

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANTHEMIS WIEDEMANNIANA FISCH.&MEY.
ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Farmakognozi Programı
Doktora Tezi

Uzman Eczacı
Tuba GÖNENÇ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Bijen KIVÇAK

İZMİR
2009

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

Başkan:

Üye:

Üye:

Üye:

Üye:

Doktora Tezinin Kabul Edildiği Tarih:..

Bu çalışmayı planlayan ve danışmanlığını üstlenerek, değerli bilgi ve yardımları ile yöneten Prof. Dr. Bijen KIVÇAK'a,

Çalışmalarım sırasında ilgi ve yardımını esirgemeyen Prof. Dr. Mustafa Ali ÖNÜR'e,

Uçucu yağ analizleri için, laboratuvar imkanlarını bizimle paylaşan hocamız Prof. Dr. Kemal Hüsnü Can BAŞER'e

Spektral analizlerin yapılmasında, yardımını benden esirgemeyen mesai arkadaşım Aylin FİLLİK'e ve bu analizler için laboratuvarının imkanlarını bize sunan Atina Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Bölümü öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Eleni SKALTSA'ya,

Antimikrobiyal çalışmalar için Dr. Mustafa OSKAY'a

Çalışmalarıma mali destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) (Proje No:SBAG-GSRT-14(105S488), E.Ü. Araştırma Fonuna (Proje No:2004/ECZ/019),

Çalışmalarım esnasında beni sonsuz ilgi ve sevgisiyle destekleyen arkadaşım Tuğçe ERDOĞAN'a,

Aileme,

En içten teşekkürlerimi, sevgilerimi ve saygılarımı sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BÖLÜM I

GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Botanik Bölüm.....	5
2.1.1. Asteraceae (Compositae) Familyası.....	5
2.1.2. <i>Anthemis</i> L. Genusu	6
2.1.3. <i>Anthemis wiedemanniana</i> Fish.&Mey	7
2.2. Kimyasal Bölüm.....	9
2.2.1. Terpenoit Bileşikler	9
2.2.2. Seskiterpenoitler	14
2.2.3. Flavonoitler.....	23
2.2.3.1. Flavonoitlerin Biyosentezi	27
2.2.3.2. Ultraviyole Absorbsiyon Spektroskopisi ile Flavonol Yapı Tayini.....	29
2.2.4. Asetilenler (Alkinler).....	31
2.2.5. <i>Anthemis</i> Türlerinin Kimyasal Bileşimi Üzerinde Yapılan Çalışmalar	33
2.2.5.1. Seskiterpen laktonlar	33
2.2.5.2. Flavonoitler.....	60
2.2.5.3. Asetilenler.....	72
2.2.5.4. Steroidler	81
2.2.5.5. Terpenik Yapıdaki Bileşikler.....	81
2.2.5.6. Sabit yağlar	81
2.2.5.7. Diğer Fenolik Maddeler.....	81
2.2.5.8. Diğer Bileşikler.....	82

2.2.5.9. Uçucu Bileşikler	82
2.3. Biyolojik Aktivite Bölümü.....	83

BÖLÜM II

GEREÇ VE YÖNTEM

1. BOTANİK BÖLÜM	86
2. KİMYASAL BÖLÜM	87
2.1. Materyal	87
2.2. Yöntemler.....	87
2.2.1. Seskitepen Laktonların Tüketilmesi.....	87
2.2.2. Seskiterpen Laktonların İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi	88
2.2.3. Seskiterpen Laktonların Saflaştırılması.....	88
2.2.4. Saf Halde Elde Edilen Bileşiklerin Tanınması	90
2.2.5. Uçucu Bileşiklerin İzolasyonu ve Saptanması	90
3. BİYOLOJİK AKTİVİTE BÖLÜMÜ.....	91
3.1. Sitotoksik Aktivite Tayini	91
3.1.1. <i>Artemia salina</i> Leach Larvalarının Hazırlanışı	91
3.1.2. Test Çözeltilerinin Hazırlanışı.....	91
3.1.3. Deneyin Yapılışı.....	92
3.2. Mikrobiyolojik Aktivite Tayini	93
3.2.1. Ekstrelerin Hazırlanması	93
3.2.2. Test Mikroorganizmaları	93
3.2.3. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi.....	93

BÖLÜM III

DENEYLER

1. KİMYASAL BÖLÜM	94
1.1. Bileşiklerin İzolasyonu ve Yapı Aydınlatma Çalışmaları.....	94

1.1.1. Seskiterpen Lakton Ekstresinin Hazırlanması.....	94
1.1.2. Total Seskiterpen Lakton Ekstresindeki Bileşiklerin Ayrılması.....	95
1.1.3. Bileşiklerin Saflaştırılması	97
1.1.3.1. H1 Kodlu Fraksiyonun Saflaştırılması.	97
1.1.3.2. H2 Kodlu Fraksiyonun Saflaştırılması.	99
1.1.3.3. H3 Kodlu Fraksiyonun Saflaştırılması.	100
1.1.3.4. H4 Kodlu Fraksiyonun Saflaştırılması.	101
1.2. Uçucu Bileşiklerin İzolasyonu ve Saptanması.	103
1.2.1. Bitkisel Materyalin Hazırlanması.....	103
1.2.2. Uçucu Yağ Eldesi	103
1.2.3. GC/MS Analiz koşulları	104
2. BİYOLOJİK AKTİVİTE BÖLÜMÜ	104
2.1. Sitotoksik Aktivite Tayini	104
2.1.1. Brine Shrimp Yöntemi ile Sitotoksik Aktivite Tayini.....	105
2.2. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi.....	105
2.2.1. Disk Difüzyon Metodu	106
2.2.2. Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MIC) ve Minimum Bakterisidal konsantrasyon (MBC) Tayini	107

BÖLÜM IV

BULGULAR.

1. BOTANİK BÖLÜM.	108
1.1. Köke Ait İnceleme ve Bulgular	108
1.2. Gövdeye Ait İnceleme ve Bulgular	109
1.3. Yaprğa Ait İnceleme ve Bulgular	112
1.4. Çiçeğe Ait İnceleme ve Bulgular	115
1.5. Toz Droğa Ait İnceleme ve Bulgular	118
2. KİMYASAL BÖLÜM.	122
2.1. İzolasyonda Elde Edilen Bileşiklere Ait Bulgular.	122

2.1.1. AW9 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	122
2.1.2. AW11 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	131
2.1.3. AW15 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	134
2.1.4. AW22 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	141
2.1.5. AW24 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	151
2.1.6. AW27 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	154
2.1.7. AW28 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	161
2.1.8. AW30 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	169
2.2. Uçucu Bileşiklerin Saptanmasına Yönelik Çalışmalarda Elde Edilen Bulgular	172
3. BİYOLOJİK AKTİVİTE BÖLÜMÜ.....	175
3.1. Sitotoksik Aktivite Tayinine Ait Bulgular	175
3.2. Mikrobiyolojik Aktivite Tayinine Ait Bulgular	176
3.2.1. Disk Difüzyon Metoduna Ait Bulgular	176
3.2.2. MIC ve MBC Metodlarına Ait Bulgular	179

BÖLÜM V

TARTIŞMA

1. BOTANİK BÖLÜM.	180
2. KİMYASAL BÖLÜM	181
2.1. İzolasyon ve Yapı Aydınlatma Çalışmaları	181
2.1.1. AW9 (İSOTANCİLOİDE).....	181
2.1.2. AW11 (SALVİGENİN).....	185
2.1.3. AW15 (İSO-SECOTANAPARTHOLİDE).....	189
2.1.4. AW22 (3 α -kloro-4 β ,10 α -dihidroksi-1 β ,2 β epoksi-5 α ,7 α H-gaya-11(13)-en-12,6 α -olide)	193
2.1.5. AW 24 (5-Hidroksi-6,7,3',4'-tetrametoksiflavon	198
2.1.6. AW27 LOLİOLİDE (Calendin)	201
2.1.7. AW28 (1 β ,2 β -epoksi-3 β ,4 α ,10 α -trihidroksigayanolid)	205
2.1.8. AW30 EUPATORİN.....	210
2.2. Uçucu Bileşiklerin İzolasyonu ve Bileşenlerinin Tanımlanması	214

3. BİYOLOJİK AKTİVİTE BÖLÜMÜ.....	215
3.1. Sitotoksik Aktivite.....	215
3.2. Mikrobiyolojik Aktivite	216

BÖLÜM VI

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

SONUÇLAR VE ÖNERİLER	218
ÖZET.....	XII
ABSTRACT.....	XIV
KAYNAKLAR	222
ÖZGEÇMİŞ.....	246

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1:	Asetilkoenzim A'nın Doğal Bileşiklerin Sentezindeki Rolü1	11
Şekil 2:	Mevalonik Asit Oluşumu	12
Şekil 3:	İzoprenoit Bileşiklerin Biyosentezi.....	13
Şekil 4:	Germakranolitden Diğer Seskiterpen Laktonların Oluşumu.....	15
Şekil 5:	Germakrodien İskeleti Oluşumu	17
Şekil 6:	Lakton Halkasının Oluşumu	18
Şekil 7:	Flavonoitlerin Farklı İskelet Yapıları.....	25
Şekil 8:	Flavonoit Biyosentezi	28
Şekil 9:	Flavon Yapısı.	29
Şekil 10:	İsotanciloide Bileşiğine Ait ¹³ C NMR Bulguları	184
Şekil 11:	İsotanciloide Bileşiğine Ait ¹ H NMR Bulguları.	184
Şekil 12:	Salvigenine Bileşiğine Ait ¹ H NMR Bulguları.	187
Şekil 13:	İso-sekotanapartholide Bileşiğine Ait ¹³ C NMR Bulguları	192
Şekil 14:	İso-sekotanapartholide Bileşiğine Ait ¹ H NMR Bulguları.	192
Şekil 15:	3α-kloro-4β,10α-dihidroksi-1β,2β epoksi-5α,7αH-gaya-11(13)- en-12,6α-olid Bileşiğine Ait ¹³ C NMR Bulguları.....	197
Şekil 16:	3α-kloro-4β,10α-dihidroksi-1β,2β epoksi-5α,7αH-gaya-11(13)- en-12,6α-olid Bileşiğine Ait ¹ H NMR Bulguları.....	197
Şekil 17:	5-Hidroksi-6,7,3',4'-tetrametoksiflavon Bileşiğine Ait ¹ H NMR Bulguları.....	200
Şekil 18:	Loliolide Bileşiğine Ait ¹³ C NMR Bulguları	203
Şekil 19:	Loliolide Bileşiğine Ait ¹ H NMR Bulguları	203
Şekil 20:	1β,2β-epoksi-3β,4α, 10α-trihidroksigayanolid Bileşiğine Ait ¹³ C NMR Bulguları.	207
Şekil 21:	1β,2β-epoksi-3β,4α, 10α-trihidroksigayanolid Bileşiğine Ait ¹ H NMR Bulguları	208
Şekil 22:	Eupatorin Bileşiğine Ait ¹ H NMR Bulguları.	212

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1: Flavonoit Yapısı ve Renk Reaksiyonları.....	27
Tablo 2: Flavonoitlerin UV Spektroskopisindeki Absorbsiyon Bantları	28
Tablo 3: <i>Anthemis</i> Türlerinde İzole Edilmiş Seskiterpen Lakton Bileşikleri.....	34
Tablo 4: <i>Anthemis</i> Türlerinden İzole Edilmiş Flavonoit Bileşikleri.....	61
Tablo 5: Değişik Kaynaklarda Yer Almış Olan <i>Anthemis</i> Türleri ve Bunlarda Varlığı Bildirilmiş Olan Asetilenler.	73
Tablo 6: İ.T.K’de Yararlanılan Çözücü Sistemleri.....	89
Tablo 7: Ana Fraksiyonların Elde Edilmesi Sırasında Kullanılan Çözücü Sistemleri	96
Tablo 8: Birleştirilmiş Ana Sütun Fraksiyonları, Kullanılan Çözücü Sistemi ve Birleştirilmiş Fraksiyon Miktarları.....	96
Tablo 9: <i>A. wiedemanniana</i> Bitkisinin Preparatif YBSK ile Ayrılması Sırasında Fraksiyonlara Verilen Kodlar.....	97
Tablo 10: H1 Kodlu Fraksiyonun Ayırımından Elde Edilen Fraksiyonlar, Miktarları ve ¹ H NMR Kodları.	98
Tablo 11: H2 Kodlu Fraksiyonun Ayırımından Elde Edilen Fraksiyonlar, Miktarları ve ¹ H NMR Kodları	99
Tablo 12: H3 Kodlu Fraksiyonun Ayırımından Elde Edilen Fraksiyonlar, Miktarları ve ¹ H NMR Kodları.	101
Tablo 13: H4 Kodlu Fraksiyonun Ayırımından Elde Edilen Fraksiyonlar, Miktarları ve ¹ H NMR Kodları.	102
Tablo 14: AW9 Kodlu Bileşiğe Ait 1D ve 2D Spektral Bulguları.....	124
Tablo 15: AW11 Kodlu Bileşiğin Kaydırıcı Ajanlarla Çekilmiş UV Spektrum Sonuçları.....	131
Tablo 16: AW11 Kodlu Bileşiğe Ait 1D ve 2D Spektral Bulguları.....	132
Tablo17: AW15 Kodlu Bileşiğe Ait 1D ve 2D Spektral Bulguları.....	135
Tablo 18: AW22 Kodlu Bileşiğe Ait 1D ve 2D Spektral Bulguları.....	142
Tablo 19: AW24 Kodlu Bileşiğin Kaydırıcı Ajanlarla Çekilmiş UV Spektrum Sonuçları.....	151
Tablo 20: AW24 Kodlu Bileşiğe Ait 1D ve 2D Spektral Bulguları.....	152
Tablo 21: AW27 Kodlu Bileşiğe Ait 1D ve 2D Spektral Bulguları.....	155

Tablo 22: AW28 Kodlu Bileşiğe Ait 1D ve 2D Spektral Bulguları.....	162
Tablo 23: AW30 Kodlu Bileşiğin Kaydırıcı Ajanlarla Çekilmiş UV Spektrum Sonuçları.....	169
Tablo 24: AW30 Kodlu Bileşiğe Ait 1D ve 2D Spektral Bulguları.....	170
Tablo 25: <i>A. wiedemanniana</i> Bitkisinden Elde Edilen Uçucu Yağın Bileşimi ve % Miktarları.....	172
Tablo 26: <i>A. wiedemanniana</i> Ekstrelerinin LC ₅₀ Değerleri	173
Tablo 27: Ana Fraksiyonlara Uygulanan Sitotoksik Aktivite Denemelerinin Sonuçları	176
Tablo 28: <i>A. wiedemanniana</i> Bitkisinden Hazırlanan Ana Ekstrenin ve Uçucu Yağın Disk Difüzyon Metoduna Göre Antimikrobiyolojik Aktivite Tayini	177
Tablo 29: <i>A. wiedemanniana</i> Bitkisinin Ana Ekstresinden Elde Edilen Fraksiyonlara Uygulanan Disk Difüzyon Metoduna Göre Antimikrobiyolojik Aktivite Sonuçları	178
Tablo 30: <i>A. wiedemanniana</i> Bitkisinin 61-68 Nolu Fraksiyona Uygulanan MIC ve MBC Denemelerinin Sonuçları	179
Tablo 31: Salvigenin İçeren Bitkiler	188
Tablo 32: İso-sekotanapartholide İçeren Bitkiler.....	192
Tablo 33: Loliolide İçeren Bitkiler.....	204
Tablo 34: Eupatorine İçeren Bitkiler.....	213

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1:	<i>Anthemis wiedemanniana</i> Fisch.&Mey. Genel Görünüşü	7
Resim 2:	<i>A. wiedemanniana</i> Herbaryum Örneği.....	8
Resim 3:	Kök Enine Kesit.	108
Resim 4:	Gövde Enine Kesit.	109
Resim 5:	Baş Kısmı Kopmuş Kamçı Tüyü.	110
Resim 6:	Gövde Enine Kesit.	111
Resim 7:	Gövde Yüzeyel Kesit.	111
Resim 8:	Yaprak Orta Damar Enine Kesit	112
Resim 9:	Yaprak Enine Kesit Genel.....	113
Resim 10:	Yaprak Enine Kesit	114
Resim 11:	Yaprak Yüzeyel Kesit.	114
Resim 12:	Petal Yüzeyel Kesit	115
Resim 13:	Petal Yüzeyel Kesitte Compositae Tipi Salgı Tüyleri	116
Resim 14:	Kapitulumda Kamçı Tüyleri	116
Resim 15:	Tüpsü Çiçeğin Uç Kısmında Bulunan Yağ Damlacıkları İçeren Papiller	117
Resim 16:	Tüpsü Çiçek Mezofilinde Flamentler.....	118
Resim 17:	Polenler.	119
Resim 18:	Compositae Tipi Salgı Tüyü	119
Resim 19:	Stigma	120
Resim 20:	T Tüyleri.....	121

SPEKTRUMLAR DİZİNİ

Spektrum 1:	İsotanciloide IR Spektrumu.	125
Spektrum 2:	İsotanciloide ¹ H NMR Spektrumu.	126
Spektrum 3:	İsotanciloide HMQC Spektrumu	127
Spektrum 4:	İsotanciloide COSY Spektrumu.....	128
Spektrum 5:	İsotanciloide HMBC Spektrumu.....	129
Spektrum 6:	İsotanciloide NOESY Spektrumu.	130
Spektrum 7:	Salvigenin ¹ H NMR Spektrumu.....	133
Spektrum 8:	İso-sekotanapartholide IR Spektrumu.....	136
Spektrum 9:	İso-sekotanapartholide ¹ H NMR Spektrumu.	137
Spektrum 10:	İso-sekotanapartholide COSY Spektrumu.	138
Spektrum 11:	İso-sekotanapartholide HSQC Spektrumu.	139
Spektrum 12:	İso-sekotanapartholide HMBC Spektrumu	140
Spektrum 13:	3α-kloro-4β,10α-dihidroksi-1β,2β epoksi-5α,7αH-gaya- 11(13)-en-12,6α-olid IR Spektrumu	143
Spektrum 14:	3α-kloro-4β,10α-dihidroksi-1β,2β epoksi-5α,7αH-gaya- 11(13)-en-12,6α-olid HR-ESI Kütle Spektrumu	144
Spektrum 15:	3α-kloro-4β,10α-dihidroksi-1β,2β epoksi-5α,7αH-gaya- 11(13)-en-12,6α-olid ¹ H NMR Spektrumu.....	145
Spektrum 16:	3α-kloro-4β,10α-dihidroksi-1β,2β epoksi-5α,7αH-gaya- 11(13)-en-12,6α-olid HSQC Spektrumu.....	146
Spektrum 17:	3α-kloro-4β,10α-dihidroksi-1β,2β epoksi-5α,7αH-gaya- 11(13)-en-12,6α-olid COSY Spektrumu	147
Spektrum 18:	3α-kloro-4β,10α-dihidroksi-1β,2β epoksi-5α,7αH-gaya- 11(13)-en-12,6α-olid ¹³ C NMR Spektrumu.....	148
Spektrum 19:	3α-kloro-4β,10α-dihidroksi-1β,2β epoksi-5α,7αH-gaya- 11(13)-en-12,6α-olid HMBC Spektrumu.....	149
Spektrum 20:	3α-kloro-4β,10α-dihidroksi-1β,2β epoksi-5α,7αH-gaya- 11(13)-en-12,6α-olid NOESY Spektrumu.....	150
Spektrum 21:	5-Hidroksi-6,7,3',4'-tetrametoksiflavon ¹ H NMR Spektrumu	153

Spektrum 22:	Loliolide ^1H NMR Spektrumu	156
Spektrum 23:	Loliolide HSQC Spektrumu.....	157
Spektrum 24:	Loliolide HMBC Spektrumu.....	158
Spektrum 25:	Loliolide NOESY Spektrumu	159
Spektrum 26:	Loliolide COSY Spektrumu.....	160
Spektrum 27:	$1\beta,2\beta$ -epoksi- $3\beta,4\alpha,10\alpha$ -trihidroksigayanolid $^1\text{HNMR}$ Spektrumu	163
Spektrum 28:	$1\beta,2\beta$ -epoksi- $3\beta,4\alpha,10\alpha$ -trihidroksigayanolid HMQC Spektrumu	164
Spektrum 29:	$1\beta,2\beta$ -epoksi- $3\beta,4\alpha,10\alpha$ -trihidroksigayanolid COSY Spektrumu	165
Spektrum 30:	$1\beta,2\beta$ -epoksi- $3\beta,4\alpha,10\alpha$ -trihidroksigayanolid DEPT Spektrumu	135 166
Spektrum 31:	$1\beta,2\beta$ -epoksi- $3\beta,4\alpha,10\alpha$ -trihidroksigayanolid HMBC Spektrumu	167
Spektrum 32:	$1\beta,2\beta$ -epoksi- $3\beta,4\alpha,10\alpha$ -trihidroksigayanolid NOESY Spektrumu	168
Spektrum 33:	Eupatorin ^1H NMR Spektrumu	171

BÖLÜM I

GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

I. GİRİŞ

Anthemideae (Asteraceae) familyasından *Anthemis* cinsi, Akdeniz kıyıları başta olmak üzere Avrupa'da yaygın olarak bulunmaktadır. Özellikle Batı, Güneybatı, Orta Asya'da ve Kuzey Afrika'da oldukça geniş bir yayılım göstermektedir (70, 123). Türkiye'de, başta İç Anadolu olmak üzere tüm bölgelerimizde yabani olarak yetişmektedir. Genus 210 türe ayrılmaktadır ve bunlardan 28 tanesi endemiktir (148, 220). *Anthemis wiedemanniana* Fisch.&Mey.. Türkiye için endemik bir türdür (57, 194). Konikal çiçek durumu, küçük boyutları ve farklı yaprak yapısıyla kolaylıkla diğer türlerden ayırt edilebilir. 10-45 cm uzunluğundadır ve kalkerli topraklarda yetişir (57).

Halk arasında papatya ve yavşan adıyla bilinen tür, çeşitli rahatsızlıklara karşı da kullanılmaktadır. Örneğin *Anthemis* türleri içinde *A. nobilis* (sin: *A. odorata*), fitoterapide, gastrointestinal rahatsızlıklarda, fitofarmasötikleri olan tıbbi bir türdür. Etnobotanik çalışmalar, *Anthemis* türlerinin genellikle çiçeklerinden ya da kapitulumlarından hazırlanan infüzyonlarının, halk arasında çay şeklinde içilerek karın ağrısında, tedavi edici olarak kullanıldığını göstermektedir. *Anthemis* türlerinden çalışma materyalimiz olan *A. wiedemanniana* çiçeklerinin de Batı Anadolu'da halk arasında yine karın ağrılarına karşı kullanılmakta olduğu kayıtlıdır

(96). *A. ausriaca*'nın çiçekleri ve *A. pseudocotula*'nın kapitulumları Türkiye'de Isparta'da hemoroit tedavisinde kullanılan bitkiler arasındadır (85). Yine ülkemizde Adana ve Mersin yörelerimizde *Anthemis* türlerinin çay şeklinde obeziteye karşı kullanımını olduğu da tespit edilmiştir (66). *A. cretica* L. subs. *leucanthemoides*'in Manisa-Yunt dağı yöresinde, topraküstü kısımlarının ve çiçeklerinin infüzyon halinde dahilen böbrek taşı düşürmek ve mide ağrılarını geçirmek amacıyla kullanıldığı kayıtlıdır (210).

İtalya'da da aynı şekilde *A. altissima*, digestive etkisinden dolayı kullanılan bir bitkidir (165). Yine İran'da halk arasında abortifasiyan olarak hazırlanan bir formülasyonda *A. tinctoria*'nın olduğu kayıtlıdır (127). *Anthemis* türlerinin değişik bir alanda kullanımını da Azerbeycan'da karşımıza çıkmaktadır. Burada *A. austriaca*, *A. cotula*, *A. tinctoria* ve, *A. hydruntina* 'dan elde edilen kötü kokulu dekoksiyon eller içinde ovuşturulup açıkta kalan yerlere sürülerek böcek ısırıklarına karşı korunma sağlanmaktadır (13). Yaptığımız araştırmalarda *A. altissima* ve *A. cotula*'nın, Batı Anadolu'da, hepatitin tedavisinde kullanıldığı görülmüştür (156). Güneydoğu Anadolu'da *A. hyalina*'nın çiçeklerinden şampuan hazırlanmasında yararlanıldığı da görülmektedir. Yine aynı bölgede *A. arvensis* ise üriner sistem rahatsızlarında kullanılan bitkiler arasındadır (154).

Anadolu'da *Anthemis* türlerinin diğer bir kullanımını da halı ve kilim dokumasında kullanılan yünlerin boyanmasında karşımıza çıkmaktadır. Doğu Anadolu'da, *A. tinctoria* var. *tinctoria*'nın kapitulumlarından ve Çanakkale'de de *A. tinctoria* var. *tinctoria*, *A. austriaca*, *A. cotula*, *A. pseudocotula*, *A. cretica* subs. *pontica* ve *A. chia*'nın kapitulumlarından içerdikleri flavonoidler nedeniyle, kök boyacılığında sarı renk eldesinde yararlanılmaktadır (55, 212).

Anthemis türleri ile ilgili yapılan biyolojik aktivite çalışmalarını araştırdığımızda; *Anthemis* türleri üzerinde antibakteriyel (34, 44, 63, 169), antimikrobiyal (44, 101), antimalaryal (183), antioksidan (15), antihelikobakter (190) ve sitotoksik aktivite (36, 49) araştırmalarının yapıldığı görülmektedir.

Anthemis türlerinin içerikleri üzerinde yapılmış olan fitokimyasal araştırmalarda ise seskiterpen laktonların (germakranolid, ödesmanolid ve gayanolid) (72), flavonoidlerin (2, 65, 201, 226, 228), asetilenlerin (24-26, 29, 31) ve fenolik asitlerin (12, 61, 138, 157) bu türün başlıca sekonder metabolitleri olduğu görülmektedir. Ayrıca *Anthemis* genusu kimyasal bakımdan zengin içeriğe sahip uçucu yağlar da içermektedir (20, 82, 92, 95, 106, 109, 172, 214, 217, 223).

Bilindiği gibi, yeni ilaç geliştirilmesinde en önemli yaklaşımlardan biri de, etnobotanik çalışmalardan yararlanılarak belirlenen halk ilaçlarının, etkili maddelerinin izole edilerek tedavi alanında kullanılmasının sağlanmasıdır.

Bu yaklaşımla çalışmamızda, *Anthemis* türlerinin hem etnobotanik kullanımı, hem de ilginç biyolojik aktivitelere sahip olmaları nedeniyle Türkiye’de endemik olarak yetişen *A. wiedemanniana* türü araştırma materyali olarak seçilmiştir.

Bu araştırmada, İzmir -Bayındır, Alankıyı mevkiinden toplanan endemik *A. wiedemanniana* örnekleri üzerinde, anatomik araştırmalar yapılmıştır. Uçucu yağı elde edilmiş ve GC-MS (Gaz kromatografisi/ Kütle Spektrometrisi Sistemi) ile kimyasal bileşenleri belirlenmiştir ve uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Bitkiden hazırlanan değişik ekstraktların ve fraksiyonlama sonucu elde edilen ana fraksiyonların biyolojik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Elde edilen ana fraksiyonların ¹H-NMR spektrumları alınarak, seskiterpen lakton ve flavonoid yapısı içerdiği saptananlar, daha ileri saflaştırmaya tabi tutularak, saf halde elde edilen

sekonder metabolitlerin yapıları, modern spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır.

Böylece çalışmamızda, ülkemiz için endemik olan ve halk arasında çeşitli rahatsızlıklarda kullanılan bir bitki türü olan *A. widemanniana* Fisch.&Mey. türünün anatomik özelliklerinin, sekonder metabolitlerinin, uçucu yağının ve biyolojik aktivitelerinin araştırılarak, daha iyi tanınması ve bir kaynak oluşturulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bölüm

Anthemis wiedemanniana Fisch.&Mey. bitkisi bir yıllık bir bitki olup, Asteraceae familyası üyeleri arasında yer almaktadır. Aşağıda bitkinin cins ve tür seviyesinde tanımına yönelik olarak verilen bilgiler, “Flora of Turkey and the East Aegean Islands” adlı kaynaktan hiçbir katkıda bulunmaksızın derlenmiştir (57).

2.1.1. Asteraceae (Compositae) Familyası

Bir yıllık, iki yıllık ya da çok yıllık otsu, nadiren çalı tipinde bitkilerdir. Bazen süt içerirler. Yapraklar alternan veya bazen karşılıklı, stipulasız, nadiren stipulalı, tam dişli, loplu veya değişik şekillerde parçalanmış haldedir. Tek çiçekler genellikle çok sayıda, nadiren sadece bir tane, sapsız ve bir kapitulum şeklinde toplanmış olup, kapitulum bir yada çok seride braktelerden yapılmış koruyucu bir involukrum ile çevrilidir. Kapitulum bazen ikincil olarak kapituluma benzer bir baş (psödokapitulum) şeklinde toplanmıştır. Reseptekulum çıplaktır yada pullar, uzun tüyler ya da sert kıllar taşımaktadır. Epigin çiçeklerin ya hepsi erdişi ve protandri veya dişi, erkek ya da sterildir. Kaliks ovaryumun tepesinde tüylerden, sert kıllardan, pullardan veya dikenlerden oluşmuş bir papüs şeklinde ya da sürekli bir taç şeklindedir. Korolla birleşik petalli, tüpsü, ipliksi, dilsli veya nadiren iki dudaklı olup genellikle 3- veya 5- dişlidir, nadiren yoktur. Stamenler (4-) 5, epipetal, filamentler genellikle serbesttir; anterler ise stilüs etrafında yan yana bir silindir şeklinde birleşmiştir; nadiren serbest olarak bulunurlar, açılmaları içe doğrudur. Ovaryum alt

durumlu, 1 gözlü ve anatrof, 1 ovüllüdür; stilüs genellikle üstte iki kola ayrılmıştır; disk çiçeklerin stilüsları toplayıcı tüyler taşımaktadır. Meyve genellikle tepesinde sapsız veya gaga şeklinde kalıcı yada düşücü papüs taşıyan bir akendir (57).

Compositae familyası yaklaşık 1000 cins ve 20000 tür ile, çiçekli bitkilerin en zengin familyasıdır.

2.1.2. *Anthemis* L. Genusu

Bir yıllık ya da iki yıllık bitkilerdir. Bazen yarı çalimsı ya da küçük çalılardır. Yoğun olarak yumuşak tüylü, havlı veya ipeksi tüylüdür. Gövde basit ya da dallanmıştır. Yapraklar genelde 1-3 pinnat nadiren basit, birincil segmentler, loblarda genelde 3, bazen daha fazla, pinnat, pektinat veya palmat olarak bölünmüştür. Kapitulum tek çıplak, çiçek durumları radial veya diskoid, involukrum yarı küremsi, ters koni şeklinde veya silindirik; brakteler kiremitsi, genelde 3- seriate, yaygın olarak zarımsı kenarlı. Reseptakulum konveks veya konikal, brakteol linear-lanseolat, subulat veya oblanseolat zarımsı veya kıkırdaksı, sivri, mukrolu, aküminat. Brakteoller disk çiçekler kadar uzun, bazen onlardan daha uzun. Çiçekler genellikle fertile, dilcikler beyaz veya sarı, nadiren morumsu, korolla tipleri bazen akenler üzerinde kalıcı. Disk şeklindeki çiçekler tübüler, 5-dişli, sarı, nadiren morumsu, korollalar bazen dipte şişkin fakat torbamsı değil. Kesitlerde meyvalar genellikle obkonikal, silindirik veya az çok kare şeklinde, bazen sırt karın yönünden yassılmış, pürüzsüz, boyuna yollu veya yumru gibi şişkin, papüsler yok yada akenin üstünde kenarı kıvrılmış şekilde koronaya yükselmiş yada arka tarafta çevreleyip uzamış yada dil şeklinde bir kulakçık görünümündedir (57).

2.1.3. *Anthemis wiedemanniana* Fisch.&Mey.

Sin: *Anthemis ormenoides* Boiss.; *Cota ormenoides* Boiss.

Yükselici veya yatay olarak uzayan, grimsi, yumuşak tüylü (havlı), bir yıllık bir bitkidir. Gövde genellikle tabandan itibaren ışnsal olarak dallanmış şekildedir., 5-20 cm. Yapraklar dışa doğru dar oblanseolat, 1, 5-3 cm \pm 1-pinnat segmentler dikdörtgensi, 2-5 *0, 75-1, 5 mm, kenarlar keskin testere dişli, kapitulum ışnsal, çiçek durumu kalın durumdadır. İnvolumen 0, 5-0, 75cm genişliğinde. Dış brakteler ovat akuminat, içtekiler dikdörtgensi, tepede daralır ve zarımsı hale gelir. Reseptekulum konik şekilli, brakteol ovat-oblong, kısa ve akuminat. Çiçeklerin kolları 10-15 eşeysiz, dilsiz korolla 0, 5-0, 75cm, tüpsü korolla 2, 5 mm ve tüpe doğru şişkinleşmemiştir. Kireç taşı olan meyilli ve dik arazilerde 400-1800m arasında bulunurlar. Bitkinin doğal ortamındaki görüntüsü resim 1’de verilmiştir.



Resim 1: *Anthemis wiedemanniana* Fisch.&Mey. genel görünüş

Türkiye’de Bulunduğu Yerler:

- Ankara: Hacıkadın köyü, Keçiören, D. 18803!
- Amasya: Siaret 400m. 1890:3109!
- İzmir: Yamanlar Dağı. 700-900m 1906:9649!, Bayındır 1000m.
- Uşak: 64m.Uşak 800m.
- Eskişehir: Eskişehir Söğütlü arası Oluklu’ya 2 km kala.
- Konya: 30km Konya, Konya’dan Sarayönü’ne 18 km kala
- Nevşehir: Ürgüp 1100m.
- Malatya: 35 km Darendede
- Elazığ: Harput
- Van: 20km Van’dan Timar’a
- Antalya: Elmalı
- Isparta: Kurutepe 1300 km (57).



Resim 2. *A. wiedemanniana* herbarium örneği

Türkiye için endemik *Anthemis* türleri (57)

1. <i>A. argaea</i>	11. <i>A. xylopoda</i>	20. <i>A. rosea</i>
2. <i>A. anthemiformis</i>	12. <i>A. calcarea</i> var <i>calcarea</i>	21. <i>A. tricornis</i>
3. <i>A. rhodensis</i>	13. <i>A. cuneata</i>	22. <i>A. davisii</i>
4. <i>A. pestalozza</i>	14. <i>A. ammophila</i>	23. <i>A. oxylepis</i>
5. <i>A. sintenisii</i>	15. <i>A. pungens</i>	24. <i>A. fulvida</i>
6. <i>A. armeniaca</i>	16. <i>A. tinctoria</i> var <i>virescens</i>	25. <i>A. dipsaceae</i>
7. <i>A. wallii</i>	17. <i>A. triumfetti</i>	26. <i>A. wiedemanniana</i>
8. <i>A. fumariifolia</i>	18. <i>A. melanoma</i>	27. <i>A. halophila</i>
9. <i>A. adonidifolia</i>	19. <i>A. arenicola</i> var <i>arenicola</i> , var <i>uresperma</i> , var <i>tenuisecta</i>	28. <i>A. antitaurica</i>
10. <i>A. aciphylla</i> var <i>aciphylla</i> , var. <i>discoidea</i>		

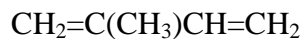
2.2. Kimyasal Bölüm

2.2.1. Terpenoit Bileşikler

Terpenoit bileşikler, tüm canlı organizmalarda yaygın olarak bulunan ve biyolojik olarak aktif olan bileşiklerdir.

Terpenler bitki dokularında genellikle serbest olarak bulunurlar . Glikozitleri ve organik asit esterleri halinde bulunanları da vardır. Proteinlerle birleşmiş olarak da bulunabilirler (76).

İzopren iskelet birimleri içeren bileşiklere terpenler adı verilmiştir. İzoprenlerle ilişkilerini belirtmek amacıyla izoprenoitler ismiyle de bilinmektedirler.



İzopren

Üç mol asetikasidin kondensasyonu ile oluşan ve altı karbonlu bir bileşik olan mevalonik asit H_2O ve CO_2 kaybı ile izopren birimlerini oluşturular. Bu izopren birimleri de birbirlerine eklenerek terpenleri oluştururlar (76).

Mevalonik asit

Terpenler Ruzicka tarafından bulunan “izopren kuralı” na göre taşıdıkları izopren biriminin sayısına göre sınıflandırılırlar (33).

* Hemiterpenler: 1 izopren birimi (5 karbon); sekonder metabolitlerin dışındadırlar.

* Monoterpenler: 2 izopren birimi (10 karbon); uçucu yağlar da denir. Kaynama noktaları düşüktür. Gaz kromatografisiyle incelenirler.

* Seskiterpenler: 3 izopren birimi (15 karbon); lipofilik maddelerdir. Suda hemen hemen hiç çözünmezler, nonpolar çözücülerde çözünürler. Bitkilerin genellikle toprak üstü kısımlarında bulunurlar. Biyolojik olarak çok aktif maddelerdir.

* Diterpenler : 4 izopren birimi (20 karbon)

* Sesterpenler: 5 izopren birimi (25 karbon)

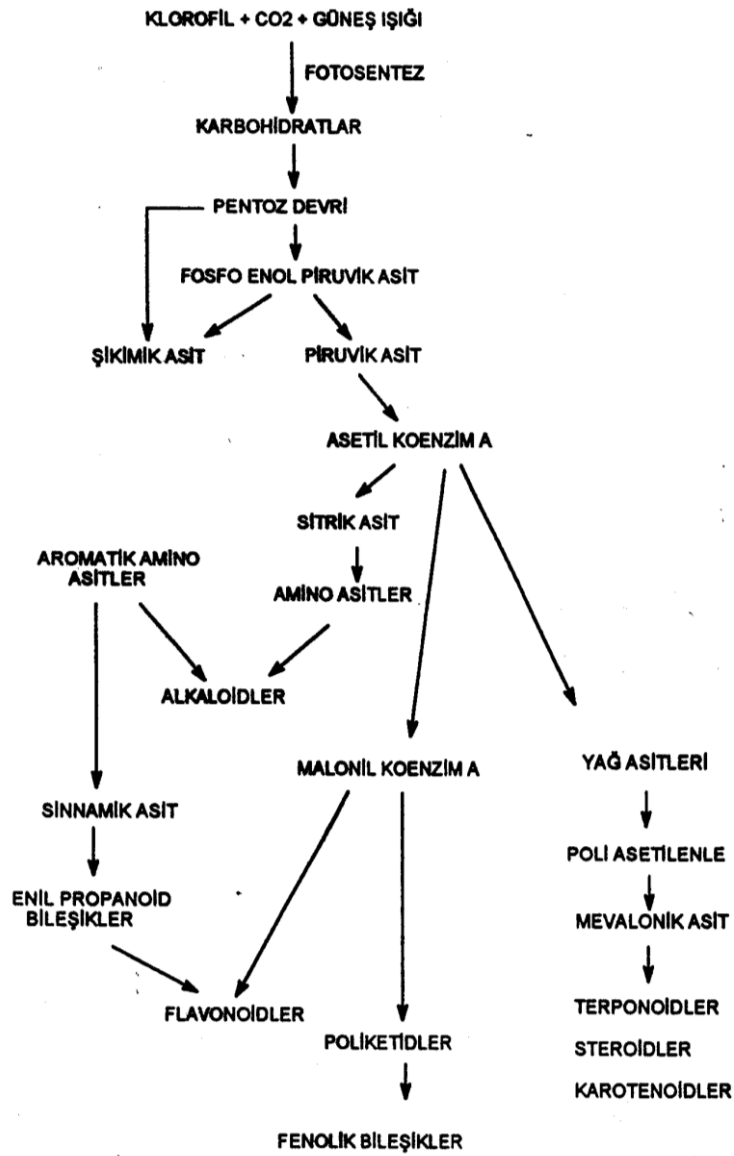
* Triterpenler: 6 izopren birimi (30 karbon)

* Tetraterpenler: 8 izopren birimi (40 karbon); karotenoitler

* Politerpenler: n izopren birimi (5 karbon)_n ;az rastlanılan bileşikler olup, özel bir çalışma gerektirirler.

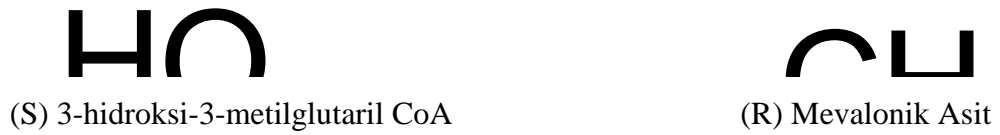
Terpen biyosentezinin ilk basamağı asetilkoenzim A'daki asetil kısmının enzimatik ester kondensasyonudur. Buradaki ara ürünler mevalonik asitin pirofosfatları (difosfatlar) ve bir izopentil alkol çiftidir (76).

Mevalonik asit sentezinde başlangıç maddesi olan ve birçok metabolik olayda esas rol oynayan asetilkoenzim A şekerlerin oksidasyonu sonucu oluşur ve kolayca karbondioksitde okside olur. Bu maddenin doğal bileşiklerin sentezindeki rolü Şekil 1'de verilmiştir (198).



Şekil 1: Bitkilerin İkincil Metabolitleri

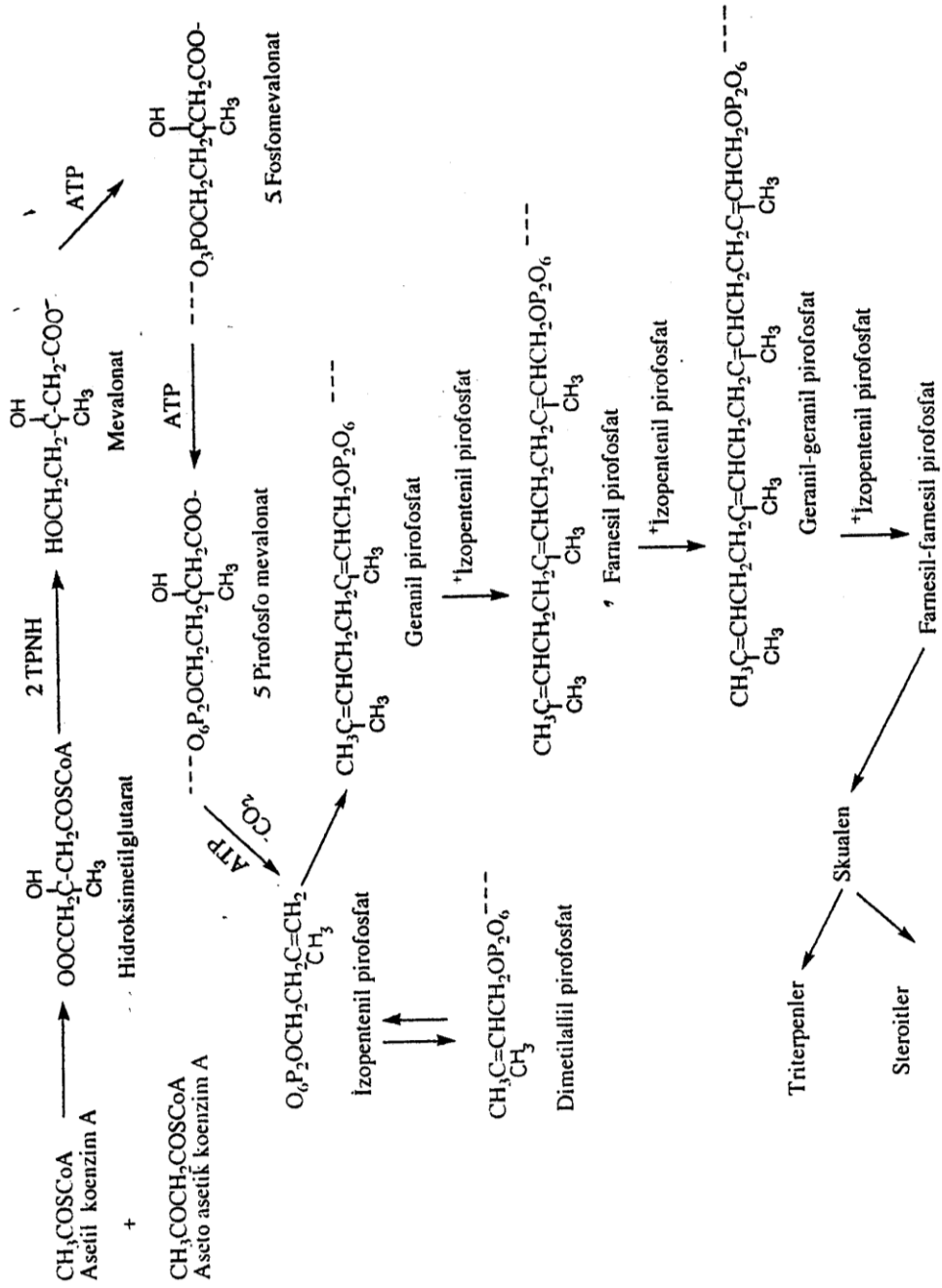
İki mol Asetilkoenzim A'nın kondensasyonundan elde edilen asetoasetilkoenzim A, yağların oksidasyonundan da elde edilebilir. Bunun diğer bir mol asetil koenzim A ile birleşmesi ve bunu takiben bir enzimle hidrolitik bölünmesi sonucu 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A elde edilir. Tiyo ester grubunun NADPH (Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) ile indirgenmesi sonucu (R) mevalonik asit oluşur, bu indirgenme, şekil 2'de gösterildiği gibi geri dönüşümsüzdür (198).



Şekil 2. Mevalonik Asit Oluşumu

Daha önce de belirtildiği gibi Asetilkoenzim A'daki asetil kısmının enzimatik ester kondansasyonu ile mevalonik asidin pirofosfatları (difosfatlar) ve izopentil alkol çifti oluşur.

İzopentil, geranil ve farnesil pirofosfat moleküllerinin birbirleriyle değişik kondensasyonları sonucu daha yüksek yapıları terpenoitler oluşmaktadır. Geranil pirofosfat monoterpenleri, farnesil pirofosfat seskiterpenleri, geranil-geranil pirofosfat diterpenleri ve farnesil-farnesil pirofosfat triterpenleri vermektedir (Şekil 3: İzoprenoit bileşiklerin biyosentezi).



Şekil 3: İzoprenoid Bileşiklerin Biyosentezi

Terpenler fiziksel özelliklerine göre ikiye ayrılır.

1. Uçucu terpenler: Su buharı ile sürüklenebilen küçük moleküllü monoterpenler ve seskiterpenler. Bitkilerin kokulu bileşikleri olup, diğer bitki bileşiklerinden su buharı distilasyonu ile ayrılırlar.

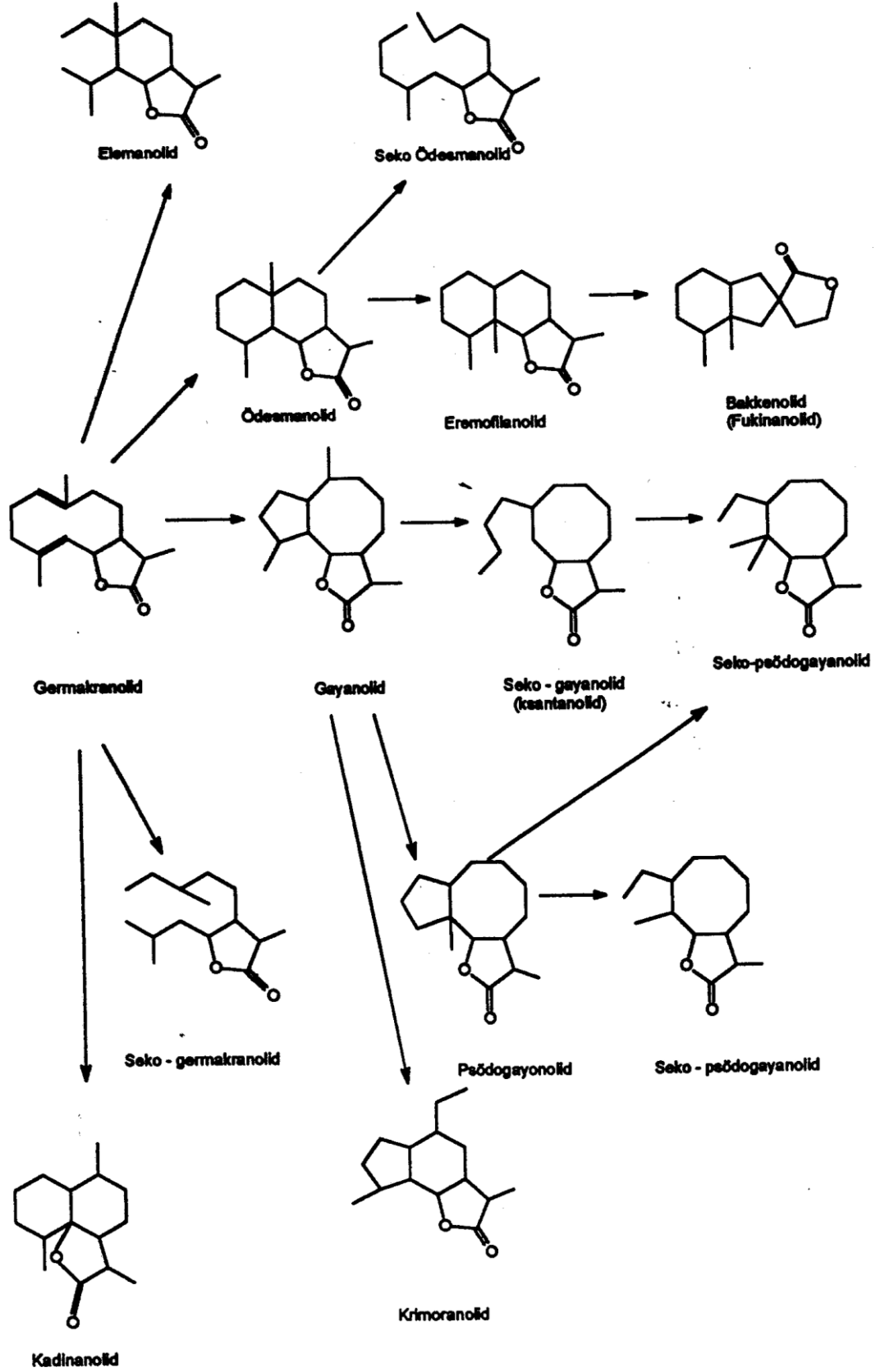
2. Uçucu olmayan terpenler: Büyük moleküllü seskiterpenler, triterpenler ve politerpenler. Bu tip bileşikler ekstraksiyon yöntemleri ile ayrılabilirler.

Terpenler, bitkisel materyalden giderek artan polaritedeki organik çözücüler ve karışımları ile tüketilerek elde edilirler, kromatografik ve kimyasal yöntemlerle saflaştırılırlar. Genel olarak apolar çözücüler kullanılır. Ancak terpenin hidroksil, karboksil ve benzeri gruplar taşıması halinde polar çözücüler kullanılır. Saflaştırılmasında sütun kromatografisi, preparatif ince tabaka kromatografisi ile jel filtrasyon yöntemi ve kristallendirme yöntemleri kullanılabilir.

Uçucu olan yada uçucu türevleri haline getirilebilen terpenlerin tanınmasında gaz kromatografisi ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemleri kullanılabilir. Yapı tayinlerinde ise spektroskopik yöntemlerden (UV, IR, 1D-NMR, 2D-NMR ve Kütle spektroskopisi) yararlanılmaktadır.

2.2.2. Seskiterpenoitler

Seskiterpen laktonlar Compositae familyasının başlıca sekonder metabolitlerindedir. 15 karbonlu bileşikler olup, germakranolid halka yapılarının ana iskeletini oluşturur (175). Germakranoliden diğer seskiterpen laktonların oluşumu Şekil 4'de verilmiştir.



Şekil 4: Germakranolid'den Diğer Seskiterpen Laktonların Oluşumu

Germakranolid

Farnesil pirofosfatın trans-trans ve cis-trans katyonlarına dönüşmesi ve farnesil difosfatın siklizasyonu sonucu bir germakradien iskeleti oluşur (Şekil 5). Germakranolitler C4-C5 ve C1-C10 pozisyonlarında bir trans-trans dien sistemi içeren siklodekadien halkasından oluşmuşlardır, bir onlu bir beşli halka taşırlar. Ödesmanolidler, iki altılı bir beşli halka taşıyan ödesman iskeletinden, gyanolidler ise iki beşli bir yedili gyan (guaian) iskeletinden meydana gelmişlerdir. Daha geniş seskiterpen lakton grubu olan psödogyanolidler de ise C4 yerine C5’de metil grubu bulunur. Bir metil grubu eksik ise nor-psödogyanolid olarak isimlendirilirler.

Seskiterpen laktonların yapısal farklılıkları, moleküllerin düzenlenmesi, ayrılması ve oksitlenmelerinden kaynaklanmaktadır.

Seskiterpen laktonlarda izopropil yan zinciri, karboksilik aside dönüşmüştür. Halkaya oksijen girişi, hidroksil grubunu oluşturur. Oluşan bu grup karboksil grubuyla reaksiyona girerek lakton halkasını meydana getirir (Şekil 6). Moleküle lakton grubu çoğunlukla α -metilen- γ -lakton şeklinde bağlıdır ve bu halkadan dolayı ana iskeletin sonuna –olid eki getirilerek okunur.

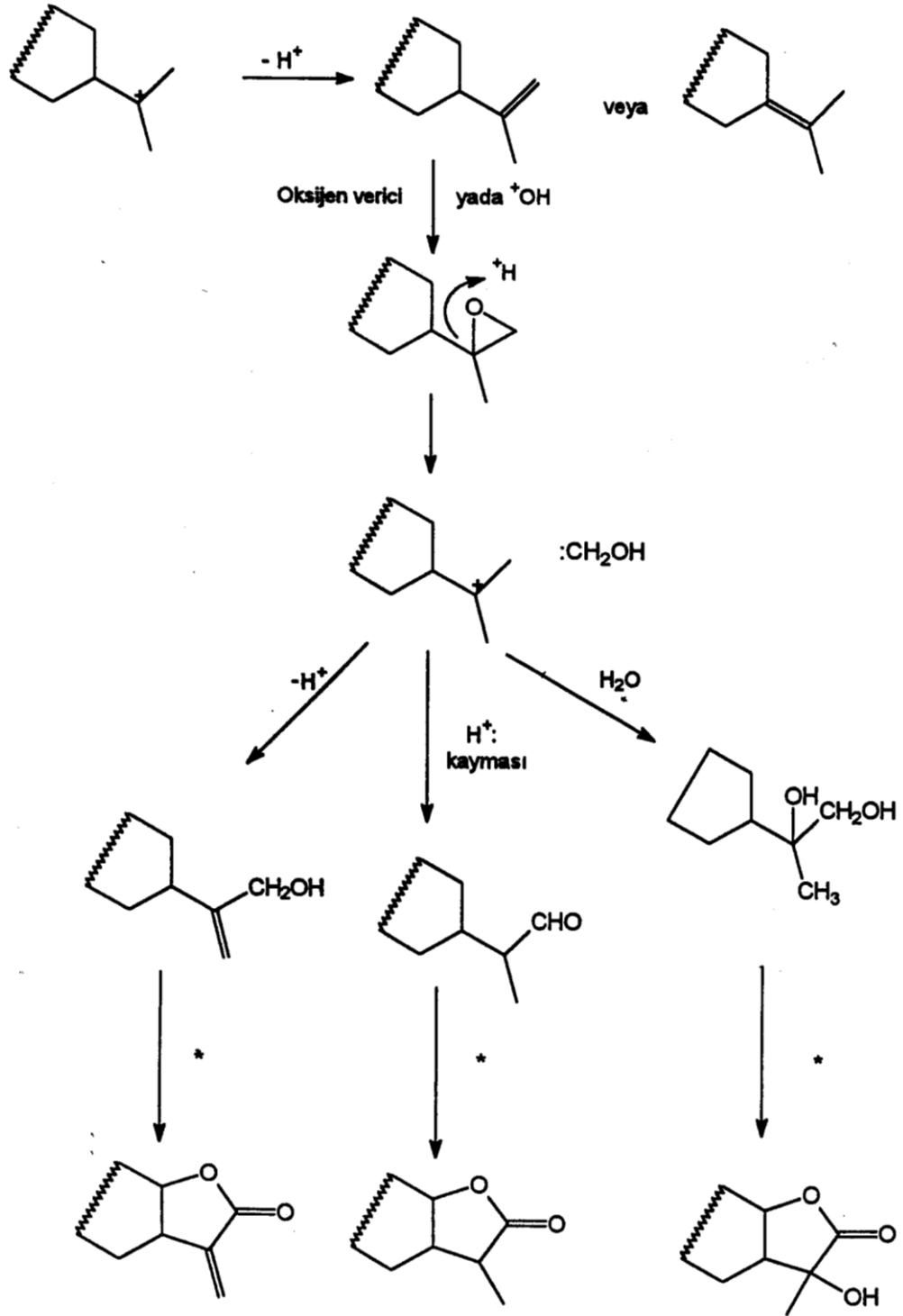
Seskiterpenler genellikle bir dış ester zinciri taşırlar. Bu dış zincir çoğu zaman anjelik asit veya tiglik asit esteridir. Numaralandırma yapılırken ester dış zinciri yeniden numaralandırılır.

Farnesil pirofosfat

Basit seskiterpen iskeleti

Basit seskiterpen lakton iskeleti

Şekil 5: Germakrodien İskeleti Oluşumu



Şekil 6: Seskiterpen Laktonlarda Karboksil Grubunun Oluşumu

Biyogenetik olarak seskiterpen laktonlar, C4 ve C10 konumlarında metil grupları taşırlar. Bu gruplar kolayca okside olurlar. Ayrıca halkadaki çifte bağlar da kolayca epoksi gruplarına dönüşebilirler.

Biyogenetik olarak lakton halkasının, C7'den β bağı olduğu bilinmektedir (70, 117). Yine bu moleküller laktonun durumuna göre C6 yada C8'de hidroksil, ester, karboksil grubu içerirler (235).

Seskiterpen laktonlar, dört ana sınıftan oluşurlar.

1. Germakranolid: C4 ve C10 konumlarında metil grubu bulunduran 10'lu halka yapısındaki bileşiklerdir.

2. Ödesmanolid: C4 ve C10 konumlarında metil grubu bulunduran 6/6'lı halka yapısındaki bileşiklerdir.

3. Gayanolid: C4 ve C10 konumlarında metil grubu bulunduran 5/7'li halka sistemindeki bileşiklerdir.

4. Psödogayanolid: C5 ve C10 konumlarında metil grubu bulunduran 5/7'li halka sistemindeki bileşiklerdir.

Bu dört sınıfın her birinin daha alt grupları da mevcuttur.

Germakranolid

Ödesmanolid

Gayanolid

Psödogayanolid

Seskiterpen laktonlar çoğunlukla kristal yapılar olmakla beraber, bazen yağlı görünüşte olanları da mevcuttur. Kristallendirme için genellikle eter, alkol, metanol, aseton veya bunların karışımı kullanılır.

Seskiterpen laktonlar bitkinin hemen hemen her kısmında bulunabilirler, ama en çok yaprak, çiçek ve salgı tüylerinde bulunurlar. Bunların bitkiden elde edilebilmesi için iki yöntem kullanılır:

1. Seskiterpen lakton taşıdığı düşünülen bitki kısımları toz edilir. Kloroform veya diklorometanla ekstre edilip, vakum uygulanarak kuruluğa kadar uçurulur. Artık etanolde çözülerek eşit hacim %5-10'luk kurşun asetatla çöktürülür. Çökelti süzülür ve süzüntü yoğunlaştırıldıktan sonra diklorometan ile ekstre edilir (140).

2. Toz edilen bitki petrol eteri (40-60°): eter (1:2) karışımı ile bir gece masere edilir. Süzülür, süzüntü vakumla kuruluğa kadar uçurulur. Artık 60°-80°C'de su banyosunda çözünebildiği en az miktarda metanolde çözülür. Buzdolabında 1-2 saat bekletilir. Çöken kısım ayrılır ve süzüntü kısmında seskiterpen laktonlar aranır (30).

Elde edilen ekstreler, silikajel ile hazırlanmış sütundan artan polaritedeki çözücü karışımlarıyla elüe edilerek kabaca fraksiyonlandırılırlar. Saflaştırma yöntemleri (preperatif ince tabaka kromatografisi, sütun kromatografisi v.s.) kullanılarak saf hale getirilirler (235).

Seskiterpen laktonlar ince tabaka kromatografisinde özel belirteçler ile tespit edilebilirler (224). En çok kullanılan seskiterpen lakton belirteci %1'lik seryum sülfat çözeltisidir. Bu belirteç püskürtüldükten sonra, 110°C'lik etüvde 10 dakika yakmak suretiyle seskiterpen lakton bileşiklerinin verdiği renklere göre değerlendirme sağlayabilir.

Seskiterpen laktonların analizi; IR spektroskopisi, gaz kromatografisi veya yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemleriyle yapılabilir. IR spektroskopisinde

molekülün lakton fonksiyonu $1770-1750\text{ cm}^{-1}$ 'de, keskin bir absorpsiyon gösterir, bundan faydalanılarak miktar tayini de yapılabilir (23). Bu maddelerin uçuculuğu düşük olduğundan, gaz kromatografisiyle analizleri sırasında, bileşikler silil türevleri haline getirilerek analizleri yapılabilir (164). Öte yandan bu tür maddelerin analizi için YBSK yöntemi daha uygun bir yöntemdir. Seskiterpen laktonlar bir ters faz kolon ile asetonitril-su (129, 193) veya metanol-su (189) çözücüsü kullanılarak 220-225 nm'de UV, RI ve DAD dedektör ile tayin edilebilirler.

Seskiterpen laktonlar genellikle UV spektroskopisinde 210-220nm civarında absorpsiyon gösterirler ve absorpsiyonun uzun dalga boyuna kayması, yapılarında konjugasyonun varlığını gösterir.

IR spektrumlarında ise $3450-3500\text{ cm}^{-1}$ arasındaki pikler serbest ya da hidrojen bağı yapan hidroksil veya peroksit gruplarını, $1750-1780\text{ cm}^{-1}$ arasındaki kuvvetli pikler laktona ait karbonil gruplarını, $1705-1740\text{ cm}^{-1}$ arası halkaya bağlı keton gruplarını, $1730-1735$ ve $1200-1270\text{ cm}^{-1}$ arası ester fonksiyonlarını, $1640-1670\text{ cm}^{-1}$ arası çifte bağları gösteren karakteristik absorpsiyon alanlarıdır.

$^1\text{HNMR}$ spektroskopisi seskiterpen laktonların yapı analizinde en çok kullanılan yöntemdir. α -metilen- γ -lakton fonksiyonu taşıyan seskiterpenlerin lakton protonları 5.50-6.40 ppm arasında karakteristik dubletler verirler (71). Ayrıca bu maddelerin halkadaki vinilik protonları 4.50-6.50 ppm ve halka dışı izole metilen protonları 4.50-5.50 ppm civarında birer geniş singlet halinde görülürler. Yan zincirdeki hidroksile komşu metilen protonları 4.00-4.50 ppm, epoksi protonları 2.30-3.00 ppm halkadaki oksijene komşu protonlar ise 3.70-4.50 ppm arasında gözlenirler (79, 80).

Seskiterpen laktonlar genellikle asetil esterleri ya da çeşitli organik asit esterleri halinde bulduklarından, yan zinciri teşkil eden bu ester gruplarının karakteristik pikleri de NMR spektrumlarında gözlenirler.

Seskiterpen laktonların ^{13}C NMR spektrumlarında sekonder ve tersiyer metiller 0-35 ppm, lakton oksijenine komşu karbonlar 75-80 ppm, oksijene komşu karbonlar 50-90 ppm, alkanlar 0-50, aklenler 100-150 ve ketonlar 200 ppm'de gözlenirler (91).

Seskiterpen laktonlar kütle spektroskopisi yöntemiyle analizlerinde de yapılarındaki farklı süstitüentlere bağlı olarak farklı parçalanma ürünleri verirler.

Ödesmanolid yapısındaki seskiterpenlerin en önemli parçalanma basamağı, C-14'den bir protonun, laktonun eterik oksijenine transferidir. Bundan sonraki parçalanma ürünleri, açıklık süstitüentlerdeki bağların kopmasıyla meydana gelirler. Bunlar kütle spektrumunda m/e 203, 167, 121, piklerini verirler (97, 133).

Psödogayanolidlerde ise, en belirgin pikler, m/e 79, 91, 107, 123, 124 pikleridir. 123, 124 ve 125 pikleri C5, C6 ile C9, C10 bağlarının kopmasıyla oluşurlar (51).

Gayanolid tipi seskiterpen laktonlarda, kütle spektrumunda m/e 145'in üzerinde gözlenen pikler, H_2O , CH_3 , C_2H_4 gibi küçük parçaların peşpeşe kopmasıyla meydana gelirler (225).

Bunların dışında lakton halkası, C6'dan bağlı seskiterpen laktonlarla C8'den bağlı olanlar arasında kütle spektrumunda bazı farklılıklar gözlenebilir. Çifte bağ içermeyen C6'dan bağlı laktonlarda moleküler iyon pikinin küçük olmasına karşın, $[\text{M}-15]^+$ piki, ana piki oluşturur. C8'den bağlı laktonlarda ise moleküler iyon pikinin şiddeti büyük ve $[\text{M}-15]^+$ pikinin şiddeti düşüktür.

Çalışmamızın konusu olan *A. wiedemanniana* bitkisinin ait olduğu Asteracea familyası fitokimyasal olarak en çok çalışılan familyalardan biridir. Asetilenler,

flavanoitler ve seskiterpen laktonlar bu familyanın sahip olduğu üç ana grup sekonder metaboliti oluşturmaktadır (38, 52, 221, 226). *Anthemis* genusunda genellikle gyanolid, ödesmanolid ve germakranolid ana grubuna ait bileşiklerin izole edildiği görölmektedir (72).

2.2.3. Flavonoitler

Flavonoitler hemen hemen her bitki türünde bulunan doğal fenolik bileşiklerdir. Yosunların büyük bir kısmı ve bakteriler hariç, en yüksek yapılı bitkilerden basit yapılı mantarlara kadar tüm bitkilerde yaygın olarak bulunmaktadırlar. Flavonoitler sarı renkli bitki pigmentleridir.

Flavonoitler bitkilerin sarı renkli pigmentleri olup, doğal bitkisel boyaların ana maddeleridir. Flavonoitler kromon halka sistemine sahip flavonların değişik ozlarla yaptığı, bir kısmı diüretik, bir kısmı antioksidan, bir kısmı da antispazmodik ve fungusid etkili heterozitlerdir. Flavonoitler bütün bitkilerde bulunurlar, fakat alçak yapıllılarda nadirdirler. Flavonoitlere hemen bütün organlarda rastlansa da özellikle yaprak, çiçek tomurcuğu gibi genç organlarda daha çok görölmektedirler.

Flavonoitler kromon türevi maddelerdir ve 2-fenilbenzopiran yapısı gösterirler.

Flavonoitler en çok heterozit şeklinde bulunurlar ve flavonozit adını alırlar. Heterozit oluşumu eter bağı (O-glikozitleri) veya karbon bağı arasında (C-glikozitleri) olur. Flavonozitler su ve etanolde kolay çözünürken, eter, kloroform ve benzende çözünmez. O-glikozitlerinin yapısının aydınlatılmasında, kimyasal veya enzimatik hidrolizden yararlanılır. Şeker ve aglikonun ayrılmasıyla hem agikonun, hem de şekerin yapısı belirlenir. Şekerin bağı olduğu yeri saptamak için önce glikoziti metillemek, asetillemek veya trimetilsilil eter türevlerini hazırlamak ve sonra hidroliz etmek gerekir. Serbest kalan hidroksil grubu şekerin bağı olduğu yeri belirleyecektir. C-glikozitleri enzim yada asit ile hidroliz olmaz, şekerin yeri UV kaymalarıyla saptanır .

Flavonon

Dihidroflavanol

Auron

İzoflavon

Kalkon

Antosiyanidin

Flavon

Flavonol

Flavan

Dihidroalkon

İzoflavan

İzoflavanon

Şekil 7: Flavanoitlerin Farklı İskelet Yapıları

Flavonoitler farklı iskelet yapılarına göre farklı isimler almaktadırlar (Şekil 7).

Flavonoit eldesinde kullanılan çözücü ve ekstraksiyon tekniği kullanılan bitki ve flavonoit cinsine göre değişir. Eğer flavonoitler yağ veya mumla birlikte bulunuyorsa ve yüzeyde iseler, polar çözücülerle basitçe yıkanarak alınabilirler. Yüzeyde değil iseler, önce lipoit bir çözücü ile lipitler uzaklaştırılır. Sonra ekstraksiyon yapılarak flavonoitler elde edilir. Elde sırasında enzim ihtimali varsa, drog büyük parçalara bölünüp, kaynar alkole atılarak önce stabilizasyon, sonra da kurutma yapılır. Ekstraksiyondan önce kurutma yapılması verimi artırır. Eğer bitki sterol, karetenoid, klorofil gibi maddeleri taşıyorsa, petrol eteri veya n-hekzanla bir ön ekstraksiyon yapılır. Solvan seçimi ise, ekstre edilecek flavonoidin polaritesine göre yapılır. Aglikonlar için kloroform, eter gibi az polar çözücüler, heterozitler için ise aseton, alkol, su gibi daha polar çözücüler kullanılır. Flavonoit ekstratlarının yabancı maddelerden kurtarılması için aktif kömür kullanılır. Flavonoitlerin ekstreten ayrılması ve saflaştırılması için kromatografik yöntemler uygulanır. Poliamid, sefadex LH-20, silikajel ve selüloz en çok kullanılan adsorbanlardır. Flavonoitler UV ışıkta floresans gösterirler. Ayrıca fenolik yapıları nedeniyle NH_3 gibi bazlarla da renk değiştirirler. Bu özelliklerinden yararlanılarak ince tabaka ve kağıt kromatografisinde UV ışığı altında 254 nm ve 366 nm'de incelenirler. Hidroksil gruplarının bağlı oldukları yerlere göre UV ışıkta, NH_3 buharında ve NA (Naturstoffreagenz A=difenil borik asit β -aminoetilester) belirteciyle verdikleri renkler de değişir (Tablo1). Yine UV spektroskopisi, flavonoit bileşiklerin yapısı hakkında önemli bilgiler veren bir yöntemdir (Tablo 2).

Tablo 1. Flavonoit Yapısı ve Renk Reaksiyonları

Süstitüent	UV	UV/NH ₃	UV/NA
Flavon, 5-OH ve 4'-OH	Koyu mor	Sarı	Sarı
Flavonol, 5-OH ve 4'-OH, 3-OR	Koyu mor	Sarı-yeşil	Sarı
Flavon, 5-OH, 3', 4'-OH	Koyu mor	Sarı-yeşil	Oranj
Flavonol, 5-OH, 3', 4'-OH, 3-OR	Koyu mor	Sarı-yeşil	Oranj
Flavon, 5-OH, 4'-OR	Koyu mor	Renk değişmez	Kahve-mor
Flavonol, 5-OH, 4'-OR	Koyu mor	Kahve-mor	Kahve-mor
Flavonol, 5-OH, 4'-OH ve 6-OH	Koyu mor	Kahve-mor	Mor
Flavonol, 3-OH, 5-OH veya 5-OR	Soluk sarı	Renk değişmez	Sarı
Flavonol, 3-OH, 3', 4'-OH	Soluk sarı	Renk değişmez	Oranj
Flavon, 5-OR	Açık mavi	Sarı-yeşil	Sarı-yeşil
Flavonol, 5-OR, 3-OR	Açık mavi	Mavi-yeşil	Sarı
Flavonol, 5-OR, 3', 4'-OH	Açık mavi	Fluoresans	Oranj

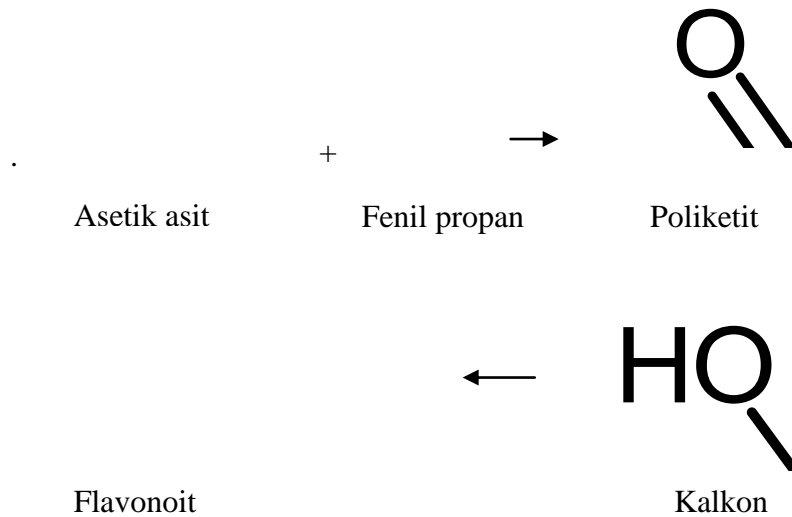
2.2.3.1. Flavonoitlerin Biyosentezi

Flavonoitler şikimik asit kombinasyonu ya da açilpolimalonat yolağı ile biyosentez edilirler. Şikimik asitten bir sinnamik asit türevi (fenil propan) sentezlenir. Bu bileşik poliketit sentezinde başlangıç maddesidir. Bu yapıya üç tane asetat katılarak ve halka kapanarak flavonoit iskeleti oluşur. Çeşitli hidroksilasyon ve redüksiyon reaksiyonları ile farklı flavonoit yapıları meydana gelir. Biyosentetik olarak fenilalanin'den türerler.

Tablo 2: Flavonoitlerin UV Spektroskopisindeki Absorbsiyon Bantları

	Bant I	Bant II
Flavon	304-350 nm	250-270 nm
Flavonol	352-385 nm	250-270 nm
Flavonon	310-330 nm	275-290 nm
Kalkon	360-390 nm	240-260 nm
Auran	390-430 nm	240-260 nm
Antosyanidin	475-560 nm	275-280 nm
İzoflavon	300-340 nm	245-280 nm

Glukoz metabolizmasıyla oluşan malonil-koenzim A'nın üç molekülünü birleşerek kalkon sentetaz eşliğinde flavonoitlerin A halkasını oluştururlar. B ve C halkaları da glukoz metabolizmasıyla meydana gelir. Şikimat yoluyla fenilalanin sinamik aside dönüşür. O da kumarik aside dönüşür. Kumarik asit -koenzim A, 3 mol malonil-koenzim A ile tek enzimatik aşamada kondanse olarak naringenin kalkonu oluşturur. Daha sonra C halkası kapanır ve hidrate olmuş 3-hidroksi flavonoit oluşur (45, 137) (Şekil 8).

**Şekil 8:** Flavonoit Biyosentezi

2.2.3.2. Ultraviyole Absorbsiyon Spektroskopisi ile Flavonol Yapı Tayini

Flavon ve Flavonollerin metanolde UV spektrumları:

Flavon ve flavonollerin metanol spektrumlarında 240-400 nm bölgesinde iki ana absorpsiyon piki görülür. Bu iki pik genellikle Bant I (300-380 nm) ve Bant II (240-280 nm) olarak bilinir.

Benzoil bakiyesi Bant II

Sinnamoil bakiyesi Bant I

Şekil 9. Flavon Yapısı

Bant I B-halkası sinnamoil sistemine bağlı, Bant II A-halkası benzoil sistemine bağlı olarak absorpsiyon gösterir. UV spektrumlarındaki veriler, süstitüe olmuş veya olmamış flavonoitlerin yapılarının aydınlatılmasında diğer spektroskopik yöntemlerle elde edilen verileri destekler. Eğer 250-275 nm arasında iki pik varsa ya da tek pik ve omuz varsa 3', 4'-OH taşıyan flavon ya da flavonol olduğunu gösterir (58, 100, 221).

Metanol spektrumunda Bant I pozisyonu flavonoit tipi hakkında bilgi verir.

Flanonoit tipi	Bant I (nm)
Flavonlar	304-350
Flavonoller (3-OH süstitüe)	328-357
Flavonoller (serbest 3-OH)	352-385

Flavon ve flavonollerde A-halkasında OH grupları arttıkça Bant I çok az etkilenir, Bant II' de ise dikkate değer batokromik kayma görülür. Eğer flavon ve flavonol iskeletinde 3, 5 veya 4' hidroksil grupları metillenirse veya ozlar bağlanırsa, özellikle Bant I' de hipokromik kaymalar görülür.

Fonksiyonel grupların konumu tespit için UV' de çeşitli reaktifler kullanılır:

1. NaOMe Spektrumu

Sodyum metilat bazdır ve flavonoit çekirdeğindeki bütün hidroksil grupları iyonize eder. Serbest 3- ve/veya 4'-hidroksi grubu tespiti için kullanılır. Flavon ve flavonollerin metanoldeki çözeltisine NaOMe eklenmesi ile genelde bütün absorpsiyon bandlarında batokromik kayma görülür. Bant I' in yaklaşık 40-65 nm geniş batokromik kayması ve aynı zamanda şiddetin düşmemesi, serbest 4'-hidroksil grubunun varlığını teşhis eder. Serbest 4'-hidroksil grubu olmaksızın flavonoller Bant I' de 50-60 nm batokromik kayma verir ve genelde pik şiddeti düşer. NaOMe spektrumunda MeOH spektrumuna göre 300-350 nm arasında üçüncü bant meydana gelirse C-7' de serbest OH grubu vardır, bant meydana gelmiyorsa C-7 bağlıdır veya C-7' de süstitüent yoktur (124).

2- NaOAc Spektrumu

Sodyum asetat NaOMe' dan daha zayıf bir bazdır ve bu nedenle flavon ve flavonollerde yalnız fazla asidik hidroksil gruplarını iyonize eder (Örn: 3, 7 ve 4'-hidroksi grupları). 7-hidroksi grubunun iyonizasyonundan ana olarak Bant II etkilenir, NaOAc özellikle 7-hidroksi gruplarının spesifik tayini için teşhis maddesidir. NaOAc varlığında Bant II' nin 5-20 nm batokromik kayması ve Bant I' de omuz varlığı serbest 7-hidroksi grubu içeren flavon ve flavonolleri gösterir. 5, 6,

7' de OH, 5, 7, 8' de OH grupları içerenler alkaliye duyarlı olduğu için Bant II' de bozulma görülür (124).

3. NaOAc+H₃BO₃ Spekturumu

Sodyum asetat varlığında borik asit, C-5, 6' daki hariç, flavonoit çekirdeğindeki bütün orto dihidroksi gruplarla şelat yapar. NaOAc+H₃BO₃ varlığında Bant I' in 12-30 nm batokromik kayması flavon ve flavonollerin B-halkasında dihidroksi grup içerdiğini gösterir. A halkasında 6, 7 veya 7, 8 dihidroksi grup içeren flavon ve flavonollerde Bant II' de 5-10 nm' lik batokromik kayma verir (124).

4. AlCl₃ ve AlCl₃+HCl Spektrumları

AlCl₃ ile flavon ve flavonollerin B halkasında orto dihidroksi gruplar arasında şelat oluşur. Ayrıca 3 ve 5-OH' lerle de şelat yapar. B halkasındakiler aside dayanıksızdır, HCl ilavesi ile bu şelat parçalanır. Flavon ve flavonollerde 5-OH varsa, Bant I' de 35-55 nm' lik batokromik kayma görülür. 5-OH ve 6' da oksijen fonksiyonu varsa (OH/OCH₃) Bant I' de 17-20 nm' lik batokromik kayma görülür. AlCl₃' lü çözeltiyeye HCl ilave edilince 30-40 nm' lik Bant I' de hipsokromik kayma, B halkasındaki orto dihidroksi gruplarını gösterir. A halkasında orto dihidroksi gruplarını gösterir. A halkasındaki orto dihidroksi grupları varsa Bant I' de 20-25 nm' lik hipokromik kayma gözlenir (124).

2.2.4. Asetilenler (Alkinler)

Alkinler, C \equiv C üçlü bağı içeren bileşiklerdir; genel formülleri C₂H_{2n-2}'dir. Alkinlerin R-C \equiv C-H şeklinde olanlarına, uç asetilenleri denir; R-C \equiv C-R' şeklinde

olanlarına dialkil asetilen denir ve bunlar, üçlü bağın bulunduğu yere göre adlandırılırlar. Alkinlerin kaynama noktaları ve erime noktaları düşüktür; sudan hafiftirler, yani yoğunlukları 1'den küçüktür. Alkinler suda çözünmezler; aseton ve benzen gibi organik çözücülerde çözünürler.

Bazı önemli alkinler şunlardır:

Alkin adı	Formül
Etin (Asetilen)	$H-C\equiv C-H$
Propin (Metil asetilen)	$CH_3-C\equiv C-H$
1-Butin (Etil asetilen)	$CH_3-CH_2-C\equiv C-H$
2-Butin (Dimetil asetilen)	$CH_3-CH\equiv CH-CH_3$
1-Pentin (n-Propil asetilen)	$CH_3-CH_2-CH_2-C\equiv C-H$
2-Pentin (Metil-etil asetilen)	$CH_3-CH_2-CH\equiv CH-CH_3$
1-Hekzin (n-Butil asetilen)	$CH_3-CH_2-CH_2-CH_2-C\equiv C-H$
2-Hekzin (Metil-propil asetilen)	$CH_3-CH_2-CH_2-CH\equiv CH-CH_3$
3-Hekzin (Dietil asetilen)	$CH_3-CH_2-C\equiv C-CH_2-CH_3$

Alkinler, organik halojen bileşiklerinden, aldehit ve ketonlardan, eliminasyon ve substitüsyon reaksiyonlarıyla elde edilebilirler. Alkinler, katılma reaksiyonları, yükseltgenme reaksiyonları, indirgenme reaksiyonları verebilirler ve uç alkinler alkin tuzları oluşturabilirler.

Alkinlerdeki üçlü bağ, alkenlerdeki çift bağdan daha kararlıdır; bu nedenle alkinlere katılma reaksiyonları alkenlere katılmadan daha yavaş yürür.

Etkin koşullarda alkinlerin üçlü bağ elektronları güçlü yükseltgenlerle alınarak $C\equiv C$ bağı kopar ve karboksilik asitler meydana gelir.

Asetilen (Etin), önemli bir endüstriyel bileşiktir; parlak bir alevle yanar ve büyük miktarda ısı açığa çıkar. Asetilen, asetilen kaynağında karpit (kalsiyum

karbür)'ün su ile etkileştirilmesi suretiyle elde edilir ve saf oksijen veren bir üfleçle yakılarak 2700 °C'ye varan sıcaklıklar elde edilir.

2.2.5. *Anthemis* Türlerinin Kimyasal Bileşimi Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Anthemidae familyası fitokimyasal olarak en çok çalışılan familyalardan biridir. Çeşitli *Anthemis* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucunda görülmüştür ki asetilenler, flavonoidler ve terpenoidler bu genusun sahip olduğu üç ana grup sekonder metaboliti oluşturmaktadır (38, 52, 221, 226). *Anthemis* türleri uçucu yağ içeriği bakımından da ilgi çekicidir (82, 92, 95, 106, 109, 217).

2.2.5.1. Seskiterpen laktonlar




Anthemis türlerinde en sık rastlanan madde grubu seskiterpen laktonlardır. Değişik yapıdaki seskiterpen laktonlardan, linear seskiterpen laktonlar, germakranolid, ödesmanolid ve gyanolid tipi olanlar yaygın olarak görülenlerdir. *Anthemis* türlerinin biyolojik aktivitelerinden de genel olarak seskiterpen laktonların sorumlu olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (100, 134). *Anthemis* türlerinde tespit edilen seskiterpen laktonlar Tablo 3'de verilmiştir.



Tablo 3: *Anthemis* Türlerinden İzole Edilmiş Seskiterpen Lakton Bileşikleri

Bileşik	Formül	Tür
1R,3S,6S,7R,8R-1-Hydroperoxy-3-acetoxy-8- hydroxypermacra-4Z,10(14),11(13)-triene-6,12-olide		<i>Anthemis aetnensis</i> (38)
(1S,2R,5R,6R,7S,8R,9R,10S)2,9-diacetoxy-8,10-dihydroxyguaia-3,11(13)-diene-6,12-olide		<i>A. alpestris</i> (41) <i>A. aetnensis</i> (38) <i>A.cretica subs cretica</i> (216)
(E)-1α,10β-Epoxy-3β-acetoxy-6α-hydroxygermacra-4,11(13)-dien-12,8α-olide		<i>A. carpatica</i> (217)
10α-hydroxy-9α-acetoxy-guaia-3,11(13)-dien-12,6-olide		<i>A. carpatica</i> (191)

11S,5R,6R,7S,8R,9R,10S-9-Acetoxy-2,8,10-trihydroxyguaia-3,11(13)-diene-6,12-olide		<i>A. aetnensis</i> (38)
1-Epitatridin		<i>A. altissima</i> (100)
1-Epitatridin B		<i>A. wiedemanniana</i> (56)
1R,3S,6S,7R,8R-1-Hydroperoxy-3-acetoxy-8- hydroxypermacra-4Z,10(14),11(13)-triene-6,12-olide		<i>A. aetnensis</i> (38)

1R,3S,6S,7R,8R-1-Hydroxy-3-acetoxy-8-hydroxypermacra-4Z,10(14),11(13)-triene-6,12-olide		<i>A. aetnensis</i> (38)
1R,3S,6S,7R,8R-1-hydroxy-3-acetoxy-8-hydroxygermacra-4Z-10(14),11(13)-triene-6,12-olide		<i>A. aetnensis</i> (38)
1R,5R,6R,7S,8R,9S,10S-8,10 dhydroxy-9 acetoxy-3,11(13)-germacradien-6,12-olide		<i>A. plutonia</i> (40)
1R,5R,6R,7S,8R,9S,10S-8,9,10-trihydroxygermacra-3,11(13)-germacradien-6,12-olide		<i>A. plutonia</i> (40)

<p>1R,5R,6R,7S,8R,9S,10S-9,10-dihydroxy-8-acetoxy-3,11(13)-germacradien-6,12-olide</p>		<p><i>A. plutonia</i> (40)</p>
<p>1S,2R,5R, R,7S,8R,9R,10S-2,10-Dihydroxy-8-angeloxy-9-acetoxyquaia-3,11(13)-diene-6,12-olide</p>	<p>HO</p> 	<p><i>A. alpestris</i> (41)</p>
<p>1S,2R,5R,6R,7S,8R,9R,10S-10-Hydroxy-2,8,9-triacetoxyguaia-3,11(13)-diene-6,12-olide</p>	<p>AcO</p> 	<p><i>Anthemis aetnensis</i> (38) <i>A. cretica subs cretica</i> (216)</p>
<p>1S,2R,5R,6R,7S,8R,9R,10S-2,8,9,10_Tetrahydroxyguaia-3,11(13)-diene-6,12-olide</p>	<p>HO</p> 	<p><i>A. alpestris</i> (41)</p>

1S,2R,5R,6R,7S,8R,9R,10S-2-Acetoxy-8,10-dihydroxy-9-(2-methylpropanoyloxy)-guia-3,11(13)-diene-6,12-olide		<i>A. aetnensis</i> (38) <i>A.cretica subs cretica</i> (216) <i>A.aetnansis</i> (38)
1α, 10β-Eopxy-6-hydroxy-1,10H-inunolide		<i>A. altissima</i> (100)
2-acetoxy-9-izobutyroxy-8,10-dihydroxyguia-3,11(13)-diene-6,12-olide		<i>A. alpestris</i> (41) <i>A. aetnensis</i> (38) <i>A. cretica subs cretica</i> (216)
2-acetoxy-9-izovaleryloxy-8,10-dihydroxyguia-3,11(13)-diene-6,12-olide		<i>Anthemis alpestris</i> (41) <i>A. cretica subs cretica</i> (216) <i>A.aetnensis</i> (38)

2α-hydraperxy-8-O-isobutyryl-9α- acetoxycumambrin B		<i>A.carpatica</i> (217)
3β-acetoxycostunolide		<i>A. meleampodina</i> (64)
3β-acetoxydeacetylturinol		<i>A. carpatica</i> (217)
3β-acetoxydeacetylturinolacetate		<i>A. carpatica</i> (217)
3β-Hydroxycostunolide		<i>A. meleampodina</i> (180)

4-Hydroxyanthecotulide		<i>A. auriculata</i> (201)
4-O-Acetoxyanthecotulide		<i>A. auriculata</i> (201)
5-Acetoxy-5,6-dihydro-6,13-dehydro-antheinduroside A		<i>A. arvensis</i> L. (222)
5-hydroperoxy-6,13-dehydro-5,6-dihydroanthecotuloide		<i>A. cotula</i> (107)
5-hydroperoxy-6,13-dehydro-5,6-dihydroanhecotuloide		<i>A. cotula</i> (221)

5-Hydroxy-5,6-dihydro-6,13-dehydro-antheinduroloide A		<i>A. arvensis</i> L. (222)
5-oxo-6,13-dehydro-5,6-dihydroanthecontuloide		<i>A. cotula</i> (221)
5-Oxo-6,7-ZDehydro5,6-dihydroanthecontuloide -		<i>A. cotula</i> (18)
6,7 E-dehydro anthecontuloide		<i>A. cotula</i> (221)
6,7Z-Dehydro-5,6-dihydroanthecontuloide		<i>A. cotula</i> (18)

6-hydroperoxy-5,6-dihydro-4,5-dehydro-anthendurolide A		<i>A. arvensis L.</i> (222)
6-hydroxy-4,5-dehydro-5,6-dihydroanhecotuloide		<i>A. cotula</i> (221)
6-Hydroxy-5,6-dihydro-4,5-dehydro-antheindorolide A		<i>A. arvensis L.</i> (222)
8- Angeloxy-4,5-epoxygermacra-1(10),11(13)dien-6,12-olid		<i>A. cupaniana</i> (39) <i>A. macedonica</i> (192) <i>A.punctata subs cupaniana</i> (164)
8-(tetrahydro-3'-methylene-2'-oxofuran-4'-yl)-2,6-dimethylocta-2,6-dienal		<i>A. tigrensensis</i> (58)

8,9-Di-O-Acetylanthemolide B		<i>A. carpatica</i> (43) <i>A. cretica subs cretica</i> (216)
8-deoxy-9-O-acetylanthemolide B		<i>A. carpatica</i> (217)
8-İzobutyroxy-4,5-epoxygermacra-1(10),11(13)dien-6,12-olide		<i>A. cupaniana</i> (39)
8-İzobutyroxy-4,5-epoxygermacra-1(10),11(13)dien-6,12-olide		<i>A.cupaniana</i> (39)

8-O-Acetylanthemolide B		<i>A. carpatica</i> (43)
8-O-Angeloyl-9-O-acetylanthemolide B		<i>A. cretica</i> (216)
8-O-dihydroantheotuloide		<i>A. cotula</i> (221)
8-O-isobutyryl-9-O-acetylanthemolide B		<i>A. carpatica</i> (43,217) <i>A.cretica subs cretica</i> (216)

8-O-isobutyryl-9α-acetoxycumambrin B		<i>A. carpatica</i> (217)
8-O-Tigloyl-9-O-acetylanthemolide B		<i>A. carpatica</i> (217)
8-O-tigloyl-9α-acetoxycumambrine B		<i>A. carpatica</i> (191)
8-Tigloxy-4,5-epoxygermacra- 1(10),11(13)dien-6,12-olide		<i>A. cupaniana</i> (39)

8α-angeloyloxydouglanin	• ,	<i>A. carpatica</i> (217)
8α-hydroxydouglanin	• ,	<i>A. carpatica</i> (217)
8α-isobutyroxydouglanin	• ,	<i>A. carpatica</i> (217)
8α-isobutyroxyanthemolide A		<i>A. carpatica</i> (217)

8α-izobutyryloxyanthemolide C		<i>A. carpatica</i> (217)
8α-Propionyloxyanthemolide C		<i>A. carpatica</i> (217)
8α-Tigloyloxyanthemolide C		<i>A. carpatica</i> (217)
8α-tigloyloxydouglanin	:	<i>A. carpatica</i> (217)

9- Acetoxy-4,5-epoxygermacra-1(10),11(13)dien-6,12-olide		<i>A. cupaniana</i> (39)
9-O-Acetylanthemolide B		<i>A. carpatica</i> (43)
9-O-Deacetylanthemolide D		<i>A. carpatica</i> (217)
9α-acetoxycumambrin A		<i>A. carpatica</i> (217)

9α-Acetoxycumambrin B		<i>A. cretica subsp cretica</i> (216)
9α-acetoxycumambrine B		<i>A. carpatica</i> (191)
9α-Acetoxyparthenolide		<i>A. punctata subsp cupaniana</i> (39) <i>A. cretica subsptenuiloba</i> (29) <i>A. macedonica</i> (192)
9α-hydroxycumambrine A		<i>A. carpatica</i> (191) <i>A. cretica subs cretica</i> (216)



9α-Hydroxyparthenolide		<i>A. punctata subsp cupaniana</i> (39)
Altissin		<i>A. altissima</i> (100)
Anthecotuloide		<i>A. cotula</i> (221) <i>A. auriculata</i> (9)
Anthecotuloide-5,6-oxide		<i>A. cotula</i> (221)
Anthecularin		<i>A. auriculata</i> (9)

Antheindurolide		<i>A. tigreensis</i> (38)
Antheindurolide A-5,6-oxide		<i>A. arvensis</i> L. (222)
Antheindurolide B		<i>A. arvensis</i> L. (222) <i>A. cotula</i> (107) <i>A. pseudocotula</i> (1)
Anthemolide A		<i>A. carpatica</i> (43) <i>A. cretica</i> (216)
Anthemolide B		<i>A. carpatica</i> (217) <i>A. cretica</i> (216)

Anthemolide C		<i>A.carpatica</i> (217)
Anthemolide D		<i>A. carpatica</i> (43)
Anthemolide E		<i>A.carpatica</i> (43)
Anthemolide F		<i>A. carpatica</i> (217)

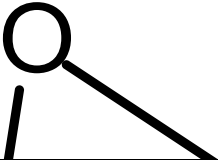
Anthendurolide A		<i>A. arvensis</i> L. (222) <i>A. cotula</i> (107) <i>A. pseudocotula</i> (1)
Anthepseudolide		<i>A. pseudocotula</i> (1)
Anthepseudolide-6-O-acetate		<i>A. pseudocotula</i> (1)
Athendurolide B		<i>A. pseudocotula</i> (1) <i>A. indurata</i> <i>A. cotula</i> (18) <i>A. auriculata</i> (203)
Costunolide		<i>A. meleampodina</i> (180)

Cumambrin B		<i>A. carpatica</i> (234)
Cumambrine A		<i>A. carpatica</i> (191)
Custunolide,cis,cis-11,13-dihydro-3α- acetoxy-8β-hydroxy		<i>A. cretica subsp montana</i> (29)
Custunolide,cis,cis-3α-acetoxy-8β-acetoxy		<i>A. cretica subsp montana</i> (29)

Custunolide, cis, cis-3α-acetoxy-8β-hydroxy		<i>A. cretica subsp montana</i> (29)
Dehidrolanuginolide		<i>A. cupaniana</i> (39)
Dentatin A		<i>A. melanolepsis</i> (182)
Desacetyl-β-cycloperethrosin		<i>A. wiedemanniana</i> (56) <i>A. altissima</i> (100)
Desacetyl-β-cyclopyretrosin		<i>A. altissima</i> (100)

Douglanin		<i>A. carpatica</i> (217) <i>A. melampodina</i> (64)
Epi-antheindurolide A		<i>A. auriculata</i> (203)
Epitatrudin (Tanachin)		<i>A. wiedemanniana</i> (56)
Hydruntinolide A		<i>A. hydruntina</i> (22) <i>A. aetnensis</i> (38)

Hydruntinolide B		<i>A. hydruntina</i> (22) <i>A. aetnensis</i> (38)
Hydruntinolide C		<i>A. hydruntina</i> (22)
Hydruntinolide C		<i>A. hydruntina</i> (22)
Ludalbin		<i>A. carpatica</i> (217) <i>A. macedonica</i> (115)

Melanolepin B		<i>A.melanolepis</i> L. (187)
Melanolepin C		<i>A. melanolepis</i> L. (187)
Michelenolide		<i>A.macedonica</i> (192)
Santamarine		<i>A. macedonica</i> (192)

Sivasinolide		<i>A. altissima</i> (100)
Stizoline		<i>A. cupaniana</i> (39) <i>A.macedonica</i> (192)
Tatridin A		<i>A. altissima</i> (100) <i>A. wiedemanniana</i> (56)

2.2.5.2. Flavonoitler

Yapılan çalışmalarda *Anthemis* türlerinde bulunan flavonoit bileşiklerinin çoğunun apigenin, luteolin gibi flavon yapısında olanlar ile kersetin ve kemferolün mono, di, tri metil eterleri gibi flavonol yapısında olan bileşikler olduğu görülmektedir. Ayrıca bu flavonoitlerin, C3 ve C7 nolu konumlardan substitüe olmuş çeşitli heterozit formları da görülmektedir. Çeşitli türlerden elde edilen flavonoitler Tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4: *Anthemis* türlerinden izole edilmiş flavonoit bileşikleri

Patuletin-3-glikozide		<i>A. tinctoria</i> ssp. <i>subtinctoria</i> (226)
Quercetagetin-3,6,3'- trimethylether		<i>A. tinctoria</i> ssp. <i>subtinctoria</i> (226)
Patuletin-3-rutinoside		<i>A. tinctoria</i> ssp. <i>subtinctoria</i> (226)

Santin		<i>A. nobilis</i> (228)
Apigenin		<i>A. auriculata</i> (201) <i>A. nobilis</i> (228) <i>Anthemis melanolepis</i> L. (187) <i>A. cotula</i> (221) <i>A. altissima</i> (100)
Apigenin-7-glucoside		<i>A. nobilis</i> (2)
Apigenin 7-O-Glukronide		<i>A. triumfetti</i> (162)

7,4'-Dimethylether-apigenin		<i>A. melanolepis</i> L. (187)
Luteolin		<i>A. nobilis</i> (65) <i>A. auriculata</i> (201)
Luteolin-7-rutinoside		<i>A. nobilis</i> (65)
6-Hydroxyluteolin-7-glukozide		<i>A. nobilis</i> (65)

Luteolin-7-glukoside		<i>A. nobilis</i> (2) <i>A. triumfetti</i> (162)
Luteolin 7-O-β-D-glukopyranoside		<i>A. auriculata</i> (201)
Quercetin		<i>A. nobilis</i> (65) <i>A. altissima</i> (100)

Quercetin 7-O-glucoside		<i>A. triumfetti</i> (162)
Quercetin 4'-O-glucoside		<i>A. triumfetti</i> (162)
Quercetin-3-methylether		<i>A. altissima</i> (100)

6-hydroxyquercetin-3,6,4'- trimethylether		<i>A. altissima</i> (100)
Apiin		<i>A. nobilis</i> (65)
Ísorhamnetin		<i>A. nobilis</i> (65) <i>A. altissima</i> (100)

Patuletin		<i>A. nobilis</i> (65)
Rutin		<i>A. nobilis</i> (65)
Chrysoeriol-7-glucoside		<i>A. nobilis</i> (65)

Patulitrin		<i>A. nobilis</i> (65) <i>A. triumfetti</i> (162)
Kaempferol		<i>A. nobilis</i> (2)
Scopoletin		<i>A. nobilis</i> (2) <i>A. triumfetti</i> (162)
Pectolinarigenin		<i>A. auriculata</i> (201)

Eriodictyol		<i>A. auriculata</i> (201) <i>A. altissima</i> (100)
Umbelliferone		<i>A. triumfetti</i> (162)
Hispidulin		<i>A. triumfetti</i> (162)
Scopolin	Glu-(<i>A. triumfetti</i> (162)
Dihydrokaemferol		<i>A. melanolepis</i> L. (187)

5,7,3-trihydroxy-3,6,4-trimethoxyflavonol		<i>A. melanolepis</i> L. (187)
Naringenin		<i>A. melanolepis</i> L. (187)
Hispidulin		<i>A. cotula</i> (221)
Kaempferol-4'-methylether		<i>A. altissima</i> (100)

Rhamnetin		<i>A. altissima</i> (100)
Taxifolin		<i>A. altissima</i> (100)

2.2.5.2. Asetilenler

Asetilenler üzerinde yapılmış olan çalışmalarda doğada on karbonlu tiyoeterlerin yaygın olarak bulunmamasına rağmen, *Anthemis* türlerinin özellikle on karbonlu tiyoeter içeriği bakımından diğer familyalara göre çok zengin olduğu görülmektedir. *Anthemis* türü ayrıca ondört karbonlu asetilenlerin de yaygın olarak bulunduğu bir familyadır (48). Çeşitli *Anthemis* türlerinden elde edilen asetilenler Tablo 5’de verilmiştir.

<i>A. arvensis</i> L.		(25,26)
<i>A. arvensis</i> L.		(25,26)
<i>A. arvensis</i> L.		(25,26)
<i>A. arvensis</i> L.		(25,26)
<i>A. austriaca</i> Jacq. (= <i>A.cotiformis</i> <i>velen</i>)		(73-78)
<i>A. austriaca</i> Jacq.		(25- 28,31,32)
<i>A. austriaca</i> Jacq.		(25- 28,31,32)
<i>A. austriaca</i> Jacq.		(25- 28,31,32)
<i>A. austriaca</i> Jacq.		(25- 28,31,32)
<i>A. austriaca</i> Jacq.		(25- 28,31,32)
<i>A. austriaca</i> Jacq.		(25- 28,31,32)
<i>A. austriaca</i> Jacq.		(25- 28,31,32)
<i>A. austriaca</i> Jacq.		(25- 28,31,32)
<i>A. biebersteiniana</i> C. Koch.		(25-27,31)
<i>A. biebersteiniana</i> C. Koch.		(25-27,31)
<i>A. brachycentris</i> F.Gay		(25,26,31)

<i>A. cretica</i> L.		(26)
<i>A. cretica</i> L.		(26)
<i>A. cretica</i> L.		(26)
<i>A. cretica</i> L.subsp <i>anatolica</i> (Boiss.) Grierson		(29)
<i>A. cretica</i> L.subsp <i>anatolica</i> (Boiss.) Grierson		(29)
<i>A. cretica</i> L. Subsp. <i>montana</i> (Briquet) Grierson		(29)
<i>A. cretica</i> L. Subsp. <i>montana</i> (Briquet) Grierson		(29)
<i>A. cretica</i> L. Subsp. <i>montana</i> (Briquet) Grierson		(29)
<i>A. cretica</i> L.subsp. <i>tenuiloba</i> (DC) Grierson		(29)
<i>A. cupaniana</i> Tod.		(25-27,31)
<i>A. cupaniana</i> Tod		(25-27,31)
<i>A. cupaniana</i> Tod		(25-27,31)
<i>A. cupaniana</i> Tod		(25-27,31)

<i>A. cupaniana</i> Tod		(25-27,31)
<i>A. cupaniana</i> Tod		(25-27,31)
<i>A. cupaniana</i> Tod		(25-27,31)
<i>A. cupaniana</i> Tod		(25-27,31)
<i>A. dumetorum</i> Sosn.		(25)
<i>A. dumetorum</i> Sosn.		(25)
<i>A. dumetorum</i> Sosn.		(25)
<i>A. ersula</i>		(25)
<i>A. kelwayi</i> Hart		(25,26)
<i>A. kelwayi</i> Hart		(25,26)
<i>A. kelwayi</i> Hart		(25,26)
<i>A. kelwayi</i> Hart		(25,26)
<i>A. kelwayi</i> Hart		(25,26)
<i>A. macedonica</i> Boiss. Et. Orph.		(26)

<i>A. macedonica</i> Boiss. Et. Orph.		(26)
<i>A. macedonica</i> Boiss. Et. Orph.		(26)
<i>A. maritima</i> L.		(25,26)
<i>A. maritima</i> L.		(25,26)
<i>A. maritima</i> L.		(25,26)
<i>A. maritima</i> L.		(25,26)
<i>A. melanoloma</i> Trautv.		(25)
<i>A. melanoloma</i> Trautv.		(25)
<i>A. melanoloma</i> Trautv.		(25)
<i>A. melanoloma</i> Trautv.		(25)
<i>A. melanoloma</i> Trautv.		(25)
<i>A. melanolepsis</i>		(25)
<i>A. monantha</i>		(25)

<i>A. montana</i> L.		(25,26,31)
<i>A. montana</i> L.		(25,26,31)
<i>A. montana</i> L.		(25,26,31)
<i>A. montana</i> L.		(25,26,31)
<i>A. montana</i> L.		(25,26,31)
<i>A. mucronilata</i> Reichb.		(25,26,31)
<i>A. mucronilata</i> Reichb.		(25)
<i>A. mucronilata</i> Reichb.		(25)
<i>A. mucronilata</i> Reichb.		(25)
<i>A. mucronilata</i> Reichb.		(25)
<i>A. mucronilata</i> Reichb.		(25)
<i>A. muricata</i> (DC) Guss.		(26)
<i>A. muricata</i> (DC) Guss.		(26)
<i>A. muricata</i> (DC) Guss.		(26)
<i>A. petraeae</i> Ten		(25)
<i>A. petraeae</i> Ten		(25)
<i>A. petraeae</i> Ten		(25)
<i>A. petraeae</i> Ten		(25)
<i>A. petraeae</i> Ten		(25)

2.2.5.4. Steroidler

Anthemis türlerinde yukarıdaki ana gruplara ilaveten steroid tipi maddelere de rastlanmıştır. Stigmasterol, campesterol, α -sitosterol, β -sitosterol ve 24-methylene cycloartanol, bulunan maddeler arasındadır (161).

2.2.5.5. Terpenik Yapıdaki Bileşikler

Yapılan çalışmalarda *A. melanolepis* türünde taxasterol gibi terpenik yapıdaki bir maddeye de rastlanmıştır (182).

2.2.5.6. Sabit yağlar

A. triumfetti üzerinde yapılan bir çalışmada, bitkiden hazırlanan siklohegzan ekstresinde 16 farklı sabit yağ metil esteri (Nonaoic, decanoic, dodecanoic, tetradecanoic, pentadecanoic, hexadecanoic, heptadecanoic, 9, 12-octadecanoic, 9, 12, 15-octadecanoic, octadecanoic, eicodecanoic, docosanoic, tetracosanoic, hexacosanoic, octacosanoic) bulunmuş ve yapıları aydınlatılmıştır (161).

2.2.5.7. Diğer Fenolik Maddeler

Yapılan çalışmalarda *Anthemis* türlerinde fenolik yapıdaki bileşiklere de rastlanmıştır. Özellikle klorojenik asit ve kafeilkinik asit en çok rastlananlardır (143, 160).

Bir diğer çalışmada, Cezayir’de kullanılan bazı tıbbi bitkilerin, fenolik bileşik içeriklerine ve bunların antioksidan aktivitelerine bakılmış ve bu bitkiler arasında

bulunan *A. arvensis* de yüksek derecede antioksidan aktiviteye sahip fenolik maddeler içeren bir bitki olarak literatüre geçmiştir (61).

Yine *A. tinctoria* 'nın fenolik içeriği üzerinde yapılan bir araştırma mevcuttur (157).

Bazı *Anthemis* türlerinin yapraklarında fenolik maddelerin araştırıldığı bir çalışma da mevcuttur (12).

2.2.5.8. Diğer Bileşikler

Valery M. Dembitsky ve arkadaşları *A. austriaca* türünden kumulen yapısında 2, 6, 7, 8-dekatetraen-4-insasid, 9-(metiltiyo)-metilester, 5-hidroksi-9-metiltiyo-2, 4, 6, 7, 8-dekapentatenoik acid) maddeler izole etmişlerdir (218).

Yine *A. auriculata*'da bir monoterpenik iridoidal bileşik bulunmuştur (9).

Ivan Vuckovic ve arkadaşları *A. cotula*'dan asetofenon yapısında (4-hidroksi-3-isovalerilasetofenon, 4-metoksi-3-isovalerilasetofenon, 2, 2-dimetil-6-asetilkromanon) 3 tane bileşik izole etmişlerdir (221). Çeşitli *Anthemis* türlerinde total fenol ve kondanse tanen miktarları üzerinde yapılmış bir çalışma da mevcuttur. Bu çalışmaya göre kondanse tanen ve fenolik asit miktarlarının türlere göre çok büyük farklılıklar gösterdiği gözlenmiştir (12). Yine *A. nobilis*'in kök kültürlerinde geranil isovalerate birikiminin değerlendirildiği bir çalışmada, kök içermeyen sürgünlerde geranil izovalerat birikimine rastlanmamıştır (150).

2.2.5.9. Uçucu Bileşikler

Anthemis türleri uçucu yağları açısından pek çok çalışmaya konu olmuş bitkilerdir. Yaptığımız literatür çalışmalarında *A. montana* L.ssp. *carpatica* (191), *A.*

nobilis (92), *A. tinctoria* (95), *A. melempodina* (82), *A. xylopoda* O. Schwarz (214), *A. ruthenica* ve *A. arvensis* (223), *A. cretica* L. ssp.*leucanthemoides* (Boiss) Grierson(20), *A. altissima* L. var *altissima* (172), *A. altissima* L (106), *A. aciphylla* Boiss. var. *discoidea* Boiss. (19), *A. chia* L., *A. tomentosa* L., *A. auriculata* Boiss., *A. wenwei* L. ssp *weneri* Stoj.&Acht., *A. altissima*, *A. melanolepis* Boiss., *A. tinctoria* L. var. *parnassica* ve *A. cotula* (179), *A. triumfetti* (L.) DC. (139), *A. hyalina* (177)'nin uçucu yağ içeriklerinin tespit edildiği görülmüştür. Bu araştırmamızda da *A. wiedemanniana*'nın (109) uçucu yağ içeriği tespit edilmiştir.

2.3. Biyolojik Aktivite Bölümü

Anthemideae familyası biyolojik aktivite tayinlerine sık sık konu olan bir familyadır. Sitotoksik aktivitesi, antioksidan aktivitesi ve antihelikobakter aktivitesi üzerine yapılmış çok sayıda çalışma mevcuttur (15, 190, 49, 36, 49).

Örneğin *A. tinctoria*'nın içeriğinde bulunan antemisinin adlı seskiterpen lakton yapısındaki bir madde sayesinde bu türün antimalaryal etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır (183, 77). Fakat *Anthemis* türlerinde yapılan biyolojik aktivite çalışmalarına baktığımızda, en çok antibakteriyel aktivite çalışmalarının bulunduğunu görmekteyiz.

A. cretica, *A. nobilis*, *A. cotula*, *A. auriculata*, *A. coelopoda* ve *A. tenuisecta*, antibakteriyel aktivitesi üzerinde çalışılmış *Anthemis* türleridir. *A. cretica*'nın yaprak, tohum, meyve, çiçek ve toprak üstü kısımlarından metanol ekstreleri hazırlanıp bu ekstrelerin 7 mikroorganizmaya karşı MIC değerlerine bakılmış ve en yüksek aktivitenin yapraklar üzerinde olduğu gözlenmiştir (44).

A. cotula'nın çiçeklerinden hazırlanan flavonoit ekstresi üzerinde yapılan bir antibakteriyel aktivite çalışmasında, hazırlanan ekstrenin kullanılan 8 bakteriden 7'si üzerinde aktivite gösterdiği gözlenmiştir (167). Yine *A. cotula* üzerinde yapılan diğer bir çalışmada bitkiden hazırlanan etanol ekstresinin antibakteriyel etkisine bakılmış, denen 12 mikroorganizmadan 5'i üzerinde etkili olduğu bulunmuştur (63).

Brezilya'da kullanılan tıbbi bitkiler üzerinde yapılan bir çalışmada, antispazmodik ve digestive etkisinden dolayı, çalışılan bitkiler arasında bulunan *A. nobilis*'in etanol ekstresinin ve uçucu yağının anti-*candida* aktivitesine bakılmış ve ekstrede, çalışılan konsantrasyonlarda bir etkiye rastlanmazken, uçucu yağda anti-*candida* etki gözlenmiştir (53).

A. auriculata bitkisinden elde edilen, 3 linear seskiterpen lakton yapısındaki madde, antekotulid, hidroksiantekotulid, acetoksiantekotulid ve 2 flavonoit yapısındaki madde taraksa-20(30)en-3 β -ol ve metilvanilat izole edilmiş ve bu izole edilen saf maddelerin, 11 mikroorganizma üzerinde antibakteriyel aktivite tayinlerine bakılmıştır. Sonuç olarak, 5 maddenin de tüm mikroorganizmalar üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir (201).

Yine *A. coelopoda* var. *bourgaei* ve *A. tinctoria* var. *pallida* DC. türleri üzerinde yapılan bir çalışmada bitkilerden hazırlanan etilasetat, kloroform ve etanol ekstrelerinin 10 mikroorganizma üzerinde antibakteriyel aktivitelerine bakılmış ve sadece *A. coelopoda* var. *bourgaei* türünden hazırlanan etilasetat ekstresinin bazı mikroorganizmalar karşısında standart antibiyotiklerden fazla olamamak kaydıyla etkili olduğu gözlenmiştir (213).

A. tenuisecta Ball. bitkisinin uçucu yağı üzerinde yapılmış bir antibakteriyel aktivite çalışmasında ise uçucu yağın gram pozitif bakterilere karşı etkili olduğu kanıtlanmıştır (87).

Antibakteriyel aktivite tayinleri kadar olamamakla birlikte *Anthemis* türleri üzerinde yapılan sitotoksik aktivite tayinleri mevcuttur.

Yapılan bir çalışmada Asteraceae familyasından seçilen 25 türün ekstralarının HeLa, (serviks epitel karsinomu), A 431 (cilt epidermal karsinom) ve MCF7 (meme epitel karsinom) üzerindeki etkileri araştırılmış ve bitkiler arasında bulunan *A. ruthenica* ve *A. tinctoria* türlerinin, kanser hücrelerine karşı yüksek aktivitesi olduğu kanıtlanmıştır (36).

A. maritima bitkisinden izole edilen sikloheksanon yapısındaki iki yeni madde olan antheminones A ve antheminones B adlı bileşiklerin kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktivitelerine bakılmış ve antheminones A'nın lösemi hücrelerine karşı aktivitesi olduğu gözlenmiştir (49).

Tarafımızdan bu çalışma kapsamında yaptığımız ve orjinalliğinin bozulmaması için yayınladığımız, *A. wiedemanniana* bitkisi ve uçucu yayı üzerinde yapılan bu çalışmada bitkinin uçucu yağının 12 bakteri ve 5 mantar üzerindeki aktivitesine bakılmış ve bakteriler üzerinde standart antibiyotiklerden daha düşük aktivitesi olduğu ve mantar üzerinde aktivitesi olmadığı gözlenmiştir (109).

BÖLÜM II

GEREÇ VE YÖNTEM

1. BOTANİK BÖLÜM

Bu araştırmanın botanik çalışmalarında kullanılan *A. wiedemanniana* Fisch.&Mey. bitkisi 4 Haziran 2004 tarihinde İzmir-Bayındır-Alankıyı mevkiinden toplanmıştır. Bitkinin doğadaki görüntüsü resim 1’de yer almaktadır. Bitki Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden Serdar Gökhan ŞENOL tarafından teşhis edilmiştir. Toplanan bitkilerden alınan herbaryum örnekleri Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı herbaryumunda No:1325 ile kayıtlıdır. Resim 2’de herbaryum örneğine ait fotoğraf görülmektedir.

Toplanan bitkisel materyalden mikroskobik çalışmalarda kullanılmak üzere Radix ve Herba *Anthemis wiedemanniana* droğu hazırlanmıştır. Kesit için ayrılan bitki örnekleri ise 70°lik etanol içinde saklanmıştır. Bitkinin kök, gövde,yaprak ve çiçek bölümlerinden kesitler alınmış, ayrıca hazırlanan toz drog da kesitlerle birlikte, mikroskobik olarak incelenmiştir. Kesitler ve toz örnek sartur ve kloralhidrat reaktifleri içinde hazırlanan preparatları halinde incelenmişlerdir (44).

Hazırlanan preparatlar Carl Zeiss Jena marka araştırma mikroskobunda incelenmiştir. Gerekli durumlarda Carl Zeiss Jena mikrofotografi cihazı kullanılarak karakteristik özellikler saptanmıştır.

2. KİMYASAL BÖLÜM

2.1. Materyal

Bu araştırmanın fitokimyasal çalışmalarında kullanılan *Anthemis wiedemanniana* Fisch.&Mey. bitkisi 4 Haziran 2004 tarihinde İzmir-Bayındır-Alankıyı mevkiinden toplanmıştır. Toplanan bitkilerden alınan herbaryum örnekleri Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı herbaryumunda No:1325 ile kayıtlıdır.

Toplanan bitkiler toprak altı ve toprak üstü kısımları ayrılmaksızın küçük parçalar halinde kesilip oda sıcaklığında, açık havada ve gölgede kurutulduktan sonra Retsch GmbH SK 1 marka, elek çapı 1mm olan elektrikli değirmende toz haline getirilmiştir.

Uçucu bileşiklerin izolasyonu ve saptanması için ise, bitkiler kurutulmadan taze halde, küçük parçalar haline getirilip su distilasyonuna tabi tutulmuşlardır.

2.2. Yöntemler

2.2.1. Seskitepen Laktonların Tüketilmesi

Toz materyal ışıktan korumalı kaplarda Petroleteri: Dietileter (serbest peroksitli): Metanol (1:1:1) çözücü karışımında 1 gün maserasyona bırakıldı. 1 günün sonunda süzme işlemine tabi tutulup alçak basınçta kuruluğa kadar distillendi.

Elde edilen bu total ekstre, Siklohegzan: Dietileter: Metanol (1:1:1) çözücü karışımında çözüldü ve eşit miktarda doymuş tuzlu su* ile ekstraksiyona tabi tutuldu.

Alınan sulu faz etilasetatla tekrar ekstraksiyona alındı. Ekstraksiyona $Ce(SO_4)_2^{**}$ ve anisaldehit*** belirteçlerine karşı olumlu sonuç vermeyene kadar devam edildi. Susuz Na_2SO_4 kullanılarak etilasetatlı fazın suyu giderildi. Elde edilen etilasetatlı kısımlar birleştirildi. Süzülerek alçak basınçta kuruluğa kadar distillendi.

2.2.2. Seskiterpen Laktonların İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi

Sütun kromatografisi çalışmaları sırasında ayrılan fraksiyonların incelenmesi ve benzer olanların birleştirilmesi için ince tabaka kromatografisi yönteminden yararlanılmıştır.

Uygun çözücü sistemlerinin geliştirilmesi ve elde edilen bileşiklerin saflıklarının kontrolü amacıyla yine ince tabaka kromatografisi yönteminden yararlanılmıştır (Tablo 6). İnce tabaka kromatografisi çalışmalarında 0.25 mm kalınlığında silika jel 60 F₂₅₄ (Merck 5715) hazır cam kromatografi plakları kullanılmıştır.

2.2.3. Seskiterpen Laktonların Saflaştırılması

Total seskiterpen lakton ekstresinin fraksiyonlandırılıp ana fraksiyonların elde edilmesi sırasında sütun kromatografisi yönteminden yararlanılmıştır.

* **Tuzlu Su:** Distile su içine fazla miktarda Sodyumklorür (Riedel) ilave edilir. Ultrasonik banyoda 30 dakika tutulur. Süzülmeden kullanılır.

** **Seryum Sülfat Belirteci :** 2 g $[Ce(SO_4)_2]$, 100 ml %10'luk H_2SO_4 çözeltisi içinde çözülür (224).

*** **Anisaldehit Belirteci:** 0.5 ml anisaldehit, 1 ml H_2SO_4 ve 50 ml asetik asit karıştırılarak hazırlanır (224).

Bu araştırma kapsamında yapılan sütun kromatografisi çalışmalarında, adsorban olarak, silika jel 60 (70-230 Mesh) (Merc 7734) kullanılmıştır, yine çalışmalar sırasında, miktarlara uygun boyutlarda cam sütunlar kullanılmıştır. Ana fraksiyonların elde edilmesi sırasında Tablo 6'da verilen çözücü sistemlerinden yararlanılmıştır.

Sütuna uygulanacak karışımların, yoğun çözeltileri bir miktar adsorbanla karıştırıldıktan sonra, çözücü berteraf edilmiştir. Bu şekilde elde edilen toz halindeki karışım sütuna ilave edildikten sonra, elüsyona başlanmıştır.

Sütun kromatografisi sonucunda elde edilen ana fraksiyonların, ön inceleme amacıyla ¹H NMR spektrumları çekilmiştir. Spektrumlar incelenerek seskiterpen lakton ve flavonoit yapısına sahip bileşikler içeren fraksiyonlar saptandıktan sonra, bu fraksiyonlarda bulunan bileşikler preparatif YBSK yöntemiyle saflaştırılmıştır.

Tablo 6: İ.T.K de Yararlanılan Çözücü Sistemleri

No:	Çözücü Sistemi
I	Petrol eteri : Dietileter (7:3)
II	Petrol eteri : Dietileter (5:5)
III	Petrol eteri : Etlasetat (7:3)
IV	Dietileter : Etlasetat (7:3)
V	Petrol eteri : Dietileter: Metanol (7:3:0.5)
VI	Petrol eteri : Dietileter: Metanol (5:5:0.5)
VII	Petrol eteri : Kloroform : Metanol (7:2.5:0.5)
VIII	Petrol eteri : Kloroform : Metanol (8:1:1)
IX	Petrol eteri : Kloroform : Metanol: Toluen (7.5:2.5:0.5:0.5)
X	Petrol eteri : Kloroform : Metanol: Toluen (7:2.5:1:0.5)

2.2.4. Saf Halde Elde Edilen Bileşiklerin Tanınması

Saflaştırılan bileşiklerin yapılarını aydınlatmak için değişik spektroskopik yöntemlerden {UV, IR, 1D (^1H , ^{13}C) ve 2D NMR, EIMS ve HR-MS} yararlanılmıştır. Literatürde kayıtlı olan bileşikler için eldeki veriler, rapor edilmiş değerlerle karşılaştırılmıştır. Yapıların aydınlatılmasında yararlanılan analitik yöntemlerde kullanılan cihazlara ait teknik bilgiler aşağıda sunulmuştur.

UV Spektrumları: Shimadzu UV 160 A Spektrometresinde, 1 cm'lik kuvarz küvetlerde çekilmiştir.

IR spektrumları: Perkin-Elmer Model 983 Infrared Spektrometresinde çekilmiştir.

NMR Spektrumları: Bileşiklerin ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları, Bruker DRX-400 ve Bruker DMX-600 NMR Spektrometrelerinde, 2D NMR spektrumları ise Bruker DMX-600 NMR spektrometrelerinde çekilmiştir.

Kütle spektrumları: JEOL JMS-AX 505 HA spektrometrelerinde alınmıştır.

2.2.5. Uçucu Bileşiklerin İzolasyonu ve Saptanması

Bitkisel materyalden uçucu yağın elde edilmesi işlemi su distilasyonu yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla clevenger apareyinden yararlanılmıştır (200).

Uçucu yağ bileşenlerinin tayini, Hawlett Packard MSD Gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi sistemi (GC/MS) kullanılarak yapılmıştır.

3. BİYOLOJİK AKTİVİTE BÖLÜMÜ

Bu araştırmanın biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılan *Anthemis wiedemanniana* Fisch.&Mey. bitkisi 4 Haziran 2004 tarihinde İzmir- Bayındır-Alankıyı mevkiinden toplanmıştır. Toplanan bitkilerden alınan herbaryum örnekleri Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı herbaryumunda No: 1325 ile kayıtlıdır.

Toplanan bitkiler toprak altı ve toprak üstü kısımları ayrılmaksızın küçük parçalar halinde kesilip oda sıcaklığında, açık havada ve gölgede kurutulduktan sonra Retsch marka değirmende toz haline getirilmiştir.

3.1. Sitotoksik Aktivite Tayini

3.1.1. *Artemia salina* Leach Larvalarının Hazırlanışı

3.8 g deniz tuzu, 100 ml distile suda çözündürülüp bir tanka konulur. İçine brine shrimp (*Artemia salina* Leach) yumurtaları eklenir. Devamlı ışık altında bırakılan tanktan 48 saat içinde larvalar çıkar.

3.1.2. Test Çözeltilerinin Hazırlanışı

Hazırlanan toz materyalin, hegzan, etanol,etilasetat, metanol, kloroform, ve petrol eteri:dietileter:metanol (1:1:1) solvan sistemleriyle ekstreleri hazırlanmıştır. Bu ekstrele ve bitkinin ayırımı için kullanılan sütun kromatografisi işleminden sonra elde edilen fraksiyonlara brine shrimp yöntemiyle sitotoksik aktivite denemesi

(118-134) uygulanmış ve bu metoda göre sitotoksik aktivite gözlenen fraksiyonlar ve ekstraler saptanmıştır. Ekstreler ve fraksiyonlar 1000,100,10 ppm olmak üzere üç ayrı konsantrasyonda hazırlanmıştır.

1000 ppm'lik konsantrasyonun hazırlanması için 20 mg madde, 2 ml çözücüde çözündürülür. Üç ayrı flakona 0.5 ml konur.

100 ppm konsantrasyonun hazırlanması için, geriye kalan 0.5 ml'den alınan 0.2 ml çözelti, 1.8 ml çözücü eklenerek seyreltilir. Bu çözeltiden alınan 0.5 ml üç porsyon, üç ayrı flakona konur.

Geriye kalan 0.5 ml çözeltiye aynı yöntemin uygulanmasıyla 10 ppm'lik konsantrasyonlar hazırlanır ve üç ayrı flakona 0.5'er ml konur. Bir flakona da kontrol amacıyla sadece 0.5 ml çözücü konur. Daha sonra tüm flakonlardaki çözücüler kuruluğa kadar uçurulur.

Aktif olduğu bilinen Umbelliferon ve Kolşisin maddeleri standart olarak kullanılmıştır.

3.1.3. Deneyin Yapılışı

Her flakona bir miktar deniz tuzu çözeltisi konur. Her birinin içine 48 saat sonra yumurtadan çıkıp hazır hale gelmiş *Artemia salina* larvalarından on adedi sayılarak ilave edilir. Flakondaki çözelti hacmi deniz tuzu çözeltisi ilave edilerek 5 ml'ye tamamlanır.

24 saat sonra canlı kalmış olan larvalar sayılır ve kaydedilir. Veriler bir bilgisayar programı (Finney probit analiz metodu) yardımıyla değerlendirilir.

3.2. Mikrobiyolojik Aktivite Tayini

3.2.1. Ekstrelerin Hazırlanması

Hazırlanan ana ekstre ve elde edilen fraksiyonlar 2 mg/ml olacak şekilde metanolde çözüldürülüp antimikrobiyal test için +4°C' de saklanmıştır.

3.2.2. Test Mikroorganizmaları:

8 adet bakteri (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538/P, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 29998, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, *Salmonella typhimurium* CCM 5445 ve 1 adet mantar (*Candida albicans* ATCC 10239) türü olmak üzere toplam 9 adet mikroorganizma kullanılmıştır. Kullanılan mikroorganizmalar Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji laboratuvarından elde edilmiştir.

Bakteriler Mueller Hinton Broth' da 37°C' de 24 saat; mantar ise Glukoz Yeast Ekstrakt Broth' da 30 °C' de 48 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiştir.

3.2.3. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

A. *wiedemanniana* bitkisinden hazırlanan ana ekstrenin, ayırma aşamasında elde edilen fraksiyonların ve bitkinin uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesine disk difüzyon metodu (163) kullanılarak bakılmıştır. Bu metoda göre fraksiyonlar arasında yüksek aktivite gösteren 61-68 nolu fraksiyonun MIC ve MBC (146) değerlerine bakılmıştır.

BÖLÜM III

DENEYLER

1. KİMYASAL BÖLÜM

1.1. Bileşiklerin İzolasyonu ve Yapı Aydınlatma Çalışmaları

1.1.1. Seskiterpen Lakton Ekstresinin Hazırlanması

Orta incelikte toz edilmiş 3 kg bitkisel materyal, yaklaşık 6 litre dietileter: petroleteri: metanol (1:1:1) karışımında 24 saat süreyle, ışık geçirmeyen kaplarda, katı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Süre sonunda çözeltiler birleştirilip, alçak basınç altında rotavaporda 45°C'yi aşmayan ısıda yoğunlaştırıldı. Bu işlem sonunda 40 g'lık bir ekstre elde edilmiştir. Elde edilen bu ekstre siklohegzan: dietileter:metanol (1:1:1) çözücü karışımının 1 litresinde çözüldü. Eşit miktarda hazırlanmış tuzlu ile katı-sıvı ekstraksiyona tabi tutuldu. Ayrılan sulu faz etilasetatla tekrar ekstraksiyona alındı. Ekstraksiyona, $Ce(SO_4)_2$ ve anisaldehit belirteçlerine karşı olumlu sonuç vermeyene kadar devam edildi. Susuz Na_2SO_4 kullanılarak etilasetatlı fazın suyu giderildi. Elde edilen etilasetatlı kısımlar birleştirildi. Süzülerek alçak basınçta kuruluğa kadar distillendi. Böylece 4.2 g ağırlığında , %0.14 verimle ana ekstre elde edildi.

1.1.2. Total Seskiterpen Lakton Ekstresindeki Bileşiklerin Ayrılması

4.2 g ağırlığındaki total seskiterpen ekstresi 20 ml siklohegzanda 15 g silika jel 60 (70-230 Mesh) (Merck) adsorbana emdirildi. Daha sonra açık havada oda sıcaklığında ara sıra karıştırılmak suretiyle çözücüsü uçurulup, desikatörde homojen bir toz haline gelene kadar kurutuldu . Fraksiyonlandırma için adsorban miktarına uygun cam sütun kullanıldı. 160 mg silika jel 60 (70-230 Mesh) (Merck 7734) siklohegzanla süspansiyon haline getirilip sütuna yüklendi. Çökme tamamlandıktan sonra , adsorbana emdirilip, homojen akıcı bir toz haline getirilen ana ekstre , sütuna katı halde yüklenerek siklohegzan geçirilmeye başlandı. Elüsyon başlangıcından bitimine kadar 500'er ml'lik fraksiyonlar alındı. Seskiterpen lakton yapısına sahip maddelere ait lekelerin İ.T.K. nde görülen nitelik ve miktarına bağlı olarak, gerek duyulduğunda elüsyon çözücüsünün polaritesi, etilasetat ve aseton girilerek arttırıldı. Ana fraksiyonların elde edilmesi sırasında aşağıda belirtilen çözücü sistemlerinden yararlanılmıştır (Tablo 7).

Her fraksiyon alçak basınç altında rotavaporda 45 °C'yi geçmeyen ısılarda yoğunlaştırıldı. Kalan bakiye ince tabaka kromatografisiyle kontrole tabi tutuldu. Bu kromatogramlar 254 nm ve 366 nm dalga boyundaki UV ışık altında incelendikten sonra seryum sülfat ve anisaldehit belirteçleri püskürtülerek 105 °C'lik etüvde 10 dk bekletildi. Böylece lekeler görünür hale getirildi. Aynı çözücü sisteminde, aynı R_f değerine sahip lekeleri veren benzer fraksiyonlar birleştirilip, alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Desikatörde sabit vızne gelinceye kadar bekletilen birleştirilmiş fraksiyonlar tartıldı ve böylece total ekstreten ana sütun fraksiyonları elde edilmiş oldu. Toplam olarak 104 fraksiyon alınmış olup birleştirilen fraksiyonlar, elüsyonda kullanılan çözücü sistemleri ve fraksiyon ağırlıkları Tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 7: Ana Fraksiyonların Elde Edilmesi Sırasında Kullanılan Çözücü Sistemleri

Fraksiyon No	Çözücü sistemi
1-5	siklohegzan
6-20	Siklohegzan:etilasetat (7,5:2,5)
21-40	Siklohegzan:etilasetat (5:5)
41-60	Siklohegzan:etilasetat (2,5:7,5)
61-68	Etilasetat
69-89	Etilasetat:aseton (9:1)
90-92	Etilasetat:aseton (7,5:2,5)
93-102	Aseton
103-104	Metanol

Elde edilen bu birleştirilmiş ana fraksiyonların miktarı uygun olanlarına Brine shrimp yöntemi ile sitotoksik aktivite tayini uygulanmıştır. Bunun yanında disk difüzyon metodu, minimum İnhibitör konsantrasyon (MIC) ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC) yöntemleri kullanılarak antibakteriyel aktivitelerine bakılmıştır.

Tablo 8: Birleştirilmiş Ana Sütun Fraksiyonları, Kullanılan Çözücü Sistemi ve Birleştirilmiş Fraksiyon Miktarları.

No	Çözücü sistemi	Fraksiyon miktarı (mg)
1-4	siklohegzan	0,0059
5-20	Siklohegzan, Siklohegzan:etilasetat (7,5:2,5)	0,0533
21-30	Siklohegzan:etilasetat(7,5:2,5) Siklohegzan:etilasetat (5:5)	0,0755
31-35	Siklohegzan:etilasetat (5:5)	0,138
36-40	Siklohegzan:etilasetat (2,5:7,5)	0,1246
41-47	Siklohegzan:etilasetat (2,5:7,5)	0,2602
48-59	Siklohegzan:etilasetat (2,5:7,5)	0,659
60	Siklohegzan:etilasetat (2,5:7,5)	0,0038
61-68	Etilasetat	0,2093
69-79	Etilasetat:aseton (9:1)	0,7003
80-89	Etilasetat:aseton (9:1)	1,0042
90-92	Etilasetat:aseton (9:1)	0,18
93-104	Aseton, Metanol	0,4827

1.1.3. Bileşiklerin Saflaştırılması

Ayırımında elde edilen ana fraksiyonların, hangi tip bileşikler içerdiğinin anlaşılması için, ön çalışma olarak ^1H NMR spektrumları alınmıştır. Seskiterpen lakton ve flavonoit yapısında maddeler içerdiği görülen 5-20, 21-30, 31-35 ve 41-47 numaralı fraksiyonların preparatif YBSK ile saflaştırılmasına karar verilmiştir. Çalışmalar sırasında fraksiyonlara verilen kodlar Tablo 9’de verilmiştir.

Tablo 9: *A. wiedemanniana*: Bitkisinin Preparatif YBSK ile Ayırılması Sırasında Fraksiyonlara Verilen Kodlar.

Fraksiyon No:	Kod
5-20	H1
41-47	H2
21-30	H3
31-35	H4

1.1.3.1. H1 Kodlu Fraksiyonun Saflaştırılması

Fraksiyon No: 5-20

Miktarı: 50.3 mg

Taşıyıcı Solvan: Metanol:Su (2:1)

Akış Hızı: 1.8 ml/ dk

H1 kodlu fraksiyona preparatif YBSK kullanılarak uygulanan ayırımında elde edilen fraksiyonlar , miktarları ve bileşiklerin ^1H NMR kodları Tablo 10’da verilmiştir.

Tablo 10’da görülen H1 kodlu fraksiyonun RI dedektör kullanılarak preparatif YBSK ile saflaştırılması sırasında elde edilen 18 alt fraksiyonunun her birinin ^1H

NMR spektrumu çekilip değerlendirildi. H1-11 ve H1-13 fraksiyonlarının dışındaki diğer fraksiyonların karışım olduğu tespit edildi. Bu bilgiler sonucunda H1 kodlu fraksiyondan AW9 ve AW11 nolu saf bileşikler izole edildi.

Tablo 10: H1 Kodlu Fraksiyona Preparatif YBSK Kullanılarak Uygulanan Ayırımında Elde Edilen Fraksiyonlar, Miktarları ve Bileşiklerin ¹H NMR Kodları

Fraksiyon No:	Miktar (mg)	NMR kodları
H1-1	<0.1	-
H1-2	<0.1	-
H1-3	0.2	AW1
H1-4	0.1	AW 2
H1-5	2.5	AW 3
H1-6	0.1	AW 4
H1-7	0.1	AW 5
H1-8	1.8	AW 6
H1-9	0.8	AW 7
H1-10	0.1	AW 8
H1-11	1.7	AW 9
H1-12	<0.1	AW 10
H1-13	1.4	AW 11
H1-14	0.7	AW 12
H1-15	2	AW 13
H1-16	1.8	-
H1-17	<0.1	-
H1-18	<0.1	-
H1-19	<0.1	-
H1-20	<0.1	-
H1-21	<0.1	-

1.1.3.2. H2 Kodlu Fraksiyonun Safılaştırılması

Fraksiyon No: 41-47

Miktarı: 103.5 mg

Taşıyıcı Solvan: Metanol:Su (2:1)

Akış Hızı: 1.8 ml/ dk

H2 kodlu fraksiyona preparatif YBSK kullanılarak uygulanan ayırmada elde edilen fraksiyonlar, miktarları ve bileşiklerin ¹H NMR kodları Tablo 11'de verilmektedir.

Tablo 11: H2 Kodlu Fraksiyona, Preparatif YBSK Kullanılarak Uygulanan Ayırmada Elde Edilen Fraksiyonlar, Miktarları ve Bileşiklerin ¹H NMR Kodları.

Fraksiyon No:	Miktar (mg)	NMR kodları
H2-1	< 0.1	-
H2-2	0.5	AW 14
H2-3	19.4	AW 15
H2-4	8.3	AW 16
H2-5	0.7	AW 17
H2-6	< 0.1	-
H2-7	< 0.1	-
H2-8	0.3	AW 18
H2-9	< 0.1	-
H2-10	< 0.1	-
H2-11	< 0.1	-
H2-12	< 0.1	-
H2-13	< 0.1	-
H2-14	1.9	AW 19
H2-15	1.8	AW 20
H2-16	3.2	AW 21

Tablo 11’de görülen H2 kodlu fraksiyonun, RI dedektör kullanılarak preparatif YBSK ile saflaştırılması sırasında elde edilen 16 alt fraksiyonunun her birinin ¹H NMR spektrumu çekilip değerlendirildi. H2-2 ve H2-3 fraksiyonlarının dışındaki diğer fraksiyonların karışım olduğu tespit edildi. Bu bilgiler sonucunda H2 kodlu fraksiyondan AW14 (=15) nolu saf bileşik izole edildi.

1.1.3.3. H3 Kodlu Fraksiyonun Saflaştırılması

Fraksiyon No: 21-30

Miktarı: 49.3 mg

Taşıyıcı Solvan: Metanol:Su (2:1)

Akış Hızı: 1.8 ml/ dk

H3 kodlu fraksiyona preparatif YBSK kullanılarak uygulanan ayırımında elde edilen fraksiyonlar, miktarları ve bileşiklerin ¹H NMR kodları Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 12’de görülen H3 kodlu fraksiyonun RI dedektör kullanılarak preparatif YBSK ile saflaştırılması sırasında elde edilen 18 alt fraksiyonunun her birinin ¹H NMR spektrumu çekilip değerlendirildi. H3-7 ve H3-16 fraksiyonlarının dışındaki diğer fraksiyonların karışım olduğu tespit edildi. Bu bilgiler sonucunda H3 kodlu fraksiyondan AW22 ve AW24 kodlu saf bileşikler izole edildi.

Tablo 12: H3 Kodlu Fraksiyona Preparatif YBSK Kullanılarak Uygulanan Ayırmada Elde Edilen Fraksiyonlar , Miktarları ve Bileşiklerin ¹H NMR Kodları.

Fraksiyon No:	Miktar (mg)	NMR kodları
H3-1	< 0.1	-
H3-2	< 0.1	-
H3-3	< 0.1	-
H3-4	< 0.1	-
H3-5	< 0.1	-
H3-6	< 0.1	-
H3-7	< 0.1	-
H3-8	7.7	AW 22
H3-9	4.9	AW 23
H3-10	< 0.1	-
H3-11	< 0.1	-
H3-12	< 0.1	-
H3-13	< 0.1	-
H3-14	< 0.1	-
H3-15	< 0.1	-
H3-16	2.4	AW 24
H3-17	4.2	AW 25
H3-18	< 0.1	-

1.1.3.4. H4 Kodlu Fraksiyonun Saflaştırılması

Fraksiyon No: 31-35

Miktarı: 104 mg

Taşıyıcı Solvan: Metanol:Su (2:1)

Akış Hızı: 1.8 ml/ dk

H4 kodlu fraksiyona preparatif YBSK kullanılarak uygulanan ayırmada elde edilen fraksiyonlar ve bileşiklerin ¹H NMR miktarları Tablo 13’de verilmiştir.

Tablo 13: H4 Kodlu Fraksiyona YBSK Kullanılarak Uygulanan Ayırımada Elde Edilen Fraksiyonlar , Miktarları ve Bileşiklerin ¹H NMR Kodları.

Fraksiyon No:	Miktar (mg)	NMR kodları
H4-1	<0.1	-
H4-2	<0.1	-
H4-3	<0.1	-
H4-4	<0.1	-
H4-5	<0.1	-
H4-6	<0.1	-
H4-7	5.2	AW 26
H4-8	<0.1	-
H4-9	10.3	AW 27
H4-10	<0.1	-
H4-11	<0.1	-
H4-12	11.3	AW 28
H4-13	13.2	AW 29
H4-14	<0.1	-
H4-15	3.1	AW 30
H4-16	<0.1	-

Tablo 13’de görülen H4 kodlu fraksiyonun RI dedektör kullanılarak preparatif YBSK ile saflaştırılması sırasında elde edilen 16 alt fraksiyonunun her birinin ¹H NMR spektrumu çekilip değerlendirildi. H4-9, H4-12 ve H4-15 fraksiyonlarının dışındaki diğer fraksiyonların karışım olduğu tespit edildi. Bu bilgiler sonucunda H4 kodlu fraksiyondan AW27, AW28 ve AW30 kodlu saf bileşikler izole edildi.

1.2. Uçucu Bileşiklerin İzolasyonu ve Saptanması

1.2.1. Bitkisel Materyalin Hazırlanması

Uçucu yağ eldesinde kullanılan *Anthemis wiedemanniana* bitkisi İzmir-Bozdağ mevkiinden Mayıs 2003'de toplanmıştır. Toplanan bitki taze haldeyken küçük parçalar halinde kesilip distilasyon işlemine hazırlandı.

1.2.2. Uçucu Yağ Eldesi

Bitkiden uçucu yağ eldesi için su distilasyonundan yararlanılmıştır. Distilasyon için cleveger tip uçucu yağ düzeneği kullanılmıştır.

Bitkisel materyal yaklaşık 100'er gramlık porsiyonlar halinde ve 2 litrelik distilasyon balonuna doldurulduktan sonra 1 litre su ilave edildi. 8 saat süre ile distilasyon işlemine tabi tutuldu. Elde edilen uçucu yağ toluen içinde toplandı. Uçucu maddelerin tayini için GC/MS sistemi kullanıldı. Uçucu yağ içinde bulunan bileşenler, gaz kromatografisi kolonunda tutunma sürelerine göre ayrılarak, relatif oranlarına göre değerlendirilmiştir. Uçucu yağ içindeki bileşenler gaz kromatografisi kolonunda ayrılıp iyonlaştırıldıktan sonra her birinin tek tek kütle spektrumları alınmıştır. Değerlendirmeler LSS-30 kütüphane tarama yazılımı kullanılarak 43000 maddelik NBS/NIH/EPA Kütüphanesinin yanı sıra TBAM uçucu yağ bileşenleri kütüphanesi kullanılarak yapılmıştır.

1.2.3. GC/MS Analiz koşulları:

Sistem: Hewlett-Packard MSD

Kolon: HP-Innowax FSC (60 m x 0.25 mm; 0.25 µm film kalınlığı)

Taşıyıcı Gaz: Helyum (1 ml/dk)

Sıcaklıklar: Enjeksiyon: 250 °C; Kolon: 60 °C'de 10dk // 220 °C'ye 4 °C dk // 220 °C'de 10 dk // 240 °C'ye 1°C /dk

Split Oranı: 50:1

MS Koşulları: Elektron enerjisi; 70 eV; Kütle aralığı: m/z 35-425

2. BİYOLOJİK AKTİVİTE BÖLÜMÜ

2.1. Sitotoksik Aktivite Tayini

Bitki tozları 20g/200ml konsantrasyonda olacak şekilde hegzan, etanol, etilasetat, metanol, kloroform, ve petrol eteri:dietileter:metanol (1:1:1) solvan sistemleriyle sürekli çalkalama maserasyonuna tabi tutulmuştur. Süzülüp çözücülerin alçak basınçta kuruluğa kadar uçurulmasının ardından elde edilen ekstratlar üzerinde sitotoksik aktivite çalışmaları yapılmıştır.

Yine bitkinin ayırımı için kullanılan sütun kromatografisi işleminden sonra elde edilen fraksiyonlara brine shrimp yöntemiyle sitotoksik aktivite denemesi uygulanmış ve bu metoda göre sitotoksik aktivite gözlenen fraksiyonlar saptanmıştır.

2.1.1. Brine Shrimp Yöntemi ile Sitotoksik Aktivite Tayini (118,134)

1. 3.8 g deniz tuzu (Sigma) 100 ml suda çözülüp filtre kağıdından süzüldü.
2. Deniz suyu bir tanka konup *Artemia salina* yumurtaları tanka ekildi.
3. Yumurtaların açılıp olgunlaşması için 48 saat süre verildi.
4. 20 mg ekstre tartılıp 2 ml çözücüde çözüldü. Bu çözeltilerden her bir konsantrasyon için üçer tane olmak üzere, flakonlar içinde 10, 100 ve 1000 ppm konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanıp çözücüler azot gazında uçuruldu.
5. 48 saat sonunda *Artemia salina* larvaları hazır olduğunda her flakona bir miktar deniz suyu ve 10'ar tane larva eklenip 5 ml'ye deniz suyu ile tamamlandı.

24 saat sonunda canlı kalanların sayısı tespit edilip ekstrelerin LC₅₀ değerleri Finney probit analiz metoduna göre hesaplandı.

Aktif olduğu bilinen Umbelliferon ve Kolşisin maddeleri standart olarak kullanılmıştır.

2.2. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

A. wiedemanniana bitkisinden hazırlanan ana ekstrenin, ayırma aşamasında elde edilen fraksiyonların ve bitkinin uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesine disk difüzyon metodu kullanılarak bakılmıştır. Bu metoda göre fraksiyonlar arasında yüksek aktivite gösteren 61-68 nolu fraksiyonun MIC ve MBC değerlerine bakılmıştır.

2.2.1. Disk Difüzyon Metodu

Antimikrobiyal aktivite disk difüzyon yöntemiyle (163) belirlenmiştir. Kısaca, tüm bakteri suşları Muller Hinton Broth (Oxoid) içerisinde 37 °C de 18-24 saat aktifleştirilmiştir. 0.5 McFarland standart yoğunluğuna ayarlanmış aktif bakteri kültüründen 50 µl (yaklaşık 1×10^6 koloni oluşturan birim (kob)/ml) alınarak 50°C ye kadar soğutulmuş, 25 ml Muller Hinton Agar (MHA)'a ilave edilerek homojen karıştırılmış ve vakit kaybetmeden 9 cm çaplı petri kaplarına dökülmüştür. Daha sonra agar üzerinde aseptik koşullarda 6 mm çapında kağıt disklere, 50 µl (100 µg/disk) ekstrakt yada fraksiyon emdirilerek kurumaya bırakılmıştır. Her bir petri için 2 cm aralıklarla 5'er adet disk pensle yerleştirilerek hafifçe üzerinden bastırılmıştır.

Negatif kontrol olarak 50 µl %96'lık etil alkol ya da metanol emdirilmiş diskler kullanılmıştır. Bu şekilde hazırlanan petri kapları aktarılan ekstraların homojen difüzyonunu sağlamak amacıyla +4°C'de 2 saat bekletilip, 37 °C'de 24 saat inkübasyona alınmış ve sonra inhibisyon zonları milimetrik olarak ölçülmüştür. Maya ise Glukoz-Yeast Ekstrakt Broth içerisinde 30°C'de 48 saat büyütülerek yoğunluğu 0.5 McFarland skalası göz önünde bulundurularak 10^4 kob/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. 50 µl alınarak 25 ml 50 °C ye kadar soğutulmuş, Patates Dekstroz Agar (PDA)'a (Oxoid) ilave edilmiş ve yukarıdaki işlemler tatbik edilmiştir. İnhibisyon zonları mm cinsinden 30 °C'de 48 saat inkübasyondan sonra ölçülmüştür. Tüm denemeler üçer tekrarlı olarak uygulanmıştır.

2.2.2. Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MIC) ve Minimum Bakterisidal konsantrasyon (MBC) Tayini

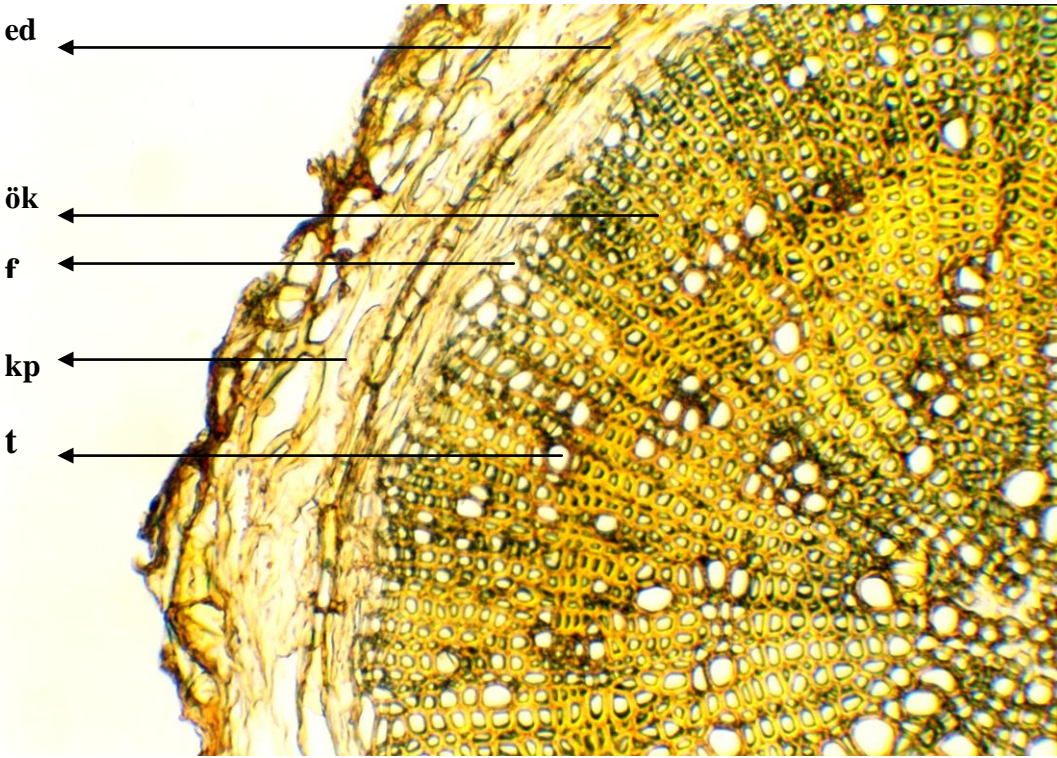
Test organizmalarına karşı yüksek aktivite gösteren 61-68 nolu fraksiyonun Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MIC) ve Minimum Bakterisidal Konsantrasyonları (MBC) makrobroth yöntemi ile Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (146) ilkelerine göre hesaplanmıştır. Kısaca, her bir bakteri kültürü (18 saatlik)'nden 0.1 ml (1.5×10^6 kob/ml) alınarak 0.9 ml Mueller Hinton Broth ve bir seri ekstre içeren tüplere aktarılmış ve 37°C 'de 24 saat inkübe edilmiştir. Kontrol için sadece inokulum ve broth içeren tüpler göz önünde bulundurulmuştur. Maya için aynı işlemler Glukoz Yeast Ekstrakt Broth içeren tüplere uygulanmış (yoğunluğu 1.5×10^4 kob/ml) ve 30°C 'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra büyümenin görülmediği tüplerdeki en düşük ekstre konsantrasyonu MIC olarak belirlenmiştir. Ayrıca bulanıklık oluşmayan tüplerden 10 µl alınarak uygun besiyerine ekimler yapılarak büyüme olup olmadığı da kontrol edilmiştir (146). Negatif çıkan ya da sadece 1 koloni geliştiği görülen tüplerdeki ekstre konsantrasyonu ise MBC olarak değerlendirilmiştir. Denemeler üç tekrarlı olarak yürütülmüştür.

BÖLÜM IV

BULGULAR

1.BOTANİK BÖLÜM

1.1.Köke Ait İnceleme ve Bulgular



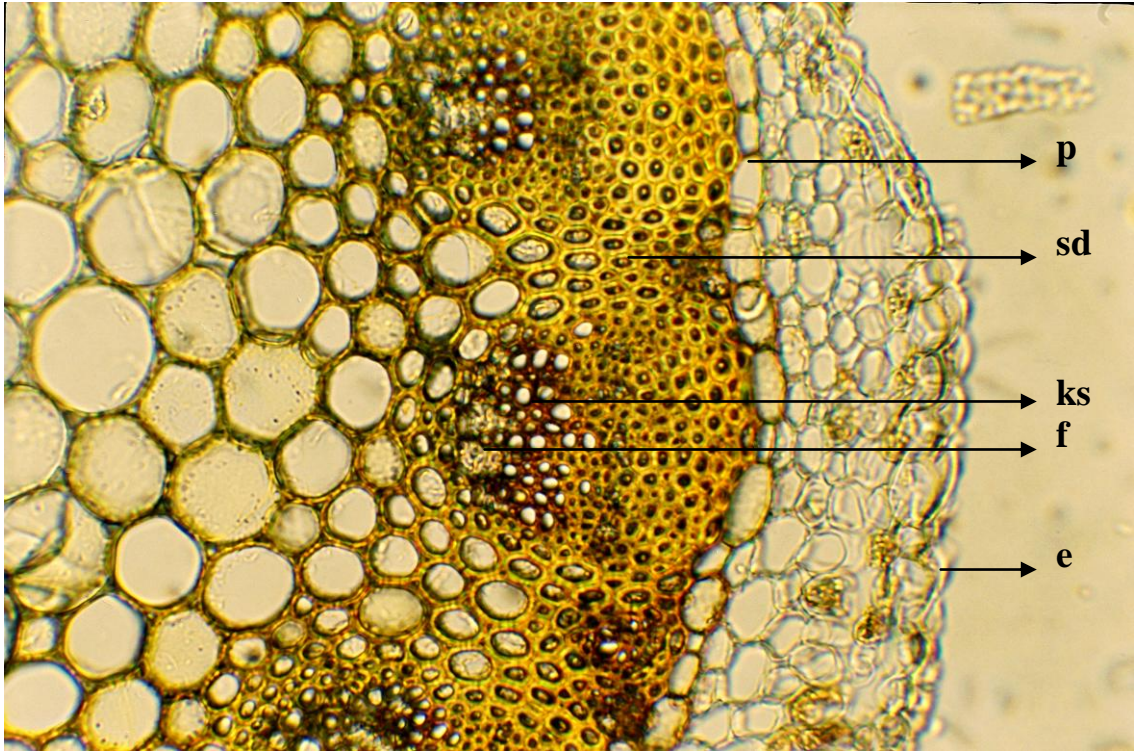
Resim 3: Kök Enine Kesit

kp: Kabuk parankiması, **f:** Floem, **ök:** Öz kolu, **t:** Trake, **ed:** Endodermis

Kök enine kesitinde endodermis ve endodermisin iç ve dış kısmında yer alan bazı korteks hücrelerinin süberinleşmiş olduğu gözlenmiş olup mantar teşekkülü

bulunmamaktadır. Floem hücrelerinin çeperleri oldukça kalın olup, bu hücreler endodermis ile ksilem arasındaki sıkışmadan dolayı yassı bir hal almıştır ve az bir yer kaplamaktadır. Ksilem trake ve trakeitlerden oluşmuştur.

1.2. Gövdeye Ait İnceleme ve Bulgular



Resim 4: Gövde Enine Kesit

e: Epidermis, **p:** Perisikl, **sd:** Sklerankima demeti, **ks:** Ksilem, **f:** Floem

Gövde genel olarak belirgin olmayan sekiz köşeli yuvarlak bir yapı göstermektedir. Epidermiste yoğun olarak, başı kopmuş halde, genelde iki, üç tane sap hücrelerine sahip kamçı tüyleri bulunmaktadır.

Stomalar mezofitik tiptir. Epidermis hücreleri dikdörtgenimsidir ve dış yüzeyleri dışa doğru kavisli bir kütikula ile örtülüdür.

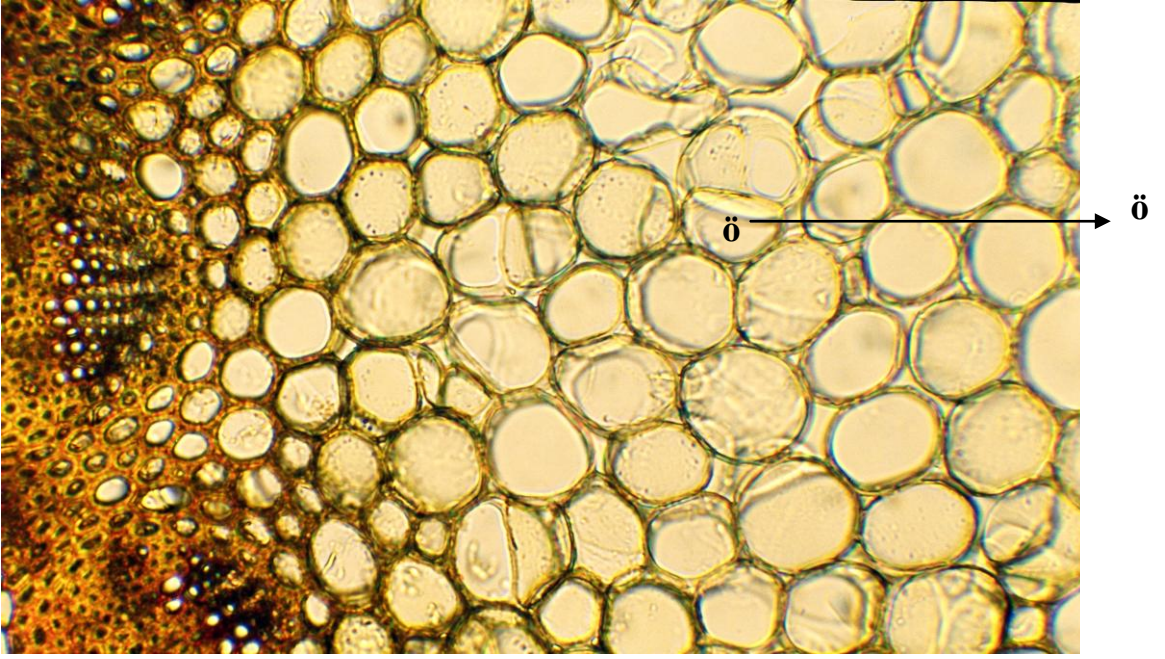
Epidermisin iç kısmında epidermis hücrelerine göre daha büyük hücelere sahip perisikl tabakası bulunmaktadır. Perisiklin iç kısmında ve epidermiste kollenkima hücrelerine rastlanmamaktadır. Floem hücreleri kalın çeperlidir.



Resim 5: Baş Kısmı Kopmuş Kamçı Tüyü

k: Kollenkima

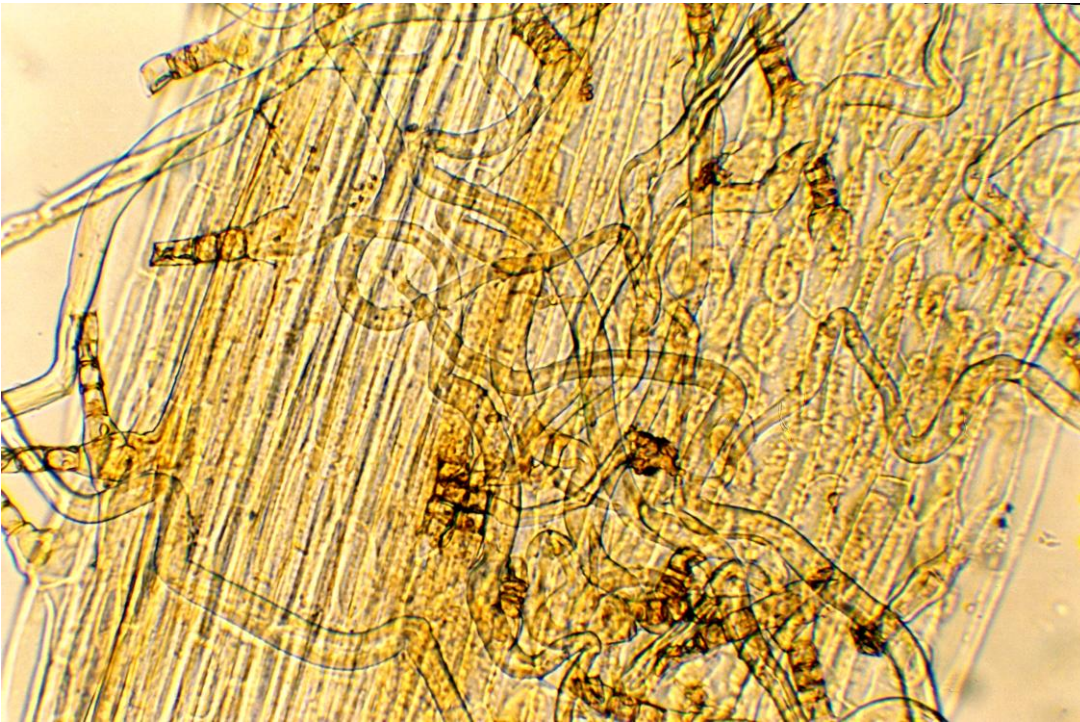
Parankimatik hücreler öze doğru yaklaştıkça büyür ve hücreler arası boşluklar genişler. Öz büyük ve ince çeperli parankimatik hücrelerden oluşmaktadır. Parankimatik hücrelerde nişastaya ve kristallere rastlanmamıştır. Gövdeden alınan yüzeyel kesitlerde gövdenin ince ve uzun kamçı tüylerle kaplı olduğu görülmektedir. Bu kamçı tüylerinin büyük bir kısmı kopmuş halde görülebilmektedir (Resim 7).



Resim 6: Gövde Enine Kesit

ö: Öz

Öz kısmındaki parankimatik hücrelerde nişastaya ve kristallere rastlanmamıştır.



Resim7: Gövde Yüzeysel Kesit

1.3. Yaprğa Ait İnceleme ve Bulgular



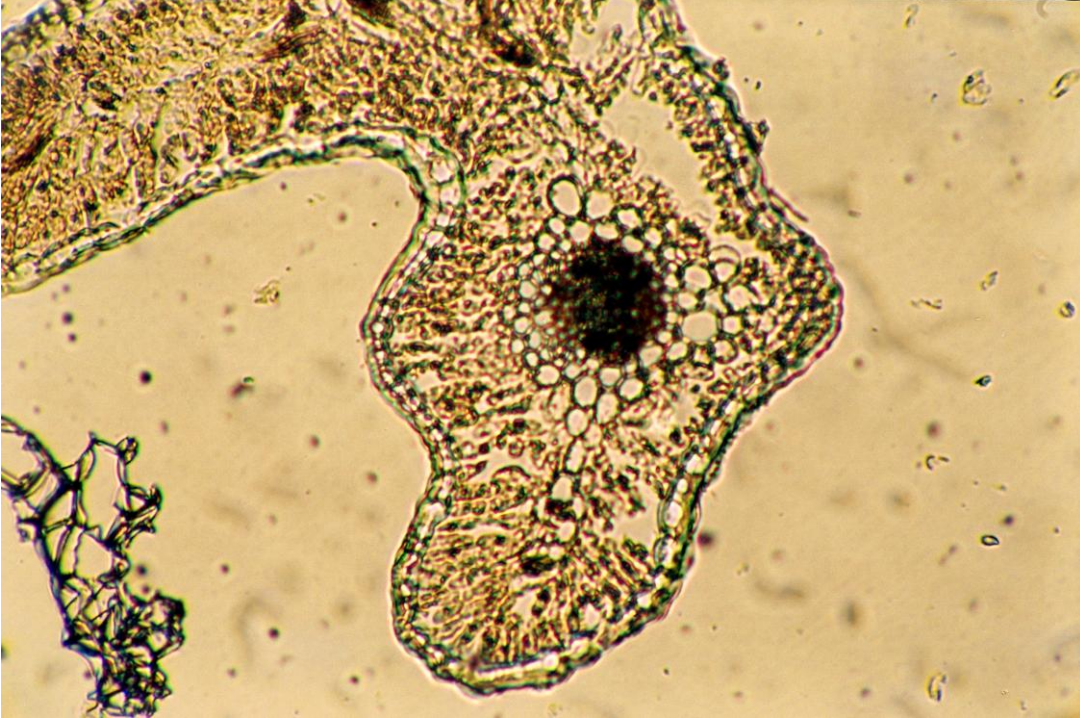
Resim 8:Yaprak Orta Damar Enine Kesit

k: Kutikula, **e:** Epidermis, **pp:** Palizat parankiması, **k:** Kollenkima

Yaprğın enine kesit incelemesinde, yaprğın monofasiyal olduğu görölmektedir. Epidermisi oluşturan hücrelerin kalın çeperli ve iri olduğu gözlenmektedir. Epidermisin üzeri ince bir kutikülayla örtölmüştür.

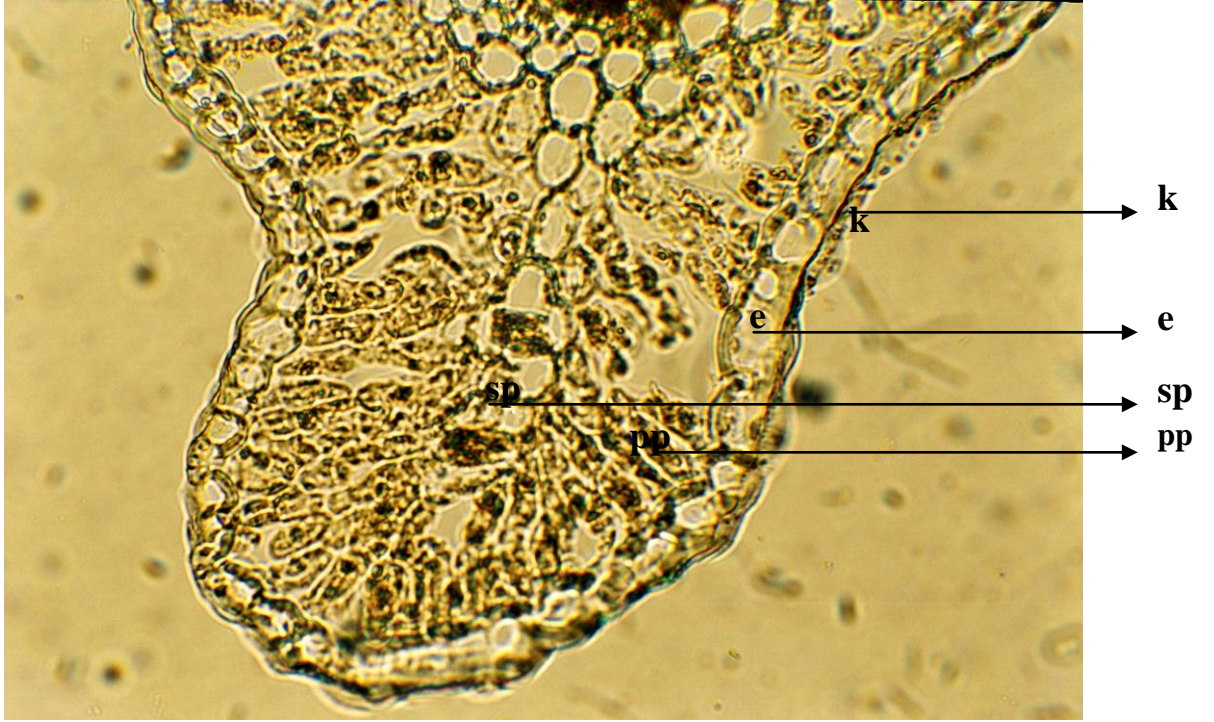
Epidermisin hemen altında iki sıra palizat parankiması ve onun altındaysa bir sıra sünger parankiması bulunmaktadır bu sıralama diğer yüzeyde de aynı şekilde devam etmektedir (Resim 10).

Yaprak epidermisinin yüzeyel kesitinde, epidermis hücrelerinin hafif dalgalı olduğu görölmektedir.



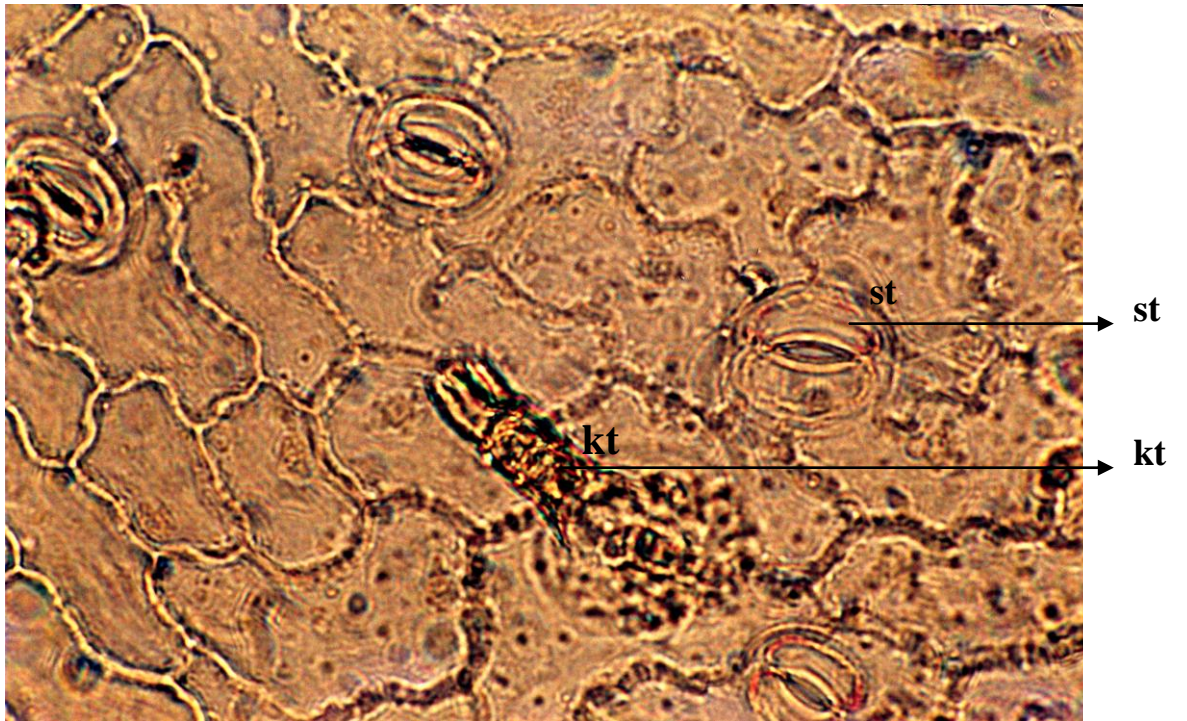
Resim 9: Yaprak Enine Kesit Genel

Basit geçitler belirgin bir şekilde ayırt edilebilir. Stomaların dört be komşu hücresi bulunmaktadır. Yüzeyel kesitte stomaların arasında yine bol miktarda kamçı tüyü bulunmaktadır.



Resim 10:Yaprak Enine Kesit

k: Kütiküla, **e:** Epidermis, **pp:** Palizat parankiması, **sp:** Sünger parankiması

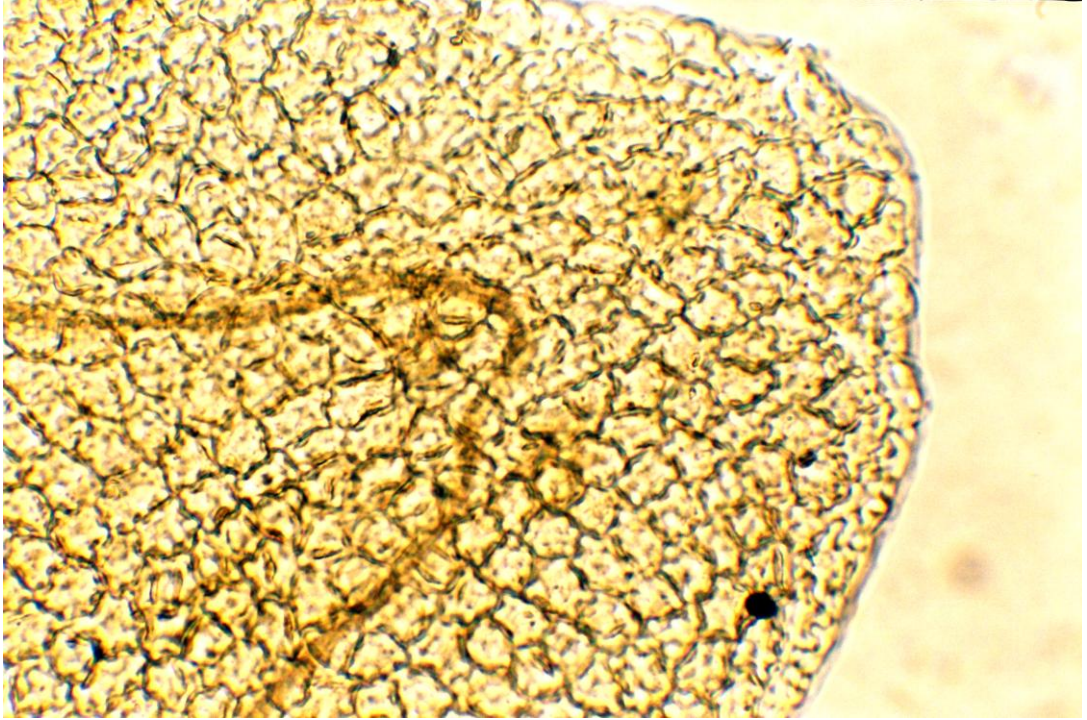


Resim 11: Yaprak Yüzeysel Kesit

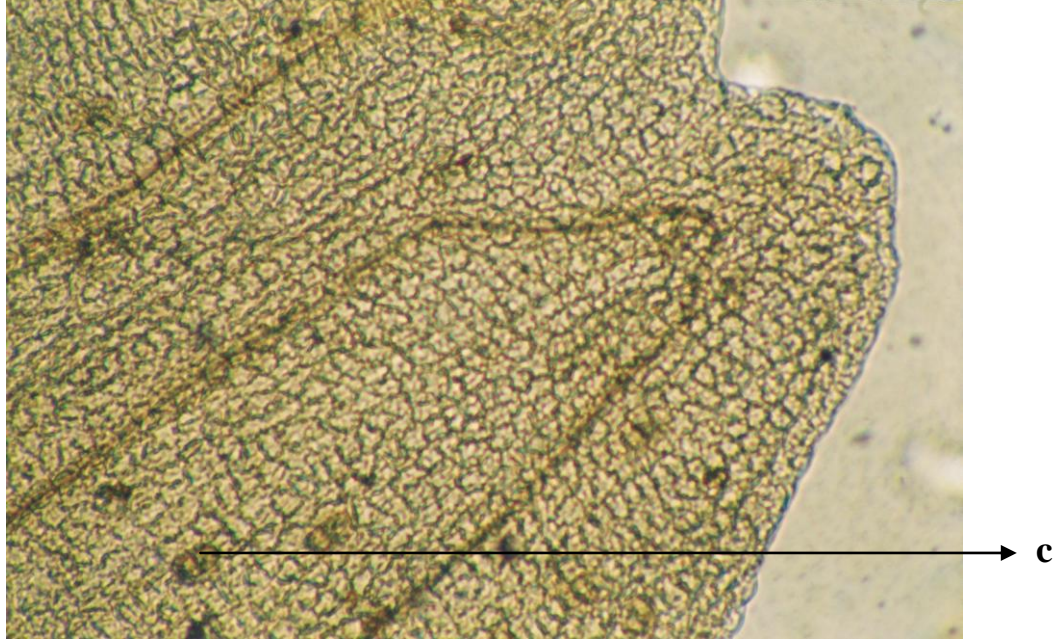
kt: Kamçı tüy sapı, **st:** Stoma

1.4. Çiçeğe Ait İnceleme ve Bulgular

Dilsi korolla yüzeyel olarak incelendiğinde epidermis hücrelerinin dalgalı çeperli olduğu ve en dıştan kütikülayla kaplı olduğu görülmüştür. İnceleme sırasında çok miktarda compositae tipi salgı tüyüne rastlanmıştır.



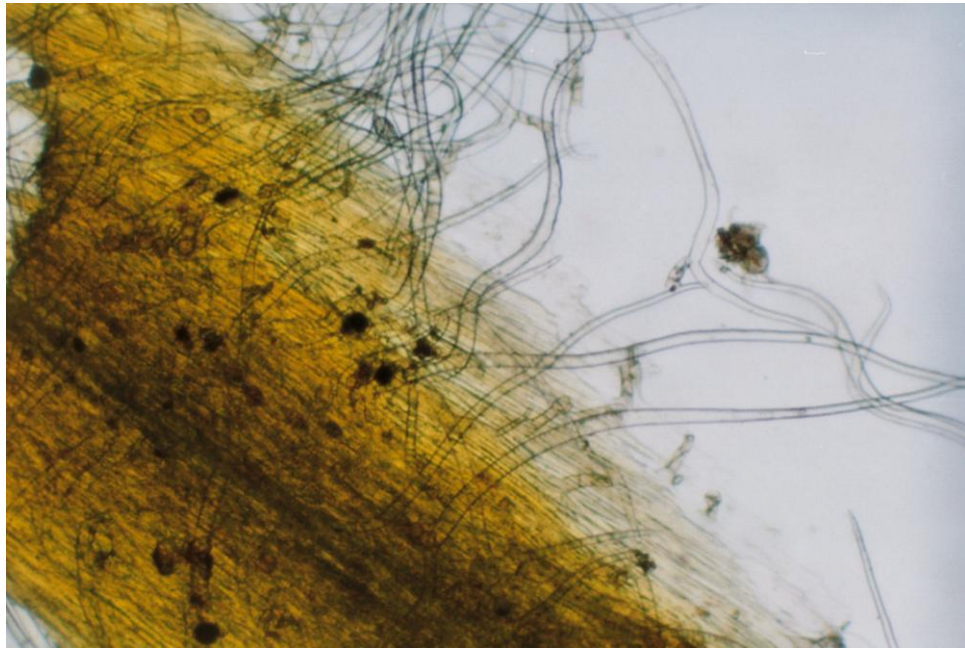
Resim 12: Petal Yüzeyel



Resim 13: Petal Yüzeyinde Compositae Tipi Salgı Tüyleri

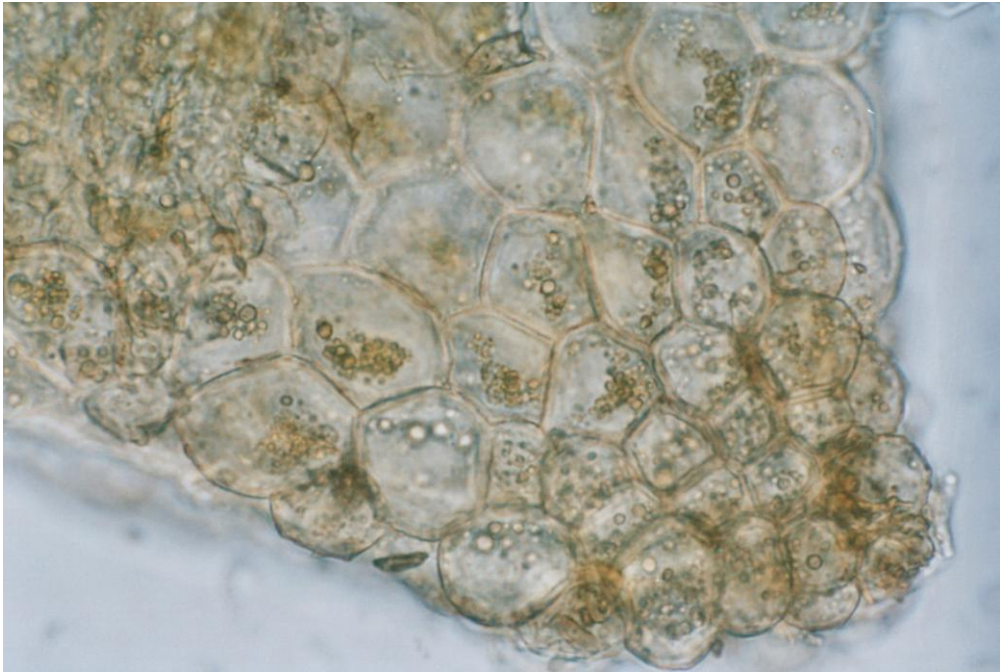
c: Compositae tipi salgı tüyü

Çiçeğin kapitulumu incelendiğinde, bol miktarda kamçı tüyler görülmüştür. Bu kamçı tüyler kapitulumun iç yüzeyinde daha az olmakla birlikte, dış yüzeyinde daha sık ve bol miktarda bulunmaktadır (Resim 14).



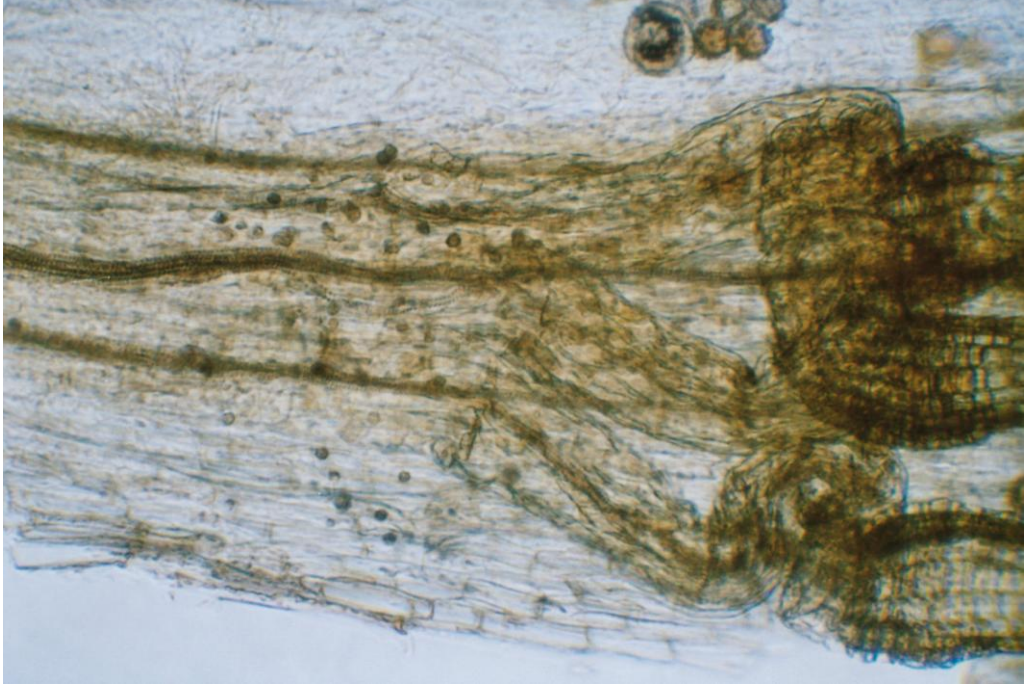
Resim 14: Kapitulumda Kamçı Tüyleri

Tüpsü çiçeğin uç kısmında, iç epidermis hücrelerinin papilli olduğu ve bu papillerin içinde bol miktarda yağ damlacıkları içerdiği görülmektedir (Resim 15). Tüpsü çiçeğin dibinde, ovaryumla birleştiği kısımda, yoğun olmak üzere küçük druzlar bulunmaktadır. Tüpsü çiçeğin tüp kısmındaki, iç epidermis hücrelerinin çeperleri odunlaşmış ve kalınlaşmıştır. İletim demetlerinin çevresinde sklerankima liflerine rastlanmıştır.



Resim 15: Tüpsü Çiçeğin Uç Kısımında Bulunan Yağ Damlacıkları İçeren Papiller

Flamentler, tüpsü çiçeğin ortasına yakın bir kısımdan ayrılmaktadır. Oraya kadar yapışık olarak bulunmaktadır. Flamentlerin ayrıldığı bölgede, tüpsü çiçek mezofilinde yine yoğun olarak küçük druzlar bulunmaktadır (Resim 16).

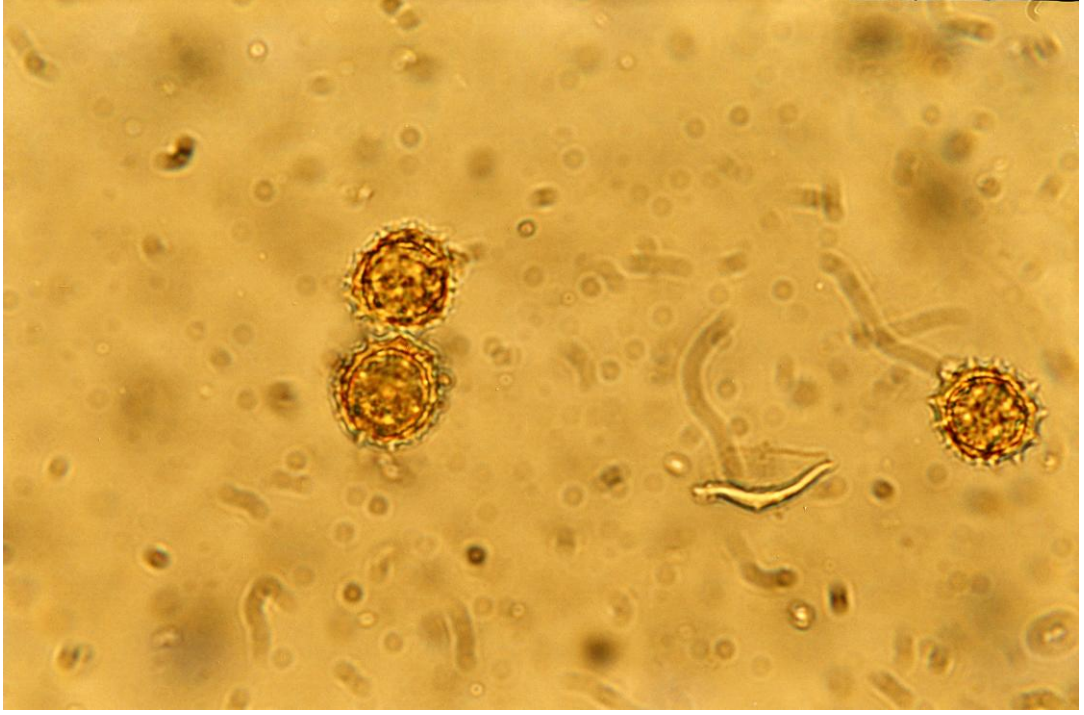


Resim 16: Tüpsü Çiçekte Flamentler

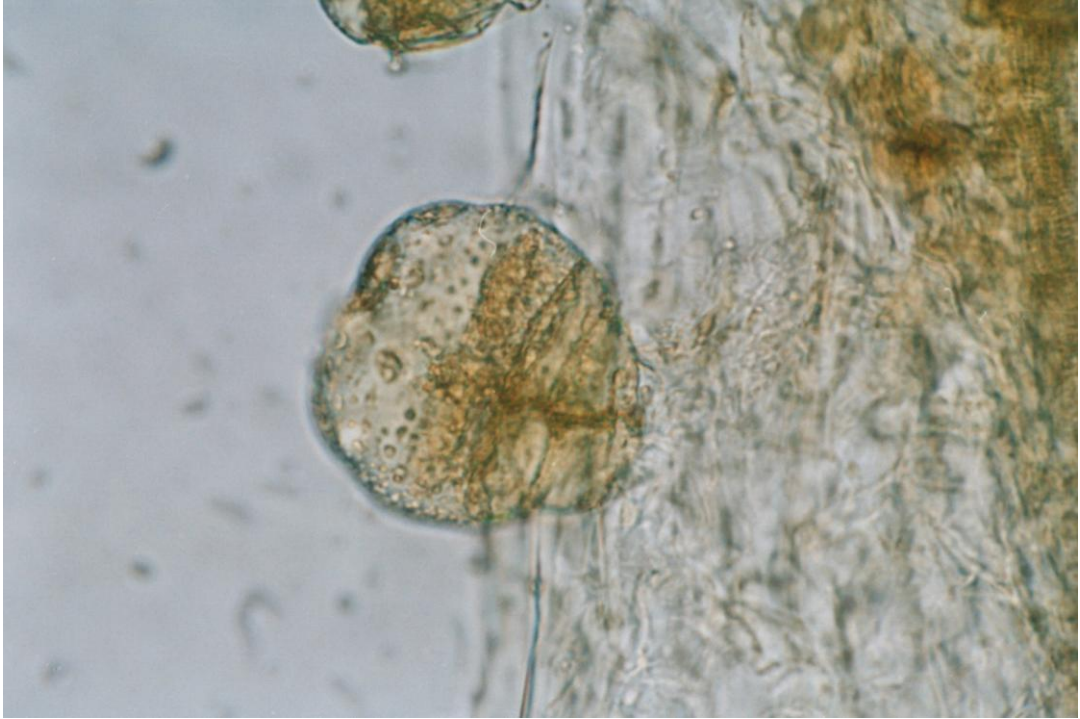
1.5. Toz Droğa Ait İnceleme ve Bulgular

Toz drogda ilk göze çarpan bol miktarda kopmuş kamçı tüyleridir, ki kesitlerde de görüldüğü üzere bitkinin gövdesi ve kapitulumları bol miktarda kamçı tüyü taşımaktadır.

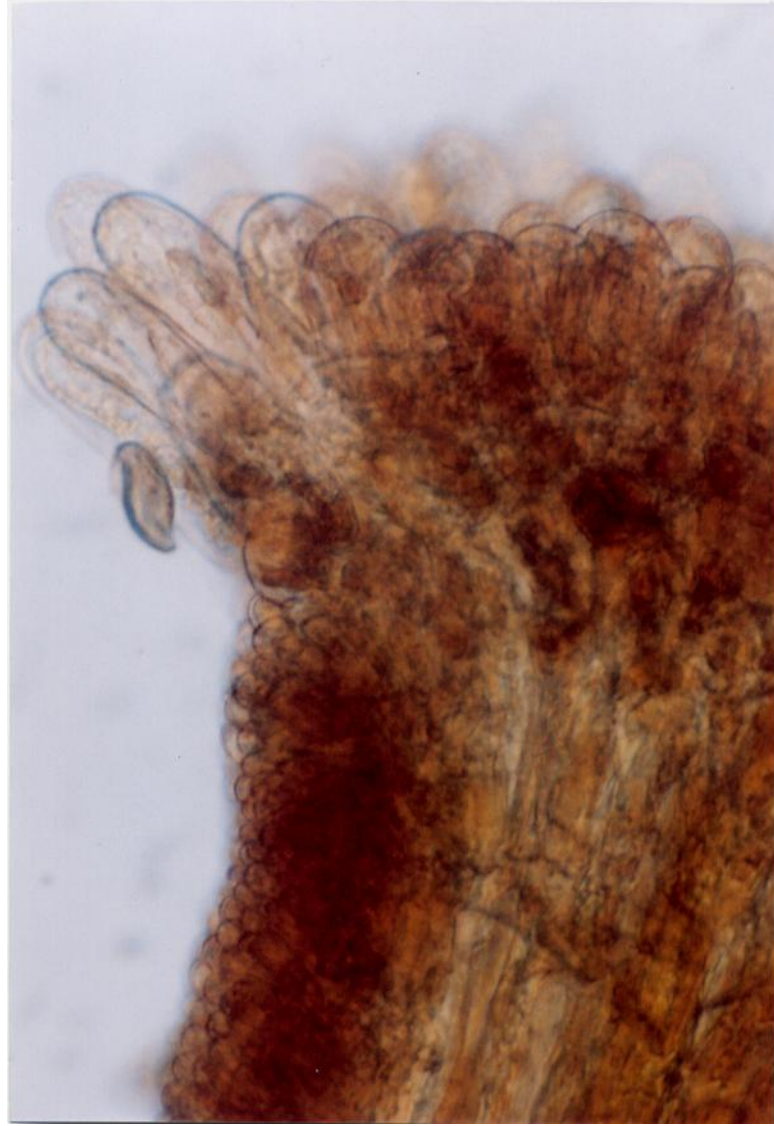
Yine toz drogda bol miktarda polen görülmektedir (Resim 17). Yoğun olarak görülen yapılardan bir tanesi de Compositae tipi salgı tüyleridir (Resim 18). Çalışmalarımızda drogda karşımıza çıkan stigmaların, çok uzun papilli hücrelere sahip olduğu saptanmıştır (Resim 19).



Resim17: Polenler

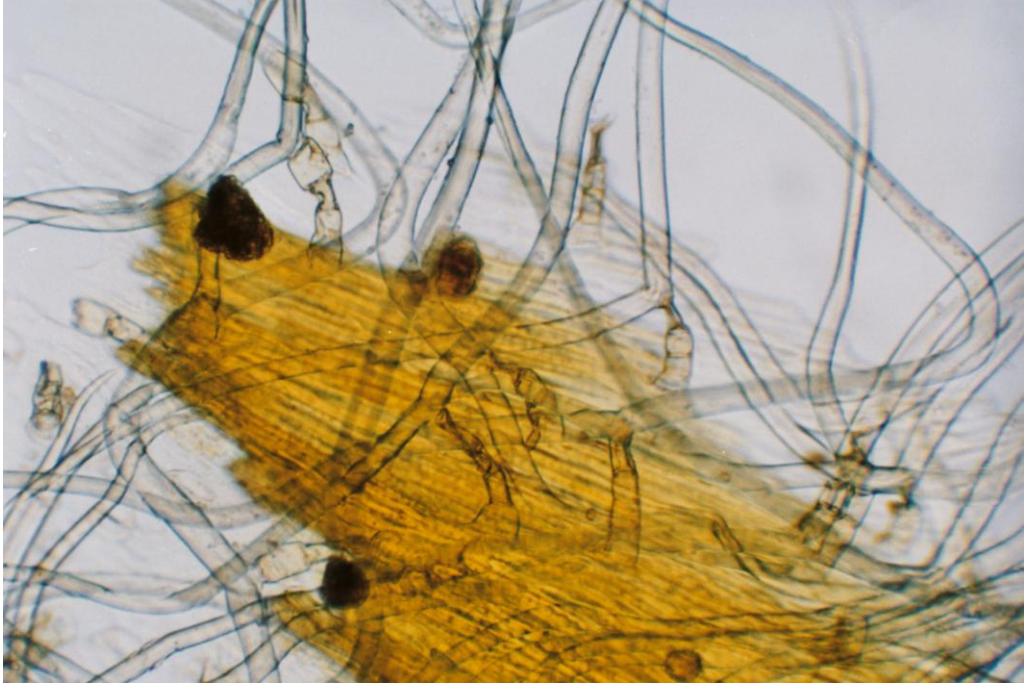


Resim 18: Compositae Tipi Salgı Tüyü



Resim 19: Stigma

İncelemelerimiz sırasında karşımıza çıkan karakteristik yapılardan bir tanesi de T Tüyledir (Resim 20).

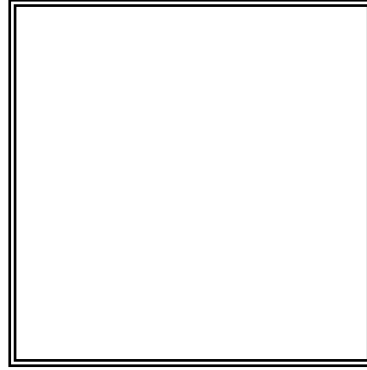


Resim 20: T Tüyleri

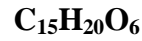
2. KİMYASAL BÖLÜM

2.1. İzolasyonda Elde Edilen Bileşiklere Ait Bulgular

2.1.1. AW9 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



İSOTANCILOİDE



MA:296

3 α ,4 α -epoksi,1 α ,10 α -dihidroksi,2 β -hidroksi-4 β -metil-5 α ,7 α H-gaya-11(13)-
en-12,6 α -olid

UV λ_{maks} (MeOH) nm : 272

IR γ_{maks} (%1 KBr) cm^{-1} : 3430 (OH); 1780 (α,β -doymamış- γ -lakton); 1660
(doymamışlık) (Spektrum 1).

EI-Kütle: m/z (%) 297 [M+1]⁺ (4) , 281 [M-CH₃]⁺(1), 263 [281-H₂O]⁺ (11),
179 (51), 132 (70), 121 (82), 109 (80), 95 (80), 80 (77), 69 (100), 57 (31)

¹H NMR (MeOH-d₄, 400MHz): (Spektrum 2), Tablo14

2D-¹H, ¹³C-Heteronükleer (Short range) COSY (HMQC): (Spektrum 3),

Tablo14

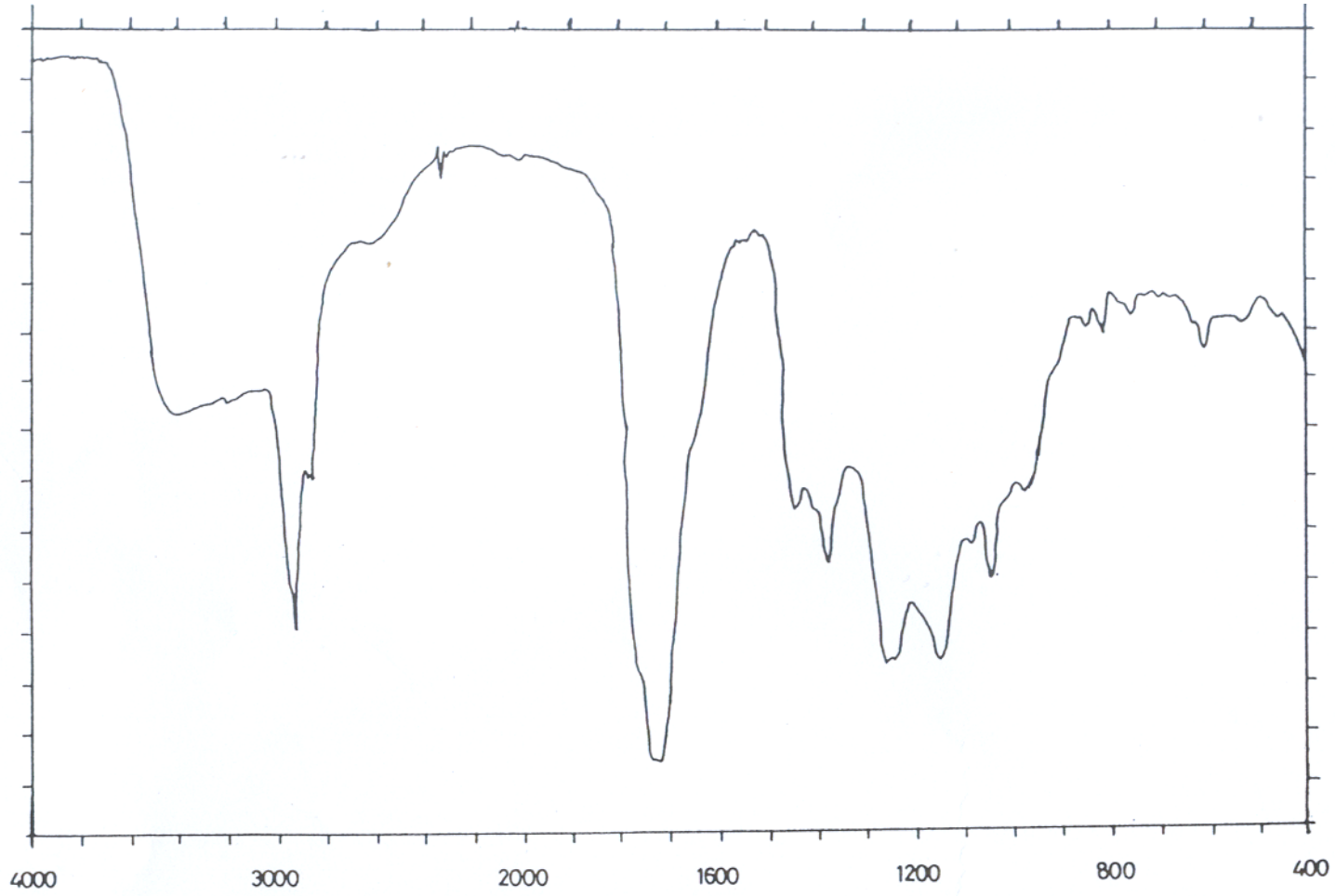
2D-¹H, ¹H-Homonukleer COSY: (Spektrum 4), Tablo 14

2D-¹H, ¹³C-Heteronukleer (Long range) COSY (HMBC): (Spektrum 5),
Tablo 14

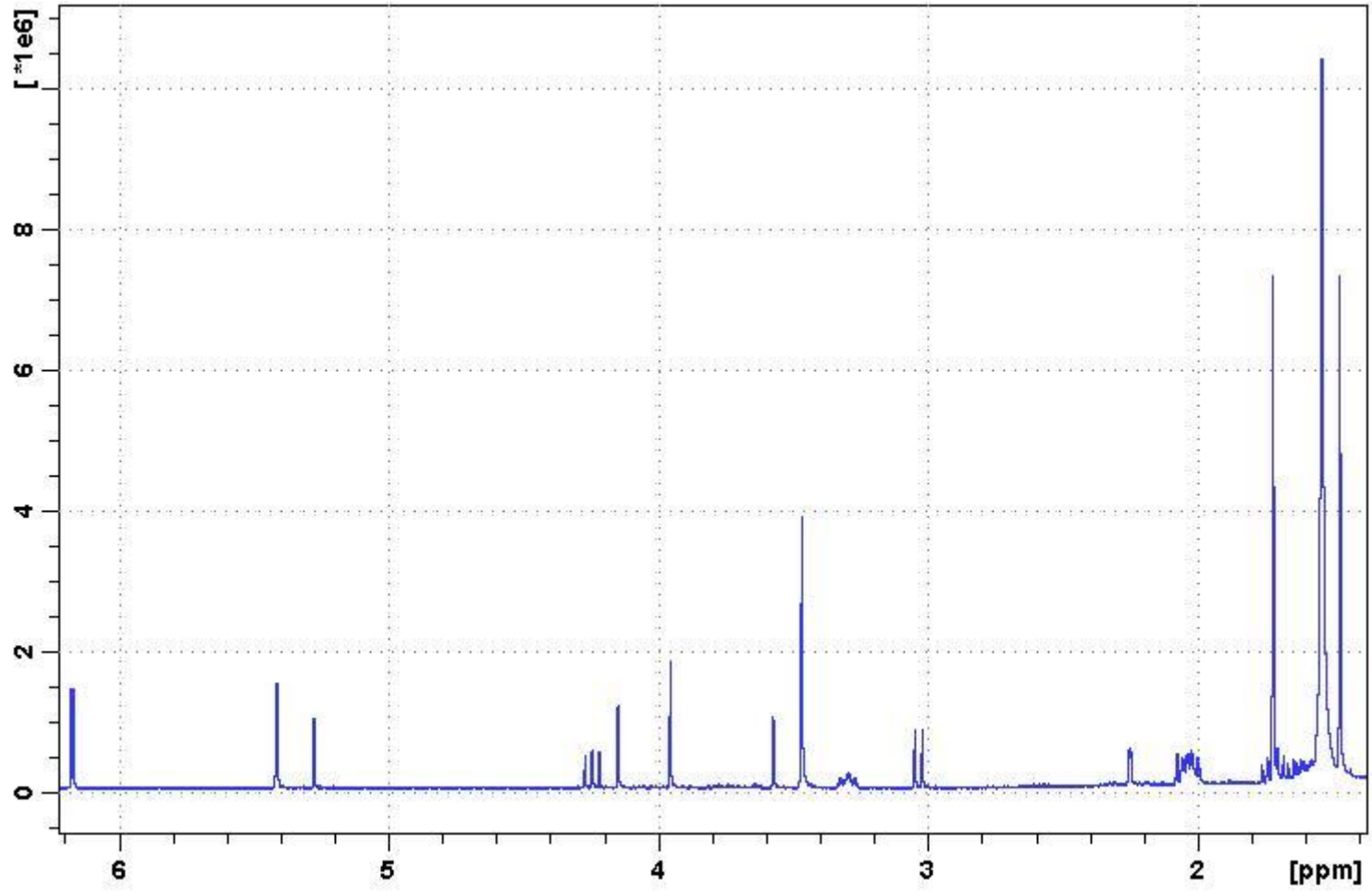
2D-NOESY: (Spektrum 6), Tablo 14

Tablo 14: AW9 Bileşiğine Ait 1D ve 2D Spektral Bulguları

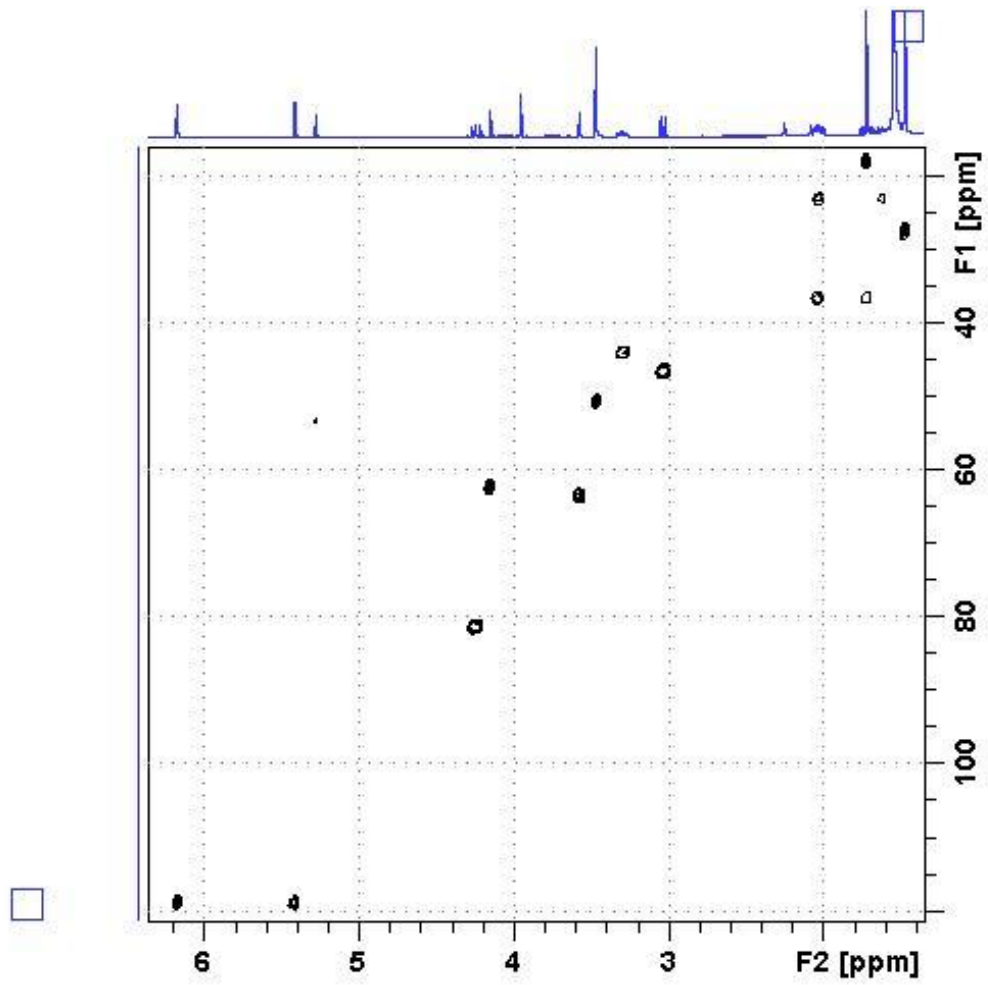
Konum	¹ H NMR (δ) ppm <i>J</i> (Hz)	HMOC (δ) ppm	HMBC	¹ H- ¹ H COSY	NOESY
2-H	4.15 s	62.1	(66.8) C-1	-	H3-14, 9 α
3-H	3.58 s	63.6	(62.1) C-2	-	H3-15; H-6
5-H	3.04 d (10.1)	46.6	(81.4) C-6	H-6	H-7, H-2 α
6-H	4.26 dd (10.9)	81.4	-	H-7, H-5	8 β , 14
7-H	3.30 m	44.0	-	H-13a, H-13b, H-5, H-6	H-5
8 a	2.14 m	36.6	-	H-9b, H-8b	9 α
8 b	1.68 d (6.3)	36.6	(22.9) C-9	H-9a, H-7, H-8a	H-6, H-9 β
9 a	2.02 t (2.8)	22.9	-	H-9b, H-8b	8 β , 15b
9 b	1.62 m	22.9	-	H-9a	-
14-CH3	1.48 s (OCH ₃)	27.7	32.1 (C-10); 22.9 (C-9)	-	H-2, 6
15-CH3	1.73 s (OCH ₃)	17.6	46.6 (C-5); 67 (C-4)	-	-
15 a	6.18 d (3.9)	118.8	(170.2) C-12	H-7	15 b
15 b	5.42 d (3.2)	118.8	(170.2) C-12	H-7	9 β , 15a



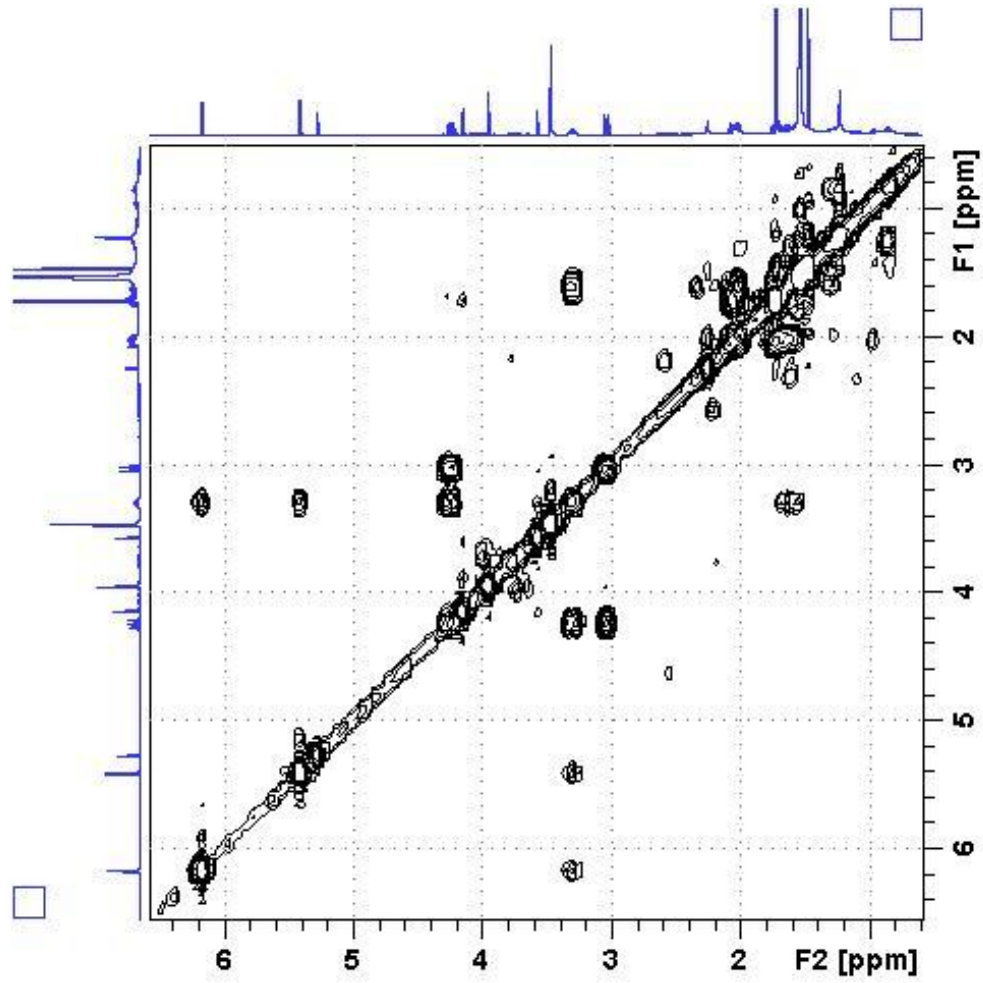
Spektrum 1: AW9 Kodlu Bileşige Ait IR Spektrumu



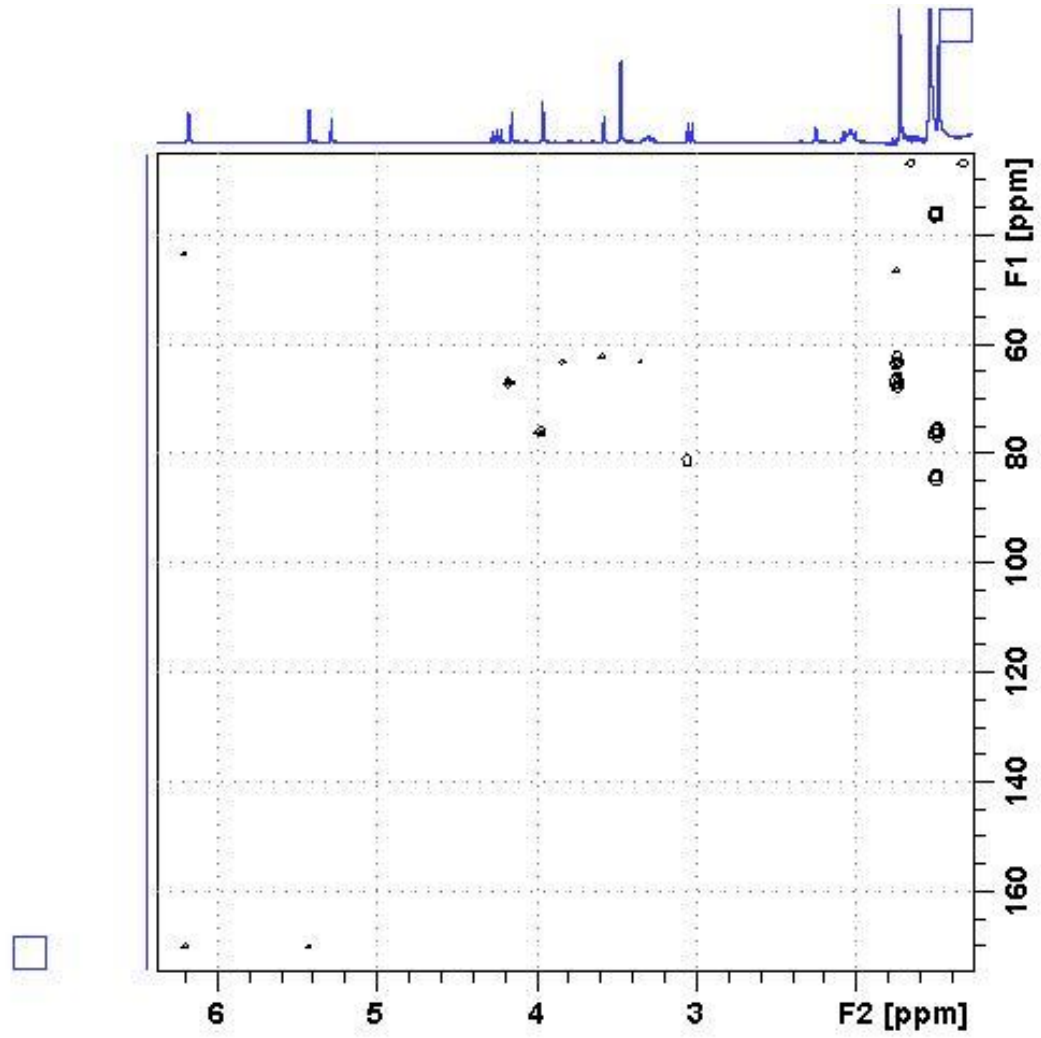
Spektrum 2: AW9 Kodlu Bileşiğe Ait ^1H NMR Spektrumu



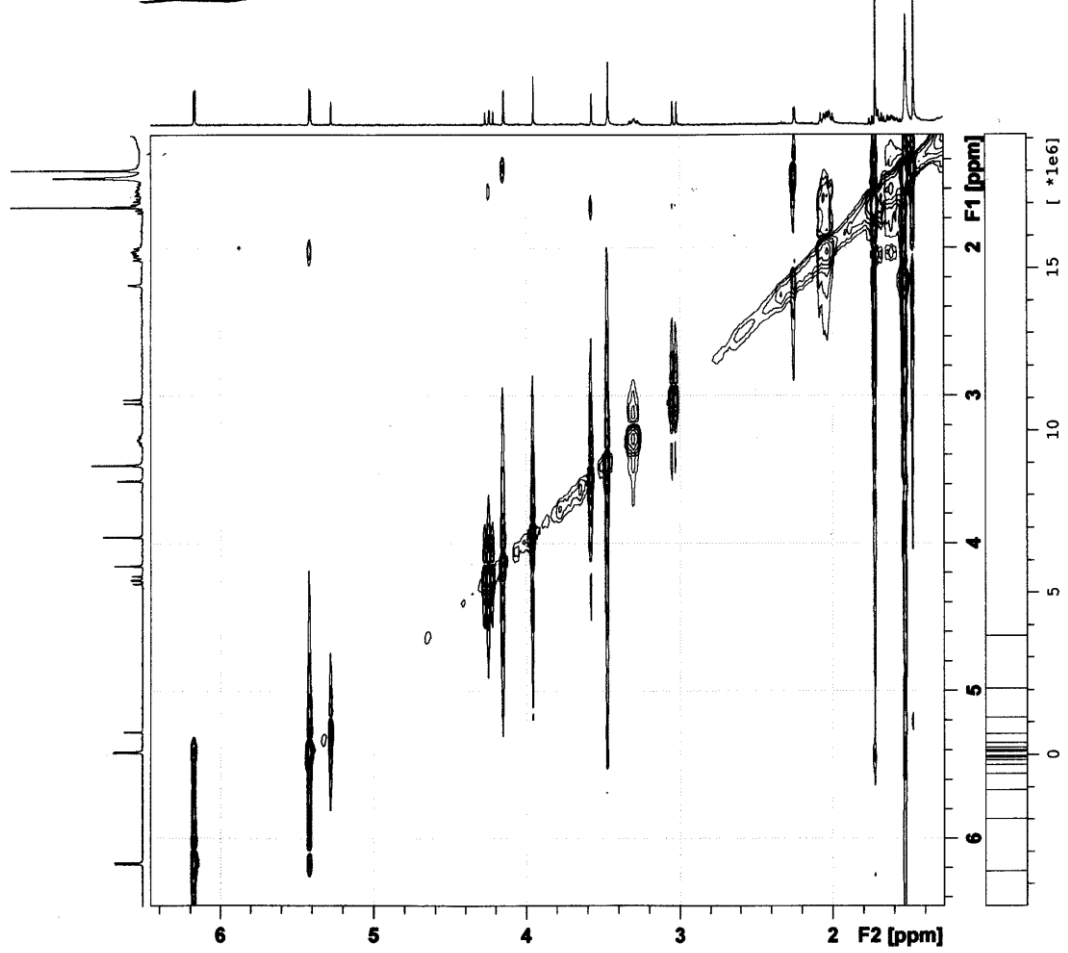
Spektrum 3: AW9 Kodlu Bileşiğe Ait HMQC Spektrumu



Spektrum 4: AW9 Kodlu Bileşiğe Ait COSY Spektrumu

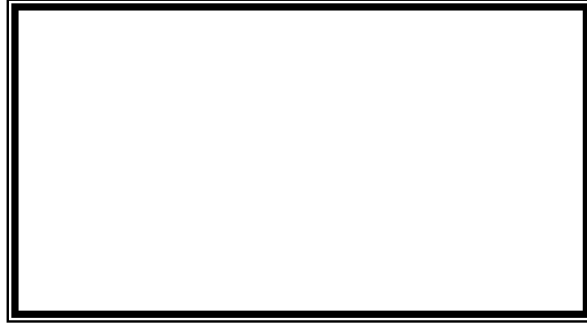


Spektrum 5: AW9 Kodlu Bileşige Ait HMBC Spektrumu



Spektrum 6: AW9 Kodlu Bileşiğe Ait NOESY Spektrumu

2.1.2. AW11 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları



SALVİGENİN

5-Hidroksi-4',6,7-trimetoksi flavon

UV λ_{\max} (MeOH) nm: 330, 276

UV λ_{\max} (MeOH) nm (AlCl₃, AlCl₃+HCl, NaOAc, NaOAc/H₃BO₃): Tablo15

IR γ_{\max} (%1 KBr) cm⁻¹: 3450(OH), 1675 (C=O), 1610 (C=C).

EI-Kütle: m/z (%) 328 [M]⁺ (100), 313 [M-CH₃]⁺ (69), 196 (11), 180 (58),
152 (70), 132 (61).

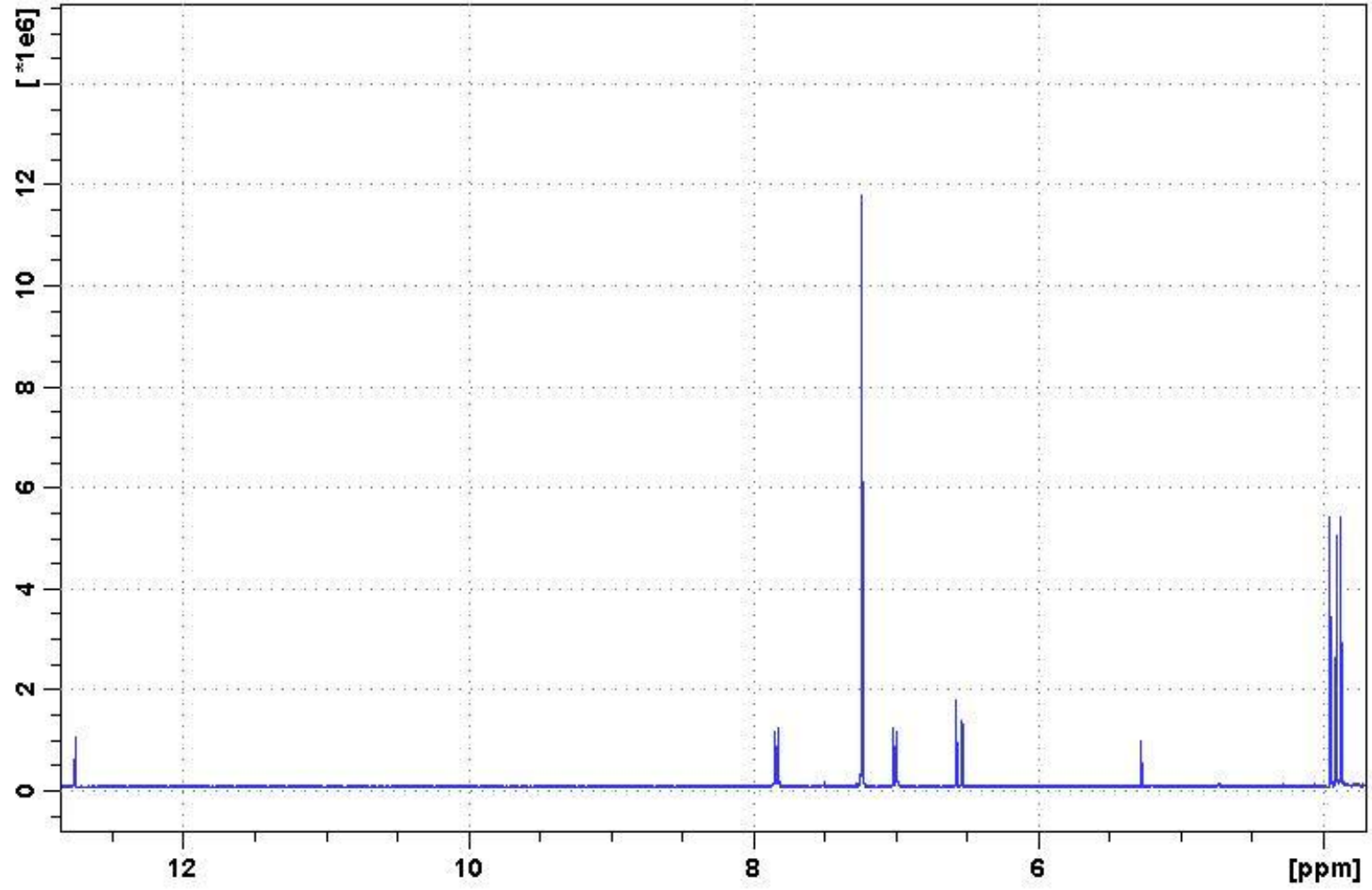
¹H NMR (CDCl₃, 400MHz): (Spektrum 7), Tablo 16

Tablo 15: AW11 Kodlu Bileşimin Kaydırıcı Ajanlarla Çekilmiş UV Spektrum Sonuçları

	Bant II			Bant I	
		λ_{\max} (nm)	$\Delta\lambda$	λ_{\max} (nm)	$\Delta\lambda$
MeOH		276		330	
NaOMe		295	+19	335	+15
AlCl₃		301	+25	361	+31
AlCl₃/HCl	330	300	+14	352	+12
NaOAc		276		330	
NaOAc/H₃BO₃		276		330	

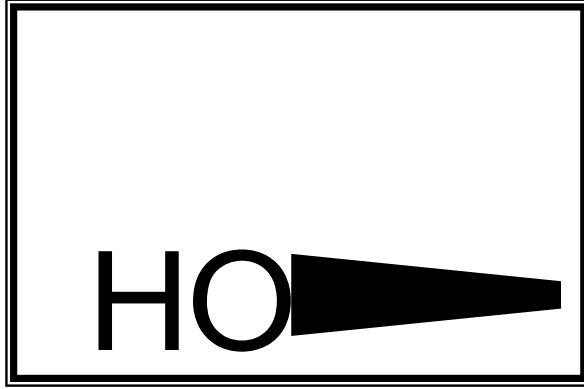
Tablo16: AW11 Kodlu Bileşiğe Ait ¹H NMR Spektrum Bulguları

Konum	¹ H NMR δ (ppm) <i>J</i> (Hz)	<i>J</i> (Hz)
H-3	6.53	s
H-5 (OH)	12.76	s
H-8	6.58	s
H-2'	7.84d	d (J:8.9)
H-3'	7.01	d (J:8.9)
H-5'	6.99	d (J:8.9)
H-6'	7.82	d (J:8.9)
H ₃ -7' OCH ₃	3.95	s
H ₃ -6'' OCH ₃	3.91	s
C-4'' OCH ₃	3.87	s



Spektrum 7: AW11 Kodlu Bileşiğe Ait ^1H NMR Spektrumu

2.1.3. AW15 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



İSO-SECOTANAPARTHOLİDE

$C_{15}H_{18}O_5$

MA: 278

$[\alpha]_D^{22}$: +2.9° (C: 1.7; MeOH)

UV λ_{max} (MeOH) nm: 281

IR γ_{maks} (%1 KBr) cm^{-1} : 3430 (OH), 2924 (C-H) , 1775, 1740 ve 1680 (C=O),
1470 (C=C) (Spektrum 8)

EI-Kütle: m/z (%) 278 $[M]^+$ (2), 260 (8), 245 (2), 193 (41), 157 (100), 143
(41), 109 (52), 93 (64), 71 (77), 56 (86)

1H NMR ($CDCl_3$, 400MHz): (Spektrum 9), Tablo17

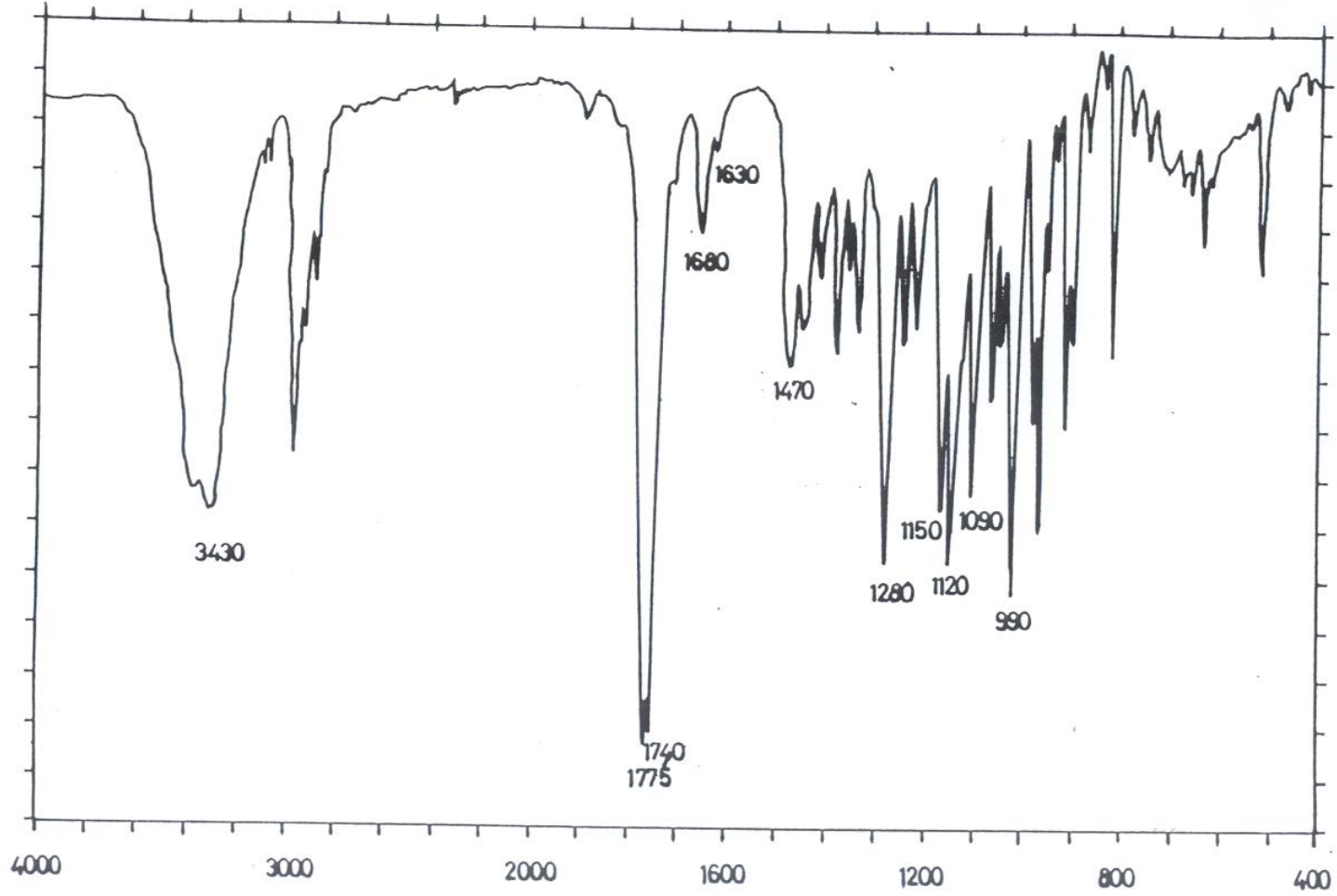
2D- 1H , 1H -Homonükleer COSY: (Spektrum 10), Tablo 17

2D- 1H , ^{13}C -Heteronükleer (Short range) COSY (HSQC): (Spektrum 11),
Tablo17

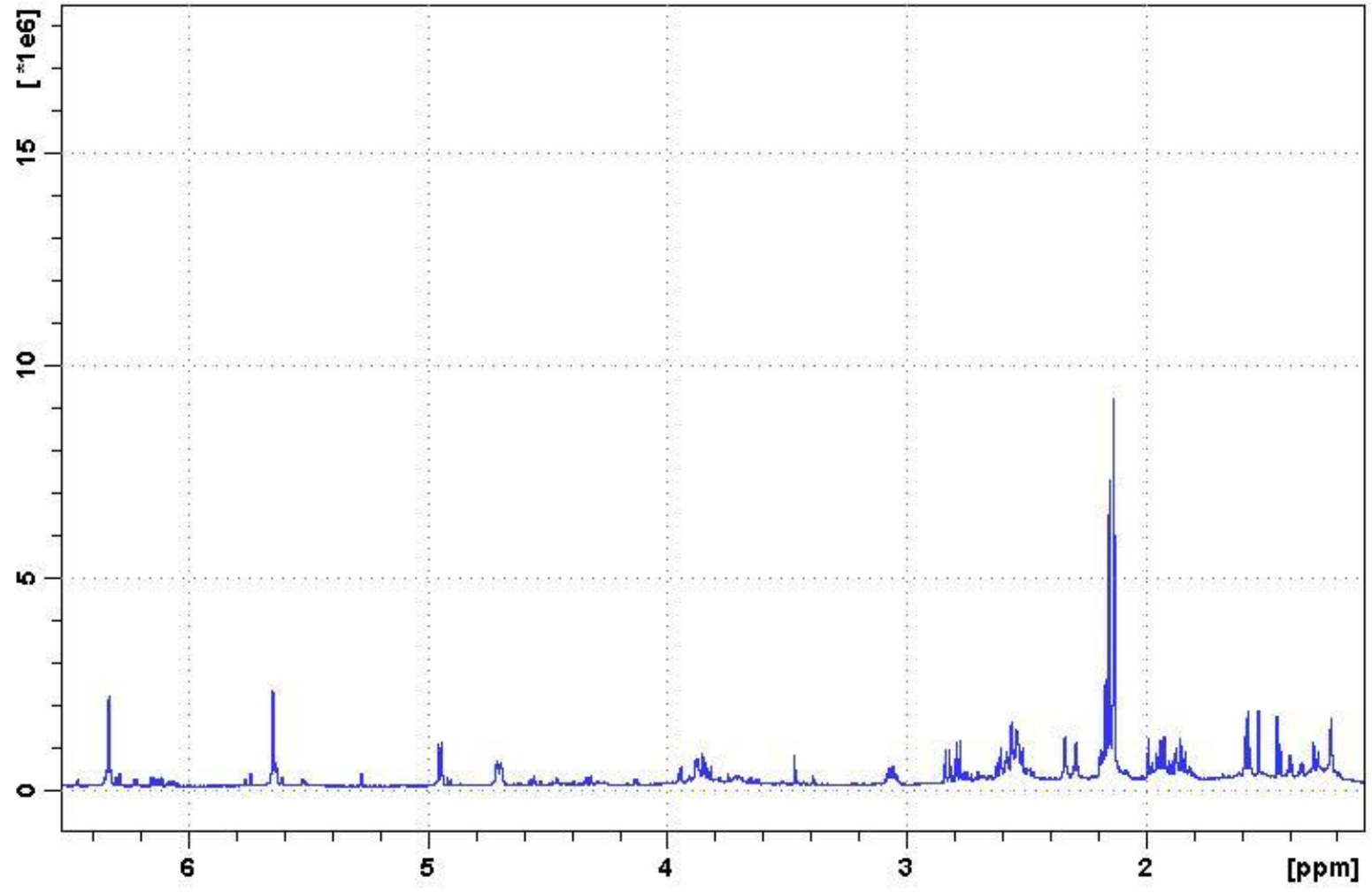
2D- 1H , ^{13}C -Heteronükleer (Long range) COSY (HMBC): (Spektrum 12),
Tablo 17

Tablo 17: AW15 Kodlu Bileşige Ait 1D ve 2D NMR Bulguları

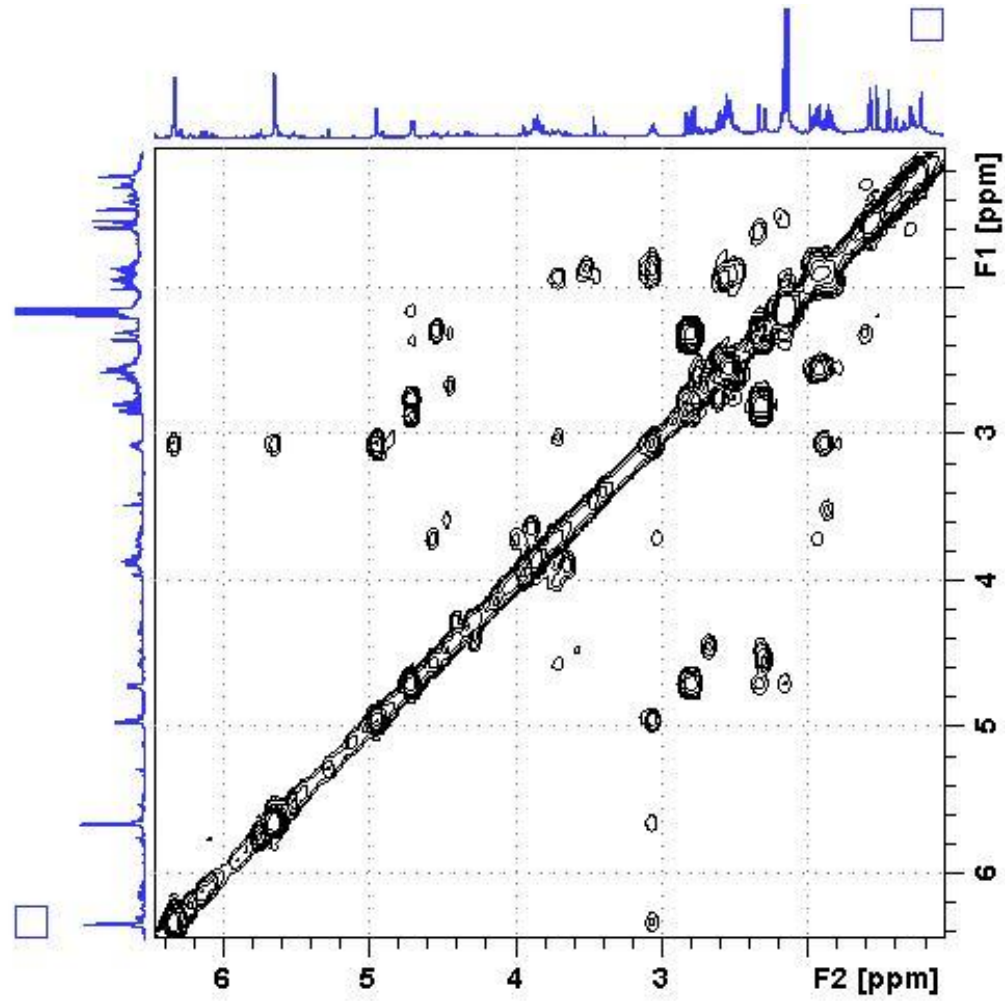
Konum	¹ H NMR (δ) ppm <i>J</i> (Hz)	HSQC(δ) ppm	HMBC	¹ H- ¹ H COSY
2a	2.81 dd (2.8)	44.2	C-1,C-3	H-3
2b	2.32 m	44.2	C-1,C-3	H-3
3	4.71 d (2.8)	71.5	-	-
6	4.95 d (5)	75.7	-	H-7
7	3.06 m	42.9	-	H-6,H-8a
8a	1.94 m	27.3	C-9a	H-9
8b	1.84 m	27.3	C-9	-
9a	2.55 m	39.5	C-8, C-10	-
9b	2.55 m	39.5	C-8, C-10	-
13a	6.29 d (2.8)	122.9	C-7, C-11, C-12	H-7
13b	5.64 d (2.8)	122.9	C-7, C-12	H-7
14-CH ₃	2.16 s	29.9	C-10	-
15-CH ₃	2.13 s	14.0	C-4	-



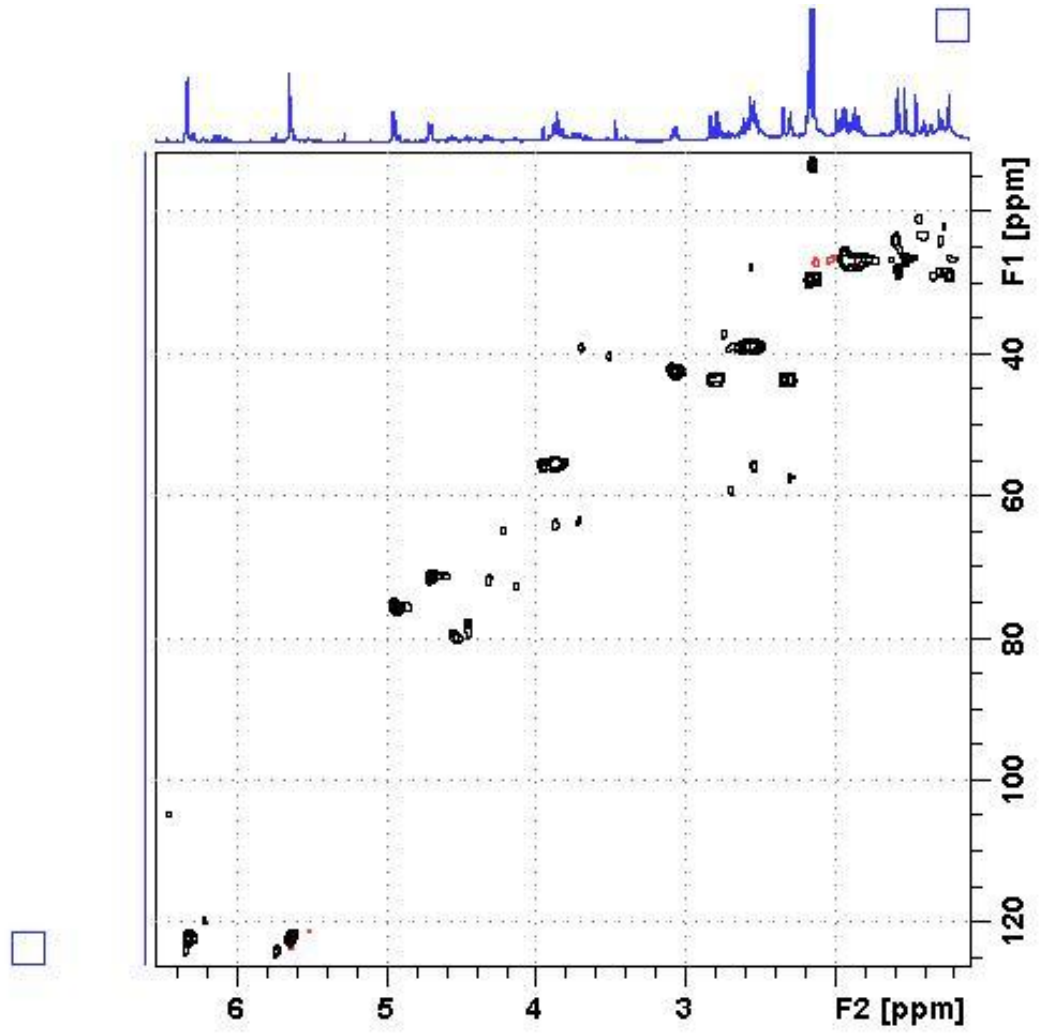
Spektrum 8: AW15 Kodlu Bileşige Ait IR Spektrumu



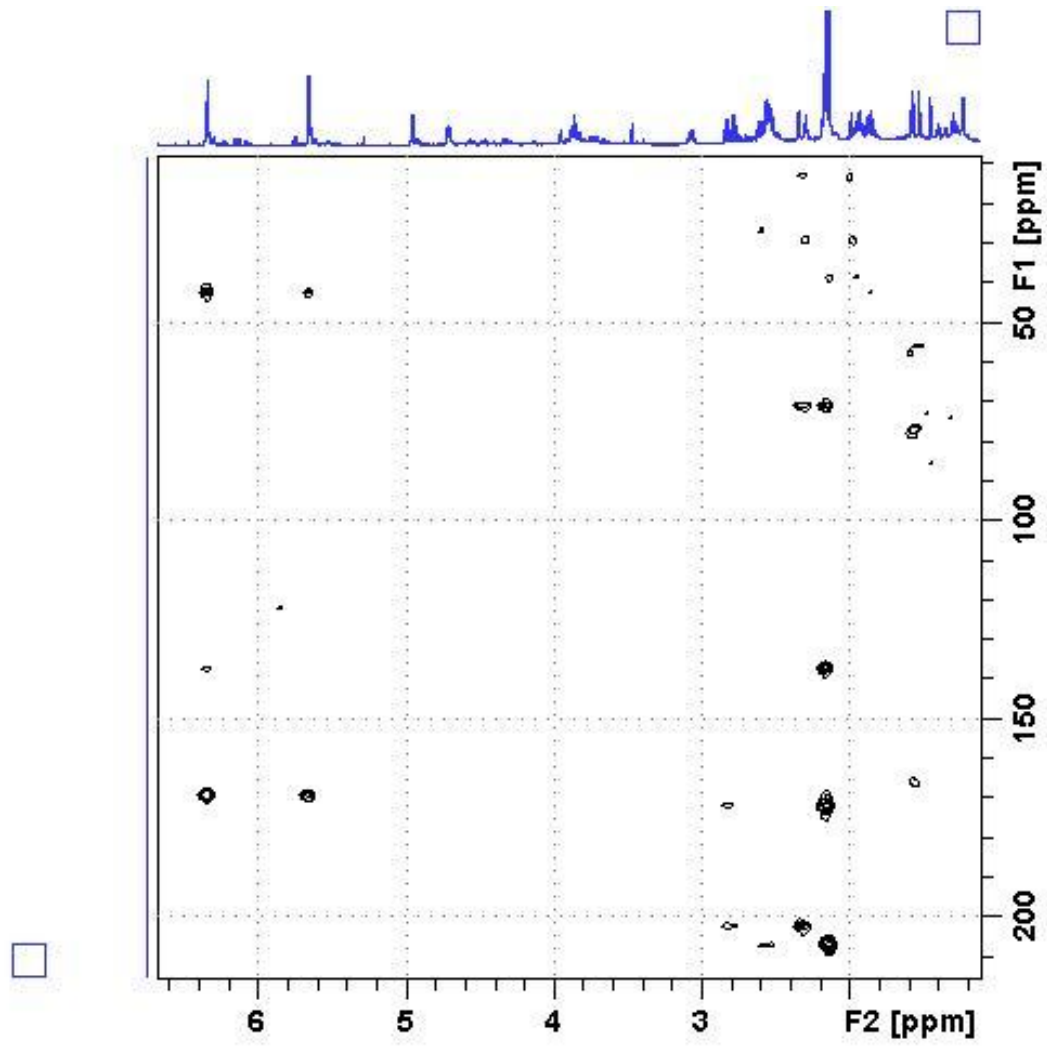
Spektrum 9: AW15 Kodlu Bileşiğe Ait ¹H NMR Spektrumu



Spektrum 10: AW15 Kodlu Bileşiğe Ait COSY Spektrumu

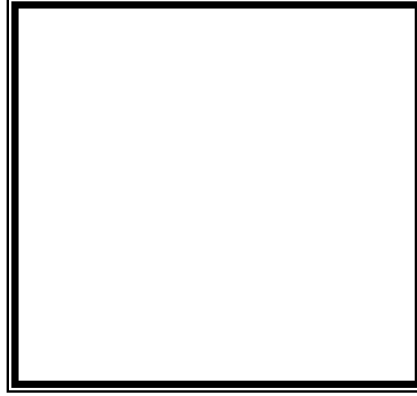


Spektrum 11: AW15 Kodlu Bileşiğe Ait HSQC Spektrumu



Spektrum 12: AW15 Kodlu Bileşiğe Ait HMBC Spektrumu

2.1.4. AW22 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



3 α -kloro-4 β ,10 α -dihidroksi-1 β ,2 β epoksi-5 α ,7 α H-gaya-11(13)-en-12,6 α -olid

$C_{15}H_{19}O_5Cl$

MA:314

$[\alpha]_D^{22}$: -24.8 [(c:2.2; CH_2Cl_2 :MeOH (95/5))]

UV λ_{maks} (MeOH) nm : 280

IR γ_{maks} ($CHCl_3$) cm^{-1} : 3430 (OH), 1780 (α,β -doymamış γ -lakton), 1660 (doymamışlık), 1040 (C-OC) (Spektrum 13)

HR-ESI Kütle :m/z 337.1075 $[M+Na]^+$, 339.1049 $[M+Na+2]^+$, m/z 651.1981 $[2m+Na]^+$, 653.1879 $[2m+Na+2]^+$ (Spektrum 14)

1H NMR (Diklorometan- d_2 +MeOH- d_4 , 400MHz): (spektrum 15) Tablo 18

2D- 1H , ^{13}C -Heteronükleer (Short range) COSY (HMQC):(Spektrum 16)

Tablo 18

2D- 1H , 1H -Homonükleer COSY: (Spektrum 17), Tablo 18

^{13}C NMR: (Spektrum 18)

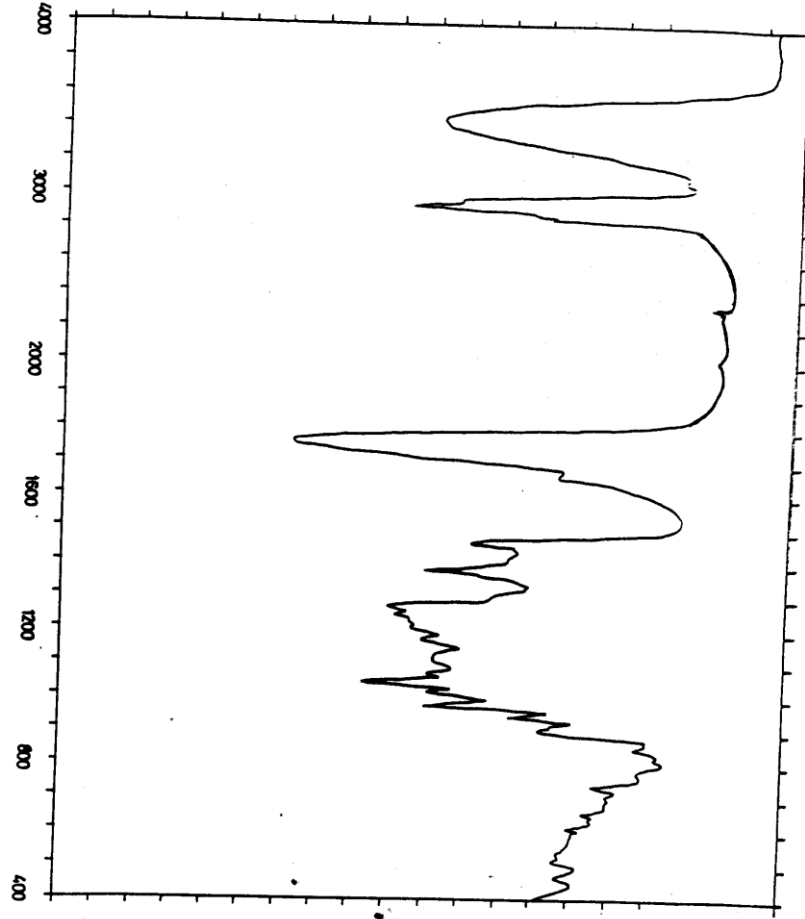
2D- 1H , ^{13}C -Heteronükleer (Long range) COSY (HMBC): (Spektrum 19),

Tablo 18

2D-NOESY: (Spektrum 20), Tablo 18

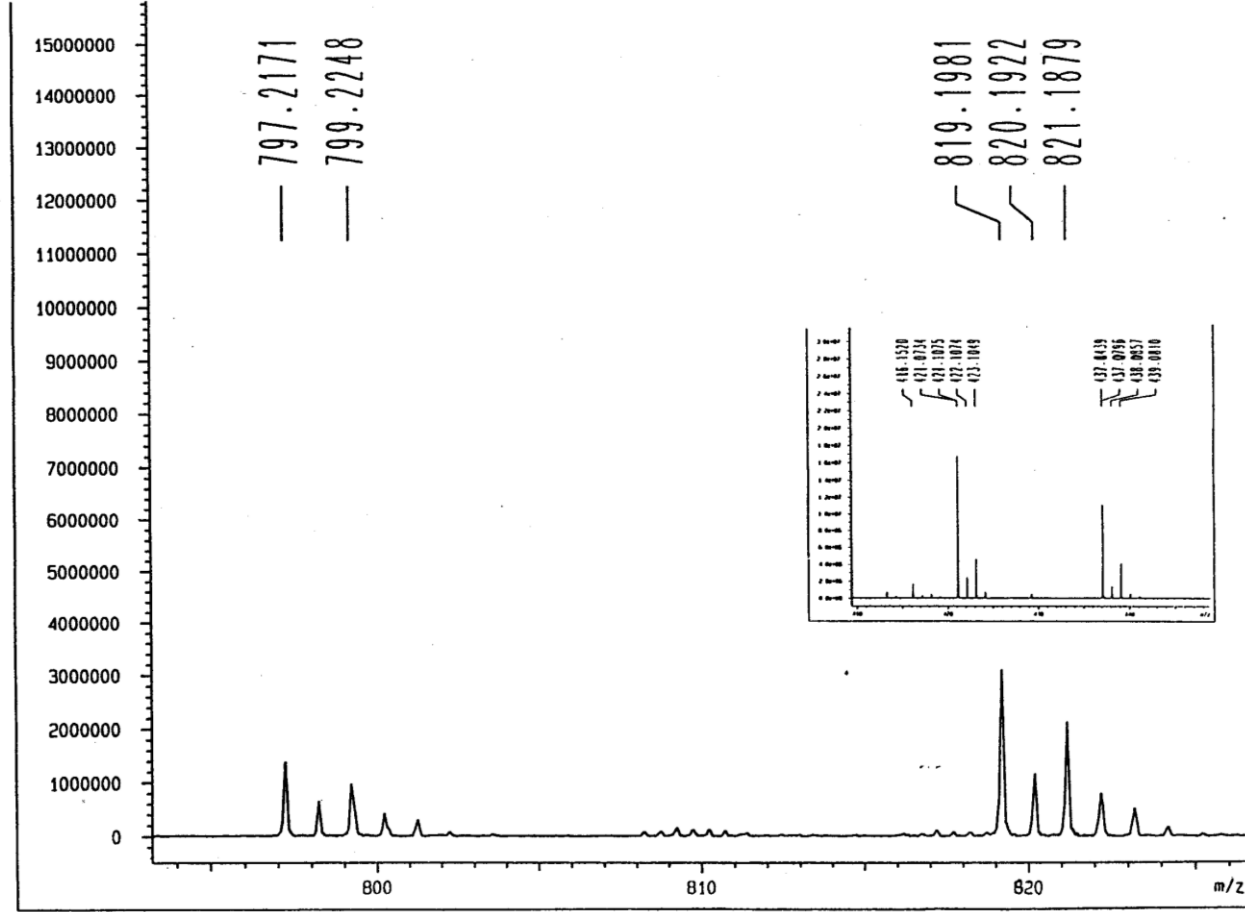
Tablo 18: AW22 Kodlu Bileşiğin 1D ve 2D NMR Spektrumları Bulguları

Konum	¹ H NMR (δ) ppm <i>J</i> (Hz)	¹³ C δ ppm (HMQC)	DEPT	HMBC	¹ H- ¹ H COSY	NOESY
1		79.6	C	-	-	-
2	3.85 brs	63.3	CH	C-1	-	H-5
3	4.08 s	64.2	CH	C-4,C-5,C-2,C-1	-	H-15, H-7
4	-	71.8	C	-	-	-
5	2.82 d (10.9)	49.4	CH	C-1,C-6	H-6	H ₃ -15
6	4.35 dd (10,10.8)	78.4	CH	C-8	H-7,H-5	H-9b
7	3.57 m	43.3	CH	-	H-13a,H-13b,H-6	H-8b
8a	1.61 m	22.9	CH ₂	C-7	H-9a,H-7	H-9a
8b	2.3 m		CH ₂	-	H-9b	H-9b
9a	2.29 m (8.6,2.3)		CH ₂	C-1,C-7	H-8b	H-8a
9b	1.86 dd (5.9,11.9,14)		CH ₂	-	H-8b	H-8b
10	-	72.9	C	-	-	-
11	-	140.2	C	-	-	-
12	-	169.9	C	-	-	-
13a	6.16 d (3.9)	119.3	CH ₂	C-7,C-11,C-12	H-7	13b,8a,9a
13b	5.43 d (3.5)		CH ₂	C-7,C-12	H-7	13a
14-CH ₃	1.21 s	27.8	CH ₃	C-9,C-10	-	-
15-CH ₃	1.53 s	24	CH ₃	C-3,C-4,C-5	-	H-5,H-3b

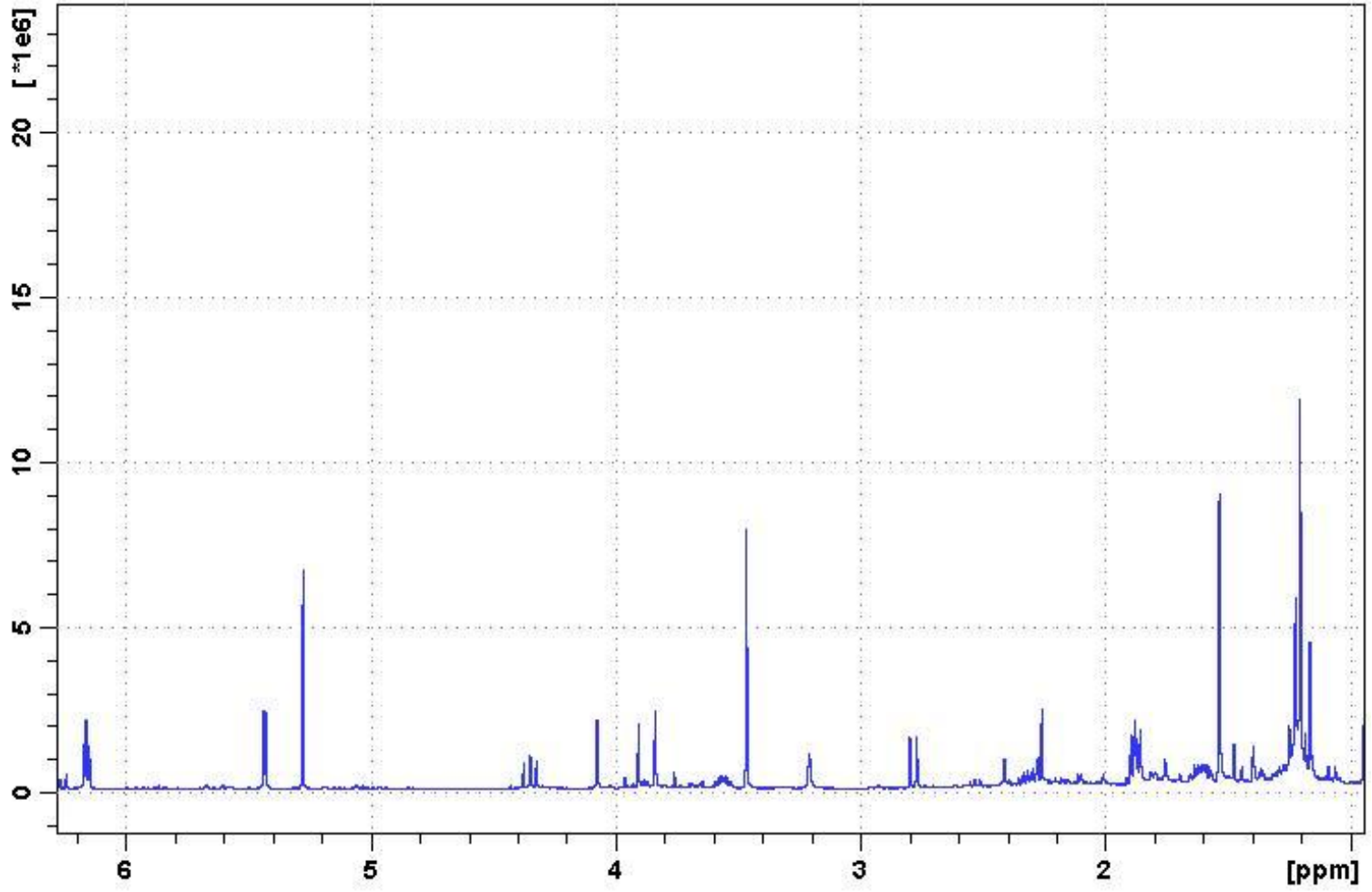


Spektrum 13: AW22 Kodlu

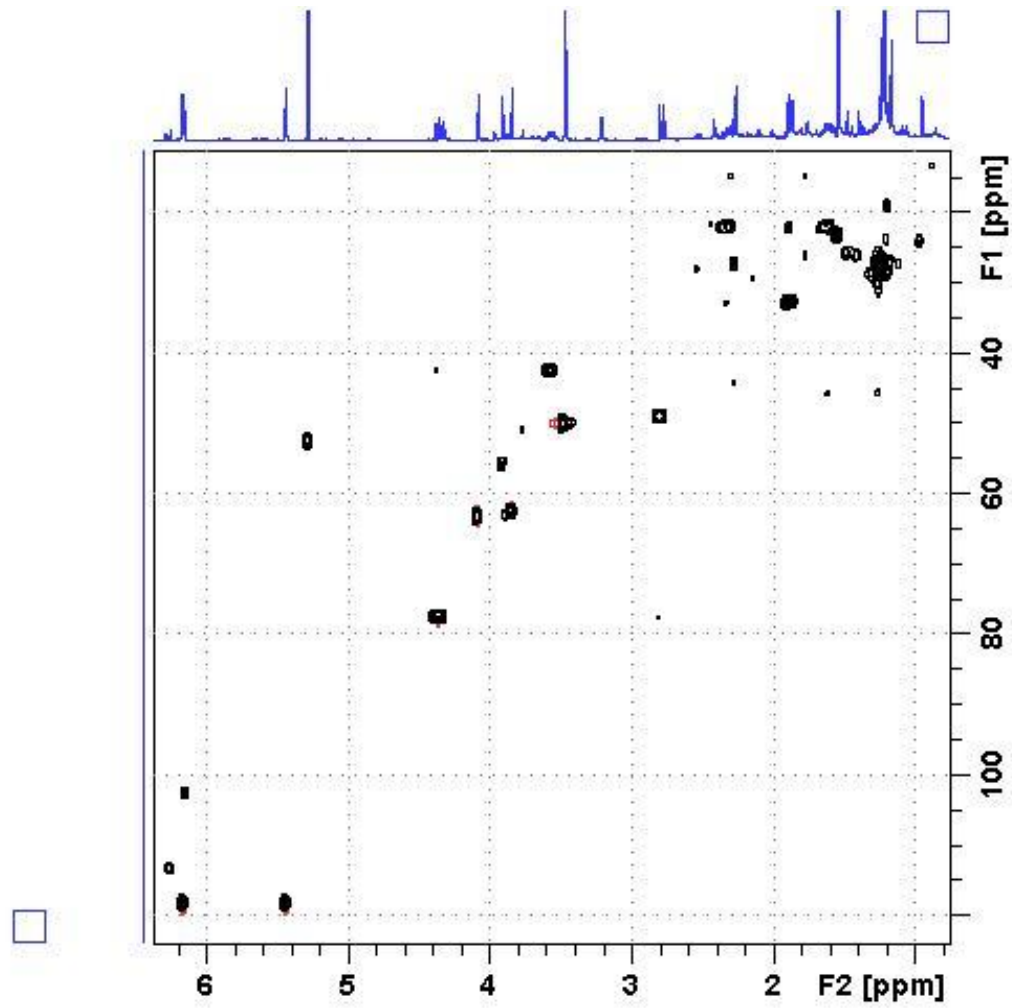
Bileşiğe Ait IR Spektrumu



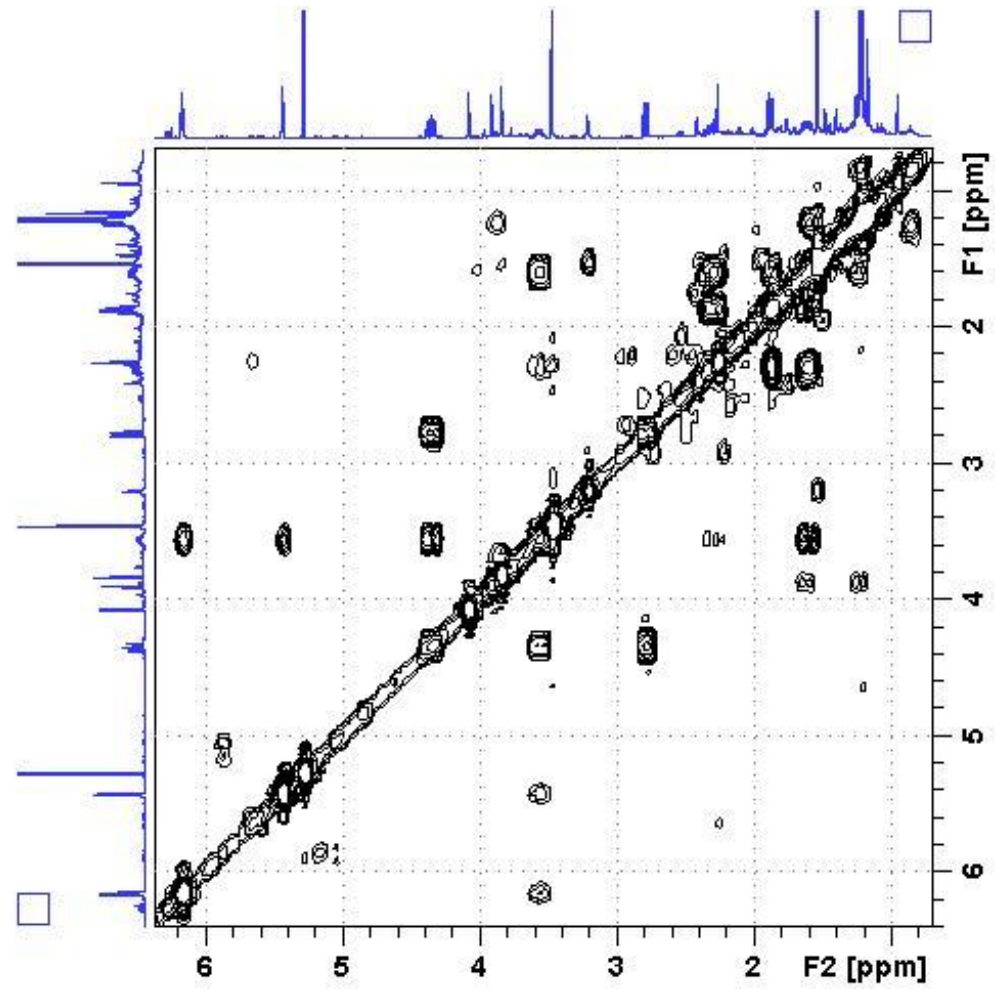
Spektrum 14: AW22 Kodlu Bileşiğe Ait HR-ESI Kütle Spektrumu



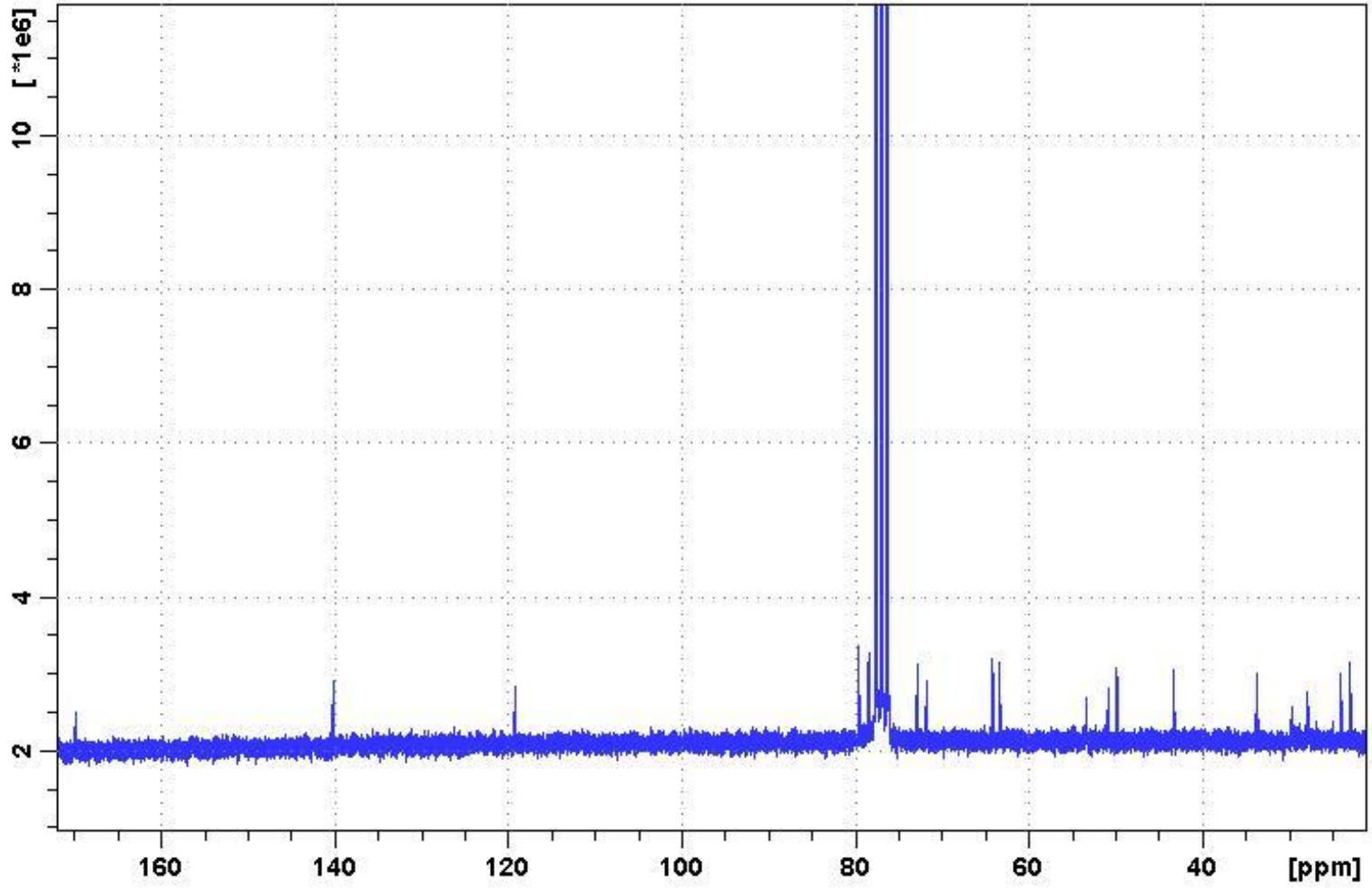
Spektrum 15: AW22 Kodlu Bileşiğe Ait ^1H NMR Spektrumu



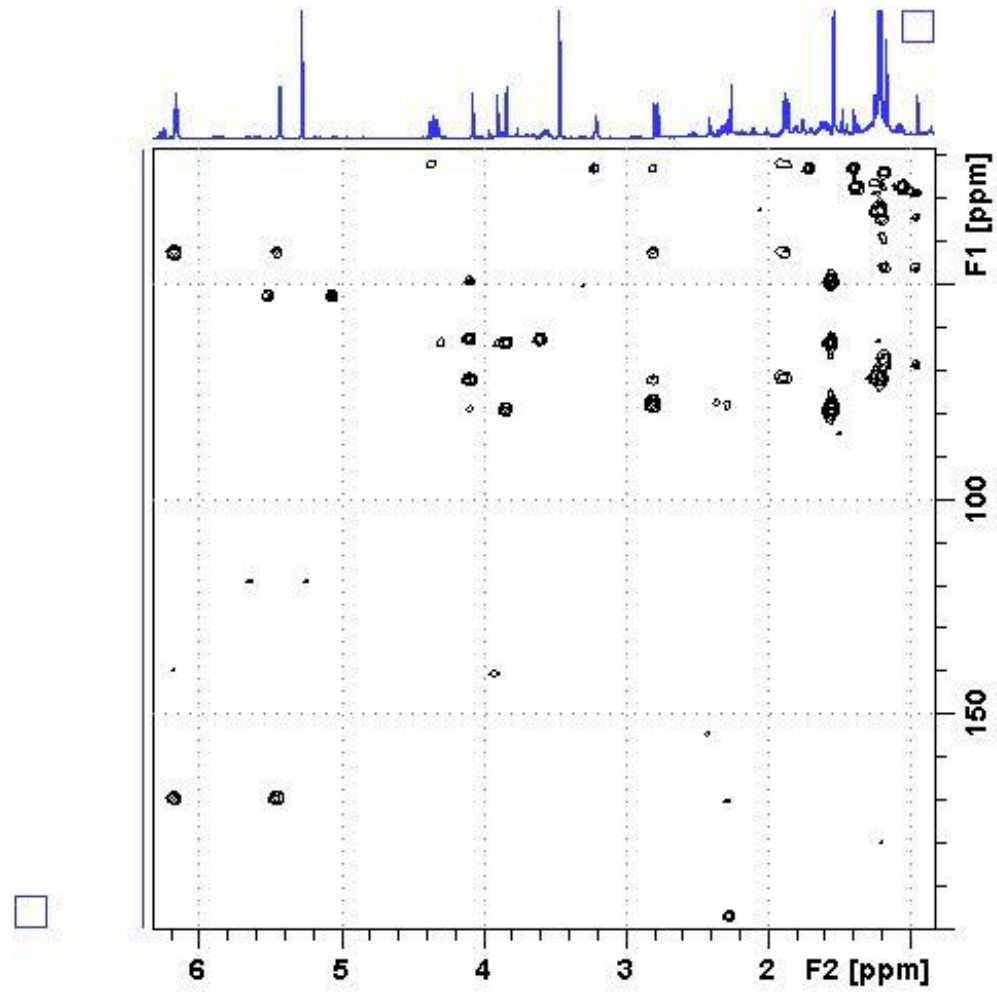
Spektrum 16: AW22 Kodlu Bileşiğe Ait HSQC Spektrumu



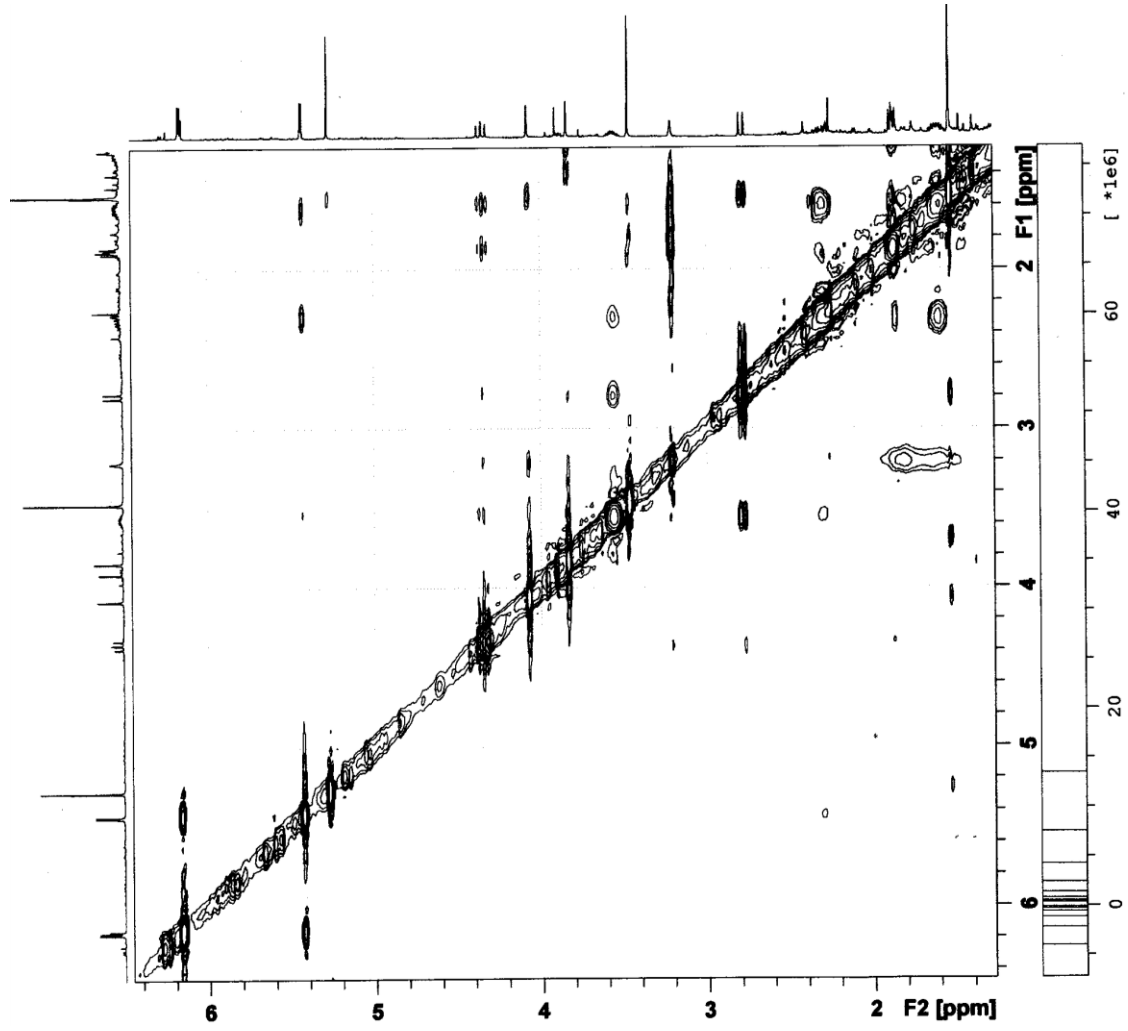
Spektrum 17: AW22 Kodlu Bileşiğe Ait COSY Spektrumu



Spektrum 18: AW22 Kodlu Bileşige Ait ^{13}C NMR Spektrumu

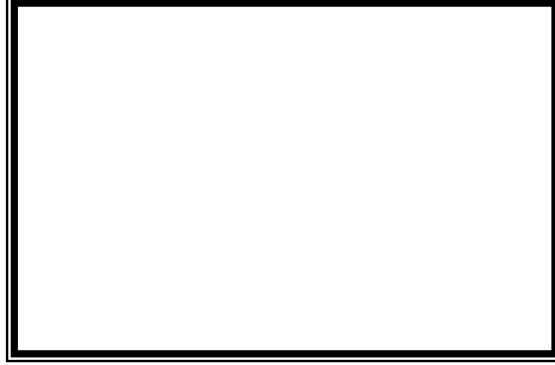


Spektrum 19: AW22 Kodlu Bileşiğe Ait HMBC Spektrumu



Spektrum 20: AW22 Kodlu Bileşige Ait NOESY Spektrumu

2.1.5. AW24 Kodlu Bileşimin Spektral Bulguları



5-Hidroksi-6,7,3',4'-tetrametoksiflavon
(5-Hidroksi-6,7,3',4'-tetrametoksilutedin)

UV λ_{maks} (MeOH) nm : 279, 338

UV λ_{max} (MeOH) nm (AlCl₃, AlCl₃+HCl, NaOAc, NaOAc/H₃BO₃): Tablo 19

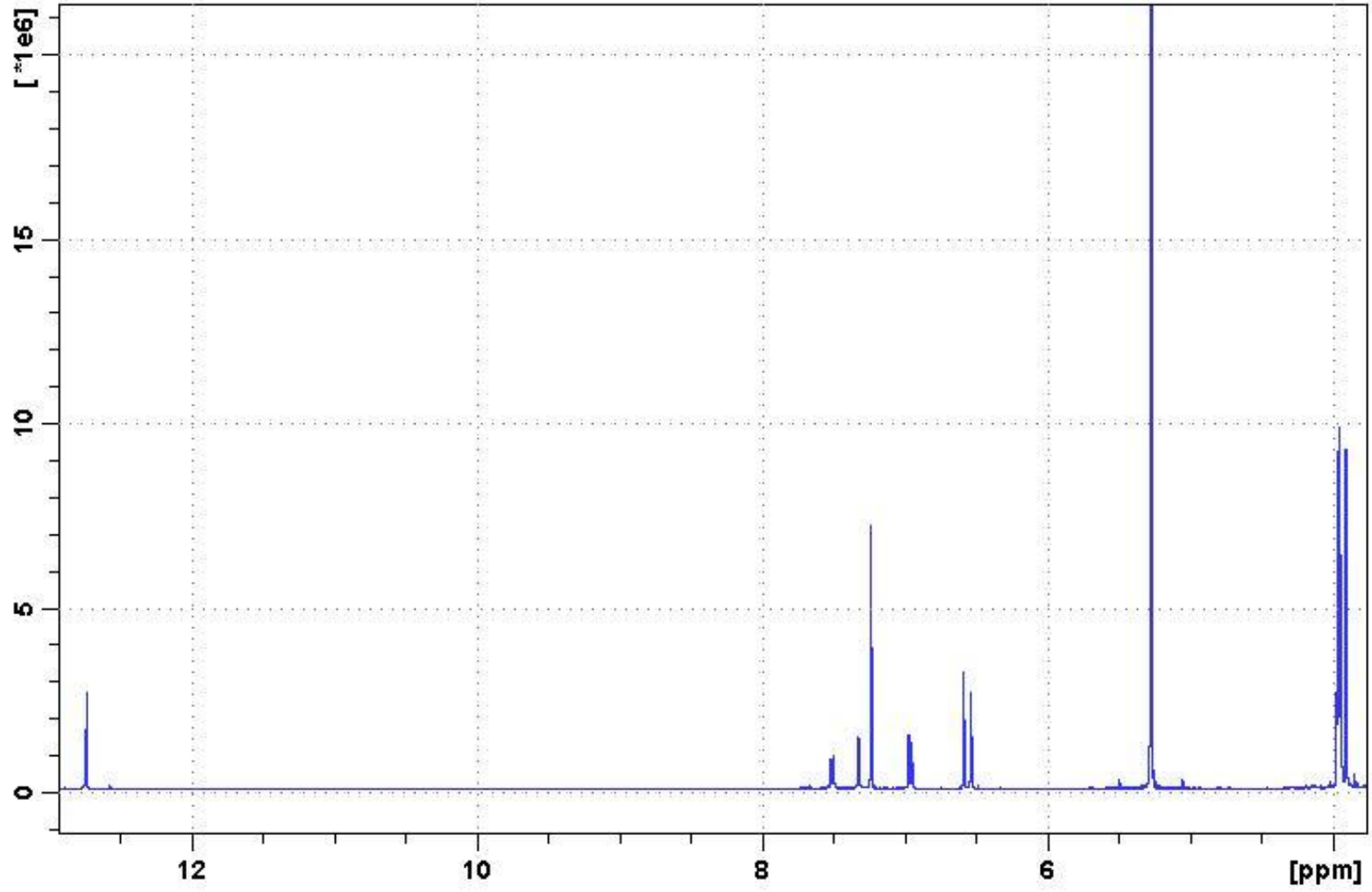
¹H NMR (Diklorometan-d₂+CDCl₃, 400MHz): (Spektrum 21) Tablo 19

Tablo 19: AW24 Kodlu Bileşimin Kaydırıcı Ajanlarla Çekilmiş UV Spektrum Sonuçları

	Bant II			Bant I	
		λ_{max} (nm)	$\Delta\lambda$	λ_{max} (nm)	$\Delta\lambda$
MeOH	241, 251	279		338	
NaOMe	241, 251	276		396	+31
AlCl ₃	262	282	+3	365	+27
AlCl ₃ /HCl		282	+3	360	+22
NaOAc		277	-2	365	
NaOAc/H ₃ BO ₃		278		340	+2

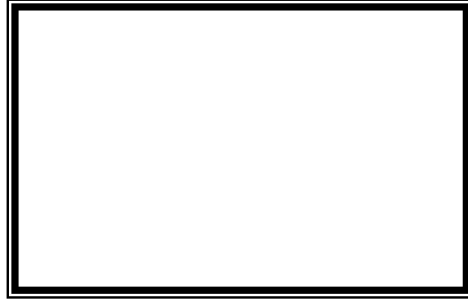
Tablo 20: AW24 Kodlu Bileşimin ¹H NMR Bulguları

Konum	δ (ppm)	<i>J</i> (Hz)
H-2	7.32	d (J:2.4)
H-3	6.54	s
H-8	6.59	s
H-5'	6.96	d (J:8.6)
H-6'	7.50	dd, (J:8.6; 2.4)
6-OCH ₃	3.91	s
7- OCH ₃	3.96	s
3'-OCH ₃	3.97	s
4'-OCH ₃	3.95	s

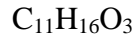


Spektrum 21: AW24 Kodlu Bileşige Ait ^1H NMR Spektrumu

2.1.6. AW27 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



LOLIOLİDE (Calendin)



MA:196

$[\alpha]_D^{22}$: -101.2 ° (c:1.0;CHCl₃)

UV λ_{maks} (MeOH) nm : 218

IR γ_{maks} (%1 KBr) cm⁻¹: 3500 (OH), 1745 (lakton karbonili) ve 1645 (doymamışlık)

EI-MS Kütle: m/z (%), 197 (4), 196 (7), 178 (26), 163 (12), 140 (32), 112 (23), 111 (100), 110 (15), 107 (20), 97 (18), 85 (35), 67 (23), 57 (42)

¹H NMR (CDCl₃), 400MHz: (Spektrum 22)

2D-¹H, ¹³C-Heteronükleer (Short range) COSY (HSQC): (Spektrum 23),

Tablo 25

2D-¹H, ¹³C-Heteronükleer (Long range) COSY (HMBC): (Spektrum 24),

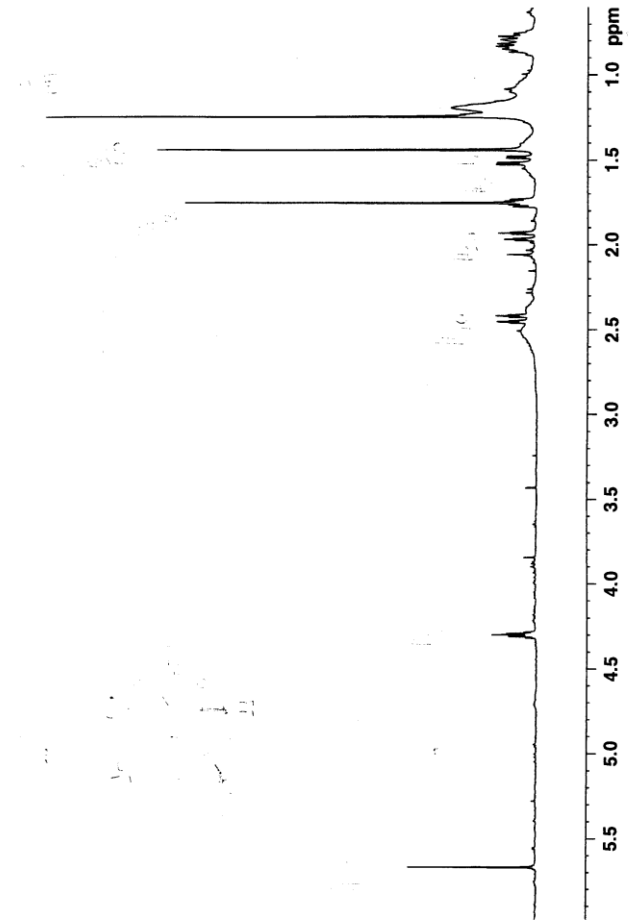
Tablo 21

2D-NOESY: (Spektrum 25), Tablo 21

2D-¹H, ¹H-Homonükleer COSY: (Spektrum 26), Tablo 21

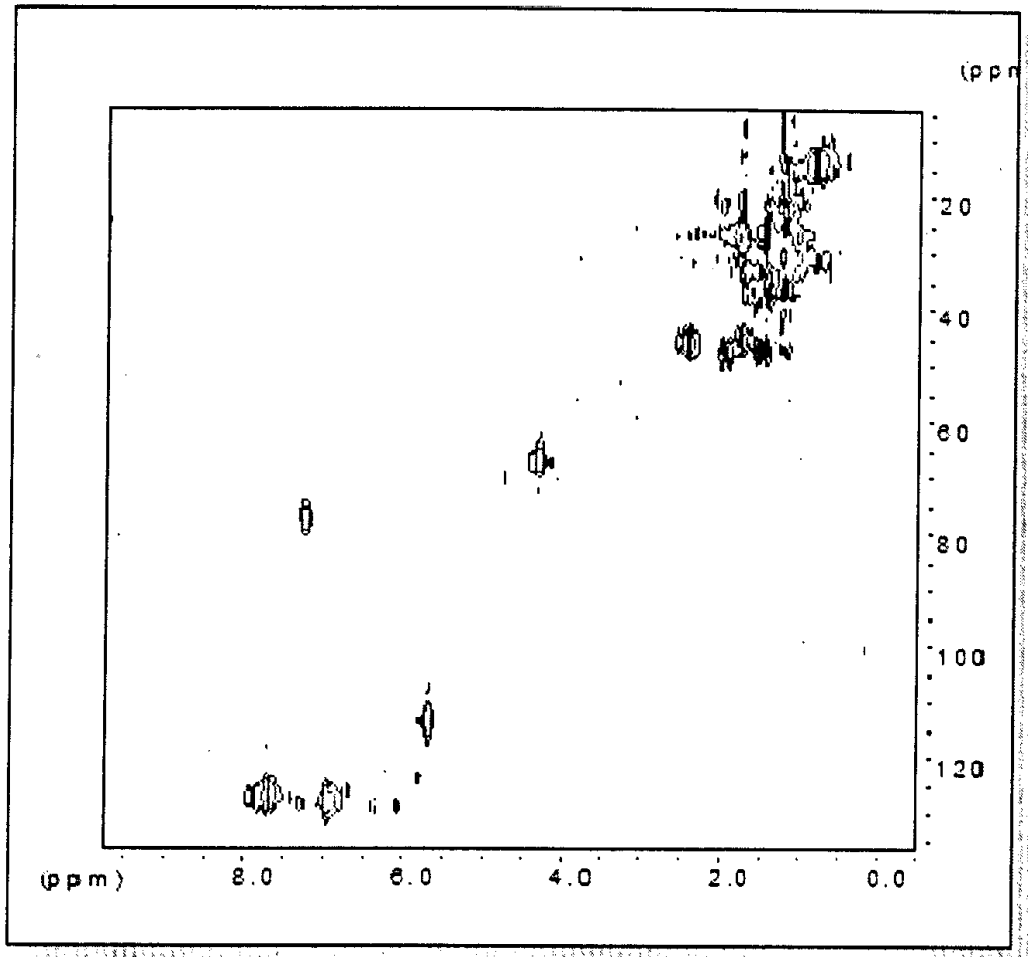
Tablo 21: AW27 Kodlu Bileşiğe Ait 1D ve 2D NMR Spektrumları Sonuçları

Konum	¹ H NMR(δ) ppm <i>J</i> (Hz)	HSQC (δ) ppm	HMBC	¹ H- ¹ H COSY	NOESY
H-2a	1.95 td (2.8;14.8)	47.5	-	H-4a, H ₃ -10	H-3
H-2b	1.52 dd (3.9;14.8)	47.5	-	H-4b, H-9	-
H-3	4.31 q (3.5)	66.9	-	H-4a, H-2a,H-4b, H-2b	H-4a, H-2a, H ₃ -10
H-4a	2.43 td (2.8;14)	45.6	-	H-3	H-3b
H-4b	1.76 dd (4.3;14)	45.6	-	H-2b	-
H-7	5.68 s	113.2	C-5, C-8	-	H ₃ -9
H-9	1.25 s	30	C-4, C-5, C-6	-	H-7
H-10	1.45 s	26.8	C-6	-	H-3
H-11	1.76 s	27	C-5, C-6	-	H ₃ -9

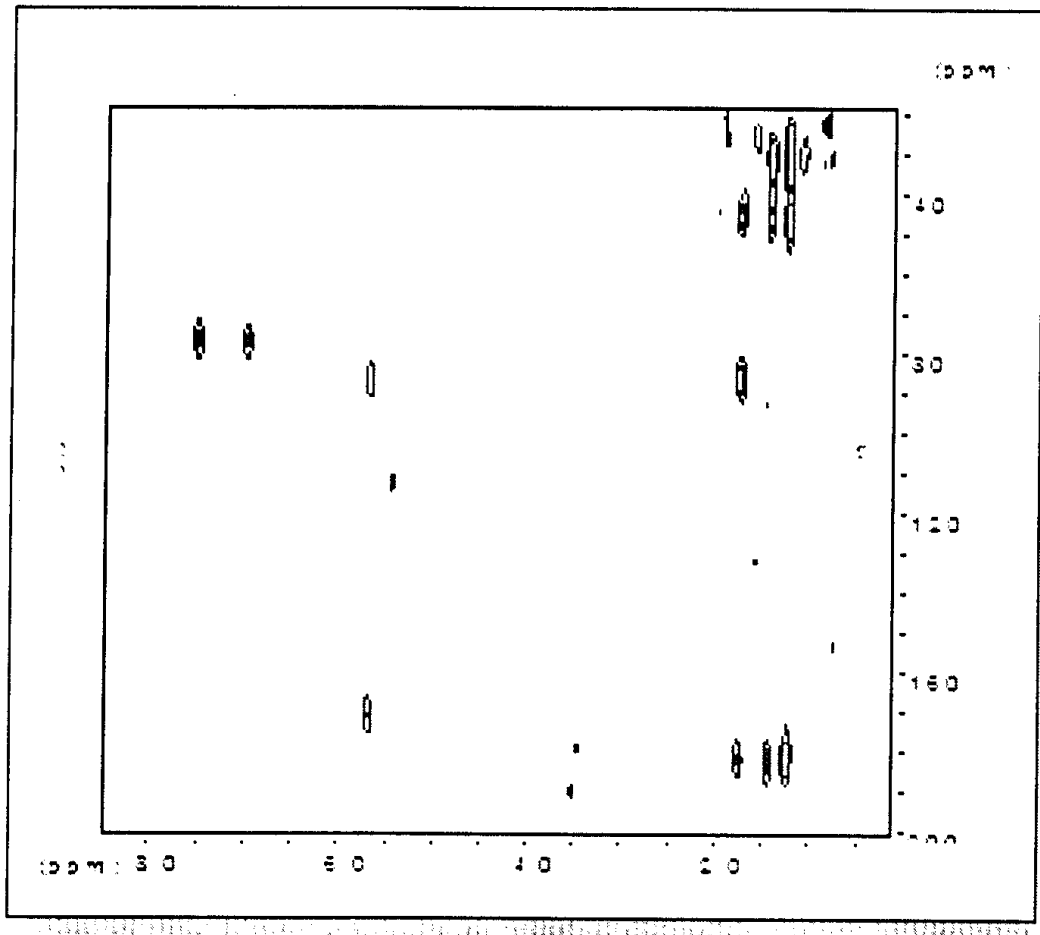


Spektrum 22: AW27 Kodlu Bileşiğe Ait ^1H NMR Spektre

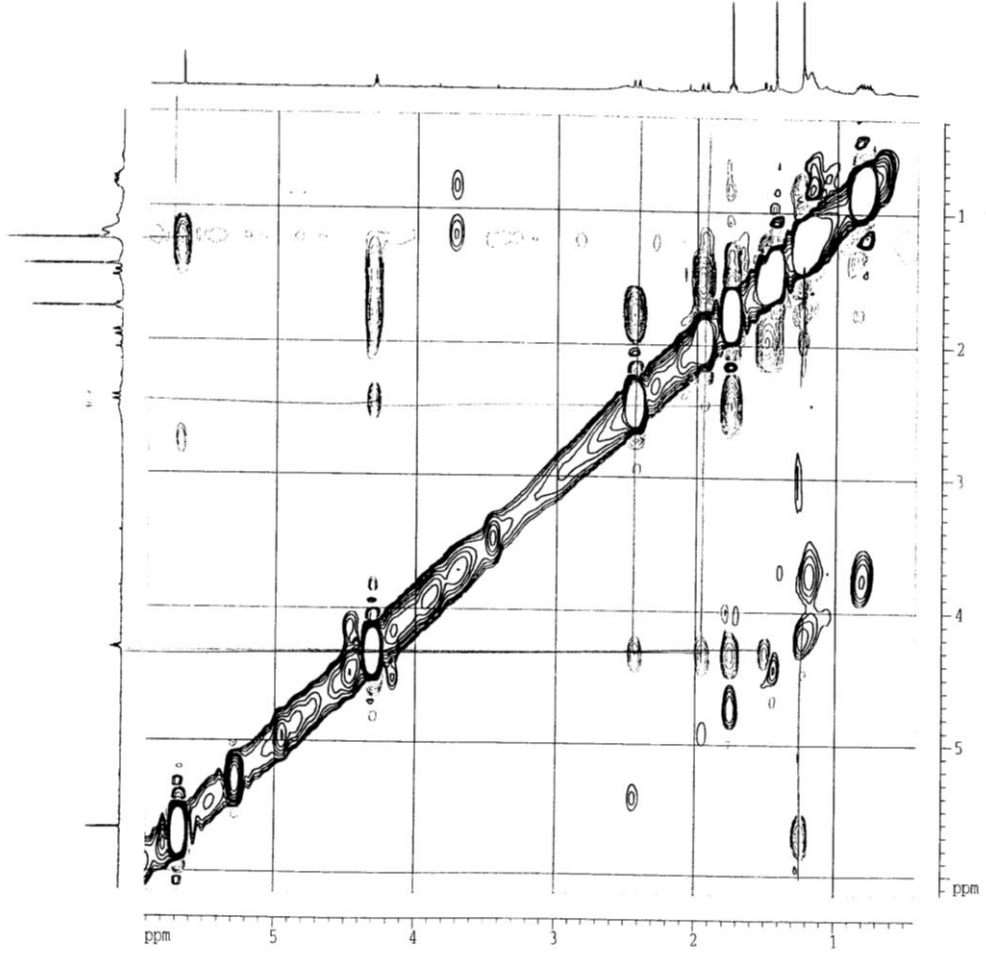
mu



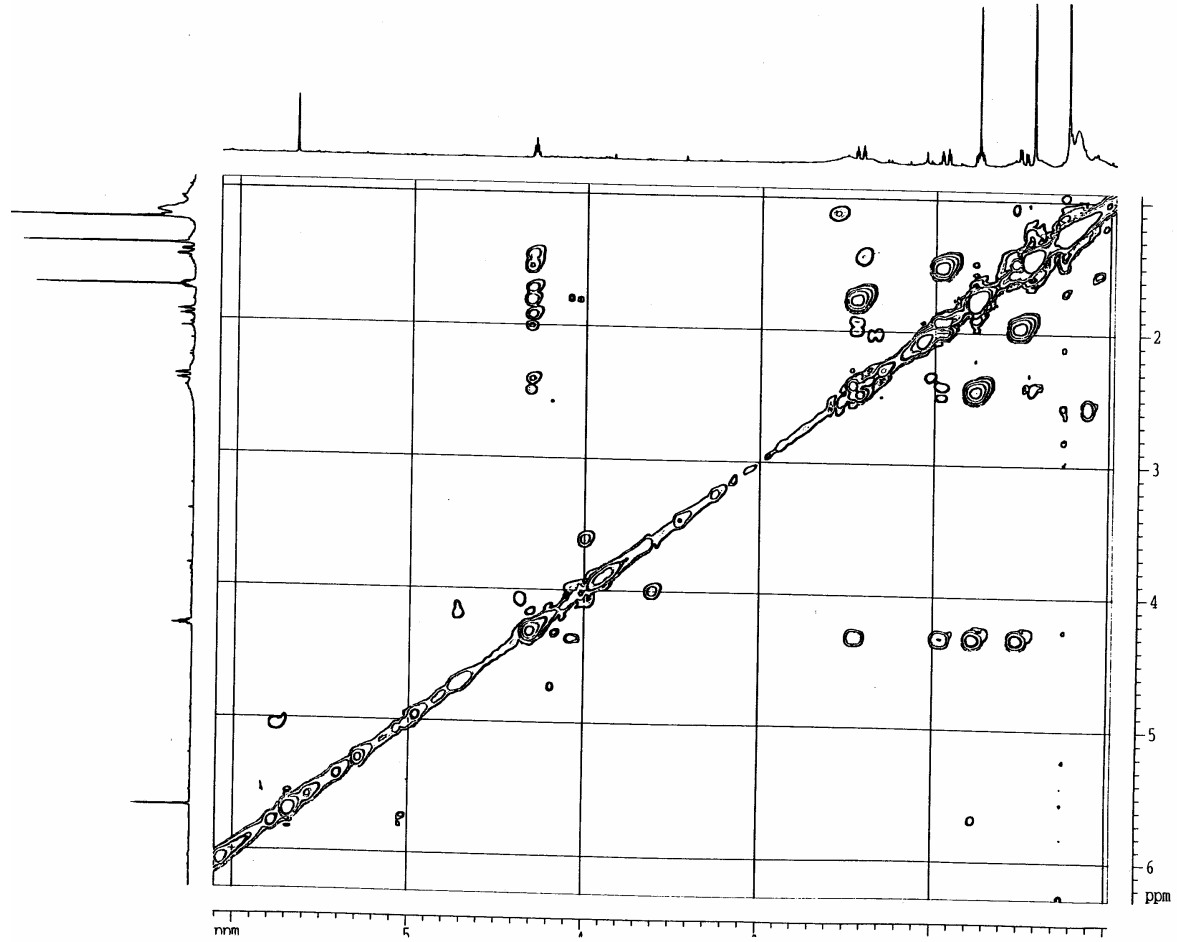
Spektrum 23: AW27 Kodlu Bileşige Ait HSQC Spektrumu



Spektrum 24: AW27 Kodlu Bileşige Ait HMBC Spektrumu

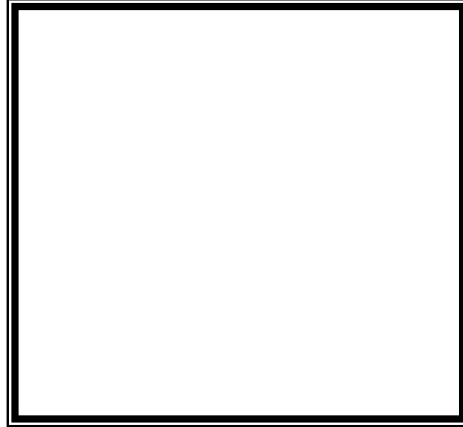


Spektrum 25: AW27 Kodlu Bileşiğe Ait NOESY Spektrumu



Spektrum 26: AW27 Kodlu Bileşiğe Ait COSY Spektrumu

2.1.7. AW28 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



**1 β ,2 β -epoksi-3 β ,4 α ,10 α -tri
hidroksigayanolid**

$C_{15}H_{20}O_6$

MA:296

$[\alpha]_D^{20}$: +24 (MeOH; c=O, 10)

UV λ_{maks} (MeOH) nm : 265

IR γ_{maks} (%1 KBr) cm^{-1} : 3400(OH), 1780 (α,β -doymamış- γ -lakton), 1680 (doymamışlık), 1043 (C-O-C).

EI-MS Kütle: m/z (%) 296 $[M]^+$ (3), 281 $[M^+-CH_3]$ (11), 278 $[M^+-H_2O]$ (22), 57 (100).

1H NMR ($CDCl_3$), 400MHz): (Spektrum 27)

2D- 1H , ^{13}C -Heteronükleer (Short range) COSY (HMQC): (Spektrum 28), Tablo 22

2D- 1H , 1H -Homonükleer COSY: (Spektrum 29), Tablo 22

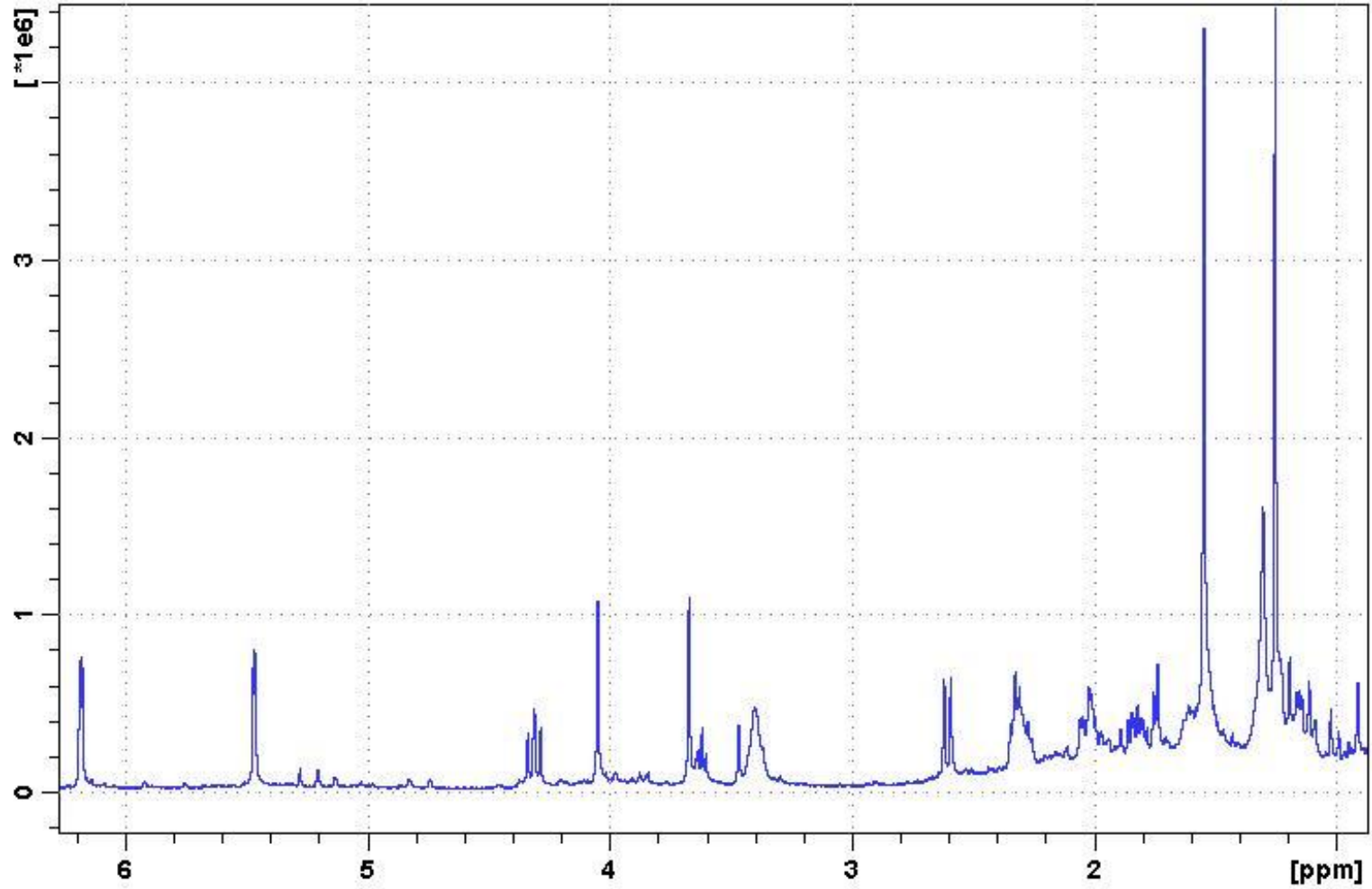
^{13}C NMR DEPT: (Spektrum 30), Tablo 22

2D- 1H , ^{13}C -Heteronükleer (Long range) COSY (HMBC): (Spektrum 31), Tablo 22

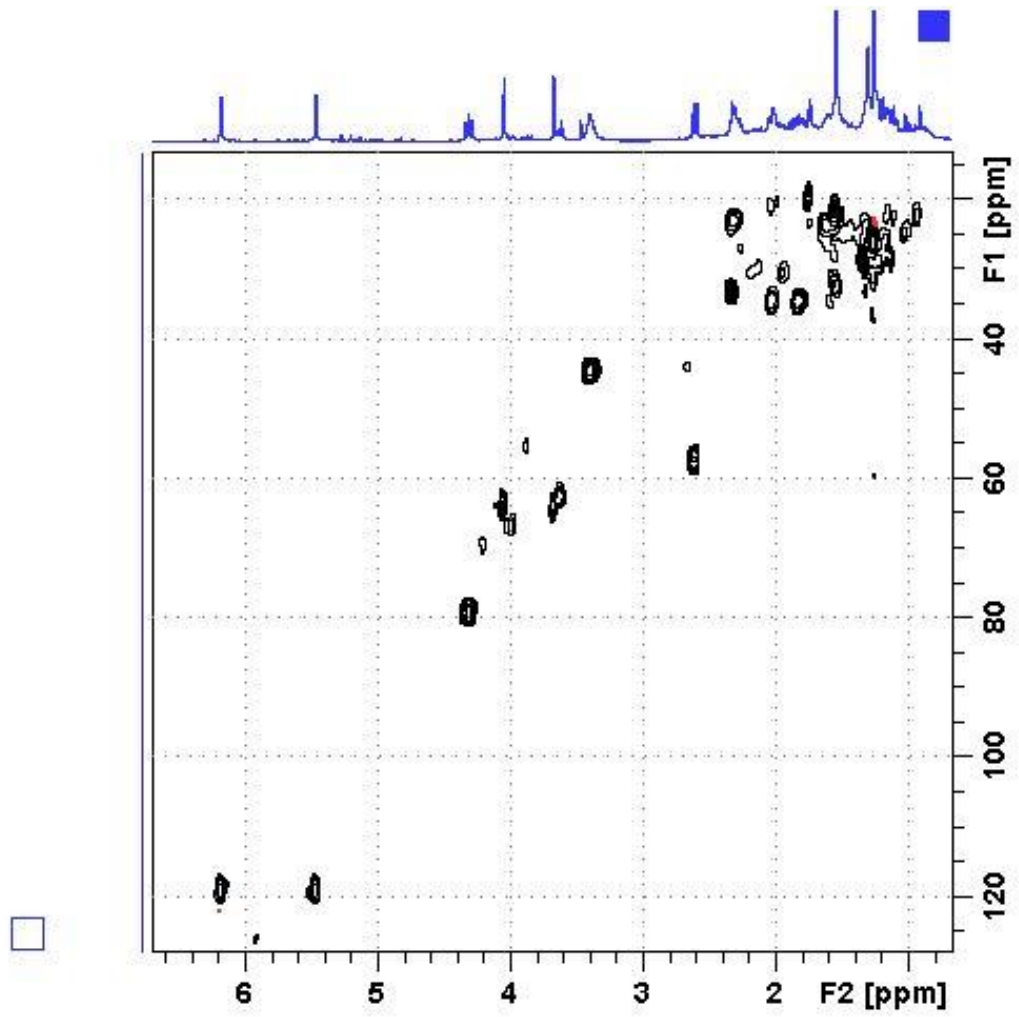
2D-NOESY: (Spektrum 32), Tablo 22

Tablo 22: AW28 Kodlu Bileşiğin 1D ve 2D NMR Spektrum Sonuçları

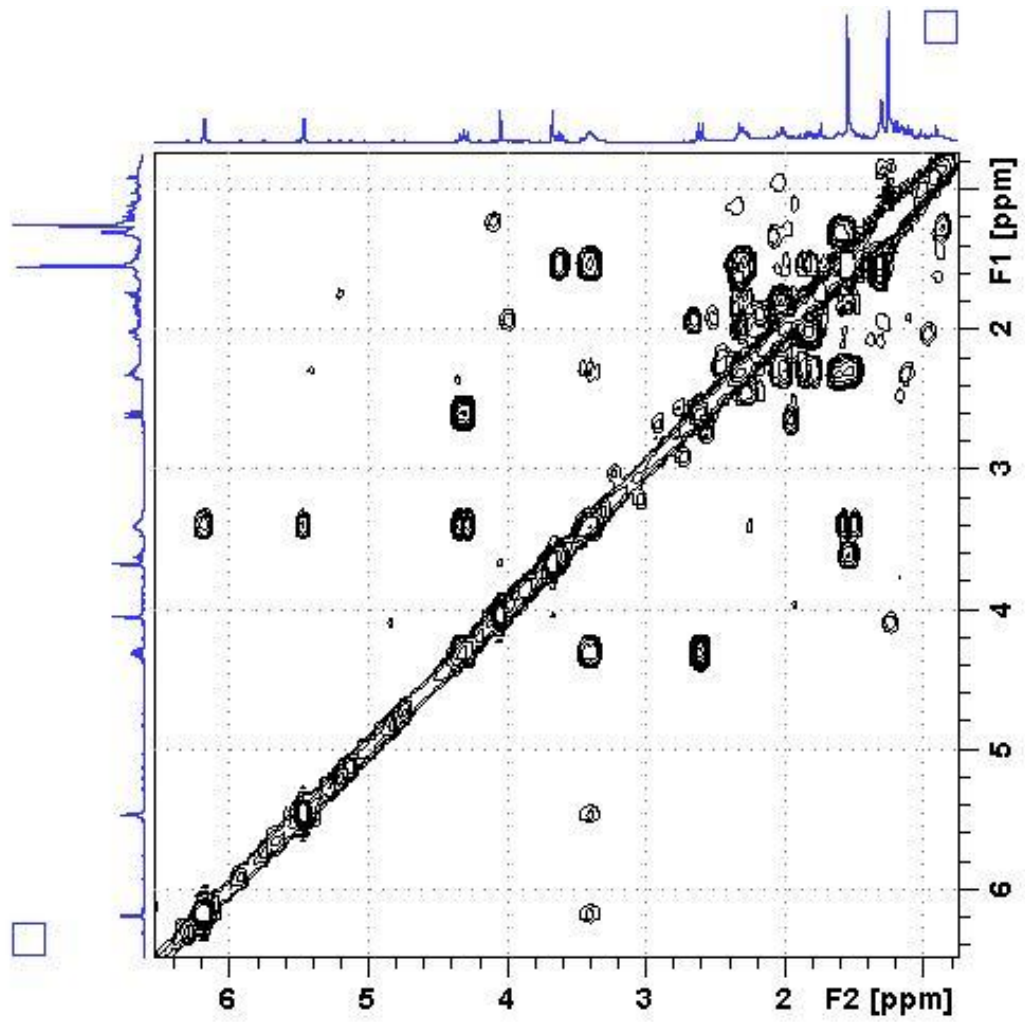
Konum	¹ H NMR (δ) ppm <i>J</i> (Hz)	HMQC (δ) ppm	DEPT 135	HMBC	¹ H- ¹ HCOSY	NOESY
1	-	73.3	C	-	-	-
2	3.67 (d, 0.5)	64.9	CH	C ₃ , C ₄ , C ₅	H-3	H-3, H ₃ -14
3	4.05 (d, 0.5)	64.6	CH	C ₁ , C ₂	H-2, H-7	H-2
4	-	83.2	C	-	-	-
5	2.61 (d, 11.7)	57.9	CH	C ₁ , C ₂ , C ₄	H-6	H-7, H-8 α , H-2
6	4.32 (t, 10.9)	79.7	CH	C ₈	-	H ₃ -15
7	3.42 m	44.7	CH	-	H-6, H-7, H-8 α , H-8 β	H-9 β
8 α	2.31 m	23.5	CH ₂	-	H-7, H-8 β , H-9 α , H-9 β	H-9 α
8 β	1.57m	23.5	CH ₂	-	H-7, H-8 α , H-9 α , H-9 β	H ₃ -14, H-9, H-6
9 α	2.03 m	35.5	CH ₂	-	H-8 α , H-8 β , H-9 β	-
9 β	1.83 m	35.5	CH ₂	C ₁₀	H-9 α , H-8 α , H-8 β	-
10	-	72.3	C	-	-	-
11	-	139.4	C	-	-	-
12	-	169.3	C	-	-	-
13a	6.18 d (3.5)	119.9	CH ₂	C ₇ , C ₁₂	H-7	H-8 α , H ₃ -14
13b	5.47 d (3.1)	119.9	CH ₂	C ₇ , C ₁₂	H-7	H-8 α , H-8 β , H ₃ -14
14-CH ₃	1.25s	26.7	CH ₃	C ₃ , C ₄ , C ₅	-	-
15-CH ₃	1.56s	22.1	CH ₃	C ₉ , C ₁₀	-	-



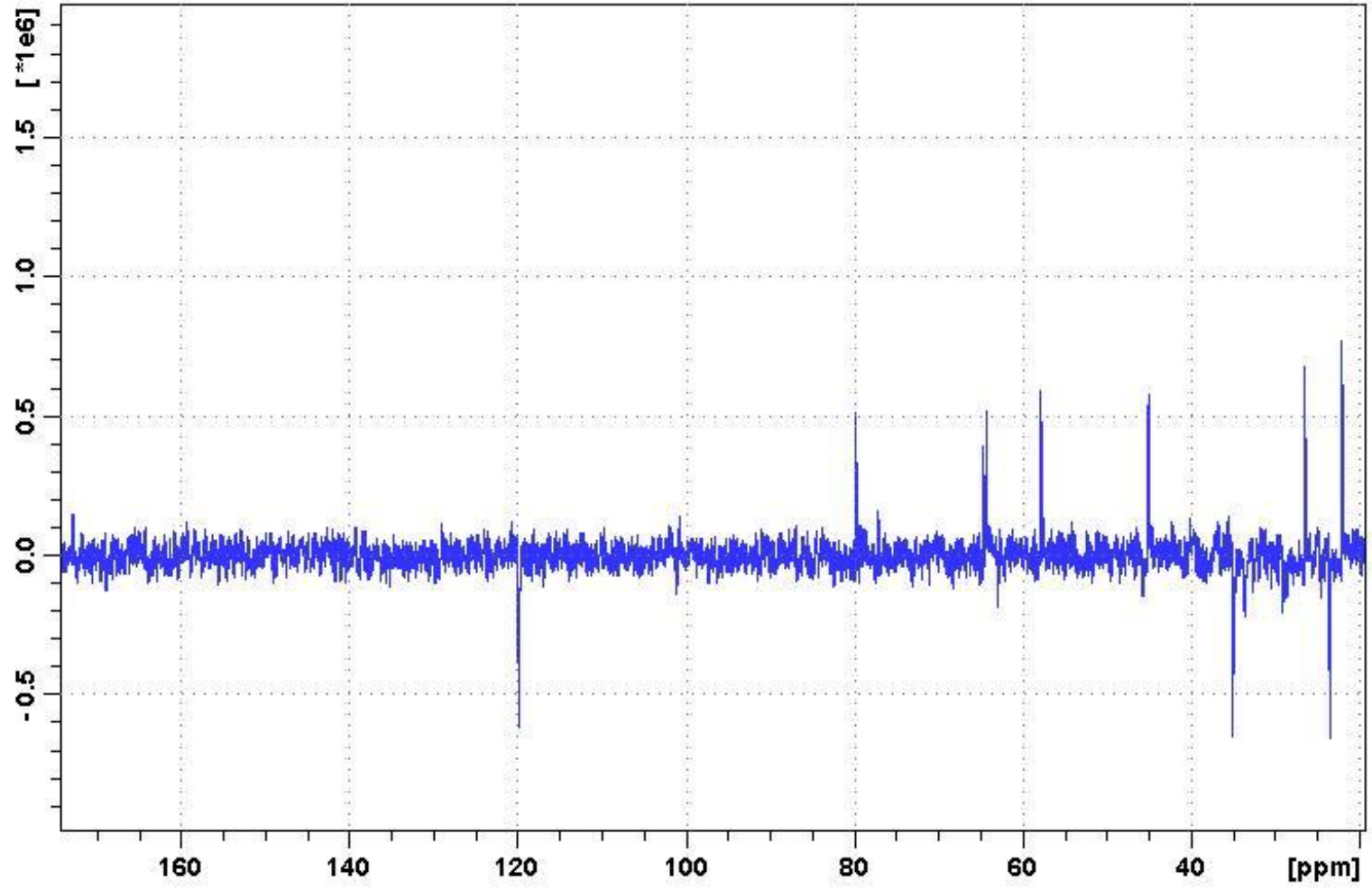
Spektrum 27: AW28 Kodlu Bileşiğe Ait ^1H NMR Spektrumu



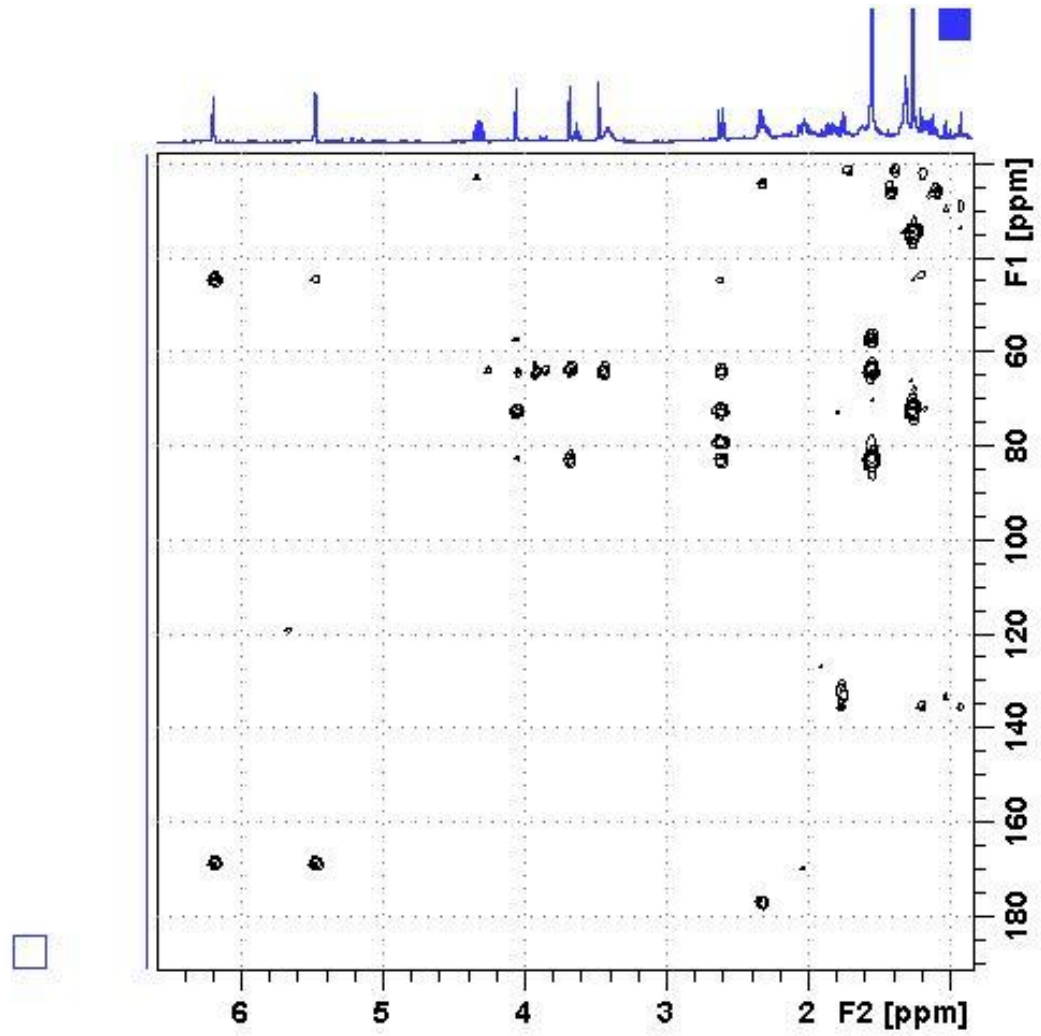
Spektrum 28: AW28 Kodlu Bileşiğe Ait HMQC Spektrumu



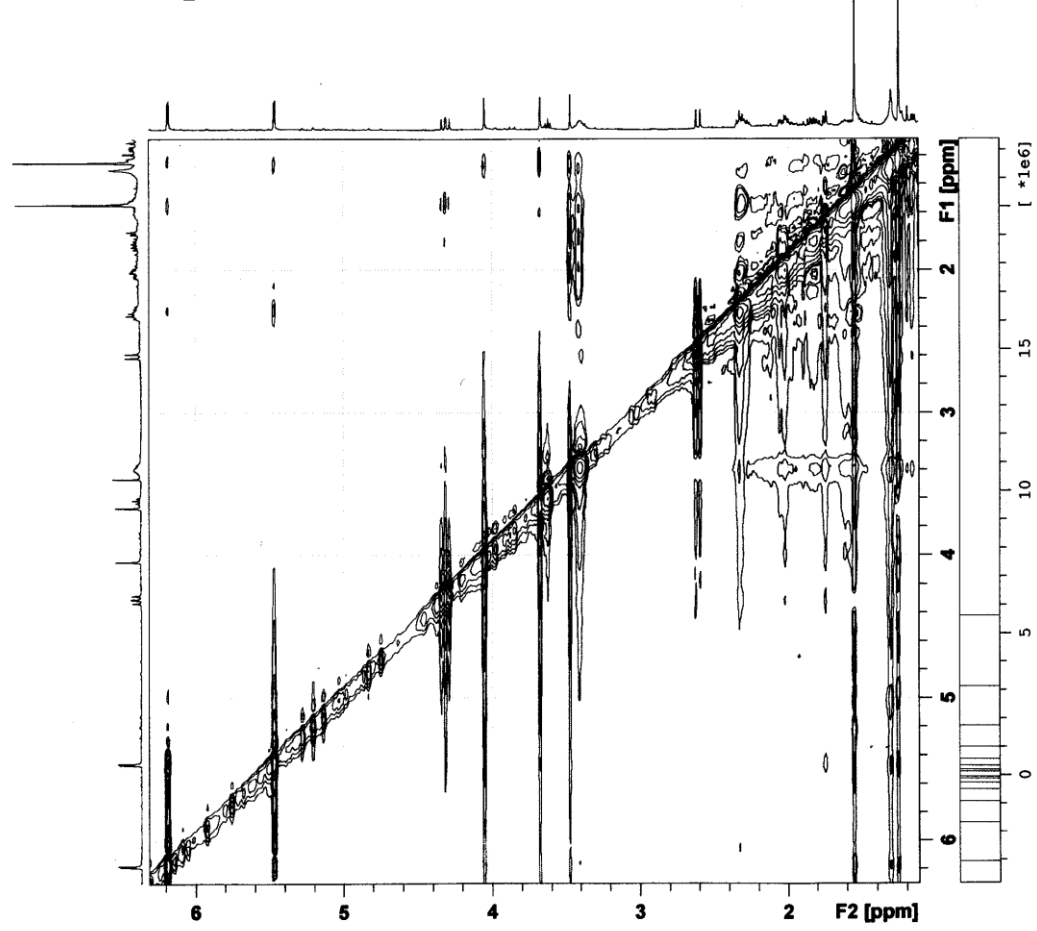
Spektrum 29: AW28 Kodlu Bileşiğe Ait COSY Spektrumu



Spektrum 30: AW28 Kodlu Bileşiğe Ait DEPT 135 Spektrumu

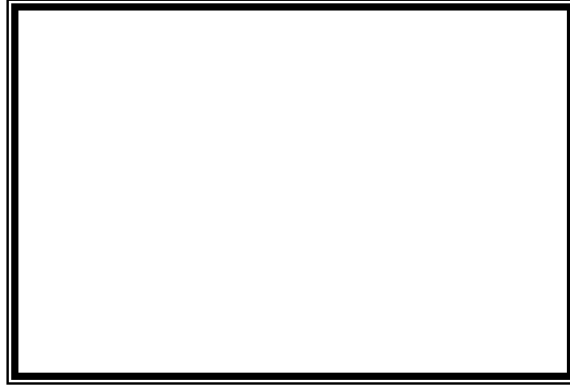


Spektrum 31: AW28 Kodlu Bileşiğe Ait HMBC Spektrumu



Spektrum 32: AW28 Kodlu Bileşiğe Ait NOESY Spektrumu

2.1.8. AW30 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



EUPATORİN

5,3'-Dihidroksi-6,7,4'-trimetoksiflavon

UV λ_{maks} (MeOH) nm : 275, 341

UV λ_{max} (MeOH) nm (AlCl₃, AlCl₃+HCl, NaOAc, NaOAc/H₃BO₃): Tablo 23

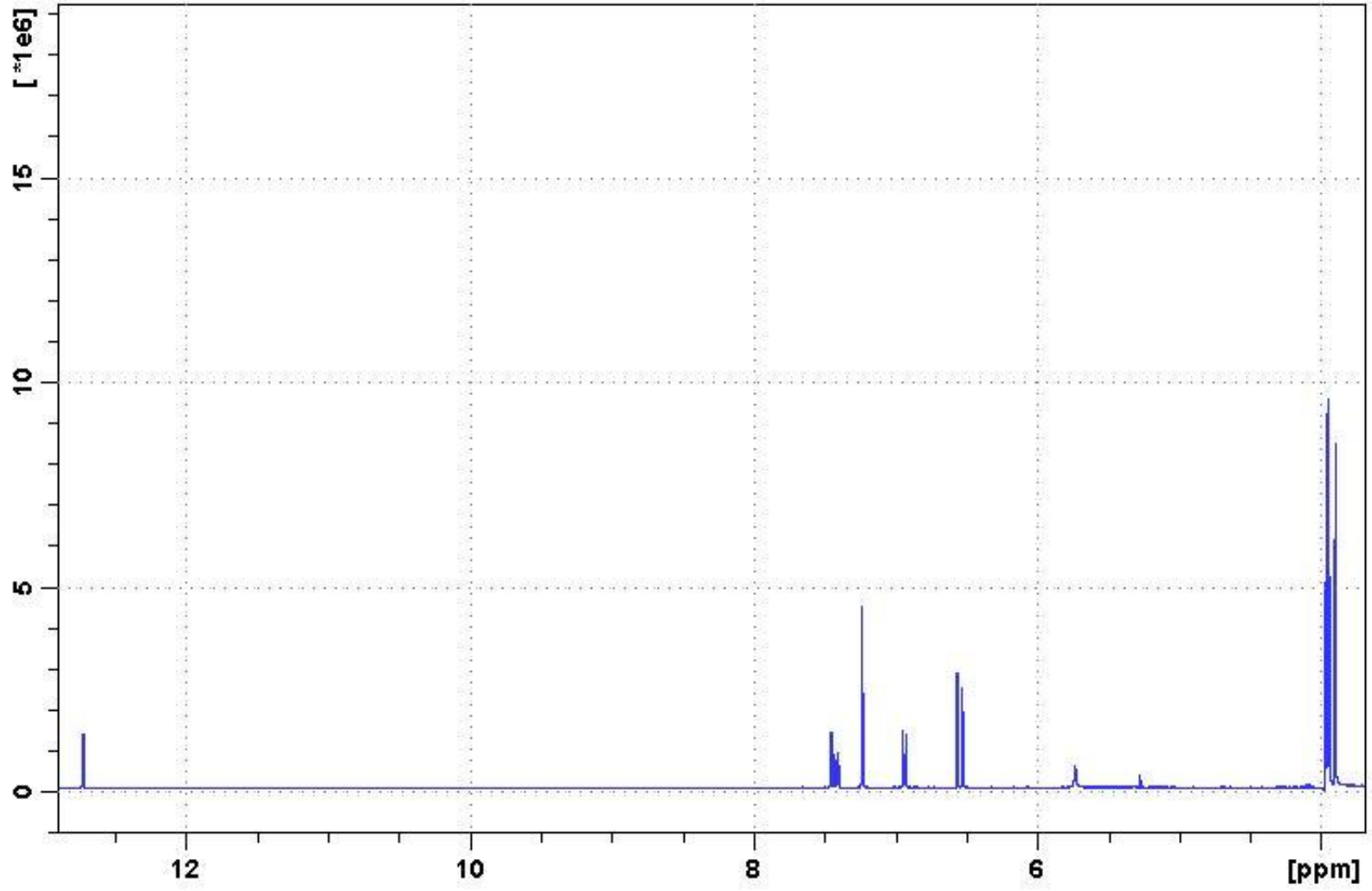
Tablo 23: AW30 Kodlu Bileşğin Kaydırıcı Ajanlarla Çekilmiş UV Spektrum Sonuçları

	Bant II			Bant I	
		λ_{max} (nm)	$\Delta\lambda$	λ_{max} (nm)	$\Delta\lambda$
MeOH		275		341	
NaOMe		276		395	+54
AlCl ₃		282	+7	361	+25
AlCl ₃ /HCl	254	285	+10	357	+21
NaOAc		276	+1	319, 376	
NaOAc/H ₃ BO ₃		277		340	+4

¹H NMR (CDCl₃, 400MHz): (Spektrum 33), Tablo 24

Tablo24: AW30 Kodlu Bileşğin ¹H NMR Bulguları

Konum	δ (ppm)	J (Hz)
H-3	6.53	s
H-8	6.57	s
H-2'	7.46	d (2.00)
H-5'	6.94	d (8.6)
H-6'	7.42	dd (2.4; 8.6)
OCH ₃	3.97	s
OCH ₃	3.95	s
OCH ₃	3.90	s



Spektrum 33: AW30 Kodlu Bileşiğe Ait ^1H NMR Spektrumu

2.2. Uçucu Bileşiklerin Saptanmasına Yönelik Çalışmalarda Elde Edilen Bulgular

A. wiedemanniana bitkisinin su distilasyonu ile elde edilen ve toluen içinde toplanan uçucu yağın GC/MS sistemine enjekte edilmesi ile bileşimi tespit edilmiştir. Buna göre *A. wiedemanniana* bitkisinden elde edilen uçucu yağın bileşimi ve yüzde miktarları tablo 25’de verilmiştir.

Tablo 25: *A. wiedemanniana* Bitkisinden Elde Edilen Uçucu Yağın Bileşimi ve % Miktarları

Relatif Retansiyon İndisi	Bileşik	%
1032	α -pinene	1.47
1035	α -thujene	0.13
1043	santholina triene	2.09
1076	camphene	0.46
1090	2-methyl propyl propionate	0.06
1093	hexenal	0.12
1100	isobutyl isobutyrate	tr
1118	β -pinene	1.39
1132	sabinene	0.53
1134	2-methyl butyl acetate	tr
1136	thuja-2,4(10)-diene	tr
1174	myrcene	0.06
1185	isobutyl 2-methyl butyrate	tr
1188	α -terpinene	0.17
1196	3-methyl butyl propionate	0.91
1198	3-methyl 2-methyl propyl butyrate (isobutyl isovalerate)	0.28
1200	2-methyl butyl isobutyrate	0.08
1203	limonene	0.28
1213	1,8-cineole	8.49
1220	<i>cis</i> -anhydro linalool oxide	tr
1232	(<i>E</i>)-2-hexenal	tr
1234	iso-chrysantenone	0.54
1244	2-pentyl furane	0.13
1255	γ -terpinene	0.34
1259	butyl isovalerate	tr
1266	(<i>E</i>)- β -ocimene	tr
1275	2-methyl butyl butyrate	tr
1280	<i>p</i> -cymene	1.21
1285	isoamyl isovalerate	tr
1286	2-methyl butyl 2-methyl butyrate	0.17
1294	1,2,4-trimethyl benzene	1.02
1296	octanal	0.05
1299	2-methyl butyl isovalerate	0.79

1355	1,2,3-trimethyl benzene	0.84
1393	(<i>Z</i>)-3-hexenyl propionate	0.06
1400	nonanal	0.39
1441	(<i>E</i>)-2- octenal	0.08
1451	filifolone	2.25
1452	1-octen-3-ol	0.27
1463	1-heptanol	0.08
1465	eucarvone	0.19
1474	<i>trans</i> -sabinene hydrate	0.22
1478	<i>cis</i> -linalool oxide	tr
1487	isonerol oxide-I	0.32
1496	2-ethyl hexanol	0.06
1499	α -campholene aldehyde	0.22
1506	decanal	0.17
1522	chrysanthenone	5.67
1532	camphor	1.72
1541	benzaldehyde	tr
1548	(<i>E</i>)-2-nonenal	0.10
1553	linalool	12.75
1571	<i>trans-p</i> -menth-2-en-1-ol	0.53
1586	pinocarvone	0.59
1590	bornyl acetate	0.36
1600	hexadecane	0.06
1601	β -elemene	0.21
1610	6-methyl 3,5-heptadien -2-one	tr
1612	β -caryophyllene	0.53
1618	terpinen-4-ol	1.32
1623	hotrienol	0.15
1630	4-terpinenyl acetate	0.07
1638	<i>cis-p</i> -menth-2-en-1-ol	0.49
1642	thuj-3-en-10-al	0.30
1648	myrtenal	0.30
1662	isobornyl propionate	0.16
1663	<i>cis</i> -verbenol	0.09
1670	<i>trans</i> -pinocarveol	0.18
1677	methyl chavicol	1.52
1683	<i>trans</i> - verbenol	0.67
1695	(<i>E</i>)- β -farnasene	0.22
1703	salicyl aldehyde	0.23
1706	α -terpineol	1.63
1719	borneol	2.97
1726	germacrene D	1.20
1741	β -bisabolene	tr
1742	β -selinene	0.38
1757	sesqui cineole	0.05
1758	<i>cis</i> -piperitol	0.52
1764	<i>cis</i> -chryzanthenol	2.59
1802	cuminaldehyde	0.41
1804	myrtenol	0.26
1820	isogeraniol	0.33
1827	(<i>E,E</i>)-2,4-decadienal	0.26
1845	<i>trans</i> -carveol	0.23
1857	geraniol	0.24
1865	isopiperitenone	0.75
1909	isobutyl phenyl acetate	0.06
1911	2-methyl butyl benzoate	0.09
1912	phenyl ethyl propionate	0.13

1958	(<i>E</i>)-beta-ionone	0.24
1992	2-phenylethyl-isovalerate	tr
2008	caryophyllene oxide	2.56
2071	humulene epoxide II	0.17
2084	octanoic acid	0.52
2096	elemol	0.14
2131	hexahydro-farnesylacetone	0.51
2144	Spathulenol	0.52
2179	3,4-dimethyl-5-penthylidene-2(5H)furanone	0.32
2185	nonanoic acid	0.31
2187	T-cadinol	0.24
2211	eremoligenol	0.77
2257	β -eudesmol	0.64
2299	decanoic acid	3.63
2300	tricosane	0.05
2316	caryophylladienol- I	0.22
2324	caryophylladienol- II	0.68
2389	caryophyllenol-I	0.15
2391	eudesmo-4(15)-7-dien-1- β -ol	0.11
2392	caryophyllenol-II	0.37
2500	pentacosane	tr
2503	dodecanoic acid	0.75
2596	1-octadecanol	tr
2600	hexacosane	0.10
2617	tridecanoic acid	0.15
2622	phytol	0.15
2688	(<i>Z</i>)-octadec-9-en-18-olide	0.04
2700	heptacosane	0.39
2710	tetradecanoic acid	1.77
2822	pentadecanoic acid	0.24
2900	nonacosane	tr
2931	hexadecanoic acid	6.09
	Toplam	88.07 %

3. BİYOLOJİK AKTİVİTE BÖLÜMÜ

3.1. Sitotoksik Aktivite Tayinine Ait Bulgular

A. wiedemanniana bitkisinden hazırlanan hegzan, etanol, etilasetat, metanol, kloroform, ve petrol eteri:dietileter:metanol (1:1:1) ekstralarının Brine shrimp sitotoksik aktivite yöntemiyle saptanan LC₅₀ değerleri bir tablo halinde verilmiştir (Tablo 26). Aktif olduğu bilinen Umbelliferon ve Kolşisin maddeleri standart olarak kullanılmış ve bu maddelere ait LC₅₀ değerleri de tablo 26’da verilmiştir.

Tablo 26: *A. wiedemanniana* Ekstrelerinin LC₅₀ Değerleri

Bitki adı	Bitki ekstraları	% verim	Konsantrasyon (ppm)	LC ₅₀
<i>Anthemis wiedemanniana</i>	n-Hegzan	% 1.76	1000:100:10	>1000
	Etilasetat	% 1.54	1000:100:10	>1000
	Etanol	% 4.55	1000:100:10	>1000
	Metanol	% 8.97	1000:100:10	>1000
	Kloroform	% 2.50	1000:100:10	>1000
	Petroleter:Dietileter: Metanol (1:1:1)	% 4.8	1000:100:10	>1000
Umbelliferon				377.02
Kolşisin				0.0009

Anthemis wiedemanniana bitkisinden hazırlanan ana ekstrenin sütun kromatografisi kullanılarak ayrılmış ana fraksiyonlarının uygun miktarda olanlarına uygulanan sitotoksik aktivite denemelerinin sonuçları Tablo 27’de verilmiştir.

Tablo 27: Ana Fraksiyonlara Uygulanan Sitotoksik Aktivite Denemelerinin Sonuçları

Fraksiyon No:	Konsantrasyon (ppm)	LC ₅₀
36-40	1000:100:10	243,3964
41-47	1000:100:10	>1000
61-68	1000:100:10	>1000
69-79	1000:100:10	>1000
80-89	1000:100:10	>1000
90-92	1000:100:10	>1000
93-104	1000:100:10	>1000
Umbelliferon	1000:100:10	377.02
Kolşisin	1000:100:10	0.0009

3.2. Mikrobiyolojik Aktivite Tayinine Ait Bulgular

3.2.1. Disk Difüzyon Metoduna Ait Bulgular

A. wiedemanniana, bitkisinden hazırlanan ana ekstreye ve elde edilen uçucu yağa uygulanan, disk difüzyon metoduna göre antimikrobiyolojik aktivite tayininin sonuçları Tablo 28’de verilmiştir.

A. wiedemanniana bitkisinin ana ekstresinden elde edilen fraksiyonlara uygulanan disk difüzyon metoduna göre antimikrobiyolojik aktivite sonuçları tablo 29’da verilmiştir.

Tablo 28: *A. wiedemanniana*, Bitkisinden Hazırlanan Ana Ekstrenin ve Uçucu Yağın Disk Difüzyon Metoduna Göre Antimikrobiyolojik Aktivite Tayininin Sonuçları.

Bakteriler	A. <i>Wiedemanniana</i> seskiterpen laktonektresi	A. <i>wiedemanniana</i> Uçucu yağı	C	N
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538/P	8	10	12	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	-	8	12	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 29998	8	9	15	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11230	7	11	16	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	8	8	22	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	-	10	11	-
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	-	-	13	-
<i>Salmonella typhimurium</i> CCM 5445	-	9	14	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10239	-	-	-	18

C: Cefotazidime

N: Nistatine

Tablo 29: *A. wiedemanniana* bikisinin ana ekstresinden elde edilen fraksiyonlara uygulanan disk difüzyon metoduna göre antimikrobiyolojik aktivite sonuçları.

TM ^a Fractions	SA	MRSA	EC	ML	BC	BS	STYP	PF	PV	SM	SE	EF	ECLO	EA	CA
21-30	6*	0 ^b	0	0	0	0	0	0	8	0	10	0	0	0	0
36-40	4 [±]	0	0	0	0	4	0	0	0	0	6	0	0	6 [±]	4
41-47	4 [±]	8	0	0	0	6	0	0	4	0	6	0	0	10 [±]	6
69-79	8 [±]	10	0	0	0	0	0	0	12	14	12	0	0	14 [±]	0
80-89	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
61-68	26	22	0	30	0	18	4[±]	16	26	8	28	8	12	12[±]	4
93-104	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	4
NC ^c	10	10	4	4	4	6	4	2	10	0	6	4	0	6	4
NV	32	34	6	28	25	13	40	20	26	6	26	28	22	17	-

SA: *Staphylococcus aureus*, MRSA: Methicillin resistans *Staphylococcus aureus*, EC: *Escherichia coli*, ML: *Micrococcus luteus*, BC: *Bacillus cereus*, BS: *Bacillus subtilis*, STYP: *Salmonella typhimurium*, PF: *Pseudomonas fluorescens*, PV: *Proteus vulgaris*, SM: *Serratia marcescens*, SE: *Staphylococcus epidermidis*, EF: *Enterococcus faecalis*, ECLO: *Enterobacter cloacae*, EA: *Enterobacter aerogenes*, CA: *Candida albicans*, NC: negatif kontrol, NV: Novobiocin (30mg/disc)

3.2.2. MIC ve MBC Metodlarına Ait Bulgular

A. *wiedemanniana* bitkisinin ana ekstresinin ayırımından elde edilen fraksiyonlar üzerinde disk difüzyon metoduyla yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmasında, yüksek aktivite gösteren 61-68 nolu fraksiyona uygulanan MIC ve MBC denemelerinin sonuçları Tablo 30’da verilmiştir.

Tablo 30: A. *wiedemanniana* Bitkisinin 61-68 nolu Fraksiyonuna Uygulanan MIC ve MBC Denemelerinin Sonuçları.

Fr No	61-68		Ampisilin	Gentamisin	Nistatin
Yöntem	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	(µg/ml)	(µg/ml)	(µg/ml)
SA ^a	130	180	18.0	6.0	-
MRSA	130	180	-	-	-
ML	120	160	8.0	2.0	-
BS	140	200<	-	-	-
PF	160	200<	-	-	-
PV	130	180	-	-	-
SE	140	200<	32	8.0	-
CA	-	-	-	-	2.0

SA: *Staphylococcus aureus* , MRSA: Methicillin resistans *Staphylococcus aureus*, EC:*Escherichia coli*, ML: *Micrococcus luteus*, BC: *Bacillus cereus*, BS: *Bacillus subtilis*, STYP: *Salmonella typhimurium*, PF: *Pseudomonas fluorescens*, PV:*Proteus vulgaris*, SM:*Serratia marcescens*,SE: *Staphylococcus epidermidis*, EF: *Enterococcus faecalis*, ECLO:*Enterobacter cloacae*, EA:*Enterobacter aerogenes*, CA:*Candida albicans*,

BÖLÜM V

TARTIŞMA

1. BOTANİK BÖLÜM

Çalışmamızda Türkiye’de endemik olarak yetişen 28 türden biri olan *Anthemis wiedemanniana* Fisch.&Mey. bitkisinin tayininde yardımcı olmak amacıyla, daha önce hiç bir botanik çalışmaya konu olmayan bitkiden hazırlanan alkol materyalinden yararlanılarak kök, gövde,yaprak ve çiçeğe ait anatomik karakterler belirlenmiştir.

Halk arasında tedavi amacıyla kullanılan bu bitkinin herhangi bir farmakopede bulunmadığını görmekteyiz, bu nedenle ileride yazılacak Türk farmakopesinde bulunması gerektiğine inandığımız droğun, muhtemel monografında bulunması gereken makroskobik, anatomik ve mikroskobik tariflere kaynak oluşturmak amacıyla drog örnekleri üzerinde bazı mikroskobik ve makroskobik çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

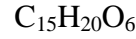
Yapılan çalışmalarda şu sonuçlara varılmıştır; hazırlanacak monografda yer alması gereken makroskobik karakterler herbaryum örnekleri üzerinde değil uygun şekilde hazırlanmış iyi bir drog üzerinde yapılmalıdır.Yukarıda saptanan bu hususlar yurdumuzun farklı bölgelerinde yetişen *A. wiedemanniana* bitkisinden toplanarak hazırlanacak olan Herba Anthemis Wiedemanniana örnekleri üzerinde yapılacak makroskobik ve mikroskobik çalışmalarla teyid edilebilir.

2. KİMYASAL BÖLÜM

2.1. İzolasyon ve Yapı Aydınlatma Çalışmaları

2.1.1. AW9 (İSOTANCİLOİDE)

3 α ,4 α -epoksi,1 α ,10 α -dihidroksi,2 β -hidroksi-4 β -metil-5 α ,7 α H-guai-11(13)-
en-12,6 α -olide



MA:296

H1 kodlu ana fraksiyonun 11. alt fraksiyonundan elde edilen 1.7 mg ağırlığındaki bileşiğe AW9 kodu verilmiştir.

AW9 bileşiğinin KBr tableti halinde alınan IR spektrumu incelendiğinde $\gamma_{maks}(KBr) \text{ cm}^{-1}$, 3430 bantının, -OH'i;1780 bantının (α , β -doymamış- γ -lakton)'nu; 1660 bantının yapıdaki doymamışlığı göstermekte olduğu görülmektedir (Spektrum 1).

Bileşiğin dötrometanolda çekilmiş 1H NMR spektrumunda (spektrum 2, Tablo 14), 6.18 (d; J:3.9 Hz) ve 5.42 (d; J:3.2 Hz) ppm'lerde gözlenen sinyaller, bize lakton halkasındaki ekzosiklik metilen protonlarının varlığını göstermektedir.

Bileşiğin 2D-HMQC spektrumu (Spektrum 3) incelenerek, moleküldeki protonlara ait karbon değerleri ve ekzosiklik metilen protonlarına ait karbon değerleri tespit edilmiştir (δ 118.8 ppm).

Bu veriye ilave olarak ^1H NMR spektrumunda aşağı alanda gözlenen δ 4.26; 4.15; 3.58 ppm'lerdeki sinyaller ve yine ^{13}C NMR spektrumunda aşağı alanda görülen δ_{C} 170.2; δ_{C} 81.4; δ_{C} 67; δ_{C} 66.8 ve δ_{C} 63.6 sinyalleri oksijence zengin bir seskiterpen lakton yapısı düşündürmektedir.

Yine bileşiğin ^1H NMR spektrumunda gözlenen spin sistemi bu bileşiğin gyanolid (guaian-6 α ,12-olide) tipi seskiterpen lakton grubuna ait olduğunu göstermektedir.

Bileşiğin 2D-COSY spektrumu alınarak, sahip olduğu hidrojenlerinin etkileşimleri hakkında daha fazla bilgi sağlanması mümkün olmuştur (Spektrum 4). Bu spektrumda δ_{H} 2.02 ve 1.62 ppm'de rezonans yapan metilen grubu hidrojenleri, diğer bir geminal çifti oluşturan δ_{H} 2.14 ve 1.68 ppm'deki sinyaller ile karşılıklı visinal etkileşimler göstermektedir (Tablo 14).

Bileşiğin yapısını aydınlatmak amacıyla yapılan çift dimensiyonlu NMR tekniklerinden biri olan HMQC deneyinde (Spektrum 3), $^1\text{J}_{\text{CH}}$ korelasyonlarının değerlendirilmesiyle hidrojenlerin üzerinde yer aldıkları karbonlarla eşleştirilmesi mümkün olmuştur (Tablo 14).

^1H NMR spektrumu incelendiğinde gyanolid halka yapısındaki lakton grubuna ait 6-H protonunun kimyasal kayması $\delta_{\text{H-6}}$ 4.26 ppm'de görülmektedir. Bu sinyal 10.9 Hz'lik bir etkileşme katsayısına sahiptir. Bileşiğin protonlarının birbiriyle etkileşmelerini görmek amacıyla alınan 2D-COSY spektrumuna bakıldığında (Spektrum 4) etkileşme katsayısı 10.9 Hz olan $\delta_{\text{H-6}}$ 4.26'daki sinyal ile $\delta_{\text{H-7}}$ 3.30 ppm'de multipler bölünme gösteren sinyalin korelasyonu ile bu etkileşme sabitlerinin değerleri de lakton halkasına bağlanan yedi üyeli halka sistemindeki bir trans ilişkiyi göstermektedir (208).

Yapı hakkındaki daha kesin bilgiler yine çift dimensiyonlu bir NMR tekniği olan HMBC deneyinin sonuçlarının yorumlanmasıyla elde edilmiştir (Spektrum 5, Tablo 14).

Bu sonuçlar, bileşiğin siklopentan halkasının, 1,2,3,4-tetra süstitüe olduğunu göstermektedir. Ayrıca δ_H 1.73 ppm'de görülen metil süstitüentinin $^1J_{CH}$ ve $^2J_{CH}$ korelasyonları, bu grubun δ_C 67 ppm'de rezonans yapan karbon atomuna bağlı ve δ_C 46.6'de rezonans yapan karbon atomuna ise komşu olduğunu göstermektedir.

Değerlendirilen HMBC deneyi sonucu molekülün protonlarına komşu karbon atomları tespit edilerek, yerleri saptanmıştır (Tablo 14).

Bileşiğin yapı aydınlatma çalışmalarına NOESY deneyi ile devam edilmiştir. (Spektrum 6). NOESY deneyi sonucunda H₂/H₃-14 arasında zayıf bir nOe etkileşmesi görülmüştür. Bileşiğin molekül modeli yapılarak H₂ ve H₃-14'ün uzaysal yakınlaşmaları sonucu yerlerinin saptanması mümkün olmuştur. Yine H₃/H₃-15 arasında gözlenen kuvvetli nOe etkileşmesi bu protonların molekülün aynı tarafında (β) yer aldığını göstermektedir.

Yapılan literatür araştırmalarında görülmüştür ki, sikloheptan halkasının sterokimyasal ve konformasyonel yapısının belirlenmesinde, bazı nOe korelasyonları çok önemlidir (208). Özellikle AW9 kodlu bu bileşikte H₆/Me-14 ve H₂/Me-14 arasında görülen nOe korelasyonları H₃-14 pozisyonunun β -(psödo) aksiyal olduğunu göstermektedir.

Elde edilen bu veriler AW9 kodlu bu bileşiğin seskiterpen laktonların bir alt grubu olan gayanolid iskeletine sahip olduğuna işaret etmektedir. Bu takdirde C₁₅H₂₀O₆ kapalı formülüne sahip olması gereken bileşik için hesaplanan molekül ağırlığı 296'dır.

Bileşğin EI-Kütle spektrumunda , moleküler iyon piki m/z $[M+1]^+$ 297'de çıkmaktadır ve 278 $[M-H_2O]^+$ (10), 281 $[M-CH_3]^+$ (1), 263 $[281-H_2O]^+$ (11) olarak gözlenen ara bölünmelere ilaveten 179 (51),132 (70), 121 (82), 109 (80), 95 (80), 80 (77), 69 (100) ve 57 (31) bölünmeleri görünmektedir.

Bileşğin yapısı hakkında yukarıda bahsedilen 1D ve2D NMR deneyleriyle elde edilen veriler ışığında yapılan literatür çalışmalarında AW9 kodlu bileşğin AW22 ve AW28 kodlu bileşikler gibi, epoksi yapısı içeren bir gayanolid halka sistemine sahip olduğu, diğer bileşiklerden (AW22 ve AW28) farklı olarak, bu bileşğin 3 α ,4 α epoksi yapısına sahip isotanciloide olduğu saptanmıştır.



Şekil 10: İsoanciloide Bileşğinin ^{13}C NMR Bulguları

Şekil 11: İsoanciloide Bileşğinin 1H NMR Bulguları

Spektroskopik analizlerden elde edilen bulguların değerlendirilmesiyle görülen açık kimyasal formül de isotanciloide yapısına işaret etmektedir.

Tarafımızdan saptanan tüm spektral bulgular, literatürle uyum içerisindedir ve yapıyı tamamen desteklemektedir.

Yapılan literatür çalışmalarında bu maddenin daha önce İran *Artemisia* türleri üzerinde yapılan bir çalışmada *Artemisia turcomanica* adlı bitkinin toprak üstü kısımlarından elde edildiği görülmüştür (5).

Ayrıca bu madde ülkemizde Öksüz S. tarafından *Tanacetum cilicium* bitkisinden de izole edilmiştir (153).

İsotanciloide isimli madde *Anthemis* türlerinde ilk kez çalışmamız sırasında izole edilmiştir. Bu nedenle isotanciloide, *Anthemis* genusu için yeni bir maddedir. Yapılan literatür çalışmalarında şimdiye kadar *Anthemis* genusunda epoksi yapısı içeren bir gayanolid halka sistemine rastlanmamıştır. Bu genusta 3 α ,4 α -epoksi grubu içeren bir gayanolid yapısının varlığı da ilk kez bu araştırmada bulunmuştur.

2.1.2. AW11 (SALVİGENİN)

5-Hidroksi-4',6,7-trimetoksi flavon

H1 kodlu ana fraksiyonun 13. alt fraksiyonundan elde edilen 0.7 mg ağırlığındaki bileşiğe AW11 kodu verilmiştir.

AW11 bileşiği, sarı renkli kristal halinde elde edildi. Gün ışığında ince tabaka kromatografisiyle incelendiğinde, sarı; plak üzerine amonyak püskürtüldüğünde koyu sarı renk görüldü.

Bileşiğin UV spektrumunda, gözlenen maksimum absorpsiyon bantları 330nm ve 276 nm'de gözlenmiştir. Bu λ_{max} 'lar flavanoitler için karakteristik olan absorpsiyon bantlarıdır. Flavanoitlerin, UV spektrumu yardımıyla yapı aydınlatılmasında kullanılan NaOMe, AlCl₃, AlCl₃/HCl, NaOAc, NaOAc/H₃BO₃ reaktifleri AW11 nolu bileşiğin sübtütisyonlarının saptanması amacıyla kullanılmıştır. Bu amaçla ,bileşiğin MeOH'deki çözeltisinin spektrumu alınmıştır. Daha sonra çözeltiliye AlCl₃ eklendiğinde bant I'de görülen batokromik kayma ve AlCl₃/HCl eklendiğinde meydana gelen 22 nm'lik batokromik kayma C-5 konumunda bir serbest hidroksil grubu varlığını, ayrıca C-6 konumunda bir sübtütisyonun bulunduğunu göstermektedir (125).

Bileşiğin MeOH'lü çözeltisine NaOMe eklenerek alınan spektrumda bant I'in şiddetinin, metanolle alınan spektrumdaki bant I'den düşük olması, 4' konumundaki hidroksil sübtütientinin serbest olmadığını belirtmektedir.

Yine çözeltiliye NaOAc eklenerek alınan spektrumda bant III'ün oluşmaması, 7 konumundaki hidroksilin serbest olmadığını göstermektedir.

Son olarak NaOAc ve NaOAc/H₃BO₃ eklenerek alınan spektrumlarda, metanolde alınan spektruma göre bir değişiklik olmaması, yapıda B halkasında o-dihidroksi gruplarının bulunmadığını kanıtlamaktadır.

Bileşiğin NMR spektrumlarına baktığımızda dötoro kloroformda alınan ¹H NMR spektrumunda (Spektrum 7) 12.76 ppm'de görülen singlet, C-5'de bir hidroksil

grubu varlığını göstermektedir (Tablo 15). Yine ^1H NMR spektrumunda δ_{H} 7.84, δ_{H} 7.82, δ_{H} 7.01 ve δ_{H} 6.93 ppm'lerde görülen sinyaller sırasıyla H-2', H-6', H-3' ve H-5' aromatik protonlarına sahip monosüstitüe benzen halkası yani, AA' BB' sistemindeki sinyal çifti, p-süstitüe B halkası için karakteristiktir.

Spektrumda δ_{H} 3.95 (s,3H), δ_{H} 3.91 (s,3H) ve δ_{H} 3.87 (s,3H) nm'lerde görülen singletler yapıda üç tane metoksil grubunun varlığını göstermektedir.

Bileşiğin çeşitli kaydırıcı ajanlarla çekilmiş olan UV spektrumları, ^1H NMR bulgularını desteklemiştir (125).

Elde edilen bulgulara dayanılarak bileşik AW11'in yapısı Salvigenin (Pisatirotol), (5-hidroksi-4',6,7-trimetoksi flavon) olarak aydınlatılmıştır. Bu bileşik pisatirotol adıyla da bilinmekte olup, daha önce izole edilen salvigenin'in spektral bulgularına uygunluk göstermektedir (10,105).

Şekil 12: Salvigenine Bileşiğinin ^1H NMR Bulguları

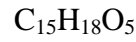
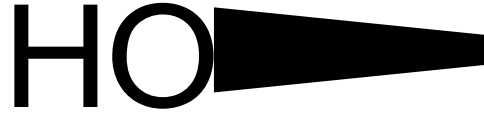
Yapılan literatür çalışmalarında salvigenin adlı bileşiğin daha önce pek çok bitkiden izole edildiği görülmektedir. Daha önce yapılarında salvigenin bulunan bitkiler, bir tablo halinde aşağıda verilmiştir (Tablo 31).

Tablo 31: Salvigenin İçeren Bitkiler

Bitki	Çalışılan kısım	Familya	Kaynak
<i>Anthemis maritima</i>	Toprak üstü	Asteraceae	(49)
<i>Astragalus brachystachys</i>	Belirtilmemiş	Geraniaceae	(105)
<i>Ballota glandulosissima</i>	Belirtilmemiş	Lamiaceae	(178)
<i>Callicarpa acuminata</i>	Yaprak	Verbanaceae	(10)
<i>Callicarpa acuminata</i>	Belirtilmemiş	Verbenaceae	(119)
<i>Centaurea cuneifolia</i>	Toprak üstü ve toprak altı	Compositae	(11)
<i>Centaurea cuneifolia</i>	Toprak üstü ve toprak altı	Compositae	(11)
<i>Coleus amboinicus</i>	Belirtilmemiş	Lamiaceae	(171)
<i>Hyptis urticoides</i>	Belirtilmemiş	Labiatae	(219)
<i>Inulathera nuda</i>	Toprak üstü	Asteraceae	(74)
<i>Jungia polita</i>	Toprak üstü	Compositae	(233)
<i>Lantana montevidensis</i>	Yaprak	Verbenaceae	(145)
<i>Limnophila gratissima</i>	Belirtilmemiş	Scrophulariaceae	(115)
<i>Lippia dulcis</i>	Toprak üstü	Verbenaceae	(151)
<i>Lippia multiflora</i>	Toprak üstü	Verbenaceae	(108)
<i>Montana tomentosa</i>	Toprak üstü	Asteraceae	(168)
<i>Nepeta species</i>	Yaprak	Lamiaceae	(102)
<i>Ocimum americanum</i>	Belirtilmemiş	Labiatae	(174)
<i>Ocimum basilicum</i>	Yaprak	Lamiaceae	(33)
<i>Ophryosporus charrua</i>	Toprak üstü	Asteraceae	(68)
<i>Orthosiphon stamineus</i>	Toprak üstü	Lamiaceae	(199)
<i>Ortosiphon stamineus</i>	Toprak üstü	Lamiaceae	(197)
<i>Phyllarthron madagascariense</i>	Belirtilmemiş	Bignoniaceae	(119)
<i>Salvia candidissima</i>	Toprak üstü	Labiatae	(206)
<i>Salvia chiopeplia</i>	Yaprak	Lamiaceae	(128)
<i>Salvia cyanescens</i>	Toprak üstü	Labiatae	(81)
<i>Salvia lanigera</i>	Belirtilmemiş	Lamiaceae	(35)
<i>Salvia officinalis</i>	Yaprak	Labiatae	(141)
<i>Salvia sahendica</i>	Toprak üstü	Labiatae	(142)
<i>Salvia sahendica</i>	Toprak üstü	Labiatae	(142)
<i>Salvia wiedemannii</i>	Toprak üstü	Labiatae	(207)
<i>Salvia triloba</i>	Yaprak ve dallar	Labiatae	(211)

Salvigenin *Anthemis* türlerinde *A.maritima*'dan sonra ikinci kez bizim çalışmamızda izole edilip, yapısı aydınlatılmıştır.

2.1.3. AW15 (İSO-SECOTANAPARTHOLİDE)



MA:278

H2 kodlu ana fraksiyonun 2. ve 3. alt fraksiyonlarından elde edilen 19.4 mg ağırlığındaki bileşiğe AW15 ve 0.5 mg ağırlığındaki bileşiğe AW14 kodu verilmiştir. Yapılan ön NMR çalışmalarında bu iki bileşiğin aynı maddeler olduğu görülmüştür. AW14 ve AW15 kodlu örnekler renksiz yağmsı bir görünüşte elde edilmiştir.

IR spektrumunda OH (3430 cm^{-1}), C-H (2924 cm^{-1}), C=O (1775 , 1740 ve 1680 cm^{-1}) ve C=C (1470 cm^{-1})'de absorpsiyon bantları içermektedir.

EI-MS spektrumunda moleküler iyon piki $[\text{M}]^+$ m/z 278'de, $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ fragmantasyon piki ise m/z 260'da görülmüştür.

^{13}C NMR spektrumunda, 15 karbon atom sinyali görülmüştür. EI-MS, ^{13}C ve ^1H NMR spektrumları (Spektrum 9) beraber değerlendirildiğinde molekülün $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_5$ kapalı formülüne sahip olduğu düşünülmektedir.

Molekülün ^1H ve ^{13}C NMR rezonansları, 2D NMR spektrumları [COSY (Spektrum 10), HSQC (Spektrum 11) ve HMBC (Spektrum 12)] yardımıyla yorumlanmıştır.

Bileşiğin ^1H NMR spektrumunda ilk göze çarpan , aşağı alanda bir adet AB sistem sinyali grubudur [δ_{H} 6.29 d (J:2.8 Hz) ve δ_{H} 5.64 d (J:2.8 Hz)].

2D-HSQC spektrumu yardımıyla bu protonlara ait karbonlar tespit edilerek, bu sistemin bir ekzosiklik çift bağın metilen grubundan kaynaklandığı anlaşılmaktadır (δ_{C} 122.9).

Moleküldeki fonksiyonel grupların ve katerner karbonların yerlerini tespit etmek üzere heteronükleer uzak mesafe ilişkilerinin belirlendiği HMBC (Spektrum 12) spektrumundan yararlanılmıştır.

Bileşiğin gerek ^1H NMR, gerekse 2D- NMR spektrumları değerlendirildiğinde ve de 2D-COSY spektrumu incelenerek molekülün içindeki spin sistemleri saptandığında, diğer incelenen üç bileşikten (AW28, AW22 ve AW9) farklı bir guanolid yapısına sahip olduğu anlaşılmaktadır.

^1H NMR spektrumunda gözlenen ekzosiklik metilen grubu dışında, belirgin olarak gözlenen iki metil grubunun protonları $\delta_{\text{H}-14}$ 2.16 ve $\delta_{\text{H}-15}$ 2.13 ppm'de tespit edilmişlerdir. HSQC deneyi sonucunda bu protonların sırasıyla oldukça yukarı alanda yer alan (δ_{C} 29.9 v δ_{C} 14) karbon atomları üzerinde yer aldığı görülmektedir. HMBC deneyinde de bu protonların sırasıyla $\delta_{\text{C}-10}$ 207.0 ve $\delta_{\text{C}-4}$ 171.6 karbonlarıyla korelasyonu, seko-gayanolid yapısını desteklemektedir.

Yine IR absorpsiyonları [1773, 1696 cm^{-1}], γ lakton sistemi oluşumlu iki karbonil karbonunu göstermektedir. Bileşiğin ^{13}C -NMR ve HSQC spektrumlarında da iki olefinik karbon $\delta_{\text{C}-4}$ 171.6 ve $\delta_{\text{C}-5}$ 138.9 sinyali görülmektedir. 2D NMR

(HMBC ve COSY) denemeleri beraber değerlendirildiğinde bu karbonların yerleri kesinlik kazanmıştır.

2D-COSY spektrumunun değerlendirilmesiyle saptanan etkileşmelerden özellikle H-6 ve H-7 etkileşmesinin karşılıklı olması ve de H-7'nin H-8'le etkileşmesi seko-gayanolid halka yapısı için karakteristiktir (3).

Yapı hakkında daha kesin bilgiler, HMBC spektrumuyla sağlanmıştır. 2 ve 3 bağ aracılığıyla ($^2J_{C-H}$, $^3J_{C-H}$) hidrojen- karbon korelasyonlarının saptandığı, HMBC spektrumunun değerlendirilmesiyle ekzosiklik metil protonlarından biri olan δ_{H-13a} 6.29 sinyali sırasıyla δ_{C-7} 42.9 ve δ_{C-12} 169.6 ile $^3J_{CH}$, δ_{C-11} 137.7 ile $^2J_{CH}$ korelasyonları ekzosiklik metilen grubu taşıyan doymuş γ lakton halkasını oluşturan karbonların kimyasal kayma değerlerinin yerleşmelerine olanak sağlamıştır. Buna ilaveten δ_{2a} 2.81 ve δ_{2b} 2.32 ppm'deki sinyaller δ_{C-1} 202.4 ve δ_{C-3} 71.5 ile $^2J_{CH}$ korelasyonu göstermektedir. δ_{H-15} 2.13'deki metil sinyalinin δ_{C-4} 171.6 ile $^2J_{CH}$ korelasyonu göstermesi, doymamış siklopentenil yapısının karbonlarının kimyasal değerlerinin yerleştirilmesine olanak sağlamıştır. Yine HMBC denemesi 7. karbondan bağlı bütülon halkasındaki karbonların kimyasal kayma değerlerinin yerleştirilmesinde kolaylık sağlamıştır.

Sonuç olarak bileşiğin sekogayanolid yapısında olan iso-secotanapartholide olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre bileşiğin molekül yapısı literatür verileri ile de doğrulanmıştır(88,176).

Yapılan literatür çakışmalarında daha önce bileşiğin izole edildiği bitkiler, Tablo 32'de verilmiştir.

Şekil 13: İso-secotanapartholide Bileşiğinin ^{13}C NMR Bulguları

Şekil 14: İso-secotanapartholide Bileşiğinin ^1H NMR Bulguları

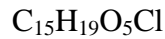
Tablo 32: İso-secotanapartholide içeren bitkiler.

Bitki	Çalışılan Kısım	Familya	Kaynak
<i>Achillea ligustica</i>	Toprak üstü	Compositae	(3)
<i>Artemisia iwayomogi</i>	Belirtilmemiş	Compositae	(88)
<i>Eupatorium capillifolium</i>	Yaprak	Compositae	(176)
<i>Artemisia anomala</i>	Toprak üstü	Compositae	(101)
<i>Artemisia turcomanica</i>	Toprak üstü	Compositae	(5)
<i>Artemisia lucentica</i>	Toprak üstü	Compositae	(130)
<i>Achillea clusiana</i>	Toprak üstü	Compositae	(204)

Tabloda da görüldüğü üzere iso-secotanapartholide bileşiği de *Anthemis* genusunda ilk defa tarafımızdan izole edilmiştir. Bu nedenle *Anthemis* genusu için yeni bir madde olarak literatüre geçmiştir. Ayrıca *Anthemis* genusunda gayanolid alt grubundan sekogayanolid halka sistemine sahip bir bileşik ilk kez bu çalışmada izole edilip, yapısı aydınlatılmıştır. İso-secotanapartholide hem genus hem de tür için yeni bir maddedir.

2.1.4. AW22 (3 α -kloro-4 β ,10 α -dihidroksi-1 β ,2 β epoksi-5 α ,7 α H-gaya-11(13)-en-12,6 α -olide)

$$[\alpha]_D^{22}: -24.8 \text{ (CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH (95:5))}$$



MA:314

H3 kodlu ana fraksiyonun 8. alt fraksiyonundan elde edilen 7.7 mg ağırlığındaki bileşiğe AW22 kodu verilmiştir. AW22 kodlu bileşik beyaz renkli, amorf yapıda bir bileşiktir. İnce tabaka kromatografisinde, gün ışığında ve UV ışık altında açık kahverengi bir leke vermektedir. Serik sülfat belirteci püskürtülerek yakıldığında koyu kahverengine dönmektedir.

Bileşğin kloroform çözeltisi halinde NaCl plakları arasında alınan IR spektrumunda ($\gamma_{\text{maks}}(\text{CHCl}_3) \text{ cm}^{-1}$): 3430 (OH), 1780 (α,β -doymamış γ -lakton), 1660'daki sinyal ise yapıdaki doymamışlığı belirtmektedir (Spektrum 13).

Bileşğin HR-ESI kütle spektrumunda m/z 337.1075 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ve 339.1049 $[\text{M}+\text{Na}+2]^+$ 'de gözlenen iki iyon piki, molekülün bir klor atomu taşıdığına işaret etmektedir. Aynı spektrumda m/z 651.1981 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ ve 653.1879 $[2\text{M}+\text{Na}+2]^+$ iyon pikleri yardımıyla bileşğin molekül formülü $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{O}_5\text{Cl}$ olarak bulunmuştur. ($\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{O}_5\text{Cl}$ için hesaplanan molekül ağırlığı 314'dür.)

Bileşğin ^1H NMR spektrumunda ilk göze çarpan, aşağı alanda görülen bir adet AB sistem sinyal grubu olmuştur [δ 6.16d (J:3.9 Hz) ve δ 5.43d (J:3.5 Hz)]. (Spektrum15)

2D- HSQC spektrumu (Spektrum 16) yardımıyla bu protonlara ait karbon atomları tespit edilerek, multiplisiteleri ^{13}C spektrumu ile saptandığında (Spektrum 18), bu sistemin, bir ekzosiklik çifte bağın metilen gruplarından kaynaklandığı görülmektedir (δ_{C} 119.3).

Bu verilerle beraber ^1H NMR spektrumunda aşağı alanda gözlenen diğer sinyaller δ_{H} 4.08 ppm, 4.35 ppm ve ^{13}C NMR spektrumunda aşağı alandaki δ_{C} 169.9; δ_{C} 140.2; δ_{C} 79.6; δ_{C} 78.4; δ_{C} 72.9; δ_{C} 71.8 sinyalleri, bileşğin oksijence zengin bir seskiterpen lakton olduğunu düşündürmektedir.

^1H NMR spektrumunda görülen spin sistemi AW22 kodlu bileşğinin gyanolid (guaian 6α -12-olide) tipi seskiterpen lakton grubuna ait olduğunu ortaya koymaktadır.

Bileşğin ^1H NMR spektrumunda, aşağı alanda δ_{H} 4.35 ppm'de gözlenen ve 10.9 Hz'lik etkileşme katsayısına sahip protonun H-6'ya ait olduğu tahmin edilmektedir. Bu duruma kesinlik kazandırmak için, bileşğın 2D-COSY spektrumu

alındı (Spektrum 17, Tablo 18). 2D-COSY spektrumunda δ_H 4.35 ppm'deki proton sinyalinin δ_H 3.57 ppm'deki sinyal ile korelasyonunun olduğu görüldü ve bu korelasyonun etkileşme sabitleri de bu değerlerin lakton halkasının yedi üyeli halka sistemindeki bir trans ilişkiye ait olduğunu ispatladı. Bu da bileşiğin gayanolid halka sistemine sahip olduğunu kanıtlayan önemli bir bilgidir.

Yine 2D-COSY spektrumunda, aşağı alanda görülen δ_H 3.85 ppm'deki sinyalin herhangi bir korelasyonunun görülmemesi ve HMQC spektrumunda δ_C 63.3 ppm de sinyal veren karbona bağlı olması, ayrıca 2D-HMBC spektrumunda (Spektrum 19), bu protonun $^2J_{C-H}$, δ 79.6 ile korelasyonunun desteğiyle bu sinyalin bir epoksit grubuna bağlı olan karbon atomundaki proton sinyali olduğunu bize göstermektedir.

Bileşiğin NOESY spektrumu da bu veriyi doğrulamaktadır (Spektrum 20). Yine epoksi gayanolidlerle ilgili literatür taramalarında görülmüştür ki 1,2 epoksi gayanolid yapısına sahip bileşiklerin ^{13}C NMR ve 1H NMR spektrumlarındaki kimyasal kayma değerlerinin belirlenmesi, gayanolid halkasının sterokimyasal yapısı için belirleyici olmaktadır. Literatürde belirtildiği üzere δ_{H5} 2.82 ppm'de sinyal veren H-5 protonunun, HSQC spektrumundaki δ_{C5} 49.9 ppm'de sinyal veren karbon üzerinde yer alması, bu epoksi türevinin, gayanolid halka yapısında $1\beta,2\beta$ konumunda olduğunu kanıtlamaktadır (208).

Bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunda 15 karbon atomu gözlenmesi ve HSQC'de bu karbon sinyallerinin, hangi protona bağlı olduğu tespit edilerek, yapının aydınlatılması mümkün olmuştur (Tablo 18)

Yapı hakkındaki bilgilerin kesinleşmesi, HMBC deneyinden elde edilen veriler yardımıyla sağlanmıştır (Tablo 18). HMBC spektrumunda, iki ve üç bağ aracılığıyla karbon hidrojen korelasyonlarını görebilmek mümkün olmuştur. HMBC spektrumu

ile bu bileşiğin konfigürasyonel özelliklerinin kanıtlanmasında NOESY deneyinden yararlanılmıştır (Spektrum 20).

NOESY spektrumunda H₃-15 ve H₅ protonlarının sinyalleri arasında güçlü nOe korelasyonunun görülmesi, bu protonların molekülün aynı tarafında ve α konumunda yer aldıklarını göstermektedir. H₃-15'in, H₃ ile görülen nOe korelasyonunun, H₃-15 /H₅'e göre çok daha zayıf olması, H₃-15 /H₅'in cis ve H₃-15/ H₃'ün trans konumlarında olduğunu göstermektedir. Bu da 4. konumdaki metil sübstitüentinin α konumunda, hidroksilin β konumunda ve 3. karbondaki bulunan klorürün α konumunda olduğunu doğrulamaktadır.

Bileşiğin yapısı hakkında yukarıda bahsedilen 1D ve 2D NMR deneyleri sonucu elde edilen veriler ve HR-MS sonuçlarına bakıldığında, bileşiğin 3 α -chloro-4 β ,10 α -dihidroxy-1 β ,2 β epoxy-5 α ,7 α H-guai-11(13)-en-12,6 α -olide olduğu bulunmuştur. Ayrıca, yapılan literatür çalışmalarında daha önce izole edilmiş bu bileşiğin spektrum bulguları incelendiğinde yapının 3 α -chloro-4 β ,10 α -dihidroxy-1 β ,2 β epoxy-5 α ,7 α H-guai-11(13)-en-12,6 α -olide olduğu kesinlik kazanmıştır.

Bu bileşikle ilgili literatürlere baktığımızda, bu bileşiğin daha önce sadece *Achillea clavennae* bitkisinden izole edildiği görülmüştür (209).

Klorhidrinler yapısındaki bu epoksi gyanolid *Anthemis* genusunda, ilk kez bizim tarafımızdan izole edilmiştir. Bu bileşik genus seviyesinde yeni bir bileşik olup, *Anthemis* genusunda bulunuşuna ait bilgi, ilk defa bu araştırmada verilmiştir.

Şekil 15: 3 α -chloro-4 β ,10 α -dihidroxy-1 β ,2 β epoxy-5 α ,7 α H-guai-11(13)-en-12,6 α -olide Bileşğine Ait ^{13}C NMR Bulguları

Şekil 16: 3 α -chloro-4 β ,10 α -dihidroxy-1 β ,2 β epoxy-5 α ,7 α H-guai-11(13)-en-12,6 α -olide Bileşğine Ait ^1H NMR Bulguları

2.1.5. AW 24 (5-Hidroksi-6,7,3',4'-tetrametoksiflavon)

H3 kodlu ana fraksiyonun 16. alt fraksiyonundan elde edilen 2.4mg ağırlığındaki bileşiğe AW 24 kodu verilmiştir. AW24 bileşiği sarı renkli amorf bir madde olarak elde edildi. Bileşik gün ışığında İTK plağında incelendiğinde sarı renkli bir leke vermektedir. Plak üzerine amonyak püskürtüldüğünde belirgin bir koyu sarı renk meydana gelmektedir.

AW24 bileşiğinin UV spektrumunda gözlenen absorpsiyon bantları (λ_{maks} 279, 338 nm) flavonlar için karakteristiktir.

Bileşiğin metanoldeki çözeltisine NaOMe eklendiğinde bant I'in pik şiddetinde, MeOH spektrumuna göre görülen azalma ile gözlenen +31 nm'lik batokromik kayma, bileşiğin 4' konumunda hidroksil olmadığını göstermektedir.

Metanollü çözeltiye sırasıyla AlCl_3 ve AlCl_3/HCl ilavesiyle, bant I'de oluşan +27 ve +22 nm'lik batokromik kaymalar , B halkasında bir o-dihidroksi sisteminin olmadığını göstermektedir (125). Çözeltiye NaOAc/ H_3BO_3 eklenerek alınan spektrumda, bant I'de gözlenen +2 nm'lik batokromik kayma bu durumu doğrulamaktadır.

Ayrıca AlCl_3/HCl ilavesiyle alınan spektrumda, bant I'de gözlenen +22 nm'lik kayma C-6 konumunda oksijenli bir fonksiyon olduğunu göstermektedir.Yine çözeltiye NaOAc ilavesiyle alınan spektrumda bant II'de gözlenen -2 nm'lik bir

hipokromik kayma C-6 konumunun yanında yani C-7 konumunda da oksijenli bir grup bulunduğunu belirtmektedir (125).

IR spektrumunda OH (3278 cm^{-1}), γ piron karbonili (1655cm^{-1}) ve aromatik halka ($1506, 1562, 1605\text{ cm}^{-1}$) varlığından kaynaklanan absorpsiyon bantları gözlenmiştir.

Bileşiğin ^1H NMR spektrumunu incelediğimizde, (Tablo 20, Spektrum 21), aromatik sahada δ_{H} 7.50 (dd, J:2.06; 8.6 Hz, H-6'), 7.32 (d, J:2.36 Hz, H-2') ve 6.96 (d, J:8.6 Hz, H-5')'de gözlenen üç aromatik proton sinyallerinin değişmezlik katsayılarına baktığımızda sırasıyla meta ve orto kenetlenme gösterdiği ve B halkasının 3', 4' disüstitüe olduğu anlaşılmaktadır.

Diğer taraftan aşağı alanda görülen δ_{H} 6.59'daki bir proton değerindeki singlet, H-8'e aittir. Buna bağlı olarak aromatik sahada bu sinyale göre daha yukarı alanda görülen δ_{H} 6.54'deki bir proton değerindeki singlet, C halkasının H-3 konumuna oturmaktadır.

Ayrıca δ_{H} 3.97 (s,3H), 3.96 (s,3H), 3.95 (s,3H) ve 3.91 (s,3H)'de görülen sinyaller, metoksil gruplarına ait tipik sinyallerdir.

AW24 bileşiğinin, kaydırıcı reaktifler ilavesiyle çekilen UV spektroskopik değerlerinin sonuçları ile ^1H NMR spektrumlarının değerlendirilmesi sonucu metoksil gruplarının C-3', C-4', C-6 ve C-7 pozisyonlarında yer aldığı tespit edilmiştir.

Tablo 19: AW24 Kodlu Bileşğin Kaydırıcı Ajanlarla Çekilmiş UV Spektrum Sonuçları o: omuz

	Bant II			Bant I		Yorum
		λ_{\max} (nm)	$\Delta\lambda$	λ_{\max} (nm)	$\Delta\lambda$	
MeOH	241o,251o	279		338		Flavonoit
MeONa	241o,251o	276		396	+31	4'-OH yok
AlCl ₃	262	282	+3	365	+27	5-OH
AlCl ₃ /HCl		282	+3	360	+22	o-dihidroksi yok 6-OCH ₃
NaOAc		277	-2	365		7-OH yok
NaOAc/H ₃ BO ₃		278		340	+2	o-dihidroksi yok

Şekil 17: 5-Hidroksi-6,7,3,4'-tetrametoksiflavon Bileşğine Ait ¹H NMR Bulguları

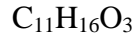
Sonuçlar esas alınarak AW24 kodlu bileşğin yapısı, 5-Hidroksi-6,7,3,4'-tetrametoksiflavon olarak aydınlatılmıştır.

Bu bileşik daha önce, *Sideritis cystosiphon* (73), *Salvia cardiophylla* (78), *Citrus kinokuni* (99), *Centaurea grisebachii* (60), *Achillea falcata* (42), *Melicope semecarpifolia* (47), *Bellaedia trixago* (17), *Sideritis incana* (121) türlerinden izole edilmiştir. Yapısı aydınlatılan bileşik daha önce izole edilen bileşikle tamamen uyumludur.

5-Hidroksi-6,7,3,4'-tetrametoksiflavon, *Anthemis* genusu için yeni bir bileşik olup, ilk kez bu araştırmada *A. wiedemanniana*'dan izole edilerek, literatürde yerini almıştır.

2.1.6. AW27 LOLİOLİDE (Calendin)

Tetrahydro-2(4H)-benzofuranone



MA:196

H4 kodlu ana fraksiyonun 9. alt fraksiyonundan elde edilen 10.3 mg ağırlığındaki bileşiğe AW27 kodu verilmiştir.

Bu bileşik, kloroformda çözünebilen renksiz yağ görünümüne sahip bir bileşiktir. Kloroformda alınan IR spektrumuna bakıldığında, 3500 cm^{-1} 'de hidroksil grubu, 1745 cm^{-1} 'de lakton karbonili ve 1645 cm^{-1} 'de doymamışlık gözlenmektedir.

Dötoro kloroformda alınan 1H NMR spektrumu incelendiğinde, aromatik bölgede rezonans göstermediği görülmektedir (Spektrum 22). Olefinik bölgede, bir metin grubuna ait sinyal ile aşağı alanda δ_H 4.31 ppm'de gözlenen sinyal bulunmaktadır. Bu sinyalin değeri, ait olduğu protonun geminalinde hidroksil gurubunun bulunduğunu düşündürmektedir. Spektrumda yine yukarı alanda, birbiriyle geminal iki metilen protonu ve üç sinyale karşı gelen üç metil protonu bulunmaktadır.

1H NMR spektrumu incelendiğinde δ_H 2.43 ve δ_H 1.76 arasında J:14 Hz'lik geminal etkileşim ve yine δ_H 1.95, δ_H 1.52'de J:14.8 Hz'lik geminal etkileşme gösteren iki AB sisteminde iki çift proton tespit edilmektedir.

Bileşğin protonlarını taşıyan karbonlarını tespit etmek amacıyla HSQC spektrumu çekilmiştir (Spektrum 23). Bu spektruma ait bulgular tablo 21’de verilmiştir. Spektrum incelendiğinde, ^1H NMR spektrumunda geminal bölünme gösteren iki AB sistemi protonlarının δ_{C} 45.6 ve δ_{C} 47.5 ppm’deki karbonlara bağlı olduğu görülmektedir. δ_{H} 5.68 ppm’deki olefinik protonun, δ_{C} 113.2’deki karbona ayrıca yukarı alandaki δ_{H} 1.45 ve δ_{H} 1.25 ppm’de görülen metil gruplarının da δ_{C} 35.9’deki karbonlara bağlı olduğu tespit edilmiştir. Yani bu iki metil grubunda aynı karbona bağlı olduğu anlaşılmıştır.

Moleküldeki fonksiyonel grupların ve katerner karbonların yerlerini tayin etmek üzere alınan HMBC spektrumu incelendiği zaman (Spektrum 24), yukarı alanda görülen olefinik protonun δ_{H} 5.68 ppm’deki sinyali, aşağı alanda görülen δ_{C} 172.0’da rezonans gösteren karbonil karbonuna ait sinyal ile $^2\text{J}_{\text{CH}}$ korelasyon göstermektedir. $\delta_{\text{H}11}$ 1.25 ppm’deki metil rezonansı 4. konumdaki karbon ile $^3\text{J}_{\text{CH}}$, beşinci konumdaki karbon ile $^2\text{J}_{\text{CH}}$ ve altıncı konumdaki karbon ile $^3\text{J}_{\text{CH}}$ korelasyon göstermektedir. Bileşğin 2D- NOESY spektrumuna bakıldığında (Spektrum 25), bu metil rezonansının H-7’deki en az korunan δ_{H} 5.68 ppm’deki sinyal ile tek korelasyon göstermesi, $\delta_{\text{H}11}$ 1.25’deki protonun, moleküle göre ekvatoryal bir pozisyonda olduğunu kanıtlamaktadır.

2D-COSY deneyinde δ 4.31’deki sinyalin , AB sistemindeki iki metilen proton çiftiyle etkileşmesi, spektrumun aşağı bölgesinde yer alan ve hidroksil fonksiyonuna geminal olan H-3’e ait olduğunu göstermektedir. Ayrıca bu protonun, AB sistemi içinde olan geminal protonlara ve diğer taraftan ise diğer AB sistemine ait olan geminal protonlara komşu olan metin protonu olduğunu ifade etmektedir.

2D-NOESY deneyinde $\delta_{\text{H-7}}$ 5.68’deki rezonansın, metil grubuna ait olan δ_{H} 1.25 sinyali ile korelasyonu bu protonların aynı uzaysal düzlemde olduğunu; $\delta_{\text{H-11}}$

1.76'deki metil rezonansının da δ_{H-9} 1.25'deki metil rezonansının da aynı konumda (α) olduğunu göstermektedir.

EI-MS'de m/z 196 molekül ağırlığına sahip olan bu maddenin kapalı formülü $C_{11}H_{16}O_3$ 'dür.

AW27 kodlu bileşiğin 1D ve 2D-NMR deneylerinin verilerinin değerlendirilmesi, bu bileşiğin nor isoprenoid yapısına sahip Loliolide (Calendin) olduğunu ispatlamaktadır.

Şekil 18: Loliolide Bileşiğinin ^{13}C NMR Bulguları

Şekil 19: Loliolide Bileşiğinin 1H NMR Bulguları

Yapılan literatür çalışmaları sonucunda, daha önce bileşiminde loliolide bulunan bitkiler tespit edilmiş ve bir tablo halinde aşağıda verilmiştir.

Tablo 33: Loliolide İçeren Bitkiler

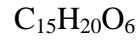
Bitki	Çalışılan kısım	Familya	Kaynak
<i>Acanthosyris paulo-alvinii</i>	Yaprak	Santalaceae	(46)
<i>Alchornea glandulosa</i>	Yaprak	Euphorbiaceae	(50)
<i>Anthemis melanolepsis</i>	Toprak üstü	Asreraceae	(182)
<i>Bunias orientalis</i>	Toprak üstü	Brassicaceae	(59)
<i>Calendula officinalis</i>	Belirtilmemiş	Asteraceae	(227)
<i>Carpesium macrocephalum</i>	Toprak üstü ve toprak altı	Compositae	(111)
<i>Centaurea alba</i>	Toprak üstü	Compositae	(69)
<i>Centaurea aspera</i>	Toprak üstü	Asteraceae	(131)
<i>Eirmocephala megaphylla</i>	Toprak üstü	Compositae	(37)
<i>Eucommia ulmoides</i>	Yaprak	Eucommiaceae	(149)
<i>Helianthus laetiflorus</i>	Yaprak	Asteraceae	(136)
<i>Hydrilla verticillata</i>	Belirtilmemiş	Hydrocharitaceae	(229)
<i>Macaranga triloba</i>	Yaprak	Euphorbiaceae	(103)
<i>Onoseris alata</i>	Toprak üstü	Asteraceae	(86)
<i>Pellia epiphylla</i>	Toprak üstü	Pelliaceae	(55)
<i>Ptercarpus indicus</i>	Yaprak	Leguminosae	(170)
<i>Rhaponticum serratuloides</i>	Toprak üstü	Compositae	(21)
<i>Rollinia emarginata</i>	Belirtilmemiş	Annonaceae	(7)
<i>Rosa laevigata</i>	Toprak üstü	Rosaseae	(67)
<i>Rosa taiwanensis</i>	Kök ve toprak üstü	Rosaceae	(232)
<i>Salvia divinorum</i>	Belirtilmemiş	Lamiaceae	(157)
<i>Stevia grisebachiana</i>	Toprak üstü	Compositae	(185)
<i>Sida acuda</i>	Toprak üstü ve toprak altı	Malvaceae	(104)
<i>Vallisneria spiralis</i>	Yaprak	Hydrocharitaceae	(166)
<i>Veronica parsica</i>	Yaprak ve dallar	Scrophulariaceae	(181)
<i>Viburnum dilatatum</i>	Toprak üstü	Caprifoliaceae	(126)

Loliolide ayrıca denizlerde yaşayan kahverengi yosunların da içeriklerinde bulunmaktadır (6,89,112).

Loliolide *Anthemis* türlerinden sadece *A.melanolepsis*'den izole edilmiş olup, bu çalışmada, bu maddenin *Anthemis* türlerinden ikinci kez elde edildiği görülmektedir.

2.1.7. AW28 (1 β ,2 β -epoksi-3 β ,4 α ,10 α -trihidroksigayanolid)

$$[\alpha]_D^{20}: +24 \text{ (MeOH; C:0.10)}$$



MA:296

H4 kodlu ana fraksiyonun 12. alt fraksiyonundan elde edilen 11.3 mg ağırlığındaki bileşiğe AW28 kodu verilmiştir.

AW28 kodlu bileşik ince tabaka kromatografisine uygulanıp UV ışık altında incelendiğinde koyu mor renkte bir leke vermektedir. Plağa serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında koyu pembe kırmızı bir renge dönüşmektedir.

Bileşiğin KBr tableti halinde alınan IR spektrumu incelendiğinde $[\gamma_{\max} \text{ (KBr)} \text{ cm}^{-1}]$, 3400 (OH), 1780 (α,β -doymamış- γ -lakton), 1680'de doymamışlık bantları gözlemlendi.

Bileşik CI-MS'de 297 $[M+1]^+$ (20), 269 $[297-H_2O]^+$ (19), 57 (100) ve EI-MS'de 296 $[M]^+$ (3), 281 $[M^+-Me]$ (11), 278 $[M^+-H_2O]$ (22), 57 (100) parçalanmalarını göstermektedir.

Bileşiğin dötörokloroformda alınan 1H NMR spektrumunda H-13 protonları 6.18 (d, J:3.5 Hz), ve 5.47 (d, J:3.1 Hz) ppm'lerde çıkmaktadır. Spektrumda ilk göze çarpan aşağı alanda gözlenen bir AB sistem sinyali olmuştur (Spektrum 27, Tablo 22). Spektrumda bu lakton halkasındaki ekzosiklik metilen protonlarının dublet halinde ve birbirine yakın kimyasal kayma değerlerine sahip olması C-8'de alfa konumunda bir hidroksil grubu varlığının söz konusu olmadığını göstermektedir.

2D-HMQC spektrumu (Spektrum 28) yardımıyla, bu protonlara ait karbonlar tespit edilmiştir. Atomların multiplisitesi DEPT 135 spektrumu ile saptandığında (Spektrum 30), bu AB sisteminin bir ekzosiklik çifte bağın metilen grubundan kaynaklandığı doğrulanmaktadır (δ_C 119.9). Bu veriye ilave olarak, 1H NMR spektrumunda aşağı alanda görülen δ_H 4.85 ppm'deki sinyal ve ^{13}C NMR spektrumunda aşağı alanda görülen δ_C 169.9; δ_C 83.2; δ_C 79.7; δ_C 73.3; δ_C 64.9 ve δ_C 64.6 ppm'lerde görülen sinyaller, AW28 kodlu bileşiğin oksijence zengin bir seskiterpen lakton yapısına sahip olduğunu düşündürmektedir.

1H NMR spektrumunda gözlenen spin sistemleri, bu bileşiğin gayanolid (guaian-6 α ,12-olide) tipi seskiterpen lakton grubuna ait olduğunu ortaya koymaktadır.

1H NMR spektrumunda, gayanolid halka yapısındaki lakton grubuna ait 6H protonunun kimyasal kayması, aşağı alanda δ 4.32 ppm'de ve 10.9 Hz'lik etkileşme katsayısına sahiptir. Bileşiğin protonlarının birbiriyle etkileşmesini görmek amacıyla 2D COSY spektrumu alınmıştır (Spektrum 29). Bu spektrum incelendiğinde etkileşme katsayısı 10.9 Hz olan δ 4.32 ppm'deki sinyal ile δ 3.42 ppm'deki

multiplet bölünmeye sahip sinyalin etkileştiği görülmektedir. Bu etkileşme sabitlerinin değerlerinin lakton halkasını ve yedi üyeli halka sistemindeki bir trans ilişkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. Bu da bileşiğin, gyanolid halka sistemine sahip olduğunu kanıtlayan başka bir veri olarak molekülün yapısını desteklemektedir.

2D-COSY spektrumunda δ_H 3.67 ppm'deki sinyalin sadece δ_H 4.05 ppm'de aşağı alanda gözlenen sinyalle etkileşmesi, bu protonların birbiriyle etkileşen visinal protonlar olduğunu ve δ_H 4.05 ppm'deki sinyalin aşağı alanda görülmesi, geminalinde hidroksil grubu varlığını düşündürmektedir.

Bileşiğin yapı aydınlatma çalışmaları sırasında yaptığımız literatür çalışmalarında δ_H 3.67 ppm'deki sinyalin sadece δ_H 4.05 ppm'deki protonla etkileşmesi, bu sinyalin bir epoksit grubuna bağlı olan karbon atomundaki proton sinyali olduğunu düşündürdü. Çekilen 2D-NOESY ve COSY spektrumlarının değerlendirilmesi bu grubun varlığını doğruladı.

Şekil 20: 1 β ,2 β -epoksi-3 β ,4 α ,10 α -trihidroksigyanolid Bileşiğine Ait ^{13}C NMR Bulguları

Şekil 21: 1 β ,2 β -epoksi-3 β ,4 α ,10 α -trihidroksigayanolid Bileşiğine Ait ¹H NMR Bulguları

Yine epoksi gayanolid ile ilgili literatür araştırmalarında saptadığımız önemli bir nokta da; 1,2-epoksi yapısına sahip gayanolid yapısındaki bileşiklerin ¹³C NMR ve ¹H NMR kimyasal kayma değerleri incelendiğinde, C-5 ve H-5 kimyasal kayma değerlerinin saptanmasının, 1,2-epoksi gayanolid halkasının sterokimyasal yapısı üzerinde belirleyici olduğunu göstermektedir (208).

Literatürde δ_{H-5} 2.61 ppm'deki sinyalin HMQC'de δ_C 57.9'deki karbon üzerinde görülmesi, 1 β ,2 β -epoksi türevine sahip bir gayanolid halka yapısı varlığını ispat etmektedir (208).

Bileşiğin ¹³C NMR spektrumunda 15 karbon atomuna sahip olduğu saptanmıştır. DEPT 135 spektrumu yardımıyla bu karbon atomlarının üçünün metilen (δ_C 119.9; 35.5; 23.5), beşinin metin (δ_C 79.7; 64.9; 64.6; 57.9; 44.7), beşinin katerner (δ_C 169.3; 139.4; 73.3; 72.3; 83.2) ve ikisinin metil (δ_C 26.7; 22.1) gruplarına ait karbon atomları olduğu tespit edilmiştir.

Çekilen HMBC spektrumuyla (Spektrum 31), AW28 kodlu bileşiğin 2 ve 3 bağ aracılığıyla (²J_{CH} ve ³J_{CH}) hidrojen-karbon korelasyonları saptanmış ve yapı hakkındaki bilgilerin kesinlik kazanması sağlanmıştır (Tablo 22).

Bileşğin konfigürasyonel özelliklerinin kanıtlanmasında NOESY deneyinden yararlanılmıştır (Spektrum 32). Noesy spektrumunda H-2/H-3 ve H-6/H₃. 15protonları arasında gözlenen nOe korelasyonları bu protonların sırasıyla moleküle göre α ve β olarak yer aldıklarını göstermektedir.

Bileşğin yapısı hakkında yukarıda bahsedilen 1D ve 2D NMR deneyleriyle elde edilen veriler, AW28 bileşğinin daha önce izole edilen 1 β ,2 β -epoxy-3 β ,4 α ,10 α -trihidroksigayaianolid kimyasal adına sahip, gayanolid halka yapısında bir bileşik olduğunu bize ispatlamaktadır.

Yapılan literatür çalışmaları şimdiye kadar *Anthemis* genusunda epoksi yapısını içeren bir gayanolid halka sisteminin izole edilmediğini göstermektedir. Bu bileşik hem *Anthemis* genusu için yeni olması, hem de *Anthemis* türlerinde ilk kez 1 β ,2 β - epoksi grubu içeren bir gayanolid yapısı tespit edilmesi bakımından, *Anthemis* genusu için bir yenilik olmuştur. 1 β ,2 β -epoksi-3 β ,4 α ,10 α -trihidroksigayanolid bileşğinin tüm spektral verileri, literatürde kayıtlı olanlarla uyumludur. Kütle parçalanmaları da gayanolid halkası için karakteristik olan parçalanma değerlerine uymaktadır.

Bu bileşik daha önce *Otanthus maritimus* (100), *Tanacetum cilicium* (153), *Artemisia turcomanica* (5) ve *Ajania fruticulosa* (135) adlı bitkilerden izole edilmiştir.

2.1.8. AW30 EUPATORİN

5,3'Dihidroksi-6,7,4'-trimetoksi flavon

AW30 bileşiği, H4 nolu ana fraksiyonun 15. fraksiyonundan 3.1 mg ağırlığında elde edilmiştir. Sarı renkli, amorf bir madde görünümündedir. UV spektrumunda, (λ_{\max} 275,341 nm) flavonlar için karakteristik absorbsiyon bantları gözlenmiştir (125).

Bileşiğin IR spektrumu, hidroksil, (3384 cm^{-1}), ester karbonili (1714 cm^{-1}), γ -piron karbonili (1661 cm^{-1}) ve aromatik halka ($1608, 1508\text{ cm}^{-1}$) varlığını gösteren absorbsiyon bantları içermektedir.

AW30 bileşiği 366 nm 'de UV ışığı altında koyu bir leke olarak görünmekte, 254 nm UV ışığı altında NA reaktifiyile sarı renge dönmektedir.

Flavanoit yapısındaki bileşiklerin metanoldeki zeltilerinin UV spektrumlarından ve bu çözeltiye eklenen değişik reaktiflerle, spektrumlarda meydana gelen kaymaların belirlenmesi ile bileşiğin yapısı ve sahip olduğu sübstitüentlerin konumu hakkında bilgi edinmek mümkündür.

AW30 kodlu bileşiğin metanoldeki çözeltisinin çekilen UV spektrumunda 275 nm 'de (Bant II) ve 341 nm 'de (Bant I) olmak üzere iki bant gözlenmiştir. Böylece bu bileşiğin luteolin tipte bir flavonoide ait iki absorbsiyon bandına sahip olduğu tespit edilmiştir (125).

AW30 kodlu bileşiğin metanoldeki çözeltisine NaOMe ilavesiyle bant I'deki spektrum yoğunluğunda bir renk düşüklüğünün eşlik ettiği, +54 nm'lik kuvvetli bir batokromik kayma görülmekte, bu da bize serbest hidroksil grubunun C3' konumunda olduğunu göstermektedir. Bant III'ün oluşmaması 7-OH'in serbest olmadığını göstermektedir (125).

AW30 kodlu bileşiğin metanoldeki çözeltisine sırasıyla AlCl₃ ve AlCl₃/HCl ilavesiyle bant I'de +25 ve +21 nm'lik batokromik kayma değerleri gözlenmiştir. Bu kayma değerleri bize B halkasında bir o- dihidroksi sisteminin olmadığını ifade eder (125).

Tablo 23: AW30 Kodlu Bileşiğin Kaydırıcı Ajanlarla Çekilmiş UV Spektrum Sonuçları

	Bant II			Bant I		Yorumlar
		λ_{\max} (nm)	$\Delta\lambda$	λ_{\max} (nm)	$\Delta\lambda$	
MeOH		275		341		Flavon
NaOMe		276		395	+54	3'-OH
AlCl ₃		282	+7	361	+25	5-OH
AlCl ₃ /HCl	254	285	+10	357	+21	5-OH
NaOAc		276	+1	319e376		7-sübs
NaOAc/H ₃ BO ₃		277		340	+4	o-dihidroksi yok

Çözeltiye NaOAc ilavesiyle bant II'de gözlenen +1 nm'lik bir batokromik kayma, bize C-7 pozisyonunda bir süstitüsyon olduğunu göstermektedir (139). Bunun ardından çözeltiye H₃BO₃ ilavesi, bant I'de +4 nm'lik bir batokromik kaymaya sebep olmaktadır. Bu da, yine B halkasında bir o-dihidroksi sisteminin olmadığına kesinlik kazandırmaktadır (125).

Ayrıca AlCl₃/HCl ilavesiyle bant I'de görülen +21 nm'lik batokromik kayma, C-6 konumunda oksijenli bir grubun varlığını gösterir (125). Bileşiğin metanoldeki çözeltisine sırasıyla AlCl₃ ve AlCl₃/HCl ilavesiyle Bant II'de oluşan +7 ve +10

nm'lik batokromik kayma değerleri, hidroksilin C-5 pozisyonunda serbest olduğunu göstermektedir (125). Bu ölçüm sırasında bant III'ün oluşmaması C-7 konumunda hidroksil grubu bulunmadığını göstermektedir (125).

AW30 kodlu bileşimin ^1H NMR spektrumunda (Tablo 24, Spektrum 33) δ 7.46 (d, J:1.96 Hz, H-2'), 7.42 (dd, J:2.36; 8.6 Hz, H-6') ve 6.94 (d, J:8.6 Hz, H-5')'de gözlenen üç aromatik proton sinyalinin değişmezlik katsayılarına bakınca, sırasıyla meta ve orto kenetlenme gösteren bu sinyaller, B halkasının 3', 4' disüstitüe olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan δ 6.57'de görülen bir proton değerindeki singlet H-8 konumunda olduğu ve yine aromatik sahada singlet olarak görülen, daha yukarı alanda sinyal δ 6.59 veren protonun, C halkasında H-3 konumunda bulunduğu tespit edilmiştir.

Ayrıca δ 3.97 , 3.95 ve 3.90'da gözlenen 3 hidrojen değerindeki 3 singlet şeklinde görülen sinyaller de tipik metoksil gruplarına aittir.

AW30 bileşiminin UV ve ^1H NMR spektrumlarının sonuçları bu metoksil gruplarının C-6, C-7 ve C-4' pozisyonlarında yer aldığını göstermektedir.

Bu sonuçlar esas alınarak Timmerman ve arkadaşları tarafından elde edilen UV ve ^1H NMR spektrumlarının sonuçlarının karşılaştırılması ile bileşimin yapısı aşağıda verilen biçimde ortaya çıkmıştır (202).

Şekil 22: Eupotarin Bileşimine Ait ^1H NMR Bulgular

Yapılan literatür çalışmalarında değişik familyalara ait bitkilerin yapılarında Eupatorine rastlanmıştır. Bu bitkilerin isimleri, ait olduğu familya ve çalışılan kısımları bir tablo halinde aşağıda verilmiştir (Tablo 34).

Tablo 34: Eupatorin İçeren Bitkiler

Bitki	Çalışılan Kısım	Familya	Kaynak
<i>Baccharis genistelloides</i>	Toprak üstü	Asteraceae	(195)
<i>Ballota limbata</i>	Belirtilmemiş	Lamiaceae	(158)
<i>Brickellia laciniata</i>	Yaprak	Anacardiaceae	(202)
<i>Indigofera hetrantha</i>	Belirtilmemiş	Cucurbitaceae	(173)
<i>Inulanthera nuda</i>	Toprak üstü	Asteraceae	(74)
<i>Lantana montevidensis</i>	Yaprak	Verbenaceae	(144)
<i>Lippia dulcis</i>	Toprak üstü	Verbenaceae	(151)
<i>Lourteigia stoechadifolia</i>	Toprak üstü kısmı	Burseraceae	(14)
<i>Mikania minima</i>	Toprak üstü	Euphorbiaceae	(54)
<i>Ocimum basilicum</i>	Yaprak	Lamiaceae	(83)
<i>Ortociphon spicatus</i>	Belirtilmemiş	Lamiaceae	(122)
<i>Ortosiphon stamineus</i>	Yaprak	Lamiaceae	(230,4,120,199)
<i>Rabdosia umbrosa</i>	Toprak üstü	Lamiaceae	(98)
<i>Salvia plebeia</i>	Toprak üstü	Lamiaceae	(84)
<i>Stevia procumbens</i>	Toprak üstü kısmı	Compositae	(188)
<i>Tanacetum vulgare</i>	Toprak üstü	Asteraceae	(184)
<i>Teucrium nudicaule</i>	Toprak üstü	Lamiaceae	(75)
<i>Teucrium olivarianum</i>	Toprak üstü	Lamiaceae	(8)
<i>Uncarina abbreviata</i>	Yaprak	Liliaceae	(231)
<i>Uncarina decaryi</i>	Yaprak	Liliaceae	(231)
<i>Uncarina grandidieri</i>	Yaprak	Liliaceae	(231)
<i>Uncarina leandrii</i>	Yaprak	Liliaceae	(231)
<i>Uncarina leptocarpa</i>	Yaprak	Liliaceae	(231)
<i>Uncarina peltata</i>	Yaprak	Liliaceae	(231)
<i>Uncarina perrieri</i>	Yaprak	Liliaceae	(231)
<i>Uncarina platycarpa</i>	Yaprak	Liliaceae	(231)
<i>Uncarina sakalava</i>	Yaprak	Liliaceae	(231)
<i>Uncarina turicana</i>	Yaprak	Liliaceae	(231)
<i>Vitex agnus-castus</i>	Meyve	Verbenaceae	(86)

İncelenen literatürlerde görüldüğü üzere, bizim çalışmamızdan önce *Anthemis* türlerinde Eupatorin adlı bileşik izole edilmemiştir. Çalışmamız, bu türde ilk defa eupatorin bulunması açısından orjinallik göstermektedir.

Yukarıda verilen bitkilere ek olarak Tomasbaeberan F.,A. ve arkadaşları 38 propolis örneği üzerinde fitokimyasal analizler yapmışlar ve propolis örneklerinin flavanoit içeriklerinde yüksek miktarda eupatorin olduğunu saptamışlardır (205).

2.2. Uçucu Bileşiklerin İzolasyonu ve Bileşenlerinin Tanımlanması

Anthemis wiedemanniana bitkisinin uçucu yağı, toprak üstü kısımlarından hidro distilasyon ile elde edildikten sonra GS/MS ile analizi yapıldı. Uçucu yağ, bitkiden %88.1 verimle elde edildi ve 122 bileşenle karakterize oldu (Tablo 25).

A. wiedemanniana'nın toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın ana komponentleri Tablo 25'de görüldüğü üzere linalol (%12.8), 1,8-sineol (%8.5), hegzadekanoik asit (%6.1) ve krizanthenon (%5.7)'dur.

Farklı *Anthemis* türlerinin yağ bileşenleri üzerinde yapılan araştırmalar incelendiğinde görülmüştür ki linalol, sadece *A. wiedemanniana* uçucu yağında ana komponent olarak bulunmaktadır.

GS/MS analizi sonucunda, uçucu yağda 122 bileşen saptanmış ve bunların hepsi tanımlanmıştır.

3. BİYOLOJİK AKTİVİTE BÖLÜMÜ

3.1. Sitotoksik Aktivite

Çalışmamızın sitotoksik aktivite bölümünde, *A. wiedemanniana* bitkisinin hegzan, etanol, etilasetat, metanol, kloroform, ve petrol eteri:dieter:metanol (1:1:1) ekstreleri hazırlanmıştır. Bu ekstrele ve seskiterpen lakton lakton eksresinin ayırımı sırasında elde edilen ana fraksiyonlara, brine shrimp yöntemi kullanılarak sitotoksik aktivite denemesi uygulanmıştır. Aktif olduğu bilinen Umbelliferon ve Kolşisin maddeleri standart olarak kullanılmış ve bu maddelere ait LC₅₀ değerleri de tablo 26'da verilmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde sadece ana fraksiyonlardan 36-40 nolu fraksiyonda standart olarak kullanılan umbelliferondan daha kuvvetli olarak sitotoksik aktivite gözlemlendiği saptanmıştır.

Anthemis türleri üzerinde daha önceden yapılmış sitotoksik aktivite çalışmalarına baktığımızda, daha çok kanser hücreleri üzerinde yapılan çalışmalar görmekteyiz. Bir çalışmada Asteraceae familyasından seçilen 25 türün ekstrelerinin HeLa, (serviks epitel karsinomu), A 431 (cilt epidermal karsinom) ve MCF7 (meme epitel karsinom) üzerindeki etkileri araştırılmış ve bitkiler arasında bulunan *A. ruthenica* ve *A. tinctoria* türlerinin, kanser hücrelerine karşı yüksek aktivitesi olduğu kanıtlanmıştır (36). Yine *A. maritima* bitkisinden izole edilen siklohegzanon yapısındaki iki yeni madde olan antheminones A ve antheminones B adlı bileşiklerin kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktivitelerine bakılmış ve antheminones A'nın lösemi hücrelerine karşı aktivitesi olduğu gözlenmiştir (49). Biz bu çalışmamızda fraksiyonlandığımız *A. wiedemanniana* bitkisinden elde ettiğimiz fraksiyonların

miktarlarına uygulayabileceğimiz bir metod olarak seçtiğimiz Brine shrimp metoduyla 36-40 numaralı fraksiyonda yüksek aktivite görülmüştür.

3.2. Mikrobiyolojik Aktivite

A. wiedemanniana bitkisinden hazırlanan seskiterpen lakton ekstresinin, ayırma aşamasında elde edilen ana fraksiyonların ve bitkiden elde edilen uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesine disk difüzyon metodu kullanılarak bakılmıştır. Ana ekstreten aldığımız sonuçlara baktığımızda, ekstremizin, kullanılan 8 bakteriden dördü üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir. Ekstre *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli*, ATCC 29998, *Escherichia coli*, ATCC 11230 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 üzerinde, standart antibiyotik olarak kullanılan ceftazidime'den daha az olmakla birlikte orta derecede bir antibakteriyel aktiviteye sahiptir. *Candida albicans*'a karşı ise antifungal aktivite gözlenmemiştir. Fraksiyonlardan aldığımız sonuçlara baktığımızda ise (Tablo 29) özellikle 61-68 nolu fraksiyonun disk difüzyon metodu ile kaydedeğer sonuçlar verdiği görülmüştür. Bu fraksiyon, kullanılan bakterilerden *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* üzerinde, kullanılan standart antibiyotik Novobiosin'den daha yüksek aktivite göstermiştir. *Proteus vulgaris* üzerinde ise standart antibiyotikle aynı aktiviteyi göstermiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda disk difüzyon metodu ile yüksek aktivite gösteren 61-68 nolu fraksiyonun MIC ve MBC değerlerine bakılmıştır. 61-68 nolu fraksiyonun mikroorganizmalar üzerindeki MIC ve MBC sonuçları Tablo 30'da verilmiştir. Pozitif kontrol için, bu bakteriler ve mayaya karşı etkin olduğu bilinen ampicilin, gentamisin ve nistatin kullanılmıştır. En iyi MIC değeri (120 mg/ml) *M. luteus*'a karşı elde edilmiştir. En iyi MBC değeri

(160 mg/ml) ise yine *M.luteus*'a karşı bulunmuş olup, bu bakterinin 61-68 fraksiyonuna karşı en hassas organizma olduğu gözlenmiştir. Bu fraksiyona karşı en dirençli bakteriler ise *B.subtilis* ve *P. florescens*'dir (MBC 200<mg/ml). Daha önce *Anthemis* türleri üzerinde yapılmış antimikrobiyolojik aktivite çalışmalarına bakıldığında (44,63,167) *Anthemis* genusu antimikrobiyal bakımdan aktif bir genus olarak karşımıza çıkmaktadır.

Çalışmamızda bulduğumuz sonuçlar kaydedeğer niteliktedir. Bitkisel kaynaklı maddelerin, ancak yüksek dozlarda bakteriler ve mayalar üzerine etkili oldukları bilinmektedir.

Çalışmalarımız sırasında, bitkiden elde ettiğimiz uçucu yağın da, yüksek oranda antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Uçucu yağ, kullanılan 9 mikroorganizmanın 7'si (*Staphylacoccus aureus* ATCC 6538, *Staphylacoccus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Escherichia coli* ATCC 29998, *Pseudomonas aeroginosa* ATCC 28853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Salmonella thyphimurium* CCM 5445) üzerinde, standart olarak kullanılan antibiyotiğe yakın derecede aktivite göstermiştir. Yapılan literatür çalışmalarında, *A. wiedemanniana*'nın uçucu yağının ana bileşenleri olan linalol ve 1,8-sineol adlı maddelerin yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları görülmüştür (93, 110,113,147,159). Bitkinin uçucu yağının yüksek aktivitesinden, bu bileşenlerin sorumlu olabileceği düşünülmektedir.

BÖLÜM VI

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Araştırmamızın ilk aşamasında, *Anthemis* türlerinden Türkiye’de endemik olarak yetişen *Anthemis wiedemanniana* Fisch.& Mey. bitkisinin tayinine yardımcı olması amacıyla kök, gövde ,yaprak ve çiçeğe ait anatomik karakterler belirlenmiştir. Ayrıca *Anthemis wiedemanniana* Flos droğuna ait ileride hazırlanabilecek monografin yazılmasına yardımcı olmak üzere, toz drog örnekleri üzerinde mikroskopik incelemeler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, Türkiye’de yetişen *Anthemis* türleri üzerinde de benzer çalışmalar yapılmasının ve bu tür çalışmaların kıyaslanmasından çıkarılacak sonuçla, bu türler arasında daha detaylı bir tayin yapabilmeyi mümkün kılacaktır.

Çalışmamızın ikinci aşamasında *A. wiedemanniana* bitkisinin toprak üstü kısımlarından su buharı distilasyonu yöntemi kullanılarak, bu bitki için ilk kez uçucu yağı elde edilip bileşenleri tanımlanmıştır. *A. wiedemanniana* uçucu yağı %88.1 verimle elde edilmiş olup, 122 bileşiğe sahiptir. Linalol (%12.8), 1,8 sineol (%8.5), hegzadekanoik asit (%6.1) ve krizanthenon (%5.7) ana bileşikler olarak karşımıza çıkmaktadır.

Çalışmamızın üçüncü aşamasını biyolojik aktiviteler oluşturmaktadır. Uygulanan biyolojik aktivite deneylerinden ilki, sitotoksik aktivite denemesidir. Bu denemeler için *A. wiedemanniana*’ın n-hegzan, etilasetat, etanol, metanol, kloroform çözücüleri kullanılarak değişik ekstreleri hazırlanmıştır. Hazırlanan bu ekstrelere,

seskiterpen lakton ekstresine ve seskiterpen lakton ekstresinin ayırımı sırasında elde edilen ana fraksiyonlara brine shrimp letalite deneyi uygulanmıştır. Bu deneme sonucunda sadece 36-40 kodlu ana fraksiyon, umbelliferon adlı standart maddeden daha toksik bulunmuştur.

Biyolojik aktivite çalışmalarından ikincisi mikrobiyolojik aktivite denemesidir. Bu çalışma kapsamında bitkiden elde edilen uçucu yağın antibakteriyel etkisi disk difüzyon metodu kullanılarak tayin edilmiştir. Elde edilen uçucu yağ, çalışmada kullanılan sekiz adet bakteriden yedisinin büyümesini inhibe etmiştir, *C. albicans* uçucu yağa dirençli olup, antifungal etki görülmemiştir (Tablo 28). *A. wiedemanniana* bitkisinden hazırlanan seskiterpen lakton ekstresinin de, sekiz bakteri ve bir mantara karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak antimikrobiyal aktivitesine bakılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, ekstrenin *Staphylococcus aureus*, ATCC 6538, *Escherichia coli*, ATCC 29998, *Escherichia coli*, ATCC 11230, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 üzerinde etkili olduğu, ancak kontrol için kullanılan ceftazidime kadar etkili olmadığı görülmüştür (Tablo 28). Seskiterpen lakton ekstresinin ayırımı sırasında elde edilen ana fraksiyonlara da disk difüzyon yöntemiyle antibakteriyel aktivite denemesi uygulanmış ve 61-68 kodlu fraksiyonun, disk difüzyon metodu ile yüksek aktivite gösterdiği saptanmıştır. Çalışmalarımıza bu fraksiyonun MIC ve MBC değerlerinin araştırılmasıyla devam edilmiştir. En iyi MIC ve MBC değeri *M. luteus*'a karşı bulunmuştur.

Çalışmamızın dördüncü aşamasında, hazırladığımız seskiterpen lakton ekstresinin ayırımı sırasında elde ettiğimiz ana fraksiyonların, bir ön değerlendirme olarak ¹H NMR analizleri yapılmıştır. Analizler sonucunda seskiterpen lakton ve flavonoit rezonanslarına sahip fraksiyonlar üzerinde çalışmalar yoğunlaştırılmış ve bu fraksiyonlardan sekiz adet bileşik izole edilip yapıları aydınlatılmıştır. Bu

bileşiklerden dört tanesi, seskiterpen laktonlardan gyanolid halka yapısına sahip, üç tanesi flavonoit ve bir tanesi nor izoprenoid türevi yapıya sahip maddelerdir.

Anthemis genusu üzerinde yapılan literatür çalışmaları değerlendirildiğinde , bu genusta genellikle seskiterpen lakton yapısındaki bileşiklerin üç ana grubunu görmekteyiz; gyanolid, ödesmanolid ve germakranolid yapıları. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, *Anthemis* genusunda, epoksi gyanolid türevi bileşiklerin varlığına rastlanmamıştır. Fakat biz çalışmalarımız sonucunda, isotanciloide ($3\alpha,4\alpha$ -epoksi, $1\alpha,10\alpha$ -dihidroksi, 2β -hidroksi- 4β -metil- $5\alpha,7\alpha$ H-gaya-11(13)-en-12, 6α -olid), 3α -kloro- $4\beta,10\alpha$ -dihidroksi- $1\beta,2\beta$ epoksi- $5\alpha,7\alpha$ H-gaya-11(13)-en-12, 6α -olid ve $1\beta,2\beta$ -epoksi- $3\beta,4\alpha,10\alpha$ -trihidroksi gyanolid olmak üzere epoksi gyanolid yapısına sahip üç bileşik izole etmiş bulunmaktayız. Bu yapıya sahip maddelerin *Anthemis* genusu içerisinde ilk kez *A. wiedemanniana*'dan izole edilmiş olması, epoksi gyanolid yapısındaki seskiterpen laktonların, *Anthemis* genusunda var olduğunu ortaya koymaktadır.

Yine *Anthemis* türleri ile yapılan çalışmalarda, seko-gyanolid yapısına sahip bileşik varlığına da rastlanmamıştır. Çalışmamızda iso-secotanapartholide adlı bileşiğin izole edilip, yapısı aydınlatılarak, *Anthemis* türlerinin seko-gyanolid yapısına sahip maddeler de içerdiğini, ortaya koymuştur.

Sonuç olarak izole ettiğimiz seskiterpen lakton yapısına sahip dört bileşiğin *Anthemis* genusunda bulunuşu, ilk kez bu çalışmada rapor edilmektedir.

A. wiedemanniana'dan seskiterpen laktonların yanı sıra flavonoit yapısına sahip maddeler de izole edilmiştir. İzole edilip, yapısı aydınlatılan 5-Hidroksi-6,7,3',4'-tetrametoksiflavon ve eupotarin isimli flavonoitler, *Anthemis* genusu için yeni flavonoitlerdir. İzole edilen diğer bir flavonoit bileşiği olan salvigenin ise bu

türde ikinci kez karşımıza çıkmaktadır. Salvigenin *A. maritima*'dan sonra *A. wiedemanniana*'dan, çalışmalarımız sırasında izole edilmiştir.

Yine nor isoprenoid yapısına sahip bir bileşik olan loliolide de salvigenin gibi, *Anthemis* genusunda, *A. melanolepis*'den sonra ikinci kez izole edilmiştir.

2005 yılında Çelik ve arkadaşları, Eskişehir'den topladıkları *A. wiedemanniana* bitkisinin toprak üstü kısımları üzerinde izolasyon çalışmaları yapmışlardır. Bu çalışmalar sonucunda, bitkiden seskiterpen lakton yapısına sahip, bilinen üç bileşik izole ettiklerini bildirmişlerdir. Bunlardan biri ödesmanolid yapısında de-asetil- β -siklopiretosin ve germakranolid yapısında tatridin A ve 1-epi-tatridin adlı bileşiklerdir. İlginçtir ki biz çalışmamızda İzmir-Bozdağ'dan topladığımız *A. wiedemanniana* bitkisinin toprak üstü kısımlarından ödesmanolid ve germakranolid grubuna ait seskiterpen lakton türevleri izole edemedik. Çelik ve arkadaşlarının da, gayanolid yapısına sahip bir seskiterpen lakton izole edemedikleri görülmektedir.

Bu araştırma sonucunda konumuzu oluşturan endemik türden izole edilen seskiterpen lakton alt grubunun, Eskişehir'den toplanan aynı türden izole edilen seskiterpen lakton alt grubundan farklı olması, bu türün, farklı seskiterpen lakton alt gruplarından bileşiklerin biyosentezini yapabildiğini kanıtlamaktadır. Bu yüzden bu bitkinin farklı yörelerden toplanacak örnekler üzerinde yapılacak ileri araştırmalar ile kimyasal içeriği açısından olduğu kadar, biyojenetik perspektiften de incelenmesi ve değerlendirilmesi gerekliliği gözlenmektedir.

ÖZET

Bu çalışmada Türkiye’de endemik olarak yetişen bir *Anthemis* türü olan *A. wiedemanniana* bitkisi, üç farklı açıdan ele alınarak ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Bitki üzerinde gerçekleştirilen botanik araştırmalarda, bitkinin tayininde yararlanılabilecek ve muhtemel monografilerde yer alabilecek, anatomik ve mikroskopik özellikler araştırılmıştır.

A. wiedemanniana’nın toprak üstü kısımlarından hazırlanan seskiterpen lakton ekstresi, preparatif sütun kromatografisi yönteminde yararlanılarak fraksiyonlandırılmış, elde edilen fraksiyonlar, preparatif YBSK yöntemi kullanılarak saflaştırılmıştır. Saf halde elde edilen bileşiklerin yapıları, spektroskopik yöntemler (UV, IR, 1D ve 2D NMR , EI-MS, CI-MS, HR-MS) kullanılarak aydınlatılmıştır.

Bu çalışmalar sonunda, seskiterpen laktonların, gyanolid alt grubundan isotanciloide ($3\alpha,4\alpha$ -epoksi, $1\alpha,10\alpha$ -dihidroksi, 2β -hidroksi- 4β -metil- $5\alpha,7\alpha$ H-gaya-11(13)-en-12, 6α -olid), 3α -kloro- $4\beta,10\alpha$ -dihidroksi- $1\beta,2\beta$ epoksi- $5\alpha,7\alpha$ H-gaya-11(13)-en-12, 6α -olid, $1\beta,2\beta$ -epoksi- $3\beta,4\alpha,10\alpha$ -trihidroksi gyanolid ve iso-sekotanapartholide maddeleri izole edilmiştir. İlginç bir sonuç, *Anthemis* genusunda ilk kez, gyanolid grubunun alt sınıfından epoksi türevi olan $1\beta,2\beta$ epoksi gyanolid yapısına sahip iki bileşik ve $3\alpha,4\alpha$ epoksi gyanolid yapısına sahip bir bileşiğin bulunmuş olmasıdır. Yine *Anthemis* genusunda gyanolid grubunun bir alt sınıfı olan seko-gyanolid yapısına sahip iso-sekotanapartholide adlı bileşiğin varlığı ilk kez rapor edilmektedir.

Araştırmamız kapsamında elde edilmiş olan 5-Hidroksi-6,7,3',4'-tetrametoksiflavon ve eupotarin adlı bileşikler, flavonoit yapısındaki bileşikler olup, yine *Anthemis* genusunda bulunuşlarının ilk örnekleridir. İzole edilen diğer maddelerden flavonoit yapısındaki salvigenin ve norisoprenoid yapısındaki loliolide de *Anthemis* genusunda *A. wiedemanniana* ile ikinci kez izole edilip, yapısı aydınlatılmıştır.

Bitkinin uçucu yağı elde edilmiş, uçucu yağın ana bileşenleri linalol (%12.8), 1,8 sineol (%8.5), hegzadekanoik asit (%6.1) ve krizanthenon (%5.7) olarak saptanmıştır.

Biyolojik aktivite çalışmalarında, bitkiden hazırlanan n-hegzan, etilasetat, etanol, metanol, kloroform, petrol eteri:dietileter:metanol (1:1:1) ekstrelerine ve ana fraksiyonlara, brine shrimp yöntemi kullanılarak sitotoksik aktivite denemesi uygulanmış ve 36-40 nolu fraksiyon aktif bulunmuştur.

Antimikrobiyal aktivite tayininde ise bitkiden hazırlanan seskiterpen lakton ekstresinin, ayrılan ana fraksiyonların ve bitkinin uçucu yağının disk difüzyon metoduyla aktivitelerine bakılmış ve fraksiyonlardan 61-68 nolu fraksiyon yüksek aktivite göstermiştir. Çalışmanın devamında bu fraksiyonun MIC ve MBC değerleri saptanmıştır.

ABSTRACT

In this study, *Anthemis wiedemanniana*, a plant endemic to Turkey, has been thoroughly investigated in three different projects.

As the first project, in the botanical research, that would be useful for the identification of the plant and take place in monograph the anatomical and microscobical features of the plant are investigated.

As the second project, the sesquiterpene lactone extract prepared from the aerial parts of *A.wiedemanniana* was initially fractionated by column chromatography. The preparative high pressure liquid chromatography were utilized for the purifications of the fractions. The structural elucidations of the pure compounds were done by spectroscopic methods (UV, IR, 1D, 2D NMR, EI-MS, CI-MS, HR-MS).

As a result, from the guaianolide subgroup of sesquiterpene lactones, isotanciloide (3 α ,4 α -epoxy,1 α ,10 α -dihidroksi,2 β -hidroksi-4 β -methyl-5 α ,7 α H-guai-11(13)-en-12,6 α -olid), 3 α -kloro-4 β ,10 α -dihidroksi-1 β ,2 β epoksi-5 α ,7 α H-guai-11(13)-en-12,6 α -olid, 1 β ,2 β -epoxy-3 β ,4 α ,10 α -trihidroksiguaiianolid and isoscotanaparholide were isolated. The two compounds with the guainolide structure having a 1 β ,2 β epoxy group and a compound with 3 α ,4 α epoxy guaianolide structures are being reported for the first time in *Anthemis* genus. The presence of isosecotanaparholide with seco-guainolide structure is also reported in *Anthemis* genus for the first time.

In addition 5-hydroxy-6,7,3',4'-tetramethoxyflavon and eupatorin are found to be the flavonoids reported for the first time in *Anthemis* genus. The other isolated compounds from *A. wiedemanniana* a flavonoid salvigenin and loliolide are reported in *Anthemis* genus for the second time.

As the last project, the n-hexane, ethylacetate, ethanol, methanol, chloroform, petroleum ether:diethylether:methanol (1:1:1) extracts and the main fractions were assayed for their biological activities. The cytotoxic activity was evaluated by brine shrimp lethality test and the fraction 36-40 was found to be cytotoxic.

The antimicrobial activity tests were determined for sesquiterpene lactone extract, main fractions and the essential oil of the plant, by disc diffusion method. The MIC and MBC values were determined for fraction 61-68 which is found to be highly active.

YARARLANILAN KAYNAKLAR

- 1) Abou E.N, Jacupovic, J., Bohlmann, F. Ahmed, A.A., Seif, A., Din, E., Khafagi, S., Sabri, N. (1990). Seco-germacranolides from *Anthemis pseudocotula*. *Phytochemistry*, 29 (8):2704-2706
- 2) Abou, E.N., Rizk, A.M.(1973). Phytochemical Investigation of *Anthemis nobilis* L. growing in Egypt. *Plant Foods for Human Nutrition*, 22(2):141-144
- 3) Ahmed, A., Tamas, G., Taha. A.,H., Aptahal, T., Olga, A.T., Couladis, M.A., Mabry, T.J., Gaber, T.(2003). Ligustolide A and B, Two Novel Sesquiterpenes with Rare Skeletons and Three 1,10-seco-guaianolide Derivates from *Achillea ligustica*. *Tetrahedron*, 59:3729-3735
- 4) Akowuah, G.A., Ismail, Z., Norhayati, I., Sadikun, A. (2005). The Effect of Extraction Solvents of Varying Polarities on Polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and Evaluation of the Free Radical Scavenging Activity. *Food Chem.*, 93(2):311-317
- 5) Alberto, J.M., Carvera, S., Juan, F., Manglano, E., Sancenon, F., Rustaiyan, A., Kardar, M. (1993). Sesquiterpene Lactones from Iranian *Artemisia* species. *Phytochemistry*, 34(6):1561-1564
- 6) Ali, M.S., Pervez, M.K., Saleem, M., Ahmad, F. (2003). Dichotenone-A and B: Two New Enones from the Marine Brown Alga *Dictyota dichotoma* Lamour. *Nat. Prod. Res.* 17(5):301-306

- 7) Alvarez, C.O., Susana, P., Alicia, B. (2007) Bioactive Constituents from *Rollinia emarginata*. *Nat. Prod. Res.*, 21(3):254-259
- 8) Alyahya, M.A., Muhammad, I., Mirza, H.H., Elferaly, F.S.(1993). Neoclarodane Diterpenoids and Their Artifacts from *Teucrium olivarianum*. *J. Nat. Prod.*, 56(6):830-842
- 9) Anastasia, K., Skaltsa, H., Linden, A., Perezzo, R., Brun, R., Taşdemir, D.(2007). Anthecularin: A Novel Sesquiterpene Lactone from *Anthemis auriculata* with Antiprotozoal Activity. *J.Org. Chem.* 72:8103-8106
- 10) Anaya, A.L., Mata, R., Sims, J.J., Coloma, A., Ortega, R., Guadano, A., Hernandez, B.E., Midland, S.L., Rioz, G., Gomez, Pompa, A. (2003). Allelochemical Potential of *Calicarpa acuminata*. *Chemical Ecology*, 29 (12):2761-2776
- 11) Aslan, U., Öksüz, S.(1999). Chemical Constituents of *Centaurea cuneifolia*. *J. Chem.*, 23(1):15-20
- 12) Ayaz, F.A., Hayırhoğlu, A., İnceer, S.(2003). Total Phenols and Condensed Tannins in the Leaves of Some *Anthemidae* Species from Northeast Anatolia. *Biologia (Bratislava)*, 58(4):861-865
- 13) Babayev N.F., Waigh R.D. (1997). Plants of The Republic of Azerbaijan with Potential Medicinal Application Part II. *f Pharmacognosy*, 35 (3):190-193
- 14) Bahsas A., Delgado, P., Jaimes, R., Trejo, C.(1995). Ent-Norlabdenes and Other Constituents of Four Venezuelan Species Previously Classified in the Genus *Eupatorium*. *J. Nat. Prod.*, 58(5):744-747
- 15) Bandaniene, O., Pukalskas, A., Venskutonis, P.R., Gruzdiene, D. (2000). Preliminary Screening of Antioksidant Activity of Some Plant Extracts in Rapedeedal. *Food Research International* 33:785-791

- 16) Barbara, N., Timmermen, R.B., Tom, Mabry, T.J., Powel, M.(1979). Methoxy Flavonoids from *Brickellia laciniata*. *Phytochemistry*, 18:1855-1858
- 17) Barberan, F.A.T., Cole, M.D., Viguera, C.G., Lorente, F.T.,Guirado, A. (1990). Epicuticular Flavonoids from *Bellardia trixago* and their Antifungal Fully Methylated Derivatives. *Int. J. Crude. Drug Res.* 28(1):57-60
- 18) Baruah, R.N., Bohlmann, F., King, R.M. (1985). Novel Sesquiterpene Lactones from *Anthemis cotula*. *Planta. Med.*, 51:531-532
- 19) Başer, K.H.C., Demirci, B., Gökalp, İ., Hashimoto, T., Demirci, F., Noma, Y., Asakava, Y.(2006). The Essential Oil Constituents and Antibacterial Activity of *Anthemis aciphylla* Boiss. var. *discoidea*. *Chem. Pharm. Bull.*, 54(2):222-225
- 20) Başer, K.H.C., Özek, T., Demirci, F., Boyday, I. (2002). The Essential Oil of *Anthemis cretica* L. subsp. *leucanthemoides* (Boiss.) Grierson. *Acta Pharma Turcica*, 44:189-194
- 21) Bedrin, A.G., Raldugin, V.A., Shakirov, M.M., Bagryanskaya, I.Y., Gatilov, Y.V., Druganov, A.G., Kulyyasov, A.T., Adekenov, S.A., Habdolda, G., Tolstikov, G.A. (2001). 15-O-Deacetyl-rhaposerin and Rhaserin-New Components of A Lactone Mixture from *Rhaponticum serratuloides*. *Russian Chemical Bulletin*, 50(3):537-542
- 22) Benedetto, R., Menichinii, F., Gaes, G., Manocche, F. (1991). Three Guainolides from *Anthemis hydruntina*. *Phytochemistry*, 30 (11):3657-3659
- 23) Bloszky, E., Geppert, B., Drodz, B. (1978). *Plant. Med.* 34:79-86
- 24) Bohlmann, F., Arndt, C., Bornowski, H., Jastrow, H., Kleine K. (1962). *Chem. Ber.* 95: 1320

- 25) Bohlmann, F., Burkhardt, T, Zdero, C. (1973). Naturally Occuring Acetylenes. Academic pres.London
- 26) Bohlmann, F., Kleine, K., Arndt, C., Köhn, S.(1965). *Chem. Ber.*, 98:1616
- 27) Bohlmann, F., Kleine, K.,M., Arndt, C. (1966). *Liebigs Ann. Chem.*694:149
- 28) Bohlmann, F., Zdero, C. (1971). *Chem. Ber.* 10(4):1329
- 29) Bohlmann, F., Zdero, C. (1975). *Chem. Ber.*, 108:1902
- 30) Bohlmann, F., Zdero, C. (1978). *Phytochemistry* 20:1595
- 31) Bohlmann, F., Zdero, C.(1985). Chemistry of Heterocyclic Compaunds, 44
- 32) Bohlmann, F., Zdero, C.,Schwarz, Z.H. (1974). *Chem. Ber.* 107:1074 ---78
- 33) Boiteav, P., Pasich, B., Ratsimaman A.R. (1969). Les Triterpenoides, Gouthier Villans, Paris
- 34) Bonjor, S. (2004). Evaluation of Antibacteriel Properties of Some Medicinal Plants Used in Iran. *Ethnopharmacol.*, 94:301-305
- 35) Bonkanka, C.X., rabanal, R.M. mateo, C.C. (1985). The Isolation and Characterization of Salvigenin, A Flavon from *Salvia lanigera*. *J. Chem. Soc. of Pakistan*, 7(1):67-68
- 36) Borbala, R., Boglarka, C., Istvan, Z., Hadju, Z., Mathe, I., Hohmann, J., Redei, T., Falkay, G. (2007). Antiproliferative Activity of Hungarian *Asteraceae* Species against Human Canser Cell Lines. Part I. *Phytother. Res.*, 21:1207-1208
- 37) Borkosky, S., Valdez, D.A., Bardon, A., Diaz, J.G., Herz, W.(1996). Sesquiterpene Lactones and Other Constitüents of *Eirmocephala megaphylla* and *Cyrtocymura cincta*. *Phytochemistry*, 42(6):1637-1639

- 38) Bruno, M., Bondi, M.L., Vassallo, N., Gedris, T.E., Hertz, W. (1997). Guainolides and Other terpenoids from *Anthemis aetnensis*. *Phytochemistry*, 45 (2):375-377
- 39) Bruno, M., Diaz, J., Hertz, W. (1991). Germacranolides from *Anthemis cupaniana*. *Phytochemistry* 30 (10):3458-3460
- 40) Bruno, M., Maggio, A., Arnold, N.A., Diaz, J.G., Hertz, W.(1998). Sesquiterpene lactones from *Anthemis plutonia*. *Phytochemistry*, 49 (6):1739-1740
- 41) Bruno, M., Rosselli, S., Bondi, M.L., Gedris, T.E., Hertz, W. (2002). Sesquiterpene Lactones of *Anthemis alpestris*. *Biochemical Systematics and Ecology* 30:891-895
- 42) Bruno, M., Rosselli, S., Raccuglia, R.A., Maggio, A., Senatore, F., Apostolides, N., Griffin, C.A., Herz, W.(2003). Terpenoids and Flavones from *Achillea falcata*. *Revista de la Sociedad Quimica de Mexico* 47(2):130-131
- 43) Bulatovic, V., Vajs, V., Macura, S. (1997). Highly Oxygenated Guaianolides from *Anthemis carpatica*. *J. Nat. Prod.* 60:1222-1228
- 44) Buruk, K., Sökmen, A., Aydın, F., Ertürk, M. (2006). Antimicrobial Activity of Some Endemic Plants Growing in the Eastern Black Sea Region, Turkey. *Fitoterapia*, 77:388-391
- 45) Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A., Capasso, F. (1999). Flavonoids: Old and New Aspects of a Class of Natural Therapeutic Drugs. *Life Sciences*, 65(4):337-353
- 46) Chavez, J.P., Santoz I., Cruz, F.G., David, J.M., Yang, S.W., Cordel, G.A.(1997). A Quinoline Alkaloid from *Acanthoseyris Paulo-Alvini*. *Phytochemistry*, 46(5):967-968

- 47) Chen, J.J., Cho, J.Y., Hwang, T.L., Chen, I.(2008). Benzoic Acid Derivatives, Acetophenones, and Anti-inflammatory Constituents from *Melicope semecarpifolia*. *J. Nat. Prod.* 71:71-75
- 48) Christensen L.P. (1992). Acetylenes and Related Compounds in *Anthemidae*. *Phytochemistry*, 31 (1):47-51
- 49) Collu, F., Bonsignore, L., Casu, M., Floris, C. (2008). New Cytotoxic saturated and Unsaturated cyclohexanones from *Anthemis maritima*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18:1559-1562
- 50) Conegero, S., Ide, R.M., Nazari, A.S., Filho, B.P.D., Nakamura, C.V., Carvalho, J.E., Faglio, M. (2003). Chemical Constituents of *Alchornea glandulosa*. *Quim. Nova*, 26(6)
- 51) Cortee, E., Mironda, R., Romo, R. (1977). *J. Latinoamer. Quim.* 8:39
- 52) Cristen, L.P. (1992). *Phytochemistry*, 31 (7)
- 53) Cristina, M., Duarte, T., Figueira, M., Sartoratto, A., Garcia, V.L. (2005). Anticandida Activity of Brazilian Medicinal Plants. *Journal of Ethnopharmacol.* 97:305-311
- 54) Cuenca, M.D., Borkosky, S., Catalan, C.A.N., Goedken, V.L., Diaz, J.G., Herz, W. (1993). Sesquiterpene Lactones of *Mikania minima*. *Phytochemistry*, 32(6):1509-1513
- 55) Cullmann, F., Becker, H. (1997). Terpenoids Constituents of *Pellia epiphylla*. *Phytochemistry*, 47(2):237-245
- 56) Çelik, S., Roselli, S., Maggio, A., Angela, R., Uysal, İ., Kisiel, W., Bruno, M. (2005). Sesquiterpene Lactones from *Anthemis wiedemanniana*. *Biochem. Syst. And Ecology*, 33(9):952-956
- 57) Davis, P., H. (1975). *Flora of Turkey and The East Eagean Islands*, Edinburgh University Press, Edinburgh, (5):219-220

- 58) Dejene, S., Dagne, S.(2006). Chemical Investigation of *Anthemis tigreensis* for Bioactive Sesquiterpene Lactones. The 10th Annual Gren Chemistry and Engineering Conference, 26-30
- 59) Dietz, H., Winterhalter, P. (1996). Phytotoxic Constituents from *Bunias orientalis* Leaves. *Phytochemistry* 42(4):1005-1010
- 60) Djeddi, S., Argyropoulou, C., Skaltsa, H. (2008). Secondary metabolites from *Centaurea grisebachii* ssp. *grisebachii*. *Biochem. Syst.and Ecology*, 36:336-339
- 61) Djeridone, A., Yausfi, M., Nadjemi, B., Vidal, N., Lesgards, J., Stocker, P. (2007). Screening of Some Algerian medicinal Plants for the Phenolic Compounds and their Antioxidant Activity. *Eur. Food Res. Technol.*, 224:801-809
- 62) Drodz, B., Bloskyk, E. (1978). Selective Detection of Sesqui Terpene Lactones by Thin Layer Chromatography Sesqui Terpene Lactones of the Compositae *Planta. Med.* 33:379
- 63) Dulger B., Ganz, A. (2004). Antimicrobial Activity of Some Turkish Medicinal Plants. *Pakistan Biological Sciences* 7(9):1559-1562
- 64) El-Alfy, T.S., Shehata, A.H., Koheil, M.A., El-Dahmy, S.I. (1989). Constituent of *Anthemis melampodina* growing in Egypt. *Fitoterapia*, 60:556-558.
- 65) Elzbiate, E., Dansik, P., Hans, M., Cosmetics and Toiletries manufacture World wide , 105
- 66) Everest, A., Öztürk, E. (2005). Focusing on The Ethnobotanical Uses of Plant in Mersin and Adana Provinces (Turkey), *J. Ethnobiol* 1:6
- 67) Fang, J.M., Wang, K.C., Cheng, Y.S.(1991). The Chemical Constituents from the Aerial Part of *Rosa laevigata*. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 38(3):297-299
- 68) Favier, L.S., Nieto, M., Giordano, O.S., Tonn, C.,E. (1997). Diterpenoids and Flavanoids from *Ophryosporus charraua*. *Phytochemistry*, 45(7):1469-1474

- 69) Fernandes I., Pedro, J.E., Polo, E. (1995). Sesquiterpene Lactones from *Centaurea alba* and *C. conifera*. *Phytochemistry*, 38(3):655-657
- 70) Fernandes, R.B. (1976). *Flora Europea*, Cambridge University Pres, (4): 145
- 71) Fischer, N.H., Olivier, E.J. and Fischer, H.D. (1979). Chemistry of Sesquiterpene Lactones, *Prog. Chem., Org. Nat. Prod.*
- 72) Fraga, B.M. (2005). Natural Sesquiterpenoids. *Nat. Prod. Rep.*, 22:465
- 73) Fraga, B.M., Hernandez, M.G. (1988). Flavonoid Aglicones from Some Canary Islands Species of *Sideritis*. *Nat. Prod.* 52(3):591-593
- 74) Gafner, S., Wolfender, J.L., Hostettmann, Evans, H.S., Mavi, S. (1998). Phenols Acethylenes and Sesquiterpene Lctones from *Inulentera nuda*. *Helvetica Chimica Acta* 81:2062-2070
- 75) Gallodo, O., Tonn, C.E., Nieto, M., Morales, G. Giordano, O.S. (1996). Bioactive Neo-Clerodanr Diterpenoids toward tenebrio molitor Larvae from *Teucrium nudicaule* H and *Baccharis spicata*. *Nat. Prod. Letters*, 8(3):189-197
- 76) Geissman, T.A., Crout, D.M.G. (1969). *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism*, Freeman Cooper Company
- 77) Georgio, D., Delmas, F., Tueni, M., Cheble, E., Khalil, T., Balansard, G. (2008). Alternative and Complementary Antileishmanial Treatments: Assesment of The Antileishmanial Activity of 27 Bebanese Plants, Including 11 Endemik Species. *Alternative and Complementary Medicine*. 14 (2):157-162
- 78) Gonzales A., Herrera, J.J., Javier, G.L., Angel, A.G., Ferro, E.A. (1988). Terpenes and Flavones of *Salvia cardiophylla*. *Phytochemistry*, 27(5):1540-1541
- 79) Gonzales, G.A., Bermejo, J., Toledo, F., Daza, L.R. (1981). *Ibid.* 20:1885

- 80) Gonzales, G.A., Rosa, A.D., Massanet, G.M.(1982). *Phytochemistry* 21:895
- 81) Gökdil, G., Topçu, G., Sönmez, U., Ulubelen, A.(1997). Terpenoids and Flavonoids from *Salvia cyanescens*. *Phytochemistry*, 46(4):799-800
- 82) Grace, M.H. (2002). Chemical Composition and Biological Activity of Volatiles of *Anthemis melampodina* and *Pluchea dioscoridis*. *Phytotherapy Research*, 16:183-185
- 83) Grayer, R.J., Bryan, S.E., Veitch, N.C., Goldstone, F.J., Paton, A., Wollenveber E. (1996). External Flavones in Sweet Basil *Ocimum bacilicum* and related Taxa. *Phytochemistry*, 45(5):1041-1047
- 84) Gu, L.W., Weng, X.C., antioxidant Activity and Components of *Salvia plebei*. *Food Chemistry*, 73(3):299-305
- 85) Gürhan, G., Ezer, N. (2004). Halk Arasında Hemeroit Tedavisinde Kullanılan Bitkiler I. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 1:37-55
- 86) Hadju, Z., Hohmann, J., Forgo, P., Martinek, T., Dervarics, M., Zupko, I., Falkay, G., Cossuta, D., Mathe, I.(2007). Diterpenoids and Flavonoids from the Fruits of *Vitex- agnus castus* and Antioxidant Activity of the Fruit Extracts and their Constitüents. *Phytother. Res.*, 21(4):391-394
- 87) Hanbali, F., Mellouki, F., Akssira, M., Boira, H., Blazquez, M.A. (2007). Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Anthemis teunisecta* ball. *J. Essential Oil Bearing Plants*, 101 (6):499-503
- 88) Hanna, A., Yeon Kim, J., Lee, H.J., Kim, Y.K., Ryu, J.H.(2003). Inhibitörs of Inducible Nitric Oxide Synthase Expression from *Artemisia iwayomagi*. *Arch. Pharm.Res.*, 26(4):301-305

- 89) Hattab, M., Culioli, G., Vals, R., Richou, M., Piovetti, L. (2008). Apofucoxanthinoids and Loliolide from Brown Alga *Cladostephus spongiosus* f. *verticillatus*. *Biochem. Syst. And Ecology*, 36:447-451
- 90) Herz, W., Groate, R., Kumar, N.J. (1979). Sesquiterpene Lactones of *Eupatorium serotinum*. *Org. Chem.*, 44(15):2784
- 91) Hesse, M., Maier, M., Zeeh. (1979). Bernd. Spektroskopische Methoden in Der Organischen Chemie. University of Texas of Austin.
- 92) Hethelyi, H., Palinkas, G., Palinkas, J. (1999). Roman camomile (*Anthemis nobilis*) used for Production of Essential Oils GC and GC-MS Analysis. *Olaj Szappan Kozmetika*, 48(3):116-123
- 93) Hinau, J.B., Harvala, C.E., Hinau, E.B.(1989). *Pharmazie*, 44:302 uçü---18
- 94) Ho, K., Sakakibore, Y., Horuna, M. (1982). *Phytochemistry* 21:715-720
- 95) Holla, M., Suajdlenka, E., Vaverskas, E., Zibrunova, B., Tekel, J., Haurenec, E. (2000). Composition on the Oil from the Flowerheads of *Anthemis tinctoria* L. Cultivated in Slovak Republic. *J. Essen. Oil Res.* 12:714-716
- 96) Honda G., Yeşilada, E., Tabata, N., Sezik, E., Fujita, T., Takeda, Y., Takaishi, Y., Tanaka T. (1956). Traditional medicine in Turkey VI. Folk Medicine in West Anatolia, Afyon, Kütahya, denizli, Muğla, Aydın provinces. *J. Ethnopharmacol*, 53 (2):75-87
- 97) Irwin, M.A., Geissmann. T.A.(1973). Sesquiterpene alcohols from *Artemisia pygmaea*. *Phytochemistry*, 12:849
- 98) Isobe, T., Noda, Y., Shibata, K. (1994). Studies on the Chemical Constituents of *Rabdosia umbrosa* var *excisiflexa*. *Nippon Kagaku Kaishi*, 5:493-496

- 99) Iwase, Y., Takahashi, M., Takemura, Y, Motoharu, J., Ito, C. (2001). Isolation and Identification of Two New Flavonones and a Chalcone from *Citrus kinokuni*. *Chem. Pharm. Bull.* 49(10):1356-1358
- 100) Jakupovic, J., Boaker, R., Grenz, M., Paredes L., Bohlmann, L.F., Seif, A. (1988). Highly Oxygenated Guainolides from *Otanthus maritimus*. *Phytochemistry*, 27(4):1135-1140
- 101) Jakupovic, J., Chen, Z., Bohlmann, F. (1987). Artanomaloidei a Dimeric Guainolide and Phenylalanine Derivates from *Artemisia anomala*. *Phytochemistry*, 26(10):2777-2779
- 102) Jamzad, Z., Grayer, R., Geoffrey, C.,K., Monique, S.J.S., Ingroulle, M., Jalili, A.del, J.(2003). Leaf Surface Flavonoids in Iranian Species of *Nepeta* and Some Related Genera. *Biochem. System. Ecol.*, 31(6):587-600
- 103) Jang, D.S., Cuendet, M., Pawlus, A.D., Kardono, L.B.S., Pezzuto, J.M., Kinghorn, A.D. (2004). Potential Cancer chemopreventive Constituents of the Leaves of *Macaranga triloba*. *Phytochemistry*, 65:345-350
- 104) Jang, D.S., Park, E.J., Kang, Y.H., Su, B.N., Vigo, J.S., Graham, J.G., Cabieses, F., Fong, H.H.S., Mehta, R.G., Kinghorn, A.D. (2003). Compounds Obtained from *Sida acuta* with the Potential to Induce quinone reductase and to Inhibit 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-Induced Preneoplastic Lesions in a Mouse Mammary Organ Culture Model. *Archives Pharmacol Research*, 26(8):585-590
- 105) Jassbi, A.R., Zamanizadehnajari, Ş., Aberoomand, P., Tahara, Z. (2002). Antibacterial Diterpenoids from *Astragalus brachystachys*. *Z. Natueforsch*, 57:1016-1021

- 106) Javidnia, K., Miri, R., Kamalinejad, M., Sarkarzadeh, H., Jamalian, A. (2004). Chemical Composition of the Essential Oil of *Anthemis altissima* L. Grown in Iran. *Flav. Fragr J.* 19:213-216 ---130
- 107) Jordanka, D., Steneva, N., Ljuba, N. (2005). *Biochemical Systematics and Ecology*, (3):97-102
- 108) Kanko, C., Koukoua, G., Guessan, T., Fournier, J., Pradere, J.P., Toupet, L.(2004). Contribution a letude Phytochimique de *Lippia multiflora*. *Comptes Rendus Chimie.* 7(10-11):1029-1032
- 109) Kivçak, B., Mert, T., Sağlam, H., Öztürk, T., Kürkçüoğlu, M. Başer, K.H.C. (2007). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Anthemis wiedemanniana* from Turkey. *Chem. of Nat. Comp.*, 43:1
- 110) Kim, J., Marshal, M.R., Wei, C.(1995). *J. Agric. Food Chem.* 43:1389
- 111) Kim, M.R., Lee, S.K., Kim, C.S., Kim, K.S., Moon, D.C. (2004). Phytochemical Constitüents of *Carpesium macrocephalum*. *Archives of Pharmacal Research*, 27(10):1029-1033
- 112) Kimura, J., Maki, N. (2002). New Loliolide Derivatives from the Brown Alga *Undari pinnatifida*. *J. Nat. Prod.* 65:57-58
- 113) Knobloch, K., Pauli, A., Iberl, B., Weigan, H., Weiss, J. (1989). Antibacteriel and antifungal essential oil component. *J. Essential Oil. Res.* 1:119
- 114) Konstantinapoulou, M., Karioti, A., Skaltsa, S., Skaltsa, H. (2003). Sesquiterpene Lactones from *Anthemis altissima* and their Anti-*Helicobacter Pylori* Activity *J. Nat. Prod.*, 66:699-702
- 115) Krishnan S., Nair A.G.R. (1999). Revised Structures of the Flavonoids from *Limnophilla gratissima*. *Indian J. Chem.* , 38(8):1009-1010

- 116) Kupchan, S.M., Fujita, T., Maruyama, M., Britton, R.W. (1973). *J.Org.Chem.* 38:1260
- 117) Kupchan, S.M., Kelsey, J.E., Maruyama, M., Cassady, J.M., Hamingway, J.C., Sim, G.A. (1967). *Tetrahedron Letters*, 2893
- 118) Laughlin, M.C., Chang, J.L., Smith, D.L. (1991). 'Bench-Top' Bioassays for the Discovery of Bioactive Natural Products in Update. *Nat. Prod. Chem.*,9:383-409
- 119) Liva, R.R., Kasai, R., Rokotovao, R., Yamasaki, K. (2001). New Irdoit and Phenethyl Glycosides from Malagasy Medicinal Plant , *Phyllarthron madagascariense*. *Nat. Med.*, 55(4):187-192
- 120) Loon, Y.H., Wong, H.W., Yap, S.P., Yeen, K.H.(2005). Determination of Flavonoids from *Ortosiphon stamineus* in Plasma Using a Simple HPLC Method with Ultraviolet Detection. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 816(1-2):161-166
- 121) Lorente, F.T., Ferreres, F., Barberan, A.T. Rivera, D., Obon, C. (1989). Verification of *Sideritis incana* X *S. angustifolia* Hybrids by Flavonoid Analysis. *Phytochemistry*, 28(8):2141-2143
- 122) Lyckander, I.M., Malterud, K.E. (1996). Lipophyllic Flavonoids from *Ortosiphon spicatus*. Prevent Oxidative Inactivation of 15-lipoxygenase. *Prostaglandis Leucotrienes and Essential fatty Acids*, 54(4):239-246
- 123) Mabberley, D.J. (1997). Plant Book, Cambridge University Pres, Cambridge, UK, 43
- 124) Mabry T.J., Markham, K.R., Thomas, M.B. (1979). The Systematic Identification of Flavonoids, springer-Verlag, New York

- 125) Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas, M.B.(1970). The Systematic Identification of Flavonoids. Springer- Verlag Berlin. Heidelberg ,New York.
- 126) Machida, K., Kikuchi, M. (1996). Norisoprenoids from *Viburnum dilatatum*. *Phytochemistry*, 41(5):1333-1336
- 127) Madari, H., Jacobs, R,S. (2004). An Analysis of Cytotoxic Botanical Formulations Used in the Traditional Medicine of Ancient Perga as Abortifacients. *J. Nat. Prod.*, 67(8):124-1210
- 128) Manuel, J., Ramon Herrera, J., Javier, G.(1998). Abietane Diterpenoids from *Salvia chipepica*. *Phytochemistry*, 47(5):895-897
- 129) Marcland, B., Behl, H.M., Rodriguez, E. (1983). *J. Chromatogr.* 265:97
- 130) Marco, J., Carvera, S., Garcia-Hiso, J.F., Natalia, B. (1997). Sesquiterpene Lactones from *Artemisia lucentica*. *Phytochemistry*, 45(4):755-763
- 131) Marco, J.A., Carvera, J.F.S., Yuste, A., Sancenon, F., Carda, M. (2005). Sesquiterpenes from *Centaurea aspera*. *Phytochemistry*, 66:1644-1650
- 132) Masterova, F., Granceui, D., Grancaiova, Z., Pour, M., Ubik, K.(2005). A New Flavonoid:Tinctosid from *Anthemis tinctoria*. *Pharmazie*, 60(12):956-957
- 133) Matsueda, S., Karube, A., Saraki, S. Yashigaku S. (1977). *Zazshi* 97:1046
- 134) Mayer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.H., Laughlin, M.C. (1982). Brine shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Med.* 45:31-34
- 135) Meng, J.C., Hu, Y.F., Chen, J.H., Tan, R.X. (2001). Antifungal Highly Oxygenated Guainolides and Other Constituents from *Ajania fruticulosa*. *Phytochemistry*, 58(7):1141-1145

- 136) Meragelman K.M., Sosa, V.E. (1998). Terpenoids Constituents of *Helianthus laetiflorus* Persoon. *Anales De la Asociacion Quimica Argentina*, 86(3-6):252-255
- 137) Merken, H.M., Beecher, G.R. (2000). Measurement of Food Flavonoids by High Performance Liquid Chromatography . *Agricultural and Food Chemistry*, 48 (3):577-599
- 138) Milica, P., Kovacevic, N., Cauladis, M., Tzakou, O. (2006). Phenolic Constituents of *Anthemis triumfetti*. *Bioch. Syst.and Ecol.*, 34:449-452
- 139) Milica, P., Kovacevic, N., Tzakov, O., Couladis, M. (2006). Essential Oil Composition of *Anthemis triumfetti* L. *Flavour Frag. J.*, 21:297-299
- 140) Miller, H.E., Mabry, T.J., Turner, L. (1968). *Amer. J. Bot.*, 55(3):316
- 141) Miura, K., Kikuzaki, H., Nakatani, N.(2001). Apianane Terpenoids from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry*, 58(8):1171-1175
- 142) Moghaddam, F., M., Zaynizadeh, B., Rüsdi, P. (1995). Salvileucolide Methylester, A Sesquiterpene from *Salvia sahendica*. *Phytochemistry*, 39(3):715-716
- 143) Morishita, H., Iwahashi, H., Osaka, N., Kida, R. (1984). *J. Chromatography*, 315:253
- 144) Nagao, T., Abe, F., Kinjo, J., Okabe, F. (2002). Antiproliferative Constituents in Plants 10. Flavones from the Leaves of *Lantana montavidensis* and Consideration of Structure-activity Relationship. *Pharma Bulletin*, 25(7):875-879
- 145) Nagao, T., Fumigo, A., Kinjo, J., Okabe, H. (2002). Antiproliferative Constituents in Plants 10. Flavones from the Leaves of *Lantana montavidensis*

- Brriq. And Consideration of Structure- Activity. *Biol.Pharm. Bull.* 25(7):875-879
- 146) Nakamura, C.V., Ueda, T., Bondo, E., Nelo, A.F., Cortez, D.A. (1999). Antimicrobial Activity of *Occimum gratissimum* L. essential Oil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, 94:674-678
- 147) Ngassapa, O., Runyoro, D.K.B., Harvala, E., Chinou, B.(2003). *Flav. Fragr. J.*, 18:221
- 148) Oberprieler, C. (2001). Treatment of Anthemidae.*Taxon* (50):745
- 149) Okada, N., Shirata, K., Niwano, M., Koshino, H., Uramato, M.(1994). Immunosuppressive Activity of A Monoterpene from *Eucommia ulmoides*. *Phytochemistry*, 37(1):281-282
- 150) Omoto, T., Asai, I., Ishimaru, K., Shimomura, K. (1998). Geranyl Isovalerate Accumulation in Adventitious Root Culture of *Anthemis nobilis*. *Phytochemistry*, 48(6):971-978
- 151) Ono, M., Morinaga, H., Masuoka, C., Ikeda, T., Okawa, M., Kinjo, J., Nohara, T. (2005). New Bisabolane Type Sesquiterpenes from the Aerial Parts of *Lippia dulcis*. *Chem.Pharm. Bull.* 53(9):1175-1177
- 152) Organik Kimya <http://www.organik.com.tr>.
- 153) Öksüz, S. (1990). Sesquiterpenoids and Other Constituents from *Tanacetum cilicum*. *Phytochemistry*, 29(3):887-890
- 154) Özel, A. (1999). Güneydoğu Anadolu Bölgesi Tıbbi ve Aromatik Bitkileri, GAP I. Tarım Kongresi, Şanlıurfa, 869-877
- 155) Özgökçe, F., Yılmaz, İ. (2003). Dye Plants of East Anatolia Region (Turkey). *Economic Botany Bione* , 57 (4):453-460
- 156) Öztürk, M., Özçelik, H.(1991). Useful Plants of East Anatolia . *Siskav*, 104-105

- 157) Papaioannou, P., Canari, D., Karioti, A., Souleles, C., Heilmann, J., Skaltsa, H. (2007). Phenolic Compounds with Antioxidant Activity from *Anthemis tinctoria* L. (Asteraceae). *Zeitschrift fur Naturforschung*, 62:5-6
- 158) Parvez, M., Riaz, M., Malik, A.(2001). Eupatorin. *Acta Christollographica Section e- Structure Reports Online*, 57:289-291
- 159) Pattnaik, S., Subramanyam, V.R., Bapaji, M., Kole, C.E.(1997). *Microbios*, 89:39
- 160) Pauli, G.F., Doetsch, F., Natrsted, A. (1998). *Phytochem Anal*, 9:177
- 161) Pavlovic, M., Karacevic, N., Tzakou, O., Couladis, M. (2007). Components of Cyclohexane Extract of *Anthemis triumfetti*. *Chem. Nat. Com.*, 43(5)
- 162) Pavlovic, M., Kovacevic, N., Cauladis, M., Tzakou, O. (2006). Phenolic Compounds of *Anthemis triumfetti*. *Biochem. Syst. And Ecology*, 34:449-452
- 163) Perez, C., Pauli, M., Bonerque, P. (1990). An Antibiotic Assay by the Agar well Difusion Metod. *Acta Biol. Med.*, 15:113-115
- 164) Physab, H., Seppa, E.L., Widen, K.G. (1980). *J. Chromatogr.*, 190:466-474
- 165) Pierani, A., Cassandra, L., Rocco, F., Santaro, F. (2004). Folk Pharmaceutical Knowledge in the Territory of The Dolamiti Southern Italy. *Ethnopharmacol.*, 95:373-384
- 166) Qiming, X., Haidong, C., Huili, L., Huixian, Z., Daqiang, Y. (2006). Isolation and Identification of Antialgal Compounds from the Leaves of *Vallisneria spiralis* L. by Activity-Guided Fractionation. *Environmental Science and Pollution Research*, 13(4):233-237
- 167) Quarenghi, M.V., Tereschuk, M.L., Baigori, M.D., Abdala, L.R.(2001). Antimicrobial Activity of Flowers from *Anthemis cotula*. *Fitoterapia*, 71:710-712

- 168) Quijana, L., Gomez, G.F., Sierra, E.R., Rios, T. (2001). Acyclic Diterpenes and Sesquiterpene Lactones from *Montanoa tomentosa* subs. *tomentosa*. *Phytochemistry*, 30(6):1947-1950
- 169) Qurrengi, M.V., Tereschuk, M.D., Baigari, L.R., Abdala, L.R. (2000). Antimicrobial Activity of Flowers from *Anthemis cotula*. *Fitoterapia* 71:710-712
- 170) Ragasa, C.Y., Luna, R.D., Hofilena, J.G., Joy, G. (2005). Antimicrobial terpenoids from *Pterocarpus indicus*. *Nat. Prod. Res.*, 19(4):305-309
- 171) Ragasa, C.Y., Sangalang, Z., Rideout, V., John, A. (1999). Antimicrobial Flavones from *Coleus amboinicus*. *Philippine Science*, 128(4):347-351
- 172) Razaee, M.B., Jaimand, K., Assareh, M.H.(2006). Chemical Constituent of the Leaf and Flower Oils from *Anthemis altissima* L. var. *altissima* from Iran. *Essent. Oil Res.*, 18(2):152-153
- 173) Rehman, A., Malik, A., Mehmood, S., Jahan, S., Ahmed, H. (2005). Phytochemical Studies on *Indigofera heteranta*. *Chem. Soc. Pakistan*, 27(4):440-442
- 174) Roberto, F.V., Renee, J.G., Alan, J.P. (2003). Chemical Profiling of *Ocimum americanum* using external flavonoids. *Phytochemistry*, 63(5):555-567
- 175) Ruzicka, L. (1959). Faraday Lecture- History of the Isoprene Rule, *Proc. Chem. Soc.*, 341
- 176) Sadhu, S.K., Hirata, K., Li.,X., Ohtsuki, T., Koyano, T., Preprame, S. (2006). Flavonoids and Sesquiterpenoids Constituents from *Eupatorium capillifolium* found in a Screening Study Guided by Cell Growth Inhibitory Activity. *J. Nat. Med.*60:325-328
- 177) Sajjadi, S.E., Mahregan, I. (2006). Volatile Constituents of Flowers and Leaves of *Anthemis hyalina*. *Chem. Nat. Comp.*, 42(5)

- 178) Saltan, Çitoğlu, G. Sever, B., (2002). *Ballota glandulosissima* Hub.- Mor& Patzak ve *Ballota maequidens* Hub-Mor&Patzak'dan Elde Edilen Flavonoid Aglikonları. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, Eskişehir
- 179) Saraoğlu, V., Dorizas, N. Kypriotakis, Z., Skaltsa, H.(2006). Analysis of Essential Oils Composition of Eight *Anthemis* Species from Greece. *Chromatogr. A*, 1104:313-322
- 180) Sarg, T., El-Dahmy, S., Salum, S. (1990). Germacranolides from *Anthemis melampodina*. *Sci. Pharm.*, 58:33-35
- 181) Sarker, S.D., Bright C., Bartholomew B., Watson, A.A., Nash, R.J.(2000). Calendin Tyrosol and Two Benzoic Acid Derivatives from *Veronica persica*. *Biochem.Syst. and Ecology*, 28:799-801
- 182) Saroğlu, V., Karioti, A., Hailmann, J., Kypriotakis, Z., Skaltsa, H. (2007). Sesquiterpene Lactones from *Anthemis melanolepis*. *Helvetica Chimica Acta*. 90
- 183) Saxena, S., Pont, N., Jain, D.C., Bhakuni, R.S. (2003). Antimalarial Agents from Plants Sources. *Current Science*, 85 (9)
- 184) Schinella, G.R., Giner, R.M., Recio, M.D., Buschiazzo, P.M., Rioz, J.L., Manez, S. (1998). Anti-Inflammatory Effects of South American *Tanacetum vulgare*. *Pharmacy and Pharmacology*, 50(9):1069-1074
- 185) Sigstad, E.E., Catalan, C.A.N., Gutierrez A.B., Diaz, J.G., Goedkan, V.,L., Herz, W.(1991). Guainolides and Germacranolides from *Stevia grisebachiana*. *Phytochemistry* 30(6):1933-1940
- 186) Sigstad, E.E., Cuenca, M.R. Catalan, C.A.N., Gedris, T.E., Wener, H.(1999). Clerodenes from *Onoseris alata*. *Phytochemistry*, 58:835-838
- 187) Skaltsa, H., Saroğlu, V., Kypriotakis, Z. (2006). Sesquiterpene Lactones and Flavonoids from the Aerial Parts of *Anthemis melanolepis*. *Planta Med.*, 72

- 188) Sosa, V., E., Juan, R.G., Oberti, J.C.(1884). Sesquiterpene Lactones and Flavones from *Stevis progumbens*. *Nat. Prod.* 48(2):340-342
- 189) Spring, O., Priester, T., Stronsky, H., Hager, A. (1985). *J. Plant. Physiol.* 120:32
- 190) Stamatis, G., Kyriazopoulos, P., Galegou, S., Basayiannis, A., Skaltsa, S., Skaltsa, H. (2003). *Ethnopharmacol.* , 88:175-179
- 191) Steneva, J., T, Todorova, M., Eustetieva, L.(2002). Sesquiterpene Lactones from *Anthemis carpatica* Wild. *Naturforsch*, 57:769-772
- 192) Steneva, J., Todorova, M., Eustatieva, L., Dimitrov, D. (2006). Sesquiterpene Lactones in Two Endemic *Anthemis* Species. *Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci.*, 59:1159-1162
- 193) Strack, D., Proksch, P., Guiz, P.G. (1980). *Naturforsh* 35:915-918
- 194) Strid A., Tan, K. (1999). *Med Checklist Natulae* 18, *Willenowia* 29 (1-2):51-67
- 195) Suttisri, R., Kinghorn, A.D., Wright, A.D., Sticher, O. (1994). Neoclarodane Diterpenoids and Other Constituents from *Baccharis genisstelloides*. *Phytochemistry*, 35(2):443-446
- 196) Szymansky, H.A., Erickson, R.E. (1970). *Infrared Bond Handbook*, Plenum, Washington
- 197) Takeda, Y., Matsumoto, T., Terao, H., Shingu, T., Futatsuishi, T.N., kajimoto, T. (1993). Ortosiphol D and E, Minor Diterpenes from *Ortosiphon stamineus*. *Phytochemistry*, 33(2):411-415
- 198) Tedder, J.M., Mechvatal, A., Murray A.W., Cornduff, J. (1972). *Basic Org. Chemistry*, Belfast, 305

- 199) Tezuka, Y., Stampoulis, P., Banskota, A.H., Awale, S., Tran, K.Q., Saiki, I., Kadota, S. (2000). Constituents of the Vietnamese Plant *Ortosiphon stamineus*. *Chem. Pharm. Bull.* 48(11):1711-1719
- 200) The United States Pharmacopeia 21 st Revision, The national Formulary, 16th ed. (1985), 214
- 201) Theodori, R., Karioti, A., Rancic, A., Skaltsa, H. (2006). Linear Sesquiterpene Lactones from *Anthemis auriculata* and their Antibacterial activity. *J. Nat. Prod.*, 69662-664
- 202) Timmerman, B.N., Mues, R., Mabry, T.J., Powel, A.M. (1979). 6-Methoxyflavonoids from *Brickella laciniata*. *Phytochemistry*, 18:1855-1858
- 203) Todorova, M., Steneva, J., Eustatieva, L. (2007). Sesquiterpene Lactones in *Anthemis auriculata*. *Nat. Prod. Res.* 69:662-664.
- 204) Todorova, M., Tsankova, N., Rilka, M.I., Dimitar, R. (1999). Terpenoids from *Achillea clusiana*. *Zetschrift fuer Naturforschung*, 54(12):1011-1015
- 205) Tomasbarberean F.A., Garcaviqueri, C., Vitolivier, P., Ferreres, F. Tomaslorente, F.(1993). Phytochemical Evidence for the Botanical Origin of Tropical Propolis from Venezuela. *Phytochemistry*, 34(1):191-196
- 206) Topçu, G., Tan, N., Ulubelen, A., Sun, D., Watson, H. (1995). Terpenoids and Flavonoids from the Aerial Parts of *Salvia candidissima*. *Phytochemistry*, 40(2):501-504
- 207) Topçu, G., Ulubelen, A. (1991). Diterpenoids from *Salvia wiedemanii*. *Phytochemistry*, 30(7):2412-2413
- 208) Trifunovic, S., Milosavljevic, S., Vajs, V., Macura, S., Todorovic, N.(2008). Stereochemistry and Conformations of Natural 1,2-epoxy-guainolides based on

- 1D and 2D NMR Data and Semiempirical Calculations. *Magnetic Resonance Chemistry*, 46:427-431
- 209) Trifunovic, S., Vajs, V., Juranic, Z., Zizac, Z., Tesevic, V., Slobodan, M., Milosavljevic S.(2006). Cytotoxic Constituents of *Achillea clevannae* from Montenegro. *Phytochemistry*, 67:887-893
- 210) Uğurlu, E., Seçmen, Ö. (2008). Medicinal plants Popularly Used in the Villages of Yunt Mountain (Manisa-Turkey). *Fitoterapia* 79:126-131
- 211) Ulubelen, A., Öztürk, S., Işıldatçı, S.(2006). A New Flavon from *Salvia triloba* L. *Pharmaceutical Sciences*, 57(6):1037-1038
- 212) Uysal, İ.(1991). Çanakkale İlindeki Bazı Boya Bitkilerinin Morfolojisi, Korolojisi ve Boyacılıkta Kullanılması. *Çanakkale Eğitim Yüksel Okulu Araştırma Dergisi*, 2:65-104
- 213) Uysal, İ., Çelik, S., Oldaçay, M.(2005). Antimicrobial Activity of *Anthemis coelopoda* var.*bourgaei* Boiss. and *Anthemis tinctoria* var. *pallida* Species Having Ethnobotanical Features. *J. Of Applied Sciences* 5(4):639-642
- 214) Uzel, A., Güvensen, A., Çetin, E. (2004). Chemical Composition and Chemical Activity of the Essential Oils of *Anthemis xylopodia* Schwarz of Turkey. *J. Ethnopharmacol.*, 95:151
- 215) Vades, L.J. (1986). Loliolide from *Salvia divinorum*. *J. Nat. Prod.* 49(1):171
- 216) Vajs, V., Bulatovic, V., Fodulovic, K., Menkovic, N., Macura, S., Milosavljevic, S. (1999). Highly oxygenated guainolides from *Anthemis cretica* subs. *Cretica*. *Phytochemistry*, 50:287-289
- 217) Vajs, V., Todorovic, N., Bulatovic, V., Menkovic, N., Macura, S., Juranic, N., Milosavljevic, S. (2000). Further Sesquiterpene Lactones from *Anthemis carpatica*. *Phytochemistry*, 54:625-633

- 218) Valery, M., Maoka, T. (2007). Allenic and Kumulenilic Lipids. *Lipid Research* 46:328-375
- 219) Vivar, A.R., Vidales, P., Perez, A.L. (1991). An Aliphatic δ lactone from *Hyptis urticoides*. *Phytochemistry*, 30(7):2417-2418
- 220) Vuckovic I., Vujisic L., Milosavljevic, S.(2005). *Phytochemical investigation of Anthemis cotula*, *J. Serb. Chem. Soc.*, 71 (2):127-133
- 221) Vuckovic, I., Vujusic, L., Vajs, V., Tesevic, V., Janackovic, P., Milosavljevic, S. (2006). Phytochemical Investigation of *Anthemis cotula*. *J. Serb. Chem. Soc.*, 71 (2):127-133
- 222) Vuckovic, I., Vujusic, L., Vajs, V., Tesevic, V., Macuna, S., Tanackovic, P. (2006). *Biochem. Systema. Ecol.*, 34 (4):303-309
- 223) Vujisic.L.J., Vuckovic, I., Teseviz, V., Dokovic, D., Ristic, M.S., Janakovic, P., Milosavljevic, S. (2006). Comparative examination of the Essential Oils of *Anthemis ruthenica* and *A. arvensis* Wild-Growing in Serbia. *Flav. Fragr J.* 21:458
- 224) Wagner, H., Blatt, S. (1996). *Plant Drug Analysis- A Thin Layer Chromatography Atlas*, 2 ed. Springer- Verlag, 96
- 225) Waller R.G., Dermer , O. (1983). *Biochemical Applications of Mass Spectrometers*, John Willey, Sons USA
- 226) Williams, C.A., Greenham, J., Herbarne, J.B. (2001). *Biochem Syst. Ecol.*, 29:929-945
- 227) Willuhn, G., Westhaus, R.G. (1987). Loliolide from *Calendula officinalis*. *Planta Medica*, 3:304
- 228) Willenwebwe, E., Mayer, K. 1991). Exudate Flavonoids of *Anthemis nobilis* and *A. tinctoria*. *Fitoterapia*, 62:365-366

- 229) Xiao, Y., Wang, Y., Gao, S., Sun, C., Zhou, Z. (2006). Chemical Composition of *Hydrilla verticillata* Royle in Taihu Lake. *Chinese Chemistry*, 25(5):661-665
- 230) Yam, M.F., Asmavi, M.Z., Basir, R.(2008). An Investigation of the Anti-inflammatory and Analgesic Effects of *Orthosiphon Stamineus* Leaf Extract. *Medicinal Food*, 11(2):362-368
- 231) Yamazaki, K., Yoshida, A., Tannowa, T. (2007). External and Internal Flavonoids from Madagascarian *Uncarina* Species. *Biochem. System. and Ecol.*, 35(11):743-749
- 232) Yang, S.C., Fang, J.M., Cheng, Y.S. (1995). Chemical Constituents from the Root and Aerial Parts of *Rosa taiwanensis*. *J. Chinese Chem. Soc.* 42(3): 573-577
- 233) Ybarra, M.I., Catalan, C.A.N., Diaz, J.G., Herz, W.(1992). A Cyperane and Trixanes from *Jungia polita*. *Phytochemistry*, 31(10):3627-3629
- 234) Yoshioka, H., Mabry, T.J., Timmerman, M.B. (1973). Sesquiterpene Lactones. University of Tokyo Press, 345
- 235) Yoshioka, M., Mabry, T.J., Timmerman, B.N. (1973). Sesquiterpene Lactones, Chemistry NMR and Plant Distribution, Tokyo

ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında İzmir’de doğdum. 1992 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesine girdim. 1997 yılında mezun olduktan sonra Kasım 1998’de Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. 1998 yılında Yüksek Lisans öğrenimime başladım. Ocak 2000’de yüksek lisans eğitimimi tamamladıktan sonra 2001’de doktora eğitimime başladım. Halen Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Evliyim. İki çocuk annesiyim.