

***Achillea sivasica* ÇELİK & AKPULAT UÇUCU
YAĞININ KİMYASAL, ENANTIOMERİK ve
BİYOLOJİK AKTİVİTE AÇISINDAN
ARAŞTIRILMASI**

Yeşim Haliloğlu

Yüksek Lisans Tezi

***Achillea sivasica* ÇELİK & AKPULAT
UÇUCU YAĞININ KİMYASAL,
ENANTIOMERİK ve BİYOLOJİK
AKTİVİTE AÇISINDAN ARAŞTIRILMASI**

Yeşim Haliloğlu

Yüksek Lisans Tezi

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakognozi Anabilim Dalı

Eskişehir, Şubat 2016

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Temel Özek

Bu tez çalışması, Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje No. 1504S163)

Jüri ve Enstitü Onayı

Yeşim Haliloğlu'nun *Achillea sivasica* Çelik & Akpulat Uçucu Yağının Kimyasal, Enantiomerik ve Biyolojik Aktivite Açısından Araştırılması başlıklı, Farmakognozi Anabilim Dalı'ndaki Yüksek Lisans tezi, 17.02.2016 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	Prof. Dr. Temel Özek Anadolu Üniversitesi
Üye	Prof. Dr. Murat Kartal Bezmialem Üniversitesi
Üye	Prof. Dr. Fatih Demirci Anadolu Üniversitesi

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Dilek Ak

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı ve soyadı : Yeşim HALİLOĞLU
Doğum tarihi ve yeri : 20.09.1985/ İskenderun
Uyruğu : T.C.
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresleri
Adres : Yenibağlar Mah. Fidan Sok. No:37/1
Eskişehir
e-posta : yesimhaliloglu@gmail.com

Eğitim Durumu

İlköğretim : Demir Çelik İlköğretim Okulu
Lise : İbni Sina Anadolu Lisesi
Lisans : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi,
Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü
Lisansüstü : Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri
Enstitüsü, Farmakognozi Anabilim Dalı

Yabancı dil : İngilizce

Yayımlar

Poster Bildiriler

- 1) Özek,T., Haliloglu, Y., Tekin, M., Özek, G., Türk, M., Göger, F., Başer, K.H.C.,Essential oil composition and biological activities of *Achillea sivasica* Çelik&Akpulat SCNC 2015-11th Intern. Symposium on the Chem. of Natur. Comp., 1-4 October 2015, Antalya, Turkey.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince engin bilgi ve deneyimini benden esirgemeyen, tez çalışmalarım ve yazımı aşamalarında bana yol gösteren çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Temel Özek'e, bana olan güveni ve desteği için,

Tez çalışmalarım süresince anlayışla bana destek ve yardımcı olan değerli bilgilerini aktarıp, öneri ve eleştirileri ile tezimde büyük emeği geçen çok değerli hocam Doç. Dr. Gülmira Özek'e,

Çalıştığım bitkinin toplanmasında ve teşhisinde yardımcı olan Yard. Doç Dr. Mehmet Tekin'e,

Laboratuvar çalışmaları ve analizleri sırasında bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen Uzman Dr. Fatih Göger'e,

Çalışmalarım boyunca bana destek ve yardımcı olan çalışma arkadaşlarım Bilge Kara, Süleyman Yur ve Farmakognozi Ana Bilim Dalı mensuplarına,

Tez çalışmamda maddi yardım sağlayan Anadolu Üniversitesi'ne,

Yüksek lisans süresi içerisinde maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen çok değerli aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

***Achillea sivasica* ÇELİK & AKPULAT UÇUCU YAĞININ KİMYASAL,
ENANTIOMERİK ve BİYOLOJİK AKTİVİTE AÇISINDAN
ARAŞTIRILMASI**

ÖZET

Çalışmanın kapsamında endemik *Achillea sivasica* Çelik & Akpulat bitkisinin uçucu yağ ve ekstraları üzerinde fitokimyasal ve biyolojik aktivite araştırmaları gerçekleştirildi. Bitkinin çiçek, yaprak ve kök kısımlarından uçucu bileşenleri elde edilerek Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi ve Gaz Kromatografisi-Alev İyonlaşma Dedektörü teknikleri ile kimyasal kompozisyonları aydınlatıldı.

Bitki kısımlarından elde edilen uçucu yağlarda toprak üstü kısım, çiçek ve yaprakta sırasıyla α -pinen (%11.5, %9.3, %6.7), β -pinen (%7.0, %3.0, %6.9), 1,8 sineol (%18.0, %22.1, %6.7) ve kafur (%7.6, %4.1, %9.0), α -bisabolol (%7.5, %4.3, %6.6), germakren D (%4.8, %3.5, %2.0) ve β -ödesmol (%3.1, %3.9, %3.6) ana bileşikler olarak tespit edildi. Çiçek ve yaprak sabit yağ asitlerin arasında linoleik (%26.9, %16.9), linolenik (%13.2, %56.2), oleik (%20.9, %3.9) ve palmitik asit (%22.2, %17.3) ana bileşik olarak saptandı. Enantiomer bileşiklerin enantiomerik oranları ana bileşikler dikkate alınarak şiral kolonda araştırıldı.

Bitkiden farklı polaritedeki çözücüler ile elde edilen ekstralarda toplam fenol ve toplam flavanoid bileşenlerin miktarları değerlendirildi.

Uçucu yağ ve ekstraların antioksidan ve antitirozinaz etkileri *in vitro* deneylerde araştırıldı. Metanol ve etil asetat ile elde edilen yaprak ekstralarının lipit peroksidasyonu inhibe etme özelliği (AOA%: MeOH 53.9, EtAc 55.8), bakır indirgeme kapasitesi (TE mM: MeOH 0.94, EtAc 0.46) ve antitirozinaz (KAE mg/g: MeOH 5.5, EtAc 6.2) etkilerinin en yüksek olduğu tespit edildi.

Bu çalışma *Achillea sivasica* bitkisi üzerinde yapılan ilk fitokimyasal ve biyolojik aktivite araştırmasıdır.

Anahtar Kelimeler: *Achillea sivasica*, uçucu yağ, enantiyomer, ekstre, aktivite, GC/MS.

INVESTIGATION of *Achillea sivasica* ÇELİK & AKPULAT ESSENTIAL OIL for CHEMICAL COMPOSITION, ENANTIOMERS and BIOLOGICAL ACTIVITY

ABSTRACT

In scope of investigation the essential oils and extracts of *Achillea sivasica* Çelik & Akpulat were subjected to phytochemical and biological investigations. The volatiles were obtained from the flower, leaves and roots of the plant and their chemical composition was investigated with GC/MS and GC-FID techniques.

α -Pinene (11.5%, 9.3%, 6.7%), β -pinene (7.0%, 3.0%, 6.9%), 1,8-cineole (18.0%, 22.1%, 6.7%), camphor (7.6%, 4.1%, 9.0%), α -bisabolol (7.5%, 4.3%, 6.6%), germacrene D (4.8%, 3.5%, 2.0%) and β -eudesmol (3.1%, 3.9%, 3.6%) were found to be the main constituents in the essential oils (repectively herb, flower, leaf). Linoleic (26.9%, 16.9%), linolenic (13.2%, 56.2%), oleic (20.9%, 3.9%) and palmitic acids (22.2%, 17.3%) were the major constituents among the fatty acids in the flower and the leaves. The enantiomer ratios of the major enantiomers were investigated by analyzing of the volatiles on chiral column.

The total phenols and the total flavonoids content were evaluated in the extracts obtained from the plant with different polarities solvent.

The oils and extracts were subjected to investigation for antioxidant and antityrosinase effects with *in vitro* experiments. The methanol and ethyl acetate leaf extracts were found to be the most effective in the inhibition of the lipid peroxidation (AOA%: MeOH 53.9, EtAc 55.8), with cupric reducing antioxidant capacity (TE mM: MeOH 0.94, EtAc 0.46) and as antityrosinase agents (KAE mg/g: .MeOH 5.5, EtAc 6.2).

This work is the first phytochemical and biological activity research about *Achillea sivasica* plant.

Keywords: *Achillea sivasica*, essential oil, enantiomer, extract, activity, GC/MS.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZGEÇMİŞ	i
ÖNSÖZ	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
GİRİŞ ve AMAÇ	1
KAYNAK BİLGİSİ	3
Asteraceae Familyası	3
<i>Achillea</i> Cinsi	3
<i>Achillea sivasica</i> Çelik&Akpulat	4
Kimyasal Bilgiler	6
Biyolojik Aktivite Bilgileri	13
<i>Achillea türlerinin halk arasındaki kullanım bilgileri</i>	13
<i>Achillea türleri üzerinde yapılmış biyolojik aktivite araştırmalar</i>	14
Antioksidan Aktivite Araştırmalarının Önemi	16
Antitirozinaz Aktivite Araştırmalarının Önemi	17
Enantiyomer Araştırmalarının Önemi	18
GEREÇLER ve YÖNTEMLER	19
Kullanılan Cihaz ve Apeyler	19
Kimyasal Maddeler	19
Bitkisel Materyal	20
Uçucu Yağın Elde Edilmesi	21
MSD-SPME Tekniği	22
Sabit Yağ Asitlerinin Elde Edilmesi	23
Ekstrelerin Elde Edilmesi	24
Uçucu Yağın ve Sabit Yağ Asitlerinin Kimyasal Kompozisyonunun Aydınlatılması	24
Uçucu Bileşiklerin Kimyasal Kompozisyonunun Kombine MSD/SPME-GC/MS Tekniği ile Aydınlatılması	24

Enantiyomer Maddelerin Analizi	25
Antioksidan Aktivite Deneyleri	25
<i>CUPRAC deneyi</i>	25
<i>β-Karoten soldurma deney şartları</i>	26
Toplam Fenolik Bileşik Tayini	26
Toplam Flavanoid Miktar Tayini	27
<i>Antitirozinaz aktivite deneyi</i>	28
BULGULAR	29
Uçucu Yağ Özellikleri	29
Uçucu Yağ Kimyasal Kompozisyonu	29
Kombine MSD-SPME-GC/MS Analizi	34
Sabit Yağ asitleri Analizi	37
Enantiyomer Madde Oranlarının Saptanması	38
Ekstrelerdeki Toplam Fenol Miktarı	42
Toplam Flavonoit Miktarı	42
Antioksidan Aktivite	43
<i>β-Karoten soldurma gücü</i>	43
<i>CUPRAC deneyi</i>	44
<i>Tirozinaz inhibisyon deneyi</i>	44
TARTIŞMA	46
SONUÇ ve ÖNERİLER	52
KAYNAKLAR	53

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL NO ve ADI	SAYFA
Şekil 1 <i>Achillea sivasica</i> bitkisi	4
Şekil 2 <i>Achillea sivasica</i> 'nın Yetiştirme Lokasyonu	5
Şekil 3 <i>Achillea sivasica</i> 'nın Morfolojik Özellikleri	5
Şekil 4. <i>Achillea</i> Cinsi Üzerine Yapılmış Fitokimyasal Çalışmaların Yıllara Göre Dağılımı	6
Şekil 5 <i>Achillea</i> Cinsi Üzerine Yapılan Atıfların Yıllara Göre Dağılımı	6
Şekil 6 <i>Achillea sivasica</i> Bitkisinin Kurutma İşlemi	21
Şekil 7 <i>Achillea sivasica</i> Herbarium Örneği	21
Şekil 8 Clevenger Aparentinde Hidrodistilasyon İşlemi	22
Şekil 9 MSD-SPME için Kullanılan Düzenek	22
Şekil 10 <i>Achillea sivasica</i> Bitkisinden Sabit Yağ Ekstraksiyon İşlemi	23
Şekil 11 <i>Achillea sivasica</i> Bitkisinden Ekstrelerinin Elde Edilmesi	24
Şekil 12 Toplam Fenol Miktarının Tayini	27
Şekil 13 Toplam Flavanoit Miktar Tayini	28
Şekil 14 <i>Achillea sivasica</i> Uçucu Yağı	29
Şekil 15 <i>Achillea sivasica</i> Herba Uçucu Yağı Kromatografik Profili	33
Şekil 16 <i>Achillea sivasica</i> Çiçek Uçucu Yağı Kromatografik Profili	34
Şekil 17 <i>Achillea sivasica</i> Yaprak Uçucu Yağı Kromatografik Profili	34
Şekil 18 <i>Achillea sivasica</i> Çiçek, Yaprak ve Kök Kısımlarından Kombine MSD-SPME Tekniği ile Elde Edilen Uçucu Bileşenlerin Kromatografik Profilleri	36
Şekil 19 <i>Achillea sivasica</i> Sabit Yağ Asitlerin Gaz Kromatografik Profili	38
Şekil 20 <i>Achillea sivasica</i> Yağlarında α -Pinen Enantiyomerlerinin Şiral Kolondaki Ayırımı ve Kütle Spektrumu	38
Şekil 21 <i>Achillea sivasica</i> Yağlarında β -Pinen Enantiyomerlerinin Şiral Kolondaki Ayırımı ve Kütle Spektrumu	39
Şekil 22 <i>Achillea sivasica</i> Yağlarında Limonen Enantiyomerlerinin Şiral Kolondaki Ayırımı ve Kütle Spektrumu	39
Şekil 23. <i>Achillea sivasica</i> Yağlarında α -Bisabolol Enantiyomerlerinin Şiral Kolondaki Ayırımı ve Kütle Spektrumu	40

Şekil 24 <i>Achillea sivasica</i> Yağlarında Pinocarveol Enantiomerlerinin Şiral Kolondaki Ayırımı ve Kütle Spektrumu	40
Şekil 25 <i>Achillea sivasica</i> Yağlarında Terpinen-4-ol Enantiyomerlerinin Şiral Kolondaki Ayırımı ve Kütle Spektrumu	41
Şekil 26 <i>Achillea sivasica</i> Yağlarında Borneol Enantiyomerlerinin Şiral Kolondaki Ayırımı ve Kütle Spektrumu	41
Şekil 27 Gallik Asit Lineer Eğrisi ve Hesaplama Denklemi	42
Şekil 28 Kersetin'in Lineer Eğrisi ve Hesaplama Denklemi	43
Şekil 29 Troloks'un CUPRAC Deneyindeki Eğrisi ve Hesaplama Denklemi	44
Şekil 30 Kojik Asit Lineer Eğrisi ve Hesaplama Denklemi	45
Şekil 31 <i>Achillea sivasica</i> Değişik Kısımlarındaki Toplam Fenol Bileşiklerinin Dağılımı	46
Şekil 32 <i>Achillea sivasica</i> Değişik Kısımlarındaki Toplam Flavonoit Bileşiklerinin Dağılımı	48
Şekil 33 CUPRAC Deneyinde Gerçekleşen Reaksiyon	49
Şekil 34 <i>Achillea sivasica</i> Ekstrelerinin CUPRAC Deneyinde Etkileri	49
Şekil 35 <i>Achillea sivasica</i> Uçucu Yağlarının CUPRAC Deneyinde Etkileri	50
Şekil 36 <i>Achillea sivasica</i> Ekstre ve Uçucu Yağlarının Lipid Peroksidasyonunu İnhibe Etme Etkileri	50
Şekil 37 <i>Achillea sivasica</i> Ekstrelerinin Tirizonaz Enzimi Üzerine Etkileri	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE NO ve ADI	SAYFA
Çizelge 1 <i>Achillea</i> Türleri Uçucu Yağ Kimyasal İçerik Çalışmaları	7
Çizelge 2 <i>Achillea</i> Uçucu Yağlarını Konu Alan Çalışmalar	9
Çizelge 3 <i>Achillea</i> Ekstreleri Kimyasal İçerikleri	10
Çizelge 4 <i>Achillea</i> Türlerinin Halk Arasına ki İsimlendirmeleri	13
Çizelge 5 <i>Achillea</i> Türleri ile Yapılmış Biyolojik Aktivite Çalışmaları	14
Çizelge 6 Antioksidan Kapasite Ölçme Yöntemlerinin Sınıflandırılması	17
Çizelge 7 Enantiomer Madde Ayrımalarında Uygulanan Analiz Şartları	25
Çizelge 8 <i>Achillea sivasica</i> Uçucu Yağ Verimleri	29
Çizelge 9 <i>Achillea sivasica</i> Uçucu Yağlarının Kimyasal Kompozisyonu	29
Çizelge 10 <i>Achillea sivasica</i> Çiçek, Yaprak ve Kök Kısımlarından MSD-SPMETekniği ile Elde Edilen Uçucu Bileşenlerin Kimyasal Kompozisyon	35
Çizelge 11 <i>Achillea sivasica</i> Sabit Yağ Asitleri Kimyasal Kompozisyonu	37
Çizelge 12 <i>Achillea sivasica</i> Ekstrelerinin İçerdiği Gallik Aside Eşdeğer Toplam Fenol Miktarları	42
Çizelge 13 <i>Achillea sivasica</i> Ekstrlerinin İçerdiği Kesretine Eşdeğer Toplam Flavonoit Miktarları	43
Çizelge 14 <i>Achillea sivasica</i> Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin β -Karoten-Linoleik Asit Deneyinde Yüzde Antioksidan Aktivitesi	43
Çizelge 15 <i>Achillea sivasica</i> Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin Troloks'a Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC deneyinde)	44
Çizelge 16 <i>Achillea sivasica</i> Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin Kojik Asit'e Eşdeğer Tirozinaz İnhibisyon Etkisi	45
Çizelge 17 <i>Achillea. sivasica</i> Uçucu Yağlarındaki Ana Madde Gruplarının Dağılımı	46
Çizelge 18 <i>Achillea sivasica</i> Uçucu Yağların Enantiyomerik Maddelerin Oranları	47

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

Abs	: Absorbans
AD	: Aktif Değil
AOA	: Antioksidan Aktivite
BHA	: Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	: Bütillenmiş Hidroksi Toluen
Ç	: Çiçek
dk	: Dakika
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikril hidrazil radikali
EtAc	: Etil Asetat
EtOH	: Etanol
GAE	: Gallik asit eşdeğerliği
GC-FID	: Gaz Kromatografisi-Alev İyonlaşma Detektörü
GC/MS	: Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi
g	: Gram
H	: Herba
KAE	: Kojik asit eşdeğerliği
KE	: Kersetin eşdeğerliği
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
L-DOPA	: 3,4- Dihidroksi-L-fenilalanin
MeOH	: Metanol
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
µl	: Mikrolitre

mM	: Milimolar
Mo	: Molibdenyum
MSD-SPME	: Mikro Buhar Katı Faz Mikro Ekstraksiyonu
Nc	: Neokuproin
nm	: Nanometre
OAO	: Oksitlenmiş Anti Oksidan
ORAC	: Oksijen Radikali Absorblama Kapasitesi
PDMS-DVB	: Polidimetilsiloksanın divinilbenzen
RTI	: Relatif Tutunma İndisi
sa	: saat
SH	: Standart Hata
TE	: Troloks eşdeğeri
TEAC	: Troloks'a Eşdeğer Antioksidan Kapasite
TRAP	: Toplam Radikal Yakalama Parametresi
U	: Unite
Y	: Yaprak
% AA	: Yüzde Antioksidan Aktivite
% İnh	: Yüzde İnhibisyon

GİRİŞ ve AMAÇ

Tıbbi bitkiler doğal ilaçların büyük bir kısmını oluşturur ve hastalıkların tedavisinde önemli bir yeri vardır. Sentetik ilaçlara göre yan etkileri oldukça azdır. Bu nedenle araştırmalarda doğal kaynaklı etken maddelere ilgi fazladır. Ayrıca Türkiye Florası bitkisel çeşitlilik açısından oldukça zengin bir ülkedir. Bu bitkisel çeşitlilik doğal kaynaklı etken maddelere, tedavi yöntemlerine ve kimyasal ve biyolojik aktivite araştırmalarına olan ilgiyi arttırmıştır.

Astraceae familyası yaklaşık 93 takson ile geleneksel tedavide en çok faydalanılan familyadır. *Achillea* cinsi Asteraceae familyası içinde tıbbi bitki olarak yararlanılan 11 taxa ile en önemli yeri kapsar (Altundağ ve Öztürk, 2011). Geleneksel tedavide analjezik, haricen sikatrizan olarak kullanılmaktadır Ayrıca karminatif, iştah arttırıcı olarak *Achillea* türlerinden yararlanılmaktadır (Honda ve ark., 1996; Fujita ve ark., 1995; Sezik ve ark., 1997; Yeşil ve Akalın, 2009; Altundağ ve Öztürk, 2011). *Achillea* türlerinin kimyasal kompozisyonunda monoterpenler (Mirahmadi ve ark., 2012), seskiterpen laktonlar (Tohme ve ark., 2013), flavonoidler (Ali ve ark., 2014; Benedec ve ark., 2013), lignanlar, kaffeolkuinik asit türevli bileşenler (Benedek ve ark., 2007) rapor edilmiştir.

Achillea cinsi ile yapılan biyolojik aktivite çalışmaları sonucu, *Achillea* türlerinin antioksidan, antimikrobiyal (Andeani ve ark., 2011; Demirci ve ark., 2009; Senatore ve ark., 2005; Bezic ve ark., 2004), antifungal (Kordali ve ark., 2009), antispazmatik (Ali ve ark., 2014; Moradi ve ark., 2013), antiülser (Potrich ve ark., 2010), antikanser (Baharara ve ark., 2015; Tohme ve ark., 2013; Dias ve ark., 2013) herbisidal ve insektisidal (Polatoglu ve ark., 2013; Kordali ve ark., 2009; Nenaah, 2014), antienflamatuar ve antinosiseptif aktivite (Isacan ve ark., 2006; Vazirinejad ve ark., 2014) , antianksiyolitik ve analjezik etki (Radulovic ve ark., 2012) ve melanogenezisi önleyici etki (Peng ve ark., 2014) gösterdiği belirlenmiştir.

Reaktif oksijen türlerinin kararsız davranması sonucu oluşan oksidasyon insan sağlığını olumsuz etkilemektedir ve günümüzde birçok hastalığın nedeni oksidasyon sonucu oluşan hasarlardır. Bu serbest radikallerin artmasının bir sonucu olarak ciltte lekelenmelere yol açan hiperpigmentasyonu örnek verebiliriz. Bu durum sonucu tirozinaz enzimi ile doğrudan ilgilidir ve cilt kanserine kadar gidebilen tehlikeli hastalıklara neden olabilmektedir. Ayrıca tirozinazın Parkinson hastalığında da etken olduğu tespit edilmiştir (Asanuma ve ark., 2003; Yılmaz ve ark., 2013)

Doğal ürünlerin ucuz ve kolay ulaşılabilir olması ve yan etkisinin az olması doğal tirozinaz inhibitörlerini araştırmaya yönelik çalışmaları arttırmıştır.

Ayrıca oksidasyon besinlerin bozulmasında da rol oynayan önemli bir etkidir. Antioksidanlar bu kararsız molekülleri nötralize ederek olumsuz etkilerden korunmayı sağlar. Sentetik olarak kullanılan antioksidanların ise kanserojenik ve toksik etkileri olduğu tespit edilmiştir Bu nedenle doğal kaynaklı antioksidan maddelere yönelim artmıştır.

Achillea sivasica Çelik & Akpulat türü Türkiye için endemik bir tür olup literatür taramalarında türe ait daha önce hiç bir kimyasal ve biyolojik aktivite çalışmalarına rastlanmamıştır. Bu araştırma kapsamında *A. sivasica* bitkisi

üzerinde ilk kez fitokimyasal ve biyolojik aktivite araştırmaları gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.



KAYNAK BİLGİSİ

Asteraceae familyası

Genellikle Compositae olarak bilinen Asteraceae familyası dünya genelinde yaklaşık olarak 23600 cins ve 1620 türü barındırır. Familya çiçekli bitkilerin yaklaşık %8-10' u gibi büyük bir kısmını kapsamaktadır (Garcia ve ark., 2010; Funk ve ark., 2005). Yaklaşık 410 endemik türü ile endemizm oranı floranın %36' sını oluşturmaktadır. Türkiye de ise yaklaşık 1130 cins ve 130 tür ile temsil edilmektedir (Davis, 1975).

Asteraceae familyası üzerine yapılmış araştırmalarda familya kökeninin Güney Amerika' da yaklaşık 30 milyon yıl önce üst oligosen dönemi ortalarında çıktığı belirtilmiştir. Sonrasında Güney Amerika'nın kuzeyi, Yeni Zelanda, Nijerya, Doğu Asya ve tüm dünyaya yayılış göstermiştir (Raven ve Axelrod, 1974). Bitki dağılımı açısından Antarktika kıtası hariç en çok çeşitlilik gösteren bitki familyasıdır (Funk ve ark., 2005).

Asteraceae familyasının temsilcileri bir veya çok yıllık otsu bitki veya çalı, nadiren ağaç formundadır. Yapraklar alternan veya karşılıklı veya hepsi tabanda. Çiçekler küçük erdişi veya tek eşeyli aktinomorf veya zigomorf kapitillum durumunda. Kapitillum tabanında braktelerden yapılmış bir involukrum var. Kaliks bir papus şeklinde, bazen bir halka veya pul şeklinde, bazen eksik. Korolla 5 bileşik petalli, tüp veya dil şeklinde. Stamen 5. Flamentler serbest, anterler birleşik. Ovaryum alt durumlu, iki karpelli, bir ovüllü. Meyva tepesinde papus taşıyan veya böyle bir organı olmayan bir aken durumundadır (Baytop 1983).

Asteraceae familyası üyeleri Türkiye'de geleneksel tedavide yaklaşık 93 taksonundan faydalandığı ve diğer familyalara oranla en büyük yeri kapsadığı rapor edilmiştir (Altundağ ve Öztürk, 2011). Familya yüksek aromatik ve tıbbi bitki özelliği taşır. Bu türlere örnek olarak *Matricaria recutita* L. (Tıbbi papatya), *Achillea millefolium* L. (Civanperçemi), *Calendula officinalis* L. (Aynısefa), *Echinacea purpurea* L. (Ekinezya) ve *Artemisia absinthium* L. (Pelinotu)'nu verebiliriz (Baytop 1983).

Achillea cinsi

Achillea cinsi Dünya genelinde yaklaşık 140 türü kapsamaktadır (Çelik ve Akpulat, 2008). Türkiye'de ise yaklaşık 49 tür (58 taksa) ve bu türlerin 24'ü endemiktir. Endemizm oranı % 49'dur (Bali ve ark., 2015; Huber-Morath, 1975).

Achillea cinsi genellikle Kuzey Yarı Küre'de yayılış göstermektedir (Davis, 1975). Genellikle Avrasya'da bazıları da Kuzey Amerika ve Güney Yarı Kürede'de yayılış gösterebilmektedir. Ayrıca çöllerden, deniz kıyılarına, karlı ortandan, yol kenarları ve kayalık alanlara kadar çok geniş habitatlarda yetişebilmektedir (Guo ve ark., 2004).

Achillea cinsi çok yıllık otsu ya da yarı çalimsı bitkilerdir. Yaprakları ince parçalı, tamdan 3-4 pinnatipartite kadar alternat. Kapitula heterogram, radiata, saplı ya da sapsız, küçük veya orta büyüklükte genellikle uç kısımda korimbus şeklinde düzenlenmiş, çok nadiren tek, bazen basit şemsiye şeklindedir. Kapitullumları küçük beyaz veya sarı renkli, dilsli çiçekleri beyaz veya pembemsi olan, çiçekler dişi, tek bir daire halinde, laminanın uç kısmı loblu; tüpsü çiçekler hermafrodit,

düzenli 5 dişli, korolla tüpü basık, tabanı akenin tepesini saran bir torba şeklindedir. Reseptakulum düz ya da konveks, pelealı lanseolat ya da oblong, zarsı, paleanın ucuna kadar uzamayan orta damarlıdır ve papus bulunmaz (Baytop 1983).

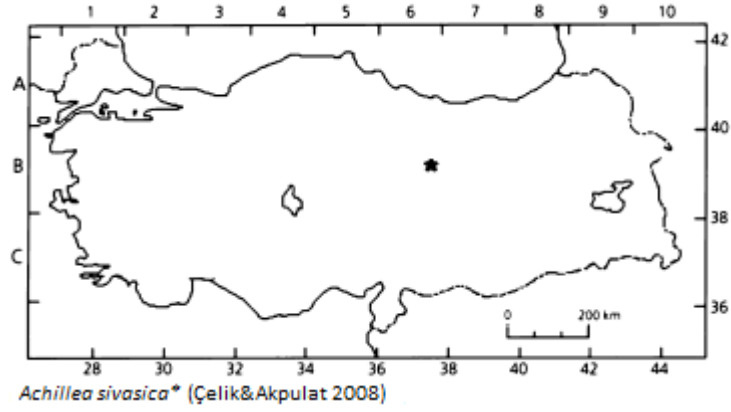
***Achillea sivasica* Çelik&Akpulat:**

Achillea sivasica Türkiye’de Sivas Ulaş, Kovalı civarında yetişen endemik çok yıllık türüdür (Şekil 1 a, b).



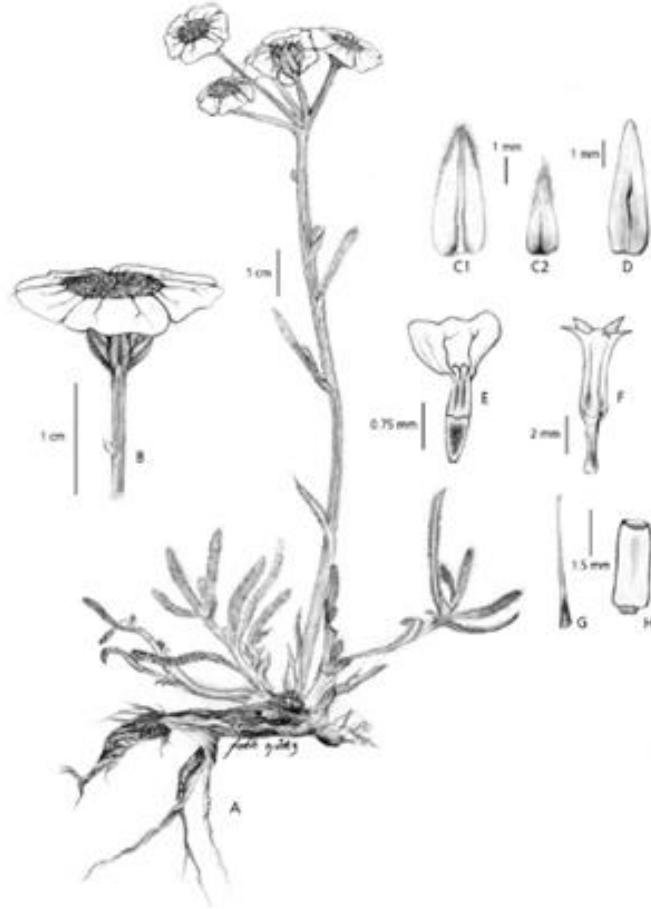
Şekil 1. *Achillea sivasica* Bitkisi. a: Çiçek; b: Habitatı

Bitki hakkında ilk morfolojik bilgiler Çelik & Akpulat tarafından verilmiştir (Çelik ve Akpulat, 2008). Türün yayılışı Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2. *Achillea sivasica*'nın Yetiştirme Lokasyonu

Morfolojik özellikleri: Gövdesi 15-25cm uzunluğundadır. Yaprakları tüylü, lineer, median sap pinnatipartit, segmentler birbirine geçmiş durumda, 3 partit, loblar ovat eliptik, denticulat dişli. Kapitulla 4-6, demetler halinde 2-3cm genişliğinde, çiçek sapı 1-1,5cm. İnvolukrum yarıküresel, filaris ovat, kahverengimsi saçaklı, disk çiçekleri 30-35 (Şekil 3).

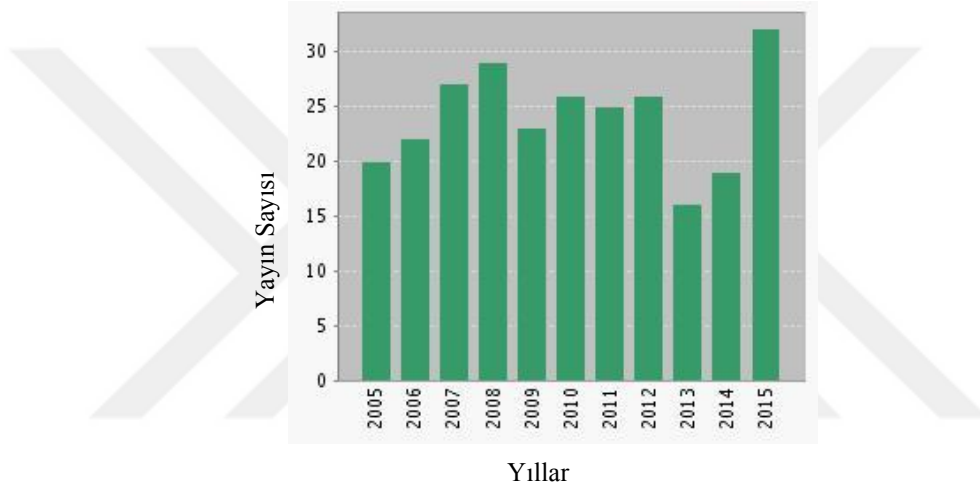


Şekil 3. *Achillea sivasica*'nın Morfolojik Özellikleri (Çelik & Akpulat, 2008)

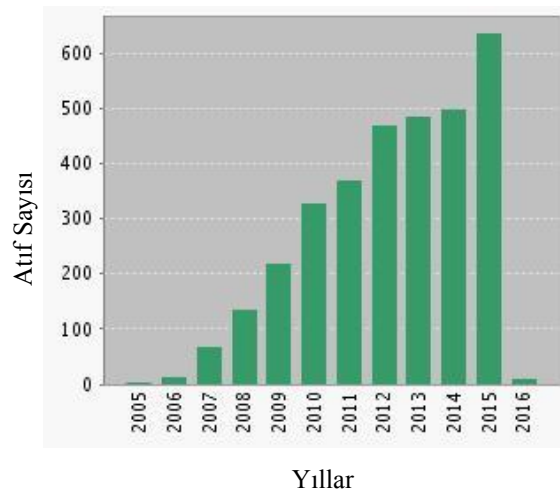
Kimyasal Bilgiler

Achillea cinsi üzerine yapılmış çalışmalar sonucunda geniş yelpazede fitokimyasallar bulunmuştur: monoterpenler (Mirahmadi ve ark., 2012), seskiterpenler, laktonlar (Tohme ve ark., 2013), flavonoidler (Ali ve ark., 2014; Benedek ve ark., 2013), lignanlar, kaffeolkuinik asit türevleri (Benedek ve ark., 2007).

Achillea türlerinden madde izolasyonları üzerine son 10 yılda 30 kadar çalışma gerçekleştirilmiş olup, bu çalışmalardan sadece 4 tanesi uçucu yağlarla gerçekleştirilen çalışmalarıdır. Oysa *Achillea* türlerinin uçucu yağ kimyasal kompozisyonları üzerine son on yılda yaklaşık 265 çalışma sonucu rapor edilmiştir. Araştırmaların yıllara göre dağılımı Şekil 4'te gösterilmiştir. *Achillea* türleri üzerine yapılan çalışmaların atıfları dikkate alındığında ise bu cins üzerine özellikle son yıllarda önemli artış gözlemlenmektedir (Şekil 5).



Şekil 4. *Achillea* Cinsi Üzerine Yapılmış Fitokimyasal Çalışmaların Yıllara Göre Dağılımı (Web of Science Database Ocak 2016)



Şekil 5. *Achillea* Cinsi Üzerine Yapılan Atıfların Yıllara göre Dağılımı (Web of Science Database Ocak 2016)

Ülkemizde *Achillea* türlerinin uçucu yağ üzerine yapılmış kimyasal aydınlatma çalışmaları **Çizelge 1**'de özetlenmiştir.

Çizelge 1. *Achillea* Türleri Uçucu Yağ Kimyasal İçerik Çalışmaları

Tür	Ana Bileşikler, %	Toplama yeri	Kaynak
<i>A. biebersteinii</i> Afan.	β -ödesmol 19.1 piperiton 9.2 kafur 4.2 borneol 3.3	Ankara Beynam ormanları	(Akkol ve ark., 2011)
	piperiton 31.06 kafur 12.46 1,8-sineol 10.93	Erzurum	(Barış ve ark., 2006)
	1,8-sineol 30.6 piperiton 28.9 kafur, 11.7	Ağrı Dağı	(Polatoglu ve ark., 2013)
	1,8-sineol 31.1 kafur 14.4	Dumluca-Sivas	(Polatoglu ve ark., 2013)
	1,8 sineol 38.1 kafur 23.6 borneol 5.8	Erzurum	(Kotan ve ark., 2010)
<i>A. biserrata</i> M. Bieb.	kafur 36.8 1,8-sineol 19.35 kamfen 16.41 artemisia alkol 14.28	Gümüşhane, Trabzon	(Azaz ve ark., 2009)
<i>A. boissieri</i> Hausskn. ex Boiss.	1,8-sineol 27.4 kafur 25.3 karyofilen oksit 4.60	Elbistan	(Kucukbay ve ark., 2010)
<i>A. cretica</i> L.	karyofilladienol-II 13.4 β -maalien 6.1 neointermedeol 6.0	Muğla/Datça	(Kucukbay ve ark., 2012)
<i>A. coarctata</i> Poir.	1,8-sineol 20.1 kafur 15.6 viridiflorol 11.8	Güney Anadolu	(Toker ve ark., 2003)
<i>A. filipendulina</i> Lam.	1,8 sineol 22.9 2,7 dimetilokta-3,6 dien- 2-ol, 21.9 borneol 8.1	Diyarbakır	(Hasimi ve ark., 2015)
<i>A. formosa</i> (Boiss.) Sch. Bip. subsp. <i>amanica</i> (Rech. f) Ehrend & Y.P. Guo	borneol 12.8 hexadecanoik asit 11.6 karyofilen oksit 5.5	Osmaniye	(Kucukbay ve ark., 2011)
<i>A. goniocephala</i> Boiss. et Bal.	kafur 32.6 1,8-sineol 23.2	Göksun-Yeşilkent Kahramanmaraş	(Baser ve ark., 2001)
<i>A. gypsicola</i> Hub- Mor.	kafur 40.17 1,8-sineol 22.01 piperiton 11.29	Çorum	(Kordali ve ark., 2009)
<i>A. lycanica</i> Boiss. & Heldr.	kafur 43.19		(Azaz ve ark., 2008)
<i>A. millefolium</i> L.	1,8-sineol 6.6 δ -kadinol 6.2 karyofien epoksit 5.6	Erzurum	(Kotan ve ark., 2010)
<i>Achillea millefolium</i> subsp <i>millefolium</i> Afan.	1,8 sineol 24.6 kafur 16.7 α -terpineol 10.2	Sivas/Kızıldağ	(Candan ve ark., 2003)

Çizelge 1. (Devam) *Achillea* Türleri Uçucu Yağ Kimyasal İçerik Çalışmaları

Tür	Ana Bileşikler, %	Toplama yeri	Kaynak
<i>A. millefolium</i> subsp. <i>millefolium</i> Afan.	3-siklohekzen 1-one 21.61 linalol 14.32 1,8-sineol 12.71	Elazığ	(Kocak ve ark., 2010)
<i>A. monocephala</i> Bois. & Bal.	kafur 30.2 borneol 15.6	Çukurova/Adana	(Gogus ve ark., 2006)
	kafur 34.6 borneol 23.6 1,8-sineol 12.4	Çukurova/Adana	(Gogus ve ark., 2006)
<i>A. multifida</i> (DC.) Boiss.	α -tuyon 60.9 β -tuyon 9.1 sabinen 4.1 kafur 3.7	Uludağ/Bursa	(Baser ve ark., 2002)
<i>A. nobilis</i> L. subsp. <i>neilreichii</i> (Kerner)	fragranil asetat 32 fragranol 24 β -ödesmol 8	Beyşehir	(Demirci ve ark., 2009)
<i>A. oligocephala</i> DC.	1,8-sineol 18.6 α -terpineol 6.8 linalol 6.0	Güney Anadolu	(Toker ve ark., 2003)
<i>A. phrygia</i> Boiss. & Bal.	<i>cis</i> -piperitol 11.2 <i>trans</i> - <i>p</i> -menth-2-en-1-ol 11.0 <i>cis</i> - <i>p</i> -menth-2-en-1-ol 7.2 1,8-sineol 9.1	Seyitgazi/Eskişehir	(Baser ve ark., 2000)
	<i>cis</i> -piperitol 31.2 <i>trans</i> - <i>p</i> -menth-2-en-1-ol 14.7 <i>cis</i> - <i>p</i> -menth-2-en-1-ol 9.9 1,8-sineol 9.9	Alpu/Eskişehir	(Baser ve ark., 2000)
	kafur 14.5 linalol 9.9	Mihallıççık/ Eskişehir	(Baser ve ark., 2000)
<i>A. phrygia</i> Boiss. & Bal.	kafur 35.55 2-furaldehyde 16.59 1,8-sineol 10.12	Avanos/Nevşehir	(Akcin ve ark., 2014)
<i>A. salicifolia</i> Besser subsp. <i>salicifolia</i>	kafur 55.26 1,8-sineol 22.75 kamfen 3.23	Göle/Ardahan	(Azaz ve ark., 2009)
<i>A. sieheana</i> Stapf.	kafur 43.36 artemisia ketone 25.95 1,8-sineol 6.29 kamfen 4.77	Develi, Sindelhöyük, Kayseri	(Albayrak, 2013)
<i>A. sieheana</i> Stapf.	kafur 39.9 1,8-sineol 15.5 kamfen 8.3	Develi/Kayseri	(Tabanca ve ark., 2004)
<i>A. schischkinii</i> Sosn.	1,8- sineol 31.0 kafur 20.0	Kızıldağ İmranlı/ Sivas	(Donmez ve ark., 2005)
<i>A. sintenisii</i> Hub.-Mor.	kafur 14.8 1,8 sineol 12.9 β -pinen 12.8 borneol 10.8	Sivas	(Sokmen ve ark., 2003)

Çizelge 1. (Devam) *Achillea* Türleri Uçucu Yağ Kimyasal İçerik Çalışmaları

Tür	Ana Bileşikler, %	Toplama yeri	Kaynak
<i>A. teretifolia</i> Wild.	piperitone 21.37 linalol 18.99 1,8-sineol 6.79		(Aslan ve ark., 2009)
	1,8-sineol 34 kafur 11 terpinen-4-ol 8 α -tuyon 5	Beyşehir	(Demirci ve ark., 2009)
	1,8-sineol 15.9 borneol 8.1 kafur 7.0	Dumluca-Sivas	(Polatoglu ve ark., 2013)
	3-siklohekzen-1-on 21.61 linalol 14.32 1.8-sineol 12.71	Elazığ	(Kocak ve ark., 2010)
<i>A. vermicularis</i> Trin.	1,8- sineol 29.2 kafur 25.8 borneol 5.2	Van-Muradiye	(Polatoglu ve ark., 2013)
<i>A. wilhelmsii</i> C. Koch.	kafur 39.62		(Azaz ve ark., 2008)

Dünya genelinde *Achillea* uçucu yağlarını konu alan bazı önemli çalışmalar **Çizelge 2'**de gösterilmiştir.

Çizelge 2. *Achillea* Uçucu Yağlarını Konu Alan Çalışmalar

Tür	Ana Bileşikler, %	Toplama yeri	Kaynak
<i>A. clavennae</i> L.	kafur 29.5 mirsen 5.5 1,8-sineol 5	Velebit dağı, Dalmaçya/ Hırvatistan	(Bezic ve ark., 2003)
<i>A. ligustica</i> All.	Yaprak 4-terpineol 19.3 karvon 8.9, γ -terpinen 7.2	Liguria - Sicilya	(Bader ve ark., 2007)
	Çiçek 4-terpineol 12.0 karvon 10.0 β -fellandren 5.4	Liguria - Sicilya	(Bader ve ark., 2007)
<i>A. millefolium</i> L.	β -pinen 10.6 1,8-sineol 3.0 borneol 0.2	Himalaya habitati (1600 m, 2850 m)	(Agnihotri ve ark., 2005)
	β -pinen 17.7 1,8-sineol 15.1 borneol 12.1	Himalaya habitati (1600 m, 2850 m)	(Agnihotri ve ark., 2005)
	1,8-sineol 5.2 germakren D 14.1	İran	(Barghamadi ve ark., 2009)
	artemisia keton 14.9 kafur 11.6 linalil asetat 11.51		(Peng ve ark., 2014)
<i>A. odorata</i> L. var. <i>microphylla</i> (Willd.) Willk.	kafur 26.3 1,8-sineol 17.8 α -pinen 12.5	Cezayir	(Bekhechi ve ark., 2011)

Çizelge 2. (Devam) *Achillea* Uçucu Yağlarını Konu Alan Çalışmalar

Tür	Ana Bileşikler, %	Toplama yeri	Kaynak
<i>A. odorata</i> L. subsp. <i>pectinata</i> (Lamk)	kafur 22.9 1,8-sineol 15.7 α -pinen 11.3	Cezayir	(Bekhechi ve ark., 2011)
<i>A. taygetea</i> Boiss & Heldr.	1,8-sineol 26.63 kafur 24.71	Taygetos	(Magiatis ve ark.,2002)
<i>A. ligustica</i> All.	santolina alkol 21.1 borneol 15.0	Sardina/İtalya	(Tuberoso ve ark., 2005)
<i>A. wilhelmsii</i> C. Koch.	karvakrol 22.49 dihidrokarvone 13.23 linalol 12 1,8-sineol 11.42	Golmakan, Horasan Razavi/ İran	(Alfatemi ve ark., 2015)

Achillea türleri ile diğer sekonder metabolitleri konu alan çalışmalar **Çizelge 3'**te özetlenmiştir.

Çizelge 3. *Achillea* Ekstrelerinin Kimyasal İçerikleri

<i>Achillea</i> Türü	Ana bileşikler	Çalışılan kısım	Ekstre Türü	Kaynak
<i>A. biebersteinii</i> Afan.	gallik asit <i>p</i> -kumarik asit kaffeik asit ferulik asit klorojenik asit	H	MeOH (%80)	(Salarbashi ve ark., 2014)
	kersetin-7-O- β -D-glukozit patuletin-7-O- β -D-glukozit	H	EtAc	(Sevindik ve ark., 2015a)
	gallik asit <i>p</i> -kumarik asit kaffeik asit ferulik asit klorojenik asit	H	MeOH (%80)	(Salarbashi ve ark., 2014)
<i>A. collina</i> Becker ex Rchb.	klorojenik asit 3,5-di-O-kafeoilkuinik asit 4,5-di-O-kafeoilkuinik asit	Y	MeOH	(Giorgi ve ark., 2010)
<i>A. crithmifolia</i> Friv. ex Hampe	Seskiterpen lakton guaianolides rupicolin-A rupicolin-B bu maddelerin asetatları 1- β -germakranolit, 10- α -epoksi-3- β 9- β -diasetoksi-11- α 13-dihidro kostunolit Flavanoit jaseidin			(Milosavljevic ve ark., 1994)
<i>A. distans</i> subsp. <i>distans</i> Willd.	luteolin apigenin kersetin kaffeik asit klorojenik asit	Ç	EtOH	(Benedec ve ark., 2013)

Çizelge 3. (Devam) *Achillea* Ekstrelerinin Kimyasal İçerikleri

<i>Achillea</i> Türü	Ana bileşikler	Çalışılan kısım	Ekstre Türü	Kaynak
<i>A. distans</i> subsp. <i>alpina</i> Rochel Soó	luteolin apigenin kersetin kaffeik asit klorojenik asit	Ç	EtOH	(Benedec ve ark., 2013)
<i>A. linguistica</i> All.	6-hidroksikaemferol-3,6,4'- trimetil eter apigenin-6-C-glukozid-8-C- arabinozid luteolin apigenin C-glikozillflavon apigenin	H	EtOH	(Tuberoso ve ark., 2009)
<i>A. millefolium</i> L.	fenolik asit klorojenik asit Flavonoit visenin-2 luteolin-7-O-glukosit rutin apigenin-7-glukosit luteolin apigenin	H	Sulu- EtOH	(Benetis ve ark., 2008) (Trumbeckaite ve ark., 2011)
	rutin kersetin luteolin apigenin	H	MetOH	(Cekic ve ark., 2012)
	3,5- kaffeoilkuinik asit apigenin-7-O-glukosit 4,5- kaffeoilkuinik asit klorojenik asit luteolin	H	MeOH	(Dall'Acqua ve ark., 2011)
	apigenin luteolin sentauredin kastisin artemetin	H	MeOH	(Csupor-Loffler ve ark., 2009)
	armetin	H	EtOH (%90)	(de Souza ve ark., 2011)
	apigenin-6-C-glukozit apigenin-7-O-glukozit kaffeik asit 5-O-kaffeoilkuinik asit kaempferol-3-O-glucozit kaempferol-3-O-rutinozit luteolin-6-C-glukozit luteolin-7-O- glukosidekersetin-3- O- glukozit kersetin-3-Orutinozit	H	MeOH	(Dias ve ark., 2013)
	apigenin 7-glukozit luteolin 7-glukozit klorojenik asit	H	MeOH	(Vitalini ve ark., 2011)

Çizelge 3. (Devam) *Achillea* Ekstrelerinin Kimyasal İçerikleri

<i>Achillea</i> Türü	Ana bileşikler	Çalışılan kısım	Ekstre Türü	Kaynak
<i>A. millefolium</i> L.	luteolin apigenin-7-O-13-β-glukozit luteolin 7-β-13-D-glukozit 6-OH-luteolin glukozit	H	EtAc	(Sevindik ve ark., 2015b)
<i>A. nobilis</i> L.	C-glikosilflavon luteolin-6-C-apiofuranosil glukozit orientin izoorientin viteksin izoşaftozit luteolin-7-O-β-glukuronit luteolin-4'-O-β-glukozit küpürsetin-3-O-metil eter, flavonolglukozit kersetin-3-O-α-arabinosilglukozit kersetin-3-O-metileter-7-O-β-glukozit	H	MeOH	(Krenn ve ark., 2003)
<i>A. pannonica</i> Scheele	rutin apigenin-7-O-glukopiranozit luteolin-7-O- glukopiranozit apigenin-7-O-rutinozit akasetin-7-O-rutinozit flavonidglukozit	H	MeOH	(Kasaj ve ark., 2001)
<i>A. santolina</i> L.	luteolin 7-O-glukozit, apigenin 7-O-glukozit kafeik asit glukozit	H	EtOH (%70)	(Yazdanparast, 2007)
<i>A. tenuifolia</i> Salisb.	5-hidroksi-3',4'-dimetoksiflavon-7-O-(ramnozit) ve 5-hidroksi-3'-metoksiflavon-4'-O-(pentenil-4-on)-7-O-(2''-(ramnozil) ramnozit)	H	MeOH	(Shafaghat ve ark., 2014)
<i>A. wilhelmsii</i> K. Koch.	gallik asit p-kumarik asit kafeik asit ferulik asit klorojenik asit	H	MeOH(%80)	(Salarbashi ve ark., 2014)
<i>A. clavennae</i> L. <i>A. holosericea</i> Sm. <i>A. lingulata</i> Waldst. & Kit. <i>A. millefolium</i> L.	apigenin sentaureidin 1-deoksi-1α-peroksirupikolin A 1-deoksi-1α-peroksirupikolin B rupicolin A rupicolin B	H	MeOH Hekzan	(Stojanovic ve ark., 2005)

Ç: Çiçek H: Herba Y: Yaprak MeOH: Metanol EtOH: Etanol EtAc: Etil asetat

Biyolojik Aktivite Bilgileri

Achillea türlerinin halk arasındaki kullanım bilgileri

Achillea türlerinin halk tıbbında kullanımı hakkında bilgiler Turan Baytop, Ekrem Sezik, Erdem Yeşilada, etnobotanik araştırmalarında ele alınmıştır. Geleneksel tedavide, karın ağrıları, menstural ağrı, ülser, diyare gibi rahatsızlıklarda kullanılmaktadır. Ayrıca karminatif, diüretik, iştah açıcı ve haricen sikatrizan ve romatizmal ağrılarda analjezik özellikleriyle halk arasında kullanımı bilinmektedir. *A. biebersteinii*, *A. wilhelmsii* insektisit etkileri dolayısı ile pirelere karşı kullanılmaktadır (Honda ve ark., 1996; Fujita ve ark., 1995; Sezik ve ark., 1997; Yeşil ve Akalın, 2009; Altundağ ve Öztürk, 2011; Baytop, 1999).

Farklı *Achillea* Türlerinin halk arasında verilen isimler **Çizelge 4**'te verilmiştir.

Çizelge 4. *Achillea* Türlerinin Halk Arasındaki İsimlendirmeleri

<i>Achillea</i> Türü	Halk Arasındaki İsimlendirme	Kaynaklar
<i>A. aleppica</i> DC.	Civanperçemi	(Altundağ ve Öztürk, 2011)
<i>A. albana</i> Stev.	Kılıç otu	(Sezik ve ark., 1997)
<i>A. biebersteinii</i> Afan.	Kılıç otu, Ayva danası Sarı kılıç otu Hirt kesen	(Sezik ve ark., 1997; Tuzlaci ve Erol, 1999; Yeşil ve Akalın, 2009; Altundağ ve Öztürk, 2011)
<i>A. cappadocia</i> Hausskn & Bornm.	Buyucan Hirtkesan	(Yeşil ve Akalın, 2009)
<i>A. coarctata</i> Poir.	Civanperçemi Hirtkesan,	(Altundağ ve Öztürk, 2011)
<i>A. millefolium</i> L.	Civanperçemi Barsamaotu Beyaz civanperçemi Binbir yaprakotu Marsama otu	(Baytop, 1999)
<i>A. millefolium</i> L. subsp. <i>millefolium</i> Afan.	Akbaşlı Akbaşotu Kılıçotu	(Honda ve ark., 1996; Sezik ve ark., 1997)
<i>A. millefolium</i> L. subsp. <i>pannonica</i> (Scheele) Hayak	Buyucan	(Altundağ ve Öztürk, 2011)
<i>A. nobilis</i> L.	Ayvadana Ayıdanası Kurtotu	(Baytop, 1999)
<i>A. schischkinii</i> Sosn.	Kılıç otu	(Sezik ve ark., 1997)
<i>A. setacea</i> Waldst. & Kit.	Hirtkesan Ayvadana Tilki kuyruğu Yılandili	(Baytop, 1999; Fujita ve ark., 1995; Yeşil ve Akalın, 2009)
<i>A. teneifolia</i> Lam.	Çoban kirpiği	(Altundağ ve Öztürk, 2011)
<i>A. vermicularis</i> Trin.	Civanperçemi	(Altundağ ve Öztürk, 2011)
<i>A. wilhelmsii</i> C.Koch.	Civanperçemi Hirtkesan	(Yeşil ve Akalın, 2009)

Achillea türleri üzerinde yapılmış biyolojik aktivite araştırmalar

Achillea cinsi ile yapılmış biyolojik aktivite çalışmaları sonucu, uçucu yağların antioksidan (Hasimi ve ark., 2015; Kazemi ve Rostami, 2015), antimikrobiyal (Andeani ve ark., 2011; Demirci ve ark., 2009; Senatore ve ark., 2005; Bezic ve ark., 2004), antifungal (Kordali ve ark., 2009), herbisidal ve insektisidal (Polatoglu ve ark., 2013; Kordali ve ark., 2009; Nenaah, 2014), antienflamatuar ve antinosiseptif aktivite (Iscan ve ark., 2006), antianksiyolitik ve analjezik etki (Radulovic ve ark., 2012), asetaminofen kaynaklı karaciğer hasarına karşı iyileştirici (Dadkhah ve ark., 2015), antipilalelet aktivite (Al-Jaber ve ark., 2014) ve melanogenezi önleyici etki (Peng ve ark., 2014) gösterdiği belirlenmiştir.

Ekstrelerle yapılan çalışmalar sonucunda ise, antioksidan (Benedec ve ark., 2013; Trumbeckaite ve ark., 2011), antimikrobiyal (Benedec ve ark., 2013), antispazmodik (Ali ve ark., 2014; Moradi ve ark., 2013), antiülser (Potrich ve ark., 2010), antienflamatuar (Vazirinejad ve ark., 2014), antitümör (Baharara ve ark., 2015; Tohme ve ark., 2013; Dias ve ark., 2013) etkileri olduğu belirlenmiştir.

Achillea türleri üzerine yapılmış biyolojik aktivite bilimsel araştırmalar **izelge 5**'te özetlenmiştir.

Çizelge 5. *Achillea* Türleri ile Yapılmış Biyolojik Aktivite alışmaları

<i>Achillea</i> türü	Aktivite türü	Kullanılan kısım ve şekli (ekstre, infüzyon, uçucu yağ)	Kaynak
<i>A. sieheana</i> Staf.	Antioksidan Antimikrobiyal	H, Metanollü ekstre	(Albayrak, 2013)
<i>A. coarctata</i> Poir. <i>A. kotschy</i> Boiss. subsp. <i>kotschy</i> <i>A. lycanica</i> Boiss. & Heldr.	Antioksidan Antikanser	H, Metanollü ekstre	(Agar ve ark., 2015)
<i>A. phrygia</i> Boiss. & Bal.	Antioksidan Antimikrobiyal	Uucu yağ Metanollü ekstre	(Akcin ve ark., 2014)
<i>A. biebersteinii</i> Afan.	Antimikrobiyal Sikatrizan	Hekzan, kloroform, Etil Asetat, Metanollü ekstre	(Akkol ve ark., 2011)
<i>A. biserrata</i> M. Bieb. , <i>A. salicifolia</i> Besser subsp. <i>salicifolia</i>	Antifungal Antimikrobiyal	Uçucu yağ	(Azaz ve ark., 2009)
<i>A. teretifolia</i> Wild.	Antioksidan, Sitotoksik etki	H, Metanollü ekstre	(Bali ve ark., 2015)
<i>A. aleppica</i> D.C. subsp. <i>aleppica</i> <i>A. aleppica</i> D.C. subsp. <i>zederbaueri</i> (Hayek) Hub.Mor. <i>A. biebersteinii</i> Afan.	Antifungal Antimikrobiyal	H, Etanollü ekstre	(Baris ve ark., 2011)

Çizelge 5. (Devam) *Achillea* Türleri ile Yapılmış Biyolojik Aktivite Çalışmaları

<i>Achillea</i> türü	Aktivite türü	Kullanılan kısım ve şekli (ekstre, infüzyon, uçucu yağ)	Kaynak
<i>A. biebersteinii</i> Afan.	Antioksidan Antimikrobiyal	Uçucu yağ Metanollü ekstre	(Barış ve ark., 2006)
<i>A. multifida</i> (DC.) Boiss.	Antimikrobiyal	Uçucu yağ	(Baser ve ark., 2002)
<i>A. millefolium</i> subsp <i>millefolium</i> Afan.	Antioksidan Antimikrobiyal	Uçucu yağ metanollü ekstre	(Candan ve ark., 2003)
<i>A. wilhelmsii</i> C. Koch.	Sikatrizan	Uçucu yağ	(Dadkhah ve ark.,2014)
<i>A. teretifolia</i> Willd. <i>A. nobilis</i> L. subsp. <i>neilreichii</i> (Kerner)	Antioksidan Antimikrobiyal	Uçucu yağ	(Demirci ve ark., 2009)
<i>A. biebersteinii</i> Afan.	Antikanser	Metanol, Etil Asetat, Hekzanlı ekstreler	(Demirel ve ark., 2014)
<i>A. cappadocica</i> Hausskn. et Bornm.	Antioksidan Antikolinesteraz Antimikrobiyal	Metanollü ekstre Sulu ekstre	(Ertas ve ark., 2014)
<i>A. filipendulina</i> Lam.	Antioksidan	Uçucu yağ	(Hasimi ve ark., 2015)
<i>A. schischkinii</i> Sosn. <i>A. aleppica</i> DC. subsp. <i>aleppica</i>	Antienflamatuar Antinosiseptif Antimikrobiyal	Uçucu yağ	(Iscan ve ark., 2006)
<i>A. falcata</i> L. <i>A. crithmifolia</i> Waldst.&Kit. <i>A. nobilis</i> subsp. <i>neilreichii</i> (Kerner) Formanek <i>A. millefolium</i> subsp. <i>pannonica</i> (Scheele) Hayek <i>A. teretifolia</i> Waldst.&Kit <i>A. nobilis</i> subsp. <i>sipylea</i> (O.Schwarz) Bassler	Antioksidan	İnfüzyon	(Konyalioglu ve Karamenderes, 2005)
<i>A. millefolium</i> L.	Antispazmodik etki	Etanollü ekstre (maserasyon)	(Moradi ve ark., 2013)
<i>A. millefolium</i> L.	Antimelanogenezis	Uçucu Yağ	(Peng ve ark.,2014)

Çizelge 5. (Devam) *Achillea* Türleri ile Yapılmış Biyolojik Aktivite Çalışmaları

<i>Achillea</i> türü	Aktivite türü	Kullanılan kısım ve şekli (ekstre, infüzyon, uçucu yağ)	Kaynak
<i>A. vermicularis</i> Trin. <i>A. teretifolia</i> Willd. <i>A. biebersteinii</i> Afan.	Antioksidan Sitotoksik Böcek kovucu	Uçucu Yağ	(Polatoglu ve ark., 2013)
<i>A. millefolium</i> L.	Antiülserojenik etki	Etanollü ekstre (%90)	(Potrich ve ark., 2010)

Antioksidan Aktivite Araştırmalarının Önemi

Serbest radikaller eşleşmemiş elektronu bulunan moleküllerdir. Bu moleküller eşleşmemiş elektronu bulunması sebebiyle kararsız ve çok reaktiftirler. Bu serbest radikaller ile reaktif oksijen türleri (ROS), superoksit anyon(O₂^{-•}), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidroksil radikalleri (OH[•]) insan vücudunda sürekli meydana gelen metabolit olaylardır (Huang ve ark., 2005). Bu olaylar vücudun antioksidan savunma sistemi ile dengeli bir biçimde korunmasını sağlar. Fakat vücutta kontrolsüz üretimi gerçekleşirse moleküllerle kolayca etkileşime girerek oksidatif stres meydana getirir. UV ışınları, stres, düzensiz beslenme, toksinler, çevresel faktörler gibi olumsuz şartlar sonucu bu denge bozularak oksidatif stres meydana gelir. Sonuç olarak hücre hasarı ve hücre ölümüne neden olabilmektedir. Vücutta ROS bileşenlerinin artması yaşlanma, kanser, koroner kalp hastalıkları, Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif bozukluklar, arterioskleroz, katarakt ve inflamasyon gibi sağlıkta bozulma ve patolojik süreçlerde önemli rol oynamaktadır. Antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek oluşabilecek hasarlara karşı vücudu korumaktadır. Antioksidanlar sentetik ve doğal olmak üzere iki sınıf olarak ele alınmaktadır. BHT (bütillenmiş hidroksi toluen), BHA (bütillenmiş hidroksi anisol) gibi sentetik antioksidanların toksik ve kanserojenik yan etkileri belirlenmesi antioksidanlara yönelimi arttırmıştır (Akhtar ve ark., 2011) (Park ve ark., 2012).

Son zamanlarda bitkisel kaynaklı antioksidan bileşikleri araştırması önem kazanmıştır (Panchawat ve ark., 2010). Araştırmalar sonucu ağırlıklı olarak fenolik bileşik içeren bitkilerin antioksidan aktivitesinin yüksek olduğu rapor edilmiştir (Wojdyło ve ark., 2007; Coskun ve ark., 2005). Bununla birlikte birçok uçucu yağ bileşenlerinin antioksidan etkiye sahip oldukları belirlenmiştir (Lagouri ve ark., 1993; Miura ve ark., 2002; Candan ve ark., 2003).

Bitkisel kaynaklı antioksidan bileşenlerin etkilerini değerlendirmek amacıyla çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Genel olarak antioksidan kapasite ölçme yöntemlerini şu şekilde sınıflandırabiliriz (**Çizelge 6**).

Çizelge 6. Antioksidan Kapasite Ölçme Yöntemlerinin Sınıflandırılması (Huang ve ark., 2005)

<i>In vitro</i> Antoksidan Kapasite Deneyleri	
Hidrojen atomu transfer reaksiyonlarına dayalı deneyler	Elektron transfer reaksiyonlarına dayalı deneyler
$ROO^{\bullet} + AH \rightarrow ROOH + A^{\bullet}$ $ROO^{\bullet} + LH \rightarrow ROOH + L^{\bullet}$ ORAC: Oksijen radikali absorban kapasitesi TRAP: Toplam radikal tutma absorban kapasitesi Krosin Soldurma Deneyi Linoleik asit oksidasyonunun inhibisyonu LDL oksidasyonunun inhibisyonu	$M(n) + e (AH \text{ dan}) \rightarrow AH^{\bullet+} + M (n-1)$ TEAC (Troloks ekuvalent antioksidan kapasite) FRAP (demir iyonu redüklenme antioksidan kapasitesi) DPPH (difenil-1-pikrilhidrazil) Bakır (II) redüklenme kapasitesi Toplam Fenol miktarı (Folin-Ciocalteu reaktifi)

Antitirozinaz Aktivite Araştırmalarının Önemi

Tirozinaz bakır içeren bir enzimdir ve genellikle polifenol oksidaz (PPO) olarak bilinmektedir. Melanin sentezinde yer alan iki ayrı reaksiyonu katalize etmektedir: Bular monofenollerin (L-tirozin) hidroksilasyonunu ve *o*-difenolün (L-DOPA) ilgili *o*-kinon'a dönüşmesidir. Moleküler oksijenin kullanılması ve bunu bir dizi enzimatik olmayan adımların takip etmesi ile melanin formu oluşur (Kubo ve ark., 2000; Chang ve ark., 2013; Gülpınar ve ark., 2012; Kubo ve Kinsthori, 1999; Kubo ve ark., 2003; Seo ve ark., 2003). Melanin memeli derisinin ana pigmentidir ve UV'nin zararlı etkenlerinden, oksidatif stresden cildin korunmasını sağlar (Baek ve ark., 2015). Ancak, bazı olumsuz şartlarda örneğin; oksidatif strese yüksek oranda maruz kalma durumunda oluşan hiperpigmentasyon, melanogenezis gibi cilt problemlerine de neden olabilmektedir (Rao ve ark., 2014). Aynı zamanda insan beyninde nöromelanin oluşumunda rol oynadığı ve merkezi nörodopamin toksitesi sonucu Parkinson hastalığı ile ilgili nörodejenerasyona neden olduğu kanıtlanmıştır (Yılmaz ve ark., 2013).

Tirozinaz enzimi sadece hayvansal organizmadaki melanizasyondan değil, bitkisel organizmadaki kararmadan da sorumludur. Kararma proseslerinde enzimatik ve enzimatik olmayan oksidasyon yer almaktadır. Enzimatik oksidasyon tirozinaz inhibitörleri tarafından engellenmektedir. Enzimatik olmayan oksidasyon ise antioksidanlar tarafından engellenmektedir (Kubo ve ark., 2003).

Yukarıda ki açıklamalar ışığında tirozinaz inhibitörlerinin gıda sektöründe olduğu kadar, tıpta ve kozmetikte hiperpigmentasyon problemlerinde kullanımı bulunmaktadır (Kubo ve Kinst-Hori, 1999). Son zamanlarda sentetik kaynaklı inhibitörlerin yan etkileri ve pahalı olmaları sebebiyle doğal kaynaklı inhibitörlerin arayışı artmıştır (Lee, 2006; Lee ve ark., 1997; Kubo ve Kinsthori, 2000).

Bitkisel kaynaklı tirozinaz inhibitörleri arasında galangin, kemferol ve kersetin, ve kuşnol F gibi polifenoller ile birlikte *trans*-sinnamaldehit, (2*E*)-alkenal, 2-hidroksi-4-metoksibenzaldehit, anisaldehit, kumik asit, 3,4-dihidroksi sinamik

asit, 4-hidroksi-3-metoksisinamik asit gibi türevler önem taşımaktadır. Tirozinaz inhibitör özellikleri bakır şelatlama özelliğinden ileri gelmektedir. Buna karşın krisin, apigenin ve luteolin gibi flavonollerin enzim bakır şelatlama özelliği bulunmamaktadır. Şelatlama mekanizmasının flavonların 3-hidroksil grubunun serbest olduğu gruplara özgü olduğu belirtilmiştir. Ayrıca hidrojen peroksit, hidroksilamin, tiron, tiol ve aromatik karboksilik asitlerin de antitirozinaz aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir. Kozmetik sanayinde de beyazlatıcı olarak arbutin ve aloesin kullanılmaktadır (Seo ve ark., 2003; Kubo ve Kinshori, 2000).

Enantiyomer Araştırmalarının Önemi

Enantiyomerik maddeleri tanımlamak için şiral terimi kullanılır. Şiral kelimesi Yunanca'da el anlamındaki ki 'cheir' kelimesinden gelmektedir. Bu maddeler sağ ve sol elimize benzer yani iki üst üste binmeyen ayna görüntü formunda bulunur. Bu iki form polarize ışığın titreşim düzlemini (+) ve (-) olarak tanımlanan farklı yönler çevirir. Sağa çeviren maddeler (*d*), sola çeviren maddeler ise (*l*) olarak isimlendirilir. Polarize ışığı çevirme oranı eşit ise bu maddelere de rasemik adı verilir. Enantiyomerler fiziksel özellikler ile spektroskopik özellikleri belirlerler. Aynı zamanda enantiyomerler farklı koku ve lezzet özellikleri olabilmektedir. Örneğin (-)-linalol kokusu lavanta, leylak kokusuna benzer iken (+)-linalol otsu kokuludur. Ayrıca şiral bileşenler farklı biyolojik aktivite ve toksisite özellikleri gösterebilmektedir (Ozek ve ark., 2010). Örneğin (*S*)-(+)-karvon'un patates filizlenmesini ve *Fussarium spp.* mantarının gelişmesini inhibe ettiği (Oosterhaven ve ark., 1995,1996), (*R*)-(-)-karvon'un ise deneylerde güçlü toksik etki gösterdiği belirtilmiştir (Stelmaszczyk ve ark., 1998). (+)- α -Pinen ve (+)- β -pinen maddelerinin antifungal etkili olduğu tespit edilmiştir (Silva ve ark., 2012). (-)-Enantiyomerlerinin ise bronşit virüslerine karşı antiviral etkili olduğu belirtilmiştir (Yang ve ark.,2011).

GEREÇLER ve YÖNTEMLER

Kullanılan Cihaz ve Apareyler

Clevenger apareyi

Çalkalayıcı su banyosu, GFL

ELISA mikropalak okuyucu (Biotek Powerwave XS)

GC/MS, Agilent 5975 (USA): SEM A.Ş. İstanbul Türkiye

Hassas Terazı, Metler Toledo, NewClassic MS

Manyetik karıştırıcı, Heidolph MR 3001

Mekanik Çalkalayıcı,

MSD-SPME apareyi

pH Metre, WTW series, InoLab, pH720

Rotavapor sistemi, Heidolph Instrument, Laborota 4010-Digital

Santrifüj, Eppendorf, 5804

Spektrofotometre, Shimadzu, UV-PharmaSpec 1700

Ultrasonik su banyosu, Elma, S100H

Kimyasal Maddeler

3,4-Dihidroksi-L-fenilalanin, Sigma, Almanya

Absolü Etanol , Sigma-Aldrich, Almanya

AlCl₃, Merck, Almanya

Asetik asit, Sigma-Aldrich, Almanya

BHT, Sigma-Aldrich, Almanya

Boron triflorür, Sigma, Almanya

CaCl₂, Fluka, Almanya

Bakır (II) Klorid, Aldrich, İngiltere

Demir(II) Klorür, Sigma, Almanya

Dietileter, JT Baker, Hollanda
Dimetilsülfoksit, Sigma-Aldrich, Almanya
Etil asetat, Fluka, Almanya
Folin-Ciocalteu fenol reaktifi, Sigma, Almanya
Gallik asit, Sigma-Aldrich, Çin
HCl, Sigma-Aldrich, Almanya
Hekzan, Sigma-Aldrich, Almanya
 β -Karoten, Fluka, ABD
Kersetin, Sigma Hindistan
Kloroform, Sigma-Aldrich, Fransa
Kojik Asit, Fluka İngiltere
L-DOPA, Sigma-Aldrich, Çin
Linoleik asit, Sigma-Aldrich, ABD
Metanol, Sigma-Aldrich, Polonya
 Na_2CO_3 , Merck, Almanya
Neokuproin(Nc) Sigma-Aldrich., Avusturya
Sodyum fosfat bazik dihidrat, Sigma-Aldrich, Almanya
Sodyum fosfat monobazik dihidrat, Sigma-Aldrich, Almanya
Tirozinaz enzimi (E.C.1.14.18.1), Sigma, ABD
Troloks, Sigma-Aldrich, Almanya
Tween 20, Merck, Almanya

Bitkisel Materyal

Deneysel çalışmalarda kullanılan *A.sivasica* bitkisi çiçeklenme zamanında 10 Haziran 2015 tarihinde Kangal Gürun yolu 16.km üzeri, 39° 07' 52,0" N, 37° 14' 33,2" E, 1545m yükseklikten toplandı. Bitki açık havada gölgede serilerek kurutuldu (**Şekil 6**).



Şekil 6. *Achillea sivasica* Bitkisinin Kurutma İşlemi

Bitkinin tayini Dr. Mehmet Tekin (Cumhuriyet Üniversitesi) tarafından yapılmış olup türe ait örnek ESSE No:15010 ile Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryum'unda saklanmaktadır (Şekil 7).



Şekil 7. *Achillea sivasica* Herbaryum Örneği

Uçucu Yağın Elde Edilmesi

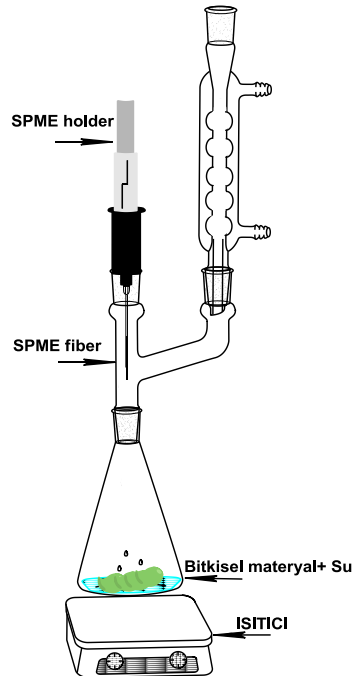
Bitkisel materyal toprak üstü kısım, çiçek ve yaprak kısımları olmak üzere ayrı ayrı Clevenger aparatında (Şekil 8) hidrodistilasyon işlemine tabi tutularak (3 sa) uçucu yağları elde edildi (EDQM, 2005).



Şekil 8. Clevenger Aparentinde Hidrodistilasyon İşlemi

MSD-SPME Tekniği

Bitkisel materyalin uçucu bileşikleri mikro buhar distilasyonu katı faz mikroekstraksiyon (MSD-SPME) sistemi ile belirlendi. Bu amaçla Klaisen distilasyon başlığı ile donatılmış ve geri çeviren soğutucu bağlı cam balon kullanıldı (Şekil 9).



Şekil 9. MSD-SPME için Kullanılan Düzenek

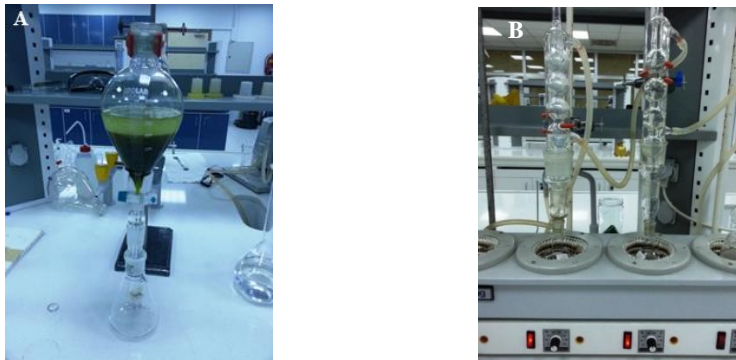
SPME fiber girişi için vidalı bir kapak kullanıldı. Numune analizi için mavi SPME ucu (65 µ, PDMS-DVB) (Supelco, ABD) kullanıldı. Analiz öncesi SPME ucunun temiz olmasını sağlamak amacıyla adsorban ucu 250°C de 15 dk termal desorbsiyona tabi tutuldu.

Her bitkisel materyal için optimum zaman koşulu belirlendi. Çiçek ve yaprak kısımlarından uçucu bileşiklerin izolasyonu için 3, 5, 8 ve 10 dk'lık zaman periyotları uygulandı. Kök materyali için ise 5, 8, 10 ve 15 dk'lık ekstraksiyon süresi uygulandı.

Deneyin Yapılışı: 0,3g Toz edilmiş bitkisel materyal balon içine konuldu ve üzerine 5 mL distile su ilave edilerek düzeneğe bağlandı. Kaynama gerçeğelemeye başladığı andan itibaren ekstraksiyon süresi kaydedildi. Süre sonunda SPME ucu Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi enjeksiyon portuna takılarak termal desorbsiyona tabi tutuldu ve analiz gerçeğeleştirildi.

Sabit Yağ Asitlerin Elde Edilmesi

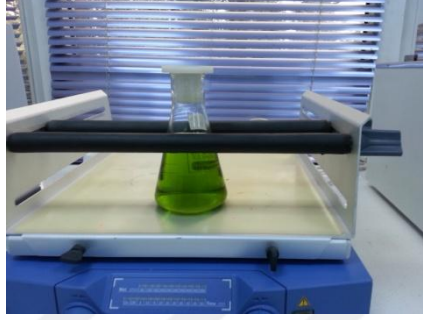
Bitkisel materyalin değişik kısımları (çiçek ve yaprak) öğütülerek getirilen kloroform:metanol (2:1) karışımıyla 24 saat maserasyona tabi tutuldu. Daha sonra süzülerek 2 kez 30'ar dakika arayla yeni çözücü karışımı ile tekrar masere edildi. İşlem sonunda süzüntüler birleştirilerek çözücünün yarısı döner buharlaştırıcıda (rotavapor) uzaklaştırıldı. Çözelti yarısına kadar uçurulduktan sonra üzerine kloroform ilave edildi. Elde edilen çözelti ayırma hunisine aktarılarak 3 kez % 0.4'lük CaCl₂ çözeltisi ile yakandı ve lipitler dışındaki kirliliklerden uzaklaştırıldı (**şekil 10a**). İşlem sonunda kloroformlu kısım susuz Na₂SO₄ 'tan geçirilerek su kalıntısından arındırıldı. Bu işlemler tamamlandıktan sonra çözeltideki sabit yağ asitleri dışındaki kirlilikler uzaklaştırıldı. Daha sonra kloroformlu kısım rotavaporda yoğunlaştırıldı. Bir sonra ki aşamada elde edilen kuru ekstre sabunlaştırmaya (saponifikasyon) tabi tutuldu (**şekil 10b**). Bu amaçla kuru ekstre KOH:H₂O:MeOH (1:1:8) karışımıyla 1/10 oranında çözölüp, geridönüşümlü olarak 2 saat kaynatıldı. Süre sonunda karışıma 1-2 mL hekzan eklenerek sabunlaşmayan bileşikler uzaklaştırıldı (Folch ve ark., 1957). Tuzlardan yağ asitlerini elde etmek için seyreltik HCl (%15) kullanıldı. Elde edilen yağ asitleri Boron triflorür reaktifi ile metilleme işlemine tabi tutuldu (Morrison ve Smith, 1964). Yağ asitleri metil esterlerinin kompozisyonu GC-FID ve GC-MS teknikleri ile belirlendi.



şekil 10. Achillea sivasica Bitkisinden Sabit Yağ Ekstraksiyon İşlemi. a: Çözelti ile Yıkama İşlemi; b: Sabunlaştırma İşlemi

Ekstelerin Elde Edilmesi

Bitkisel materyal toprak üstü kısım, çiçek ve yaprak olmak üzere üç kısma ayrıldı. Çözücü olarak distile su, etil asetat ve metanol kullanıldı. Bitkisel materyal (10 g) uygun boyutlara getirilerek ayrı ayrı su, metanol ve etilasetat ile çalkalayıcıda maserasyona tabi tutuldu (48sa). (Şekil 11). Elde edilen ekstrere süzülme ve çözücüler (EtAC ve MeOH) rotavaporda uzaklaştırıldı. Sulu ekstrere liyofilizasyona tabi tutuldu. Elde edilen ekstrere bir sonraki işleme kadar buzdolabında muhafaza edildi.



Şekil 11. *Achillea sivasica* Bitkisinden Ekstrelerinin Elde Edilmesi

Uçucu ve Sabit Yağ Asitlerinin Kimyasal Kompozisyonunun Aydınlatılması

Uçucu ve sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonları Gaz Kromatografisi-Alev İyonlaşma Dedektörü ve Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi teknikleriyle aydınlatıldı. Her iki analiz için de HP-Innowax FSC kolonu (60 m × 0.25 mm, 0.25 µm film kalınlığı) ve taşıyıcı gaz olarak helyum kullanıldı. Fırın 60°C’de 10 dakika kaldıktan sonra 220°C’ye dakikada 4 C ile çıkıp, 220°C’de 10 dakika kalıp, 240°C’ye dakikada 1°C ile çıkmak üzere programlandı. Split oranı 40:1 olarak seçilmiştir. Alev iyonlaşma detektörü ve enjektör 250°C de tutuldu. Kütle spektrumu 70 eV, kütle aralığı 35-450 *m/z* olarak seçildi. Maddelerin tanımlanması; tutunma zamanları, kütle spektrumları standartlara ve literatür bilgilerine göre değerlendirilmiştir. Wiley GC/MS kütüphanesi (Wiley, New York, NY, USA), MassFinder 4.0 yazılımı (Dr. Hochmuth Scientific Consulting, Hamburg), Adams kütüphanesi, NIST kütüphanesi ve Başer Uçucu Bileşikler kütüphanesi kaynak olarak kullanıldı. Madde miktarlarının belirlenmesinde alev iyonlaşma dedektöründen elde edilen piklerin yüzde alanları kullanıldı.

Uçucu Bileşiklerin Kimyasal Kompozisyonunun Kombine MSD/SPME-GC/MS Tekniği ile Aydınlatılması

Kombine Mikro Buhar Katı Faz Mikro Ekstraksiyonu-GC/MS tekniğinde yaprak, kök ve çiçek kısmından katı faz mikroekstraksiyon yöntemi ile ekstre edilen uçucu bileşiklerin analizi için analiz için de HP-Innowax FSC kolonu (60 m × 0.25 mm, 0.25µm film kalınlığı) ve taşıyıcı gaz olarak helyum kullanıldı. Fırın 60°C’de 10 dakika kaldıktan sonra 220°C’ye dakikada 4°C ile çıkıp, 220°C’de 10 dakika kalıp, 240°C’ye dakikada 1°C ile çıkmak üzere programlandı. Splitsiz mod kullanıldı. Alev iyonlaşma detektörü ve enjektör 250°C de tutuldu. Kütle spektrumu 70 eV, kütle aralığı 35-450 *m/z* seçildi.

Enantiyomer Maddelerin Analizi

Elde edilen uçucu yağların enantiyomer analizleri için 3 farklı kolon kullanılmıştır. α -pinen analizi için Lipodex-G kolonu kullanarak metot 1 ile, terpinen-4-ol ve borneol, RtTM- β -DEXse kolonu kullanarak metot 2 ile analiz edilmiştir. β -pinen, limonen, α -bisabolol, *trans*-pinokarveol ise RtTM- β -DEXse kolonu kullanarak metot-3 ile ayrımları gerçekleştirilmiştir. Tüm analizler için uygulanan şartlar **Çizelge 7**'de verilmiştir.

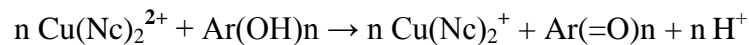
Çizelge 7. Enantiyomer Madde Ayrımlarında Uygulanan Analiz Şartları

Ayrılan Enantiyomer Maddeler	α -Pinen	Terpinen-4-ol Borneol	β -pinen, Limonen α -Bisabolol <i>trans</i> -Pinokarveol
Metot	Metot-1	Metot-2	Metot-3
Sistem	Agilent 5975 GC-MSD sistem ve Agilent 6890N GC sistem	Agilent 5975 GC-MSD sistem ve Agilent 6890N GC sistem	Agilent 5975 GC-MSD sistem ve Agilent 6890N GC sistem
Kolon	Lipodex-G (25 m x 0.25 mm, 0.125 μ m film kalınlığı) (6-metil-2,3-pentil- γ -siklodekstrin), (60% in polisiloksan PS086)	Rt TM - β -DEXse (25 m x 0.32 mm, 0.25 μ m film kalınlığı) (6- <i>tert</i> -bütildimetilsilil-2,3-dietil- β -siklodekstrin)	Rt TM - β -DEXse (25 m x 0.32 mm, 0.25 μ m film kalınlığı)(6- <i>tert</i> -bütildimetilsilil-2,3-dietil- β -siklodekstrin)
Taşıyıcı Gaz	Helyum (5 mL/dk)	Helyum (5 mL/dk)	Helyum (7 mL/dk)
Ortalama Akış Hızı	77.985 cm/sn	63.943 cm/sn	63.943 cm/sn
Sıcaklık Programı	50 dak@35°C; 40°C/dk ile 200°C; 10.875 dk @ 200°C; Toplam: 65 dk	0 dk@40°C; 2°C/dk ile 200°C; Toplam: 80 dk	10 dk@35°C; 2°C/dk ile 130°C; 57.5 dk@130°C; 40°C/dk ile 230°C; 2.5 dk@230C; Toplam: 120 dk
Enjeksiyon Modu	Split (40:1)	Split (40:1)	Split (40:1)
Enjeksiyon Sıcaklığı	250°C	250°C	250°C
Spektrum Enerjisi	70 eV	70 eV	70 eV
Kütle Aralığı	<i>m/z</i> 35 - 450	<i>m/z</i> 35 - 450	<i>m/z</i> 35 - 450
GC Dedektörü	FID @ 250°C	FID @ 250°C	FID @ 250°C

Antioksidan Aktivite Deneyleri

CUPRAC deneyi

CUPRAC yöntemi, elektron aktarımına dayalı toplam antioksidan kapasite belirleme yöntemidir. Yöntemin esasında Neokuproin-Nc (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin), Cu(II) ile açık mavi renkli Cu(II)-neokuproin (Cu(II)-Nc)₂ kompleksini oluşturur. Cu(Nc)₂ kompleksi antioksidanlarla tepkimeye girdiği zaman indirgenme olayı gerçekleşerek sar-turuncu renkli Cu(Nc) kompleksi meydana gelir. Şelatına indirgenmesi 450 nm'de ölçülerek antioksidan aktivite değerlendirilmesi yapılır (Apak ve ark., 2008).



96 Kuyucuklu mikrolaka kuyucuğuna 55 µL örnekler (uçucu yağ/ekstre/standart), 50 µL CuCl₂, 50 µL NH₄Ac tampon ve 50 µL neokuproin çözeltileri kuyucuğa konuldu ve karanlıkta inkübe edildi (18°C - 25°C, 30 dk). Süre sonunda 450 nm’de absorbans okuması yapıldı (Apak ve ark., 2008). Troloks için lineer doğru denklemi elde edildi. Bu doğru denklemi kullanılarak numunelerin etkileri ile troloks’a eşdeğer olarak hesaplandı.

Reaktiflerin hazırlanması

Amonyum asetat tamponu NH₄Ac (19.27 g) 250 mL saf suda çözülerek 1.0 M çözeltisi hazırlandı (pH=7.0).

Neokuproin çözeltisi (Nc): 7.8 mg neokuproin tartılarak 5 mL (%96) etanolde çözüldü. Çözeltinin derişimi 7.5×10^{-3} M.

Bakır klorür çözeltisi: 6.7 mg CuCl₂ tartılarak 5 mL saf suda çözüldü. Çözeltinin derişimi 1×10^{-2} M.

Numunele çözeltileri: Uçucu yağ (1.87 mg/mL) ve ekstreler (1.25 mg/mL) metanolde çözüldü.

Standart: Troloks çözeltisi (0.75 mM) metanolde hazırlandı.

β-Karoten soldurma deneyi

Bu yöntemde linoleik asidin oksidasyonundan doğan konjuge dien hidroperoksitler β-karoteni oksitleyerek renginin açılmasına neden olur. Ancak, reaksiyonun içine antioksidan etkili bileşenler girdiğinde peroksidasyon olayı inhibe edilerek β-karotenin renginin solması önlenir.

İçerisinde 10 µL numune veya standart bulunan deney tüplerine 2 mL β-karoten emülsiyonu eklendi. Bu karışımdan 300’er µL alınarak 96-kuyucuklu mikrolağa aktarıldı. Mikrolak okuyucu 50 °C’de 0. dakikadan başlamak üzere her 15 dakikada bir 470 nm dalga boyunda ölçüm alacak şekilde programlandı (kinetik ölçüm). Sonuçlar 3×5 tekrar üzerinden aşağıda verilen formüle göre hesaplandı (Marco, 1968, Kosar ve ark., 2011).

$$AA\% = [1 - (Abs_{0numune} - Abs_{120numune}) / (Abs_{0kontrol} - Abs_{120kontrol})] \times 100$$

Reaktiflerin hazırlanması:

β-Karoten çözeltisi: 5 mg β-karoten tartılarak 5 mL kloroformda çözüldü. Çözelti ışıktan korundu.

β-Karoten emülsiyonunun hazırlanması: 1200 mg Tween-20 ve 120 mg linoleik asit tartılarak ayrı ayrı 5 mL kloroformda çözüldü. Çözeltiler birleştirildi ve üzerine 1.2 mL β-karoten’in kloroformlu (1 mg/mL) çözeltisi ilave edildi.

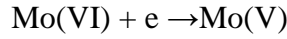
Daha sonra rotavaporda kloroform uzaklaştırıldı, kalıntıları da azot altında uçuruldu. Bakiye üzerine 300 mL saf su ilave edildi.

Numune çözeltileri: Uçucu yağ ve ekstreler (10 mg/mL) metanolde çözüldü.

Standart: BHT (1 mg/mL) ve gallik asit (1 mg/mL) çözeltileri metanolde hazırlandı.

Toplam Fenolik Bileşik Tayini

Ekstrelerin toplam fenol içerikleri Folin Ciocalteau yöntemi ile belirlendi (Kosar ve ark., 2011, Singleton ve ark., 1999). Folin-Ciocalteau reaktifi içerisinde bulunan fosfomolibdik ve fosfotungustik asitler alkali ortamda (%20 Na₂CO₃) antioksidan etkili bileşik ile indirgenmektedir. Ekstrelerin indirgeme kapasitesi spektrofotometrik olarak 760 nm ölçüldü. Sonuçlar gallik asite eşdeğer olarak hesaplandı.



50 µL numune üzerine 3.9 mL saf su ve 250 µL Folin Ciocalteau reaktifi eklendi. Vorteksle homojen karışım sağlanarak 1-8 dk karanlıkta bekletildi. Süre sonunda 750 µL Na₂CO₃ çözeltisi (%20'lik) ilave edilerek çalkalayıcı su banyosunda 25°C de 2 saat bekletildi. Daha sonra distile suya karşı absorbands okuması 760 nm'de yapıldı (Şekil 12). Sonuçlar 3×3 tekrar üzerinden hesaplandı.

Reaktiflerin hazırlanması

Numune çözeltileri: Ekstreler (10 mg/mL) metanolde çözüldü.

Standart: Gallik asit (1, 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1, 0 mg/mL) metanolde hazırlandı.

Sodyum karbonat çözeltisi: 20 g Na₂CO₃ tartıldı ve 100 mL'ye saf su ile tamamlandı.



Şekil 12. Toplam Fenol Miktarının Tayini

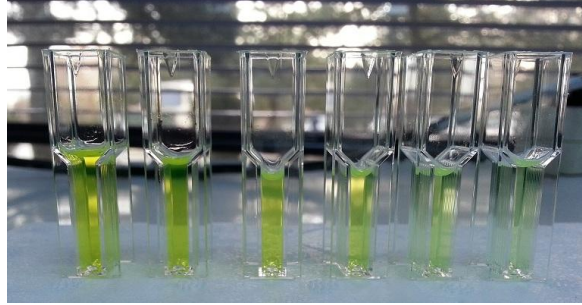
Toplam Flavonoit Miktar Tayini

Ekstrelerdeki toplam flavonoit miktarı kersetine eşdeğer miktarları üzerinden AlCl₃ reaktifi kullanılarak tayin edildi. Deney tüpüne 50 µL numune (ekstre/kesretin), 50 µL AlCl₃ çözeltisi ve 1.15 mL Absolü Etanol ilave edildi. Kör deneyde olarak 50 µL numune üzerine birkaç damla asetik asit (%15) ilave edildi ve 1.2 mL absolü etanol ilave edildi. Vortekslenen tüpler karanlıkta 25°C de 40 dk bekletildi. Daha sonra etanole karşı 415 nm'de absorbands okuması yapıldı (Şekil 13). Sonuçlar kersetine eşdeğer olarak hesaplandı. Deney 3 x 3 tekrar yapılarak toplam flavonoit miktarları kesretine eşdeğer olarak hesaplandı (Koşar ve ark., 2011; Miliauskas ve ark., 2004).

Reaktiflerin Hazırlanması

Aluminyum klorür çözeltisi: 2.0 g AlCl₃ tartılarak 100 mL etanolde (% 99) çözüldü.

Kersetin: Madde tartılarak % 99'luk etanolde (1.0, 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1 mg/mL) çözeltileri hazırlandı.



Şekil 13. Toplam Flavonoit Miktar Tayini

Antitirozinaz Aktivite Deneyi

Uçucu yağ ve ekstraların anti-melanogenezis etkisi mantar tirozinaz inhibisyon yöntemi ile spektrofotometrik olarak tespit edildi. Deneyde substrat olarak L-DOPA ve standart inhibitör olarak kojik asit kullanıldı. Enzim çözeltisi ve L-DOPA sodyum fosfat tamponu içinde hazırlandı (pH=6.8). Deneyde 96'lık mikropalak kuyucuklarına 80 µL tampon çözeltisi, 40 µL numune (uçucu yağ/ekstre/standart) ve 40 µL tirozinaz enzimi ilave edilerek 10 dk inkübe edildi (23 °C'de). Daha sonra karışım üzerine 40 µL L-DOPA substratı eklendi. 15 dk inkübe (23 °C'de) edildikten sonra spektrofotometrik ölçüm 475 nm'de gerçekleştirildi. Kontrol deneyinde numune yerine DMSO kullanıldı. Her numune için kör (blank) deneyi yapıldı. Kör deneyinde tirozinaz enzimi yerine 40 µL sodyum fosfat tamponu kullanıldı. Böylece numuneden gelen renk elimine edildi. %Inh: $[(\text{Kontrol} - \text{Kontrol}_{\text{kör}}) - (\text{Numune} - \text{Numune}_{\text{kör}})] / (\text{Kontrol} - \text{Kontrol}_{\text{kör}}) \times 100$ Deney sonucu 3 tekrarlamamanın ortalaması alınarak kojik asit ekivalanı hesaplandı (Masuda ve ark., 2005).

Reaktiflerin Hazırlanması

Sodyum Fosfat Tamponu: 8.9 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (Ma 178) tartılarak 50 mL saf suda çözüldü (1 M). 7.8 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (Ma 156) tartılarak 50 mL saf suda çözüldü (1 M). Balon jodede 2.32 mL Na_2HPO_4 ve 2.69 mL NaH_2PO_4 çözeltileri karıştırılarak saf su ile 50 mL'ye tamamlandı (0.1M) (pH=6.8).

L-DOPA (Ma 197): 4.9 mg tartılarak 10 mL sodyum fosfat tamponunda çözüldü (2.5 mM).

Standart: Kojik asit 5 mg tartılarak 5 mL sodyum fosfat tamponunda çözüldü ve seyretmeleri yapıldı (0.08, 0.07, 0.06, 0.05, 0.04, 0.03, 0.02, mg/mL).

Mantar Tirozinaz enzimi: 4.33 mg (>1000 unite/mg) enzim sodyum fosfat tamponunda 33.3 U/mL olacak şekilde çözüldü.

Numuneler: Uçucu yağ DMSO içinde, ekstre %50'lik DMSO içinde 10 mg/mL olacak şekilde çözüldü.

BULGULAR

Uçucu Yağ Özellikleri

A.sivasica bitkisel materyalinden hidrodistilasyon sonucunda koyu yeşil renkli hoş kokulu uçucu yağ elde edildi (**Şekil 14**). Uçucu yağ verimleri **Çizelge 8**'de verilmiştir.



Şekil 14. *Achillea sivasica* Uçucu Yağı

Çizelge 8. *Achillea sivasica* Uçucu Yağ Verimleri

	Verim % (h/a)		
	Herba	Çiçek	Yaprak
Uçucu Yağ	0.056	0.048	0.036

Uçucu Yağ Kimyasal Kompozisyon Analizi

Achillea sivasica herba, çiçek ve yaprak uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonu gaz kromatografi tekniği ile araştırıldı. Bileşenlerin kalitatif analizi için GC/MS, kantitatif analizi için GC-FID sonuçları kullanıldı. **Çizelge 9**'de bileşikler HP-Innowax kolondan çıkış sırasına göre listelenmiştir. Uçucu yağların kromatografik profilleri **Şekil 15-17**'de gösterilmiştir.

Çizelge 9. *Achillea sivasica* Uçucu Yağlarının Kimyasal Kompozisyonu

No	RTİ	Bileşik*	Herba	Çiçek	Yaprak
			%		
1.	1032	α -Pinen	11.5	9.3	6.7
2.	1076	Kamfen	1.2	0.5	1.2
3.	1118	β -Pinen	7.0	3.0	6.9
4.	1132	Sabinen	1.7	1.7	1.0

Çizelge 9. (Devam) *Achillea sivasica* Uçucu Yağlarının Kimyasal Kompozisyonu

No	RTİ	Bileşik	Herba	Çiçek	Yaprak
			%		
5.	1188	α -Terpinen	0.4	0.5	0.2
6.	1203	Limonen	1.0	-	1.4
7.	1213	1,8-Sineol	18.0	22.1	6.7
8.	1255	γ -Terpinen	1.0	1.1	0.7
9.	1280	<i>p</i> -Simen	0.4	0.5	0.2
10.	1290	Terpinolen	-	0.2	0.2
11.	1474	<i>trans</i> -Sabinen hidrat	0.1	2.1	0.6
12.	1482	α -Longipinen	e	-	0.2
13.	1492	Siklosativen	e	e	-
14.	1497	α -Kopaen	1.7	2.8	0.7
15.	1499	α -Kamfolen aldehit	-	-	0.1
16.	1506	Dekanal	-	-	0.1
17.	1512	Longisiklen	-	-	e
18.	1532	Kafur	7.6	4.1	9.0
19.	1549	β -Kubeben	e	e	-
20.	1556	<i>cis</i> -Sabinen hidrat	e	0.6	-
21.	1562	İzopinokamfon	e	e	-
22.	1570	<i>trans-p</i> -Ment-2-en-3-ol	-	e	-
23.	1586	Pinokarvon	2.0	2.5	1.3
24.	1611	Terpinen-4-ol	2.2	3.2	1.4
25.	1628	Aromadendren	-	-	e
26.	1638	β -Siklositral	-	-	e
27.	1648	Mirtenal	0.6	0.6	0.5
28.	1668	(<i>Z</i>)- β -Farnesene	3.1	2.5	-
29.	1670	<i>trans</i> -Pinokarveol	0.8	2.0	1.6
30.	1682	δ -Terpineol	-	-	e
31.	1683	<i>trans</i> -Verbenol	e	0.1	0.3
32.	1686	Lavandulol	0.5	0.9	0.3
33.	1704	α -Terpinil asetat	e	-	-

Çizelge 9. (Devam) *Achillea sivasica* Uçucu Yağlarının Kimyasal Kompozisyonu

No	RTİ	Bileşik	Herba	Çiçek	Yaprak
			%		
34.	1706	α -Terpineol	e	0.3	e
35.	1719	Borneol	2.0	3.7	2.0
36.	1726	Germakren D	4.8	3.5	2.0
37.	1765	Geranil asetat	-	0.2	0.6
38.	1733	Neril asetat	0.3	-	-
39.	1740	α -Muurolen	0.4	0.5	e
40.	1742	Geraniol	-	-	e
41.	1755	Bisiklogermakren	0.5	0.3	0.4
42.	1773	δ -Kadinen	0.4	0.6	0.5
43.	1776	γ -Kadinen	e	0.3	e
44.	1786	<i>ar</i> -Kurkumen	-	-	e
45.	1779	(<i>E,Z</i>)-2,4-Dekadienal	-	e	-
46.	1804	Mirtenol	0.5	1.0	0.5
47.	1830	Tridekanal	0.2	e	-
48.	1838	2-Feniletıl asetat	-	e	0.4
49.	1857	Geraniol	e	e	0.5
50.	1868	(<i>E</i>)-Geranil aseton	0.4	0.2	1.1
51.	1871	<i>p</i> -Menta-1,8-dien-10-il asetat	-	-	e
52.	1882	1-İzobutil-4-izopropil-3-izopropil-2,2-dimetil suksinat	e	-	0.2
53.	1889	Mirtanol	-	-	0.5
54.	1896	Feniletıl izobutirat	0.5	0.8	-
55.	1900	Nonadekan	-	e	-
56.	1941	α -Kalakoren	-	-	e
57.	1957	Kubebol	0.6	1.1	0.3
58.	1958	(<i>E</i>)- β -İyonon	0.2	-	0.4
59.	1988	2-Feniletıl-2-metilbutirat	0.1	0.3	-

Çizelge 9. (Devam) *Achillea sivasica* Uçucu Yağlarının Kimyasal Kompozisyonu

No	RTİ	Bileşik	Herba	Çiçek	Yaprak
			%		
60.	1992	2-Feniletil-3-metilbutirat (=2-Feniletil izovalerat)	0.1	-	-
61.	2008	Karyofillen oksit	0.2	0.2	0.4
62.	2037	Salvial-4(14)-en-1-on	-	e	e
63.	2041	Pentadekanal	0.1	0.3	0.3
64.	2050	(E)-Nerolidol	-	-	0.2
65.	2088	1- <i>epi</i> -Kubenol	0.4	-	-
66.	2090	İzogimnomitrol	-	-	0.3
67.	2094	1,10-di- <i>epi</i> -Kubenol	-	0.3	0.7
68.	2096	Elemol	-	-	0.3
69.	2100	Heneikosan	-	0.4	-
70.	2131	Heksahidrofarnesil aseton	e	0.4	0.4
71.	2144	Spatulenol	0.6	1.1	0.5
72.	2178	(Z)-3-Hexen-1-ol benzoat	0.8	-	-
73.	2179	3,4-Dimetil-5-pentiliden-2(5H)-furanon	e	-	0.4
74.	2187	T-Kadinol	1.2	1.5	1.0
75.	2192	Muurola-4,10(14)dien-1-ol	0.3	0.3	-
76.	2198	Timol	-	0.2	0.2
77.	2209	T-Muurolol	0.6	-	-
78.	2214	<i>ar</i> -Turmerol	e	-	-
79.	2222	Kopaborneol	0.2	0.4	0.4
80.	2232	α -Bisabolol	7.5	4.3	6.6
81.	2255	β -Sinensal	0.5	0.6	0.9
82.	2257	β -Ödesmol	3.1	3.9	3.6
83.	2265	Longiverbenon (= <i>Vulgaron B</i>)	2.9	1.0	4.9

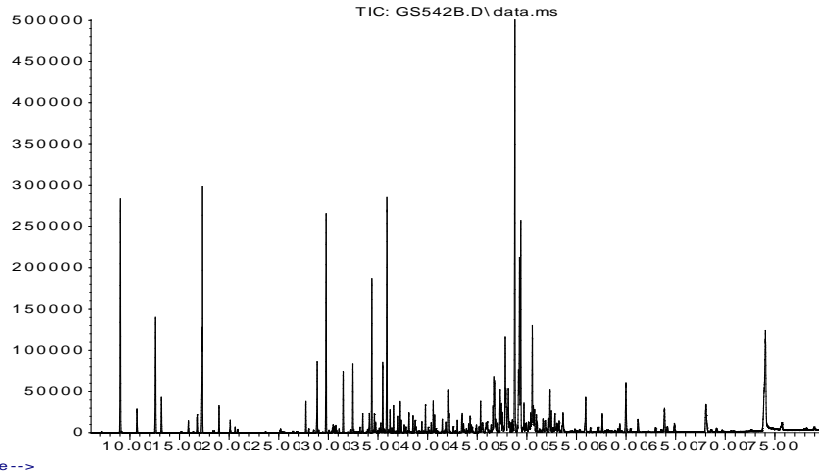
Çizelge 9. (Devam) *Achillea sivasica* Uçucu Yağlarının Kimyasal Kompozisyonu

No	RTİ	Bileşik	Herba	Çiçek	Yaprak
			%		
84.	2300	Trikosan	1.4	2.6	-
85.	2353	(6S-7R)-Bisabolon	-	0.5	0.3
86.	2392	Ödesma-4(15),7-dien-1- β -ol	0.2	-	0.6
87.	2400	Tetrakosan	-	0.2	-
88.	2411	Hekzil sinamik aldehit	-	-	0.3
89.	2415	Farnesil aseton	0.1	-	0.6
90.	2430	Kamazulen	-	e	-
91.	2500	Pentakosan	0.4	0.8	0.4
92.	2622	Fitol	0.9	-	2.8
93.	2670	Tetradekanoik asit (= <i>Miristik asit</i>)	-	-	0.7
94.	2683	Benzil benzoat	-	-	0.2
95.	2700	Heptakosan	0.4	0.6	0.6
96.	2766	Feniletıl benzoat	-	0.2	-
97.	2900	Nonakosan	0.6	0.3	4.5
98.	2931	Hekzadekanoik asit	0.3	1.0	4.5
Toplam			94.5	94.2	87.3

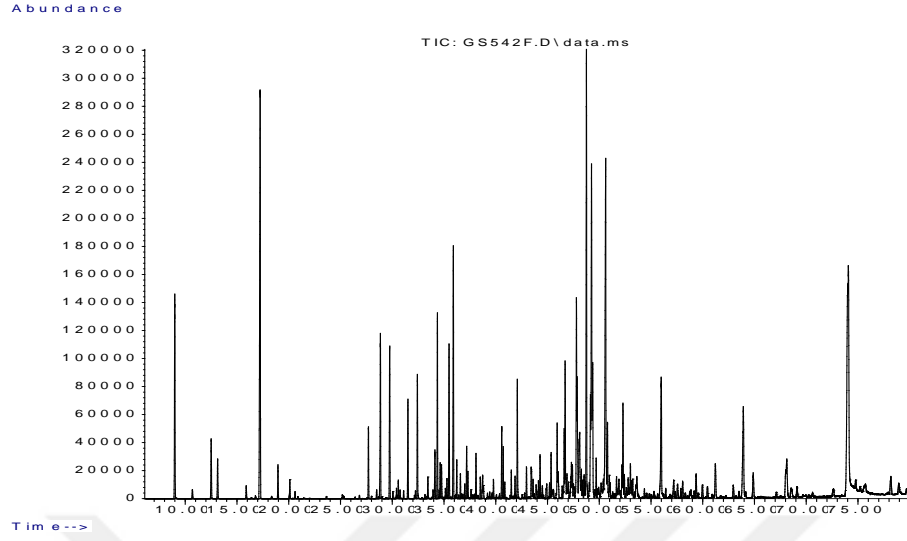
* : > % 0.1

RTİ : Relatif tutunma indisi

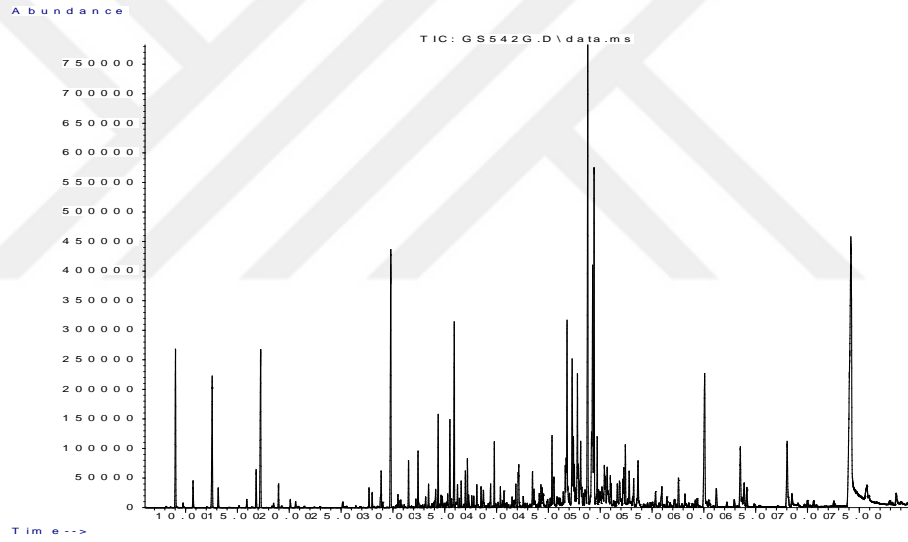
Abundance



Şekil 15. *Achillea sivasica* Herba Uçucu Yağı Kromatografik Profili



Şekil 16. *Achillea sivasica* Çiçek Uçucu Yağı Kromatografik Profili



Şekil 17. *Achillea sivasica* Yaprak Uçucu Yağı Kromatografik Profili

Kombine MSD-SPME-GC/MS Analizi

Çiçek, yaprak ve kök kısımlarından kombine MSD-SPME-GC/MS tekniği ile uçucu bileşikler elde edilerek analiz edildi. Çizelge 10'da bileşikler HP-Innowax kolondan çıkış sırasına göre listelenmiştir. Uçucu bileşenlerinin kromatografik profilleri Şekil 18'de gösterilmiştir.

Çizelge 10. *Achillea sivasica* Çiçek, Yaprak ve Kök Kısımlarından MSD-SPME Tekniği ile Elde Edilen Uçucu Bileşenlerin Kimyasal Kompozisyonu

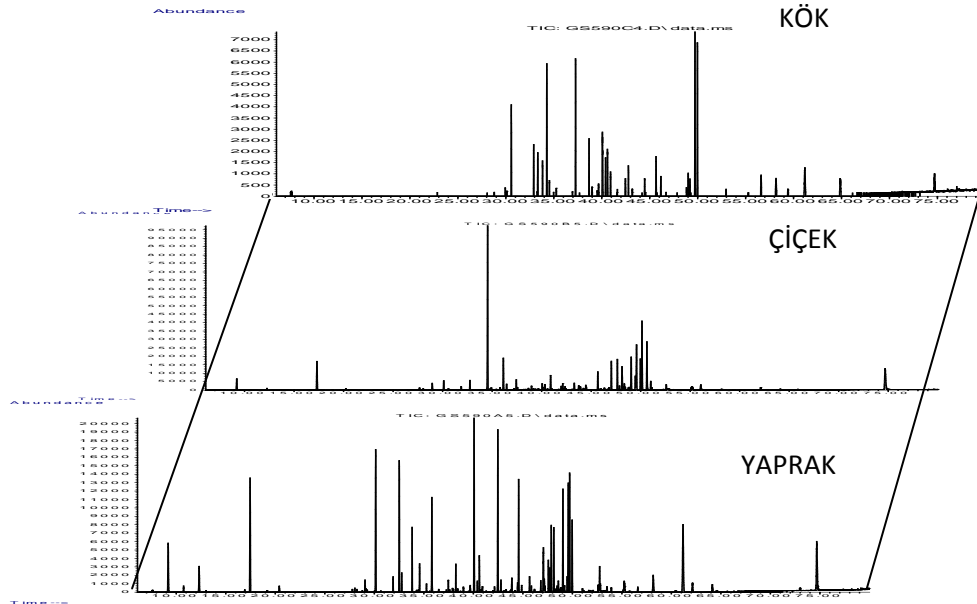
No	RTİ	Bileşik	Ç	Y	K
			%		
1.	1032	α -Pinen	2.0	4.3	-
2.	1118	β -Pinen	-	2.1	-
3.	1213	1,8-Sineol	5.3	9.6	-
4.	1532	Kafur	1.3	10.2	-
5.	1562	Oktanol	-	-	4.1
6.	1611	Terpinen-4-ol	1.1	-	-
7.	1664	Nonanol	-	-	12.1
8.	1668	(Z)- β -Farnesen	23.9	1.2	-
9.	1719	Borneol	-	5.9	-
10.	1726	Germakren-D	4.7	-	-
11.	1766	1-Dekanol	-	-	12.5
12.	1773	δ -Kadinen	1.2	-	-
13.	1868	(E)-Geranilaseton	-	10.5	9.3
14.	1882	1-İzobutil 4 izopropil 3-izopropil-2,2-dimetil suksinat	-	2.1	-
15.	1896	Feniletil izobutirat	2.2	-	-
16.	1958	(E)- β -Ionon	-	10.3	-
17.	1973	Dodekanol	-	-	1.5
18.	2052	Isopropil miristat	-	6.7	-
19.	2088	1- <i>epi</i> -Kubenol	2.4	-	-
20.	2144	Spatulenol	3.8	-	-
21.	2256	<i>epi</i> - α -Bisabolol	4.9	6.4	-
22.	2257	β -Ödesmol	8.0	7.5	-

Çizelge 10. (Devam) *Achillea sivasica* Çiçek, Yaprak ve Kök Kısımlarından MSD-SPME Tekniği ile Elde Edilen Uçucu Bileşenlerin Kimyasal Kompozisyonu

No	RTİ	Bileşik	Ç	Y	K
			%		
23.	2262	Torilenol	2.1	-	-
24.	2265	Longiverbenon (Vulgaron B)	-	7.9	14.14
25.	2187	T-Kadinol	3.9	4.3	-
26.	2192	Muuro-la-4,10(14)dien-1-ol	4.2	-	-
27.	2194	3,4-Dimethyl-5-pentylidene-2(5H)-furanon	-	4.1	-
28.	2298	Dekanoik asit	10.1	-	-
29.	2300	Trikosan	7.3	-	-
30.	2931	Hekzadekanoik asit (=Palmitik asit)	7.2	6.8	15.1

* : > % 0.1

RTİ : Relatif tutunma indisi



Şekil 18. *Achillea sivasica* Çiçek, Yaprak ve Kök Kısımlarından Kombine MSD-SPME Tekniği ile Elde Edilen Uçucu Bileşenlerin Kromatografik Profilleri

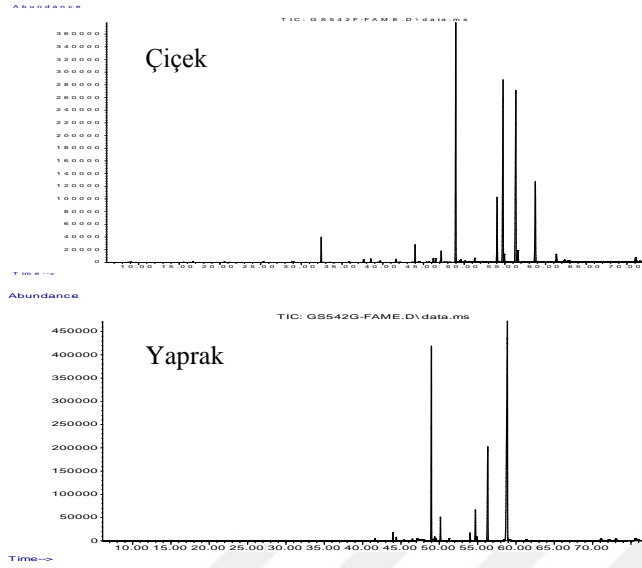
Sabit Yağ Asitleri Analizi

A. *sivastica* sabit yağ asitleri sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilerek kimyasal kompozisyonu gaz-kromatografik tekniği ile incelendi. Bileşiklerin listesi Çizelge 11’de ve gaz-kromatografik profili Şekil 19’da verilmiştir.

Çizelge 11. *Achillea sivastica* Sabit Yağ Asitleri Kimyasal Kompozisyonu

No	Karbon Sayısı: Çifte Bağ Sayısı	Bileşik*	Çiçek	Yaprak
			%	
1.	C8:0	Metil oktanoat	0.1	-
2.	C10:0	Metil dekanoat (=M. <i>kaprat</i>)	1.5	-
3.	C12:0	Metil dodekanoat (=M. <i>laurat</i>)	0.2	-
4.	C14:0	Metil tetradekanoat (=M. <i>miristat</i>)	0.9	0.5
5.	C15:0	Metil pentadekanoat	0.2	0.1
6.	C16:0	Metil hegzadekanoat (=M. <i>palmitat</i>)	22.2	17.3
7.	C16:1 D-7 <i>cis</i>	(Z)-7-Hekzadekenoik asit, metil ester	0.1	0.2
8.	C16:1 D-9 <i>cis</i>	(Z)-9-Hekzadekenoik asit metil ester (= M. <i>palmitoleat</i>)	0.2	0.2
9.	C17:0	Heptadekanoik asit metil ester	-	0.3
10.	C18:0	Metil oktadekanoat (=M. <i>stearat</i>)	6.3	0.7
11.	C18:1 D-9 <i>cis</i>	(Z)-9-Oktadekenoik asit metil ester (=M. <i>oleat</i>)	20.9	3.9
12.	C18:1 D-7 <i>cis</i>	(Z)-7-Oktadekenoik asit metil ester	2.1	0.7
13.	C18:2 D-9,12 <i>cis</i>	(Z,Z)-9,12-Metil oktadekadienoat (=M. <i>linoleat</i>)	26.9	16.9
14.	C18:1 D-9 <i>cis</i>	Etil linoleat	2.6	-
15.	C18:3 D-9,12,15 <i>cis</i>	Metil linolenat	13.2	56.2
16.	C20:0	Metil eikosanoat (=M. <i>araşidat</i>)	1.2	0.3
17.	C22:0	Metil dokosanoat (=M. <i>behenat</i>)	1.1	0.4
Toplam			99.7	97.7

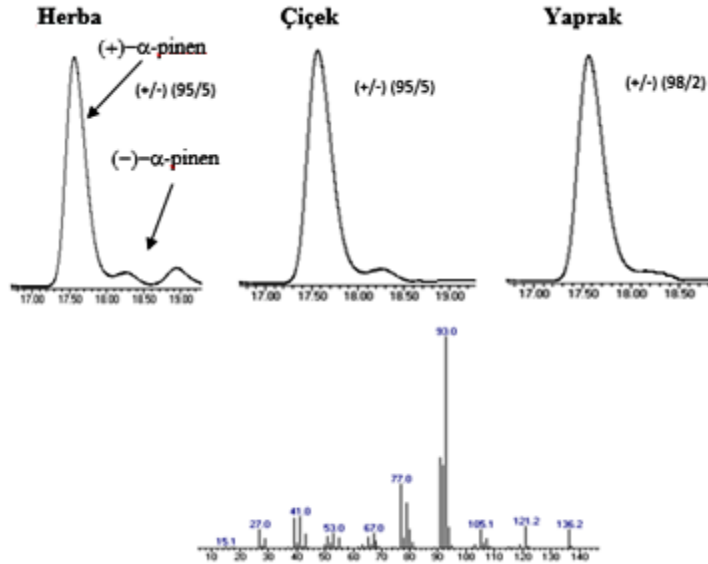
* : > % 0.1



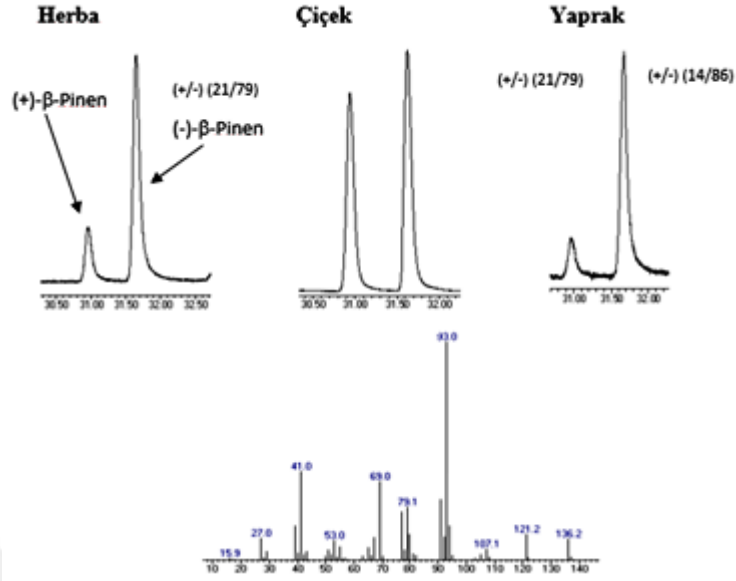
Şekil 19. *Achillea sivasica* Sabit Yağ Asitlerin Gaz Kromatografik Profili

Enantiyomer Madde Oranları

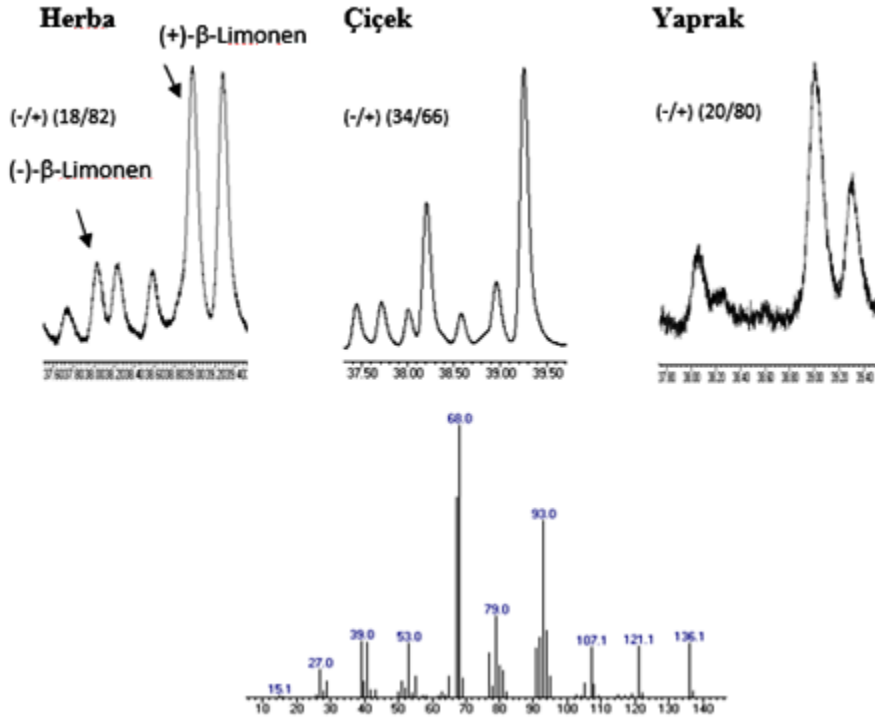
A. sivasica herba, çiçek ve yaprak uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonunda yer alan ana bileşiklerin enantiyomerik oranları şiral kolon kullanılarak gaz kromatografi tekniği ile araştırıldı. Bileşiklerin kalitatif analizi GC/MS, kantitatif analizi için GC-FID sonuçları kullanıldı. Enantiyomerlerin ayrımlarını gösteren GC kromatogramları ve spektrum bilgileri Şekil 20-26'da verilmiştir.



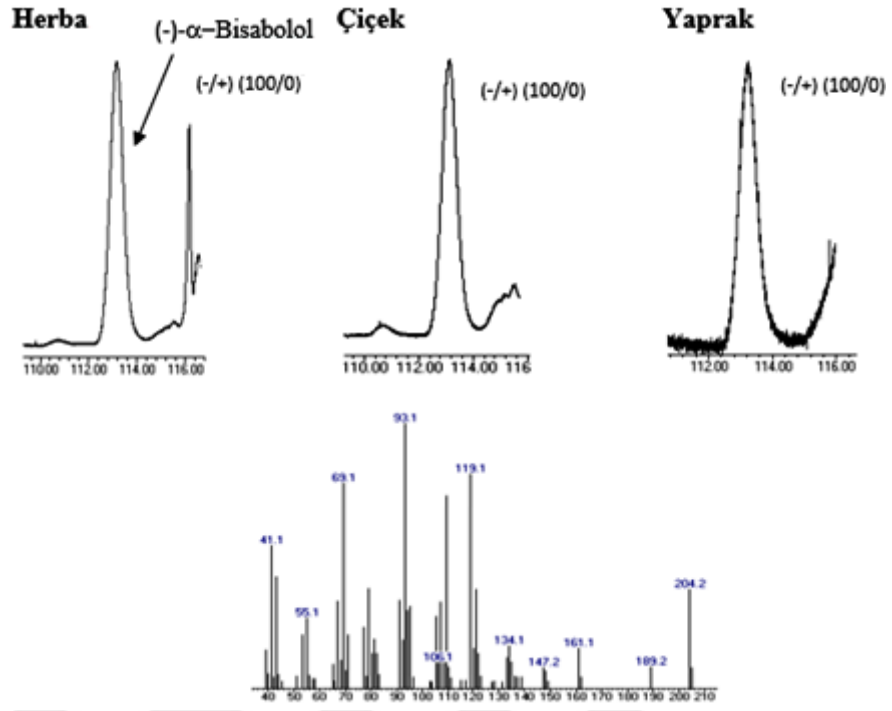
Şekil 20. *Achillea sivasica* Yağlarında α -Pinen Enantiyomerlerinin Şiral Kolondaki Ayrımı ve Kütle Spektrumu



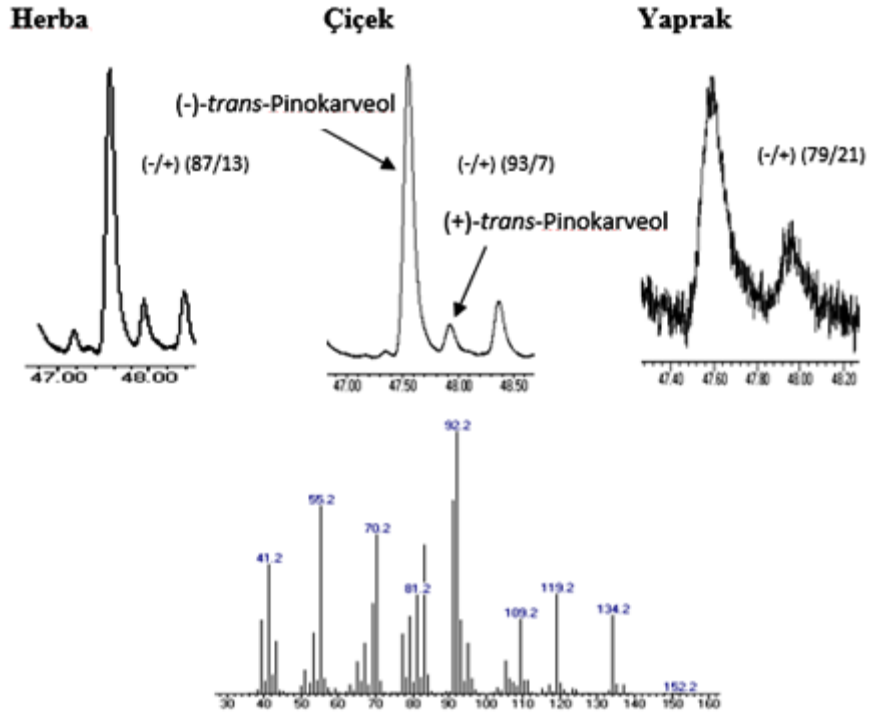
Şekil 21. *Achillea sivasica* Yağlarında β -Pinen Enantiyomerlerinin Şıral Kolondaki Ayırımı ve Kütle Spektrumu



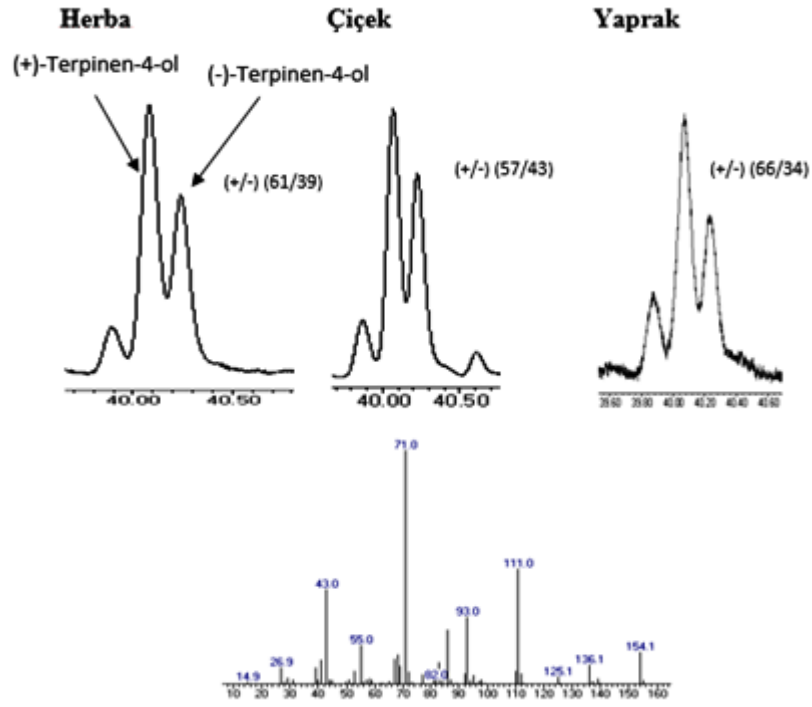
Şekil 22. *Achillea sivasica* Yağlarında Limonen Enantiyomerlerinin Şıral Kolondaki Ayırımı ve Kütle Spektrumu



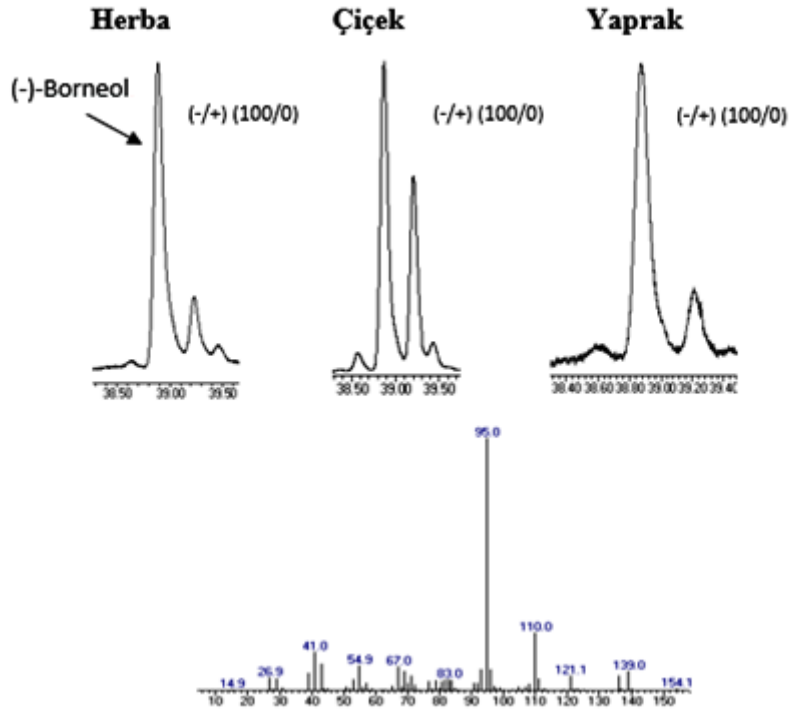
Şekil 23. *Achillea sivasica* Yağlarında α -Bisabolol Enantiyomerlerinin Şiral Kolondaki Ayırımı ve Kütle Spektrumu



Şekil 24. *Achillea sivasica* Yağlarında *trans*-Pinocarveol Enantiyomerlerinin Şiral Kolondaki Ayırımı ve Kütle Spektrumu



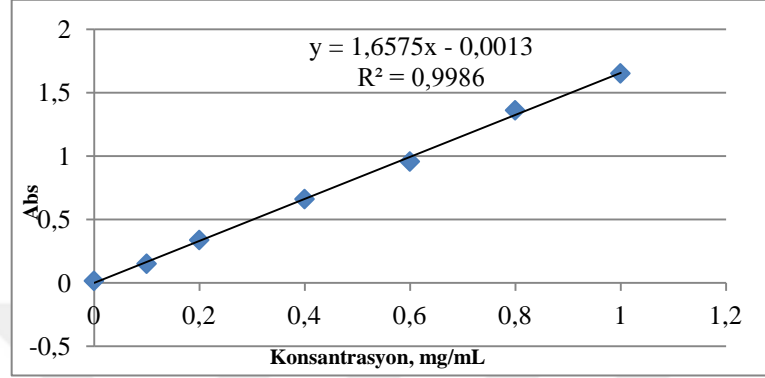
Şekil 25. *Achillea sivasica* Yağlarında Terpinen-4-ol Enantiyomerlerinin Şiral Kolondaki Ayrımı ve Kütle Spektrumu



Şekil 26. *Achillea sivasica* Yağlarında Borneol Enantiyomerlerinin Şiral Kolondaki Ayrımı ve Kütle Spektrumu

Ekstrelerdeki Toplam Fenol Miktarı

Ekstrelerin içerdikleri Toplam Fenol miktarları Folin-Ciocoaltou reaktifi kullanılarak spektrofotometrik yöntemle tayin edildi. Gallik asit lineer eğrisi ve denklem Şekil 27’de verilmiştir. Ekstrelerin toplam fenol miktarları gallik aside eşdeğer olarak verilmiştir (Çizelge 12).



Şekil 27. Gallik Asit Lineer Eğrisi ve Hesaplama Denklemleri

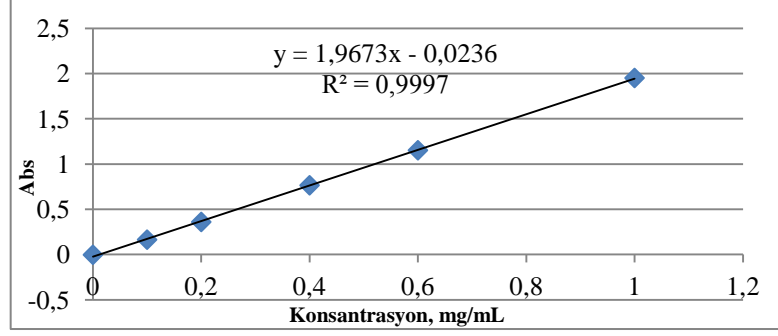
Çizelge 12. *Achillea sivasica* Ekstrelerinin İçerdiği Gallik Aside Eşdeğer Toplam Fenol Miktarları

	GAE*		
	Metanollü Ekstre	Etil Asetatlı Ekstre	Sulu Ekstre
Herba	34.5	32.4	17.4
	±	±	±
SH	1.7	2.1	0,2
Çiçek	51.1	28.5	17.9
	±	±	±
SH	0.8	1.0	0.2
Yaprak	54.7	38.6	22.7
	±	±	±
SH	2.2	0.5	0.6

* GAE: mg/g Gallik Aside eşdeğer fenol miktarı

Ekstrelerdeki Toplam Flavonoit Miktarı

A. sivasica ekstrelerinin içerdikleri toplam flavonoit miktarları spektrofotometrik olarak $AlCl_3$ reaktifi ile tayin edildi. Lineer eğrisi ve denklemleri Şekil 28’de Çizelge 13’de ise ekstrelerin içerdiği toplam flavonoit miktarı kersetin’e eşdeğer olarak verilmiştir.



Şekil 28. Kersetin'in Linear Eğrisi ve Hesaplama Denklemleri

Çizelge 13. *Achillea sivasica* Ekstrlerinin İçerdiği Kesretine Eşdeğer Toplam Flavonoit Miktarları

	KE*		
	Metanollü Ekstre	Etil Asetatlı Ekstre	Sulu Ekstre
Herba	31.7 ±	12.5 ±	3.9 ±
SH	1.0	2.8	1.2
Çiçek	27.1 ±	14.5 ±	3.7 ±
SH	2.0	4.3	0.2
Yaprak	31.4 ±	15.3 ±	4.4 ±
SH	3.9	1.6	0.5

* KE: mg/g Kesretine eşdeğer flavonoit miktarı; SH: Standart Hata

Antioksidan Aktivite

β-karoten soldurma gücü

Uçucu yağ ve ekstrelerin lipit peroksidasyonunu inhibe etme gücü β-karoten renginin solma derecesine göre değerlendirildi. Numunelerin ve standart maddenin yüzde antioksidan aktivite değerleri Çizelge 14'de verilmiştir.

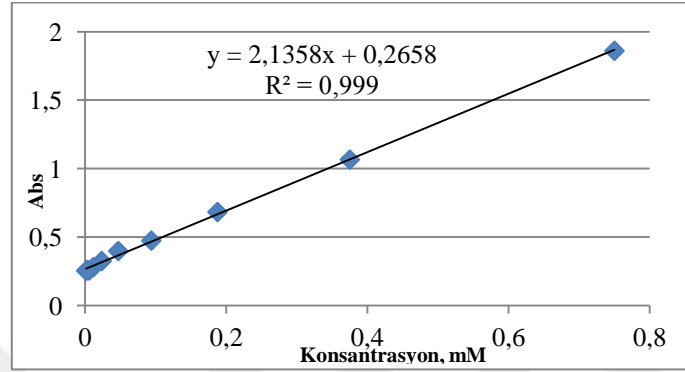
Çizelge 14. *Achillea sivasica* Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin β-Karoten-Linoleik Asit Deneyinde Yüzde Antioksidan Aktivitesi

	% AOA			
	Uçucu Yağ	Metanollü Ekstre	Etil Asetatlı Ekstre	Sulu Ekstre
Herba	22.1 ±	49.9 ±	40.2 ±	29.7 ±
SH	4.3	3.5	4.6	4.2
Çiçek	17.0 ±	41.5 ±	30.2 ±	35.5 ±
SH	3.3	2.9	3.4	2.2
Yaprak	10.8 ±	53.9 ±	55.8 ±	30.1 ±
SH	3.0	3.1	2.8	3.6

AOA: Antioksidan Aktivite SH: Standart Hata

CUPRAC deneyi

A. sivasica uçucu yağ ve ekstrelerin bakır redükleme antioksidan kapasitesi spektrofotometrik olarak ölçüldü. Numunelerin aktivitesi Troloks'a eşdeğer olarak hesaplandı (Çizelge 15). Hesaplarda kullanılan denklem Şekil 29'da verilmiştir.



Şekil 29. Troloks'un CUPRAC Deneyindeki Eğrisi ve Hesaplama Denklemi

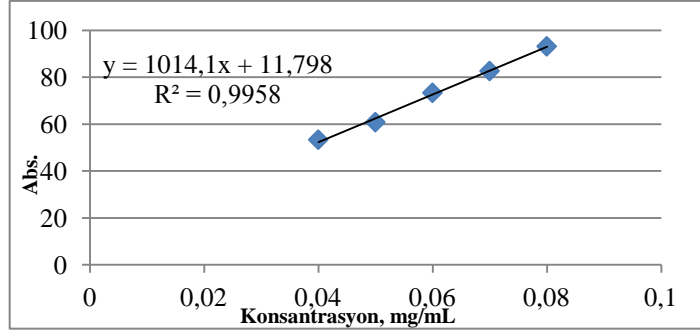
Çizelge 15. *Achillea sivasica* Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin Troloks'a Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC deneyinde)

	TE, mM			
	Uçucu Yağ	Metanollü Ekstre	Etil Asetatlı Ekstre	Sulu Ekstre
Herba	0.81	0.6	0.5	0.31
	±	±	±	±
SH	0.03	0.02	0.02	0.04
Çiçek	0.57	0.6	0.5	0.25
	±	±	±	±
SH	0.1	0.03	0.03	0.008
Yaprak	0.74	0.94	0.46	0.22
	±	±	±	±
SH	0.008	0.02	0.01	0.02

TE: Troloks'a eşdeğerliği SH: Standart Hata

Tirozinaz inhibisyon deneyi

A. sivasica uçucu yağ ve ekstrelerin mantar tirozinaz enzimi inhibe etme etkisi spektrofotometrik olarak ölçüldü. Kojik asit lineer eğrisi ve hesaplama denklemini Şekil 30'da verilmiştir. Numunelerin aktivitesi kojik asite eşdeğer olarak hesaplandı (Çizelge 16).



Şekil 30. Kojik Asit Linear Eğrisi ve Hesaplama Denklemi

Çizelge 16. *Achillea sivasica* Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin Kojik Asite Eşdeğer Tirozinaz İnhibisyon Etkisi

	KAE*			
	Uçucu Yağ	Metanollü Ekstre	Etil Asetatlı Ekstre	Sulu Ekstre
Herba	AD	4.9 ±	AD	AD
SH		0.4		
Çiçek	AD	3.05 ±	2.9 ±	AD
SH		0.4	0.2	
Yaprak	AD	5.5 ±	6.2 ±	AD
SH		0.8	0.5	

KAE: Kojik asit eşdeğeri, mg/g; SH: Standart Hata; AD: Aktif değil

TARTIŞMA

Achillea sivasica bitkisinin herba, çiçek ve yaprak kısımlarından distile edilen uçucu yağların gaz-kromatografik analizi sonucunda sırasıyla %94.5, %94.2 ve %87.3'ünü temsil eden 67, 66 ve 74 bileşik tanımlandı. Herba, çiçek ve yaprak yağlarında 1,8-sineol (%18, %22.1, %6.7), α -pinen (%11.5, %9.3, %6.8), kafur (%7.6, %4.1, %9.0), β -pinen (%7.0, %3.0, %6.9) ana bileşikler olarak tespit edildi. Bununla birlikte seskiterpen grubundan α -bisabolol (%7.5, %4.3, %6.6), germakren D (%4.8, %3.5, %2.0) ve β -ödesmol (%3.1, %3.9, %3.6) ana bileşikler olarak bulundu. Genel olarak yağların içerisinde oksijenli monotерpen bileşenler yüksek miktarda bulundu. Yağlardaki ana bileşen gruplarının dağılımı **Çizelge 17**'de gösterilmiştir.

Çizelge 17. *Achillea sivasica* Uçucu Yağlarındaki Ana Madde Gruplarının Dağılımı.

	%		
	Herba	Çiçek	Yaprak
Hidrokarbon Monoterpenler	24.2	16.8	18.5
Oksijenli Monoterpenler	34.6	43.4	26.1
Hidrokarbon seskiterpenler	10.9	8.0	3.8
Oksijenli seskiterpenler	18.4	15.6	22.0

Kaynak taraması sonucu *A. sivasica* uçucu yağ kompozisyonu *A. teretifolia* ve *A. vermicularis* yağları ile benzerlik gösterdi (Agnihotri ve ark., 2005; Polatoglu ve ark., 2013; Azaz ve ark., 2009).

A. sivasica uçucu yağlarında enantiyomerik bileşiklerin oranları şiral kolonda analiz edilerek tespit edildi. Yağların kompozisyonunda α -pinen, limonen ve terpinen-4-ol bileşiklerinin (+) enantiyomerlerinin daha yüksek oranda bulunduğu saptandı. β -Pinen ve *trans*-Pinokarveol bileşiklerini (-) enantiyomeri daha yüksek oranda tespit edildi. α -Bisabolol ve borneol tüm yağlarda saf (-) formunda bulundu (**Çizelge 18**).

Çizelge 18. *Achillea sivasica* Uçucu Yağlarının Enantiyomerik Maddelerin Oranları

Enantiyomer	Herba	Çiçek	Yaprak
	%		
(1R)-(+)- α -Pinen	95	95	98
(1S)-(-)- α -Pinen	5	5	2
(1R)-(+)- β -Pinen	21	21	14
(1S)-(-)- β -Pinen	79	79	86
(4R)-(+)-Limonen	82	66	80
(4S)-(-)-Limonen	18	34	20
(2R)-(+)- α - Bisabolol	-	-	-
(2S)-(-)- α -Bisabolol	100	100	100
(1S,3R,5S)-(+)- <i>trans</i> -Pinokarveol	13	7	21
(1R,3S,5R)-(-)- <i>trans</i> -Pinokarveol	87	93	79
(4R)-(+)-Terpinen-4-ol	61	57	66
(4S)-(-)-Terpinen-4-ol	39	43	34
(1R,2S,4R)-(+)-Borneol	-	-	-
(1S,2R,4S)-(-)-Borneol	100	100	100

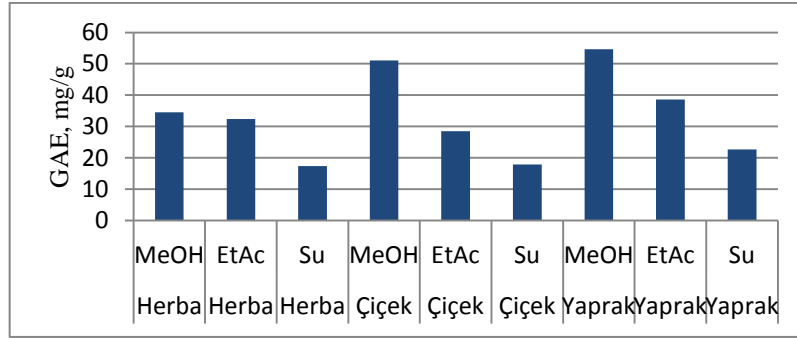
Kaynak taraması sırasında çok az sayıda *Achillea* türleri üzerine yapılmış enantiyomer araştırma sonuçlarına rastlandı. *A. falcata* ve *A. linguistica* uçucu yağlarındaki enantiyomer bileşiklerinin dağılımı sadece kafur, α -pinen, β -pinen, ve terpinen-4-ol için rapor edilmiştir (Kurkcuoglu ve ark., 2003; Filippi ve ark., 2006).

Sabit yağ analizleri sonucunda çiçekte % 99.7'yi oluşturan 16 ve yaprakta % 97.7'yi oluşturan 13 yağ asidi tespit edildi. Linoleik (%26.9), palmitik (%22.2) ve oleik (%20.9) asitleri çiçeğin ana bileşiklerini oluşturmaktadır. Yaprak sabit yağ asitleri linolenik (%56.2), linoleik (%16.9) ve palmitik (%17.3) asitle temsil edilmektedir.

MSD-SPME tekniği çok az miktarda olan numunelerden uçucu bileşikleri kısa sürede izole ederek GC ve GC/MS teknikleri ile analiz edebilmek için geliştirilmiştir. Tekniğin çeşitli uygulama yöntemleri farklı kaynaklı numuneler (Toprak, biyolojik örnekler vb.) için kullanılmaktadır (Tellez ve ark., 2004).

Kombine MSD-SPME tekniği ile *A. sivasica* değişik kısımlarından çok az bitki miktarı kullanılarak (0.3 g) ve çok kısa süre içinde (8 dk) uçucu bileşenleri ekstre edilerek analiz edildi. Çiçek, yaprak ve kök kısımlarından elde edilen uçucu bileşenlerin kimyasal kompozisyonlarının sırasıyla %95.6, %99.9 ve %68.7'ini temsil eden 18, 16, 7 tane bileşik tanımlandı.

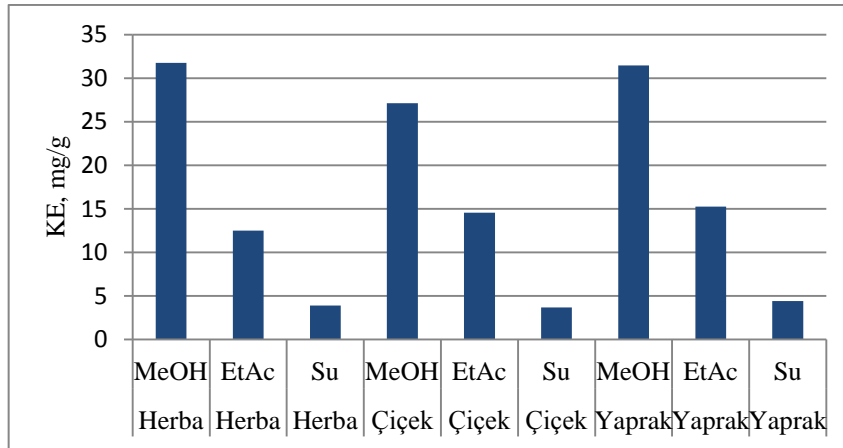
Bu teknikte elde edilen çiçek uçucu bileşenlerinde (*Z*)- β -farnesen (%25.9), dekanolik asit (%10.1), β -ödesmol (%8.0) ve 1,8- sineol (%5.3) ana bileşikler olarak tespit edildi. Yaprakta tespit edilen uçucu bileşenlerde (*E*)-geranil aseton (%10.5), dekanolik asit (%10.1), 1,8-sineol (%9.6) ve longiverbenon (%7.9) ana bileşikler olarak saptandı. Kök kısımlarından elde edilen bileşen longiverbenon (%14.1), hegzadekanolik asit (%15.1), 1-dekanol (%12.5) ve nonanol (%12.1) bulundu.



Şekil 31. *Achillea sivasica* Değişik Kısımlarındaki Toplam Fenol Bileşiklerinin Dağılımı

A. sivasica ekstralarında toplam fenol miktarı Folin-Ciocalteu reaktifi ile tayin edilerek indirgeme kapasitesi hakkında bilgi edinildi. *A. sivasica* değişik kısımlarından farklı polaritedeki çözücüler ile elde edilen ekstralarda en yüksek toplam fenol miktarı yaprak metanollü ekstrede (GAE mg/g 54.7), çiçek metanollü esstrede (GAE mg/g 51.1) ve yaprak etilasetatlı ekstrede (GAE mg/g 38.6) tespit edildi. Sulu ekstralarda en düşük fenol miktarı saptandı (Şekil 32).

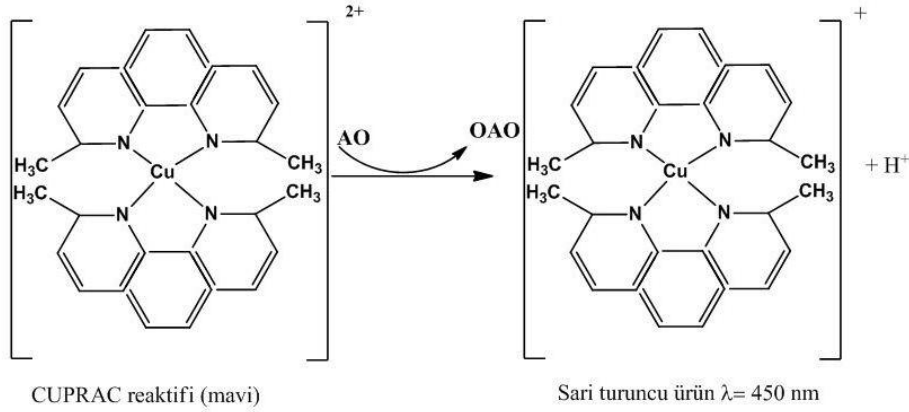
Ekstrelerde bulunan flavonoit yapıdaki bileşiklerin miktarı kersetine eşdeğer olarak saptandı. *A. sivasica* değişik kısımlarındaki toplam flavonoit bileşiklerinin dağılımı Şekil 33'te gösterilmiştir. Bitkinin tüm kısımlarından metanol ile elde edilen ekstraların flavonoit açısından en zengin olduğu görüldü (KE mg/g, 31.7-27.1). Bu grubu takip eden ikinci sırada etil asetatlı ekstralar (KE mg/g 15.3-12.5). En düşük flavonoit miktarı ise sulu ekstralarda görüldü (KE mg/g 3.7).



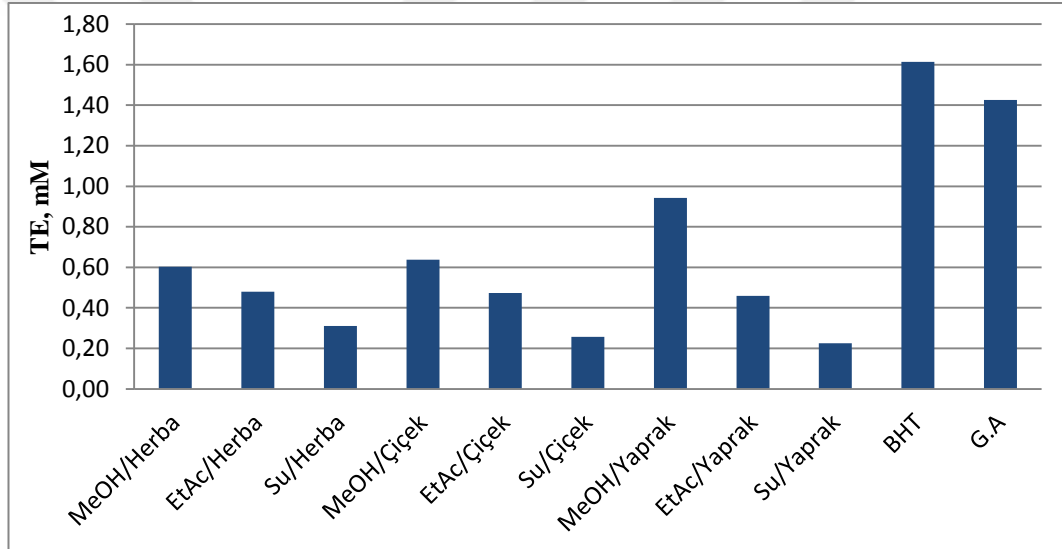
Şekil 32. *Achillea sivasica* Değişik Kısımlarındaki Toplam Flavonoit Bileşiklerinin Dağılımı

A. sivasica uçucu yağ ve ekstraların antioksidan aktivitesi iki farklı yöntemle ele alındı. CUPRAC deneyinde numunelerin bakır redüklenme etkisi elektron indirgenmesi ile oluşan renk değişimi şeması Şekil 33'te gösterilmiştir.

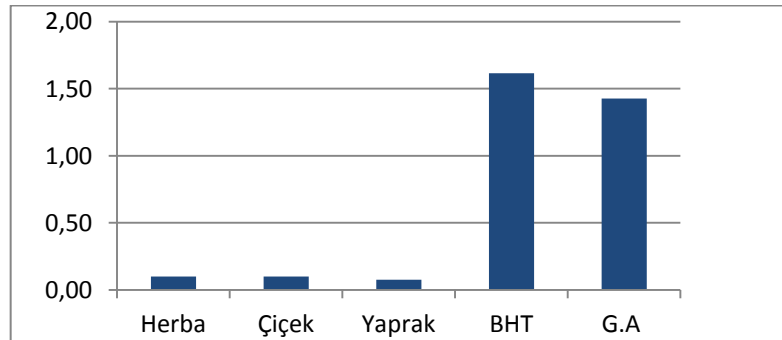
β -karoten soldurma deneyi numunelerin lipid peroksidasyonunu inhibe etme kapasitesi spektrofotometrik yöntem ile tayin edildi.



Şekil 33. CUPRAC Deneyinde Gerçekleşen Reaksiyon (AO: antioksidan OAO: oksitlenmiş antioksidan)



Şekil 34. Achillea sivasica Ekstrelerinin CUPRAC Deneyinde Etkileri

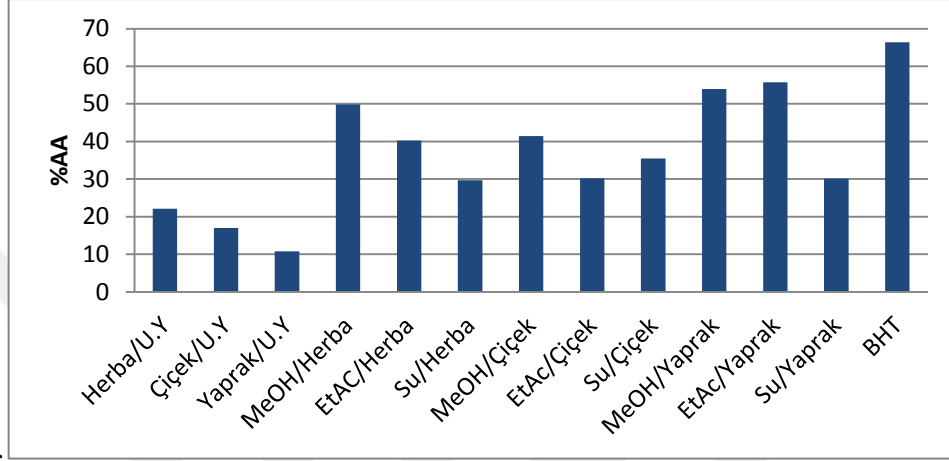


Şekil 35. Achillea sivasica Uçucu Yağlarının CUPRAC Deneyinde Etkileri

CUPRAC testinde metanollü yaprak ve çiçek ekstraktları en güçlü aktivite sergiledi (**Şekil 34**). Sulu ekstraktların ise indirgeyici özellikleri en düşük olarak saptandı. Ancak uçucu yağların kaydedeğer etkiye sahip olmadığı tespit edildi (**Şekil 35**).

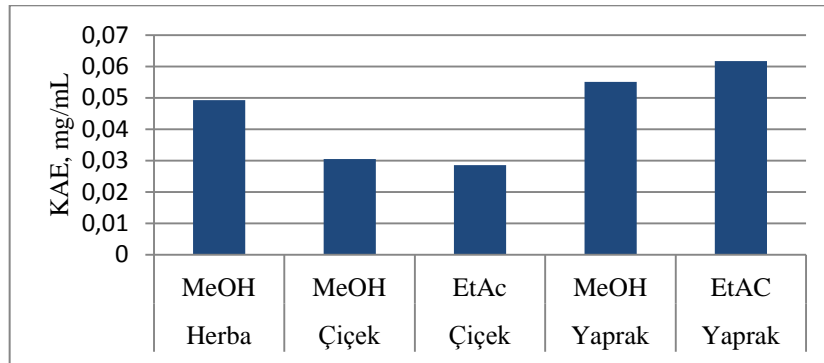
β -Karoten soldurma testinde Ekstre ve uçucu yağların toplam antioksidan aktivite kapasitesi linoleik asidin peroksidasyonunu inhibe etme gücüne göre belirlendi. *A. sivasica* yaprak etilasetatlı ve metanollü ekstrelerin en yüksek antioksidan aktiviteye (% 55.8 ve % 53.9) sahip olduğu görüldü. İkinci sırada ise herba ve çiçek kısmından metanollü ekstreler yer almaktadır (% 49.9 ve % 41.5).

A. sivasica uçucu yağların peroksidasyonu inhibe etme etkisi en düşük olduğu görüldü (% 22-10) (Şekil 36).



Şekil 36. *Achillea sivasica* Ekstre ve Uçucu Yağlarının Lipid Peroksidasyonunu İnhibe Etme Etkileri

Uçucu yağ ve ekstrelerin melanogenezis prosesleri üzerine olan etkileri tirozinaz enzimini inhibe etme etkisine göre değerlendirildi. Değerlendirme sonuçları kojik asite eşdeğer (KAE, mg/mL) olarak hesaplandı. Ekstrelerin arasında *A. sivasica* yaprak etilasetatlı, metanollü ve herba metanollü ekstreleri en etkin antitirozinaz etki gösterdi (0.06-0.05 KAE mg/mL) (Şekil 37). *A. sivasica* sulu ekstrelerinin ve uçucu yağların inaktif olduğu saptandı.



Şekil 37. *Achillea sivasica* Ekstrelerinin Tirozinaz Enzimi Üzerine Etkileri

Ekstrelerin tirozinaz enzimi üzerine gösterdiği etki incelendiği zaman, antioksidan etkili olan ekstrelerinin çoğunun antitirozinaz özelliği çoğunlukla antioksidan etkili olan ekstreler gösterdi.

Numunelerin gösterdiği antioksidan etkileri ekstrelerde bulunan toplam fenol ve toplam flavonoid miktarları ile karşılaştırıldığı zaman aradaki korelasyon ortaya çıktı. En yüksek miktarda toplam fenol ve toplam flavonoid taşıyan yaprak metanollü ve etil asetatlı ekstreleri aynı zamanda en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu görüldü. Bununla birlikte düşük miktarda fenol ve flavonoid içeren sulu ekstrelerin de zayıf antioksidan etkilere sahip olduğunu görebiliriz. Bu sonuçlar ekstrelerin antioksidan özelliklerinin içerdikleri fenolik ve flavonoid bileşiklerden kaynaklandığını ifade etmektedir.



SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada Türkiye'nin endemik bitkisi olan *Achillea sivasica* herba, yaprak, ve çiçek kısımlarından konvansiyonel hidrodistilasyon yöntemi ile ve modern MSD-SPME tekniği ile uçucu bileşenler elde edilerek kimyasal kompozisyonları incelendi. Sıvı-Sıvı ekstraksiyon yöntemiyle sabit yağ asitleri elde edilerek metil esterleri kompozisyonları araştırıldı. Enantiyomer uçucu bileşiklerin enantiyomerik oranları şıral kolonda analiz edilerek tespit edildi. Uçucu bileşenlerin kompozisyonları gaz kromatografik teknikler ile aydınlatıldı. Bitkinin herba, çiçek ve yaprak uçucu yağlarında oksijenli monoterpen bileşikler ağırlıklı olarak bulundu. Ana temsilcilerin arasında toprak üstü kısım, çiçek ve yaprak kısmında sırasıyla α -pinen(%11.5, %9.3, %6.7) , β -pinen (%7.0, %3.0, %6.9) saptandı. Oksijenli monoterpenler grubunda 1,8 sineol (%18, %22.1, %6.7) ve kafur (%7.6, %4.1, %9.0) ana bileşik olarak bulundu. Seskiterpen yapıdaki bileşenler α -bisabolol (%7.5, %4.3, %6.6) , germakren D (%4.8, %3.5, %2.0) ve β -ödesmol (% 3.1, %3.9, %3.6) ile temsil edilmektedir.

MSD-SPME tekniği ile elde edilen uçucu bileşenlerde; çiçekte (*Z*)- β -farnesen %23.9 , dekanolik asit %10.1 , β -ödesmol %8 ve 1,8-sineol 5.3 , yaprakta kafur %10.2, (*E*)-Geranil aseton %10.5, 1,8 sineol %9.6, ve kökte ise palmitik asit %15.1, longiverbenon %14.14 , 1-dekanol %12.5 ve nonanol %12.1 tespit edildi.

Yağlardaki bazı enantiyomer bileşenlerin enantiyomerik oranları tespit edildi. Yağlarda (-)- α -bisabolol ve (-)-borneol'ün saf halinde ancak α -pinen, β -pinen, limonen, trans-pinokarveol, terpinen-4-ol için her iki enantiyomerin de bulunduğu saptandı.

Yağ asitlerden linoleik %26.9 , palmitik %22.2 ve oleik %20.9 asitler çiçekte, linolenik %56.2, linoleik %16.9 ve palmitik %17.3 asitler ise yaprakta yüksek miktarda bulundu.

Farklı polaritede ki çözücüler ile *A. sivasica* farklı kısımlarından elde edilen ekstrelerde toplam fenolik ve toplam flavonoit bileşiklerin miktar tayinleri gerçekleştirildi. Bitkinin uçucu yağı ve ekstrelerinin Bakır indirgeme antioksidan kapasitesi ve lipit peroksidasyonu inhibe etme kapasitesi değerlendirildi. Karşılaştırmalı analiz sonucunda metanollü ve etilasetatlı ekstrelerin antioksidan aktivite gösterdiği tespit edildi. Ancak uçucu yağ ve sulu ekstrelerin çok düşük etkili olduğu saptandı. Ekstrelerin antioksidan aktivitesi ve toplam fenol ve flavonoit miktarları arasındaki korelasyon değerlendirildi.

Bitkinin uçucu yağ ve ekstrelerinin antimelanogenezis özellikleri tirozinaz enzimini inhibe etme etkisine göre değerlendirildi. Antioksidan etkili olan ekstrelerin antitirozinaz aktiviteli olduğu gözlemlendi. Uçucu yağların ve sulu ekstrelerin enzim üzerine etkili olmadığı tespit edildi. Araştırma kapsamında *Achillea sivasica* uçucu bileşenleri ve sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonları, enantiyomerik bileşiklerin oranları, içerdiği toplam fenol ve flavonoit miktarları, antioksidan özellikleri ve antitirozinaz etkileri ilk kez rapor edildi.

KAYNAKLAR

- Agar, O.T., Dikmen, M., Ozturk, N., Yilmaz, M.A., Temel, H., Turkmenoglu, F.P., Comparative studies on phenolic composition, antioxidant, wound healing and cytotoxic activities of selected *Achillea* L. species growing in Turkey, *Molecules*, 20(10), 17976-18000 (2015).
- Agnihotri, V.K., Lattoo, S.K., Thappa, R.K., Kaul, P., Qazi, G.N., Dhar, A.K., Saraf, A., Kapahi, B.K., Saxena, R.K., Agarwal, S.G., Chemical variability in the essential oil components of *Achillea millefolium* Agg. from different Himalayan habitats (India), *Planta Med.*, 71(3), 280-283 (2005).
- Akcin, A., Akcin, T.A., Seyis, F., Coban, A.Y., Durupinar, B., Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of the Turkish endemic species *Achillea phrygia* Boiss. & Bal., *J. Essent. Oil Bear. Pl.*, 17(2), 219-227 (2014).
- Akhtar, M., Iqbal, L., Lateef, M., Nawab, B., Saleem, M., Afza, N., Bio-reactive properties of citrus waste: An investigation of antioxidant and tyrosinase inhibitory activities, *Pak. J. Bot.*, 43(6), 2881-2883 (2011).
- Akkol, E.K., Koca, U., Pesin, I., Yilmazer, D., Evaluation of the wound healing potential of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae) by *in vivo* excision and incision models, *Evid-Based Compl. Alt.*, 7p (2011).
- Al-Jaber, H.I., Hammad, H.M., Al-Qudah, M.A., Abaza, I.F., Al-Humaidi, J.Y.G., Abu-Zarga, M.H., Afifi, F.U., Volatile oil composition and antiplatelet activity of Jordanian *Achillea biebersteinii* collected at different growth stages, *J. Essent. Oil Bear. Pl.*, 17(4), 584-598 (2014).
- Albayrak, S., The volatile compounds and bioactivity of *Achillea sieheana* Stapf. (Asteraceae), *Iran. J. Pharm. Res.*, 12(1), 37-45 (2013).
- Alfatemi, S.M.H., Rad, J.S., Rad, M.S., Mohsenzadeh, S., da Silva, J.A.T., Chemical composition, antioxidant activity and *in vitro* antibacterial activity of *Achillea wilhelmsii* C. Koch essential oil on methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* spp., *3 Biotech.*, 5(1), 39-44 (2015).
- Ali, N., Shah, S.W.A., Ahmed, G., Shah, I., Shoaib, M., Junaid, M., Ali, W., Acute toxicity and antispasmodic activities of *Achillea wilhelmsii* C. Koch, *Pak. J. Pharm. Sci.*, 27(2), 309-315 (2014).
- Altundağ, E., Öztürk, M., Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey, *Proc. Soc. Behav. Sci.*, 19, 756-777 (2011).
- Andeani, J.K., Kazemi, H., Mohsenzadeh, S., Safavi, A., Biosynthesis of gold nanoparticles using dried flowers extract of *Achillea wilhelmsii* plant, *Dig. J. Nanomater. Bios.*, 6(3), 1011-1017 (2011).
- Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., Celik, S.E., Mechanism of antioxidant capacity assays and the Cuprac (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay, *Microchim Acta.*, 160, 413-419 (2008).
- Asanuma, M., Miyazaki, I., Ogawa, N., Dopamine-or L-Dopa-induced neurotoxicity: The role of dopamine quinone formation and tyrosinase in a model of Parkinson's disease, *Neurotox. Res.*, 5(3), 165-176 (2003).

- Aslan, S., Evren, H., Konuklugil, B., Turkoglu, I., Kartal, M., Essential oil composition of *Achillea teretifolia* from Turkey, *Chem. Nat. Compd.*, 45(2), 274-275 (2009).
- Azaz, A.D., Arabaci, T., Sangun, M.K., Essential oil composition and antimicrobial activities of *Achillea biserrata* M. Bieb. and *Achillea salicifolia* Besser subsp *salicifolia* collected in Turkey, *Asian J. Chem.*, 21(4), 3193-3198 (2009).
- Azaz, A.D., Arabaci, T., Sangun, M.K., Yildiz, B., Composition and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of *Achillea wilhelmsii* C. Koch. and *Achillea lycaonica* Boiss & Heldr., *Asian J. Chem.*, 20(2), 1238-1244 (2008).
- Bader, A., Panizzi, L., Cioni, P.L., Flamini, G., *Achillea ligustica*: Composition and antimicrobial activity of essential oils from the leaves, flowers and some pure constituents, *Cent. Euro. J. Biol.*, 2(2), 206-212 (2007).
- Baek, S.-H., Nam, I.-J., Kwak, H.S., Kim, K.-C., Lee, S.-H., Cellular anti-melanogenic effects of a euryale ferox seed extract ethyl acetate fraction via the lysosomal degradation machinery, *Int. J. Mol. Sci.*, 16, 9217-9235 (2015).
- Baharara, J., Namvar, F., Ramezani, T., Mousavi, M., Mohamad, R., Silver nanoparticles biosynthesized using *Achillea biebersteinii* flower extract: Apoptosis induction in mcf-7 cells via caspase activation and regulation of bax and bcl-2 gene expression, *Molecules*, 20(2), 2693-2706 (2015).
- Bali, E.B., Acik, L., Elci, P., Sarper, M., Avcu, F., Vural, M., In vitro anti-oxidant, cytotoxic and pro-apoptotic effects of *Achillea teretifolia* willd extracts on human prostate cancer cell lines, *Pharmacogn. Mag.*, 11(44), 308-315 (2015).
- Barghamadi, A., Mehrdad, M., Sefidkon, F., Yamini, Y., Khajeh, M., Comparison of the volatiles of *Achillea millefolium* L. Obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods, *J. Essent. Oil Res.*, 21(3), 259-263 (2009).
- Baris, D., Kizil, M., Aytakin, C., Kizil, G., Yavuz, M., Ceken, B., Ertekin, A.S., In vitro antimicrobial and antioxidant activity of ethanol extract of three *Hypericum* and three *Achillea* species from Turkey, *Int. J. Food Prop.*, 14(2), 339-355 (2011).
- Baris, Ö., Gulluce, M., Sahin, F., Özer, H., Kilic, H., Ozkan, H., Sökmen, M., Özbek, T., Biological activities of the essential oil and methanol extract of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae), *Turk. J. Biol.*, 30(2), 9p (2006).
- Baser, K.H.C., Demirci, B., Demirci, F., Kocak, S., Akinci, C., Malyer, H., Güleriyüz, G., Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea multifida*, *Planta Med.*, 68(10), 941-943 (2002).
- Baser, K.H.C., Demirci, B., Duman, H., Aytac, Z., Adigüzel, N., Composition of the essential oil of *Achillea gonioccephala* Boiss. et Bal. from Turkey, *J. Essent. Oil Res.*, 13(4), 219-220 (2001).
- Baser, K.H.C., Demirci, B., Kaiser, R., Duman, H., Composition of the essential oil of *Achillea phrygia* Boiss. et Ball, *J. Essent. Oil Res.*, 12(3), 327-329 (2000).

Baytop , A., Farmasötik Botanik Ders Kitabı, İstanbul Üniv.Yayınları.,İstanbul, 1983.

Baytop, T., Türkiye'de bitkiler ile tedavi geçmişte ve bugün, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, 1999.

Bekhechi, C., Bekkara, F.A., Casanova, J., Tomi, F., Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea odorata* L. Subsp. *Pectinata* (Lamk) var. *microphylla* (Willd.) Willk. from Northwestern Algeria, J. Essent. Oil Res., 23(3), 42-46 (2011).

Benedec, D., Vlase, L., Oniga, I., Mot, A.C., Damian, G., Hanganu, D., Duma, M., Silaghi-Dumitrescu, R., Polyphenolic composition, antioxidant and antibacterial activities for two Romanian subspecies of *Achillea distans* Waldst. et Kit. ex Willd., Molecules, 18(8), 8725-8739 (2013).

Benedek, B., Gjoncaj, N., Saukel, J., Kopp, B., Distribution of phenolic compounds in middleeuropean taxa of the *Achillea millefolium* L. Aggregate, Chem. Biodivers., 4(5), 849-857 (2007).

Benetis, R., Radusiene, J., Janulis, V., Variability of phenolic compounds in flowers of *Achillea millefolium* wild populations in Lithuania, Med. Lith., 44(10), 775-781 (2008).

Bezic, N., Dunkic, V., Radonic, A., Antibacterial activity of *Achillea clavennae* essential oil against respiratory tract pathogens, Fitoterapia, 75(7/8), 4p (2004).

Bezic, N., Skocibusic, M., Dunkic, V., Radonic, A., Composition and antimicrobial activity of *Achillea clavennae* L. Essential oil, Phytother. Res., 17(9), 1037-1040 (2003).

Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A., Akpulat, H.A., Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium subsp millefolium* Afan. (Asteraceae), J. Ethnopharmacol., 87(2-3), 215-220 (2003).

Cekic, B., Kilcar, A.Y., Muftuler, F.Z.B., Unak, P., Medine, E.I., Radiolabeling of methanol extracts of yarrow (*Achillea millefolium* L.) in rats, Acta Cir. Bras., 27(5), 294-300 (2012).

Chang, C.T., Chang, W.L., Hsu, J.C., Shih, Y., Chou, S.T., Chemical composition and tyrosinase inhibitory activity of *Cinnamomum casia* essential oil, Bot. Stud., 54(10),7p (2013).

Coşkun, O., Kanter, M., Korkmaz, A., Oter, S., Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas, Pharmacol. Res., 51(2), 117-123 (2005).

Csupor-Loffler, B., Hajdu, Z., Zupko, I., Rethy, B., Falkay, G., Forgo, P., Hohmann, J., Antiproliferative effect of flavonoids and sesquiterpenoids from *Achillea millefolium* L. on cultured human tumour cell lines, Phytother. Res., 23(5), 672-676 (2009).

Çelik, N., Akpulat, A., *Achillea sivasica* (Asteraceae: Sect. Babounya (DC.) O. Hoffm.), a new species from inner Anatolia, Turkey, the board of trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew., 63, 485-489 (2008).

- Dadkhah, A., Fatemi, F., Alipour, M., Ghaderi, Z., Zolfaghari, F., Razdan, F., Protective effects of Iranian *Achillea wilhelmsii* essential oil on acetaminophen-induced oxidative stress in rat liver, *Pharm. Biol.*, 53(2), 220-227 (2015).
- Dall'Acqua, S., Bolego, C., Cignarella, A., Gaion, R.M., Innocenti, G., Vasoprotective activity of standardized *Achillea millefolium* extract, *Phytomed.*, 18(12), 1031-1036 (2011).
- Davis P., H., *Flora of Turkey and the East Aegan Islands*, Edinburg University Press, 5, 1-906 1975.
- de Souza, P., Gasparotto, A., Crestani, S., Stefanello, M.E.A., Marques, M.C.A., da Silva-Santos, J.E., Kassuya, C.A.L., Hypotensive mechanism of the extracts and artemetin isolated from *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) in rats, *Phytomed.*, 18(10), 819-825 (2011).
- Demirci, B., Gürbüz, I., Yeşilada, E., Baier, K.H.C., Characterization and biological activity of *Achillea teretifolia* Willd. and *A. nobilis* L. subsp. *neilreichii* (Kerner) Formanek essential oils, *Turk. J. Biol.*, 33(2), 8p (2009).
- Demirel, M.A., Suntar, I., Ilhan, M., Keleş, H., Akkol, E.K., Experimental endometriosis remission in rats treated with *Achillea biebersteinii* Afan.: Histopathological evaluation and determination of cytokine levels, *Eur. J. Obstet. Gyn. R B.*, 175, 172-177 (2014).
- Dias, M.I., Barros, L., Duenas, M., Pereira, E., Carvalho, A.M., Alves, R.C., Oliveira, M.B.P.P., Santos-Buelga, C., Ferreira, I.C.F.R., Chemical composition of wild and commercial *Achillea millefolium* L. and bioactivity of the methanolic extract, infusion and decoction, *Food Chem.*, 141(4), 4152-4160 (2013).
- Donmez, E., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Composition of the essential oil of *Achillea schischkinii* Sosn. (Asteraceae) from Turkey, *J. Essent Oil Res.*, 17(5), 575-576 (2005).
- EDQM, Determination of essential oils in vegetable drugs, European Directorate for the Quality of Medicines, Strasburg, 2005.
- Ertas, A., Boga, M., Haşimi, N., Yesil, Y., Gören, A.C., Topcu, G., Kolak, U., Antioxidant, anticholinesterase, and antimicrobial activities and fatty acid constituents of *Achillea cappadocica* Hausskn. et Bornm., *Turk. J. Chem.*, 38(4), 592-599 (2014).
- Filippi, J.J., Lanfranchi, D.A., Prado, S., Baldovini, N., Meierhenrich, U.J., Composition, enantiomeric distribution, and antibacterial activity of the essential oil of *Achillea ligustica* All. from Corsica, *J. Agr. Food Chem.*, 54(17), 6308-6313 (2006).
- Folch, J., Lees, M., G.H.S., S., A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues, *J. Biol. Chem.*, 226, 497-509 (1957).
- Fujita, T., Sezik, E., Tabata, M., Yesilada, E., Honda, G., Takeda, Y., Tanaka, T., Takaishi, Y., Traditional medicine in Turkey VII. Folk medicine in middle and west black sea regions, *Econ Bot.*, 49(4), 406-422 (1995).
- Funk, V.A., Bayer, R.J., Keeley, S., Chan, R., Watson, L., Gemeinholzer, B., Schilling, E., Panero, J.L., Baldwin, B.G., Garcia-Jacas, N., Susanna, A., Jansen,

- R.K., Everywhere but antarctica: using a supertree to understand the diversity and distribution of the compositae, *Biol. Skr.*, 55, 343-374 (2005).
- Garcia, S., José L Panero, Jiri Siroky, Kovarik, A., Repeated reunions and splits feature the highly dynamic evolution of 5s and 35s ribosomal rna genes (rdna) in the Asteraceae family, *BMC Plant Biol.*, 10(176) (2010).
- Giorgi, A., Madeo, M., Speranza, G., Cocucci, M., Influence of environmental factors on composition of phenolic antioxidants of *Achillea collina* Becker ex rchb., *Nat Prod Res.*, 24(16), 1546-1559 (2010).
- Gögüs, F., Ozel, M.Z., Lewis, A.C., Extraction of essential oils of leaves and flowers of *Achillea monocephala* by superheated water, *Flavour Frag. J.*, 21(1), 122-128 (2006).
- Guo, Y.P., Ehrendorfer, F., Samuel, R., Phylogeny and systematics of *Achillea* (Asteraceae-Anthemideae) inferred from nrITS and plastid trnL-f DNA sequences, *Taxon.*, 53(3), 657-672 (2004).
- Gulpınar, A.R., Orhan, I.E., Kan, A., Senol, F.Z., Estimation of in vitro neuroprotective properties and quantification of rutin and fatty acids in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) cultivated in Turkey, *Food Res. Int.*, 46, 536-543 (2012).
- Hasimi, N., Kızıl, S., Tolan, V., Essential oil components, microelement contents and antioxidant effects of *Nepeta italica* L. and *Achillea filipendulina* Lam., *J Essent Oil Bear Pl.*, 18(3), 678-686 (2015).
- Honda, G., Yesilada, E., Tabata, M., Sezik, E., Fujita, T., Takeda, Y., Tanaka, T., Traditional medicine in Turkey VI. Folk medicine in west Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces, *J. of Ethnoph.* 53, 75-87 (1996).
- Huang, D., Ou, B., Prior, R., L., The chemistry behind antioxidant capacity assays, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 1841-1856 (2005).
- Huber-Morath, A., *Achillea* L., Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Davis P., H., Edinburgh University Press. Edinburgh, 224-252, 1975.
- Iscan, G., Kırimer, N., Kurkcuoglu, M., Arabaci, T., Kupeli, E., Baser, K.H.C., Biological activity and composition of the essential oils of *Achillea schischkinii* Sosn. and *Achillea aleppica* Dc. subsp *aleppica*, *J. Agr. Food Chem.*, 54(1), 170-173 (2006).
- Kasaj, D., Krenn, L., Prinz, S., Hufner, A., Haslinger, E., Yu, S.S., Kopp, B., Flavon- and flavonolglycosides from *Achillea pannonica* Scheele, *Zeitschrift Fur Naturforschung C- J. of Biosci.*, 56(7-8), 521-525 (2001).
- Kazemi, M., Rostami, H., Chemical composition and biological activities of Iranian *Achillea wilhelmsii* L. Essential oil: A high effectiveness against *Candida* spp. and *Escherichia* strains, *Nat. Prod. Res.*, 29(3), 286-288 (2015).
- Koçak, A., Bağcı, E., Bakoğlu, A., Chemical composition of essential oils of *Achillea teretifolia* Willd. and *A.millefolium* L. subsp *millefolium* growing in Turkey, *Asian J. Chem.*, 22(5), 3653-3658 (2010).

- Konyalıoğlu, S., Karamenderes, C., The protective effects of *Achillea* L. species native in Turkey against h₂o₂-induced oxidative damage in human erythrocytes and leucocytes, *J Ethnopharmacol.*, 102(2), 221-227 (2005).
- Kordali, S., Çakır, A., Akçin, T.A., Mete, E., Akçin, A., Aydın, T., Kılıç, H., Antifungal and herbicidal properties of essential oils and n-hexane extracts of *Achillea gypsicola* Hub-Mor. and *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae), *Ind. Crop. Prod.*, 29(2-3), 562-570 (2009).
- Koşar, M., Göğer, F., Başer, K.H.C., In vitro antioxidant properties and phenolic composition of *Salvia halophila* Hedge from Turkey, *Food Chem.*, 129(2), 374-379 (2011).
- Kotan, R., Çakır, A., Dadaşoğlu, F., Aydın, T., Çakmakçı, R., Özer, H., Kordali, S., Mete, E., Dikbaş, N., Antibacterial activities of essential oils and extracts of Turkish *Achillea satureja* and thymus species against plant pathogenic bacteria, *J Sci. Food Agr.*, 90(1), 145-160 (2010).
- Krenn, L., Miron, A., Pemp, E., Petr, U., Kopp, B., Flavonoids from *Achillea nobilis* L., *Zeitschrift Fur Naturforschung C-A J. of Biosci.*, 58(1-2), 11-16 (2003).
- Kubo, I., Chen, Q.X., Nihei, K., Molecular design of antibrowning agents: Antioxidative tyrosinase inhibitors, *Food Chem.*, 81(2), 241-247 (2003).
- Kubo, I., Kinst-Hori, I., Tyrosinase inhibitory activity of the olive oil flavor compounds, *J. Agr Food Chem.*, 47(11), 4574-4578 (1999).
- Kubo, I., Kinst-Hori, I., Kubo, Y., Yamagiwa, Y., Kamikawa, T., Haraguchi, H., Molecular design of antibrowning agents, *J. Agr. Food Chem.*, 48(4), 1393-1399 (2000).
- Kucukbay, F.Z., Kuyumcu, E., Arabacı, T., The essential oil of *Achillea boissieri*, *Chem. Nat Comp.*, 46(5), 824-825 (2010).
- Kucukbay, F.Z., Kuyumcu, E., Bilenler, T., Yıldız, B., Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Achillea cretica* L. (Asteraceae) from Turkey, *Nat. Prod. Res.*, 26(18), 1668-1675 (2012).
- Kucukbay, F.Z., Kuyumcu, E., Günal, S., Arabacı, T., Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea formosa* subsp *amanica*, *Chem. Nat. Comp.*, 47(2), 300-302 (2011).
- Kurkcuoglu, M., Demirci, B., Tabanca, N., Ozek, T., Başer, K.H.C., The essential oil of *Achillea falcata* L., *Flavour Frag J.*, 18(3), 192-194 (2003).
- Lagouri, V., Blekas, G., Tsimidou, M., Kokkini, S., Boskou, D., Composition and antioxidant activity of essential oils from oregano plants grown wild in greece, *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 197(1), 20-23 (1993).
- Lee, K., Kim, B., Kim, J., Heo, M., Kim, H., Biological screening of 100 plant extracts for cosmetic use (i): Inhibitory activities of tyrosinase and dopa auto oxidation, *Int. J. Cosmetic Sci.*, 19(6), 291-298 (1997).
- Lee, M.C., Tyrosinase inhibitor extract, Google Patents.(2006).

- Marco, G.J., A rapid method for evaluation of antioxidants, J. of the American Oil Chem. Soci., 45(9), 594-598 (1968).
- Magiatis, P., Skaltsounis, A., L., Chinov, I., Haroutounian, S.,A., Chemical composition and *in-vitro* antimicrobial activity of the essential oils of three Greek *Achillea* species, Z. Naturforsch., 57c, 287-290 (2002).
- Masuda, T., Yamashita, D., Takeda, Y., Yonemori, S., Screening for tyrosinase inhibitors among extracts of seashore plants and identification of potent inhibitors from *Garcinia subelliptica*, Biosci. Biotech. Bioch., 69(1), 197-201 (2005).
- Miliauskas, G., Venskutonis, P., Van Beek, T., Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts, Food Chem., 85(2), 231-237 (2004).
- Milosavljevic, S., Macura, S., Stefanovic, M., Aljancic, I., Milinkovic, D., Sesquiterpene lactones from *Achillea crithmifolia*, J. Nat. Prod., 57(1), 64-67 (1994).
- Mirahmadi, S.F., Sefidkon, F., Hassandokht, M.R., Hassani, M.E., Essential oil content and composition of *Achillea biebersteinii* Afan. in different plant parts and phenological stages, J. Essent. Oil Res., 24(1), 25-29 (2012).
- Miura, K., Kikuzaki, H., Nakatani, N., Antioxidant activity of chemical components from Sage (*Salvia officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) measured by the oil stability index method, J. Agr. Food Chem., 50(7), 1845-1851 (2002).
- Moradi, M.T., Rafieian-Koupaei, M., Imani-Rastabi, R., Nasiri, J., Shahrani, M., Rabiei, Z., Alibabaei, Z., Antispasmodic effects of yarrow (*Achillea millefolium* L.) extract in the isolated ileum of rat, Afr. J. Tradit. Complem., 10(6), 499-503 (2013).
- Morrison, W.R., Smith, L.M., Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride–methanol, J. Lipid Res., 5(4), 600-608 (1964).
- Nenaah, G.E., Chemical composition, insecticidal and repellence activities of essential oils of three *Achillea* species against the Khapra beetle (Coleoptera: Dermestidae), J. Pest. Sci., 87(2), 273-283 (2014).
- Oosterhaven K., Hartmans K.J., Scheffer J.J.C, Inhibition of potato sprout growth by carvone enantiomers and their bioconversion in sprouts, Potato Res., 38, 219-230 (1995).
- Oosterhaven K., Leitao A. Ch., Gorris LG.M., Snid E.J., Comparative study on the action of (S)-(+)-carvone, in situ, on the potato storage fungi *Fusarium suplhureum*, J. Appl. Bacteriol., 80, 535-539 (1996).
- Ozek, T., Tabanca, N., Demirci, F., Wedge, D.E., Baser, K.H.C., Enantiomeric distribution of some linalool containing essential oils and their biological activities, Rec. Nat. Prod., 4(4), 180-192 (2010).
- Panchawat, S., Rathore, K.S., Sisodia, S.S., A review on herbal antioxidants, Int.J. Pharm.Tech. Res., 2(1), 232-239 (2010).

- Park, J., Yuk, H., Lee, C., Antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of different parts of oriental cherry (*Prunus serrulata* var. *Spontanea*), *Food Sci. Biotechnol.*, 21(2), 339-343 (2012).
- Peng, H.Y., Lin, C.C., Wang, H.Y., Shih, Y., Chou, S.T., The melanogenesis alteration effects of *Achillea millefolium* L. Essential oil and linalyl acetate: Involvement of oxidative stress and the jnk and erk signaling pathways in melanoma cells, *Plos One*, 9(4) (2014).
- Polatoglu, K., Karakoc, O.C., Gören, N., Phytotoxic, Dpph scavenging, insecticidal activities and essential oil composition of *Achillea vermicularis*, *A. teretifolia* and proposed chemotypes of *A. biebersteinii* (Asteraceae), *Ind. Crop. Prod.*, 51, 35-45 (2013).
- Potrich, F.B., Allemand, A., da Silva, L.M., dos Santos, A.C., Baggio, C.H., Freitas, C.S., Mendes, D.A.G.B., Andre, E., Werner, M.F.D., Marques, M.C.A., antiulcerogenic activity of hydroalcoholic extract of *Achillea millefolium* L.: Involvement of the antioxidant system, *J. Ethnopharmacol.*, 130(1), 85-92 (2010).
- Radulovic, N.S., Dekic, M.S., Randelovic, P.J., Stojanovic, N.M., Zarubica, A.R., Stojanovic-Radic, Z.Z., Toxic essential oils: Anxiolytic, antinociceptive and antimicrobial properties of the yarrow *Achillea umbellata* Sibth. Et sm. (Asteraceae) volatiles, *Food Chem. Toxicol.*, 50(6), 2016-2026 (2012).
- Rao, A.B., Prasad, E., Deepthi, S.S., Ansari, I.A., Synthesis and biological evaluation of glucosyl curcuminoids, *Arch. Pharm.*, 347(11), 834-839 (2014).
- Raven, P.H., Axelrod, D.I., Angiosperm biogeography and past continental movements, *Ann. Missouri Bot.*, 61(3), 539-973 (1974).
- Salarbashi, D., Bazzaz, B.S.F., Karimkhani, M.M., Noghabi, Z.S., Khanzadeh, F., Sahebkar, A., Oil stability index and biological activities of *Achillea biebersteinii* and *Achillea wilhelmsii* extracts as influenced by various ultrasound intensities, *Ind. Crop. Prod.*, 55, 163-172 (2014).
- Senatore, F., Napolitano, F., Arnold, N.A., Bruno, M., Herz, W., Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea falcata* L. (Asteraceae), *Flavour Frag. J.*, 20(3), 291-294 (2005).
- Seo, S.Y., Sharma, V.K., Sharma, N., Mushroom tyrosinase: Recent prospects, *J. Agric. Food Chem.*, 51, 2837-2853 (2003).
- Sevindik, H., Güvenalp, Z., Yerdelen, K.O., Yuca, H., Demirezer, L.O., Research on drug candidate anticholinesterase molecules from *Achillea biebersteinii* Afan. using by molecular docking and in vitro methods, *Med. Chem. Res.*, 24(11), 3794-3802 (2015a).
- Sevindik, H.G., Güvenalp, Z., Yerdelen, K.O., Yuca, H., Demirezer, L.O., The discovery of potential anticholinesterase compounds from *Achillea millefolium* L., *Ind. Crop. Prod.*, 76, 873-879 (2015b).
- Sezik, E., Yeşilada, E., Tabata, M., Honda, G., Takaishi Y., Fujita, T., Tanaka, T., Takeda, Y., Traditional medicine in Turkey VIII. Folk medicine in east Anatolia; Erzurum, Erzincan, Agri, Kars, Iğdir province, *Econ. Bot.*, 51, 195-211 (1997).

- Shafaghat, A., Pirfarshi, F., Shafaghatlonbar, M., Luteolin derivatives and antimicrobial activity of *Achillea tenuifolia* Lam. Methanol extract, *Ind. Crop. Prod.*, 62, 533-536 (2014).
- Silva, A.C.R., Lopes, P.M., Azevedo, M.M.B., Costa, D.C.M., Alviano, C.S., Alviano, D.S., *Molecules*, 17, 6305-6316 (2012).
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, *methods in enzymology*, San Diego,CA, 152-178 1999.
- Sokmen, A., Vardar-Unlu, G., Polissiou, M., Daferera, D., Sokmen, M., Donmez, E., Antimicrobial activity of essential oil and methanol extracts of *Achillea sintenisii* Hub. Mor. (Asteraceae), *Phytother Res.*, 17(9), 1005-1010 (2003).
- Stelmaszczyk-Kurz A., Kozłowska K., Brzozowska A., Substancje aromatyczne do żywności-bezpieczeństwo stosowania ich spożycia, *Pizem. Spoz.*, 4(24), 24-27 (1998)
- Stojanovic, G., Radulovic, N., Hashimoto, T., Palic, R., In vitro antimicrobial activity of extracts of four *Achillea* species: The composition of *Achillea clavennae* L. (Asteraceae) extract, *J. Ethnopharm.*, 101(1-3), 185-190 (2005).
- Tabanca, N., Özek, T., Başer, K.H.C., Vural, M., Composition of the essential oil of *Achillea sieheana* Stapf and the enantiomeric distribution of camphor, *J. Essent. Oil Res.*, 16(3), 180-181 (2004).
- Tellez, M.R., Khan, I.A., Schaneberg, B.T., Crockett, S.L., Rimando A.M., Kobaisu, M., Steam distillation–solid-phase microextraction for the detection of *Ephedra sinica* in herbal preparations, *J. Chromatogr. A*, 1025, 51–56 (2004).
- Tohme, R., Al Aaraj, L., Ghaddar, T., Gali-Muhtasib, H., Saliba, N.A., Darwiche, N., Differential growth inhibitory effects of highly oxygenated guaianolides isolated from the middle eastern indigenous plant *Achillea falcata* in hct-116 colorectal cancer cells, *Molecules*, 18(7), 8275-8288 (2013).
- Toker, Z., Özen, H.C., Clery, R.A., Owen, N.E., Essential oils of two *Achillea* species from Turkey, *J. Essent. Oil Res.*, 15(2), 100-101 (2003).
- Trumbeckaite, S., Benetis, R., Bumblauskiene, L., Burdulis, D., Janulis, V., Toleikis, A., Viskelis, P., Jakstas, V., *Achillea millefolium* L. s.l. herb extract: Antioxidant activity and effect on the rat heart mitochondrial functions, *Food Chem.*, 127(4), 1540-1548 (2011).
- Tuberoso, C.I.G., Kowalczyk, A., Coroneo, V., Russo, M.T., Dessi, S., Cabras, P., Chemical composition and antioxidant, antimicrobial and antifungal activities of the essential oil of *Achillea ligustica* All., *J.Agric. Food Chem.*, 53, 10148-10153 (2005)
- Tuberoso, C.I.G., Montoro, P., Piacente, S., Corona, G., Deiana, M., Dessi, M.A., Pizza, C., Cabras, P., Flavonoid characterization and antioxidant activity of hydroalcoholic extracts from *Achillea ligustica* All., *J. Pharmaceut. Biomed.*, 50(3), 440-448 (2009).
- Tuzlacı, E., Erol, M.K., Turkish Folk Medicinal Plants. Part II: Eğirdir (Isparta), *Fitoterp.*, 70, 593-610 (1999).

- Vazirinejad, R., Ayoobi, F., Arababadi, M.K., Eftekharian, M.M., Darekordi, A., Goudarzvand, M., Hassanshahi, G., Taghavi, M.M., Ahmadabadi, B.N., Kennedy, D., Shamsizadeh, A., Effect of aqueous extract of *Achillea millefolium* on the development of experimental autoimmune encephalomyelitis in c57bl/6 mice, *Indian J. Pharmacol.*, 46(3), 303-308 (2014).
- Vitalini, S., Beretta, G., Iriti, M., Orsenigo, S., Basilico, N., Dall'Acqua, S., Iorizzi, M., Fico, G., Phenolic compounds from *Achillea millefolium* L. and their bioactivity, *Acta Biochim. Pol.*, 58(2), 203-209 (2011).
- Wojdyło, A., Oszmiański, J., Czemerys, R., Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs, *Food Chem.*, 105(3), 940-949 (2007).
- Yang, Z., Wu, N., Zu, Y., Fu, Y., Comparative anti-infectious bronchitis virus (IBV) activity of (-)-pinene: Effect on nucleocapsid (N) protein, *Molecules*, 16, 1044-1054 (2011).
- Yazdanparast, R., Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts, *Food Chem.*, 104(1), 9p (2007).
- Yesil, Y., Akalin, E., Folk medicinal plants in Kürecik Area (Akçadağ/Malatya-Turkey), *Turkish J Pharmaceut. Sci.*, 1-20 (2009).
- Yılmaz, B.S., Altun, M.L., Orhan, I.E., Ergene, B., Citoğlu, G.S., Enzyme inhibitory and antioxidant activities of *Viburnum tinus* L. relevant to its neuroprotective potential, *Food Chem.*, 14, 582-588 (2013).