştur. Fakat sağlıklı hücre hattı üzerinde de doza bağımlı olarak inhibisyona sebep olmuştur.

Kontrol örneklerine göre hesaplanan konsantrasyona bağlı % canlılık verileri Graphped Prism programında istatistiksel analiz olarak yapıldı. One-way Anova ve Tukey testiyle $p < 0.05$ olan konsantrasyon gruplarının hücre canlılığı üzerinde anlamlı inhibisyon yaptığı kabul edildi.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, *Sargassum vulgare* örneği Antalya Serik'ten toplanarak kurutulmuş ve daha sonra ekstraksiyon hazırlanarak içeriğindeki sekonder metabolitler kolon kromatografisi, preparatif ince tabaka kromatografisi ve Silikagel kolonlar üzerinden izole edilerek saflaştırılmaya çalışılmış, fakat ekstraktlardan saf madde izolasyonu pek istenen ölçüde gerçekleşmemiştir. Düz zincirli fatty bileşiklerce zengin olduğu için birarada gelen bu bileşikleri izole ederek tek tek yapılarını belirlemeye çalışmak çok zaman tüketici olmuştur. Bu nedenle fatty bileşiklerce zengin fraksiyonlar doğrudan GC-MS analiz ile incelenmiş, bazı fraksiyonlar ise silillenerek veya metillenerek GC-MS ile analiz edilmiştir.

Elde edilen fraksiyon veya saf bileşiklerin *in vitro* antimikrobiyal ve sitotoksik aktivite testleri yapılmış ve 3 bileşik antimikrobiyal olarak oldukça iyi aktivite göstermiş, bunlardan *S. aureus* ve *A. flavus*'a karşı SV7 ve SV27 hücre tiplerine karşı yüksek inhibisyon göstermişlerdir. Sitotoksik aktivite sonuçlarına göre ise en aktif fraksiyonlar SV27 ve SV 64-65 dir.

Serik-Antalya kıyılarından toplanan *Sargassum vulgare* üzerinde daha önce başka grupların yaptığı çalışmalarda pek çok madde elde edilmesine karşın bu çalışmada alınan sonuçlar pek tatmin edici değildir. Belki daha soğuk mevsimde toplanması verimlilik ve elde edilen sekonder metabolitlerin daha çeşitli ve yüksek verimle elde edilmesine neden olabilir, ayrıca kullanılan metodlar da gözden geçirilmelidir.

KAYNAKLAR

- [1] **Pabuçcu, K.** (2000) *Almus baraj gölü (Tokat) alglerinin kalitatif ve kantitatif olarak incelenmesi*. Yüksek Öğretim Kurumu Tez Merkezi: Gazi Üniversitesi. (UMI No. 93467)
- [2] **Soylu, E. N. ve Gönüloğlu, A.** (2003). Phytoplankton and seasonal variations of the River Yeşilirmak, Amasya, Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 3, 17-24.
- [3] **Amico, V.** (1995). Marine Brown Algae Of Family Cystoseiraceae: Chemistry And Chemotaxonomy. *Phytochemistry*, 39(6), 1257-1279.
- [4] **Kadam, S. U., Tiwari, B. K. ve O'Donnell, C. P.** (2013). Application of novel extraction technologies for bioactives from marine algae. *J Agric Food Chem*, 61(20), 4667-4675.
- [5] **Sousa, C. B., Gangadhar, K. N., Macridachis, J., Pavao, M., Morais, T. R., Campino, L., ve ark.** (2017). Cystoseira algae (Fucaceae): update on their chemical entities and biological activities. *Tetrahedron: Asymmetry*, 28, 1486-1505.
- [6] **Yip, Z. T., Quek, R. Z. B. ve Huang, D.** (2020). Historical biogeography of the widespread macroalga *Sargassum* (Fucales, Phaeophyceae). *J Phycol*, 56(2), 300-309.
- [7] **Korun, J., Okudan, E. Ş., Yardımcı, R. E., Timur, G., Ulutaş, A., Gökoğlu, M., ve ark.** (2019). Investigation of Antibacterial Activities of Ethanol and Methanol Extracts of Some Marine Algae Species on *Yersinia ruckeri*. *Kocatepe Veterinary Journal*, 12(3), 226-234.
- [8] **Altuner, Z., Pabuçcu, K. ve Türkekul, İ.** (2002). *Tohumusuz Bitkiler Sistematigi*. Tokat: Atlan Matbaacılık.
- [9] **Gümüş, G.** (2007) *Deniz marulunun kimyasal kompozisyonununun araştırılması*. Yök Tez Merkezi: Ege Üniversitesi. (UMI No. 200658)
- [10] **El Gamal, A. A.** (2010). Biological importance of marine algae. *Saudi Pharm J*, 18(1), 1-25.
- [11] **Fan, X., Bai, L., Zhu, L., Yang, L. ve Zhang, X.** (2014). Marine algae-derived bioactive peptides for human nutrition and health. *J Agric Food Chem*, 62(38), 9211-9222.
- [12] **Choi, C. G., Kim, H. G. ve Sohn, C. H.** (2003). Transplantation of Young Fronds of *Sargassum horneri* for Construction of Seaweed Beds. *The Korean Society of Fisheries and Aquatic Science*, 36(5), 469-473.
- [13] **Nanba, N.** (1995). Egg release and germling development in *Sargassum horneri* (Fucales, Phaeophyceae). *Phycological Research*, 43(2), 121-125.

- [14] **Komatsu T., Matsunaga D., Mikami A., Sagawa T., Boisnier E., Tatsukawa K., ve ark.** (2008). Abundance of drifting seaweeds in eastern East China Sea. *Journal of Applied Phycology*, 20, 801-809.
- [15] **El-Sheekh, M. M., Osman, M. E., Dyab, M. A. ve Amer, M. S.** (2006). Production and characterization of antimicrobial active substance from the cyanobacterium *Nostoc muscorum*. *Environ Toxicol Pharmacol*, 21(1), 42-50.
- [16] **Maschek, J. A. ve Baker, B. J.** (2008). The Chemistry of Algal Secondary Metabolism. İçinde C.D. Amsler, (Ed.). *Algal Chemical Ecology* ss. 1-24): Springer, Berlin, Heidelberg.
- [17] **Chakraborty, S. ve Upasana, G.** (2010). Oceans: A Store house Of Drugs - a review. *Journal of Pharmacy Research*, 3(June), 1293-1296.
- [18] **Lee, S. H. ve Jeon, Y. J.** (2013). Anti-diabetic effects of brown algae derived phlorotannins, marine polyphenols through diverse mechanisms. *Fitoterapia*, 86, 129-136.
- [19] **Madhusudan, C., Manoj, S., Rahul, K. ve Rishi, C. M.** (2011). Seaweeds: A diet with nutritional, medicinal and industrial value. *Research Journal of Medicinal Plant* 5(2), 153-157.
- [20] **Aydoğan, Ö.** (2015) *Türkiye Denizlerinde Yayılış Gösteren Bryopsidophyceae (Chlorophyta=Yeşil Algler) Türleri* (Doktora). YÖK Tez Merkezi: Celal Bayar Üniversitesi (UMI No. 406379)
- [21] **Krause-Jensen, D. ve Duarte, C. M.** (2016). Substantial role of macroalgae in marine carbon sequestration. *Nature Geoscience*, 9, 737-742.
- [22] **Edgar, G. J., Barrett, N. S., Morton, A. J. ve Samson, C. R.** (2004). Effects of algal canopy clearance on plant, fish and macroinvertebrate communities on eastern Tasmanian reefs. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 312(1), 67-87.
- [23] **Arkema, K. K., Reed, D. C. ve Schroeter, S. C.** (2009). Direct and indirect effects of giant kelp determine benthic community structure and dynamics. *Ecology*, 90(11), 3126-3137.
- [24] **Cárdenas, C. A., Davy, S. K. ve Bell, J. J.** (2016). Influence of canopy-forming algae on temperate sponge assemblages. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 96, 351-362.
- [25] **Harley, C. D. G., Anderson, K. M., Demes, K. W., Jorve, J. P., Kordas, R. L. ve Coyle, T. A.** (2012). Effects of climate change on global seaweed communities. *Journal of Phycology*, 48(5), 1064-1078.
- [26] **Bradassi, F., Cumani, F. ve Bressan, G.** (2013). Early reproductive stages in the crustose coralline alga *Phymatolithon lenormandii* are strongly affected by mild ocean acidification. *Marine Biology*, 160, 2261-2269.
- [27] **Kroeker, K. J., Gambi, M. C. ve Micheli, F.** (2013). Community dynamics and ecosystem simplification in a high-CO₂ ocean. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 110(31), 12721-12726.

- [28] **Porzio, L., Garrard, S. ve Buia, M. C.** (2013). The effect of ocean acidification on early colonization stages at natural CO₂ vents. *Marine Biology*, 160, 2247–2259.
- [29] **Ji, Y., Xu, Z., Zou, D. ve Gao, K.** (2016). Ecophysiological responses of marine macroalgae to climate change factors. *Journal of Applied Phycology*, 28.
- [30] **Christie, H. N., K.M. ve Fredriksen, S.** (2009). Macrophytes as habitat for fauna. *Marine Ecology Progress Series*, 396, 221–233.
- [31] **Hoegh-Guldberg, O., Mumby, P. J., Hooten, A. J., Steneck, R. S., Greenfield, P., Gomez, E., ve ark.** (2007). Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science*, 318(5857), 1737-1742.
- [32] **Demiriz, T.** (2008) *Bazı Alglerin Antibakteriyel Etkileri* (Yüksek Lisans). Yök Tez Merkezi: Ankara Üniversitesi. (UMI No. 232996)
- [33] **Shanmugam, A., Sudharsan, S., Seedeve, P., Ramasamy, P., Subhapradha, N. ve Vairamani, S.** (2012). Heavy metal accumulation in seaweeds and sea grasses along southeast coast of India. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4, 4240–4244.
- [34] **Dağcıoğlu, Y.** (2005) *Behzat Deresi (Tokat) Alg Florası* (Yüksek Lisans). Yök Tez Merkezi: Gaziosmanpaşa Üniversitesi. (UMI No. 182468)
- [35] **Dokcan, Ş.** (2010) *Sarıyar Baraj Gölü Bentik Algleri* (Yüksek Lisans). Yök Tez Merkezi: Selçuk Üniversitesi. (UMI No. 251382)
- [36] **Pabuçcu, K., Gülecek, R. ve Solak, C. N.** (2011). Seasonal Variation of Epipelagic Algal Flora in Günyüzü Pond (Eskişehir/Turkey). *Asian Journal of Chemistry*, 23(3), 1387-1392.
- [37] **Murugan, K., Ayyapan, S., Benelli, G. ve Dinesh, D.** (2015). Toxicity of seaweed-synthesized silver nanoparticles against the filariasis vector *Culex quinquefasciatus* and its impact on predation efficiency of the cyclopoid crustacean *Mesocyclops longisetus*. *Parasitology Research*, 114(6), 2243–2253.
- [38] **Zamimi, N. N., Halim, N. A., Mustafa, M. S., Darnis, D. S., Musa, M. F. C. ve Yusof, F.** (2020). Antimicrobial Effect Of Seaweeds Against Oral-Borne Pathogens: A Review. *International Journal Of Allied Health Sciences*, 4(1), 1049-1056.
- [39] **McHugh, D. J.** (2003). *A guide to the seaweed industry*. Rome: FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS.
- [40] **Raghavendran, H. R., Sathivel, A. ve Devaki, T.** (2005). Effect of *Sargassum polycystum* (Phaeophyceae)-sulphated polysaccharide extract against acetaminophen-induced hyperlipidemia during toxic hepatitis in experimental rats. *Mol Cell Biochem*, 276(1-2), 89-96.
- [41] **Oğur, S.** (2016). Kurutulmuş alglerin besin değeri ve gıda olarak kullanımı. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 33(1), 67-69.

- [42] **Pati, M. P., Sharma, S. D., Nayak, L. ve Panda, C. R.** (2016). Uses of Seaweed And Its Application To Human Welfare: A review. *International Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, 8(10), 12-20.
- [43] **Somasundaram, S. N., Shanmugam, S., Subramanian, B. ve Jaganathan, R.** (2016). Cytotoxic effect of fucoidan extracted from *Sargassum cinereum* on colon cancer cell line HCT-15. *Int J Biol Macromol*, 91, 1215-1223.
- [44] **Kolanjinathan, K., Ganesh, P. ve Saranraj, P.** (2014). Pharmacological importance of seaweeds: a review. *World Journal of Fish and Marine Sciences* 6, 1-15.
- [45] **Venugopal, V.** (2008). *Marine Products for Healthcare: Functional and Bioactive Nutraceutical Compounds from the Ocean*. CRC Pres Taylor & Francis Group.
- [46] **Smith, A. J.** (2004). Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: A review. *Journal of Applied Phycology*, 16, 245-262.
- [47] **Ab.Halim, N., Zakaria, N. S., Hisham, S. S., Husain, J. ve Mustafa, M. S.** (2020). Ethanol Extract Of *Sargassum Polycystum* Against *Streptococcus Mutans* And *Lactobacillus Casei*: In Vitro. *International Journal Of Allied Health Sciences*, 4(1), 1121-1127.
- [48] **Jesumani, V., Du, H., Aslam, M., Pei, P. ve Huang, N.** (2019). Potential Use of Seaweed Bioactive Compounds in Skincare-A Review. *Mar Drugs*, 17(12).
- [49] **Kim, Y. H., Chung, C. B., Kim, J. G., Ko, K. I., Park, S. H., Kim, J. H., ve ark.** (2008). Anti-wrinkle activity of ziyuglycoside I isolated from a *Sanguisorba officinalis* root extract and its application as a cosmeceutical ingredient. *Biosci Biotechnol Biochem*, 72(2), 303-311.
- [50] **Corinaldesi, C., Barone, G., Marcellini, F., Dell'Anno, A. ve Danovaro, R.** (2017). Marine Microbial-Derived Molecules and Their Potential Use in Cosmeceutical and Cosmetic Products. *Mar Drugs*, 15(4).
- [51] **Pangestuti, R. ve Kim, S.** (2011). Biological activities and health benefit effects of natural pigments derived from marine algae. *Journal of Functional Foods*, 3(4), 255-266.
- [52] **Gulcin, I., Buyukokuroglu, M. F. ve Oktay, M.** (2002). On the in-vitro antioxidant properties of melatonin. *Journal of Pineal Research*, 33, 167-171.
- [53] **Sudhakar, K., Mamat, R., M., S., W.H., A., Ishak, W. F. W. ve T., Y.** (2018). An overview of marine macroalgae as bioresource. *Renewable And Sustainable Energy Reviews*, 91, 165-179.
- [54] **Cannell, R. J. P.** (1990). Algal biotechnology. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 26, 85-105.
- [55] **Mekinic, I. G., Skroza, D., Simat, V., Hamed, I., Cagalj, M. ve Perkovic, Z. P.** (2019). Phenolic Content of Brown Algae (Pheophyceae) Species: Extraction, Identification, and Quantification. *Biomolecules*, 9(244), 1-25.

- [56] **Plouguerne, E., de Souza, L. M., Sasaki, G. L., Cavalcanti, J. F., Villela Romanos, M. T., da Gama, B. A., ve ark.** (2013). Antiviral Sulfo quinovosyl diacyl glycerols (SQDGs) from the Brazilian brown seaweed *Sargassum vulgare*. *Mar Drugs*, *11*(11), 4628-4640.
- [57] **Kang, M.-C., Wijesinghe, W. A. J. P., Lee, S. H., Kang, S. M., Ko, S. C., Yang, X., ve ark.** (2013). Dieckol isolated from brown seaweed *Ecklonia cava* attenuates type II diabetes in db/db Mouse model. *Food and chemical toxicology*, *53*, 294-298.
- [58] **Wiener, G., Field, A. ve Smith, C.** (1977). Deaths from copper toxicity of sheep at pasture and the use of fresh seaweed. *Veterinary Record*, *101*(21), 424-425.
- [59] **Topcu, G., Aydogmus, Z., I., S., Gören, A., C., Pezzuto, J. M., Clement, J. A., ve ark.** (2003). Brominated Sesquiterpenes from the Red Alga *Laurencia obtusa*. *Journal Natural Product*, *66*, 1505-1508.
- [60] **Aydoğmus, Z., Topçu, G. ve Güvenc, K. C.** (2008). Studies on chemical constituents of *Gracilaria verrucosa*. *Natural Product Research*, *22*(18), 1589–1596.
- [61] **Kandhasamy, M. ve Arunachalam, K. D.** (2008). Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India. *African Journal of Biotechnology*, *7*, 1958-1961.
- [62] **Damonte, E., Neyts, J., Pujol, C., Snoeck, R., Andrei, G., Ikeda, S., ve ark.** (1994). Antiviral activity of a sulphated polysaccharide from the red seaweed *Nothogenia fastigiata*. *Biochem Pharmacol*, *47*(12), 2187-2192.
- [63] **Romanos, M. T. V., Andrada-Serpa, M. J., Santos, M. G. M., Ribeiro, A. C. F., Yoneshigue-Valentin, Y., Costa, S. S., ve ark.** (2002). Inhibitory Effect of Extracts of Brazilian Marine Algae on Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1)- Induced Syncytium Formation In Vitro. *Cancer Investigation*, *20*(1), 46-54.
- [64] **Meenakshi, S., Umayaparvathi, S., Arumugam, M. ve Balasubramanion, T.** (2010). In vitro antioxidant properties and FTIR analysis of two seaweeds of Gulf of Mannar. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 66-70.
- [65] **Kuda, T., Tsunekawa, M., Goto, H. ve Araki, Y.** (2005). Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula Japan. *Journal of Food Composition Analyses*, *18*, 625-633.
- [66] **Zhang, J., Tiller, C., Shen, J., Wang, C., Girouard, G., Dennis, D., ve ark.** (2007). Antidiabetic properties of polysaccharide- and polyphenolic-enriched fractions from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum*. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, *85*(11), 1116-1123.
- [67] **Apostolidis, E., Karayannakidis, P. D., Kwon, Y. I., Lee, C. M. ve Seeram, N. P.** (2011). Seasonal variation of phenolic antioxidant-mediated alpha-glucosidase inhibition of *Ascophyllum nodosum*. *Plant Foods Hum Nutr*, *66*(4), 313-319.

- [68] **Nwosu, F., Morris, J., Lund, V. A., Stewart, D., Ross, H. A. ve McDougall, G. J.** (2011). Anti-proliferative and potential anti-diabetic effects of phenolic-rich extracts from edible marine algae. *Food Chemistry*, 126(3), 1006-1012.
- [69] **Turan, G. ve Cirik, S.** (2018). Thalassoterapi Uygulamaları İçin Kültür Koşullarında Yetiştirilen Makroalglerin Vitamin Kompozisyonunun Belirlenmesi. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 35(2), 151-156.
- [70] **Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Seca, A. M. L., Pinto, D., Michalak, I., Trincone, A., ve ark.** (2019). Current Trends on Seaweeds: Looking at Chemical Composition, Phytopharmacology, and Cosmetic Applications. *Molecules*, 24(22).
- [71] **Senthil, S. L., Kumar, T. V., Geetharamani, D. ve Maruthupandi, T.** (2013). Screening of seaweeds collected from Southeast Coastal area of India for α -amylase inhibitory activity, antioxidant activity and biocompatibility. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 5, 240-244.
- [72] **Kim, M. S., Kim, J. Y., Choi, W. H. ve Lee, S. S.** (2008). Effects of seaweed supplementation on blood glucose concentration, lipid profile, and antioxidant enzyme activities in patients with type 2 diabetes mellitus. *Nutr Res Pract*, 2(2), 62-67.
- [73] **Kang, S. I., Shin, H. S., Kim, H. M., Yoon, S. A., Kang, S. W., Kim, J. H., ve ark.** (2012). Petalonia binghamiae extract and its constituent fucoxanthin ameliorate high-fat diet-induced obesity by activating AMP-activated protein kinase. *J Agric Food Chem*, 60(13), 3389-3395.
- [74] **Khan, M. N., Choi, J. S., Lee, M. C., Kim, E., Nam, T. J., Fujii, H., ve ark.** (2008). Anti-inflammatory activities of methanol extracts from various seaweed species. *J Environ Biol*, 29(4), 465-469.
- [75] **Kim, M. M., Rajapakse, N. ve Kim, S. K.** (2009). Anti-inflammatory effect of Ishige okamurae ethanolic extract via inhibition of NF-kappaB transcription factor in RAW 264.7 cells. *Phytother Res*, 23(5), 628-634.
- [76] **Yokoyama, T., Tokuda, M., Amano, M. ve Mikami, K.** (2018). The presence of free d-aspartate in marine macroalgae is restricted to the Sargassaceae family. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 82(2), 268-273.
- [77] **Burtin, P.** (2003). Nutritional value of seaweeds. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 2(4), 498-503.
- [78] **Maeda, H., Hosokawa, M., Sashima, T., Funayama, K. ve Miyashita, K.** (2005). Fucoxanthin from edible seaweed, Undaria pinnatifida, shows antiobesity effect through UCP1 expression in white adipose tissues. *Biochem Biophys Res Commun*, 332(2), 392-397.

- [79] **Tanemura, Y., Yamanaka-Okumura, H., Sakuma, M., Nii, Y., Taketani, Y. ve Takeda, E.** (2014). Effects of the intake of *Undaria pinnatifida* (Wakame) and its sporophylls (Mekabu) on postprandial glucose and insulin metabolism. *J Med Invest*, 61(3-4), 291-297.
- [80] **Darcy-Vrillon, B.** (1993). Nutritional aspects of the developing use of marine macroalgae for the human food industry. *International Journal of Food Science*, 44, 23-25.
- [81] **Chapman, V. J. ve Chapman, D. J.** (1980). *Seaweeds and their uses*. Chapman and Hall, London.
- [82] **Yoldaş, M. A., Katircioğlu, H. ve Y., B.** (2003). Bazı Mavi-Yeşil Alglerin (Cyanophyta-Cyanobacteria) Poli- β -hidroksibütirat (PHB) Üretimi ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 20(3-4).
- [83] **Tuzen, M., Verep, B., Öğretmen, A. O. ve Soylak, M.** (2009). Trace Element Content İn Marine Algae Species From The Black Sea, Turkey. *Environmental Monitoring And Assesment*, 151, 363-368.
- [84] **Devi, K. P., Suganthy, N., Kesika, P. ve Pandian, S. K.** (2008). Bioprotective properties of seaweeds: in vitro evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity against food borne bacteria in relation to polyphenolic content. *BMC Complement Altern Med*, 8, 38.
- [85] **Kosanic, M., Rankovic, B. ve Stanojkovic, T.** (2019). Brown macroalgae from the Adriatic Sea as a promising source of bioactive nutrients. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 330-338.
- [86] **Querellou, J.** (2010). *Marine Biotechnology: A new Vision and Strategy for Europe*. N. McDonough, editör: Marine Board-ESF Position.
- [87] **Iwashima, M., Mori, J., Ting, X., Matsunaga, T., Hayashi, K., Shinoda, D., ve ark.** (2005). Antioxidant and antiviral activities of plastoquinones from the brown alga *Sargassum micracanthum*, and a new chromene derivative converted from the plastoquinones. *Biol Pharm Bull*, 28(2), 374-377.
- [88] **Miyashita, K., Mikami, N. ve Hosokawa, M.** (2013). Chemical and nutritional characteristics of Brown seaweed lipids: A review. *Journal Of Functional Foods*, 5(4), 1507-1517.
- [89] **Delma, C. R., Thirugnanasambandan, S., Srinivasan, G. P., Raviprakash, N., Manna, S. K., Natarajan, M., ve ark.** (2019). Fucoidan from marine brown algae attenuates pancreatic cancer progression by regulating p53 - NFkappaB crosstalk. *Phytochemistry*, 167, 112078.
- [90] **Dell'Anno, M., Sotira, S., Rebutti, R., Reggi, S., Castiglioni, B. ve Rossi, L.** (2019). In vitro evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of algal extracts. *Italian Journal Of Animal Science*, 19(1), 103-113.
- [91] **Salem, A. B., Di Giuseppe, G., Anesi, A., Hammami, S., Mighri, Z. ve Guella, G.** (2017). Natural Products among Brown Algae: The Case of *Cystoseira schiffneri* Hamel (Sargassaceae, Phaeophyceae). *Chem Biodivers*, 14(4).

- [92] **de la Mare, J. A., Lawson, J. C., Chiwakata, M. T., Beukes, D. R., Edkins, A. L. ve Blatch, G. L.** (2012). Quinones and halogenated monoterpenes of algal origin show anti-proliferative effects against breast cancer cells in vitro. *Invest New Drugs*, 30(6), 2187-2200.
- [93] **Ye, H., Zhou, C., Sun, Y., Zhang, X., Liu, J., Hu, Q., ve ark.** (2009). Antioxidant activities in vitro of ethanol extract from brown seaweed *Sargassum pallidum*. *European Food Research and Technology* 230, 101-109.
- [94] **Mary, J. S., Vinotha, P. ve Pradeep, A. M.** (2012). Screening for in vitro cytotoxic activity of seaweed, *Sargassum* sp. against Hep-2 and MCF-7 cancer cell lines. *Asian Pac J Cancer Prev*, 13(12), 6073-6076.
- [95] **Kim, S. N., Choi, H. Y., Lee, W., Park, G. M., Shin, W. S. ve Kim, Y. K.** (2008). Sargaquinoic acid and sargahydroquinoic acid from *Sargassum yezoense* stimulate adipocyte differentiation through PPARalpha/gamma activation in 3T3-L1 cells. *FEBS Lett*, 582(23-24), 3465-3472.
- [96] **Kumar, T. V., Lakshmanasenthil, S., Geetharamani, D., Marudhupandi, T., Suja, G. ve Suganya, P.** (2015). Fucoidan--a α -D-glucosidase inhibitor from *Sargassum wightii* with relevance to type 2 diabetes mellitus therapy. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 1044-1047.
- [97] **Park, M. H., Nam, Y. H. ve Han, J. S.** (2015). *Sargassum coreanum* extract alleviates hyperglycemia and improves insulin resistance in db/db diabetic mice. *Nutr Res Pract*, 9(5), 472-479.
- [98] **Hwang, P. A., Hung, Y. L., Tsai, Y. K., Chien, S. Y. ve Kong, Z. L.** (2015). The brown seaweed *Sargassum hemiphyllum* exhibits alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitory activity and enhances insulin release in vitro. *Cytotechnology*, 67(4), 653-660.
- [99] **Motshakeri, M., Ebrahimi, M., Goh, Y. M., Matanjun, P. ve Mohamed, S.** (2013). *Sargassum polycystum* reduces hyperglycaemia, dyslipidaemia and oxidative stress via increasing insulin sensitivity in a rat model of type 2 diabetes. *J Sci Food Agric*, 93(7), 1772-1778.
- [100] **Maneesh, A., Chakraborty, K. ve Makkar, F.** (2017). Pharmacological activities of brown seaweed *Sargassum wightii* (Family Sargassaceae) using different in vitro models. *International Journal Of Food Properties*, 20(4), 931-945.
- [101] **Hemalatha, S.** (2017). Characterization in silico and in vitro determination of antidiabetic and antiinflammatory potential of ethanolic extract of *Sargassum wightii*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(4), 297-301.
- [102] **Moni, S. S., Alam, M. F., Makeen, H. A., Alhazmi, H. A., Sultan, M., Siddiqui, R., ve ark.** (2019). Solvent extraction, spectral analysis and antibacterial activity of the bioactive crystals of *Sargassum aquifolium* (Turner) C.Agardh from Red Sea. *Nat Prod Res*, 1-5.

- [103] He, W.-F., Yao, L.-G., Liu, H.-L. ve Guo, Y.-W. (2014). Thunberol, a new sterol from the Chinese brown alga *Sargassum thunbergii*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 16, 685-689.
- [104] Kang, M. C., Ding, Y., Kim, E. A., Choi, Y. K., de Araujo, T., Heo, S. J., ve ark. (2017). Indole Derivatives Isolated from Brown Alga *Sargassum thunbergii* Inhibit Adipogenesis through AMPK Activation in 3T3-L1 Preadipocytes. *Mar Drugs*, 15(4).
- [105] Arsianti, A., Bahtiar, A., Wangsaputra, V. C., Azizah, N. N., Fachri, W., Nadapdap, L. D., ve ark. (2020). Phytochemical Composition and Evaluation of Marine Algal *Sargassum polycystum* for Antioxidant Activity and In Vitro Cytotoxicity on Hela Cells. *Pharmacognosy Journal*, 12(1), 88-94.
- [106] Lee, J.-C., Hou, M.-F., Huang, H.-W., Chang, F.-R., Yeh, C.-C., Tang, J.-Y., ve ark. (2013). Marine algal natural product with anti-oxidative, anti-inflammatory, and anticancer properties. *Cancer Cell International*, 13(1), 13-55.
- [107] Manlusoc, J. K. T., Hsieh, C. L., Hsieh, C. Y., Salac, E. S. N., Lee, Y. T. ve Tsai, P. W. (2019). Pharmacologic Application Potentials of Sulfated Polysaccharide from Marine Algae. *Polymers (Basel)*, 11(7).
- [108] Khalafu, S. H. S., Aida, W. M. W., Lim, S. J. ve Maskat, M. Y. (2017). Effects of deodorisation methods on volatile compounds, chemical properties and antioxidant activities of fucoidan isolated from Brown seaweed (*Sargassum* sp.). *Algal Research*, 25, 507-515.
- [109] Chen, Z., Xu, Y., Liu, T., Zhang, L., Liu, H. ve Guan, H. (2016). Comparative Studies on the Characteristic Fatty Acid Profiles of Four Different Chinese Medicinal *Sargassum* Seaweeds by GC-MS and Chemometrics. *Mar Drugs*, 14(4).
- [110] Anjana, A., Ahamed, K. F., Ravichandiran, V., Sumithra, M. ve Anbu, J. (2014). Anticancer activity of *Sargassum wightii* Greville on Dalton's ascitic lymphoma. *Chin J Nat Med*, 12(2), 114-120.
- [111] Akbari, V., Zafari, S. ve Yegdaneh, A. (2018). Anti-tuberculosis and cytotoxic evaluation of the seaweed *Sargassum boveanum*. *Res Pharm Sci*, 13(1), 30-37.
- [112] Palanisamy, S., Vinosha, M., Marudhupandi, T., Rajasekar, P. ve Prabhu, N. M. (2017). Isolation of fucoidan from *Sargassum polycystum* brown algae: Structural characterization, in vitro antioxidant and anticancer activity. *Int J Biol Macromol*, 102, 405-412.
- [113] Rashwan, R. S. ve Hammad, D. M. (2020). Toxic effect of *Spirulina platensis* and *Sargassum vulgare* as natural pesticides on survival and biological characteristics of cotton leaf worm *Spodoptera littoralis*. *Scientific African*, 8, e00323.
- [114] Shreadah, M. A., El Moneam, N. M. A., Al-Assar, S. A. ve Nabil-Adam, A. (2018). Phytochemical and pharmacological screening of *Sargassum vulgare* from Suez Canal, Egypt. *Food Sci Biotechnol*, 27(4), 963-979.

- [115] Santos, J. P., Torres, P. B., Santos, D. Y. A. C., Motta, L. B. ve Chow, F. (2019). Seasonal effects on antioxidant and anti-HIV activities of Brazilian seaweeds. *Journal Of Applied Psychology*, 31, 1333-1341.
- [116] Lins, K. O. A. L., Vale, M. L., Ribeiro, R. A. ve Costa-Lotufu, L. V. (2013). Proinflammatory activity of an alginate isolated from *Sargassum vulgare*. *Carbohydrate Polymers*, 92, 414-420.
- [117] Kumar, A., AbdElgawad, H., Castellano, I., Selim, S., Beemster, G. T. S., Asard, H., ve ark. (2018). Effects of ocean acidification on the levels of primary and secondary metabolites in the brown macroalga *Sargassum vulgare* at different time scales. *Sci Total Environ*, 643, 946-956.
- [118] Marinho-Soriano, E., Fonseca, P. C., Carneiro, M. A. A. ve Moreira, W. S. C. (2006). Seasonal variation in the chemical composition of two tropical seaweeds. *Bioresource Technology*, 97, 2402-2406.
- [119] Patra, K. J., Rath, S. K., Jena, K., Rathod, V. K. ve Thato, H. (2008). Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activity of Seaweed (*Sargassum* sp.) Extract: A study on inhibition of Glutathione-S-Transferase activity. *Turkish Journal Of Biology*, 32, 119-125.
- [120] Jørgensen, S. E., Costanza, R. ve Xu, F.-L. (2005). Application of indicators for the assessment of ecosystem health in: Ecological indicators for Assessment of ecosystem health. *CRC Pres Taylor & Francis Group*, 5-66.
- [121] Saraswati, Giriwono, P. E., Iskandriati, D., Tan, C. P. ve Andarwulan, N. (2019). *Sargassum* Seaweed as a Source of Anti-Inflammatory Substances and the Potential Insight of the Tropical Species: A Review. *Marine Drugs*, 17(590), 1-35.
- [122] Ramon, E. ve Gil-ad, N. L. (2007). (1784) *Proposal to Conserve the Name Sargassum vulgare (Phaeophyceae: Sargassaceae) with a Conserved Type*. Wiley.
- [123] Alvarez, M. A. (2014). *Plant Biotechnology for Health : From Secondary Metabolites to Molecular Farming*. Springer International Publishing.
- [124] Edreva, A., Velikova, V., Tsonev, T., Dagnon, S., Gürel, A., Aktaş, L., ve ark. (2008). Stress-Protective Role of Secondary Metabolites: Diversity of Functions and Mechanisms. *General and Applied Plant Physiology*, 34(1-2), 67-78.
- [125] Wink, M. (2009). *Annual Plant Reviews*. Wiley. 1-20 s.
- [126] Dikbas, N., Kotan, R., Dadasoglu, F., Karagöz, K. ve Çakmakçı, R. (2009). Correlation between major constituents and antibacterial activities of some plant essential oils against some pathogenic bacteria. *Turkish Journal of Science & Technology*, 4(1), 57-64.
- [127] Paek, K.-Y. ve Murthy, H. N. *Production of Biomass and Bioactive Compounds Using Bioreactor Technology*. Springer.
- [128] Geissman, T. A. ve Crout, D. H. G. (1969). *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism*. California: Freeman, Cooper and Company.

- [129] Li, Y. X., Wijesekara, I., Li, Y. ve Kim, S. K. (2011). Phlorotannins as bioactive agents from brown algae. *Process Biochemistry*, 46, 2219-2224.
- [130] Farhat, G., Drummond, S. ve Al-Dujaili, E. A. S. (2017). Polyphenols and Their Role in Obesity Management: A Systematic Review of Randomized Clinical Trials. *Phytother Res*, 31(7), 1005-1018.
- [131] Murray, M., Dordevic, A., Bonham, M. ve Ryan, L. (2018). Do marine algal polyphenols have antidiabetic, antihyperlipidemic or anti-inflammatory effects in humans? A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(12), 2039-2054.
- [132] Fernando, I. P. S., Kim, M., Son, K.-T., Jeong, Y. ve Jeon, Y.-J. (2016). Antioxidant activity of marine algal polyphenolic compounds: A mechanistic approach. *Journal of Medicinal Food*, 19, 615-628.
- [133] Ale, M. T., Mikkelsen, J. D. ve Meyer, A. S. (2011). Important determinants for fucoidan bioactivity: a critical review of structure-function relations and extraction methods for fucose-containing sulfated polysaccharides from brown seaweeds. *Mar Drugs*, 9(10), 2106-2130.
- [134] Usman, A., Khalid, S., Usman, A., Hussain, Z. ve Wang, Y. (2017). Algal polysaccharides, Novel Application, and Outlook. *Algae Based Polymers, Blends, and Composites* ss. 115-153):
- [135] Grasa-López, A., Miliar-García, Á., Quevedo-Corona, L., Paniagua-Castro, N., Escalona-Cardoso, G. ve Reyes-Maldonado, E. (2016). *Undaria pinnatifida* and fucoxanthin ameliorate lipogenesis and markers of both inflammation and cardiovascular dysfunction in an animal model of diet-induced obesity. *Marine Drugs*, 14(8), 148.
- [136] Cheng, Y., Sibusiso, L., Hou, L., Jiang, H., Chen, P., Zhang, X., ve ark. (2019). *Sargassum fusiforme* fucoidan modifies the gut microbiota during alleviation of streptozotocin-induced hyperglycemia in mice. *Int J Biol Macromol*, 131, 1162-1170.
- [137] Vessby, B., Uusitupa, M., Hermansen, K., Riccardi, G., Rivellese, A. A. ve Tapsell, L. C. (2001). Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: The KANWU Study. *Diabetologia*, 44, 312-319.
- [138] Wang, R., Paul, V. J. ve Luesch, H. (2013). Seaweed extracts and unsaturated fatty acid constituents from the green alga *Ulva lactuca* as activators of the cytoprotective Nrf2-ARE pathway. *Free Radic Biol Med*, 57, 141-153.
- [139] Güven, K., Bora, A. ve Sunam, G. (1969). Alkaloid content of marine algae: I. Hordenine from *Phyllophora nervosa*. *Eczacılık Bülteni*, 11, 177-184.
- [140] Fleurence, J. (1999). Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends in Food Science & Technology*, 10, 25-28.
- [141] Wijesekara, I. ve Kim, S.-K. (2010). Angiotensin-I-Converting enzyme (ACE) inhibitors from marine resources: Prospects in the pharmaceutical industry. *Marine Drugs*, 8, 1080-1093.

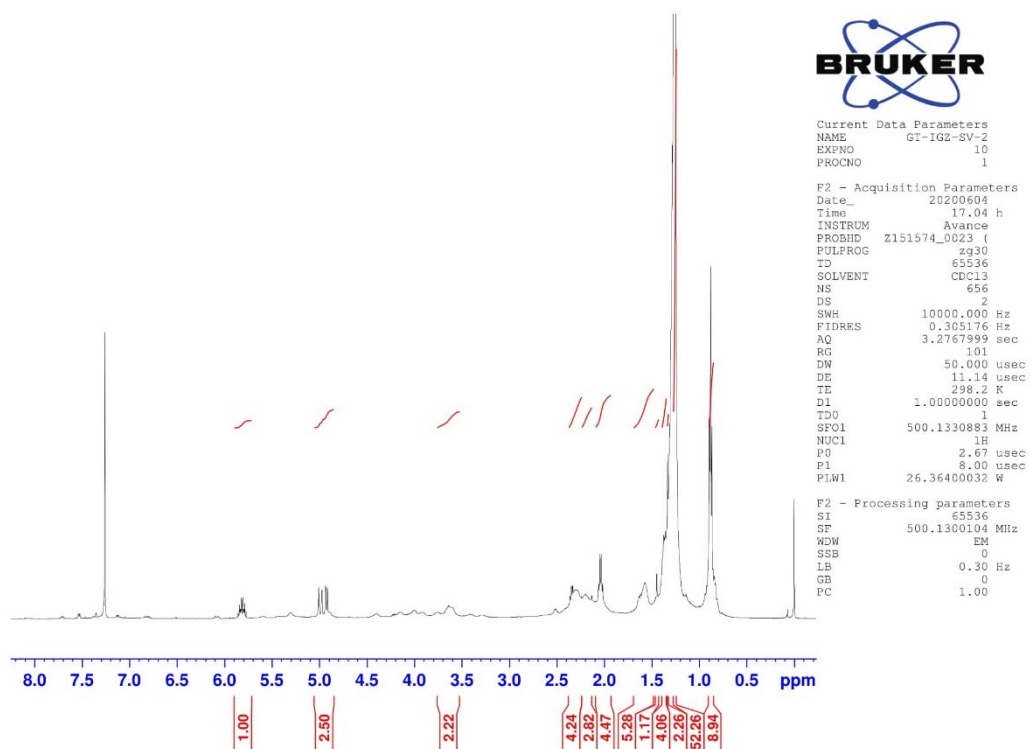
- [142] **D’Orazio, N., Gemello, E., Gammone, M. A., de Girolamo, M., Ficoneri, C. ve Riccioni, G.** (2012). Fucoxantin: a treasure from the sea. *Mar Drugs*, 10(3), 604-616.
- [143] **Maeda, H., Tsukui, T., Sashima, T., Hosokawa, M. ve Miyashita, K.** (2008). Seaweed carotenoid, fucoxanthin, as a multi-functional nutrient. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 17, 196-199.
- [144] **Poole, C. F. ve Poole, S. K.** (1991). *Chromatography Today 5th Edition*. Elsevier Science.
- [145] **Bazı Enstrümental Yöntemler** [Internet]. Açıkders Ankara Üniversitesi. <https://acikders.ankara.edu.tr/course/view.php?id=4639>.
- [146] **El-Aneed, A., Cohen, M. A. ve Banoub, J.** (2009). Mass Spectrometry, Review of the Basics: Electrospray, MALDI, and Commonly Used Mass Analyzers. *Applied Spectroscopy Reviews*, 44(3), 210-230.

EKLER

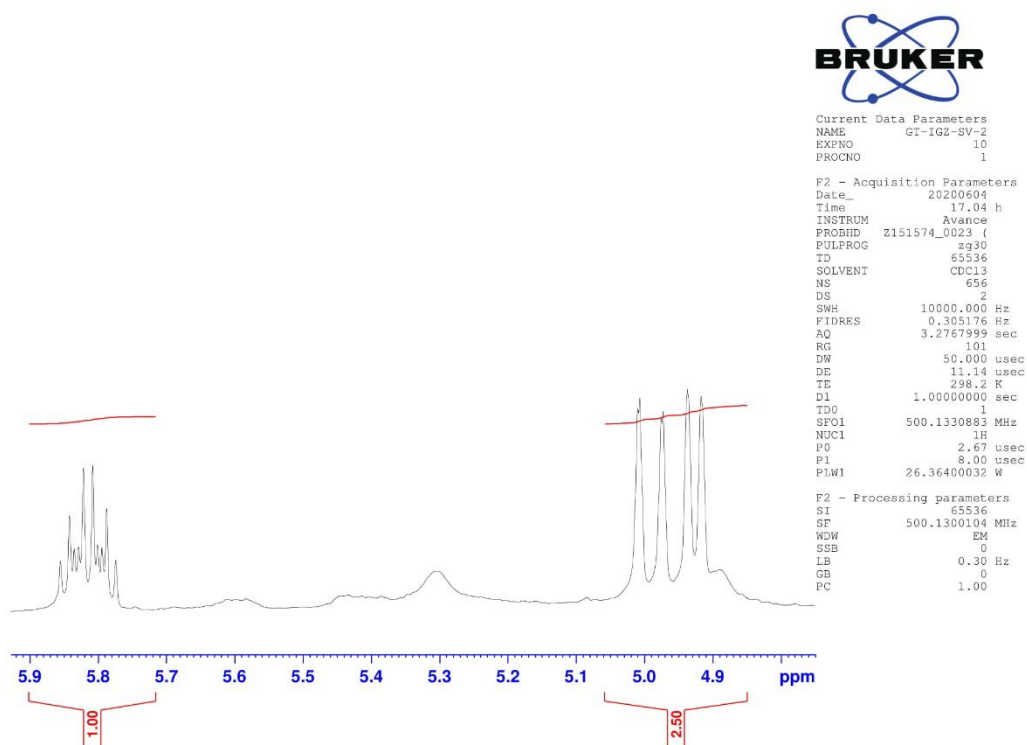
- EK A.1** : SV-2 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu-1
- EK A.2** : SV-2 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu-2
- EK A.3** : SV-2 Bileşiminin ^{13}C NMR (APT) Spektrumu
- EK A.4** : SV-2 Bileşiminin ^{13}C NMR (APT) Spektrumu-2
- EK A.5** : SV-2 Bileşiminin ^{13}C NMR Spektrumu-1
- EK A.6** : SV-2 Bileşiminin ^{13}C NMR Spektrumu-2
- EK A.7** : SV-2 Bileşiminin ^{13}C NMR Spektrumu-3
- EK A.8** : SV-2 Bileşiminin HSQC Spektrumu
- EK B.1** : SV-1 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu
- EK B.1** : SV-1 Bileşiminin ^{13}C NMR (APT) Spektrumu
- EK C.1** : SV-64-65 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu
- EK C.2** : SV-64-65 Bileşiminin ^{13}C NMR (APT) Spektrumu
- EK D.1** : SV-27 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu-1
- EK D.2** : SV-27 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu-2
- EK D.3** : SV-27 Bileşiminin ^{13}C NMR Spektrumu-1
- EK D.4** : SV-27 Bileşiminin ^{13}C NMR Spektrumu-2
- EK E.1** : SV-7 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu-1
- EK E.2** : SV-7 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu-2
- EK E.3** : SV-7 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu-3
- EK E.4** : SV-7 Bileşiminin ^{13}C NMR Spektrumu-1
- EK E.5** : SV-7 Bileşiminin ^{13}C NMR Spektrumu-2
- EK F.1** : SV-64-65 Numunesinin kimyasal kompozisyonundaki bileşiklerin kütle spektrumları-Ethylene Glycol
- EK F.2** : SV-64-65 Numunesinin kimyasal kompozisyonundaki bileşiklerin kütle spektrumları-Propylene Glycol
- EK F.3** : SV-64-65 Numunesinin kimyasal kompozisyonundaki bileşiklerin kütle spektrumları-Silanol
- EK F.4** : SV-64-65 Numunesinin kimyasal kompozisyonundaki bileşiklerin kütle spektrumları-Glycerol
- EK F.5** : SV-64-65 Numunesinin kimyasal kompozisyonundaki bileşiklerin kütle spektrumları-Mandelic Acid

- EK F.6** : SV-64-65 Numunesinin kimyasal kompozisyonundaki bileşiklerin kütle spektrumları-D-Xylopyranose
- EK F.7** : SV-64-65 Numunesinin kimyasal kompozisyonundaki bileşiklerin kütle spektrumları-D-Fuructose
- EK G.1** : SV-1 Numunesinin Kimyasal Kompozisyonundaki Bileşiklerin Kütle Spektrumları-Tetradecane
- EK G.2** : SV-1 Numunesinin Kimyasal Kompozisyonundaki Bileşiklerin Kütle Spektrumları-1-Hexadecanol
- EK G.3** : SV-1 Numunesinin Kimyasal Kompozisyonundaki Bileşiklerin Kütle Spektrumları-1-Octadecanol
- EK G.4** : SV-1 Numunesinin Kimyasal Kompozisyonundaki Bileşiklerin Kütle Spektrumları-1-Eicosanol
- EK G.5** : SV-1 Numunesinin Kimyasal Kompozisyonundaki Bileşiklerin Kütle Spektrumları-Heptacosane
- EK G.6** : SV-1 Numunesinin Kimyasal Kompozisyonundaki Bileşiklerin Kütle Spektrumları-Nonacosane
- EK G.7** : SV-1 Numunesinin Kimyasal Kompozisyonundaki Bileşiklerin Kütle Spektrumları- Docosane, 11-Decyl

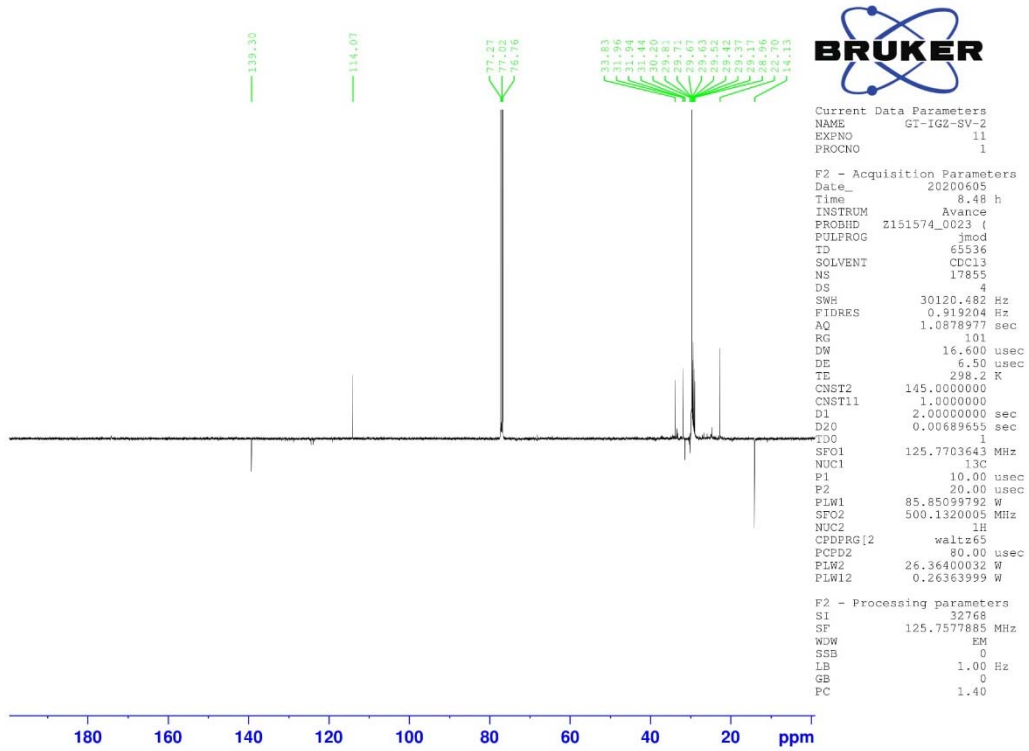
EK A.1:



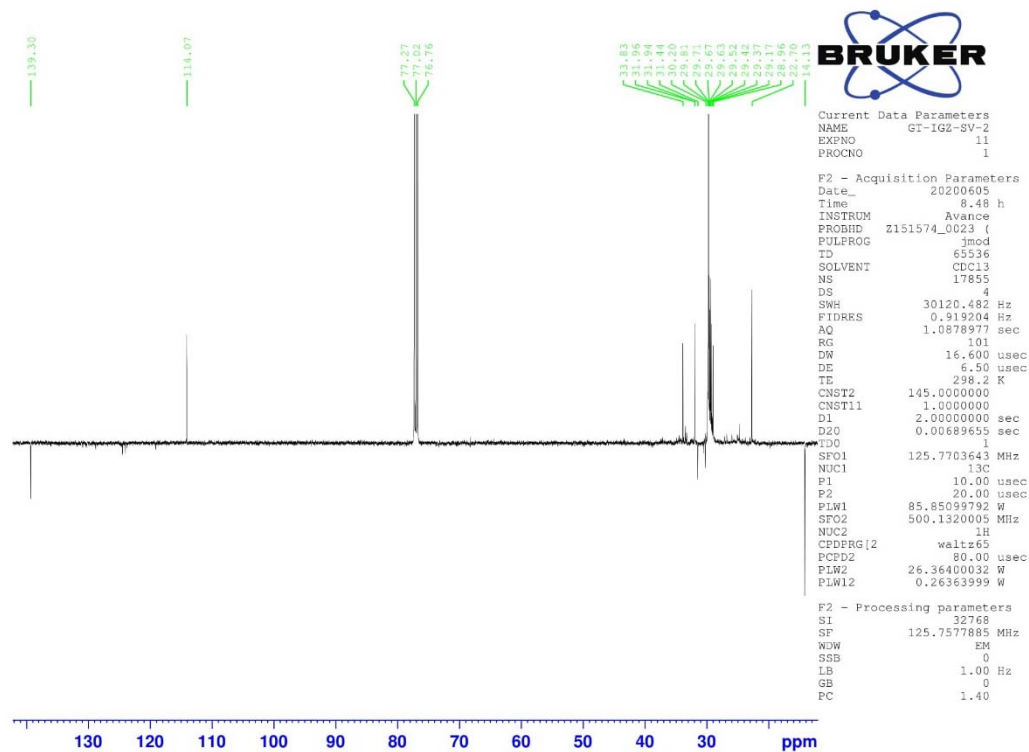
EK A.2:



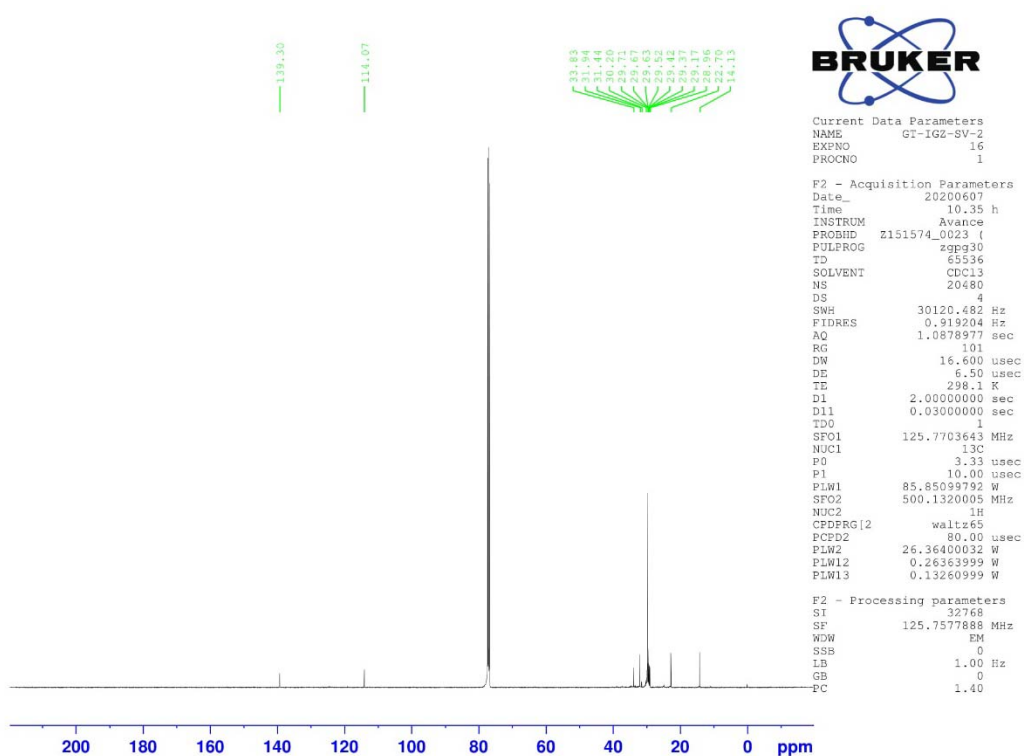
EK A.3:



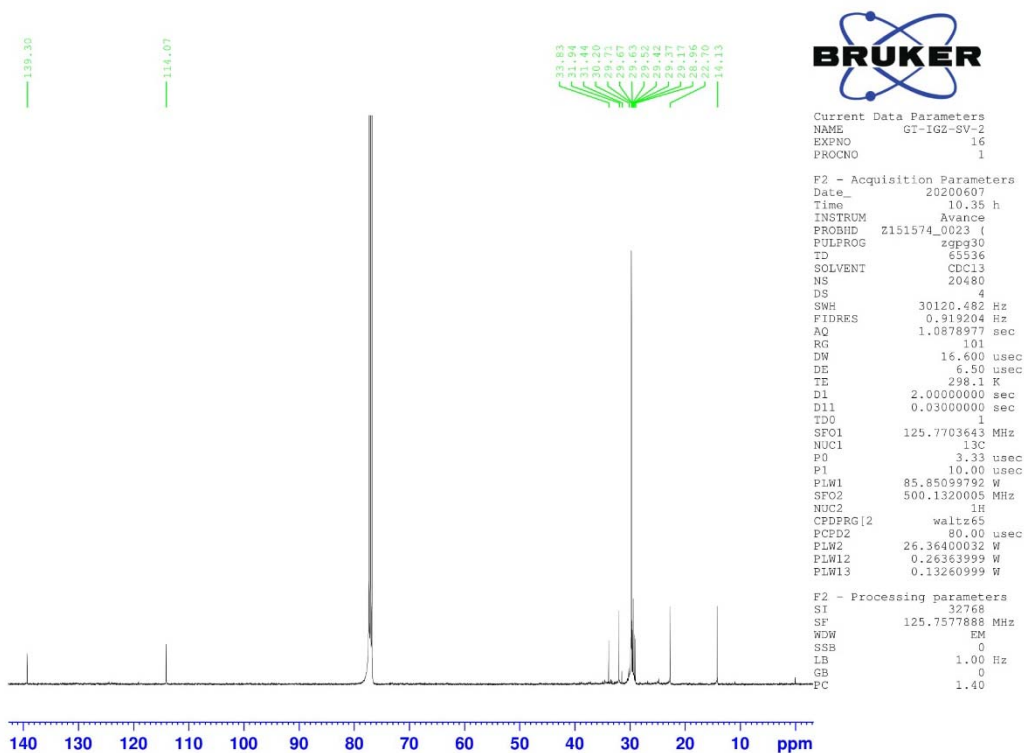
EK A.4:



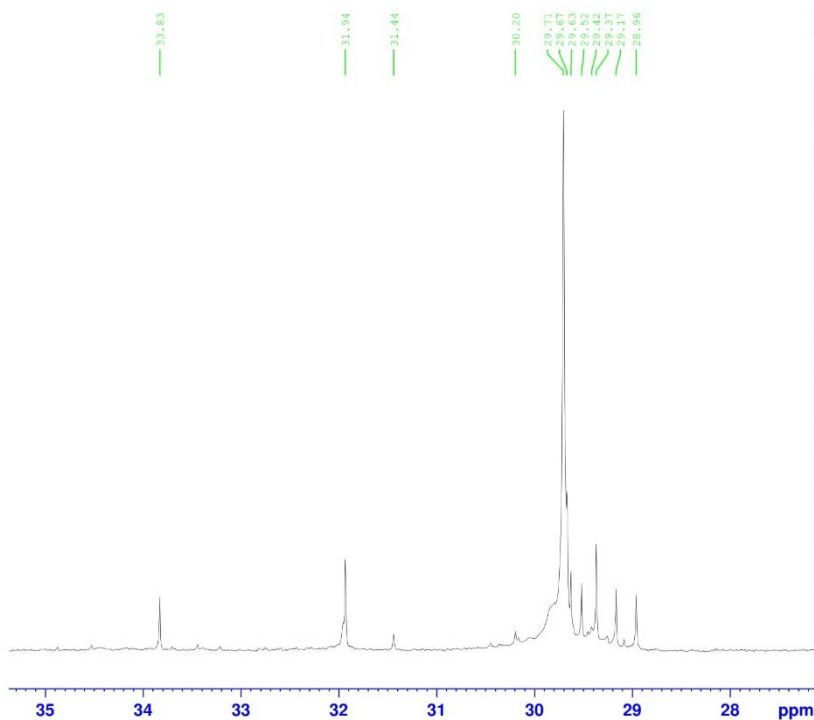
EK A.5:



EK A.6:



EK A.7:



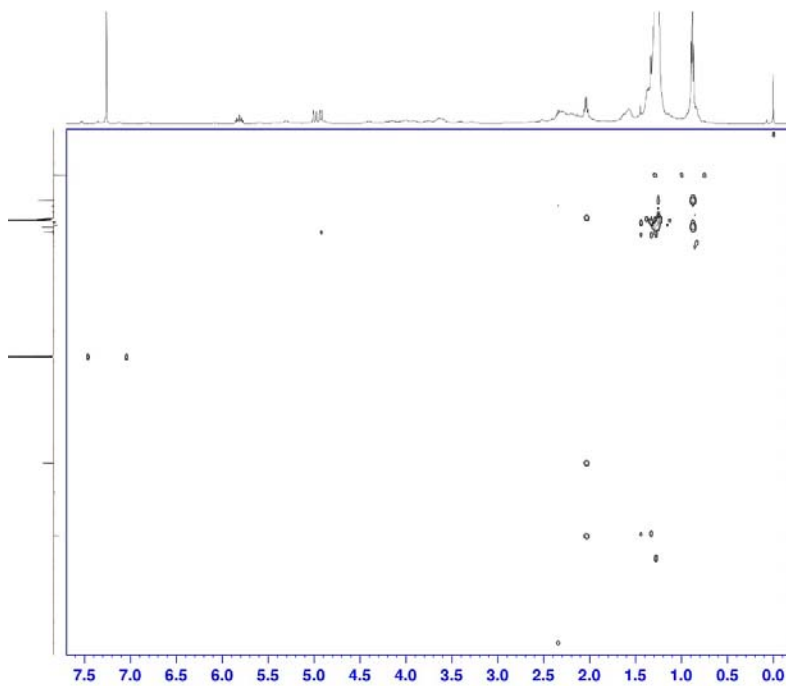
```

Current Data Parameters
NAME      G2-IG2-SV-2
EXPNO    16
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20200607
Time     10.35 h
INSTRUM  Avance
PROBHD   Z151574_0023 (
PULPROG  zgpg30
TD       65536
SOLVENT  CDCl3
NS       20480
DS       4
SWH      30120.482 Hz
FIDRES   0.919204 Hz
AQ       1.0878977 sec
RG       101
DW       16.600 usec
DE       6.50 usec
TE       298.1 K
D1       2.00000000 sec
D11      0.03000000 sec
TDC      1
SFO1     125.7703643 MHz
NUC1     13C
P0       3.33 usec
P1       10.00 usec
PLW1     85.85039792 W
SFO2     500.1320005 MHz
NUC2     1H
CPDPRG2  waltz65
PCPD2    80.00 usec
PLW2     26.36400032 W
PLW12    0.26363999 W
PLW13    0.13260999 W

F2 - Processing parameters
SI       32768
SF       125.7577888 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       1.00 Hz
GB       0
PC       1.40
    
```

EK A.8:



```

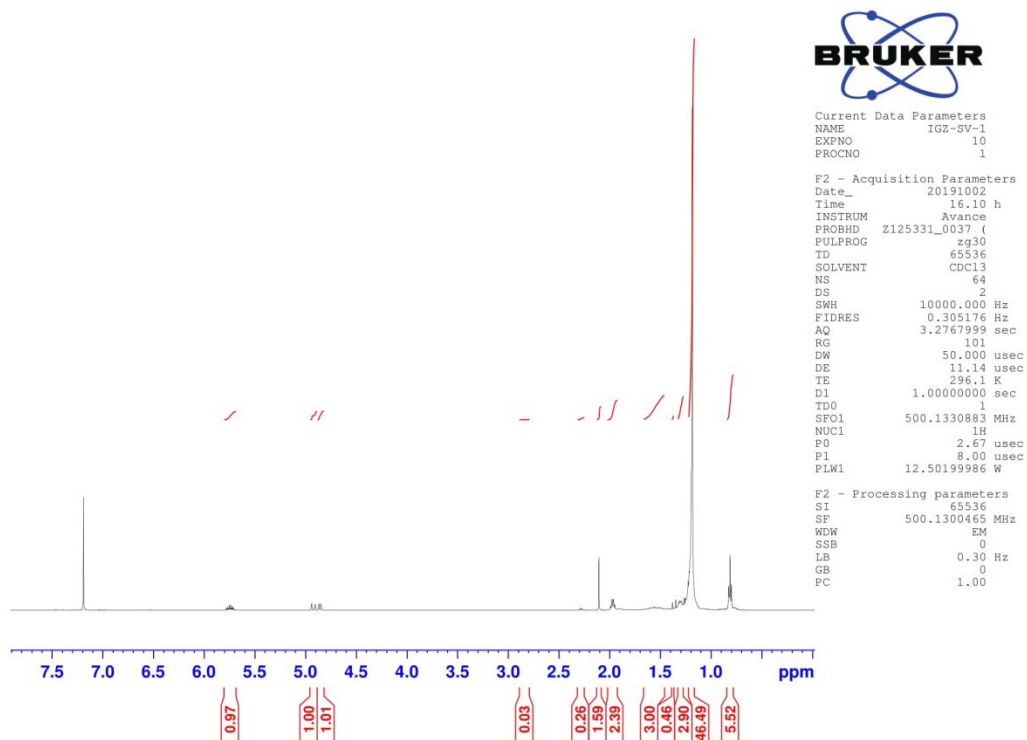
Current Data Parameters
NAME      G2-IG2-SV-2
EXPNO    16
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20200607
Time     14.29 h
INSTRUM  Avance
PROBHD   H1H14X_H0014 (
PULPROG  hmbpulsprog
TD       65536
SOLVENT  CDCl3
NS       40
DS       16
SWH      3261.158 Hz
FIDRES   4.138893 Hz
AQ       0.1848669 sec
RG       101
DW       95.000 usec
DE       4.50 usec
TE       298.2 K
D1       145.0000000 sec
D11      0.00000000 sec
D12      0.00000000 sec
D13      0.00000000 sec
D14      0.00000000 sec
D15      0.00000000 sec
D16      0.00000000 sec
D17      0.00000000 sec
D18      0.00000000 sec
D19      0.00000000 sec
D20      0.00000000 sec
SFO1     500.1318233 MHz
NUC1     1H
P0       8.00 usec
P1       16.00 usec
PLW1     26.36400032 W
SFO2     125.7628443 MHz
NUC2     13C
PLW2     85.85039792 W
SFO3     100.6283590 MHz
NUC3     13C
PLW3     85.85039792 W
SFO4     100.6283590 MHz
NUC4     13C
PLW4     85.85039792 W
SFO5     100.6283590 MHz
NUC5     13C
PLW5     85.85039792 W
SFO6     100.6283590 MHz
NUC6     13C
PLW6     85.85039792 W
SFO7     100.6283590 MHz
NUC7     13C
PLW7     85.85039792 W
SFO8     100.6283590 MHz
NUC8     13C
PLW8     85.85039792 W
SFO9     100.6283590 MHz
NUC9     13C
PLW9     85.85039792 W
SFO10    100.6283590 MHz
NUC10    13C
PLW10    85.85039792 W
SFO11    100.6283590 MHz
NUC11    13C
PLW11    85.85039792 W
SFO12    100.6283590 MHz
NUC12    13C
PLW12    85.85039792 W
SFO13    100.6283590 MHz
NUC13    13C
PLW13    85.85039792 W
SFO14    100.6283590 MHz
NUC14    13C
PLW14    85.85039792 W
SFO15    100.6283590 MHz
NUC15    13C
PLW15    85.85039792 W
SFO16    100.6283590 MHz
NUC16    13C
PLW16    85.85039792 W
SFO17    100.6283590 MHz
NUC17    13C
PLW17    85.85039792 W
SFO18    100.6283590 MHz
NUC18    13C
PLW18    85.85039792 W
SFO19    100.6283590 MHz
NUC19    13C
PLW19    85.85039792 W
SFO20    100.6283590 MHz
NUC20    13C
PLW20    85.85039792 W

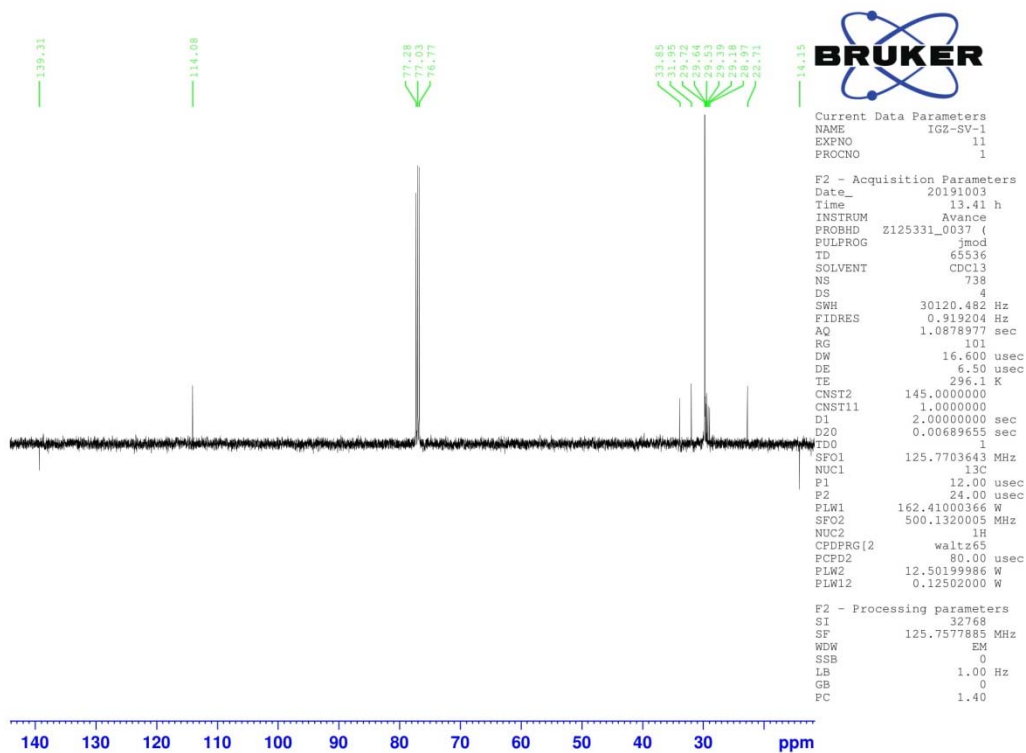
F2 - Processing parameters
SI       1024
SF       500.1300104 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       0 Hz
GB       0
PC       1.40

F1 - Processing parameters
SI       1024
SF       125.7628443 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       0 Hz
GB       0
PC       1.40
    
```

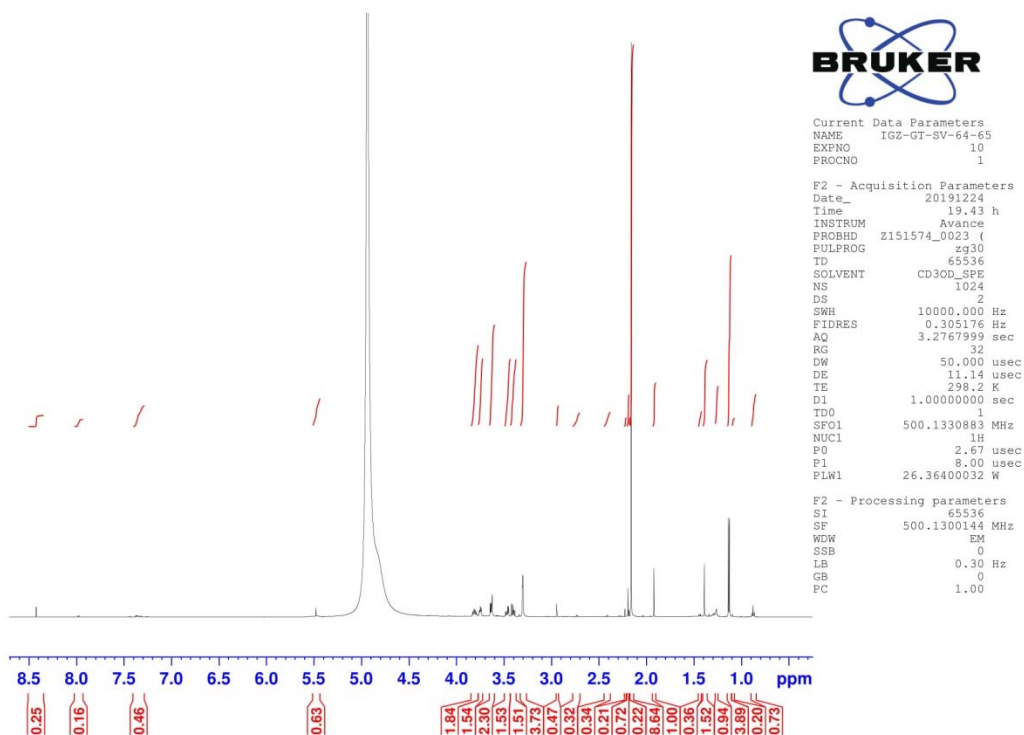

EK B.1:



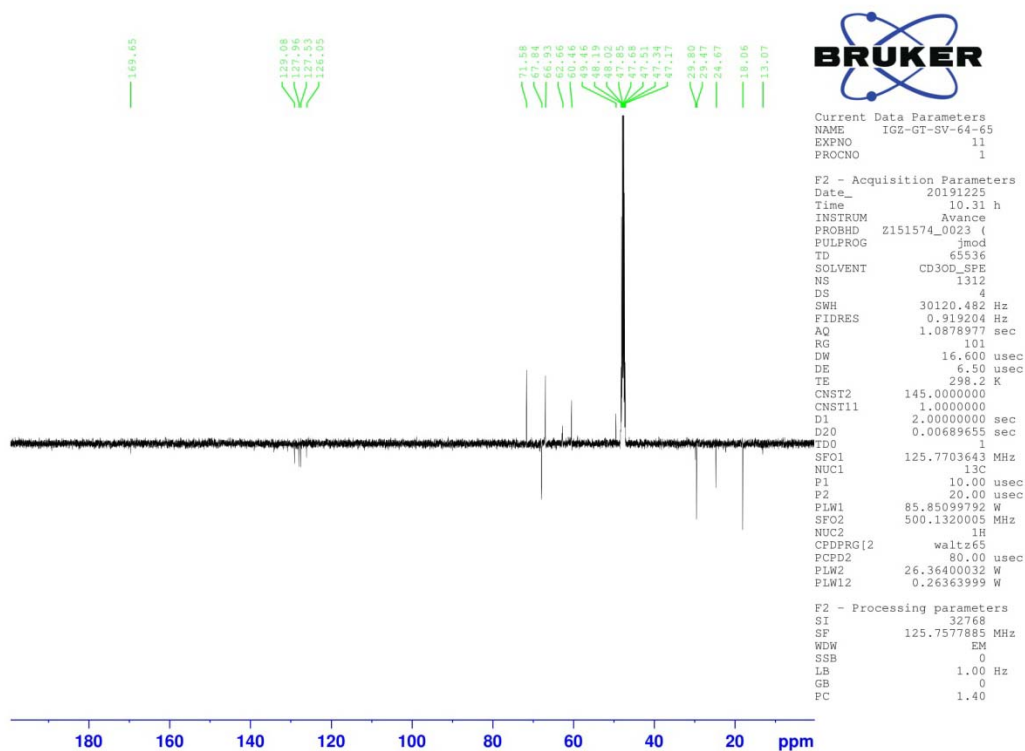
EK B.1:



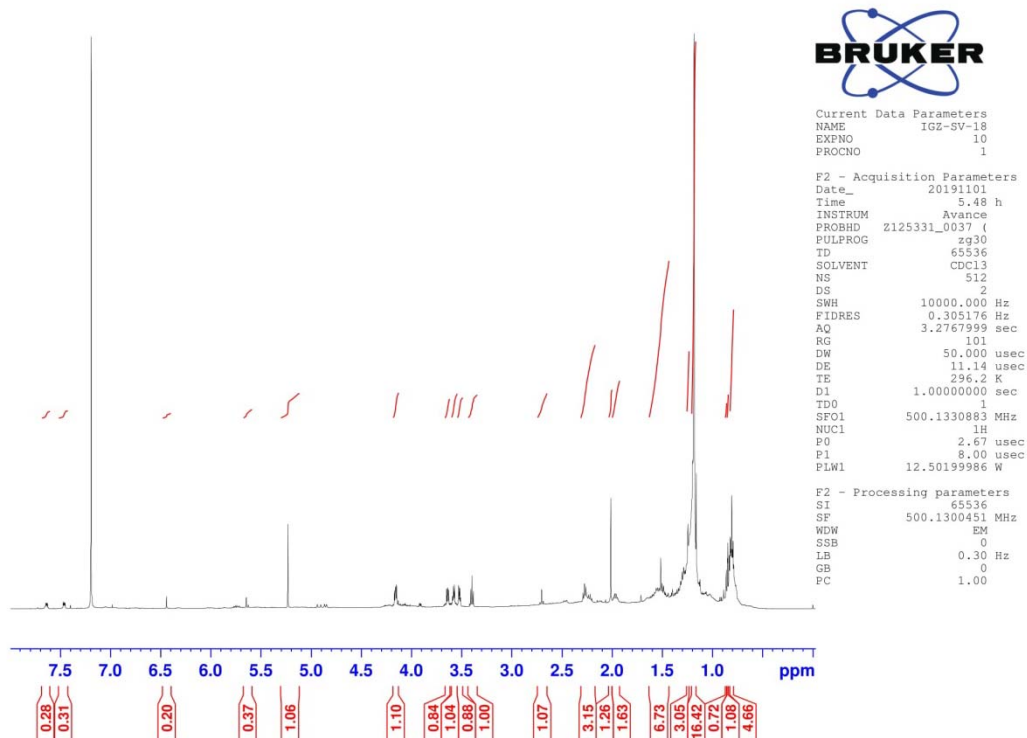
EK C.1:



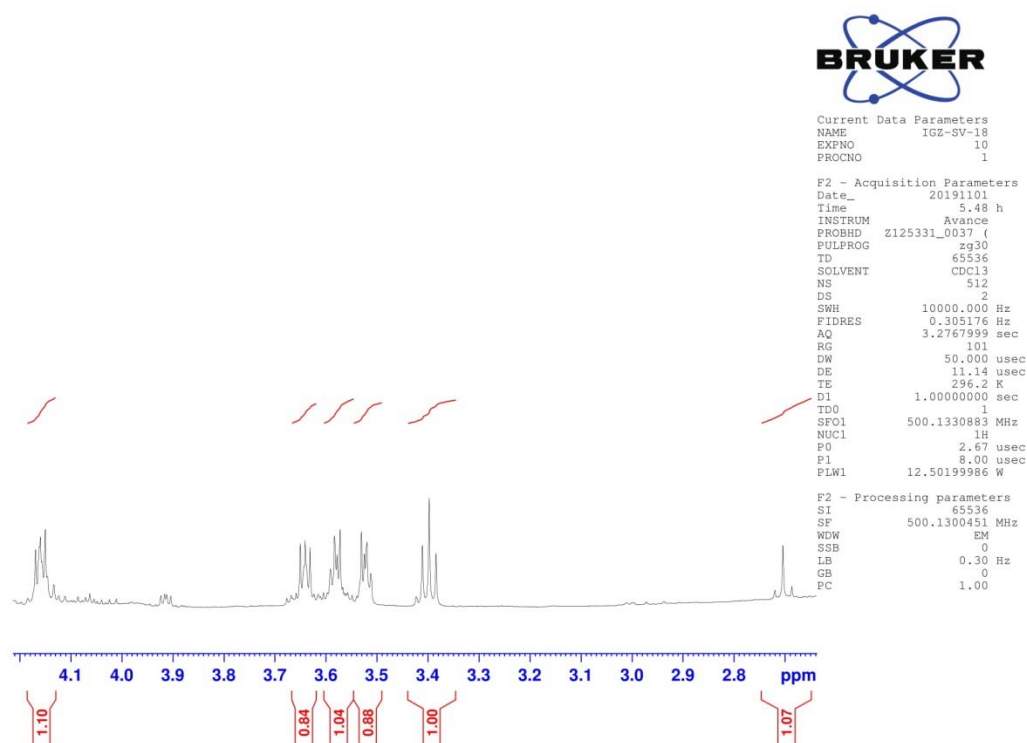
EK C.2:



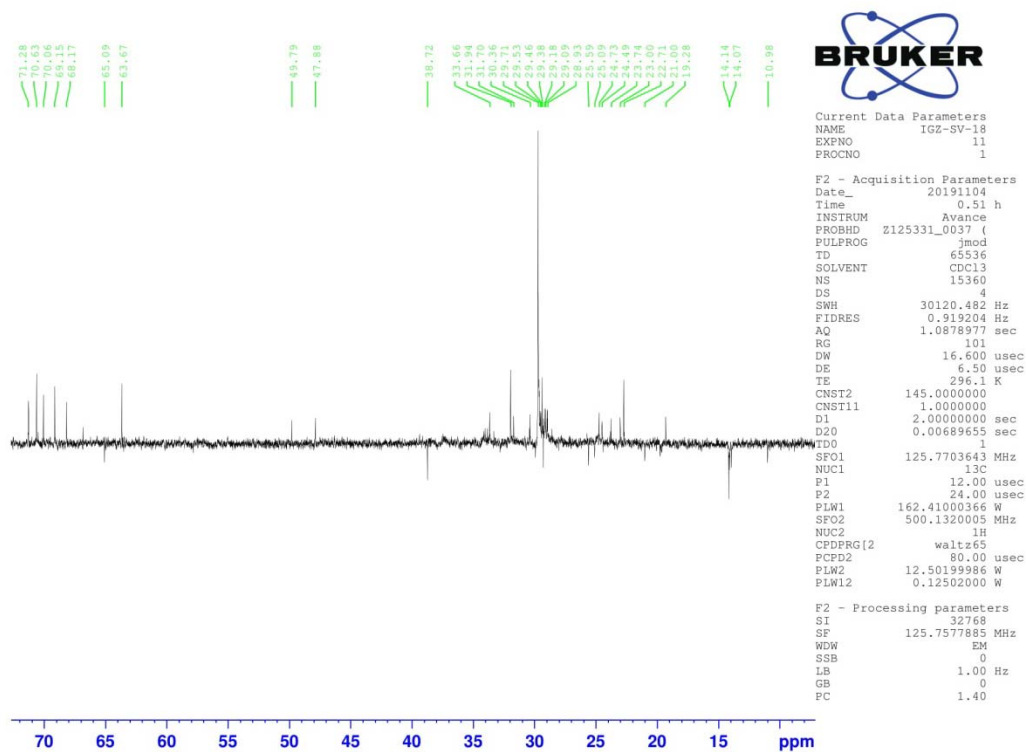
EK D.1:



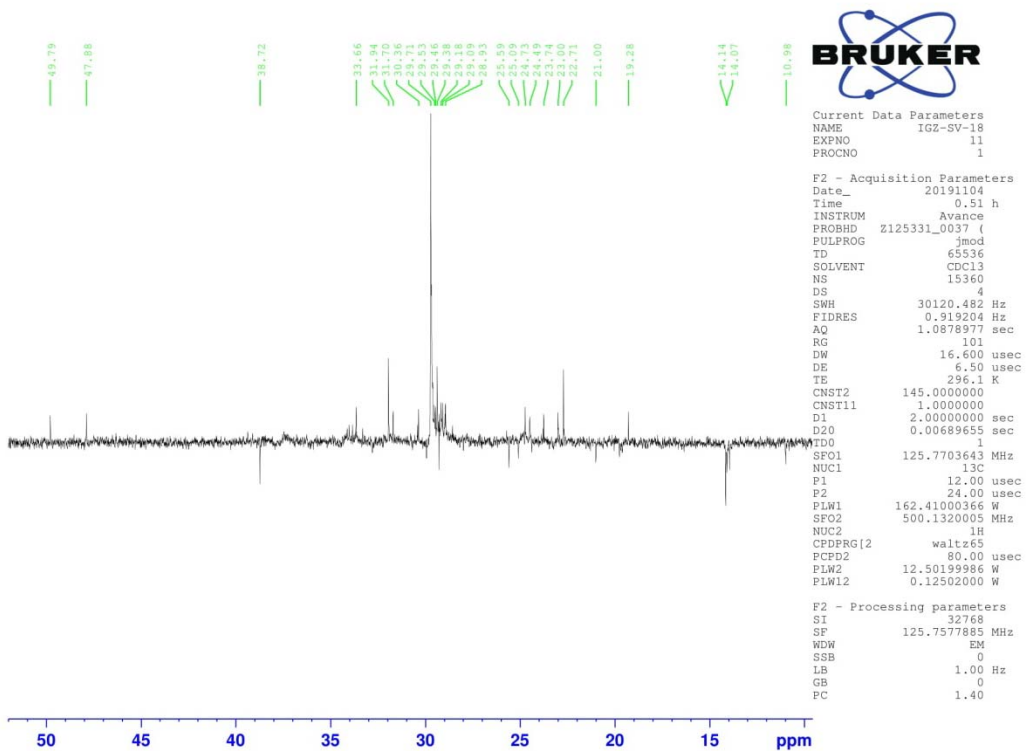
EK D.2:



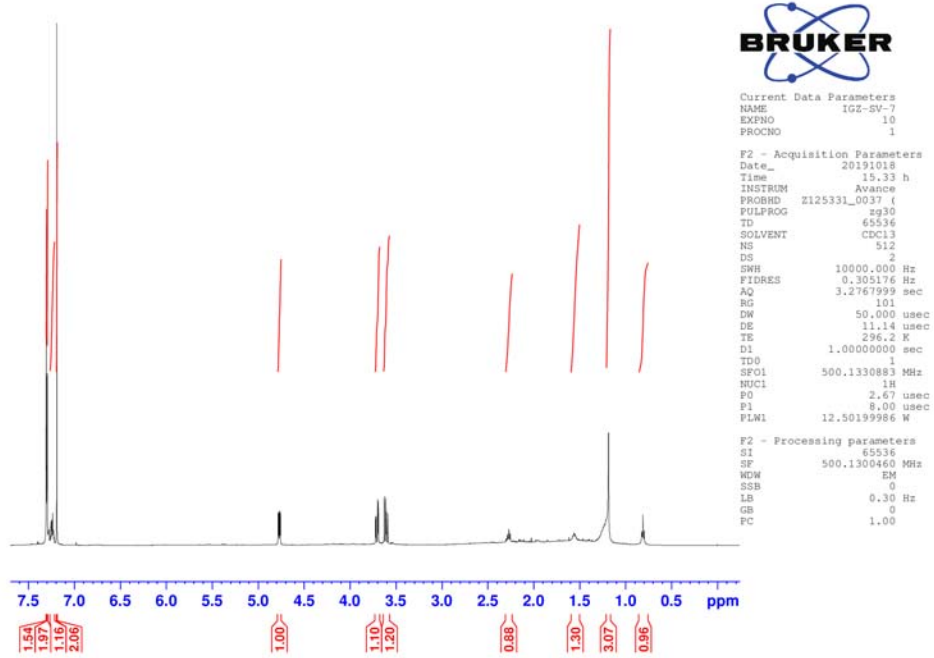
EK D.3:



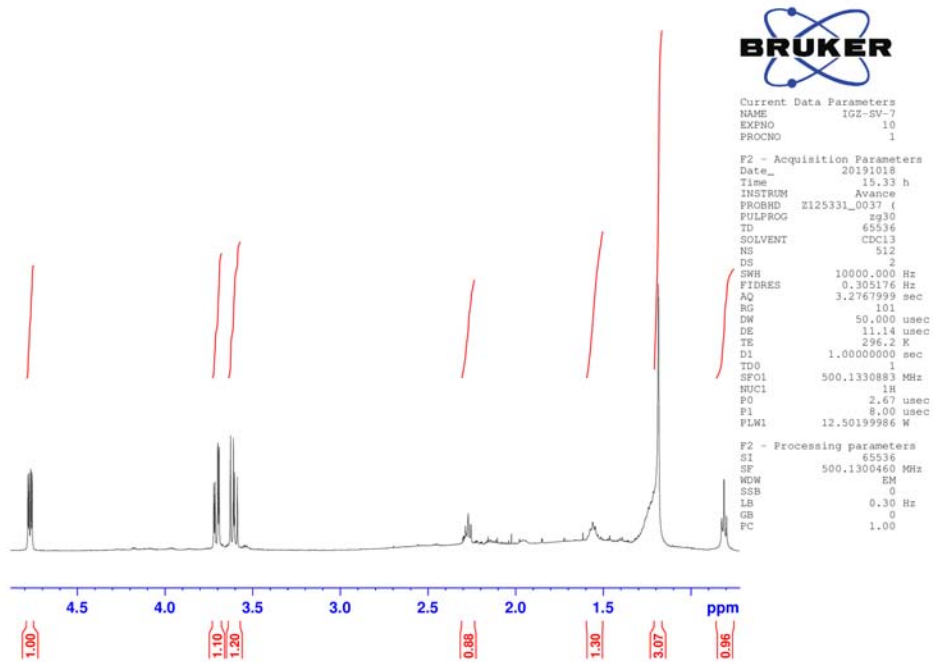
EK D.4:



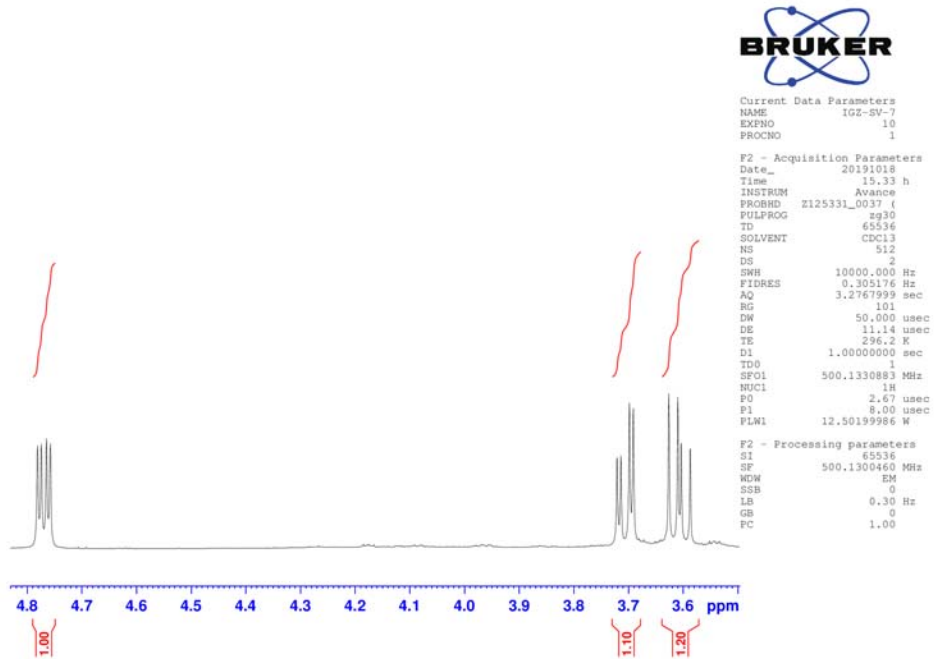
EK E.1:



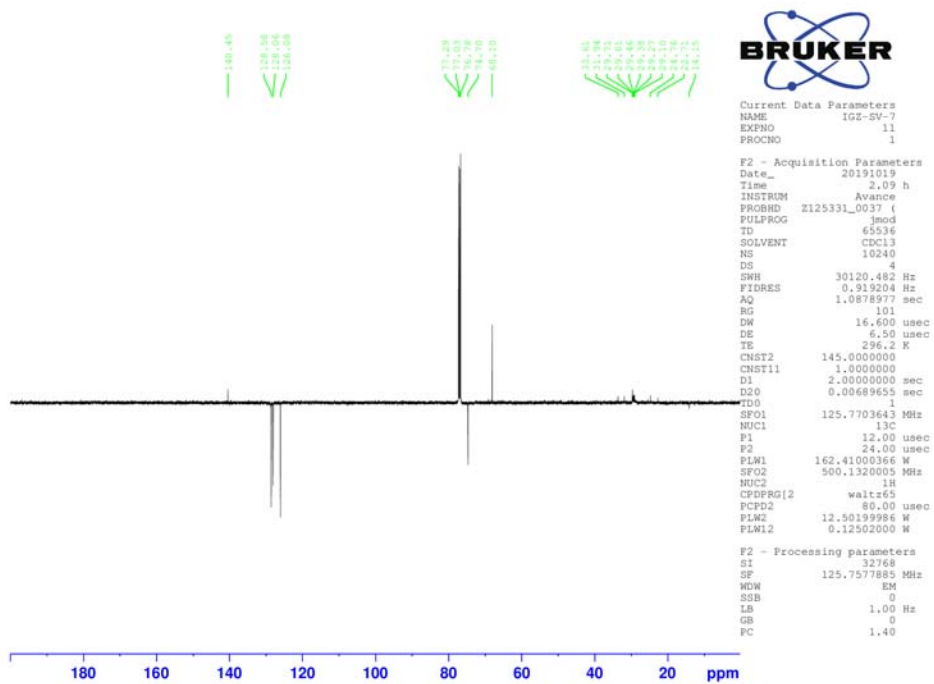
EK E.2:



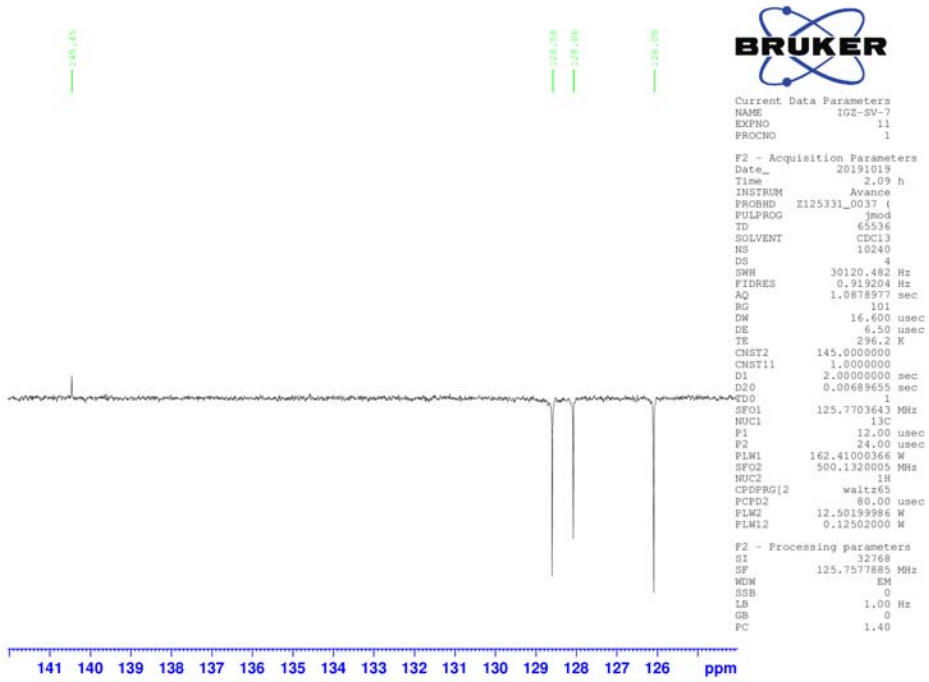
EK E.3:



EK E.4:

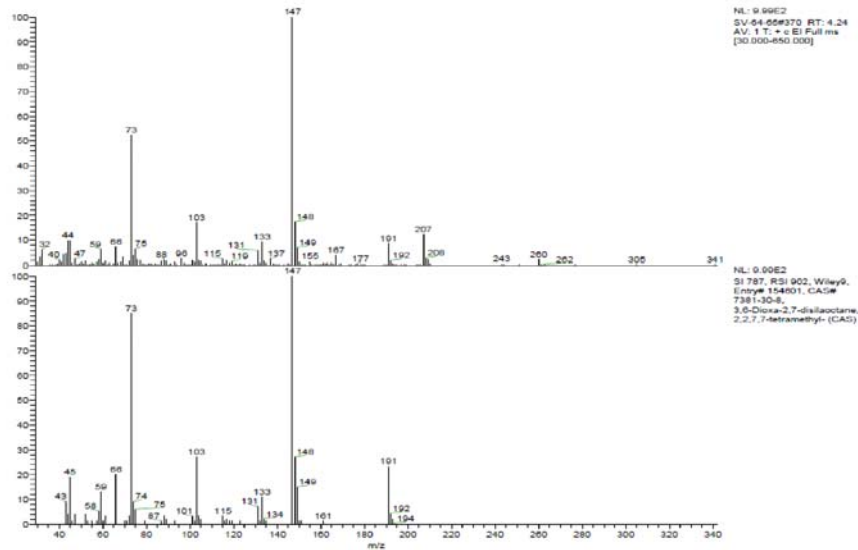


EK E.5:

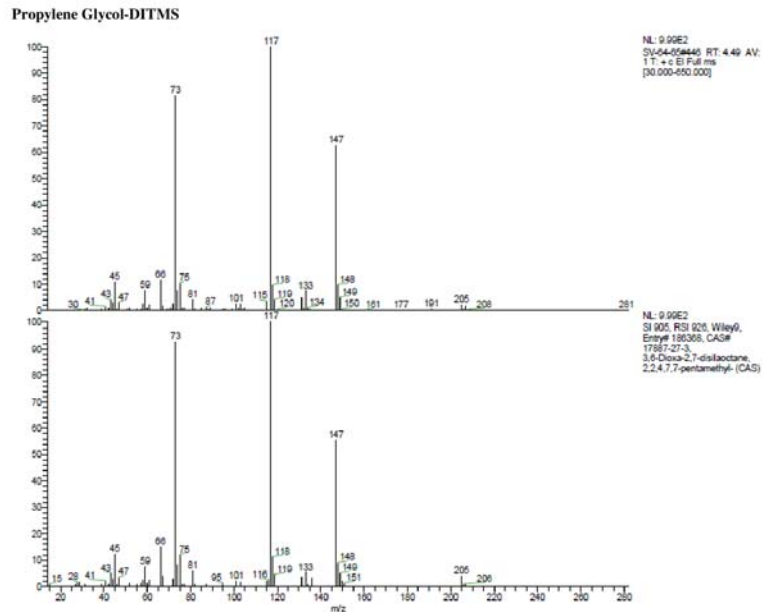


EK F.1:

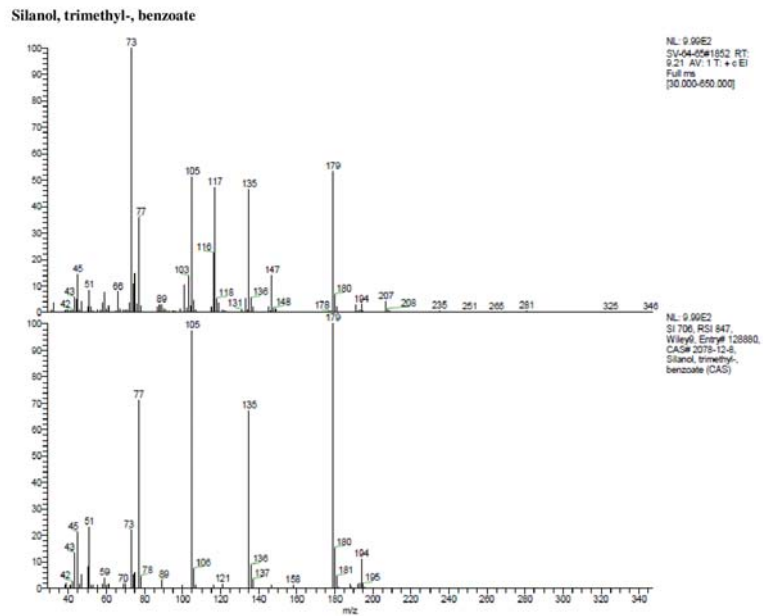
Ethylene Glycol Bistrimethylsilyl Ether



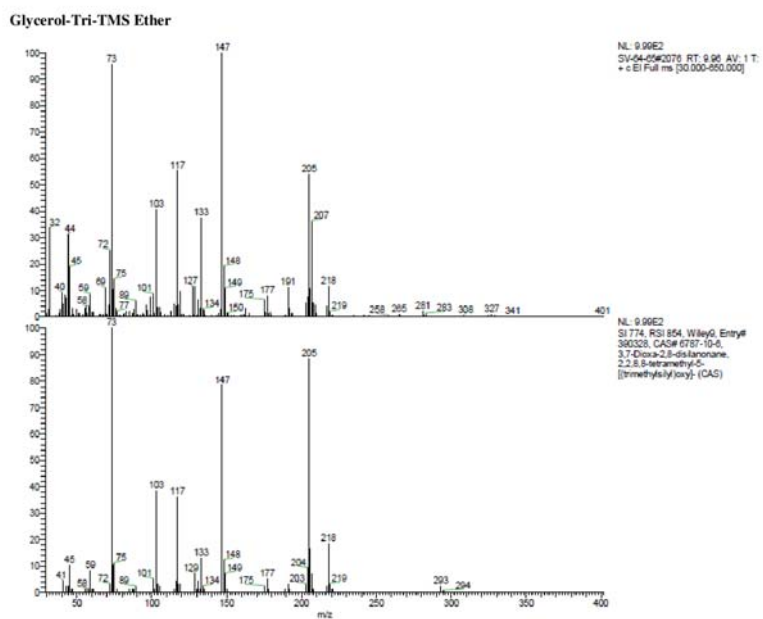
EK F.2:



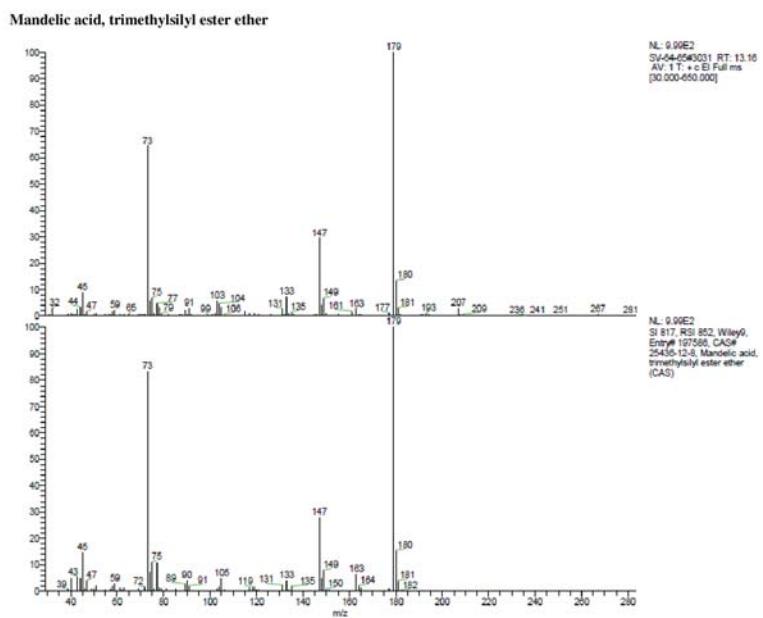
EK F.3:



EK F.4:

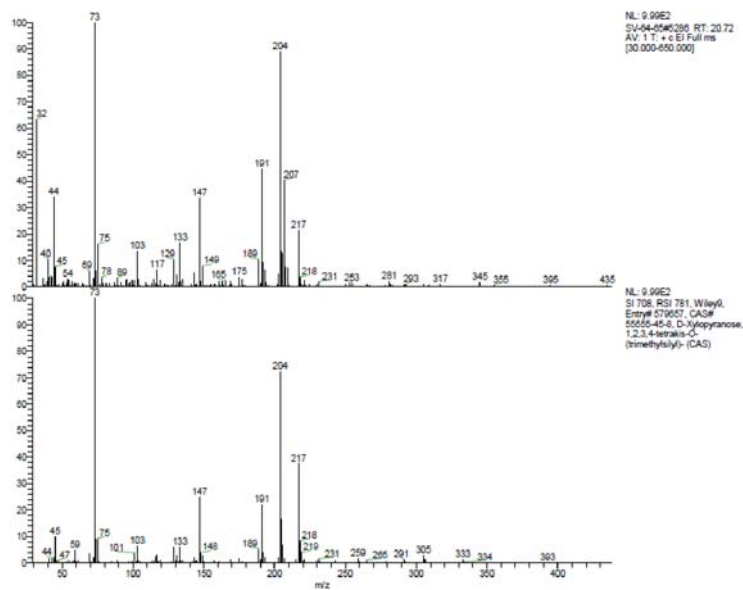


EK F.5:



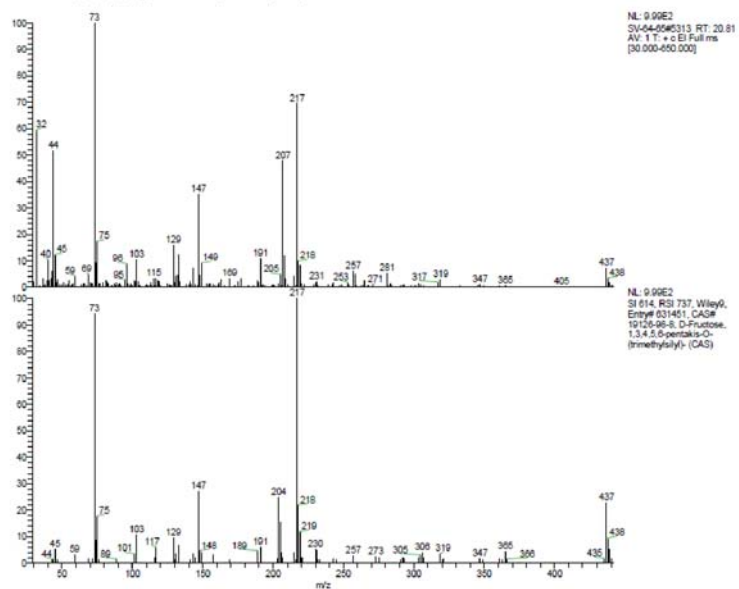
EK F.6:

D-Xylopyranose, 1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)



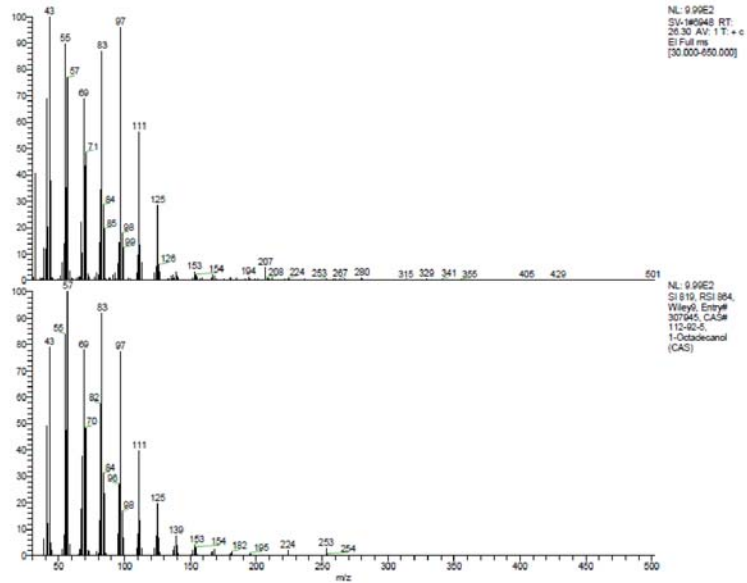
EK F.7:

D-Fructose,1,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)



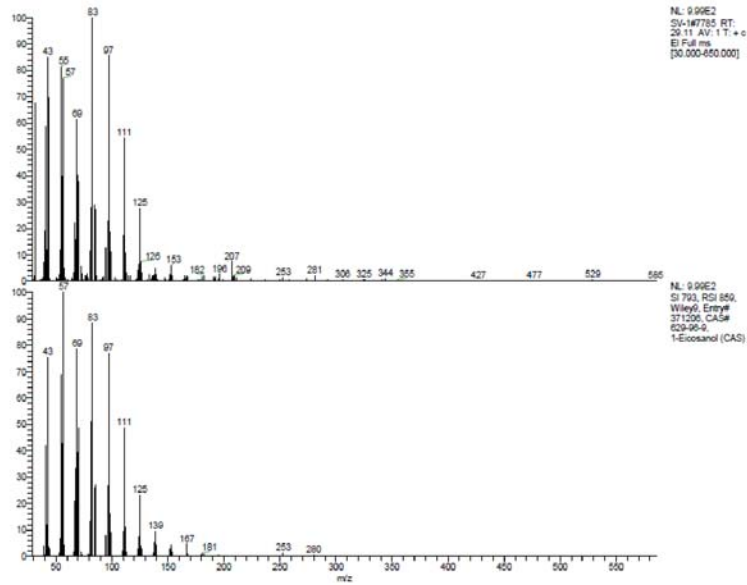
EK G.3:

1-Octadecanol



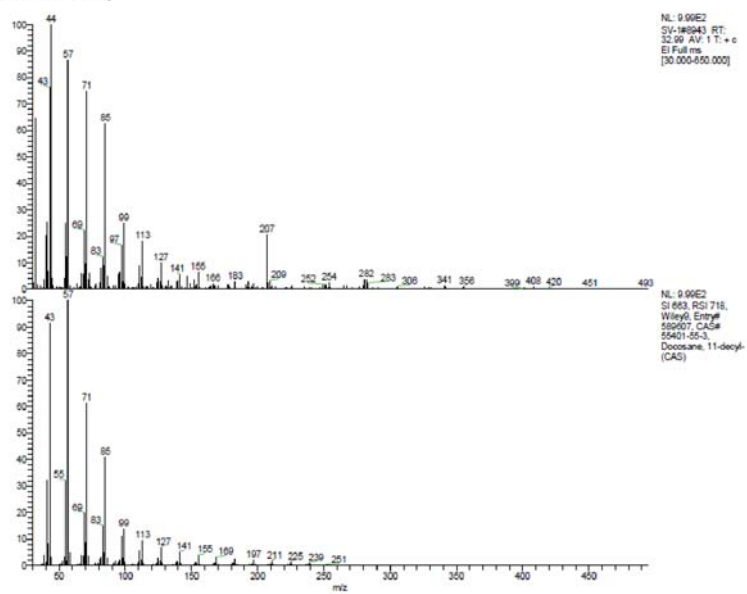
EK G.4:

1-Eicosanol



EK G.7:

Docosane,11-Decyl



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Asena Yuled Taşcı
Doğum Tarihi ve Yeri : 19 Eylül 1995, Çatalca
E-posta : asenayuled@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans:**2013, Beykent Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü

MESLEKİ DENEYİM:

- Myfarma İlaç Sanayii, Kalite Kontrol Stajyeri, Haziran 2016- Temmuz 2016
- Farmatek İlaç San. ve Tic. A.Ş., Ürün Geliştirme Stajyeri, Ağustos 2016- Eylül 2016
- World Medicine İlaç San. ve Tic. A.Ş., Üretim Mühendisi Stajyeri, Haziran 2017- Temmuz 2017
- World Medicine İlaç San. ve Tic. A.Ş., Analitik Geliştirme Uzman Yardımcısı, Haziran 2018- Ekim 2019