

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Tanacetum zahlbruckneri (Náb.) Grierson

BİTKİSİ ÜZERİNDE FİTOKİMYASAL ARAŞTIRMALAR

Biyolog Ezgi Kılıç

**FBEBiyoloji Anabilim Dalında
Hazırlanan**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nezhun GÖREN (Y.T.Ü.)

İSTANBUL, 2007

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ	iv
KISALTMA LİSTESİ.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÇİZELGE LİSTESİ	vi
ÖNSÖZ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
2. Genel Bilgiler	4
2.1 Bitkinin özellikleri	4
2.1.1 Compositae (Asteraceae)Familyası	4
2.1.2 <i>Tanacetum</i> L. Türlerinin Botanik Özellikleri	4
2.1.3 <i>Tanacetum zahlbruckneri</i> (Nāb.) Grierson Bitkisinin Özellikleri	6
2.2 <i>Tanacetum</i> L. Türlerinin Biyolojik Etkileri ve Halk Arasında Kullanımı.....	8
2.3 Terpenoid Bileşikler	9
2.3.1 Terpenoid Bileşiklerin Biyosentezi	10
2.3.1.2 Seskiterpenler	16
2.3.1.2.1 Seskiterpenlerin Tanınmaları	17
2.3.1.3 Triterpenler	20
2.3.1.3.1 Triterpenlerin Tanınmaları	20
3. DENEYSEL BÖLÜM	
3.1 Kullanılan Bitkisel Materyal	23
3.2 Yöntemler	23
3.2.1 Ekstraksiyon	23
3.2.2 Biyolojik Aktivite	23
3.2.3 Kromatografik Yöntemler	24
3.2.3.1 Kolon Kromatografisi	24
3.2.3.2 Sephadex LH-20.....	24
3.2.3.3 İnce Tabaka Kromatografisi.....	24
3.2.3.4 Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi	25
3.2.4 Spektroskopik Yöntemler	25
3.2.4.1 UV Spektroskopisi	25
3.2.4.2 IR Spektroskopisi	25
3.2.4.3 ¹ H NMR Spektroskopisi	25

3.2.5	Belirteçler.....	25
3.2.6	Çözücüler	25
3.3	Bitkinin Etilasetat Ekstresindeki Bileşiklerin İzolasyonu ve Saflaştırılması	26
4.	BULGULAR	
4.1	Triterpenler.....	31
4.1.1	A Bileşiği	31
4.2	B Bileşiği	34
4.3	Seskiterpen:	59
4.3.1	C Bileşiği:	59
5.	BİYOLOJİK AKTİVİTE SONUÇLARI	67
6.	SONUÇ VE TARTIŞMA.....	70
	KAYNAKLAR	72
	ÖZGEÇMİŞ.....	77

SİMGE LİSTESİ

°C	Celsius Derece
cm	Santimetre
gr	Gram
m	Metre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
%	Yüzde
λ	Dalga Boyu

KISALTMA LİSTESİ

MeOH	Metanol
EA	Etil Asetat
ITK	İnce Tabaka Kromatografisi
pITK	Preperatif İnce Tabaka Kromatografisi
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
HMBC	Heteronuclear Multiple Band Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
APT	Attached Proton Test
COSY	Correlation Spectroscopy
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
NOESY	Nükleer Overhause Effect Spectroscopy
IR	Infrared
UV	Ultraviyole
d	dublet
dd	dublet dublet
t	triplet
m	multiplet
ppm	part per million
J	Etkileşme Sabiti (Coupling Constant)

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1	Bitkilerin İkincil Metabolitleri	3
Şekil 2.1	Terpenlerin Oluşum	11
Şekil 2.2	Mevalonik Asit-5-Pirofosfat Oluşumu.....	12
Şekil 2.3	İzopentil Profosfat	12
Şekil 2.4	İzopentil Pirofosfatın İzomerizasyonu	12
Şekil 2.5	Geranil pirofosfat ve Geraniol Oluşumu	13
Şekil 2.6	Farnesil Pirofosfat Oluşumu	13
Şekil 2.7	Geranil-geranil Pirofosfat Oluşumu	14
Şekil 2.8	Seskitерpenlerin Oluşumu	18
Şekil 2.9	Seskitерpen İskeletleri	19
Şekil 2.10	Triterpen İskeletleri	22
Şekil 3.1.	Bileşiklerin İTK Sonuçları	30
Şekil 4.1	A Bileşiğinin IR Spektrumu(CHCl ₃)	32
Şekil 4.2	A Bileşiğinin UVSpektrumu(CHCl ₃).....	32
Şekil 4.3	A Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrumu (CDCl ₃)	33
Şekil 4.4	B Bileşiğinin IR Spektrumu(CHCl ₃)	37
Şekil 4.5	B Bileşiğinin UV Spektrumu(CHCl ₃).....	38
Şekil 4.6	B Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrumu (CDCl ₃)	39
Şekil 4.6.1	B Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrumu (CDCl ₃)	40
Şekil 4.6.2	B Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrumu (CDCl ₃)	41
Şekil 4.6.3	B Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrumu (CDCl ₃)	42
Şekil 4.7	B Bileşiğinin ¹³ C APT Spektrumu (CDCl ₃)	43
Şekil 4.8	B Bileşiğinin COSY Spektrumu (CDCl ₃)	44
Şekil 4.9	B Bileşiğinin Spin- Spin Etkileşimi (CDCl ₃)	45
Şekil 4.10	B Bileşiğinin DEPT Spektrumu (CDCl ₃)	46
Şekil 4.11	B Bileşiğinin HMBC Spektrum (CDCl ₃).....	47
Şekil 4.12	B Bileşiğinin HSQC Spektrumu(CDCl ₃).....	48
Şekil 4.13	B Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrumu (C ₆ H ₆)	49
Şekil 4.13.1	B Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrumu (C ₆ H ₆)	50
Şekil 4.13.2	B Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrumu (C ₆ H ₆)	51
Şekil 4.13.3	B Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrumu (C ₆ H ₆)	52
Şekil 4.13.4	B Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrumu (C ₆ H ₆)	53
Şekil 4.14	B Bileşiğinin ¹³ C APT Spektrumu (C ₆ H ₆)	54
Şekil 4.15	B Bileşiğinin COSY Spektrumu (C ₆ H ₆)	55
Şekil 4.16	B Bileşiğinin HSQC Spektrum (C ₆ H ₆).....	56
Şekil 4.17	B Bileşiğinin HMBC Spektrumu (C ₆ H ₆).....	57
Şekil 4.18	B Bileşiğinin NOESY Spektrumu (CDCl ₃)	58
Şekil 4.19	C Bileşiğinin IR Spektrumu(CHCl ₃).....	62
Şekil 4.20	C Bileşiğinin UV Spektrumu(CHCl ₃)	62
Şekil 4.21	C Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrumu (CDCl ₃).....	63
Şekil 4.22	C Bileşiğinin ¹³ C APT Spektrumu (CDCl ₃)	64
Şekil 4.23	C Bileşiğinin COSY Spektrumu (CDCl ₃)	65
Şekil 4.24	C Bileşiğinin HSQC Spektrumu (CDCl ₃)	66

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 2.1	Terpenlerin Sınıflandırılması	15
Çizelge 2.2	Seskiterpenlerin Sınıflandırılması	16
Çizelge 3.1	Deneyisel Çalışma Çizelgesi A	28
Çizelge 3.2	Deneyisel Çalışma Çizelgesi B	29
Çizelge 4.1	NMR- B ¹ HNMR- ¹³ C APT, COSY ve NOESY Spektral Değerleri	36
Çizelge 4.2	NMR- C ¹ HNMR- ¹³ C APT ve COSY Spektral Değerleri	61
Çizelge 5.2.2.1	Brine Shrimp Yöntemi ile Sitotoksik Aktivite (Etilasetat Ekstresi).....	67
Çizelge 5.2.2.2	Brine Shrimp Yöntemi ile Sitotoksik Aktivite (Metanol Ekstresi)	67
Çizelge 5.2.2.3	Bitkinin Metanol Ekstresinde İnsektisit Aktivite	67
Çizelge 5.2.2.4	Bitkinin Etilasetat Ekstresinde Antibakteriyal Aktivite	68
Çizelge 5.2.2.5	Bitkinin Metanol Ekstresinde Antibakteriyal Aktivite	68
Çizelge 5.2.2.6	Bitkinin Etilasetat Ekstresinde Antifungal Aktivite	69
Çizelge 5.2.2.7	Bitkinin Metanol Ekstresinde Antifungal Aktivite.....	69

ÖNSÖZ

Bu tezin gerçekleştirilmesi sırasında, değerli fikirleri ve öğretileriyle bana her zaman yol gösteren danışman hocam Prof. Dr. Nezhun Gören'e öncelikle teşekkür eder ve saygılarımı sunarım.

Tezimin her aşamasındaki yardımları ve sonsuz dostlukları için arkadaşlarım; Mehtap Aydemir, Lale Özcan ve Çiğdem Metin'e teşekkür ederim.

Bana güvendikleri ve hep yanımda oldukları için sevgili aileme ve eşime sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Bu çalışmada, 2000 yılında Van'dan toplanan *Tanacetum zahlbruckneri* (Nāb.) Grierson bitkisinin sekonder metabolitleri ve biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır.

Bitki toplandıktan sonra gölgede kurutuldu. Kurutulan bitki öğütülerek sırayla hekzan, etilasetat, metanol ile maserasyon tekniğine göre ekstre edildi. Bu tezde bitkinin etilasetat ekstresi ile çalışıldı. Bitkinin etilasetat ekstresindeki sekonder metabolitleri, ince tabaka kromatografisi, preparatif ince tabaka kromatografisi, kolon kromatografisi ve moleküler elek kromatografisi (Sephadex LH-20).kullanılarak izole edilip saflaştırıldı.

Etilasetat ekstresinden 3 madde elde edildi; 1 seskiterpen, bir triterpen ve yapı aydınlatma çalışmaları devam eden B bileşiği. Bitkiden izole edilen maddelerin yapı aydınlatma çalışmalarında, UV, IR, 1D ve 2D NMR teknikleri yaralanıldı.

Hekzan, etilasetat, metanol ekstrelerinin sitotoksik aktiviteleri brine shrimp (*Artemia salina*) ön tarama metodu ile incelenmesi sonucunda, hekzan, etilasetat ve metanol ekstreleri arasında *Artemia salina* 'ya karşı en fazla etkiyi, etilasetat ekstresinin göstermesi nedeniyle bu tezde *Tanacetum zahlbruckneri* bitkisinin etilasetat ekstresi üzerinde fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Tanacetum zahlbruckneri* (Nāb.) Grierson , seskiterpen, triterpen,

Compositae, Asteraceae, biyolojik aktivite, insektisid aktivite, antibakteriyal aktivite, antifungal aktivite, brine shrimp aktivite

ABSTRACT

In this study, secondary metabolites and biological activities of the plant *Tanacetum zahlbruckneri* (Nāb.) Grierson were investigated, which had been collected from Van in 2000.

Then, it was dried in shadow. The dried plant was extracted, first with hexane, then with ethylacetate, and finally with methanol.

In this thesis, ethylacetate extract of the plant has been studied. Secondary metabolites separation process has been carried out by applying thin layer, preparative thin layer and column chromatography and molecular exclusion methods (Sephadex LH-20).

Three substances have been obtained from the ethylacetate extract; a sesquiterpene, a triterpene and the compound B which was isolated from nature for first time. The chemical structures of those compounds have been elucidated by using UV, IR, 1D, and 2D NMR techniques.

In this study, cytotoxic activity of hexane, ethylacetate and methanol extracts were first investigated by brine shrimp scannig method. Since cytotoxic activity has mostly been observed for the ethylacetate extract, the ethylacetate extract of *Tanacetum zahlbruckneri* was subjected for the phytochemical analysis and some biological activities of the EA extract of the plant have been studied.

Keywords: *Tanacetum zahlbruckneri* (Nāb.) Grierson, sesquiterpene, triterpene, biological activity, brine shrimp

1. GİRİŞ

Modern bilimlerin gelişmesiyle birlikte biyoloji, kimya, farmakoloji, toksikoloji gibi disiplinlerin kombine çalışmasıyla, halk ilacı olarak kullanılan birçok bitkinin, yapısında bulunan doğal bileşiklerin, fitokimyasal yapıları aydınlatılmakta ve biyolojik aktiviteleri saptanabilmektedir (Baykal, 1997; Dülger, 1999; Tadeg, 2005).

Bitkiler üzerinde yapılan araştırmalarda bitkilerin, ekosistemle olan ilişkisinde, çevresel koşullara uyumunda, savunma, korunma, hayatta kalma, nesillerini sürdürme gibi önemli olaylarda çeşitli avantajlar sağlayan, sekonder metabolit olarak tanımlanan kimyasal maddeler içerdikleri saptanmıştır (Bourgaud, 2001). Bugüne kadar yaklaşık 100.000 sekonder metabolit bitkilerden izole edilerek tanımlanmıştır. Her yıl bu sayıya 4.000 kadar yeni bileşik eklenmektedir (Verpoorte 1999). Bunlar arasında bitkiyi, patojenlere karşı koruyan antibakteriyel, antifungal, antiviral maddeler (fitoaleksinler), çimlenmeyi önleyici maddeler, doğal yaşamda rekabet gücünü (allelpati) artıran ve toksik maddeler; UV ışınlar, tuzluluk, kuraklık gibi zararlı çevresel etmenlerin neden olduğu stres koşullarında direnç arttırıcı metabolitler; zararlı hayvanlar ve otlara karşı korunmayı sağlayan insektisit, herbisitler; tozlaşma ve tohum dağılımını sağlamak üzere hayvanları cezbedecek renkli ve güzel kokulu metabolitler bulunmaktadır (Charlwood, 1990).

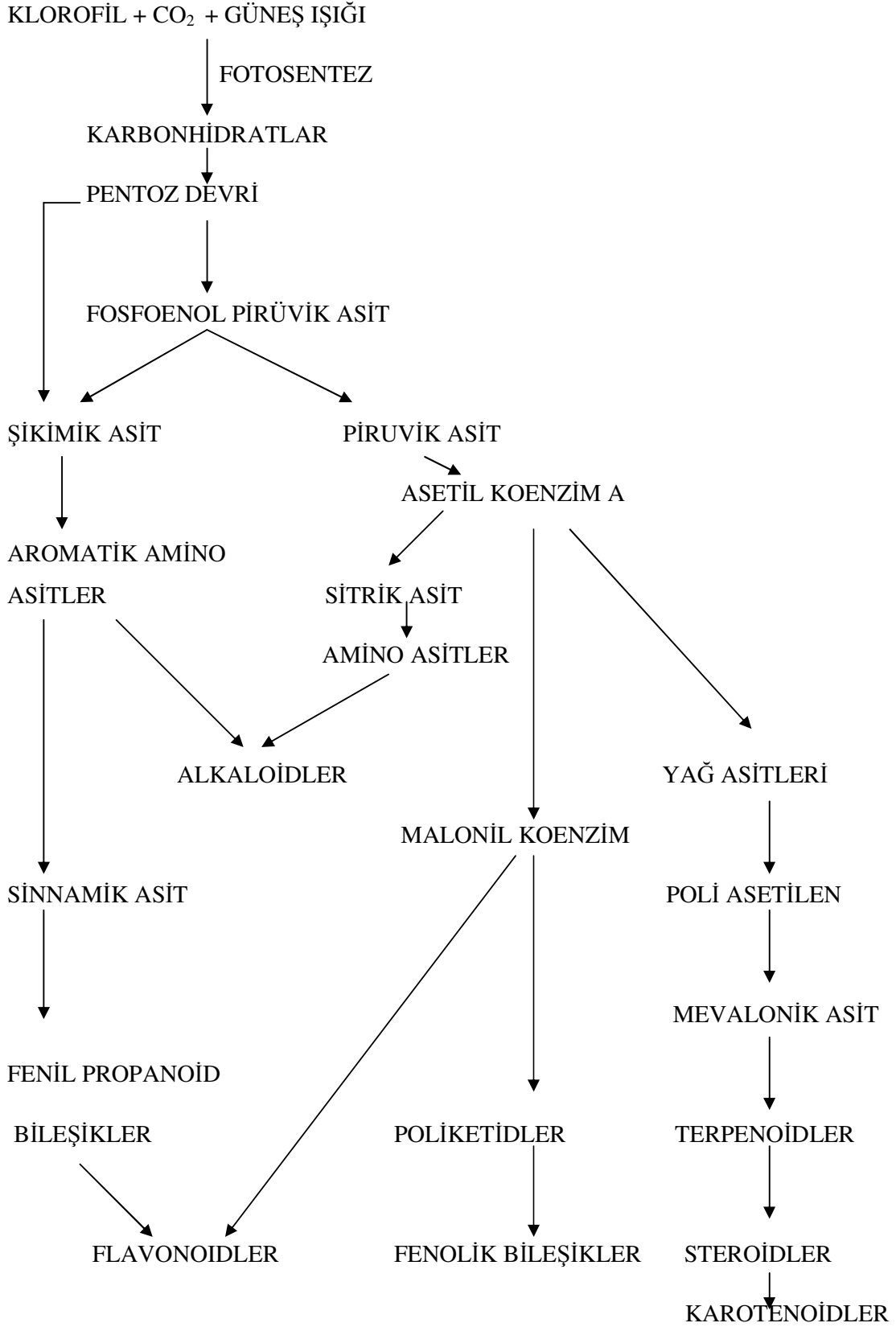
Bitkilerin yapılarında bulunan sekonder metabolitlerin çoğu bir bitki cinsine ve hatta bazen tek bir bitki türüne özgüdür, diğer bitkiler tarafından üretilmezler (Rahachandra 2002). Çok büyük yapısal çeşitliliğe sahip olan sekonder metabolitler, bitkide sekonder metabolizma yollarının ara ürünlerinden, özel metabolit yollarla üretilmektedirler (Şekil 1.1) (Geissman, 1969). Sekonder metabolitler üzerinde yapılan araştırmalarda bu bileşiklerin bitkiler tarafından çok az miktarlarda üretildiği saptanmıştır. Buna karşılık başta tıp ve gıda sektörü olmak üzere bir çok endüstriyel alanda yaygın olarak kullanılmaları (farmasötikler, gıda katkı maddeleri, tatlandırıcılar, boyalar, koku vericiler, yapıştırıcılar, insektisidler, pestisidler vb.) nedeniyle bu metabolitlere duyulan gereksinim giderek artmakta ve bunun sonucunda da ekonomik olarak önem kazanmaktadır (Sökmen 2001).

Tanacetum türleri ateş ve bağırsak solucanlarını düşürücü, romatizmal ağrılara, kaşıntılı deri hastalıklarına ve migrene karşı etkilerinden dolayı yüzyıllardır Anadolu'da halk ilacı olarak kullanılmaktadır. *Tanacetum* türlerinin farklı etkilerinden dolayı bu tür üzerinde yapılan kimyasal çalışmalar artmıştır. Yapılan çalışmalarda biyoaktif özellikler gösteren birçok yeni bileşik belirlenmiştir. Belirlenen bu bileşikler antimigren, antiülser, antimikrobiyal,

antispasmodik, allergen, antihelmintik, antiinflamatuvar, antikoagülant, antifibrinolitik, karminatif, sitotoksik, insektisit gibi özellikler göstermiştir (Asımgil 1993, British Herbal Pharmacopoeia 1996, Bruneton 1999, D'Amelio 1999, Guenther 1948, Gören 2002, 1992, Kalodera 1997, Newall 1996, Nottingham 1993, Poucher 1974, Perrot 1971, Reclu 1925, Scheerer 1984, Thiery 1992, 1994, Thomas 1989).

Tanacetum türlerinin Türkiye'de çok sayıda olması ve kayde değer oranda endemizm göstermesi nedeniyle yeni biyoaktif bileşiklerin bulunması açısından ülkemiz için önemli bir ekonomik kaynak oluşturacağı düşünülmektedir.

Bu çalışmada, Türkiye'ye endemik *Tanacetum zahlbruckneri* türü üzerinde fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları yapılmıştır.



Şekil 1.1 Bitkilerin İkincil Metabolitleri

2. GENEL BİLGİLER

2.1 BİTKİNİN ÖZELLİKLERİ

2.1.1 Compositae Familyası

Compositae (Asteraceae) familyası, yaklaşık 1509 cins ve 20.000 türle, dünyada en fazla türü olan familyadır. Compositae familyası, yurdumuzda iki alt familya ile temsil edilir: Asteroideae (Tubuliflorae) ve Cichorioideae (Liguliflorae); *Tanacetum* L. cinsi Asteroideae alt familyasına girmektedir .

Compositae familyasının Türkiye’de doğal olarak yetişen 133 cins ve 1156 türü bulunmaktadır (Grierson, 1975).

Dünyada ve Anadolu’da geniş yayılım gösteren Compositae familyasına ait birçok türün farmakolojik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu familyadaki bitkiler, diterpenler ve flavanoidlerin yanı sıra ağırlıklı olarak; antibakteriyel, antifungal, anthelmintik, anti-enflamatuar, insektisit, antitümör gibi pek çok biyolojik aktiviteye sahip seskiterpen lakton sekonder metabolitlerini içermektedirler. Compositae familyasına ait *Tanacetum* L. cinsi yeryüzünde kuzey yarım kürede yayılış göstermekte olup, birçok türü bilinmektedir. Türkiye’de Doğu Anadolu başta olmak üzere, İç ve Güney Anadolu’da oldukça yaygındır. Ülkemizde 44 tür ile doğal yayılış göstermektedir. Ayrıca 18 endemik tür bulunmaktadır,

2.1.2 *Tanacetum* L. Türlerinin Botanik Özellikleri

Tanacetum taksonları genellikle rizomlu, kısa veya uzun, dik veya yükselici gövdeli, otsu bazen yarı çalımıdır. Taksonlar çıplak veya tüylü; tüyler basit veya ikiye çatallanmış olabilir. Yapraklar basit, kenarı dişli, bazen pinnatifit veya 1-3 pinnatisekt olabilir. Kapitulum heterogam veya homogam, tek veya genellikle gevşek dizilişli sık korimbus halindedir. İnvolumen yarı küresel veya çan şeklinde; involukrumu oluşturan brakteler imbrikat, 3-4 sıralı, lanseolat veya oblong, genellikle kenarları ve tepesi zarımsıdır. Çiçek tablası düz ve çıplaktır. Dilsel çiçeklerin petalleri (=ligula) beyaz, sarı veya pembe, involukrumdan az çok uzun 3-lopludur. Dilsel çiçekler bazen eksiktir. Tüpsü çiçekler 5 loplul ve sarıdır. Akenler ± silindirik veya çomak şeklinde, 5-10 boyuna oluklu çoğu kez salgı tüylü veya çıplaktır. Korona kısa veya eksik, genellikle kaba dişli veya loplul, bazen tek taraflı ve sadece arkadaki yüzde bulunur (Grierson, 1975).

Bu tezde çalışılan endemik *T.zahlbruckneri* bu ayırım anahtarında A Grubunda yer almaktadır (Grierson 1975).

1.Kapitulum heterogam ; kenarlarda bulunan dişi çiçekler, dilsî fakat bazen belirgin değildirlir ve nadiren tüpsü çiçeklerden uzundurlar.

2.Dişi çiçekler beyaz, soluk kükürt sarısı veya pembemsi kırmızı,
her zaman belirgin dilsî şeklinde.

A Grubu

2.Dişi çiçekler parlak veya koyu sarı, ligulalar bazen belirgin değil

B Grubu

1. Kapitulum homogam, diskoit; dişi çiçekler tamamıyla eksik.

C Grubu

2.1.3 *Tanacetum zahlbruckneri* (Nāb.) Grierson Bitkisinin Özellikleri



Tanacetum zahlbruckneri (Nāb.) Grierson

Ömür: Çok yıllık

Yapı: Ot

İlk çiçeklenme zamanı: 5.ay

Son çiçeklenme zamanı:7.ay

Habitat: Taşlı yamaçlar

Minimum yükseklik: 1300 m

Maksimum yükseklik: 3000 m

Endemik: Endemik

Element: İran- Turan

Türkiye dağılımı: D.Anadolu

Genel dağılımı: Türkiye

Bulunduğu kareler: B7 B9 C9 C10

Türün Türkiye Florası'nda (Flora of Turkey and The East Aegan Islands Vol 5:273) Yer Alan Tanıtımının Özeti Aşağıdadır :

Tanacetum zahlbruckneri (Náb.) Grierson in Notes R.B.G. Edinb. 33:435 (1975).

Syn: *Chrysanthemum zahlbruckneri* Náb. In Publ. Fac. Sci. Univ. Masaryk Brno 52:20, t. 4 (1925). Figures 7, p. 177; 12, p. 263. Map 25, p. 275.

Tanacetum zahlbruckneri 20-40 cm boyunda, çok yıllık otsu bir türdür. Obovat veya oblong olan yapraklar, 5-9 cm uzunluğundaki petioller dahil 15 cm' boyundadır.

Kapitulumlar 8-15 cm boyundaki pedunkul üzerine genellikle 2-4 tane. İnvolukrum 0.9 – 1.2 cm genişliktedir. Dıştaki braktelerin kenarları kahverengimsi veya siyah, zarımsı olup ovat-lanseolat şekilli, içtekiler ise şeritsi-ters lanseolat ve 5-7 x 3 mm'dir Dilsî çiçekler beyaz veya yeşilimsi-sarı, ligula 9-15 x 5-6 mm olup tepeleri genellikle çeltiklidir. Tüpsü çiçekler 3mm uzunluğundadır. Akenler kahverengi ve 2 mm boyunda olup tepede 5 çıkıntıya sahiptir. Akenin üst ucundaki taç kısmı 0.2 mm uzunluğunda olup bazen eksik ya da tamdır.

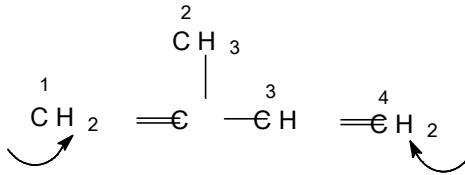
Tip örnek : [Türkiye C9 Hakkari] mons Maidanoke supra pagum Hasitha (Aşutka), 1700-1800 m, *Nábêlek* 3598.

2.2. *Tanacetum* L. Türlerinin Biyolojik Etkileri ve Halk Arasında Kullanımı

Tanacetum türleri yüzyıllardır halk ilacı olarak farklı amaçlarda kullanılmaktadırlar. Bu türlerden; *Tanacetum parthenium* adet düzenleyici ve ateş düşürücü olarak, baş ağrısı, kulak çınlaması ve baş dönmesine karşı ve doğumlarda karşılaşılan güçlüklerle karşı kullanılmaktadır (Newall 1996, British Herbal Pharmacopoeia 1996). Söz konusu ekstreleri üzerinde yapılan kimyasal, klinik ve biyolojik çalışmalar sonucunda bu bitkinin antimigren, anti-enflammatuar, antitümör, anti-ülser, antimikrobiyal, insektisit özellikler gösterdiği kesinlik kazanmıştır (Palevitch 1997, Ross 1999, Zhang 2004a, Tournier 1999, Gören 2002). *Tanacetum parthenium*, antimigren etkisinden dolayı bugün drog olarak satılmakta olup ayrıca anti-mikrotubular etkisi sonucu kanserli hücrelerin büyümesini belirgin olarak inhibe ettiği görülmüştür (Miglietta 2004). *Tanacetum vulgare*'nin uçucu yağında bulunan çok zehirli β -tuyon bileşiği nedeniyle dahili ve harici kullanımı oldukça sakıncalıdır. Bitkinin bu özelliklerine rağmen halk arasında sinir yatıştırıcı ve adet düzenleyici olarak, romatizma ve karın ağrılarına karşı, bağırsak kurtlarına, uyuza karşı ve bitki böceklerini uzaklaştırmada kullanılmaktadır. Bitkinin zehirli olmasından dolayı kuru bitkinin suda ya da alkolde infüzyonu yapılarak kullanılmaktadır (Perrot1971, Reclu 1925). Oltuotu olarak bilinen *T. coccineum* bit, pire ve kene gibi vücut parazitlerine, sivilcelere, kaşıntılı deri hastalıklarına karşı ve haşere öldürücü olarak kullanılmaktadır (Asımgil 1993). *T. cinerariaefolium* pire otu olarak bilinmekte ve vücut bitini kontrol altında tutmak için kullanılmaktadır (Güven 1991). Yavşan adıyla bilinen *T. argyrophyllum* var. *argyrophyllum* bitkisinin herbası yakılıp külü vücuda sürülerek uyuza karşı kullanılmaktadır. Halk arasındaki adı "marsuvan otu" olan *T. balsamita* türünün çiçekli dalları halk arasında idrar arttırıcı olarak, midevi rahatsızlıklara karşı ve safra kesesi taşlarını düşürücü olarak, infüzyon halinde kullanılmaktadır (Baytop, 1984).

2.3 TERPENOİD BİLEŞİKLER

Terpenler doğal bileşikler içerisinde en yaygın bileşikler olup yapıları oldukça farklılık gösteren küçük organik moleküllerdir. Sadece karbon ve hidrojen içeren terpenler olabileceği gibi, oksijen içeren yani alkol, keton, aldehit ve asit grubu taşıyan terpenler de çok yaygındır. Oksijen ihtiva eden terpenler “terpenoidler” olarak adlandırılırlar. Bugün gerek açık zincirli gerekse halkalı yapıda olan çeşitli fonksiyonel gruplara sahip 20.000’den fazla terpen yapısı bilinmektedir. Terpenler bitki dokularında genellikle serbest olarak, bazıları glikozit ya da organik asit esterleri halinde, bazen de proteinlerle birleşmiş olarak bulunurlar. Bütün terpenler izopren denilen birimlerden oluşmuştur. Bu görüş ilk defa Leopold Ruzicka* tarafından öne sürülmüş ve *izopren kuralı* olarak adlandırılmıştır. İzopren kuralına göre terpenler beş karbon atomlu 2-metil-1,3 bütadien ünitelerinin baş-kuyruk kondenzasyonu ile meydana gelirler.

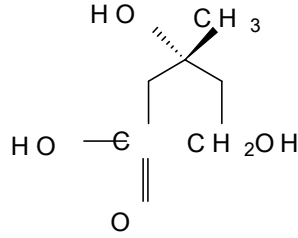


İzopren (2-metil-1,3-bütadien)

Bu kurala göre izopren ünitelerindeki dallanmış taraftaki 1 numaralı karbon baş olarak adlandırılırken, dallanmanın olmadığı taraftaki 4 numaralı karbon kuyruk olarak adlandırılır.

2.3.1. TERPENOİD BİLEŞİKLERİN BİYOSENTEZİ

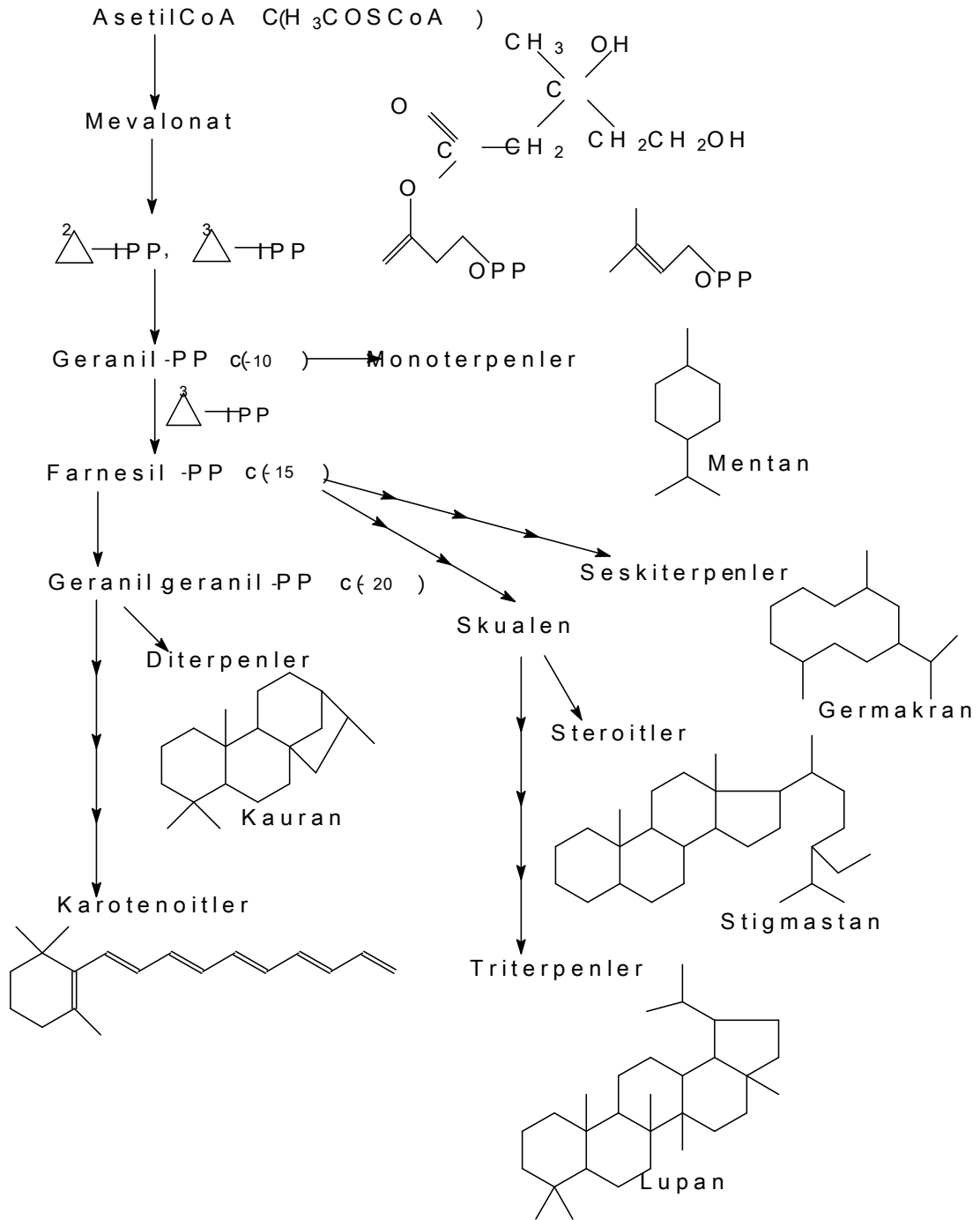
3 mol asetik asid'in kondenzasyonu ile oluşan mevalonik asit (3-metil-3,5-dihidroksi pentanoik asit) terpenlerin biyosentezinde önemli rol oynamaktadır. Mevalonik asitin su ve karbondioksit kaybetmesi ile terpenleri oluşturan izopren (2-metil,-3 butadien) birimleri meydana gelir.



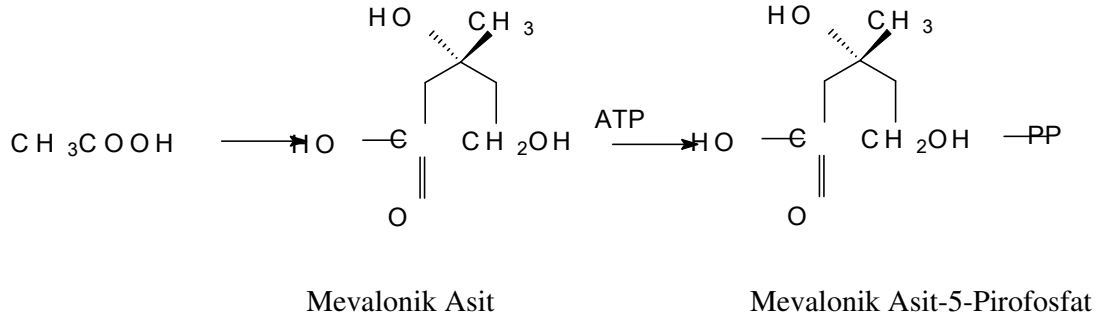
(Mevalonik Asit)

Mevalonik asit eldesinde başlangıç maddesi olan asetil koenzim A pek çok bileşiğin biyosentezinde rastlanan bir madde olup şekerlerin oksidatif degradasyonundan oluşur ve sonunda CO₂'e okside olur (Teresa 1987). Asetil koenzim A'nın doğal bileşiklerin oluşumunda önemli bir rolü vardır. Asetil koenzim A birçok bileşiğin yapı taşıdır. Mevalonik asit ise yalnızca terpenlerin oluşumunda rol oynar. Mevalonik asit terpen biyosentezini diğer metabolik yollardan ayıran bir bileşiktir (Geisman 1969). Şekil 2.1'de asetil CoA'dan hareketle terpenlerin oluşumu gösterilmektedir.

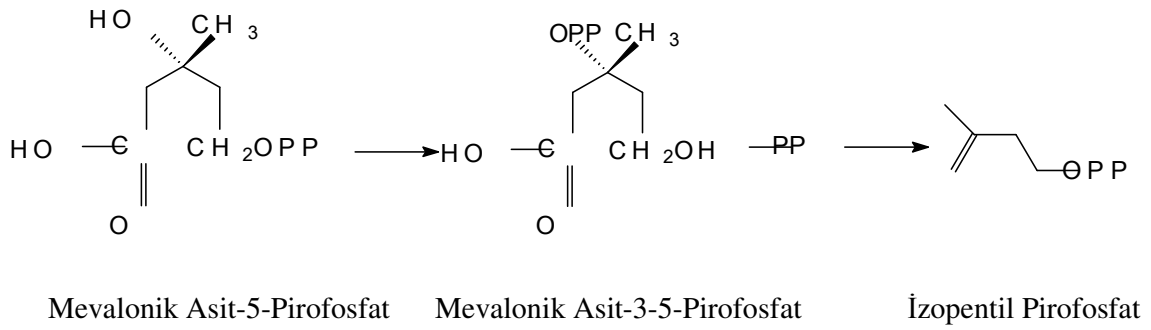
Mevalonik asitin 2 molekül ATP (Adenin trifosfat) ile fosforlanması sonucu mevalonik asit 5 pirofosfat bileşiği oluşur (Şekil 2.2). Bu bileşikteki tersiyer hidroksil grubu da bir mol ATP ile fosforlanarak daha kolay ayrılabilen bir grup haline gelir. Sonra su ve karbondioksit çıkmasıyla izopentenil pirofosfat molekülü oluşur (Şekil 2.3) .



Şekil 2.1 Terpenlerin Oluşumu

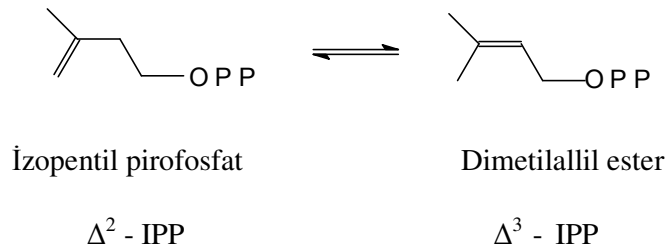


Şekil 2.2 Mevalonik Asit-5-Pirofosfat Oluşumu



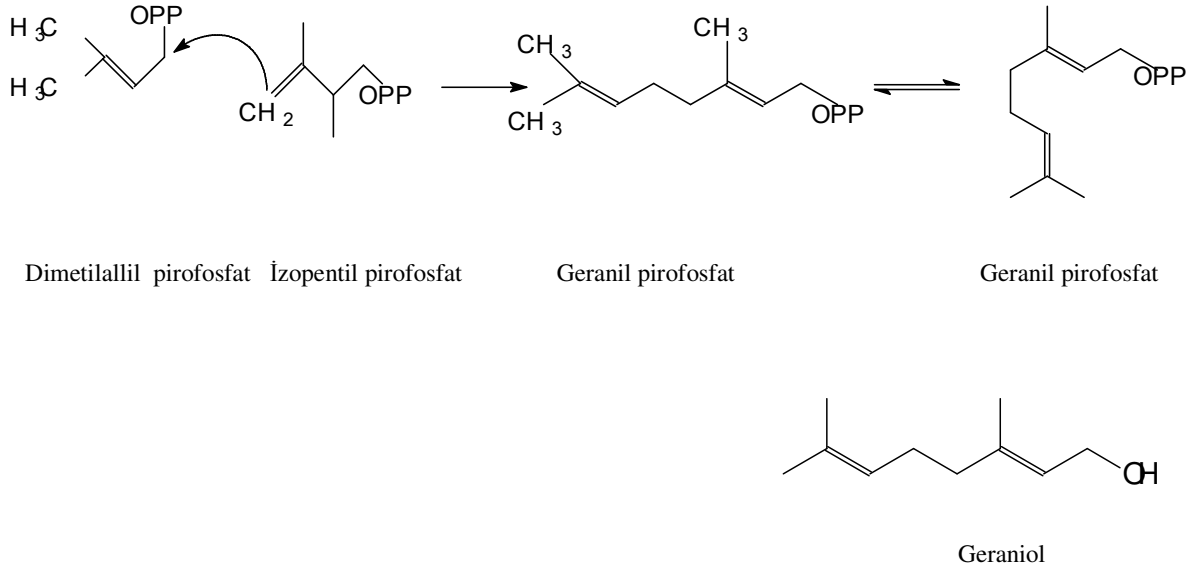
Şekil 2.3 İzopentil Pirofosfat

İzopentenil pirofosfat, bir enzim yardımıyla izoprenoid biyosentezini gerçekleştirmektedir. İzopentenil pirofosfatın enzim ile izomerizasyonu sonucu dimetilallil esteri oluşmaktadır (Şekil 2.4) (Geismann 1969).



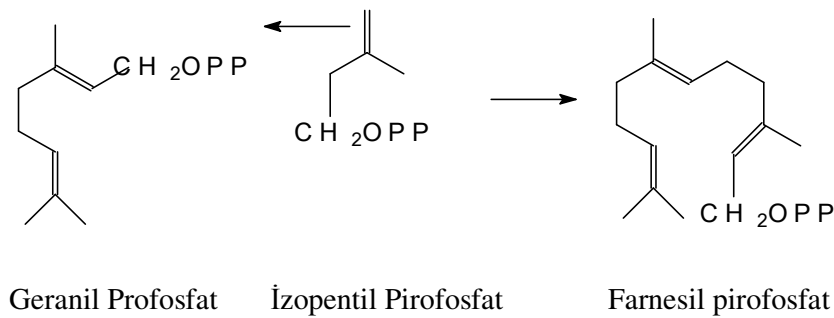
Şekil 2.4 İzopentil Pirofosfatın İzomerizasyonu

Bu iki izomerin birbiriyle olan kondenzasyonu geranil pirofosfatı oluşturur. Geranil pirofosfat'tan dehidrasyon sonucu su çıkması ile geraniol meydana gelir. Bu madde monotermenlerin biosentezinde rol oynamaktadır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 Geranil pirofosfat ve Geraniol Oluşumu

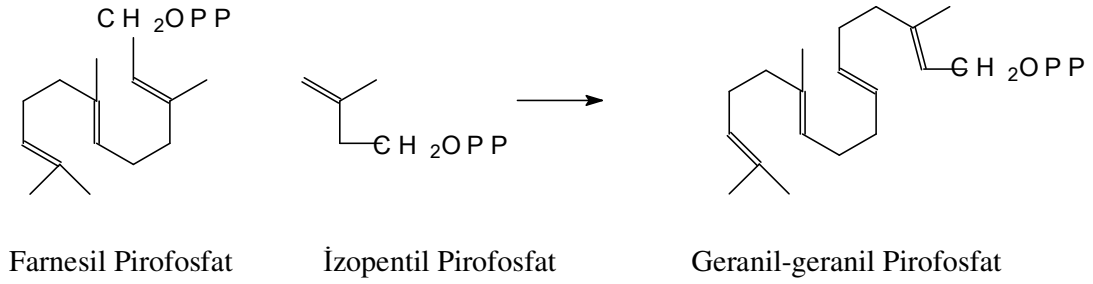
Geranil pirofosfatın izopentil pirofosfat ile kondenzasyonu farnesil pirofosfatı oluşturur. Bu ürün seskiterpenlerin biosentezinde rol oynamaktadır (Şekil 2.6).



Şekil 2.6 Farnesil Pirofosfat Oluşumu

Farnesil pirofosfatın tekrar izopentenil pirofosfat ile kondenzasyonu sonucu diterpenlerin ve

karotenoidlerin yapıtaşı olan geranil-geranil pirofosfat bileşiği oluşur (Şekil 2.7).



Şekil 2.7 Geranil-geranil Pirofosfat Oluşumu

İzopentenil, geranil ve farnesil pirofosfat moleküllerinin birbiriyle değişik kondezasyonları sonucu daha yüksek yapılı terpenoidler oluşur. Örneğin iki geranil-geranil pirofosfatın kondenzasyonu ile karotenoidler, iki farnesil pirofosfatın kondenzasyonu ile de triterpenler oluşur. Şekil 2.1 'de Asetil koenzim A'dan hareketle biyosentez yoluyla oluşan maddeler verilmektedir.

Terpenlerin ana maddesi izopren birimidir. Bu nedenle terpenler izopren birimlerinin sayısına göre sınıflandırılır. İki izopren ünitesinin biyosentezi yoluyla oluşan 10 karbonlu moleküller monoterpen, 15 karbonlu moleküller seskiterpen, 20 karbonlu moleküller diterpen, 25 karbonlu moleküller sesterterpenler, 30 karbonlu moleküller triterpenler, 40 karbonlu moleküller tetraterpenler olarak adlandırılırlar (Çizelge 2.1)

İzopren Sayısı	Sınıfı	Karbon Sayısı
1	Hemiterpenler	5
2	Monoterpenler	10
3	Seskiterpenler	15
4	Diterpenler	20
5	Sesterterpenler	25
6	Triterpenler	30
8	Tetraterpenler (Karotenoidler)	40
N	Politerpenler	(5)

Çizelge 2.1 Terpenlerin Sınıflandırılması

Terpenler fiziksel özelliklerine göre iki grupta incelenirler:

a.Uçucu Terpenler: Su buharı ile sürüklenebilen küçük moleküllü monoterpenler ve seskiterpenler.

b.Uçucu Olmayan Terpenler: Büyük moleküllü seskiterpenler, diterpenler, triterpenler ve politerpenler.

2.3.1.2 SESKİTERPENLER

Seskiterpen bileşikler 15 karbonlu terpenlerdir. Üç izopren ünitesinin birleşmesinden oluşmuşlardır. Diğer sınıf terpenlere göre daha fazla yapısal çeşitliliğe sahiptirler. Monoterpenlerin yapıtaşı olan geranil pirofosfat molekülü, izopentenil pirofosfat ile kondenzasyona uğrayarak seskiterpenleri oluşturur (Şekil 2.8). İskelet yapılarının oluşumu sırasında farnesil pirofosfatın trans-trans ve cis-farnesil katyonlarına dönüştüğü ve farnesil difosfatın siklizasyonu ile germakradien iskeleti oluşturduğu tespit edilmiştir.

Seskiterpenlerin iskelet yapıları moleküldeki çift bağ sayısı ile karakterize edilir. Seskiterpenler linear, monosiklik, bisiklik, trisiklik ve tetrasiklik olarak 5 ayrı formda incelenirler (Fınar 1975) (Çizelge 2.2).

Seskiterpenlerin sınıflandırması	Çift Bağ Sayısı
Asiklik	4
Monosiklik	3
Bisiklik	2
Trisiklik	1

Çizelge 2.2 Seskiterpenlerin Sınıflandırılması

Seskiterpenler, sitotoksik, antiinflamatuvar, antifungal, antibakteriyal, antiviral, insektisit aktivite göstermektedirler (Gonzalez 2000, Kubo 1988, Favier 2005, Hsieh 2001, Estrada 2005, Wube 2005, Sun 2004, Gören 1994)

2.3.1.2.1. SESKİTERPENLERİN TANINMALARI

Bitkilerde bulunan seskiterpenler, monoterpenler gibi ya sadece karbon ve hidrojen içerirler ya da hidroksil, aldehit, keton grupları gibi oksijen fonksiyonu içerirler. Şekil 2.9' da doğada görülen bazı seskiterpenler görülmektedir

Oksijen içerenler seskiterpenoid olarak adlandırılırlar. C₁₅ iskeletine sahip olan seskiterpenoidler alkol, keto ya da lakton grubu içerirler.

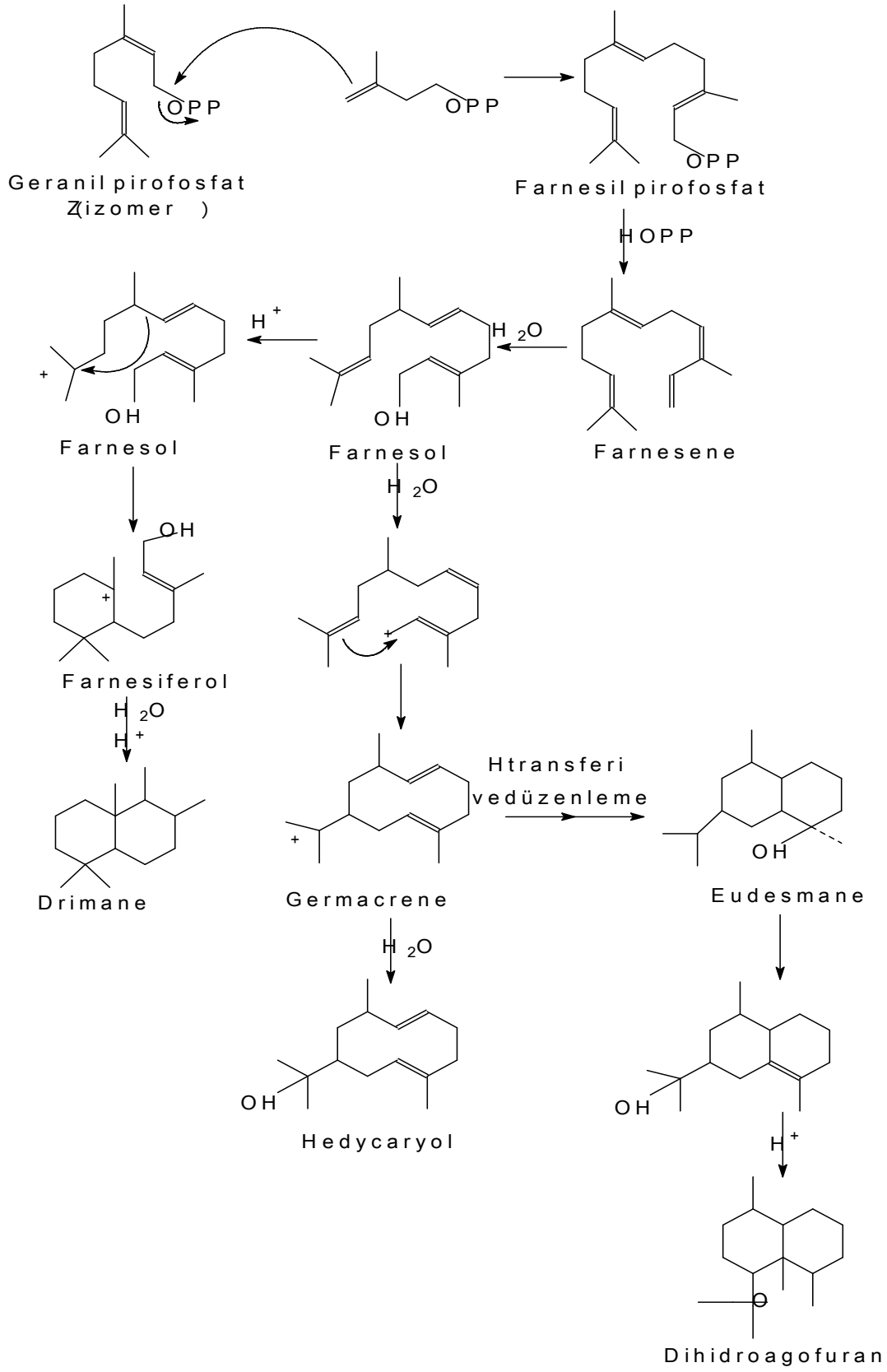
Seskiterpenlerin tanınmasında spektroskopik yöntemlerden yararlanılır.

Seskiterpenler kolon kromatografisi, ince tabaka kromatografisi (ITK) ve preparatif ince tabaka kromatografisi (pITK) gibi kromatografik yöntemlerle ayrılarak elde edilirler. Seskiterpenler genellikle kristal yapıdadırlar.

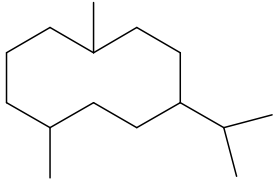
UV'de izole çifte bağ halka içinde ise 220 nm civarında, halka dışında ise 205-210 nm civarında bir maksimum verir. Konjugasyona bağlı olarak bu bant uzun dalga boyuna kayabilir.

IR 'de -OH grupları 3000-3500 cm⁻¹'de, -C=O grubu 1710 cm⁻¹ dolayında çıkarlar.

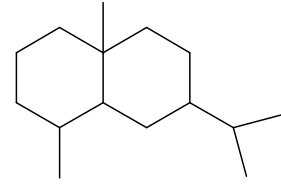
NMR spetrumunda 0.00-2.00 ppm arasında metil pikleri; moleküler çevresine bağlı olarak 1.5-4.00 ppm arasında metilen pikleri; 4.50-6.50 ppm arasında doymamışlık pikleri görülmektedir.



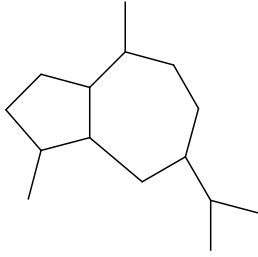
Şekil 2.8 Seskiterpenlerin Oluşumu



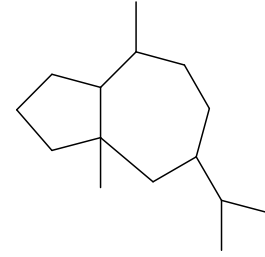
Germacrane



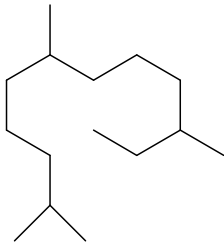
Eudesmane



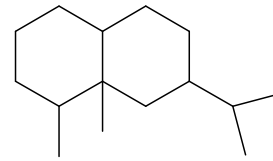
Guaianolide



Pseudoguaianolide



Farnesane



Eremophilane

Şekil 2.9 Seskiterpen İskeletleri

2.3.1.3 TRİTERPENLER

Triterpenler halka sayısı ve taşıdıkları fonksiyonel gruba göre sınıflandırılabilirler. Halka sayısına göre trisiklik, tetrasiklik ve pentasiklik olmak üzere üç grupta toplanırlar (Şekil 2.10). Triterpenler hiç substitüent taşımazlarsa triterpenik hidrokarbonlar olarak adlandırılırlar.

Bitkilerde serbest olarak bulunabildikleri gibi triterpenik saponinler olarak isimlendirilen glikozidler halinde de bulunabilirler. Serbest triterpenler, karboksilli asit, alkol, aldehit, karbonil, epoksi ve lakton gruplarından bir ya da bir kaçını bir arada bulundurabilirler (Boiteu, vd., 1964).

Triterpenler, sitotoksik, antiinflamatuar, antifungal, antimikrobiyal, antiviral aktivite göstermektedirler (Kanokmedhakul (2005), Hamburger (1989), Nick (1994), Tian (2005), Singh (2002)

2.3.1.3.1 TRİTERPENLERİN TANINMALARI

Lieberman-Burchard reaksiyonu triterpenlerin tanınmasında en çok kullanılan renk reaksiyonudur. Bu reaksiyon sonucunda mavi-yeşil renk triterpenlerin varlığını gösterir.

UV spektrumu, triterpenlerin büyük bir kısmı konjuge çifte bağa ve oksokrom gruplara sahip olmadığından yapı analizinde fazla bilgi vermemektedir.

IR spektrumu, yapıdaki fonksiyonel gruplar (karbonil, alkol, karboksilik asit, ester v.b.) hakkında bilgi vermektedir. Hidroksil grupları $3000-3500\text{ cm}^{-1}$, alifatik C-H bağlarının gerilme titreşimleri $2850-2900\text{ cm}^{-1}$, ester karbonilinin C=O gerilme titreşimi $1700-1750\text{ cm}^{-1}$, izole keton titreşimi $1653-1750\text{ cm}^{-1}$, ester karbonilinin C=O gerilim titreşimini destekleyen C-O eğilim titreşimleri $1450, 1370, 1250\text{ cm}^{-1}$ lerde, doymamışlığa ait bantlar ise $1600-1650\text{ cm}^{-1}$ de izlenmektedir.

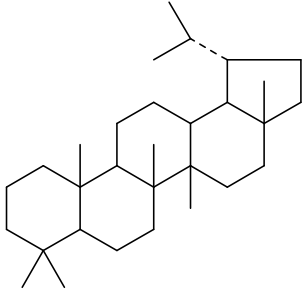
Terpenler için ^1H NMR spektrumu oldukça önemlidir. Karakteristik ‘metilen zarfları’ bileşiğin steroid veya triterpen olduğu hakkında bilgi vermektedir. Metilen zarfları geniş ise steroid, daha sivri ise triterpen olduğu düşünülmektedir. Triterpenlerin yapılarında 8 metil grubu bulunmaktadır. Bu nedenle ^1H NMR spetrumunda ilk önce 8 metil grubu aranır. Fakat bu metil grupları, bazen aldehit, asit ya da alkol gibi gruplarla yer değiştirebilirler. Metil gruplarının kimyasal kaymaları ve bölünme durumları iskelet hakkında bilgi vermektedir. Örneğin 29 (20)en-Lupan tipi triterpenlerde, 1.69 ppm civarında izlenen vinilik metil grubuna ait pik ile 4.50-4.60 ppm civarındaki iki adet genişlemiş singlet yapıdaki ekzometilen

grubunun varlığını gösterir.

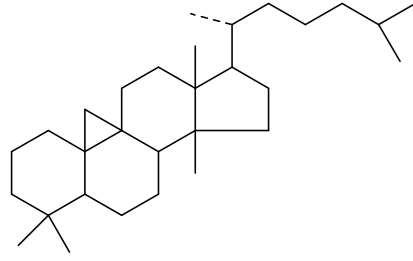
^{13}C NMR spektrumundan yapının kaç karbonlu olduğu ve karbonil, ester, karboksilik asit, oksimetin, hidrokümetin gibi grupların varlıkları gözlenmektedir.

Spektrumda 10-30 ppm civarında metil pikleri, 30-50 ppm civarında metilen grubuna ait pikler, eğer metoksi grubu varsa 53-60 ppm civarında, 60-85 ppm aralığında oksijene komşu karbonlar, yapıya şeker bağlıysa şekerin anomerik karbonu iki oksijen arasında kaldığı için 100-104 ppm civarında gözlenmektedir. 105-150 ppm arasında çift bağ ve aromatik karbonlar izlenmektedir. Ester karbonili 160-170 ppm de, asit karbonili 180-190 ppm civarında, aldehit karbonili 190-210 ppm civarında gözlenirken, izole keton karbonilleri 175-230 ppm civarında gözlenmektedir (Erdik, 1993).

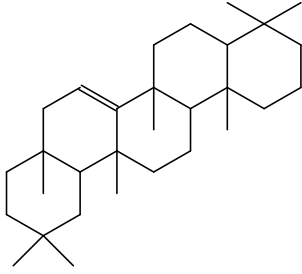
Kütle spektrumunda, moleküler pikin yanı sıra iskelet üzerinde çift bağın yeri farklı parçalanmalara neden olduğundan triterpenik yapının iskeleti hakkında bilgi edinilip belirlenebilir (Budzikiewicz,1964).



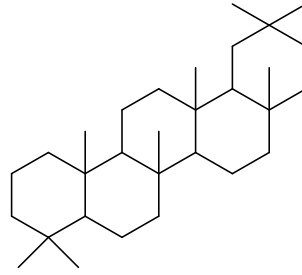
Lupan



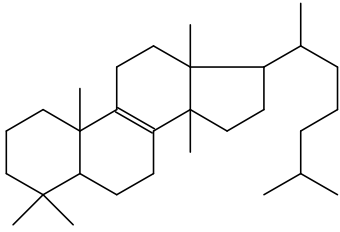
Skloartan



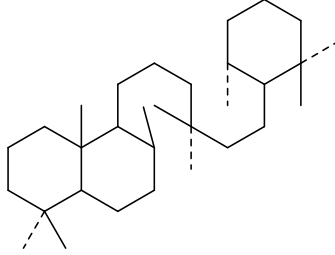
Tarakseran



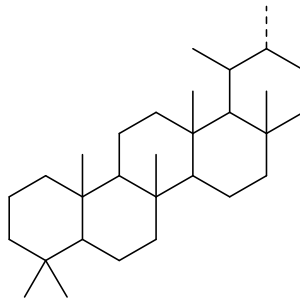
Oleanan



Lanostan (tetracyclic)



Ambran (tricyclic)



Ursan (pentacyclic)

Şekil 2.10 Bazı Triterpen İskeletleri

3. DENEYSEL BÖLÜM

3.1.MATERYAL

Bu çalışmada kullanılan *Tanacetum zahlbruckneri* (ISTE 79273a) Van Bahçesaray'dan 2000 yılında Prof. Dr Nezhun Gören tarafından toplandı. Prof. Dr. Kerim Alpınar tarafından teşhis edildi.

3.2. YÖNTEMLER

3.2.1.EKSTRAKSİYON

Toplanan *Tanacetum zahlbruckneri* 'nın kök, gövde ve çiçekleri kesilerek ayrı ayrı gölgede kurutuldu ve değirmende küçük parçalar haline getirildi. Bu işlemde sonra bitkinin kısımları üçer gün bekletilmek üzere sırasıyla hekzan, etilasetat ve metanol ile masere edildi. Çözücüler evaporatörde yoğunlaştırıldı ve her bitkiden üç ekstre elde edildi. Tüm ekstreler, üzerinde biyolojik aktivite testleri yapıldı. Bunun sonucunda, bu tezin çalışma konusu olarak etilasetat ekstresi belirlendi.

3.2.2 BİYOLOJİK AKTİVİTE

Tanacetum zahlbruckneri bitkisinin etilasetat ve metanol ve ekstrelerinin sitotoksik aktiviteleri brine shrimp (*Artemia salina*) ön tarama metodu gerçekleştirildi. Bitkinin metanol ekstresinin *Artemia salina* 'ya karşı letal aktivite göstermediği (Tablo 5.2), etilasetat ekstresinin ise *Artemia salina* 'ya karşı letal aktivite gösterdiği belirlendi. EA ekstresinin LD₅₀ değeri 85.23 µg/mL olarak saptandı (Tablo 5.2).

Tanacetum zahlbruckneri bitkisinin ekstresinin metanol 1572.7 µg/cm² konsantrasyonda insektisid aktivitesi araştırıldı. Kontrol grubu olarak kullanılan permithrin 235.9 µg/cm² konsantrasyonunda kullanıldı. Çalışma sonucunda metanol ekstresinin *Rhyzopertha dominica*'ya karşı insektisid aktivite gösterdiği; *Tribolium castaneum*'a karşı belirgin bir insektisid aktivite göstermediği saptandı (Tablo 5.3). Bitkinin etilasetat ekstresinin insektisit aktivitesi, ekstre miktarının yeterli olmamasından dolayı çalışılmadı.

Tanacetum zahlbruckneri bitkisinin etilasetat ve metanol ekstreleri agar-oluk difüzyon yöntemiyle antibakteriyel aktivitesi araştırıldı. DMSO (Dimetilsülfoksit)'da çözünen etilasetat ve metanol ekstrelerin konsantrasyonları 3 mg/mL olarak belirlendi. Kontrol grubu olarak kullanılan antibiyotiğin (Imipenem) hazırlanan stok çözeltisi 10µg/ml olarak çalışıldı. Çalışmanın sonucunda etilasetat ekstresinin antibakteriyel etki göstermediği saptandı

(Tablo 5.4). Bununla birlikte metanol ekstresinin *Shigella flexenari* ve *Salmonella typhi*' ye karşı zayıf bir antibakteriyal etki gösterdiği belirlendi (Tablo 5.5).

Tanacetum zahlbruckneri bitkisinin EA ve MeOH ekstrelerinin agar ve tüp difüzyon yöntemi ile antifungal aktiviteleri araştırıldı. Kontrol grubu olarak antifungal ilaçlar (mikonazole, amphotericin B) kullanıldı. 400µg/cm² konsantrasyondaki MeOH ve EA ekstrelerinin *Trichophyton longifusus*'a karşı aktivite gösterdiği belirlendi (Tablo 5.6 – Tablo 5.7).

3.2.3 KROMATOĞRAFİK YÖNTEMLER

3.2.3.1 KOLON KROMATOĞRAFİSİ

Bu çalışmada farklı aşamalarda kolon kromatografisi yöntemi uygulandı. Kolon dolgu maddesi olarak Silikajel 60 HF₂₅₄, (Merck) kullanıldı. Kolona uygulanacak ekstre bir miktar silika ile karıştırıldıktan sonra tamamen kurutuldu. Bu ekstre, miktarına uygun olarak seçilmiş ve boyunun 2/3 oranında aynı tip silikajel adsorban ile doldurulmuş kolonun üst kısmına homojen şekilde yerleştirildi. Yıkama farklı çözücü sistemleri ile yapıldı. Elüe edilen fraksiyonlar tüplere alındı. İnce tabaka kromatografisi ile tüplerdeki maddeler karşılaştırıldı. Benzer fraksiyonlar birleştirildi. Bu işlemlerin sonunda ayrılamayan az miktardaki maddeleri ayırmak ya da saflaştırılmak için daha küçük boyutta silikajel kolon ve Sephadex LH-20 kullanıldı.

3.2.3.2 MOLEKÜLER ELEK KROMATOĞRAFİSİ (SEPHADEX LH-20)

Kolon dolgu maddesi olarak kullanılan Sephadex LH-20, metanol ile 24 saat şişmeye bırakıldı. Belirlenen saatin sonunda, metanolü uzaklaştırmak için, kolon (7:4:1 petrol eteri, CHCl₃, MeOH) sistemi ile yıkandı. Saflaştırılacak madde bir pipetle sephadex üzerine dikkatli bir şekilde yerleştirildi.

3.2.2.3. İNCE TABAKA KROMATORAFİSİ

İnce tabaka kromatografisi (İTK) yöntemi çalışmanın genel olarak her aşamasında kullanıldı. Bu çalışmada kullanılan hazır TLC plakları; alüminyum 20x20 Silica jel 60 F₂₅₄ (MERCK) kullanıldı. Uygun çözücü sistemlerinde yürütülen silikajel plaklar kurutulduktan sonra UV (254 nm)'de incelendi. Ardından plakların üzerine belirteç olarak, serik sülfat püskürtüldü. Plaklar, ısıtıcının üzerinde bekletilerek maddelerin renkleri görünür hale getirildi. Maddelerin saflaştırılmasında İTK ve moleküler elek kromatografisi (Sephadex LH-20) tekniklerinden yararlanıldı.

3.2.2.4. PREPARATİF İNCE TABAKA KROMATOĞRAFİSİ

Bu teknik çiçek etilasetat ekstresinin kaba ayrımlarını sağlamak amacıyla kullanıldı. 100 g Silikajel, 300 ml saf su ile yarım saat çalkalanarak homojen bir süspansiyon haline getirildi. Hazırlanan karışım, 20x20 cm boyundaki cam plaklar CAMAG plak dökme aleti ile 0.5 cm kalınlığında kaplandı. Plaklar oda sıcaklığında bir gece bekledikten sonra, etüvde 105 C⁰ da 1 saat bekletilerek aktive edildi. Plağa uygulanacak materyal, plağın sürüklenme yönüne göre edilerek tatbik edildi. Karışık halde bulunan maddeler, plaklara tatbik edilerek uygun çözücü veya çözücü karışımlarında yürütülerek ayrılmaları sağlandı. Çözücünün plaklar üzerinde yürütülmesinden sonra plaklar oda sıcaklığında kurutuldu. UV ışık (254 nm) altında ve serik sülfat belirteciyle maddelere ait bantlar işaretlendi ve bantlar kazınarak erlenlere aktarıldı. Silikajelin üzerini örtecek kadar kloroform veya aseton ilave edildikten sonra sinterli hunilerde süzüldü ve çözücünün evaporatörde buharlaştırılmasıyla bileşikler saf halde elde edildiler.

3.2.4 SPEKTROSKOPİK YÖNTEMLER

3.2.3.1 UV SPEKTROSKOPİSİ

Spektrumlar Unicam UV/VIS Spektrofotometre cihazında kuvars küvetlerde alındı. Ölçümler bileşiklerin kloroformdaki çözeltilerinde yapıldı.

3.2.3.2 IR SPEKTROSKOPİSİ

IR spektrumları Perkin Elmer Spectrum One FT-IR Spectrometer aletinde alınmıştır.

3.2.3.3 H NMR SPEKTROSKOPİSİ

¹H NMR, COSY, NOE, HMBC, HMQC (400 MHz) , ¹³C-NMR, APT (100 MHz) spektrumları Varian Mercury Plus aletinde alınmıştır.

3.2.5. BELİRTEÇLER

Serik sülfat belirteci: 10 g Seryum (IV) sülfat, 50 mL sülfürik asit, 50 ml saf su karışımı 500 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

3.2.6. ÇÖZÜCÜLER

Ekstraksiyon işlemlerinde ve sütun kromatografisi ön ayırma işlemlerinde teknik çözücüler tekrar distile edildikten sonra kullanıldı. Maddelerin saflaştırılmasında Merck çözücüler, spektral analizler için spektroskopik çözücüler kullanıldı.

3.3 BİTKİNİN ETİLASETAT EKSTRESİNDEKİ BİLEŞİKLERİN İZOLASYONU VE SAFLAŞTIRILMASI

Tanacetum zahlbruckneri bitkisinin çiçek etilasetat ekstresi üzerinde yapılan İTK sonuçları doğrultusunda etilasetat ekstresine pİTK uygulandı. Çözücü sistemi olarak (8hekzan-5kloroform-2eter) kullanıldı. pİTK’da P-1, P-2, P-3, P-4, P-5, P-6 kodlu 6 bant elde edildi. P-6 kodlu banttan elde edilen bileşik A bileşiği (1.6 mg) olarak adlandırıldı.

7,50 gr çiçek etilasetat ekstresi, kolon kromatografisinde aşağıdaki çözücü sistemleri ile fraksiyonlandırıldı. Yapılan ilk kolon kromatografisi K(I)’de aşağıdaki çözücü sistemleri kullanıldı.

Kod	Hareketli Faz
K(I)- 1	Toluen %100
K(I)- 2	Toluen + Etilasetat 90:10
K(I)- 3	Toluen + Etilasetat 75: 25
K(I)- 4	Toluen + Etilasetat 50:50
K(I)- 5	Etilasetat %100
K(I)- 6	Etilasetat + Metanol 90:10
K(I)- 7	Etilasetat + Metanol 50:50
K(I)- 8	Metanol %100
K(I)- 9	Metanol + H ₂ O 50:50

Kolondan 9 elüat alındı. Elüatlar İTK ile incelendi. İlk üç fraksiyon yağlı bileşikler içermesi nedeniyle çalışılmadı. K(I)- 4 (191.453 mg) fraksiyonuna kolon kromatografisi uygulandı. Bu kolon kromatografisi K(II) olarak adlandırıldı. Ayırımın daha iyi olması amacıyla, kolondan elüe olan fraksiyonlar 3’er mL’lik 192 tüpe toplandı. Aşağıdaki tabloda K(II) kolonundan alınan fraksiyonlar, kullanılan çözücü sistemleri ve birleştirilen fraksiyonlar sıra ile verilmektedir.

Birleştirilmiş Fraksiyon Kodları	Hareketli Faz	Fraksiyonlar
K(II).1	8 Hekzan – 2 Aseton	1- 39
K(II).2	"	39- 71
K(II).3	"	72-192 [B Maddesi 27.1 mg]

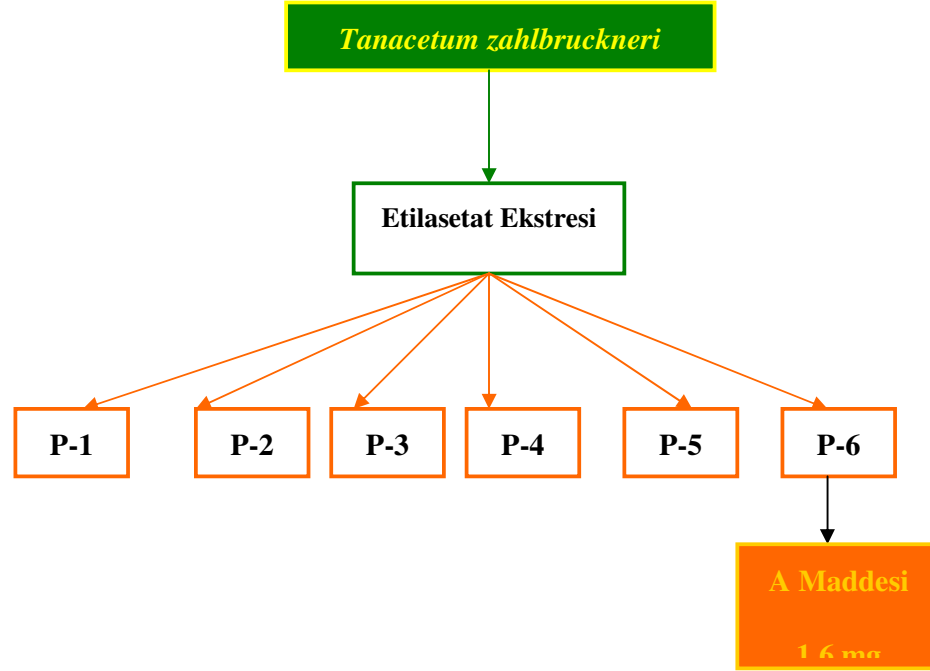
K(II) kolonundan elüe olan K(II).2, pITK sonucunda K(II).2.1- K(II).2.2- K(II).2.3 K(II).2.4- K(II).2.5- K(II).2.6- K(II).2.7- K(II).2.8 kodlu 8 banta ayrıldı. K(II).2.6, K(II).2.8 fraksiyonları K(I)- 6 fraksiyonu ile birleştirilerek kolon kromatografisi (K.III) yapıldı.

K(II).3' deki safsızlıkları uzaklaştırmak amacıyla kolon kromatografisi uygulandı. Dolgu maddesi olarak Sephadex LH-20 kullanıldı. Kolon, 140 petrol eteri- 80CHCl₃ – 20 MeOH çözücü sistemi ile elüe edildi. Bunun sonucunda B bileşiği (27.1 mg) saf olarak elde edildi.

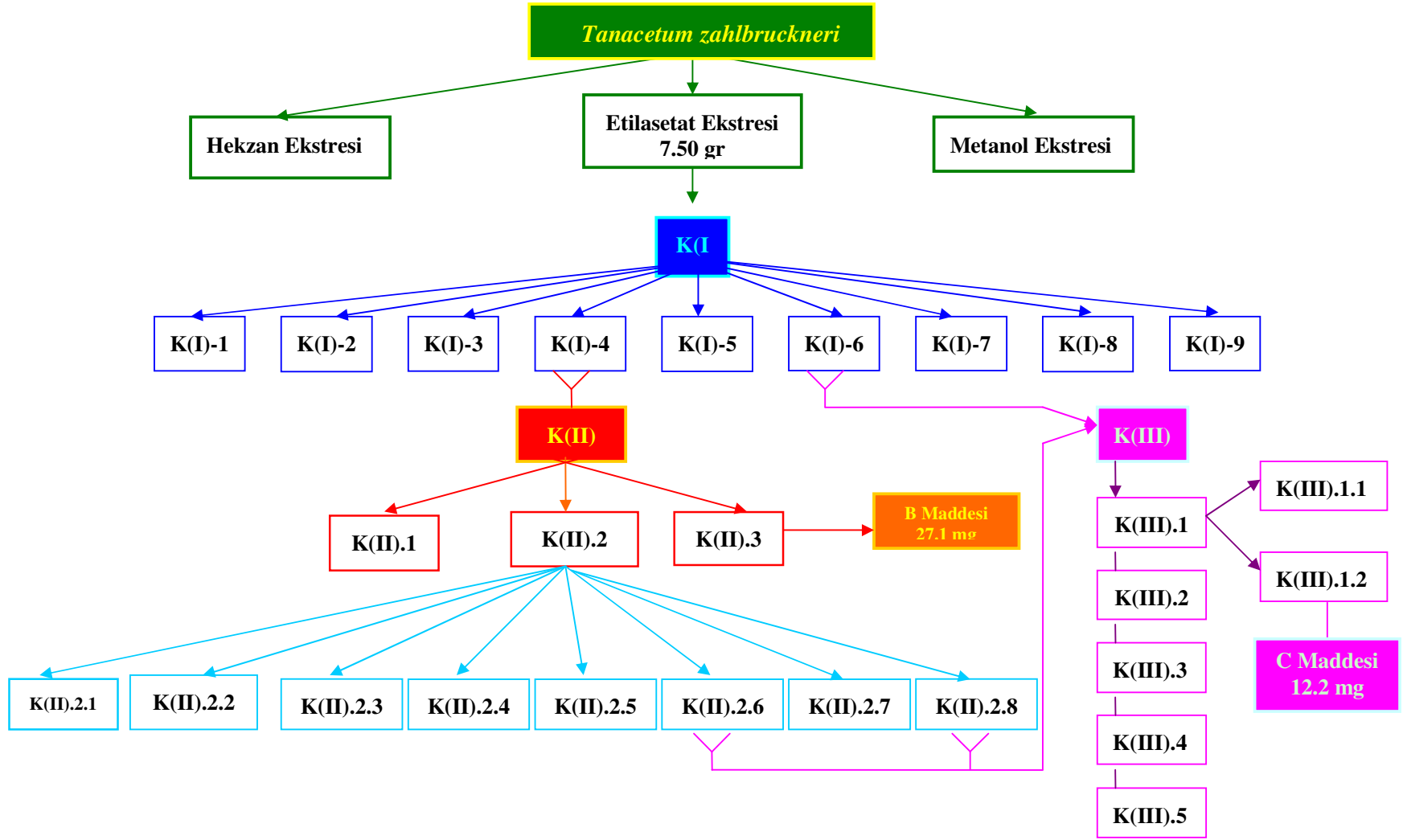
ITK'lar sonucunda benzer maddeler içerdiği düşünülen K(I)- 6 + K(II).2.6 + K(II).2.8 (4.13 gr) birleştirilerek tekrar kolon kromatografisi yapıldı. Bu kolon çalışması da K(III) olarak adlandırıldı. Aşağıdaki tabloda K(III) kolonundan alınan fraksiyonlar, kullanılan çözücü sistemleri ve birleştirilen fraksiyonlar sıra ile verilmektedir. Bu çalışma sonucunda üç bileşik elde edildi. Şekil 3.1 'de bu bileşiklerin farklı çözücü sistemlerindeki kromatogramı verilmektedir.

Birleştirilmiş Fraksiyon Kodları	Hareketli Faz	Fraksiyonlar
K(III)- 1	CHCl ₃ (200mL)	1-18
K(III)- 2	9 CHCl ₃ -1 Eter (500mL)	18-61
K(III)- 3	8 CHCl ₃ -2 Eter (700mL)	61-118
K(III)- 4	7 CHCl ₃ -3 Eter (200mL)	118-130
K(III)- 5	1 CHCl ₃ -1 Eter (200mL)	131-151

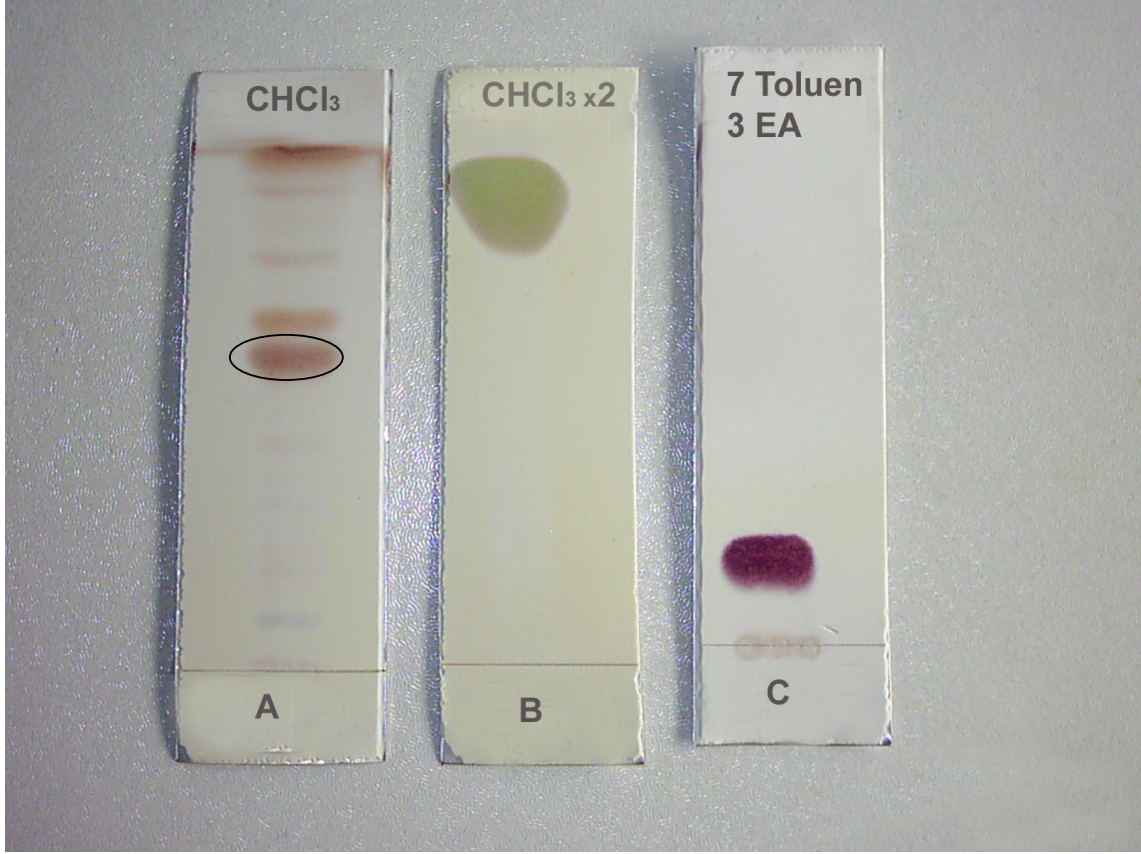
K(III)-1'de gözlenen maddeleri ayırmak için yapılan pITK sonucunda K(III)- 1.1 ve K(III)- 1.2 kodlu iki bant elde edildi. Bu bantlardan K(III)- 1.2' den C (12.2 mg) bileşiği elde edildi.



Çizelge 3.1 Deneysel Çalışma Çizelgesi A



Çizelge 3.2 Deneysel Çalışma Çizelgesi B

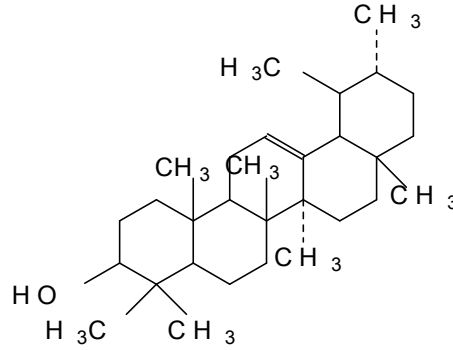


Şekil 3.1 Elde Edilen Bileşiklerin ITK Sonuçları

4. BULGULAR

4.1. TRİTERPEN

4.1.1 A BİLEŞİĞİ; α - amirin



α - amirin

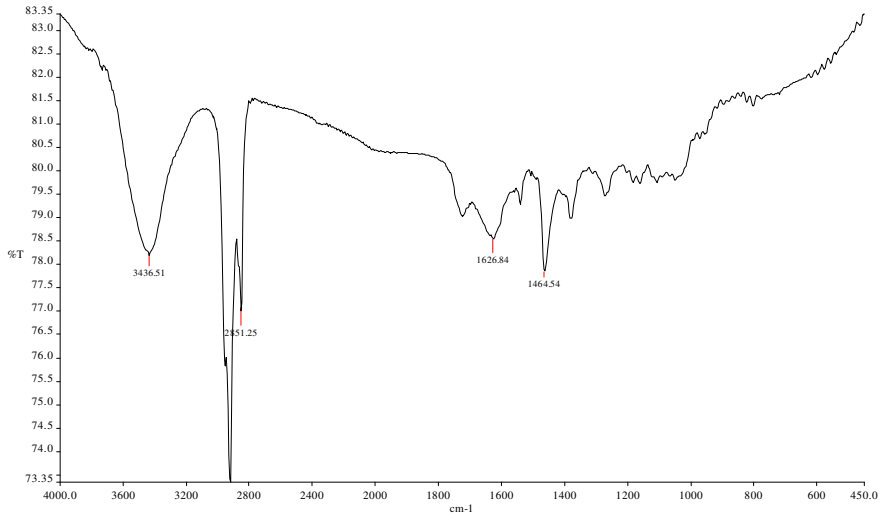
A bileşiği renksiz kristal halinde, silikajel plakta UV ışığı altında görünmeyen, Serik sülfat belirteci püskürtülüp 110 °C de bekletildiğinde kahve-mor arası renk alan bir bileşiktir.

IR spektrumu (CHCl_3) 3400 cm^{-1} de hidroksil grubunu ve 1650 cm^{-1} doymamışlık pikini göstermektedir. 1455 cm^{-1} de metil gruplarının gerilim titreşimlerini, 1380 ve 1360 cm^{-1} de belirgin şekilde yarılmış pikler bir gem-dimetil grubunun varlığını ortaya koymuştur (Şekil 4.1).

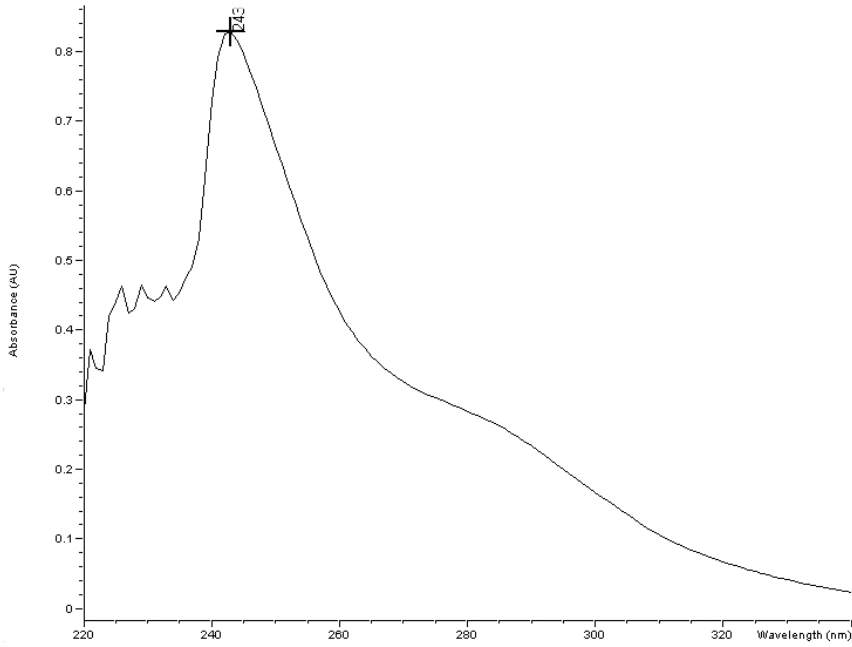
UV spektrumunda (MeOH) 243 nm de çifte bağa ait bir uç absorbans gözlenmektedir (Şekil 4.2).

^1H NMR spektrumunda (CDCl_3) üst alanda izlenen metil pikleri bileşiğin triterpen yapısında olduğunu belirtmiştir. 0.79, 0.85, 0.87, 0.96, 1.04, 1.06 ppm'lerde ki singletler ile metil grupları izlenmiştir. 1.00 ve 1.02 ppm' lerede dupletler ($J= 6.5$ Hz) şeklindeki sekonder metil grupları ise bileşiğin ursan tipi triterpen olduğunu göstermiştir. 3.24 ppm deki duplet ($J= 5.10$ Hz) oksijen fonksiyonuna komşu metilen protonunu (H-3 α), 5.18 ppm'deki triplet ($J= 2.5$ Hz) ise bir vinilik protonu (H-12) göstermektedir (Şekil 4.3).

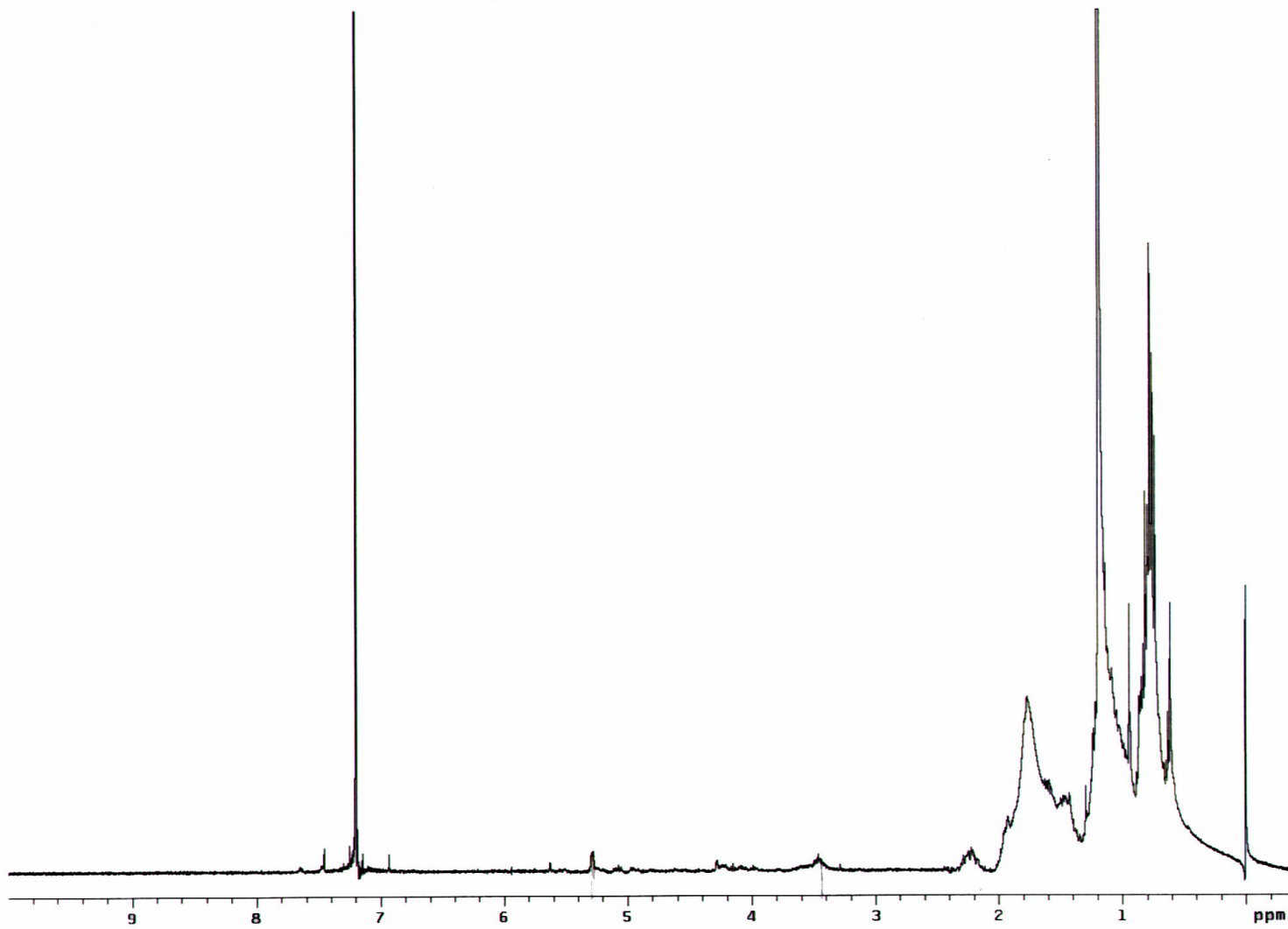
Ursan yapısında olduğu anlaşılan bu triterpene bitkilerde sık rastlanan bir triterpen olan α - amirin olduğu standart madde ile çeşitli çözücü sistemlerinde ince tabaka kromatografisi ile kontrol edilerek anlaşılmıştır.



Şekil 4.1 A Bileşiminin IR Spektrumu (CHCl₃)

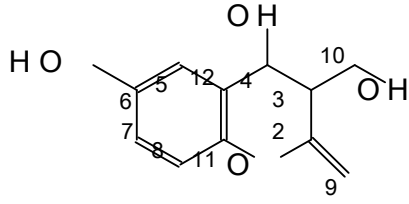


Şekil 4.2 A Bileşiminin UV Spektrumu (CHCl₃)



Şekil 4.3 A Bileşiminin ¹H NMR Spektrumu (CDCl₃, , 400 MHz)

4.2 B BİLEŞİĞİ



B bileşiği beyaz renkli, amorf bir bileşik olup, silikajel plakta UV (254 nm) ışık altında esmer renkte görünmektedir. Serik sülfat belirteci püskürtülüp 110 °C de bekletildiğinde rengi önce sarı-yeşil daha sonra kahverengiye dönüşmektedir.

IR spektrumunda (CHCl₃), 3435 cm⁻¹ de hidrosil grubuna ait O-H gerilim bantları, 3080 cm⁻¹ de aromatik gruba ait bant, 2969- 2851 cm⁻¹ de C-H gerilim bantları, 1607 cm⁻¹ C=C gerilim bantları, 1095 cm⁻¹ etere ait pik gözlenmektedir (Şekil 4.4).

UV spektrumunda (CHCl₃), 288 nm de benzen piki, 243 nm de ise çifte bağa ait pikler gözlenmektedir (Şekil 4. 5).

Dötöro kloroformda üst üste çıkan ve tanımlanamayan protonlar sinyalleri nedeniyle bileşiğin ¹H NMR ve diğer NMR spektrumları dötöro benzende alındı. Buna göre δ 2.30 da (H-3, m), δ 4.26 da (H-4 d, J= 4.29 Hz) metin protonlarına ait pikler gözlendi. δ 3.34 (H-10 dd, J= 9;3.5 Hz) ve δ 3.60 (H-10', dd, J= 9;7 Hz) 'da oksijen fonksiyonuna bağlı metilen protonlarına ait sinyaller, δ 5.01 ve δ 5.02 'da ekzosiklik metilen protonlarına ait sinyaller (H-9 ve H9', d, J= 1.17 Hz) gözlendi. δ 6.58 (H5, d, J= 1.17 Hz), δ 6.31 (H7, dd, J= 7.8;1.56 Hz), δ 6.35 (H8, d, J= 8.19 Hz) da aromatik yapıya ait pikler gözlendi (Şekil 4.13).

Bileşiğin APT tekniğine göre dötöro benzende alınan ¹³C-NMR spektrumunda biri oksijen fonksiyonuna bağlı 2 metin karbonu (C-3, 54.56 ve C-4, 82.023) , 1 olefinik metilen karbonu (C-9, 101.31), 1 oksijen fonksiyonuna bağlı metilen karbonu (C-10, 71.60), iki tanesi üst üste gelen 4 katerner karbon (C-2, 6, 11, 12, 148.32, 148.32, 147.32, 136.058) ve 3 aromatik olefinik metin (C-5, 120.5; C-7, 106.9; C-8, 108.18) sinyalleri gözlendi (Şekil 4.14).

Protonların birbirleriyle etkileşimini göstermek amacı ile bileşiğin COSY spektrumu CDCl₃ alındı (Şekil 4.8). COSY spektrumunda protonlar arasındaki etkileşimin iyi gözlenememesi nedeniyle, madde üzerinde ayrıca spin decoupling deneyleri yapılarak H-3, H-4 ve H-10 protonlarının birbirleriyle etkileştikleri saptandı (Şekil 4.9).

DEPT (CDCl_3) spektrumu ile proton taşıyan tüm C' lar ayrı spektrumlar halinde izlendi. metin karbonları (C-3) 54.56 ppm; (C-4) 82 ppm; (C-5) 120 ppm; (C-7) 106 ppm; (C-8) 108 ppm' de görülmektedir. Metilen karbonları (C-9) 101.31 ppm; (C-10) 71.60 ppm' de saptandı (Şekil 4.10).

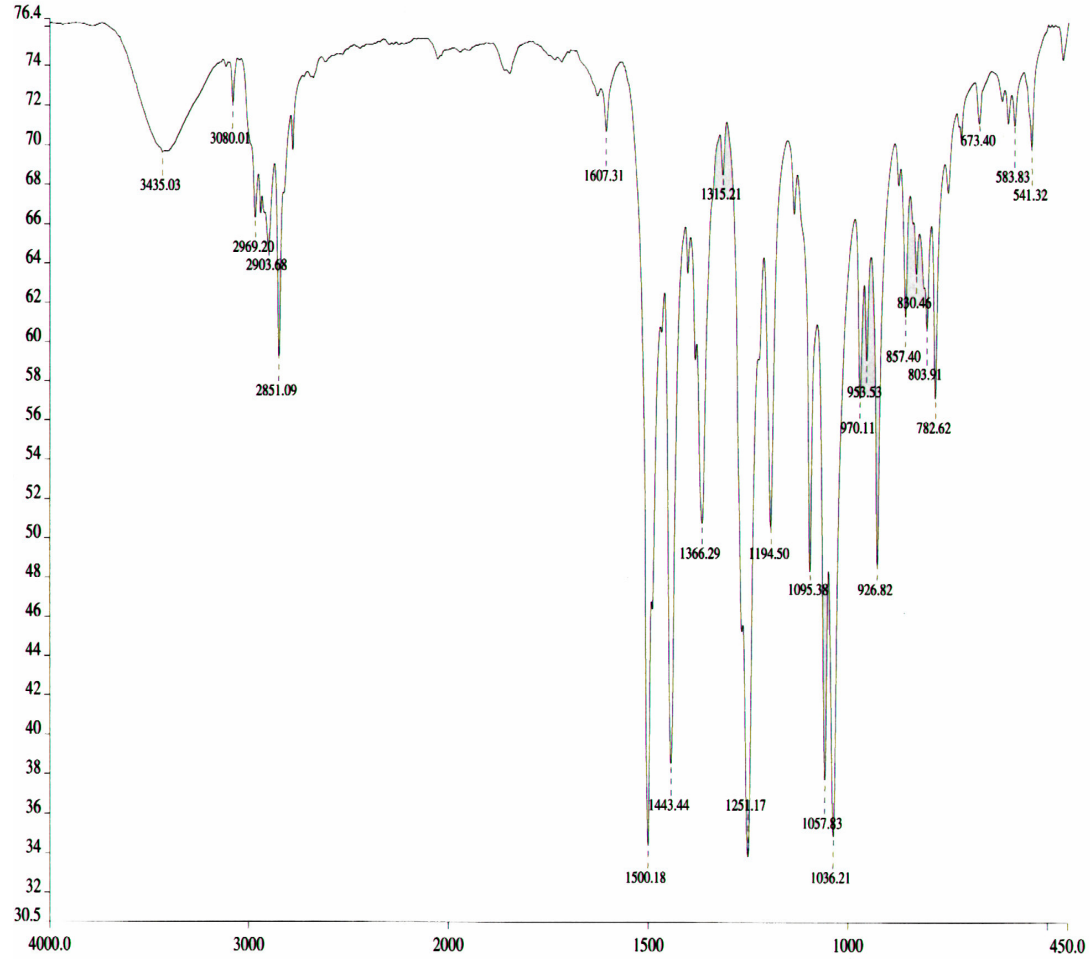
HSQC (C_6H_6) spektrumu ile hangi protonun hangi karbona bağlı olduğu saptandı. HSQC spektrumunda δ 2.30 (H-3)-54.56 (C-3) ; δ 4.26 (H-4)- 82.023 (C-4); δ 3.34 (H-10) ve δ 3.60 (H-10')-71.60 (C-10); δ 5.01 (H-9) ve δ 5.02 (H-9')-101.31 (C-9) tek bağ korelasyonları gözlemlendi (Şekil 4.16).

HMBC (CDCl_3) spektrumunda ise 2 ya da 3 bağ üzerinden karbon-proton korelasyonları izlenmiştir. Buna göre H-3, H-4, H-10, H-10' protonları ile C-3 karbonu arasındaki korelasyon ve ayrıca H-4 protonu ile aromatik yapıda bulunan C-5 ve C-8 karbonları arasındaki korelasyon gözlemlendi (Şekil 4.11).

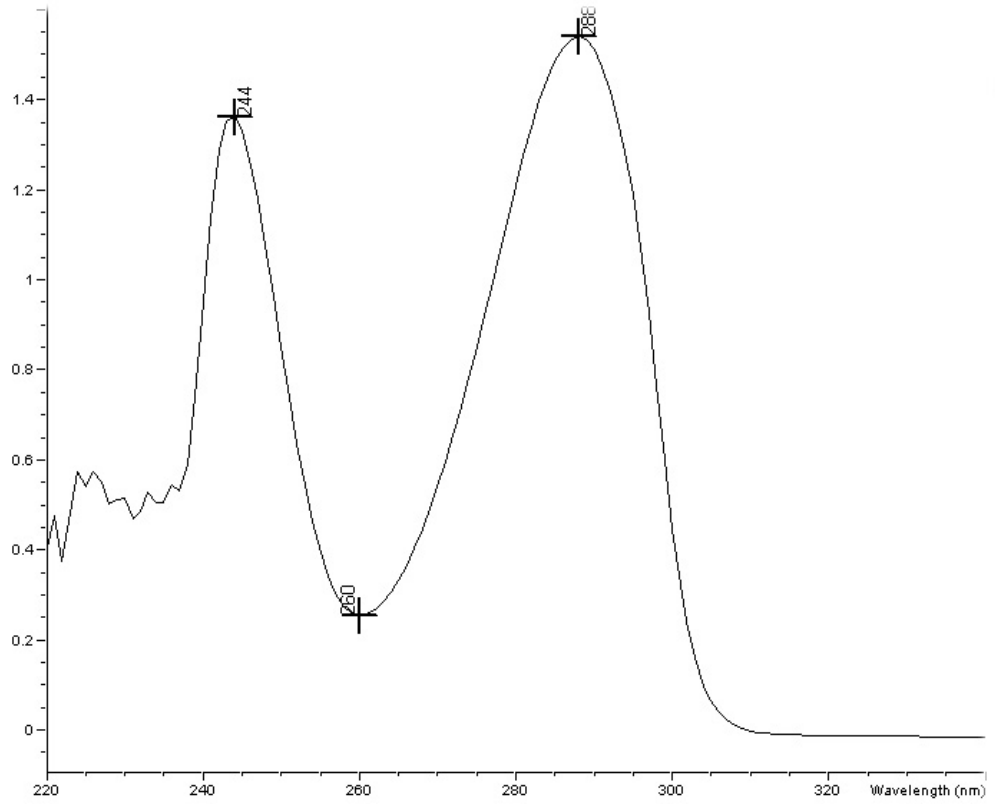
Molekülün stereokimyasal yapısını belirlemek amacıyla NOESY (CDCl_3) spektrumu alındı. Bu spektrumda alınan sonuçlar: δ 2.30 (H-3) çıkan pikin, δ 3.60 (H-10), δ 3.34 (H-10') ve δ 4.26 (H-4)' daki piklerle korelasyon göstermesi aynı düzlemde olabileceklerini gösterdi. δ 4.26 (H-4)'daki pikin δ 3.60 (H-10), δ 3.34 (H-10') ve δ 6.58 (H-5) ile korelasyonu gözlemlendi. δ 6.58 (H-5) pikinin δ 4.26 (H-4)'daki pik ile etkileştiği gözlemlendi. δ 5.40 (H-9)'da gözlenen pikin δ 2.30 (H-3), δ 3.34 (H-10) ve δ 3.60 (H-10') ile korelasyon vermesi ise yine bu protonlarında aynı düzlemde olabileceklerini göstermektedir (Şekil 4.18).

H	¹ H NMR (400 MHz) (C ₆ H ₆)	NOESY(400 MHz) (C ₆ H ₆)	C	¹³ C APT (100 MHz) (C ₆ H ₆)
3	δ 2.30 ddd	H-10;H-10';H-4; H-9	2	148.32(+)
4	δ 4.26 d (J = 4.29 Hz)	H-10;H-10';H-5	3	54.56 (-)
5	δ 6.58 d (J = 1.17),	H-4	4	82.023 (-)
7	δ 6.31 dd (J = 7.8; 1.56)	H-4; H-5	5	120.50 (-)
8	δ 6.35 d (J = 8.19)	H-4; H-5	6	148.32(-)
H9'	δ 5.02 d (J = 1.17 Hz)	H-10;H-10';H-3	7	106.90(+)
H-9	δ 5.01 d (J = 1.17 Hz)	-	8	108.18(+)
10	δ 3.34 dd (J = 9; 3.5 Hz)	H-4; H-9; H-10'	9	101.31(+)
10'	δ 3.60 dd (J = 9; 7 Hz)	H-10	10	71.60(+)
			11	147.32(+)
			12	136.058(-)

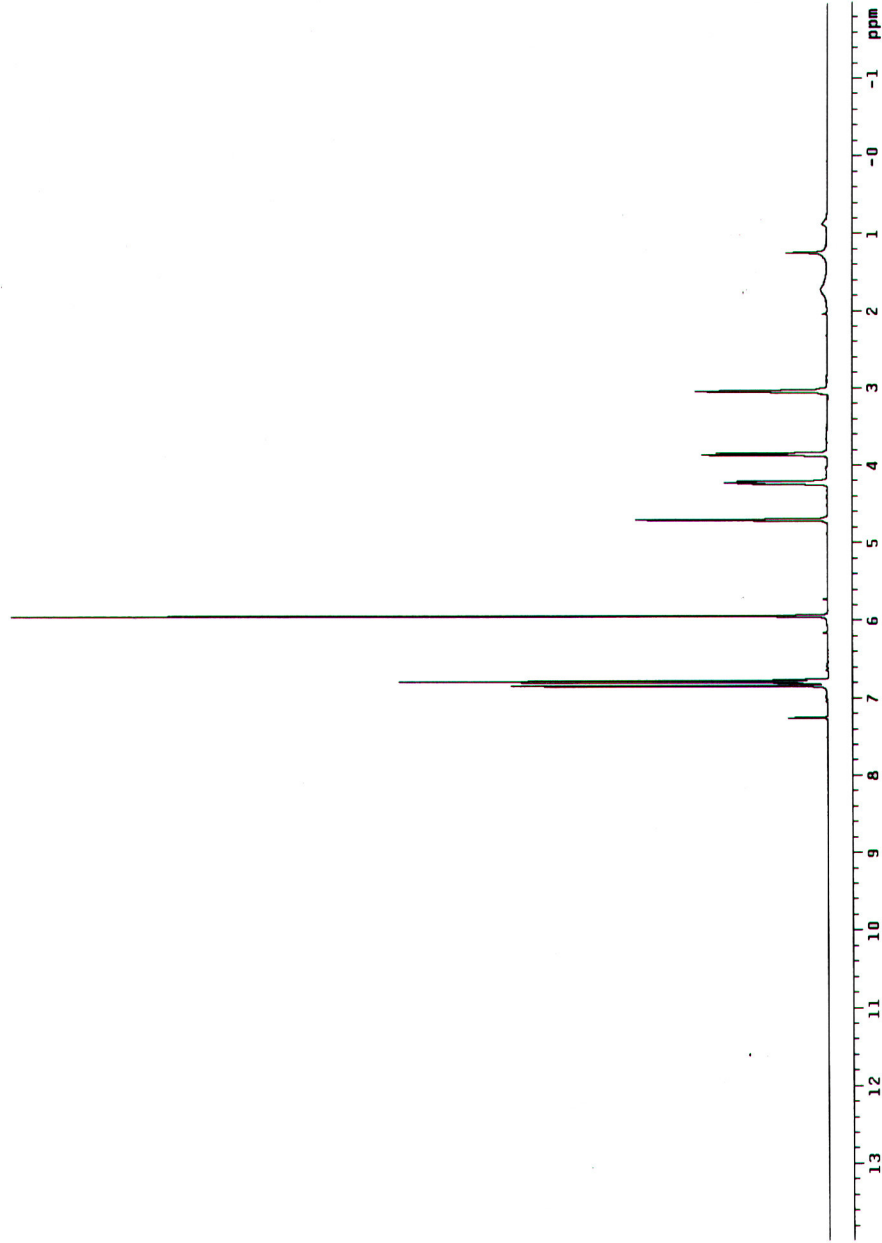
Çizelge 4.1 NMR- B ¹H NMR, NOESY ve ¹³C APT Spektral Değerleri

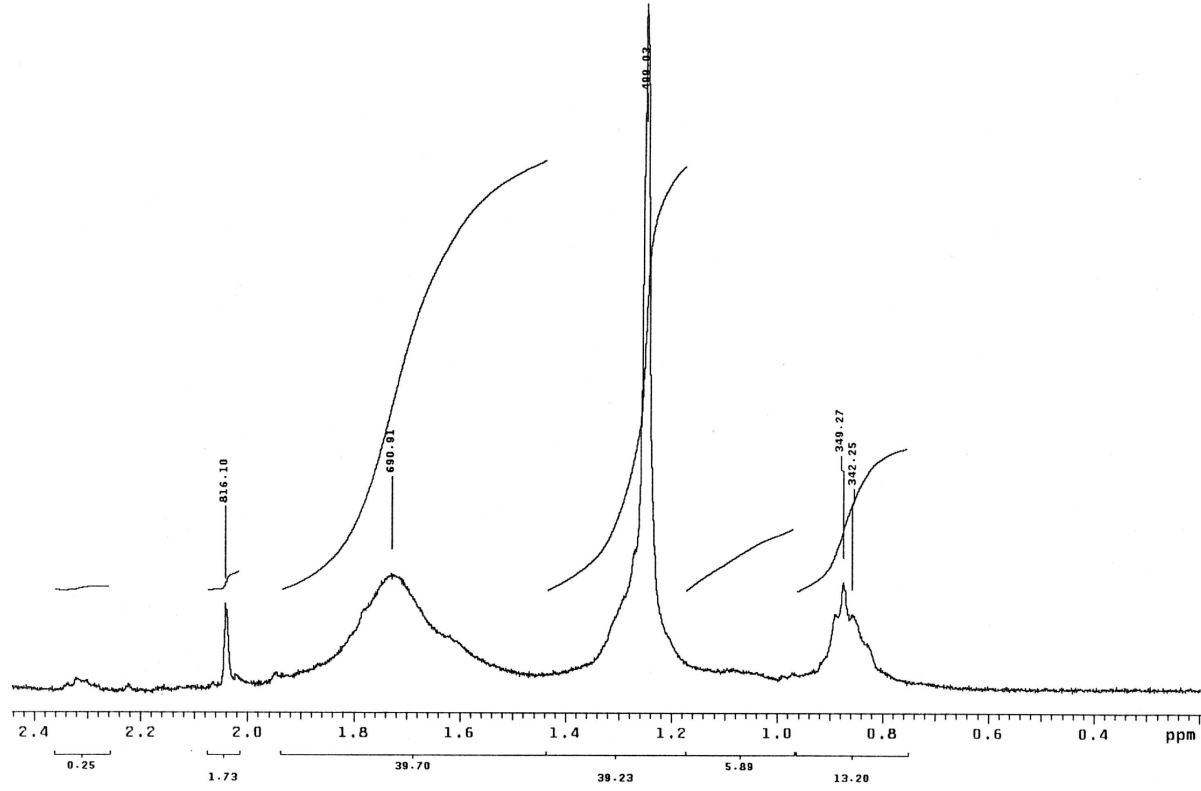


Şekil 4.4 B Bileşiğinin IR spektrumu (CHCl₃)

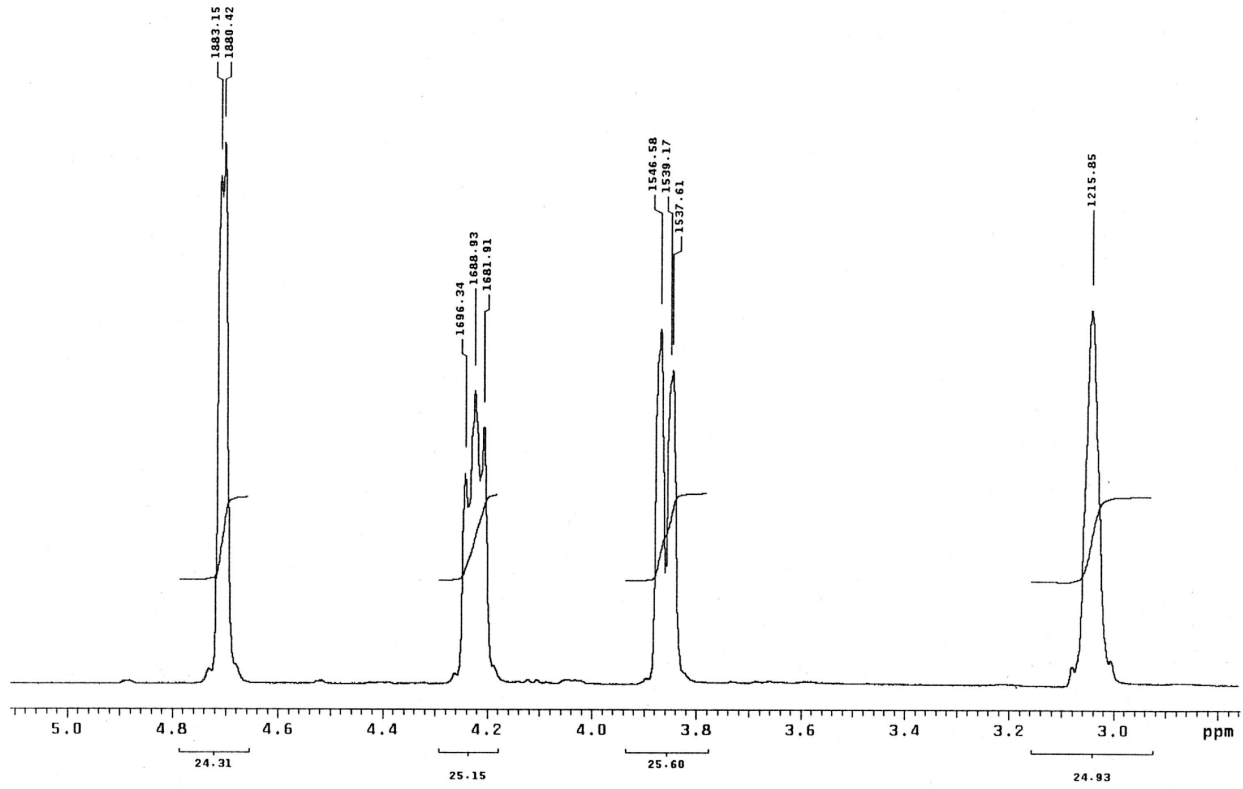


Şekil 4.5 B Bileşğinin UV spektrumu (CHCl₃)

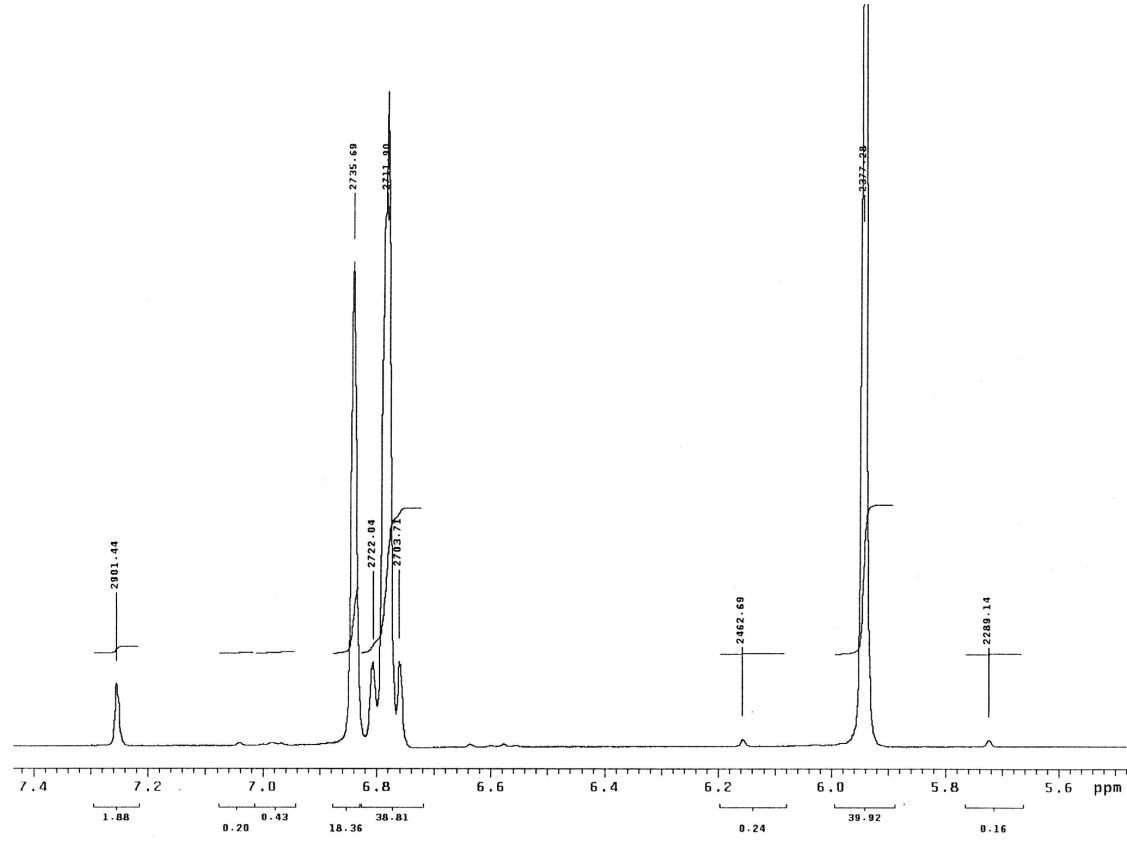
4.2 B BİLEŞİĞİ'NİN CDCl₃ İLE ALINAN SPEKTRAL SONUÇLARI;**Şekil 4.6 B Bileşiminin ¹H NMR Spektrumu (CDCl₃)**



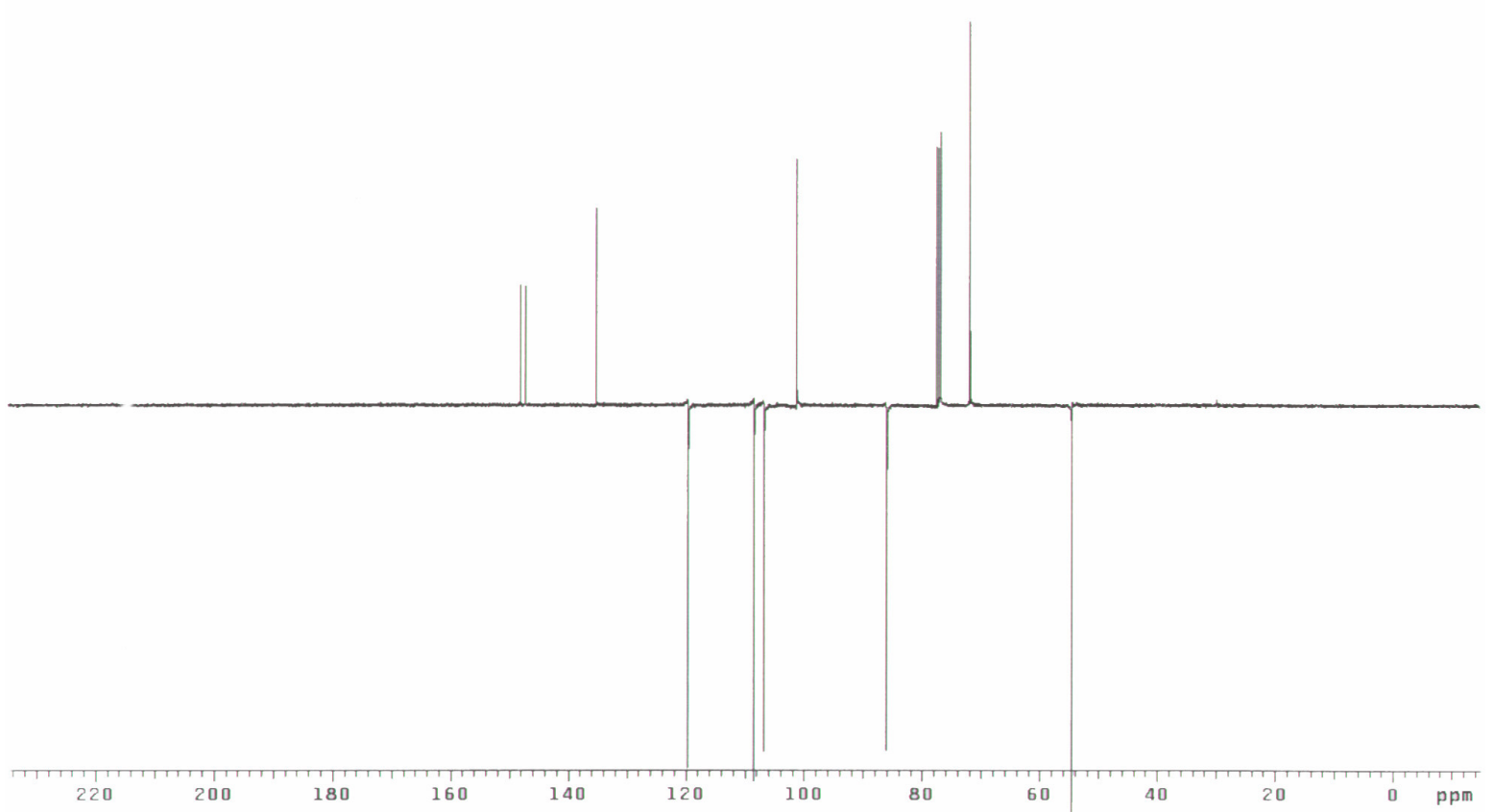
Şekil 4.6 .1 B Bileşiğinin ^1H NMR Spektrumu (CDCl_3)



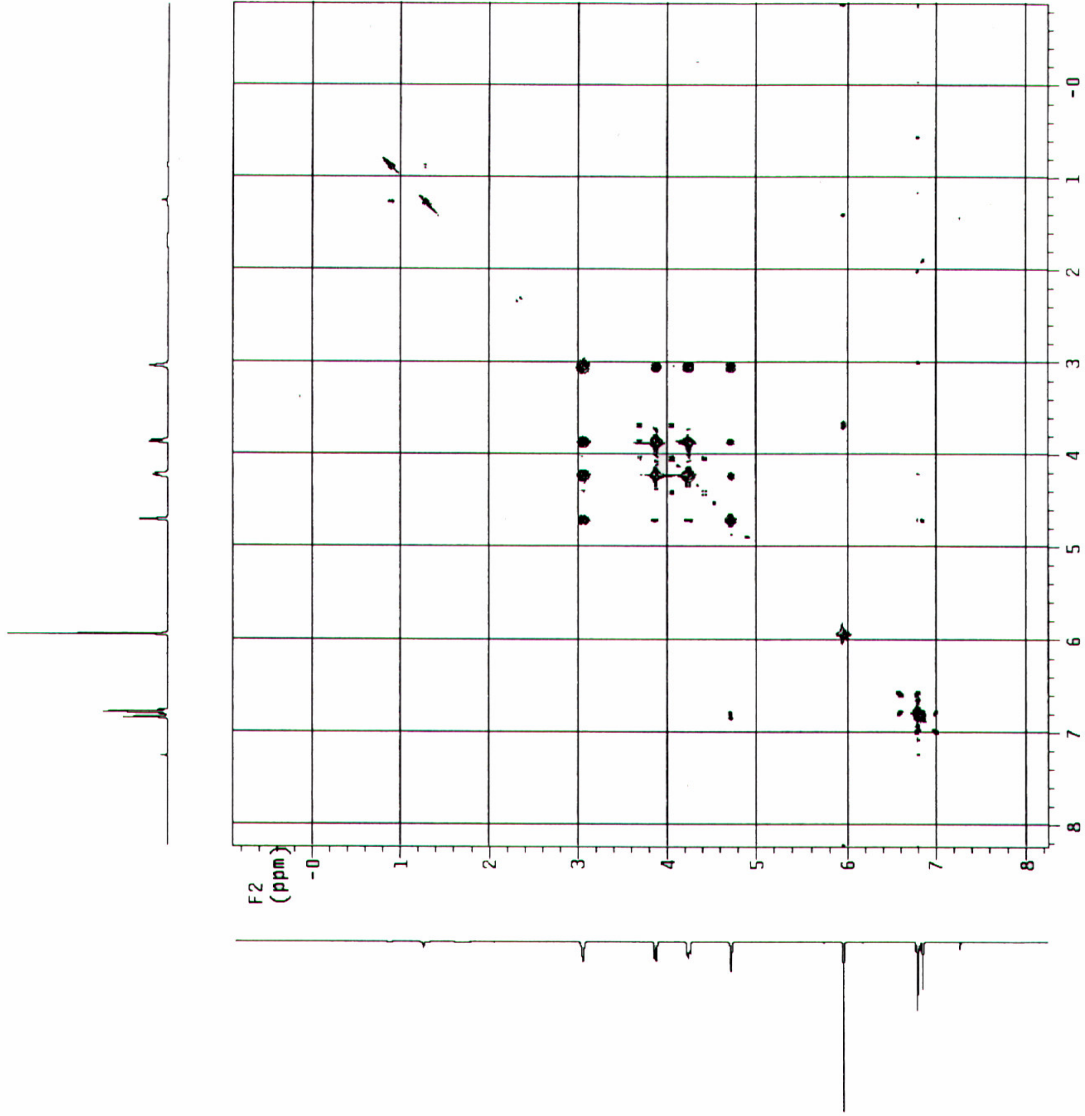
Şekil 4.6.2 B Bileşiğinin ¹H NMR Spektrumu (CDCl₃)



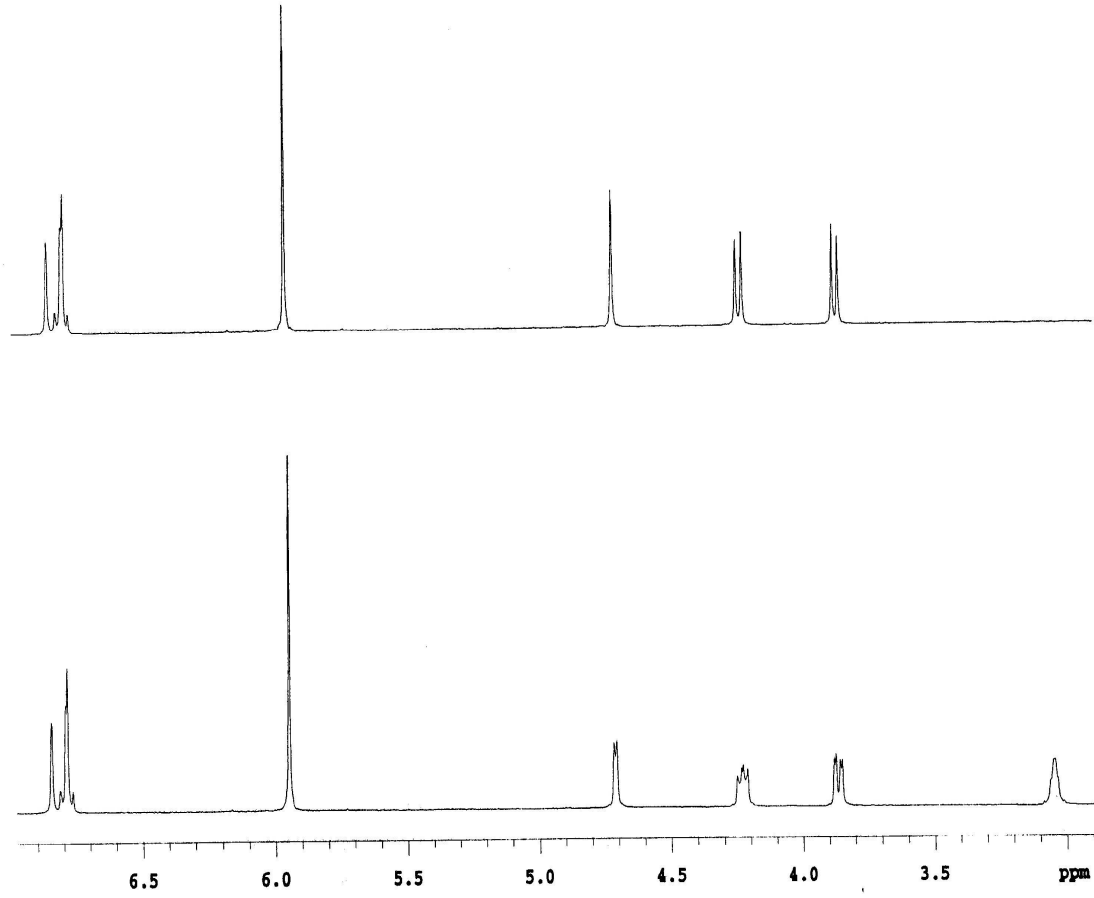
Şekil 4.6.3 B Bileşiğinin ^1H NMR Spektrumu (CDCl_3)



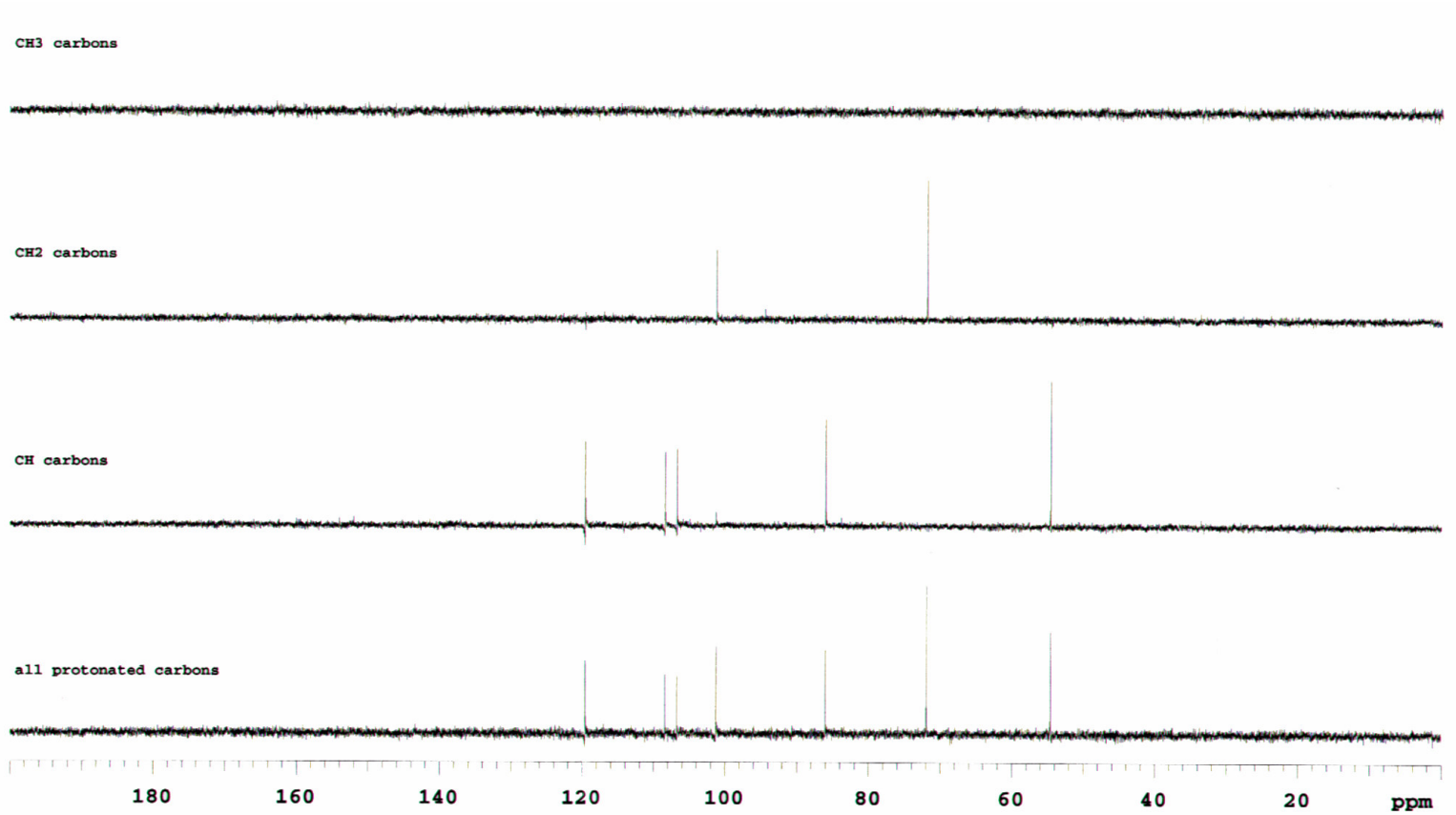
Şekil 4.7 B Bileşiğinin ^{13}C APT Spektrumu (CHCl_3)



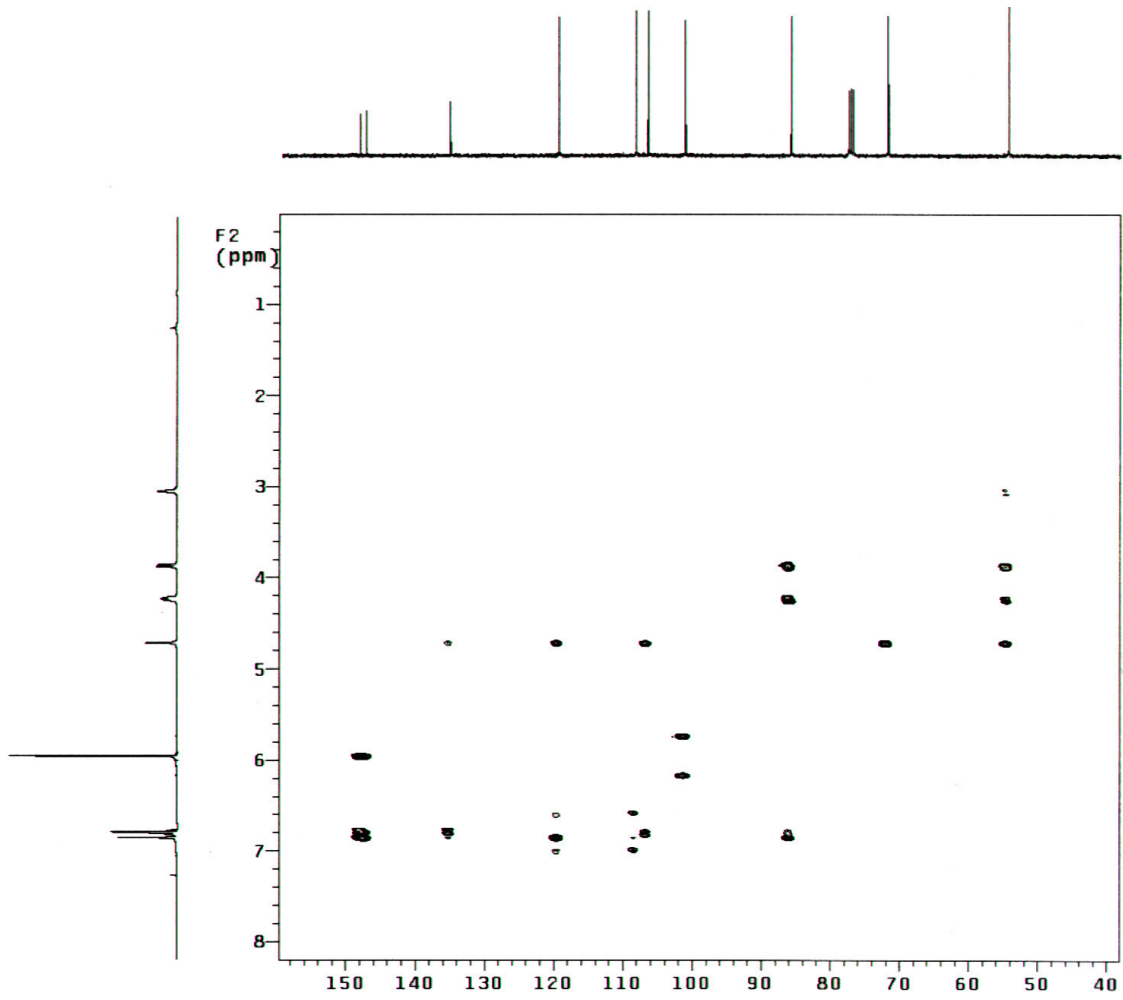
Şekil 4.8 B Bileşiğinin COSY Spektrumu (CHCl_3)



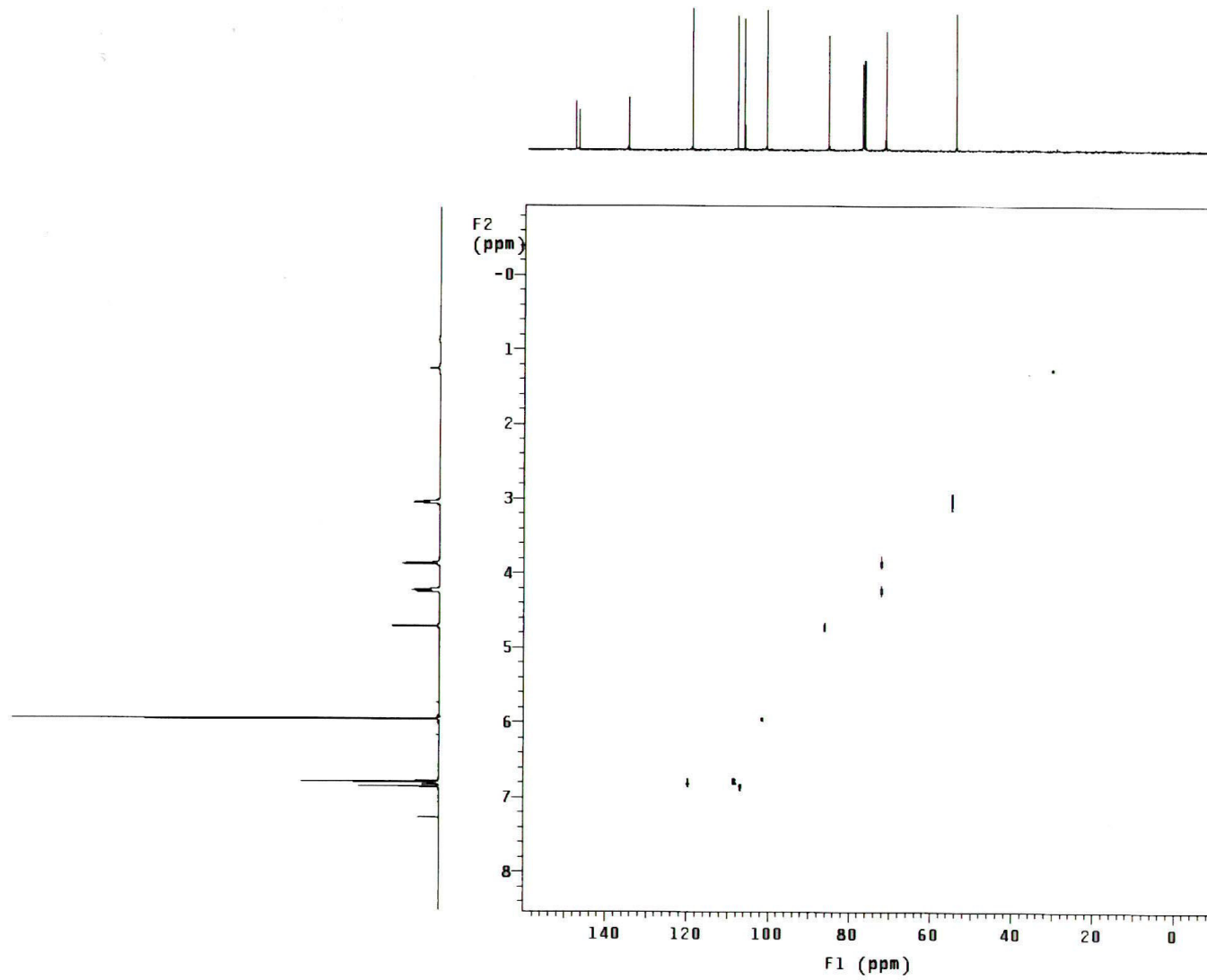
Şekil 4.9 B Bileşiğinin Spin- Spin Etkileşimi (CHCl₃)



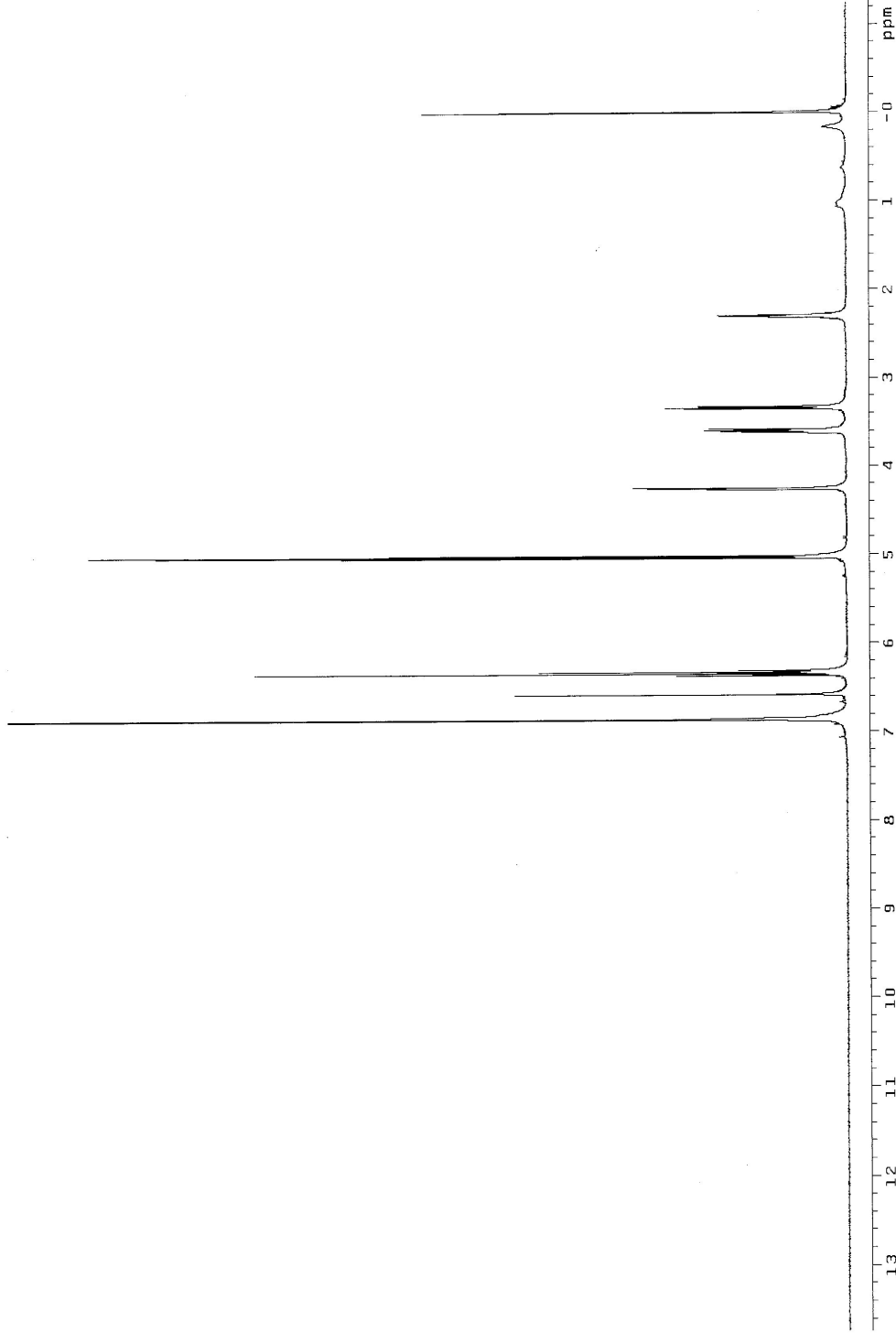
Şekil 4.10 B Bileşiğinin DEPT Spektrumu (CDCl₃)

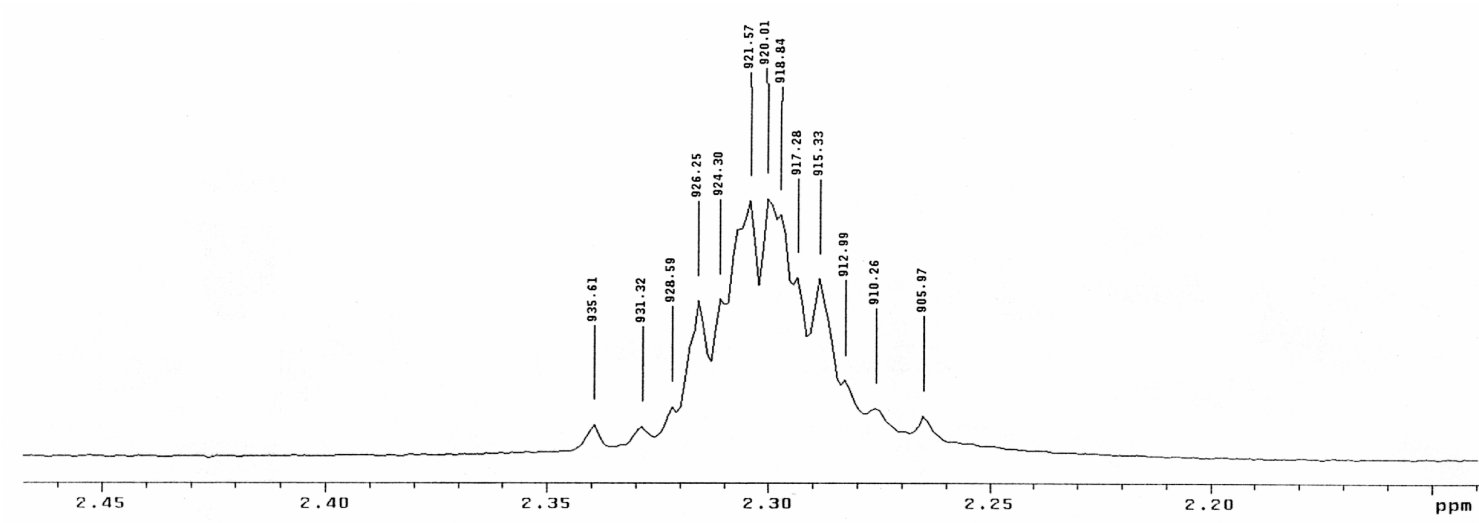


Şekil 4.11 B Bileşiğinin HMBC Spektrumu (CDCl₃)

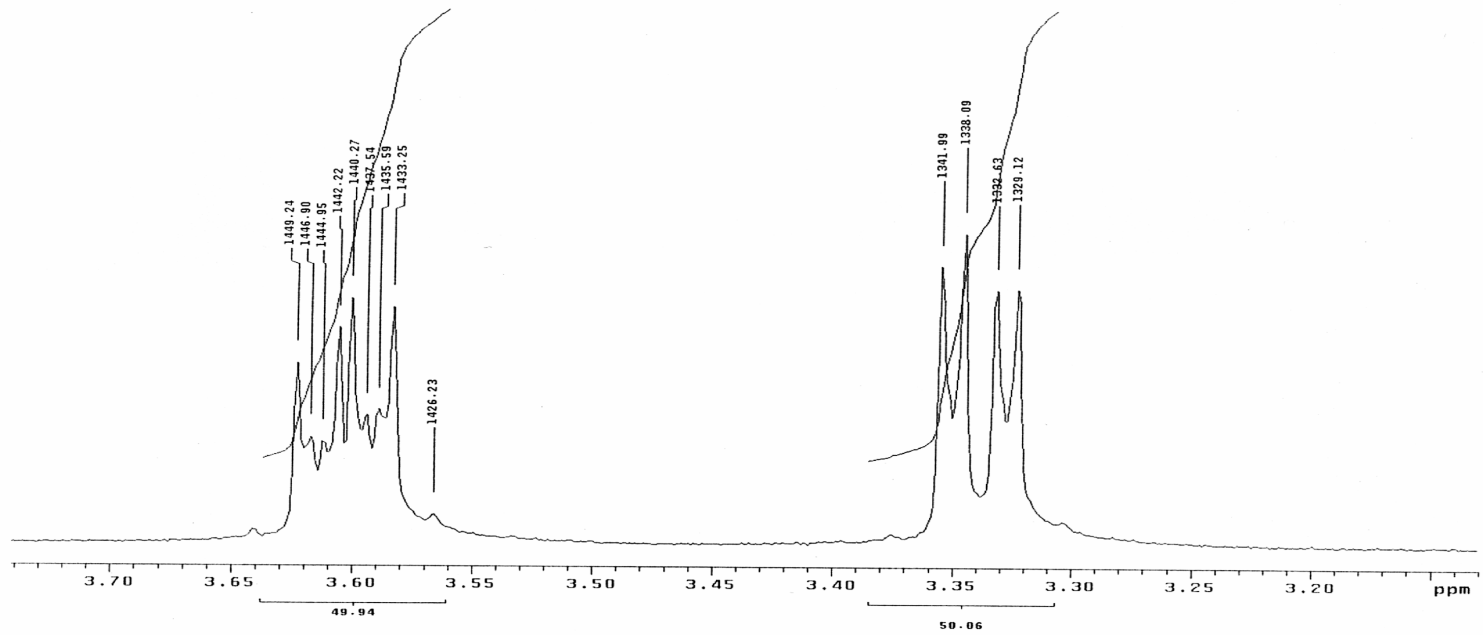


Şekil 4.12 B Bileşiğinin HSQC Spektrumu (CDCl₃)

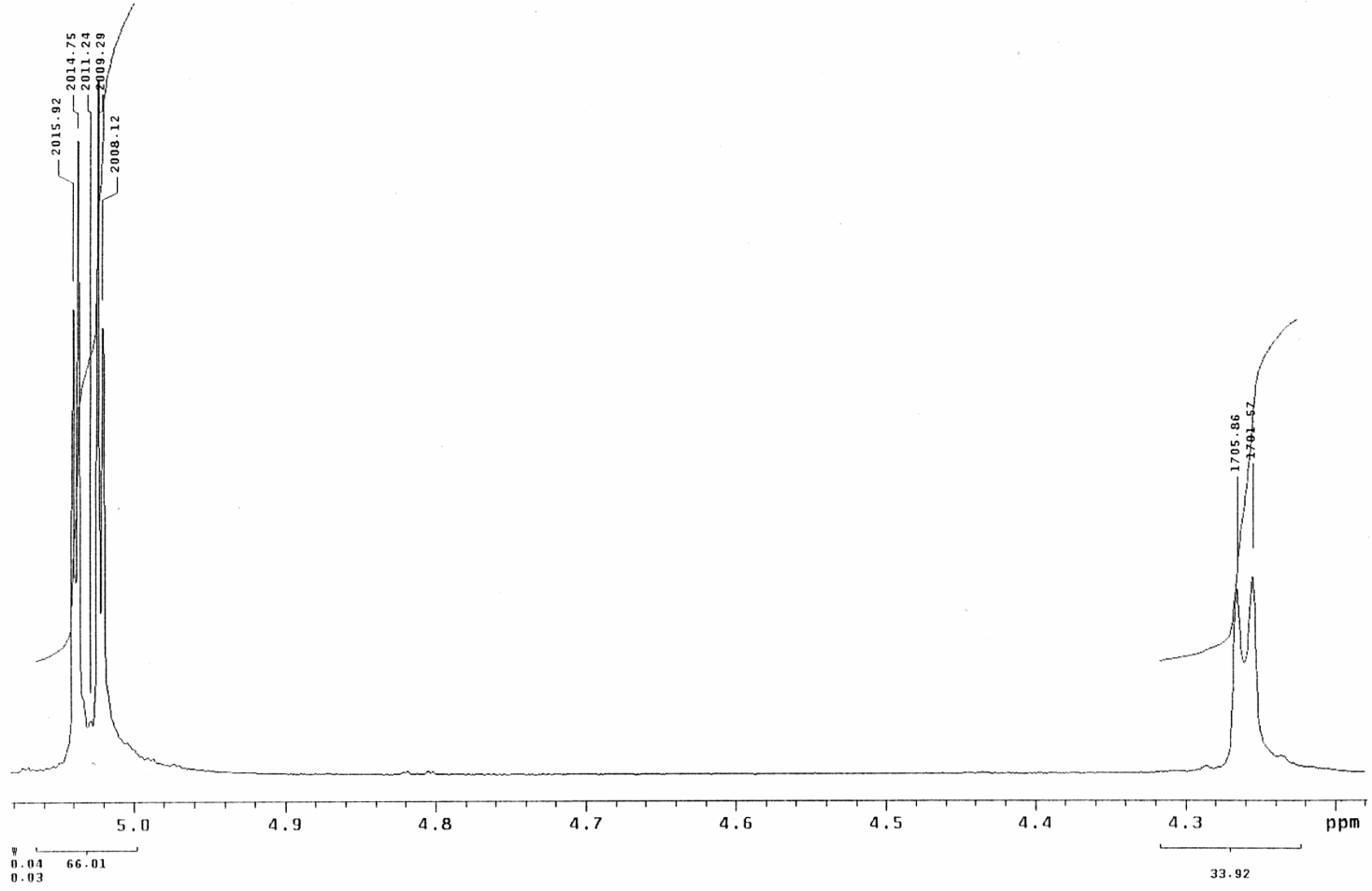
4.1.2.2 B BİLEŞİĞİNİN C₆H₆ İLE ALINAN SPEKTRUMLARI SONUÇLARI;**Şekil 4.13 B Bileşiminin ¹H NMR Spektrumu (C₆H₆)**



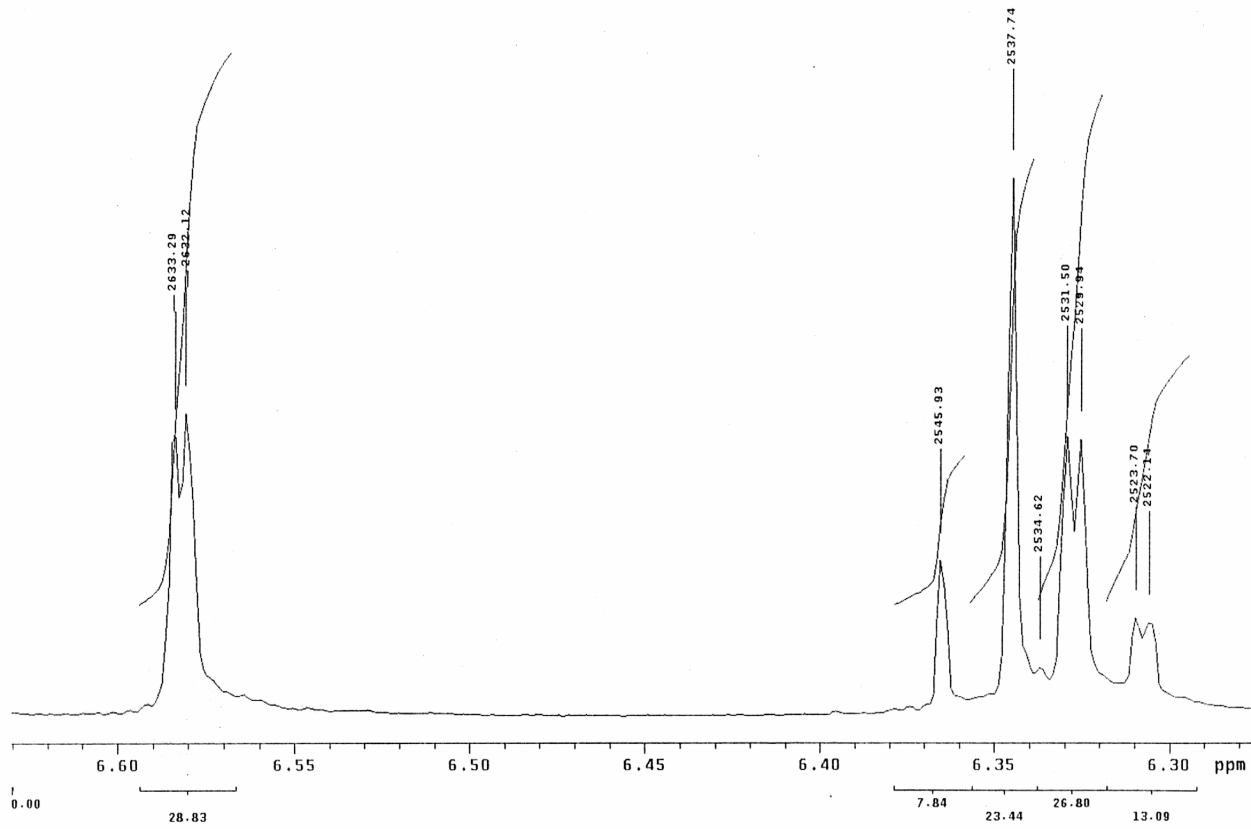
Şekil 4.13.1 B Bileşiğinin ^1H NMR Spektrumu (C_6H_6)



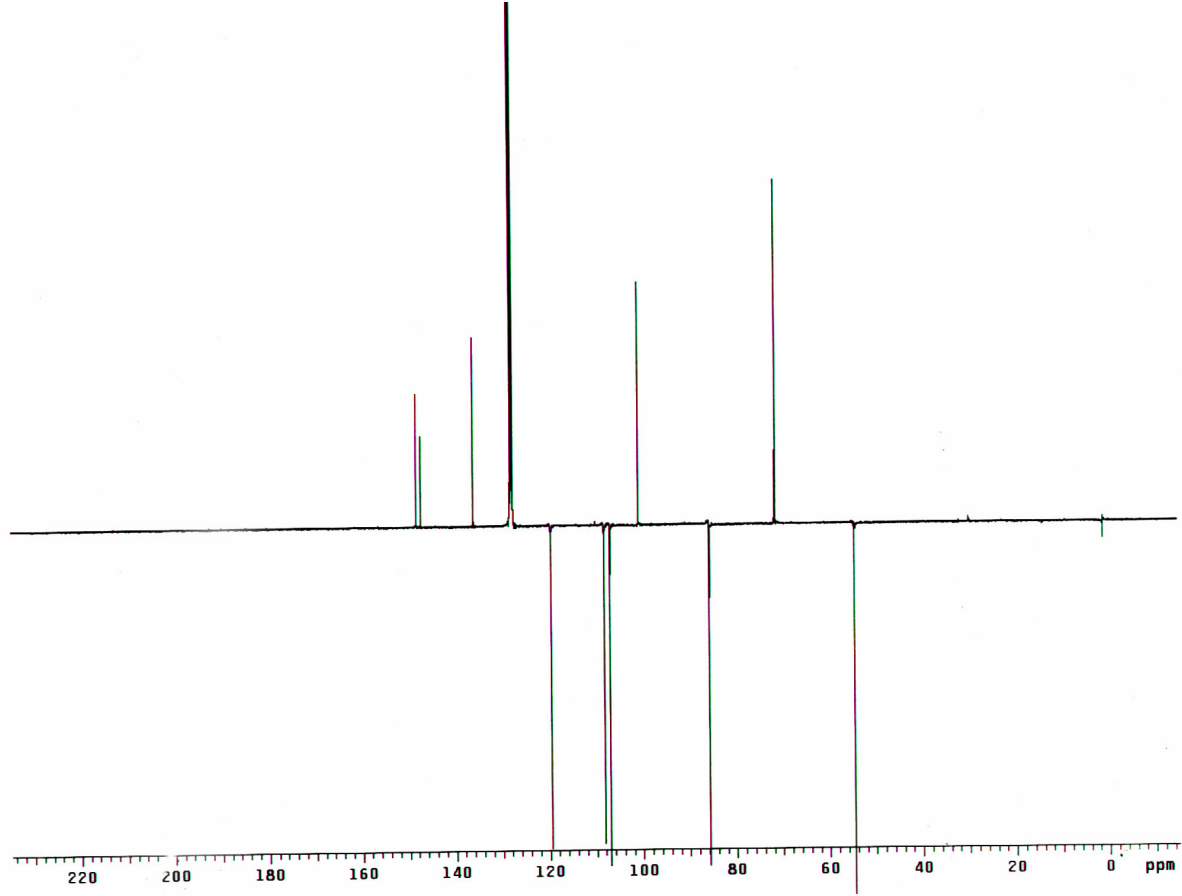
Şekil 4.13.2 B Bileşiğinin ^1H NMR Spektrumu (C_6H_6)



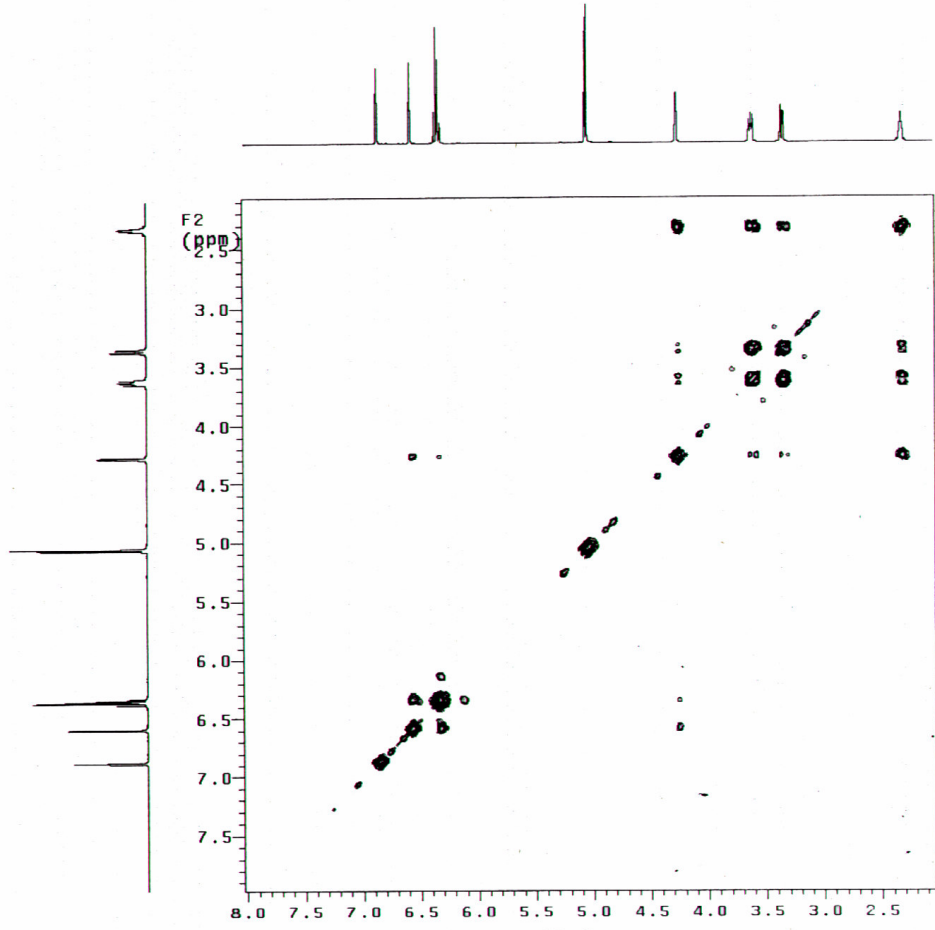
Şekil 4.13.3 B Bileşiğinin ^1H NMR Spektrumu (C_6H_6)



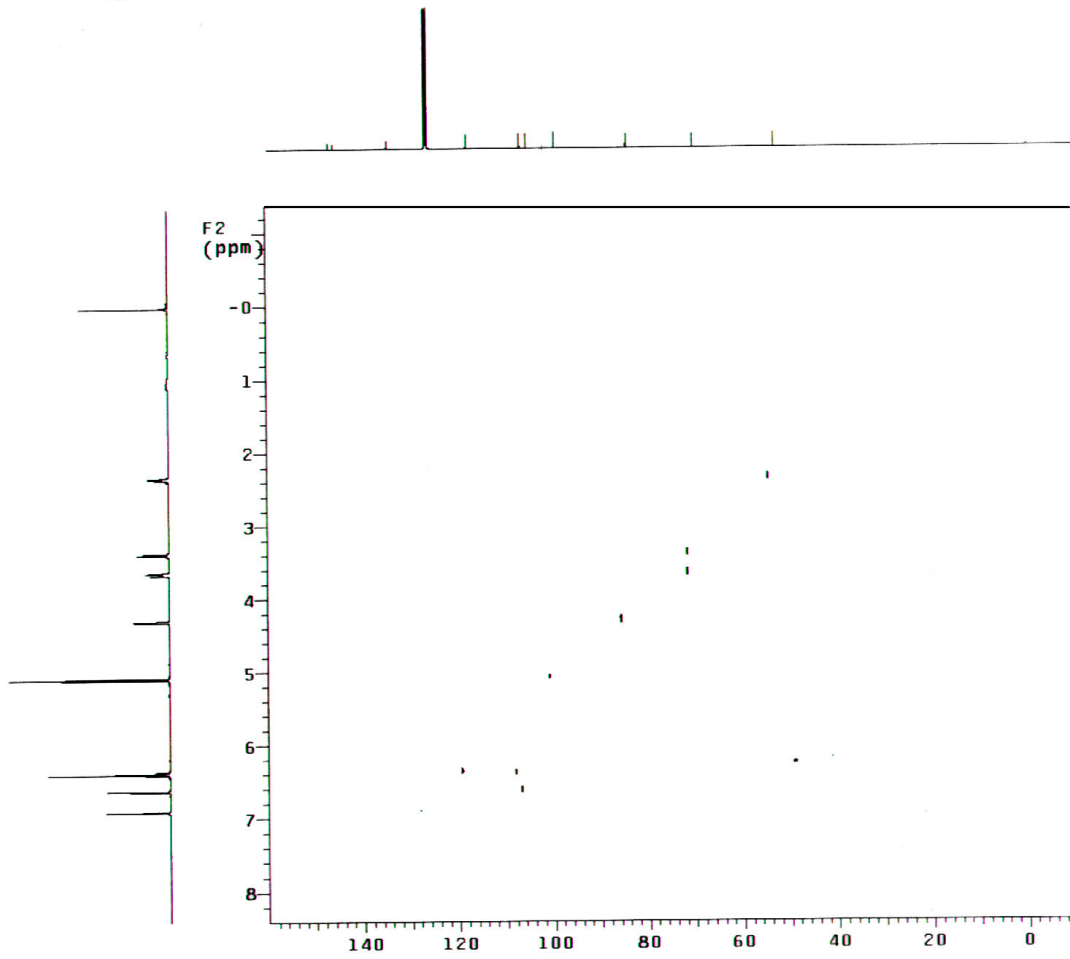
Şekil 4.13.4 B Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu (C_6H_6)



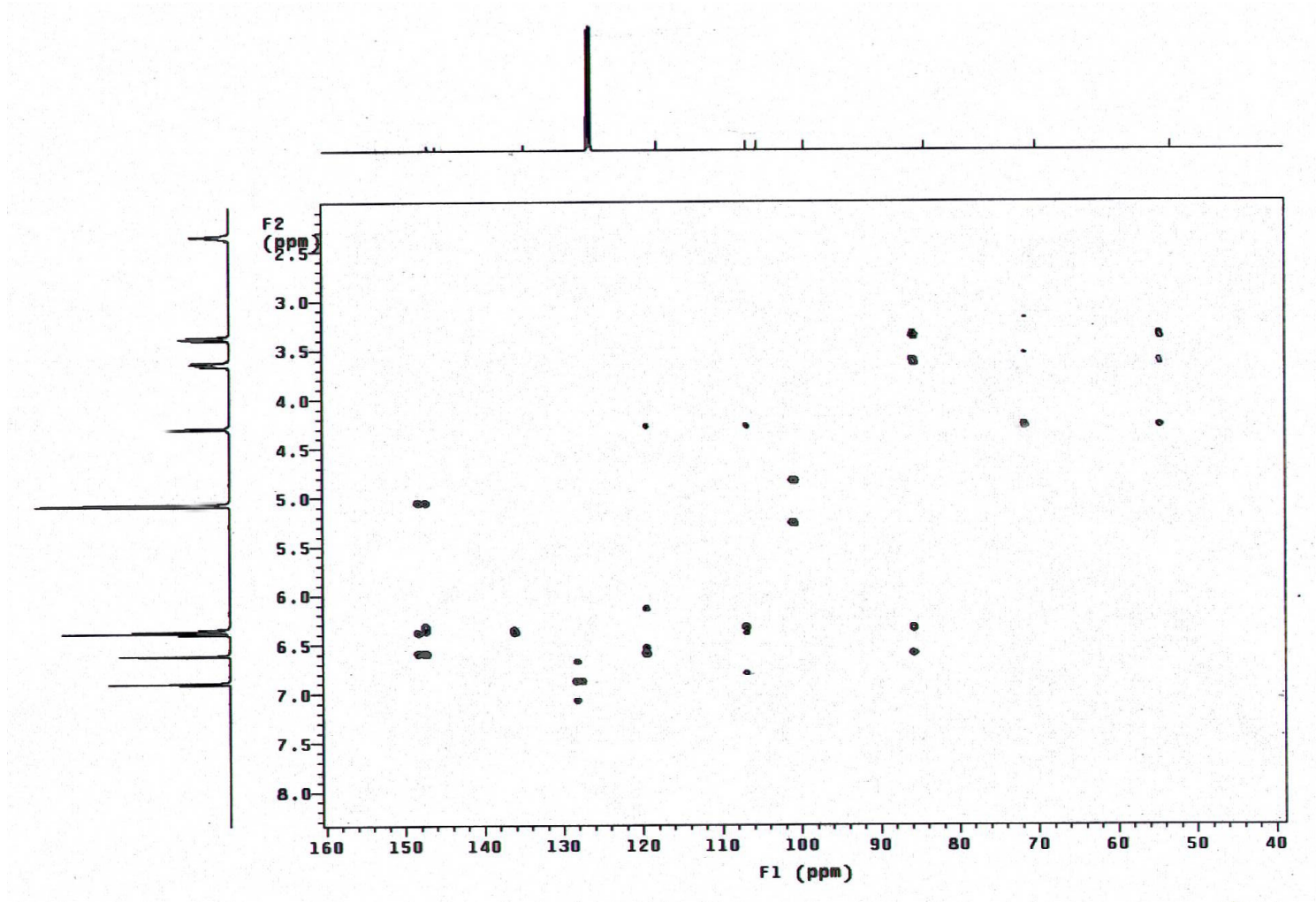
Şekil 4.14 B Bileşiminin ^{13}C APT Spektrumu (C_6H_6)



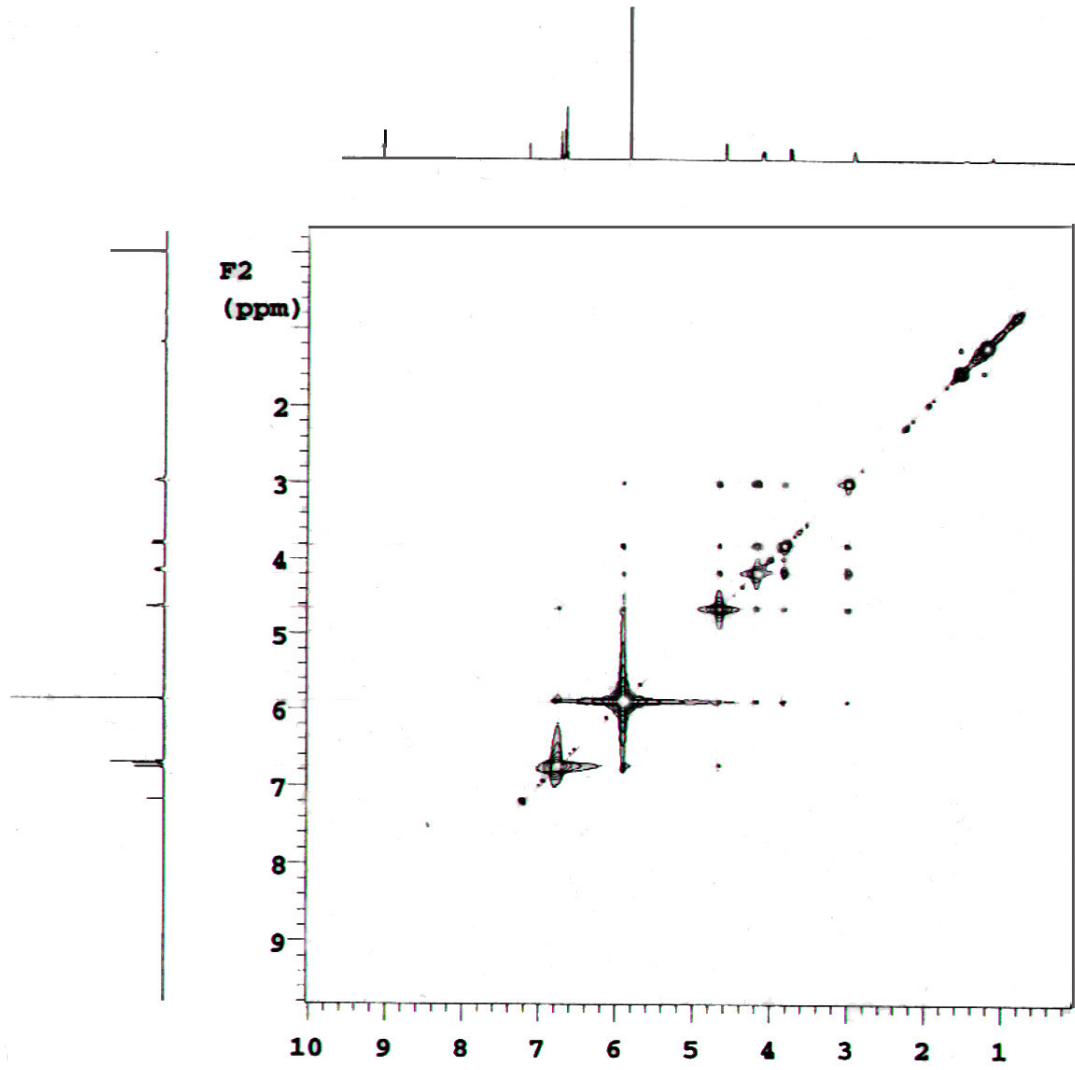
Şekil 4.15 B Bileşiminin COSY Spektrumu (C₆H₆)



Şekil 4.16 B Bileşiğinin HSQC Spektrumu (C₆H₆)



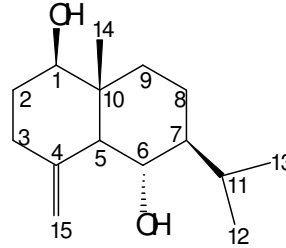
Şekil 4.17 B Bileşğinin HMBC Spektrumu (C_6H_6)



Şekil 4.18 B Bileşiğinin NOESY Spektrumu (CDCl₃)

4.3 SESKİTERPEN

4.3.1 C BİLEŞİĞİ; 1 β , 6 α -dihydroxyeudesm 4(15)-ene



1 β , 6 α -dihydroxyeudesm 4(15)-ene

IR spektrumunda (CHCl_3), 3412 cm^{-1} 'de hidroksil grubu O-H gerilim bantları, $2895\text{-}2851$ 'de C-H gerilim bantları, $1457\text{-}1382$ 'de C-H eğilim ve 1638 cm^{-1} 'de çifte bağa ait bantlar gözlenmektedir (Şekil 4.19).

UV spektrumunda (CHCl_3), 241 nm 'de çifte bağa ait bir uç adsorbans göstermiştir (Şekil 4.20).

^1H NMR spektrumunda (CDCl_3), $\delta 0.63$ 'de bir metil sinyali (H-14), $\delta 0.80$ (H-12, d, $J= 7 \text{ Hz}$) ve $\delta 0.88$ (H-13, d, $J= 7 \text{ Hz}$) de iki metil sinyali, $\delta 3.36$ (H-1, dd, $J= 4.7; 11.31 \text{ Hz}$) ve $\delta 3.65$ (H-6, dd, $J= 10; 10 \text{ Hz}$) oksijen fonksiyonuna bağlı metin protonları, $\delta 1.8$ (H- 2, m), $\delta 1.48$ (H-2', m), $\delta 2.00$ (H-9, ddd, $J= 13; 5; 2.3 \text{ Hz}$) ve $\delta 2.27$ (H-9', ddd, $J= 13; 13; 5 \text{ Hz}$) metilen protonları, $\delta 1.68$ (H-5, d, $J= 10 \text{ Hz}$) ve $\delta 2.17$ (H-11, qqd, $J= 7; 7; 2.3 \text{ Hz}$) metin protonları, $\delta 1.48$ (H- 8, m) metilen protonları, $\delta 4,95$ (H-15) ve $\delta 4,67$ (H-15') de ekzosiklik metilen protonlarına ait singletler gözlemlendi (Şekil 4.21).

^{13}C -APT (Attached Proton Test) spektrumunda, oksijen atomuna bağlı C-1 ve C-6 karbonları sırası ile 79.3 ppm , 67.20 ppm ' de sinyal vermiştir. Yapıdaki metil karbonları C-12, C-13, C-14 sırası ile 16.40 , 26.20 ve 12 ppm ' de gözlenmiştir. Katerner karbon, C-10, 42 ppm ' de, çifte bağa bağlı katerner karbon C-4, 146.48 'de sinyal vermiştir. Yapıdaki ekzosiklik metilen karbonu C-15, 108 ppm 'de gözlemlendi. CH karbonları C-5, C-7, C-11 sırası ile 57 , 49.52 , 21.34 ppm ' de sinyal vermiştir. Bileşiğin CH_2 karbonları C-2, C-3, C-8, C-9 sırası ile 36.50 , 32.13 , 18.35 , 35.32 ppm ' de saptandı (Şekil 4.22).

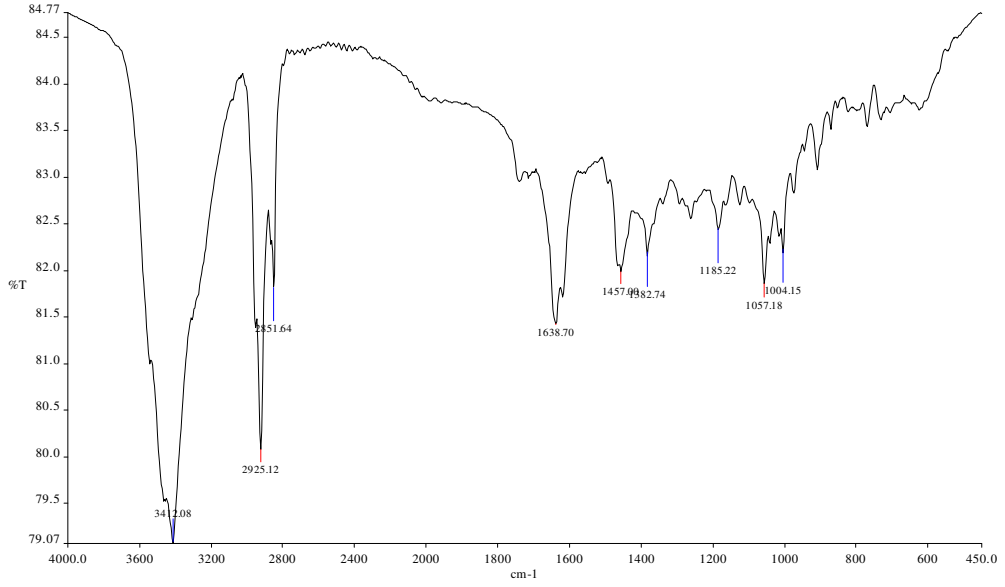
COSY spektrumu ile protonların birbiriyle etkileşmesi gözlemlendi. $\delta 3.36$ 'da gözlenen H-1 protonunun, $\delta 1.80$ (H-2) ve $\delta 1.48$ ' (H-2') deki piklerle etkileştiği saptandı. $\delta 1.80$ 'deki (H-2)

protonunun δ 1.48'deki (H-2'), δ 3.36'daki (H-1) ve δ 1.30'daki (H-3) protonlarıyla etkileşim gösterdiği belirlendi. δ 1.68'deki (H-5) protonunun δ 3.65 (H-6) protonu ile etkileşim verdiği belirlendi. δ 3.65'de gözlenen (H-6) protonun δ 1.20'deki (H-7) ve δ 1.68'deki (H-5) protonları ile etkileştiği saptandı. δ 2.17'deki (H-11)'deki protonun δ 0.80'deki (H-12) ve δ 0.88'deki (H-13) metil gruplarına ait protonlarla ve δ 1.20'deki (H-7) deki proton ile etkileşim gösterdiği saptandı. δ 0.80'deki (H-12) protonun δ 2.17'deki (H-11) proton ile etkileşmektedir (Şekil 4.23).

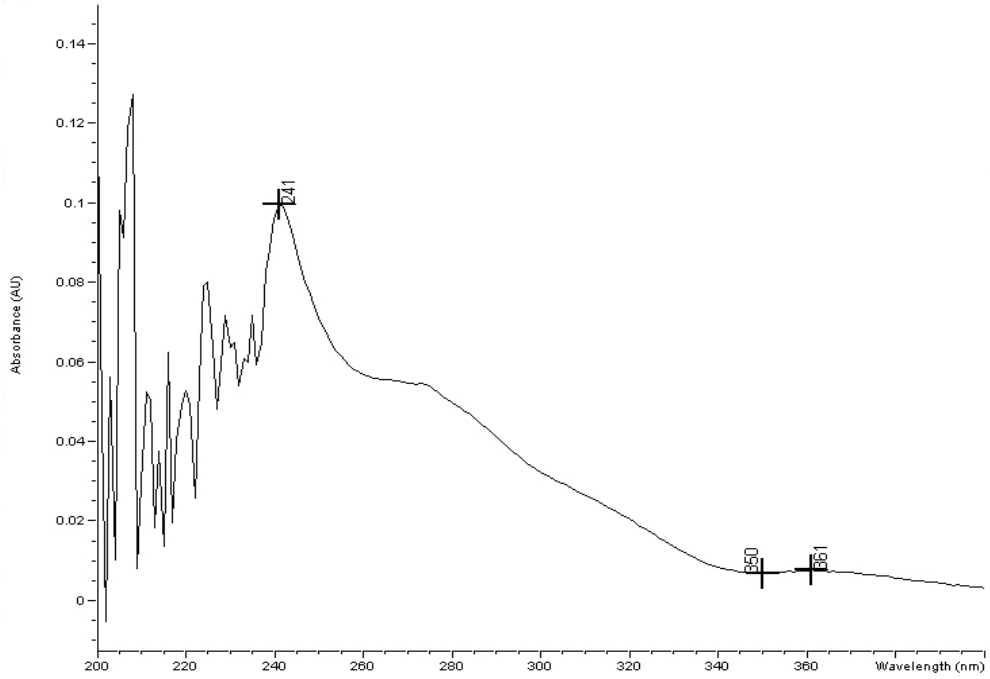
HSQC spektrumu ile hangi proton hangi karbona bağlı olduğu belirlendi. HSQC spektrumunda δ 3.36 (H-1) - 79.26 (C-1); δ 1.80 (H-2) ve δ 1.48 (H2') - 36.50 (C-2); δ 1.68 (H5) - 57 (C-5); δ 3.65 (H-6) 67.20 (C-6); δ 1.20 (H-7)- 49.53(C7); δ 1.49 (H-8) - 18.35 (C-8); δ 2.00 (H-9') ve δ 2.27 (H-9) - 35.32 (C-9); δ 2.17 (H-11) - 21.34 (C-11); δ 0.80 (H-12) - 16.40 (C-12); δ 0.88 (H-13)- 26.20 (C13); 0.63 (H14)-12 (C14); δ 4,95 ve δ 4,67 (H15)- 108 (C15) arasında karbon-proton tek bağ korelasyonları gözlemlendi (Şekil 4.24).

H	¹ H NMR (400 MHz) (CDCl ₃)	COSY(400 MHz) (CDCl ₃)	C	¹³ C APT(100 MHz) (CDCl ₃)
1	δ 3.36 dd (J= 4.7;11.31Hz)	H-2	1	79.3 (-)
2	δ 1.8 m	H-3; H-1	2	36.50 (+)
2'	δ 1.48 m	H-3; H-1	3	32.13 (+)
3	δ 1.30	H-2	4	146.48 (+)
5	δ 1.68 d (J= 10 Hz)	H-6	5	57 (-)
6	δ 3.65 dd (J= 10;10 Hz)	H-5; H-7	6	67.20 (-)
7	δ 1.20	H-6	7	49.53 (-)
8	δ 1.48 m	H-8'; H-9; H9'	8	18.35 (+)
9	δ 2.27 ddd (J= 13;5;2.3Hz)	H-8; H-8'; H-9'	9	35.32 (+)
9'	δ 2.00 ddd (J= 13;13;5Hz)	H-8; H-8';H-9	10	42 (+)
11	δ 2.17 qqd (J= 7.02; 7.02; 1.20 Hz)	H-12; H-13;H-7	11	21.34 (-)
12	δ 0.80 d (J= 7.02 Hz)	H-7	12	16.40 (-)
13	δ 0.88 d (J= 7.02 Hz)	H-7	13	26.20 (-)
14	δ 0.63 s	-	14	12 (-)
15	δ 4.95s	-	15	108 (+)
15'	δ 4.67s	-		

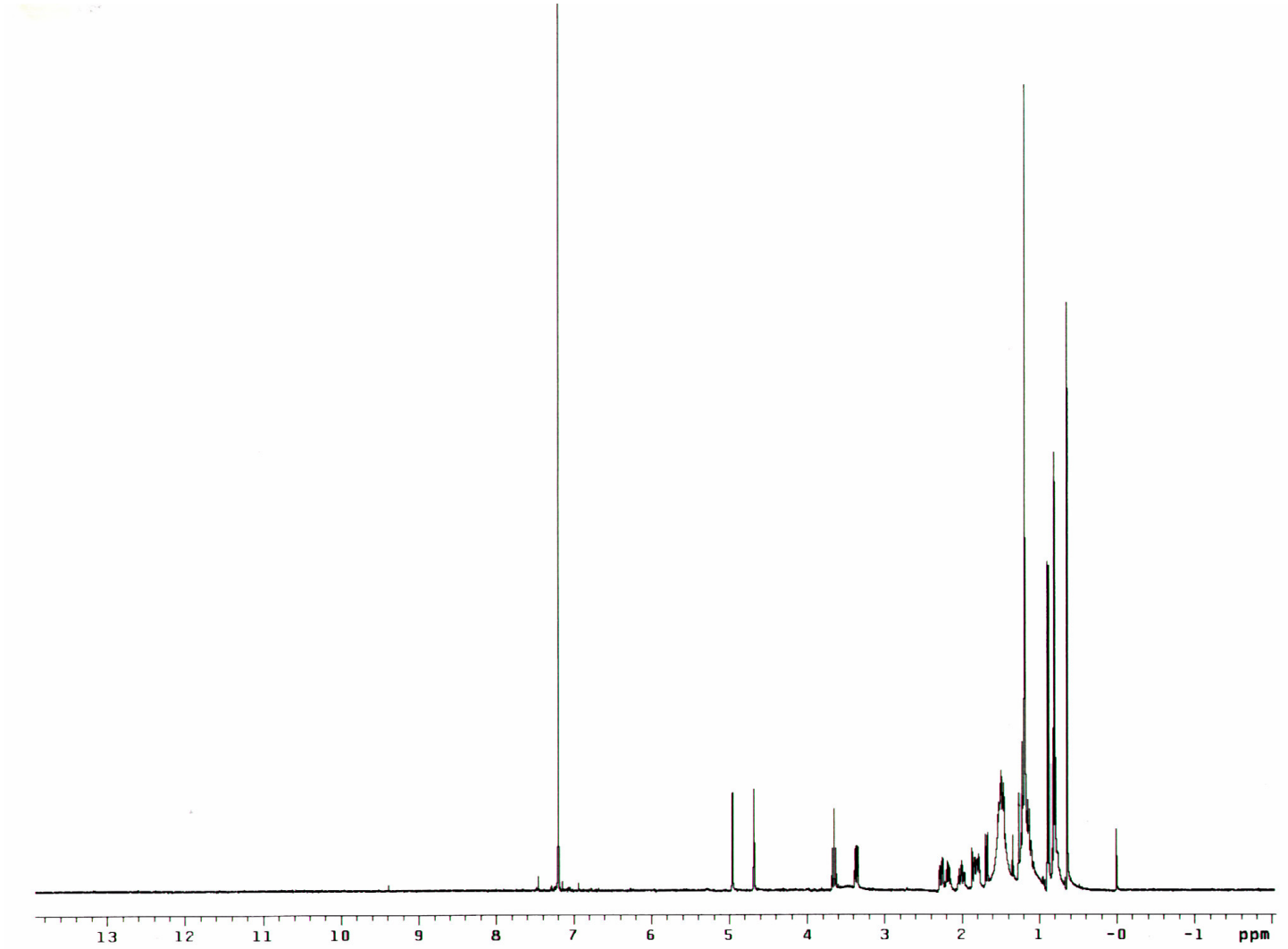
Çizelge 4.2 NMR- C ¹H NMR, COSY ve ¹³C APT Spektral Değerleri



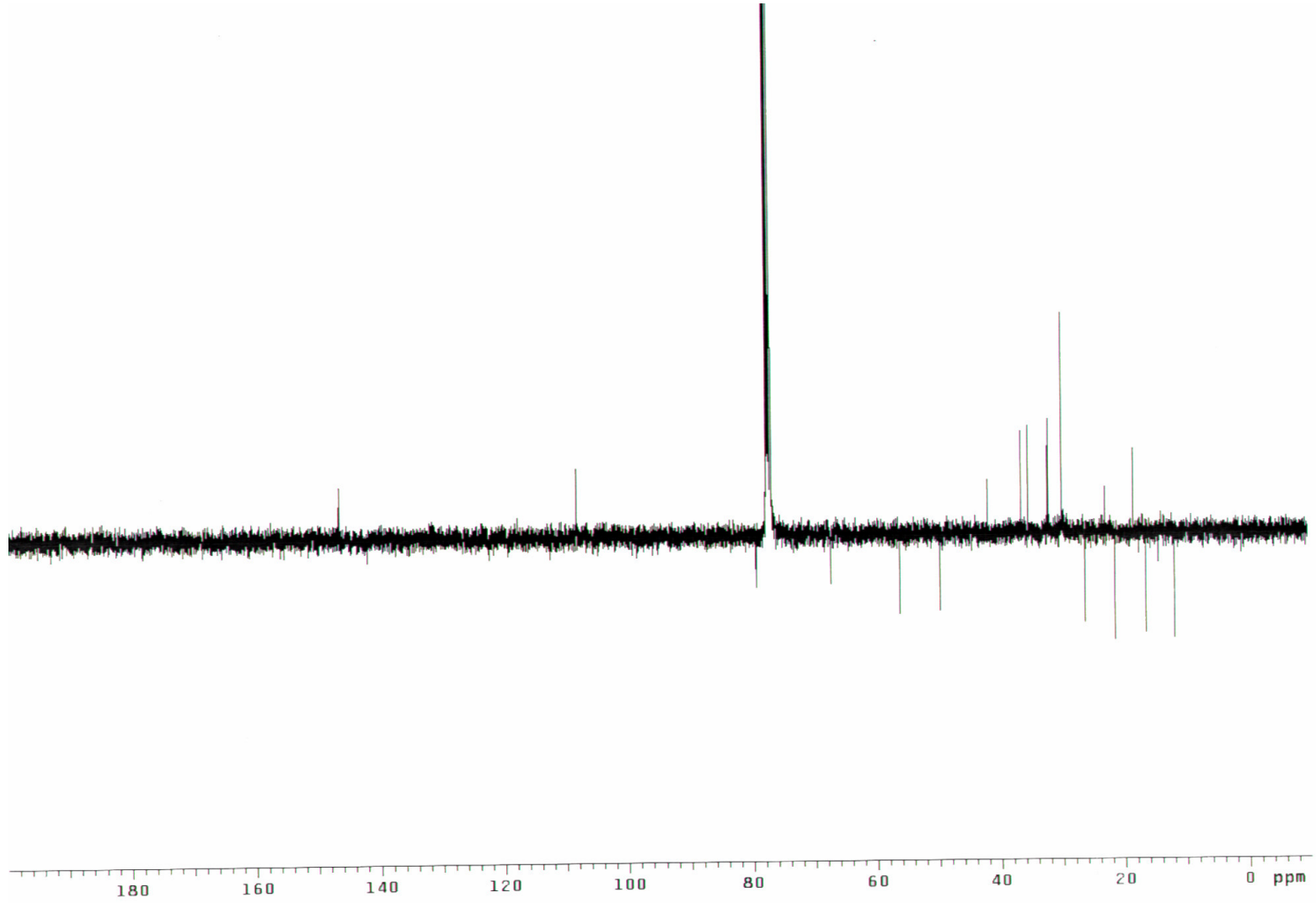
Şekil 4.19 C Bileşiğinin IR Spektrumu (CDCl₃)



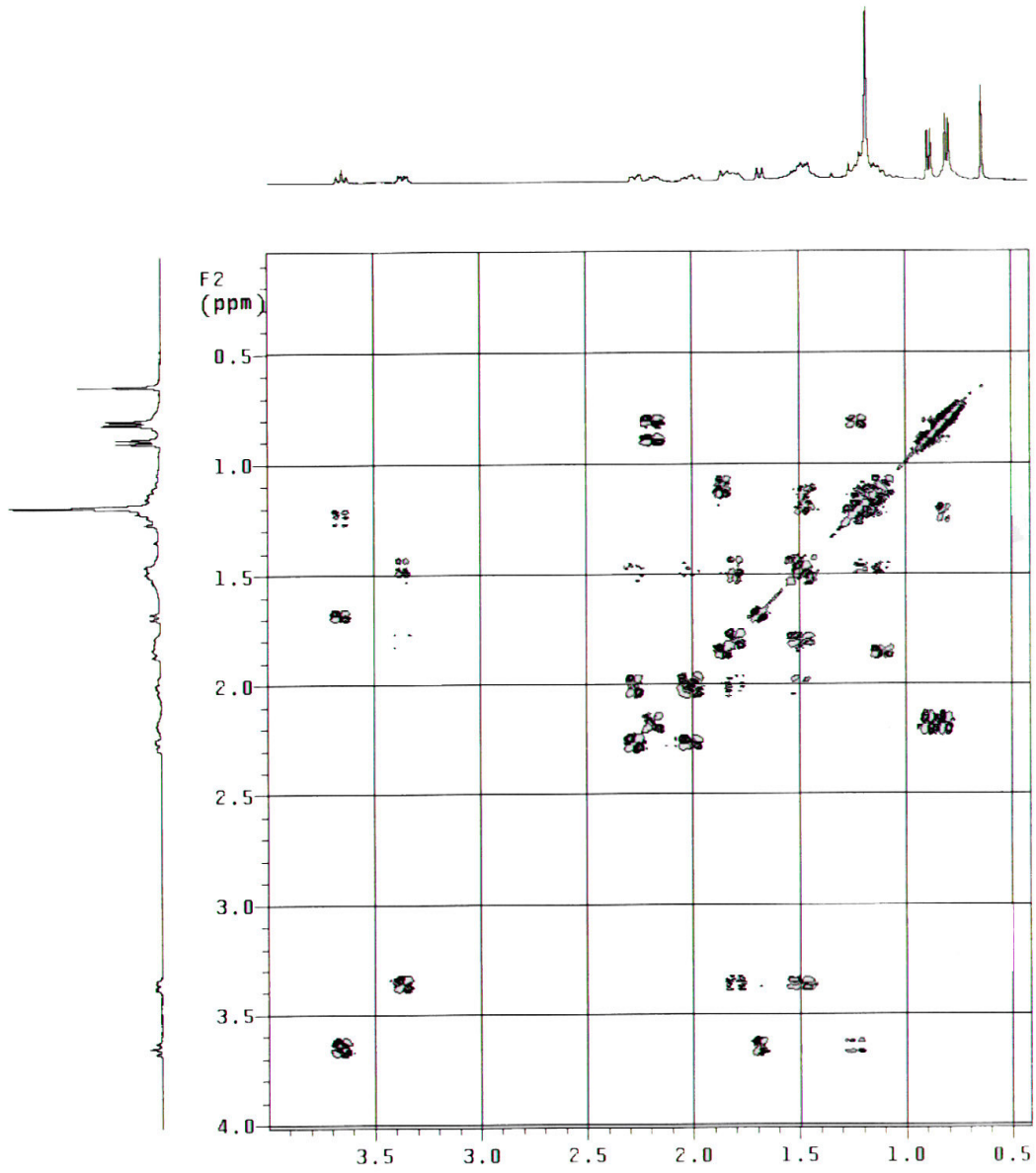
Şekil 4.20 C Bileşiğinin UV Spektrumu (CDCl₃)



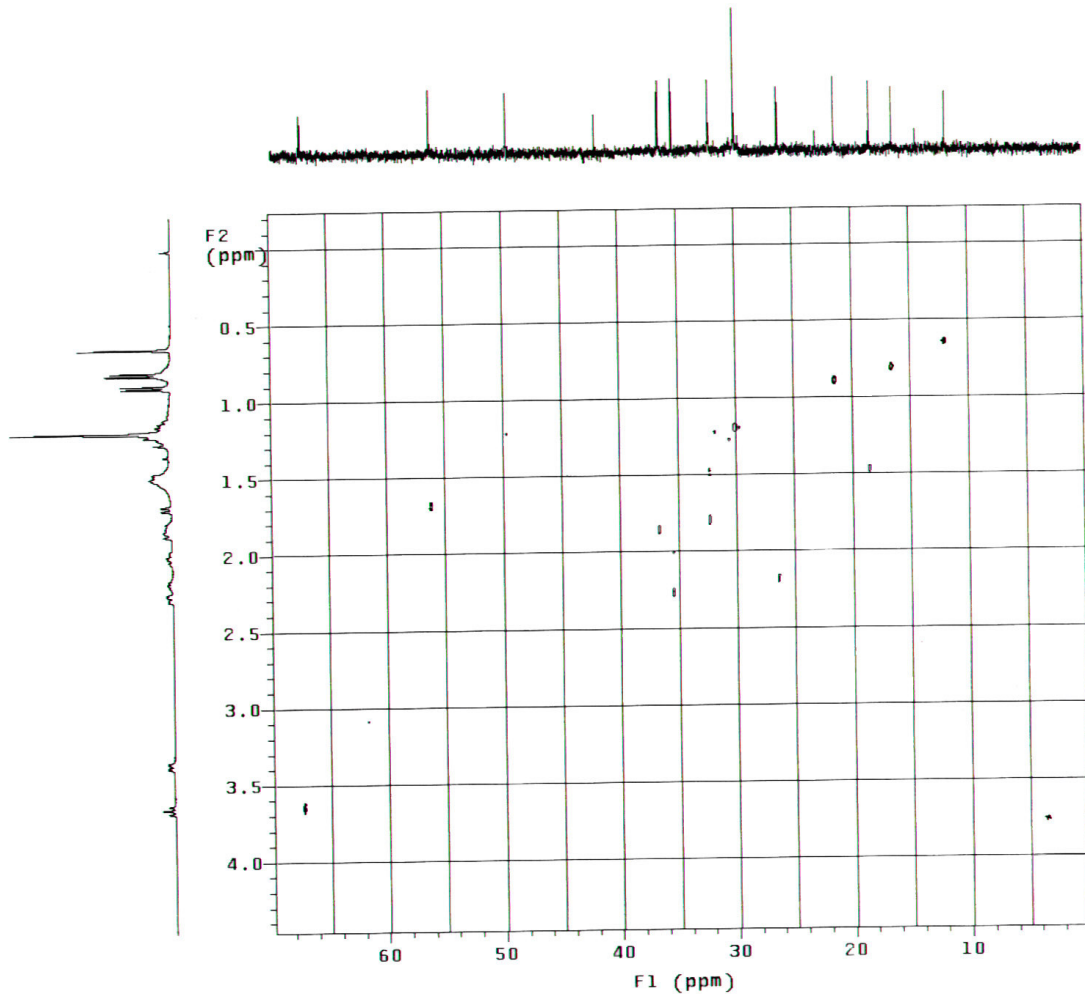
Şekil 4.21 C Bileşiğinin ^1H NMR Spektrumu (CDCl_3)



Şekil 4.22 C Bileşğinin ^{13}C APT Spektrumu (CDCl_3)



Şekil 4.23 C Bileşiğinin COSY Spektrumu



Şekil 4.24 C Bileşiğinin HSQC Spektrumu (CDCl_3)

5. BİYOLOJİK AKTİVİTE SONUÇLARI

Tablo 5.1 BRINE SHRIMP (*Artemia salina*) Yöntemi ile Sitotoksik Aktivite (Etilasetat)

Doz µg\ mL	Shrimps	Canlı Örnek Sayısı	LD ₅₀ µg\ mL	Standart İlaç	LD ₅₀ µg\mL
1000	30	02	85.23	Etoposide	7.4625
100	30	14			
10	30	27			

Tablo 5.2 BRINE SHRIMP (*Artemia salina*) Yöntemi ile Sitotoksik Aktivite (Metanol)

Doz µg\ mL	Shrimps	Canlı Örnek Sayısı	LD ₅₀ µg\ mL	Standart İlaç	LD ₅₀ µg\mL
1000	30	18	----	Etoposide	7.4625
100	30	23	---	Etoposide	7.462
10	30	25			

Tablo 5.3 *Tanacetum zahlbruckneri* Bitkisinin Metanol Ekstresinde İnektisit Aktivitesi

İnekt isimleri	% Ölüm Oranı		Etkilenen inektisit sayısı
	+ ve Kontrol	- ve Kontrol	
<i>Tribolium castaneum</i>	100	0	20
<i>Sitophilus oryzae</i>	-	-	-
<i>Rhyzopertha dominica</i>	100	0	60
<i>Callosbruchus analis</i>	100	0	0

Tablo 5.4 *Tanacetum zahlbruckneri* Bitkisinin Etilasetat Ekstresinde Antibakteriyal Aktivitesi

Bakteri Adları	Örneğin İnhibisyon Zonları (mm)	Antibiyotiğin inhibisyon Zonu(nm)
<i>Escherichia coli</i>	-	30
<i>Bacillus subtilis</i>	-	33
<i>Shigella flexenari</i>	-	27
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	33
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	24
<i>Salmonella typhi</i>	-	25

Tablo 5.5 *Tanacetum zahlbruckneri* Bitkisinin Metanol Ekstresinde Antibakteriyal Aktivitesi

Bakteri Adları	Örneğin İnhibisyon Zonları (mm)	Antibiyotiğin inhibisyon Zonu(nm)
<i>Escherichia coli</i>	-	30
<i>Bacillus subtilis</i>	-	33
<i>Shigella flexenari</i>	10	27
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	33
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	24
<i>Salmonella typhi</i>	10	25

Tablo 5.6 *Tanacetum zahlbruckneri* Bitkisinin Etilasetat Ekstresinde Antifungal Aktivitesi

Mantar Adları	Linear Büyüme(mm)		% İnhibisyon	Standart İlaç MIC Değeri µg\ ml	Standart İlaç İnhibisyon Yüzdesi
	Örnek	Kontrol			
<i>Trichophyton longifusus</i>	35	100	65	Miconazole	70
<i>Candida albicans</i>	100	100	100	Miconazole	110.8
<i>Aspergillus flavus</i>	100	100	100	Amphotericin B	20
<i>Microsporum canis</i>	100	100	100	Miconazole	98.4
<i>Fusarium solani</i>	100	100	100	Miconazole	73.25
<i>Candida glaberata</i>	100	100	100	Miconazole	110.8

Tablo 5.7 *Tanacetum zahlbruckneri* Bitkisinin Metanol Ekstresinde Antifungal Aktivitesi

Mantar Adları	Linear Büyüme(mm)		% İnhibisyon	Standart İlaç MIC Değeri µg\ ml	Standart İlaç İnhibisyon Yüzdesi
	Örnek	Kontrol			
<i>Trichophyton longifusus</i>	45	100	55	Miconazole	70
<i>Candida albicans</i>	100	100	100	Miconazole	110.8
<i>Aspergillus flavus</i>	100	100	100	Amphotericin B	20
<i>Microsporum canis</i>	100	100	100	Miconazole	98.4
<i>Fusarium solani</i>	100	100	100	Miconazole	73.25
<i>Candida glaberata</i>	100	100	100	Miconazole	110.8

7. SONUÇ VE TARTIŞMA

Tıbbi bitki kapsamına girmiş birçok türü bulunan *Compositae* familyası üzerinde yapılan çalışmalarda birçok sekonder metabolit elde edilmiş ve biyolojik aktivite yönünden çok sayıda çalışma yapılmıştır (Thomas, 1989; Kalodera, 1997; Rezende, 2000; Candan, 2003).

Tezimizde çalışılan, endemik *Tanacetum zahlbruckneri* (Nāb.) Grierson bitkisinin içerdiği bileşiklerin yapısının aydınlatılması ve biyolojik aktivitelerinin araştırılması amacı ile yapılan bu çalışmada triterpen, seskiterpen ve yapı aydınlatma çalışmalarına devam ettiğimiz yeni bir madde olmak üzere toplam 3 madde elde edilmiştir. Maddelerin yapı aydınlatma çalışmalarında UV, IR, ¹H NMR, ¹³C APT, HMBC, HMQC, COSY, NOESY, Spin Decoupling gibi spektroskopik yöntemlerden faydalanılmıştır.

Tanacetum L. türleri üzerinde yapılan çalışmalarda birçok yeni sekonder metabolit elde edilmiştir (Gören 1991; 1993; 1995; 1996) ve *Tanacetum* L. biyolojik aktivite gösteren pek çok seskiterpenoid bileşik izole edilmiştir. Seskiterpen lakton bileşiklerindeki lakton halkasına bağlı fonksiyonel gruplarının biyolojik aktivitede etken olduğu; antitümör, sitotoksik, insektisit aktivitenin yanı sıra, antibakteriyel ve antifungal aktivite gösterdikleri araştırmalarda bildirilmiştir (Picman, 1983; 1990; Gören, 1991; 1993a; 1997; Rodriguez, 1976; Lee, 1977).

T. argyrophyllum var. *argyrophyllum* türünün seskiterpen laktonlarının *Staphylococcus aureus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Gören, 1990).

Gören ve arkadaşları (1993a), endemik bir tür olan *Tanacetum densum* ssp. *amani* türünün seskiterpen laktonlarını araştırmışlardır. Yeni bir ödesmanolid olan 1 β , 4 α , 6 α -trihidroxyeudesm-11-en-8 α ,12-olid bileşiğini izole etmişler ve bu bileşiğin zayıf bir antimikrobiyal aktivite gösterdiğini saptamışlardır.

Gören (1995) *T. praeteritum* ssp. *praeteritum* türünden yeni bir ödesmanolid olan tanapraetenolide bileşiğini ve yeni bir seskiterpen asit ester bileşiklerini izole etmiştir.

Gören ve arkadaşları (1996), *T. praeteritum* ssp. *praeteritum* türünden izole ettikleri 10 seskiterpen lakton ve bir seskiterpen bileşiğinin sitotoksik ve antibakteriyel aktivitesini araştırmışlardır. İzole edilen tüm bileşiklerin sitotoksik aktivite gösterdiğini; bu bileşiklerden sadece armefolin, armeksifolin, ludovisin A ve tamirin bileşiklerinin *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae* bakteri kökenlerine

karşı orta derecede antibakteriyel aktivite (600-1500 µg/ml) gösterdiğini bildirmişlerdir.

Aktivite çalışmaları sonucunda; *Tanacetum zahlbruckneri* bitkisinin etilasetat ve metanol ekstralarının sitotoksik aktiviteleri brine shrimp (*Artemia salina*) ön tarama metodu gerçekleştirildi. Bunun sonucunda bitkinin metanol ekstresinin *Artemia salina*' ya karşı letal aktivite göstermediği (Tablo 5.2), etilasetat ekstresinin ise *Artemia salina*' ya karşı letal aktivite gösterdiği belirlendi. (Tablo 5.1).

Bitkinin MEOH ekstresinin *Rhyzopertha dominica*'ya karşı insektisid aktivite gösterdiği; *Tribolium castaneum*'a karşı belirgin bir insektisid aktivite göstermediği saptandı (Tablo 5.3). Bitkinin etilasetat ekstresinin insektisit aktivitesi, ekstre miktarının yeterli olmamasından dolayı çalışılmadı.

Bitkisinin etilasetat ekstresinin antibakteriyel etki göstermediği saptandı (Tablo 5.4). Bununla birlikte metanol ekstresinin *Shigella flexenari* ve *Salmonella typhi*' ye karşı çok az antibakteriyel etki gösterdiği belirlendi (Tablo 5.5).

Bitkinin antifungal aktiviteleri araştırıldığında MeOH ve EA ekstralarının *Trichophyton longifusus*'a karşı aktivite gösterdiği belirlendi (Tablo 5.6 – Tablo 5.7).

Tanacetum zahlbruckneri (Nāb.) Grierson bitkisi ile yapılan fitokimyasal çalışmaları paralel olarak yürütülen, antibakteriyel, antifungal, insektisit gibi biyolojik aktiviteleri Karachi üniversitesinde (Pakistan) araştırılmıştır.

Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bileşiklerden biri olan α -amirin bitkilerde çok yaygın olarak bulunan triterpen yapısında bir bileşiktir. Bu bileşiğin yapısı, maddenin kromatografik ve spektroskopik özelliklerinin standart madde ile kıyaslanması yolu ile açıklanmıştır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz seskiterpen, 1β , 6α -dihidroxyeudesm 4(15)-ene bileşiği daha önce farklı bitkilerden (Bohlmann 1983, Gonzalez 1989, Hu Feng 1996, Kitajima 2001) izole edilmiş olup, bizim çalışmamızda yapısı UV, IR, ^1H NMR, COSY, HSQC spektrumlarının yorumlanması ve literatür kıyaslanması ile aydınlatılmıştır.

B bileşiğinin stereokimyasal yapısı henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bileşiğin UV, IR, ^1H NMR, ^{13}C APT, HMBC, HMQC, COSY, NOESY spektrumlarının yorumlama çalışmaları tamamlanmış olup, yapının tam olarak aydınlatılabilmesi için bazı kimyasal reaksiyonların ve X-ray analizinin yapılması gerekmektedir. Halen bu çalışmalarımız devam etmektedir

KAYNAKLAR

- Asımgil Adil, (1993), “Şifalı Bitkiler”, Timaş Yayınları, 218-219, İstanbul
- Akman Y., (1998), “Bitki Biyolojisine Giriş Botanik” , 8. Baskı Palme Yayınları, 394-396, Ankara.
- Baykal T., (1997), “Doğal Kaynaklı Bileşiklerin Biyolojik Aktivite Yönünden Değerlendirilmesi ve Tedavideki Yeri”, GE, 46: 21-22
- Bennet J. W., Bentley R. (1989). What’s in a name? -Microbial Secondary Metabolism. Adv. Appl. Microbio., 34: 1-28.
- Bourgaud F., Gravot A., Milesi S., Gontier E. (2001). Production of Plant Secondary Metabolites; a Historical Perspective. Plant Sci., 161: 839-851
- Bohlmann F., Gören N., King R.M., Robinson H. (1983) “ Two Sesquiterpenes from *Senecio* Species” Phytochemistry, Vol: 22, No:7 1675-1677.
- British Herbal Medicine Association, (1996) “ British Herbal Pharmacopoeia” , (Published by the British Herbal Medicine Association and completely revised by its scientific committee) 4th edition, 81-82
- Bruneton Jean, (1999) ”Pharmacognosy Phytochemistry Medical Plant 2nd edition”, Hampshire Intercept Pres, 631-635.
- Budzikiewicz H., Wilson J.M. and Djerassi C., J. Amer. Chem. Soc., 1964
- Candan F., (2003), “Antioxidant and Antimicrobial Activity of The Essential Oil and Methanol Extracts of *Achillea millefolium* subsp. *Millefolium* Afan (Asteraceae)”, J. of Ethnopharm., 87 215-220
- Charwood B.V., Rhodes M. J. C. (1990). Secondary Products from Plant Tissue Culture. ISBN: 0-19-857717-6. Clarendon Press. Oxford.
- Çelik Necati (1980), “Türkiye’nin *Tanacetum* L. Türleri Üzerinde Sistemik ve Kimyasal Bir Araştırma”, T.C. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Sayı:387, ANKARA.
- D’Amelio F. Sr., Roton B. (1999) “Botanicals A Phytochemical Desk Reference”, CRC Pres, 199
- Dixon R.A., Lamb C. J., Masoud S., Sewalt V. J. H., Paiva N. L. (1996). Metabolic Engineering: Prospect for Crop Improvement Through the Genetic Manipulation of Phenylpropanoid Biosynthesis and Defense Responses a Review. Gene, 179:61-71
- Dülger B., Ceylan M., Alıtsaous M., Uğurlu E., (1999), “*Artemisia absinthium* L. (Pelin)’un Antimikrobiyal Aktivitesi” Tr. J.of Biology, 23 (3) 377-384
- Estrada M.J., Chilpa R.R., Apan T.R., Lledias F., Hansberg W., Arriata D., Aguilar F.J.A “Anti-İnflammatory Activity of Cacalone Sesquiterpenes Isolated From *Psacalium decompositum*” Journal of Etnopharmacology
- Feltenstein, M. W., Schühly, W., Warnick, J. E., Fisher, N. H. ve Sufka, K. J., (2004), “Anti-inflammatory and Anti-Hyperalgesic Effects of Sesquiterpene Lactones from *Magnolia* and Bear’s Foot”, Pharm.Biochem. and Behav., 79: 299-302.

Erdik E., 1993, *Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler*, Gazi Büro Kitapevi Ankara, s.234.

Fınar.L.I (1975) "Stereochemistry and the Chemistry of Natural Products"

Favier S.L., Maria A.O.M., Wendel G.H., Borkowski E.J., Giordano O.S., Pelzer L., Tonn C.E.(1986) "Anti-ulcerogenic Activity of Xanthanolide Sesquiterpenes from *Xanthium cavanillesii* in Rats ", *Journal of Etnopharmacology*, 100: 260-267.

Flora of Turkey and The East Aegan Islands", University of Edingburgh Press(2000), Vol:11, Edited by A.Güner. Ph.D.,159.Yıldırımlı in Hacettepe Fen ve Mühendislik Dreg.10:39

Geissman T. T., Crout D. H. G. (1969), *Organik Chemistry of Secondary Plant Metabolism*. s:35. Freeman. Cooper and Cmpany. San Francisco California.

Gonzalez A.G., Tincusi B.M., Bazzocchi I.L., Takuda H., Nishino H., Takao K., Jimenez I.A., Ravelo A.G.,(2000) " Anti-Tumor Promoting Effects of Sesquiterpenes From *Maytenus cuzcoina* (Celastracea)", *Bioorganic& Medicinal Chemistry*, 8: 1773-1778

Gören N., Jakupovic J., Topal Ş., (1990), "Sesquiterpene Lactones With Antibacterial Activity From *T. argyrophyllum* var. *argyrophyllum*", *Phytochemistry*, 29 (5): 1467-1469

Gören, N. ve Tahtasakal, E., (1997), "Sesquiterpenoids from *T. argentum* subsp *canum* var. *canum*", *Phytochemistry*, 45(1): 107-109.

Gören, N. ., Ulubelen, A., Bozok-Johansson, C. ve Tahtasakal, E., (1993), "Sesquiterpene Latones From *T. densum* subsp *amanı* ", *Phytochemistry*, 33(5): 1157-1159.

Gören N., Ulubelen A., Bozok- Johansson C., Tahtasakal E., (1993a), "Sesquiterpene Lactones From *Tanacetum densum* subsp. *amanı*", *Phytochemistry*, 33 (5): 1157-1159

Gören N., (1995), "Eudesmane- Type Sesquiterpene Lactone İolated From *Tanacetum praeteritum* subsp. *praeteritum*", *Phytochemistry*, 42 (3): 747-749

Gören N., Woerdenbag H.J., Bozok-Johansson C., (1996), "Cytotoxic and Antibacterial Activities of Sesquiterpene Lactone İolated From *Tanacetum praeteritum* subsp. *praeteritum*", *Planta Med.*, 62 (5): 419-422

Gören N., Tahtasakal E., (1997), "Sesquiterpenoids From *Tanacetum argenteum* subsp. *canum* var. *canum*", *Phytochemistry*, 45(1): 107-109

Grierson, A. J. C., (1975), "Flora of Turkey and The East Aegan Islands", University of Edingburgh Press, Vol:5, Edited by Davis P. H. D.Sc.,256-291.

Güven Avni, Yürekli A. K., (1991) "Fırat Havzasında Yayılış Gösteren *Tanacetum* Türlerinin Ekonomik Potansiyeli", 6-8 Ekim 1986 Fırat Havzası Tıbbi Endüstriyel Bitkileri Sempozyumu, Editörler: Baltepe., Babaç M. T., Evren H. 251-259, Elazığ

Hamburger M., Dudan G., Nair A.G.R., Jayaprakasam R., Hostettmann K., (1989) " Antifungal Triterpenoid from *Mollugo pentaphylla*", *Phytochemistry*, Vol.28, No.6:1767-1768

Hehner, S. P., Hofmann, T. G., Dröge, W. ve Schmitz, L., (1999), "The Antiinflammatory Sesquiterpene Lactone Parthenolide Inhibits NF-KB by Targeting the IKB Kinase Complex",

J.Immunol., 163: 5617-5623.

Hsieh T.J., Chang F.R., Chia Y.C., Chen C.Y., Chiu F.H., Wu Y.C., (2001) " Cytotoxic Constituents of the Fruits of *Cananga odorata* ", J. Nat. Prod, 64:616-619

Hu Feng.J., Bai Ping S., Jia Jian Z., " Eudesmane Sesquiterpenes From *Artemisia Eriopoda*" Phytochemistry Vol: 43, No: 4 pp.815-817.

Kalodera Z., Papeljnjak S., Blazevic N., Petrak T., (1997) "Chemical composition and antimicrobial activity of *Tanacetum parthenium* oil", Pharmazie 52,11:885-886

Kanokmedhakul K ., Kanokmedhakul S ., Phatchana R., (2005) " Biological activity of Anthraquinones and Triterpenoids from *Prismatomeris fragrans*", Journal of Ethnopharmacology, 100, 284-288.

Kırimer N., Mat A., (1999) "Essentail Oils in Honour of Prof. Dr. K. Hüsnü Can Başer on his 50th birthday" , Eskişehir Anadolu Üniversitesi Basımevi, 99-100, 122-123, Eskişehir

N.Kırimer, N.tabanca, K.H.C.başer, G.Tümen, (2003) "Composition of the Essential Oil of *Sideritis apecies*", J.Essent. Oil Res., 221-225

Kitajima J., Suzuki N., Satoh M., Watanabe M., (2002) " Sesquiterpenoids of *Torilis japonica* fruit" Phytochemistry Vol: 59 811-815

Kubo I., Taniguchi M.,(1988) " Polygodial, An Antifungal Potentiator " Journal Natural Product Vol.51, No.1: 22-29

Lee K.H., Ibuka T., Wuş R.Y., Geissman T.A., (1977), "Structure-Antimicrobial Activity Relationships Among The Sesquiterpene Lactones and Related Compounds", Phytochemistry, 16, 1177-1181

Luque, A. P., Galindo, J. C. G., Macas, F. A. ve Jorn, J., (2000), "Sunflower Sesquiterpene Lactone Models Induce *Orobancha cumana* Seed Germination" Phytochemistry, 53: 45-50.

Miglietta, A., Bozzo, F., Gabriel, L. ve Boca, C., (2004), "Microtubule- Interfering Activity of Parthenolide", Chemic-Biol. Inter., 149:165-173.

Methods in Plant Biochemisty, P.M. Dey and J.B. Harborne, Vol: 7, Terpenoids, Ed By B. V Charlwood; D.V. Banthorpe, Academic Pres, Newyork

Newall C. A., Anderson L. A., Phillipson J. D., (1996) "Herbal Medicine "A Guide for health care professionals", London Pharmeceutical Pres, 119-120, 254-255

Nick A., Wright A.D., Sticher O., (1994) " Antibakterial Triterpenoid Acids From *Dillenia papuana*" Journal Natural Product Vol:57 No.9:1245-1250

Nottingham S.F., Hardie J., (1993) "Flight Behavior of the Black Bean Aphid, *Aphis fabae*, and the Cabbage Aphid, *Brevicoryne brassicae*, in Host and Non-host Plant Odour". Physiol.Ebtomol., 18:389-394

Olgunkaya L., 1981, *Phytochemistry*, 20, 121-126.

Overton, K.H., " Terpenoids and Steroids ", The Chemical Society, Burlington House, London (1976).

Palevitch, D., Earon, G. ve Carasso, R., (1997), "Feverfew (*Tanacetum parthenium*) as a Prophylactic Treatment for Migrane: A Double-Blind Placebo-Controlled Study",

Phytotherapy Res., 11: 508-511.

Poucher W. A., (1974) "Perfumer Cosmetics and Soaps 7th edition", Chapman and Hall London A Halsted press Book John Wiley & Sons New York, 350

Picman A.K., Towers G.H.N., (1983), "Antibacterial Activity Sesquiterpene Lactones", Biochem. Systematic. and Ecology, 11 (4): 321-327

Picman A.K., (1986), "Biological Activities of Sesquiterpene Lactones", Biochem. Systematic. and Ecology, 14 (3): 255-281

Picman A.K., Schneider E.F., Gershenzon J., (1990), "Antifungal Activities of Sunflower Terpenoids", Biochem. Systematic. and Ecology, 18 (5): 325-328

Ramachandra Rao R. S., Ravishankar G. A. (2002). Plant Cell Cultures: Chemical Factories of Secondary Metabolites. Biotech. Adv., 20: 101-153

Reclu M., (1925) "Guide De L'Herboriste", Paris Libraire J.-B. Bailliere et fils 19, Rue Hautefeuille, 19, 174

Rezende M., Urzua A., Bortoluzzi A. J., Vasquez L., (2000), "Variation of The Antimicrobial Activity of *Pseudognaphalium vira vira* (Asteraceae): Isolation and X-ray Structure of ent-3 β -Hydroxy-16-Oic Acid", J. of Ethnopharm., 72: 459-464

Rodriguez E., Towers G.H.N., Mitchell J.C., (1976), "Biological Activities of Sesquiterpene Lactones", Phytochemistry, 15: 1573-1580

Ross, J. J., Arnason, T. ve Birnboim, H. C., (1999), "Low Concentrations of the Feverfew Component Parthenolide Inhibits in Vitro Growth of Tumor Lines in a Cytostatic Fashion", Planta Med., 65: 126-129.

Scheerer W. R., (1984) "Components of Oil of Tansy (*Tanacetum vulgare*) that Repel Colorado Potato Beetles (*Leptinotarsa decemlineata*)", J.Nat. Prod., Vol.47, No. 6: 964-969

Shing B., Sahu P.M., Sharma M.K, (2002) "Anti-Inflammatory and Antimicrobial Activities of Triterpenoids from *Strobilanthes callosus* Ness", Phytomedicine 9: 355-359

Sökmen A., Gürel E. (2001). Sekonder Metabolit Üretimi 211-261. Bitki Biyoteknolojisi, Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya.

Sun Z., Chen B., Zhang S., Hu C., (2004) "Four New Eudesmanes from Caragana Intermedia and Their Biological Activities", J. Nat. Prod, 67:1975-1979.

Tadeg H., Mohammed E., Asres K., Mariam T. G., (2005), "Antimicrobial activities of Some Selected Traditional Ethiopian Medicinal Plants Used In The Treatment of Skin Disorders", J. of Ethnopharmacol., 100 (1):168-175

Teresa J.De Pascual, Urones J.G., Marcos I.S., Basabe P., Cuadrado M^a J. Sexmero and Moro R.Frenandez (1987), Phytochemistry, 26,1767-1776

Thiery D., Gabel B., (1994) "Non-Host Plant Odor (*Tanacetum vulgare*; Asteracea) Affects the Reproductive Behavior of *Lobesia botrana* Den. Et Schiff (Lepidoptera: Tortricidae)", Journal of Insect Behavior Vol.7 , No.2: 149-157

Thiery D., Gabel B., Suchy V., Marison-Poll F., Hradsky P., Farkas P. (1992) "Floral Volatiles of *Tanacetum vulgare* L. Attractive to *Lobesia botrana* Den. Et Schiff. Females", J. Chem. Ecol., Vol.18, No. 5: 693-700

- Thomas O. O. (1989) "Antibacterial Properties of the Leaf and Flower Oils of *Tanacetum cilicium*" , Fitoterapia, Vol.LX, No.2: 135-137
- Thomas O. O. (1989) "Antibacterial Properties of the Leaf and Flower Oils of *Tanacetum corymbosum* " , Fitoterapia, Vol.LX, No.3: 229-230
- Thomas O. O. (1989) "Antibacterial Properties of the Leaf and Flower Oils of *Tanacetum macrophyllum*" , Fitoterapia, Vol.LX, No.4: 327-328
- Thomas O. O. (1989) "Anticoagulant and Antifibrinolytic Properties of the Leaf and Flower Oils of *Tanacetum cilicium*" , Fitoterapia, Vol.LX, No.2: 138-140
- Thomas O. O. (1989) "Anticoagulant and Antifibrinolytic Properties of the Leaf and Flower Oils of *Tanacetum corymbosum*" , Fitoterapia, Vol.LX, No.3: 231-233
- Thomas O. O. (1989) "Anticoagulant and Antifibrinolytic Properties of the Leaf and Flower Oils of *Tanacetum macrophyllum*" , Fitoterapia, Vol.LX, No.4: 329-330
- Thomas O. O. (1989) "Phytochemistry of the Leaf and Flower Oils of *Tanacetum cilicium*" , Fitoterapia, Vol.LX, No.2: 131-134
- Thomas O. O. (1989) "Phytochemistry of the Leaf and Flower Oils of *Tanacetum corymbosum*" , Fitoterapia, Vol.LX, No.3: 225-228
- Thomas O. O. (1989) "Phytochemistry of the Leaf and Flower Oils of *Tanacetum macrophyllum*" , Fitoterapia, Vol.LX, No.4: 323-326
- Tian.Z., Yang M., Li K., Si J., Shi L., Chen S., Xiao P., (2005) "Cytotoxicity of Tree Cycloartane Triterpenoids" 226: 65-75.
- Verpoorte R., Van Der Heijden R., Ten Hoopen H. J. G., Memelink J. (1999). Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolite Pathways for the Production of Fine Chemical. Biotech. Lett., 21:467-479.
- Tournier, H., Schinella, G., Balsa, E., Buschiazzo, H., Manez, S. ve Buschiazzo, P. M., (1999), "Effect of the Chloroform Extracts of *Tanacetum vulgare* and One of Its Active Principles, Parthenolide, on Experimental Gastric Ulcer in Rats", J.Pharm. Pharmacol., 51: 215-219.
- Wen, J., You, K.-R., Lee, S.-Y., Song, C.-H. ve Kim, D.-G., (2002), "Oxidative Stress-Mediated Apoptosis", J.Biol. Chem., 277(41): 38954-38964.
- Wube A.A., Bucar F., Gibbons S., Asres K., (2005) "Sesquiterpenes From *Warburgia ugandensis* and Their Antimicrobial Activity", Phytochemistry, 66:2309-2315.
- Zhang, S., Lin, Z.-N., Yang, C.-F., Shi, X., Ong C.-N. ve Shen, H.-M., (2004a), "Supressed NF- κ B and Sustained JNK Activation Contribute to the Sensitization Effect of Parthenolide to TNF- α -Induced Apoptosis in Human Cancer Cells", Carcinogenesis, 25(11): 2191-2199.
- Zhang, S., Ong, C.-N. ve Shen, H.-M., (2004b), "Critical Roles of Intracellular Thiols and Calcium in Parthenolide-Induced Apoptosis in Human Colorectal Cancer Cells", Cancer Lett., 208: 143-153.

ÖZGEÇMİŞ

Doğum tarihi	23.08.1977	
Doğum yeri	Kars	
Lise	1991-1994	İzzet Ünver Lisesi
Lisans	1996-2000	İstanbul Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans	2002-2006	Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü

Çalıştığı kurum(lar)

2003-2004	Vali Cahit Bayar İlköğretim Okulu İngilizce ve Türkçe Öğretmeni
2006	TUBİTAK Bursiyeri