

T.C.  
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

*Picoa juniperi, Picoa lefebvrei* TÜRLERİNİN SEKONDER  
METABOLİTLERİNİN SAFLAŞTIRILMASI,  
KARAKTERİZASYONU ve BİYOLOJİK  
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

ÇİĞDEM KUŞ

OCAK 2020

MUĞLA

**T.C.**  
**MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

*Picoa juniperi, Picoa lefebvrei* TÜRLERİNİN SEKONDER  
METABOLİTLERİNİN SAFLAŞTIRILMASI,  
KARAKTERİZASYONU ve BİYOLOJİK  
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

**DOKTORA TEZİ**

**ÇİĞDEM KUŞ**

**OCAK 2020**

**MUĞLA**

# MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

## Fen Bilimleri Enstitüsü

### TEZ ONAYI

**ÇİĞDEM KUŞ** tarafından hazırlanan *Picoa juniperi*, *Picoa lefebvrei* TÜRLERİNİN SEKONDER METABOLİTLERİNİN SAFLAŞTIRILMASI, KARAKTERİZASYONU ve BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ başlıklı tezinin, 22/01/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda Doktora derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

#### TEZ SINAV JURİSİ

Prof. Dr. Ufuk KOLAK (Jüri Başkanı)

Analitik Kimya Anabilim Dalı, Eczacılık Fakültesi,  
İstanbul Üniversitesi, İstanbul

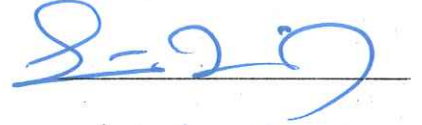
İmza:



Prof. Dr. Mehmet Emin DURU (Danışman)

Kimya Anabilim Dalı, Fen Fakültesi,  
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

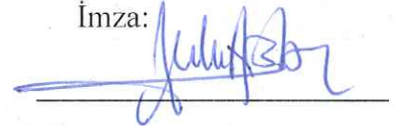
İmza:



Prof. Dr. Şevki ARSLAN (Üye)

Genel Biyoloji Anabilim Dalı, Fen Edebiyat Fakültesi,  
Pamukkale Üniversitesi, Denizli

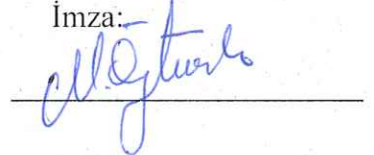
İmza:



Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK (Üye)

Kimya Anabilim Dalı, Fen Fakültesi,  
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

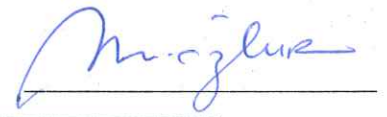
İmza:



Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Ali ÖZLER (Üye)

Kimya Anabilim Dalı, Fen Fakültesi,  
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



#### ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI

Prof. Dr. Mehmet Emin DURU

Kimya Anabilim Dalı Başkanı, Fen Fakültesi,  
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



Prof. Dr. Mehmet Emin DURU (Danışman)

Kimya Anabilim Dalı Başkanı, Fen Fakültesi,  
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



Savunma Tarihi: 22/01/2020

Tez çalışmalarım sırasında elde ettiğim ve sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgelerin tarafımdan bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde edildiğini; akademik ve bilimsel etik kurallarına uygun olduğunu beyan ederim. Ayrıca, akademik ve bilimsel etik kuralları gereği bu tez çalışması sırasında elde edilmemiş başkalarına ait tüm orijinal bilgi ve sonuçlara atıf yapıldığını da beyan ederim.

22/01/2020

Çiğdem KUŞ





## ÖZET

### *Picoa juniperi*, *Picoa lefebvrei* TÜRLERİNİN SEKONDER METABOLİTLERİNİN SAFLAŞTIRILMASI, KARAKTERİZASYONU ve BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Çiğdem KUŞ

Doktora Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet Emin DURU

Ocak 2020, 267 sayfa

Bu tez çalışmasında, Anadolu’da doğal olarak yayılış gösteren, ticari potansiyeli olan, *Picoa juniperi* ve *Picoa lefebvrei* türlerinin biyolojik aktiviteleri, kimyasal bileşenleri ve bu aktiviteye sahip olan bileşenler araştırıldı. Çalışmada Elazığ-Malatya civarından toplanan *Picoa juniperi* Vittad ve Denizli’den toplanan *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire türleri uygun koşullarla kurutulduktan sonra, sırasıyla *n*-hekzan, kloroform, aseton ve metanol ile oda koşullarında ekstrakte edildi. Metanol ekstresinden geriye kalan trüflerin 80°C’deki su ile ekstraksiyonu yapıldı ve farklı polaritelerde 5 farklı ekstre elde edildi. İlgili türlerin biyolojik aktivitelerini belirlemek için her bir türden elde edilen ekstrelerin antioksidan aktivitesi, enzim inhibisyon aktivitesi (antikolinesteraz ve üreaz) ve *in vitro* koşullarda Akciğer Kanseri (H1299), Meme Kanseri (MCF-7), Prostat Kanseri (PC-3) hücre hatları ve Fare Fibroblast hücrelerine (L929) karşı toksisite test edildi. Ekstrelerin antioksidan aktivite testleri,  $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemi, DPPH serbest radikali giderim aktivitesi, ABTS katyon radikali giderimi aktivitesi, CUPRAC yöntemi ve metal şelatlama kapasitesi olmak üzere 5 farklı metotla araştırıldı. Antikolinesteraz enzim aktivitesi ise asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) enzim inhibisyon aktiviteleri yöntemi kullanılarak belirlendi. *P. juniperi* ve *P. lefebvrei*’nin metanol ekstresinin 800  $\mu\text{g/mL}$ ’de DPPH serbest radikal giderim aktivitesi inhibisyonu sırasıyla %58,27 $\pm$ 0,19; %57,54 $\pm$ 0,01 iken, ABTS katyon radikali giderimi %91,56 $\pm$ 0,10; %91,47 $\pm$ 0,02 olarak hesaplandı. Her iki trüf türünün, metanol ve su ekstreleri üreaz enzim inhibisyon aktiviteleri standart olarak kullanılan tiyoüreye kıyasla orta standartta aktivite göstermektedir (%53,79 $\pm$ 0,40, %40,96 $\pm$ 0,07; %55,42 $\pm$ 0,86, %41,59 $\pm$ 0,74). İlgili kanser hücrelerine karşı ekstrelerin gösterdiği toksisite, onların %50 canlılık değerleri hesaplanarak belirlendi. Bu sonuçlara göre, *Picoa lefebvrei* su ekstresinin Akciğer Kanseri (H1299) ve Prostat Kanseri (PC-3) hücre hattına karşı toksik etkileri yüksek iken, L929

fibroblast hücresi üzerine toksisitesi düşüktür. Prostat Kanseri (PC-3) hücre hattında *P. lefebvrei* % canlılık %38,2'ye kadar düşerken *P. juniperi*'de %49,9'a kadar düşmüştür. Meme Kanseri (MCF-7) hücre hattında ise *P. lefebvrei* metanol ekstresi %41,5'e düştüğü; buna karşılık, *Picoa juniperi*'de %54,2'ye kadar düştüğü hesaplanmıştır. Meme Kanseri (MCF-7) ve Prostat Kanseri (PC-3) hücre hattı üzerinde yapılan çalışmada her iki türün metanol ekstresinin daha yüksek toksisiteye sahip olduğu, ancak *P. lefebvrei* su ekstresinin Akciğer Kanseri (H1299) hücre hattına karşı diğer ekstrelerden çok daha etkili olduğu görülmüştür (200 µg/mL oranında %25,6'dır).

Elde edilen antioksidan ve sitotoksik aktivite sonuçlarına göre her iki türün metanol ve kloroform ekstrelerinin, antioksidan aktivite kontrollü olarak, izolasyonları gerçekleştirildi. Buna göre, sırasıyla *n*-hekzan, kloroform, aseton, metanol ve sıcak su ekstrelerinden elde edilen biyoaktif bileşiklerin izolasyonları, kolon kromatografisi, ince tabaka kromatografisi, preparatif HPLC teknikleri kullanılarak gerçekleştirildi. Saflaştırılan bileşiklerin <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, 2D-NMR, FTIR ve MS spektrumları alınarak yapıları aydınlatıldı. Buna göre, *Picoa lefebvrei* ve *Picoa juniperi*'den toplam 17 bileşiğin yapısı tam olarak aydınlatıldı. *Picoa juniperi*'den elde edilen bileşikler Brassikasterol (1), Ergosterol (2), Ergosterol endoperoksit (3), Ergosta 5,22-dien 3-*O*- $\beta$ -*D*-glukopiranozit (4), Juniperon A (5), Juniperon B (6), Mannitol (7), Adenozin (8), Linoleik asit, Oleik asit (9) iken; *Picoa lefebvrei*'den elde edilen bileşikler Brassikasterol (10), Ergosta 5,22-dien 3-*O*- $\beta$ -*D*-glukopiranozit (11), Urasil (12), 1- $\beta$ -*L*-xylofuranosil (13), Eritriol (14),  $\alpha$ -*D*-glukopiranozil- $\alpha$ -*D*-glukopiranozit (15), Brasskasteril linoleat (16), 5 $\alpha$ -6 $\alpha$  epoksi ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ -ol (17)'dur. Bu bileşiklerden *Picoa juniperi*'den elde edilen Juniperon A (5), Juniperon B (6) bileşikleri bu tez çalışmasıyla ilk defa izole edilip yapısı aydınlatılmıştır. Ayrıca her iki türün polisakkaritleri uygun yöntemlerle ayrıştırıldı ve HPLC ve FTIR ile yapıları karakterize edildi. Saflaştırılan polisakkaritlerin antioksidan aktiviteleri belirlendi. Bunlara ek olarak her iki türün fenolik bileşenleri HPLC-DAD sistemiyle araştırıldı. Elde edilen sonuçlara göre fumarik asitin hem *P. juniperi*'de hem de *P. lefebvrei*'de ana bileşik olduğu tespit edildi (165,2 µg/g;12,6 µg/g).

Bu tez çalışmasında izole edilen 17 bileşiğin miktarı yeterli olanların DPPH serbest radikal giderimi, ABTS katyon radikali giderimi ve Meme Kanseri (MCF-7) ve Fare Fibroblast (L929) hücre hatlarına karşı toksisiteleri *in vitro* testlerle belirlendi. Yapısı aydınlatılan bileşikler arasında, Brassikasterol, Ergosterol, Ergosta 5,22-dien 3-*O*- $\beta$ -*D*-glukopiranozit, Adenozin, 1- $\beta$ -*L*-xylofurasil, 5 $\alpha$ -6 $\alpha$  epoksi ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ -ol'ün kanser hücrelerine karşı toksik etki gösterdiği; 1- $\beta$ -*L*-xylofurasil, Adenozin bileşiklerinin antioksidan etkilerinin olduğu tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** *Picoa juniperi*, *Picoa lefebvrei*, Trüf, Biyolojik Aktivite, Antioksidan Aktivite, Meme Kanseri (MCF-7), Prostat Kanseri (PC-3), Akciğer Kanseri (H1299), Sitotoksisite

## ABSTRACT

### PURIFICATION and CHARACTERIZATION of SECONDARY METABOLITES of *Picoa juniperi*, *Picoa lefebvrei* and INVESTIGATION of THEIR BIOLOGICAL ACTIVITIES

Çiğdem KUŞ

Doctor of Philosophy (Ph.D)

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet Emin DURU

January 2020, 267 pages

In this thesis, the biological activities of *Picoa juniperi* and *Picoa lefebvrei* species which are naturally distributed in Anatolia and have commercial potential, were investigated. In this study, *Picoa juniperi* Vittad collected from Elazığ-Malatya and *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire collected from Denizli and their species were dried under appropriate conditions and extracted with *n*-hexane, chloroform, acetone and methanol respectively under room conditions. Soaked in methanol extract, the residues of truffle were extracted with water at 80°C and 5 different extracts of different polarities were obtained. To determine the biological activities, antioxidant activities and enzyme inhibition activities (anticholinesterase and urease) of each extract obtained from these species, as well as their toxicity against Lung Cancer (H1299), Breast Cancer (MCF-7), Prostate Cancer (PC-3) cell lines and Mouse Fibroblast cells (L929) were tested in vitro conditions. Antioxidant activity tests of the extracts were investigated with 5 different methods that are  $\beta$ -carotene bleaching method, DPPH free radical scavenging activity, ABTS cation radical scavenging activity, CUPRAC method and metal chelating capacity respectively. Anticholinesterase enzyme activity was determined by using acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) enzyme inhibition activity methods. 800  $\mu$ g/mL DPPH free radical reducing activity inhibition of *P. juniperi* and *P. lefebvrei*'s methanol extracts are 58.27 $\pm$ 0.19% and 57.54 $\pm$ 0.01% respectively; while their ABTS cation radical reducing activity inhibitions are calculated as 91.56 $\pm$ 0.10% and is 91.47 $\pm$ 0.02%. The urease enzyme inhibition activities of methanol and water extracts of both truffle species showed moderate activity compared to thiourea which sets a standard (53.79 $\pm$ 0.40%, 40.96 $\pm$ 0.07%; 55.42 $\pm$ 0.86%, 41.59 $\pm$ 0.74%). Toxicities of the extracts against the abovementioned cancer cells were determined by calculating their 50% viability.

According to these results, water extract of *Picoa lefebvrei* is highly toxic to Lung Cancer (H1299) and Prostate Cancer (PC-3) cell lines, while its toxicity on L929 fibroblast cell is low. On Prostate Cancer (PC-3) cell line, *P. lefebvrei* methanol extract decreased to 38.2% while *P. juniperi* methanol extract decreased to 49.9% viability. On breast cancer cell line (MCF-7), *P. lefebvrei* methanol extract decreased to 41.5%, whereas *Picoa juniperi* decreased to 54.2%. In the study methanol extracts of both species had high toxicity on Breast Cancer (MCF-7) and Prostate Cancer (PC-3) cell lines, however, *P. lefebvrei* water extract was much more effective on Lung Cancer (H1299) cell line than the other extracts (25.6% at 200 µg/mL).

According to the antioxidant and cytotoxic activity results, methanol and chloroform extracts of both species were isolated while their activities are controlled. In this respect, the isolation of bioactive compounds obtained from *n*-hexane, chloroform, acetone, methanol and hot water extracts was carried out by using column chromatography, thin-layer chromatography and preparative HPLC techniques. The structures of the purified compounds were elucidated by <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, 2D-NMR, FTIR and MS spectra techniques. Structures of 17 compounds obtained from *Picoa lefebvrei* and *Picoa juniperi* were fully elucidated. The compounds obtained from *Picoa juniperi* are Brassicasterol (1), Ergosterol (2), Ergosterol endoperoxide (3) Ergosta 5,22-diene 3-*O*-β-*D*-glucopyranoside (4), Juniperon A (5), Juniperon B (6), Mannitol (7), Adenosine (8), Linoleic acid, Oleic acid (9). The compounds obtained from *P. lefebvrei* are as follows: Brassicasterol (10), 5,22-diene 3-*O*-β-*D*-glucopyranoside (11), Uracil (12), 1-β-*L*- xylofuranosyl (13), Erythriol (14), α-*D*-glukopiranozil-α-*D*-glukopiranozit (15), Brassicasteryl linoleate (16); 5α-6α epoxy ergosta-7,22-dien-3β-ol (17). Juniperon A (5) and Juniperon B (6) were also isolated and their structures were elucidated for the first time by this thesis. Moreover, polysaccharides of both species were removed by appropriate methods and their structures were characterized by HPLC and FTIR. Antioxidant activities of purified polysaccharides were identified. Besides, phenolic compounds of both species were investigated by HPLC-DAD system. According to the results, fumaric acid is the main compound in both *P. juniperi* and *P. lefebvrei* species (165.2 µg/g; 12.6 µg/g).

In this study, DPPH free radical scavenging, ABTS cation radical scavenging of the pure compounds with sufficient amount out of 17 isolated compounds, as well as their toxicity against Breast Cancer (MCF-7), Mouse Fibroblast cells (L929) were identified in vitro tests. Among other compounds whose structures were elucidated, it is identified that Brassicasterol, Ergosterol, Ergosta 5,22-diene 3-*O*-β-*D*-glucopyranoside, Adenosine, 1-β-*L*- xylofuranosyl, 5α-6α epoxy ergosta-7, 22-dien-3β-ol have toxicity against cancer cells, while 1-β-*L*- xylofuranosyl, Adenosine compounds were found to have antioxidant effects.

**Keywords:** *Picoa juniperi*, *Picoa lefebvrei*, Truffle, Biological Activity, Antioxidant Activity, Breast Cancer (MCF-7), Prostate Cancer (PC-3), Lung Cancer (H1299), Cytotoxicity

*Değerli EGET (Eğitim, Geriatri, Ekolojik Tarım, Turizm) Vakfı ailesine,*



## ÖNSÖZ

Tez çalışmam süresince, bilgisiyle, tecrübesiyle her zaman yol göstererek, maddi, manevi destek sağlayan tez danışmanım Prof. Dr. Mehmet Emin DURU'ya,

Tez çalışmam süresince, değerli bilgi ve önerileriyle her zaman destek olan, eleştirileriyle yol gösteren Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK'e,

Tez çalışması süresince, değerli bilgilerini paylaşan, yol gösteren Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Ali ÖZLER'e,

Araştırmalar için destek sağlayan "International Center for Chemical Sciences-H.E.J. Research Institute of Chemistry, Karachi, Pakistan enstitüsü müdürü Prof. Dr. M. Iqbal CHOUDHARY'ye ve ekibine, Kırıkkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi'nde Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mustafa TÜRK'e,

Tez savunmasında jüri olarak katılan bilgileri, eleştirileri, önerileriyle destek sağlayan Prof. Dr. Ufuk KOLAK ve Prof. Dr. Şevki ARSLAN'a

Tez çalışmam süresince bilgilerini, tecrübelerini her daim paylaşan, her konuda destek sağlayan Doç. Dr. Gülsen TEL-ÇAYAN'a,

Tez çalışmamın başlangıcından bu yana destek ve yardımlarını esirgemeyen, her daim bilgilerini aktaran Öğr. Gör. Dr. Selçuk Küçükaydın'a ve değerli arkadaşım Doktora öğrencisi Meltem TAŞ'a,

Çalışmaktan mutluluk duyduğum, çalışma arkadaşlarım, Doktora öğrencileri Cansel ÇAKIR'a, Cansu KORKMAZ'a, Begüm HAZAR GÖKCAN'a, Bihter ŞAHİN'e ve yüksek lisans öğrencisi Yeşim TEMEL'e,

Yaşamıma anlam katan, yolun en güzelini gösteren, bulunduğu noktada olmamda en büyük pay sahibi olan ve parçası olmaktan onur duyduğum değerli EGET Vakfı ailesine,

Her zaman öğrenimimi teşvik eden, maddi ve manevi destek sağlayıp, yanımda olan sevgili aileme teşekkür ederim.

Bu tez çalışması 114Z644 nolu proje ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiş olup, bu desteğinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xviii
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	xxiv
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
1.1. Amaç .....	4
1.2. Botanik Bilgiler.....	5
1.2.1. Pyronemataceae familyası.....	5
1.2.2. <i>Picoa</i> cinsi.....	6
1.2.3. <i>Picoa</i> türleri.....	6
1.2.3.1. <i>Picoa juniperi</i> Vittad. ....	6
1.2.3.2. <i>Picoa lefebvrei</i> (Pat.) Maire .....	6
1.3. Trüflerin Halk Arasında Kullanımı.....	7
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ .....</b>	<b>10</b>
2.1. Trüf Mantarları Üzerinde Yapılmış Literatür Çalışmaları .....	10
2.2. <i>Picoa</i> Türleri Üzerine Yapılan Çalışmalar (Kimyasal Bileşenleri ve Tıbbi Etkileri).....	15
2.3. Terpenoidler .....	17
2.3.1. Terpenlerin biyosentezi ve sınıflandırması .....	18
2.3.2. Triterpenoitler .....	21
2.4. Fenolik Bileşikler .....	23
2.5. Besinsel İçerikleri.....	25
2.6. Steroidler .....	29
2.7. Polisakkaritler .....	31
2.8. Antioksidan Aktiviteler.....	32
2.9. Enzim Aktiviteleri.....	35
2.10. Sitotoksik Aktivite .....	37

2.11. Trüflerden Elde Edilen Saf Bileşikler .....	41
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>45</b>
3.1. Mantar Materyalleri .....	45
3.2. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler .....	45
3.2.1. Kimyasal maddeler ve çözücüler .....	45
3.2.2. Çözeltilerin hazırlanması .....	46
3.2.2.1. <i>β</i> -karoten renk açılımı yönteminde kullanılan çözeltiler .....	46
3.2.2.2. DPPH serbest radikal giderim yönteminde kullanılan çözeltiler .....	46
3.2.2.3. ABTS <sup>+</sup> katyonu radikal giderim yönteminde kullanılan çözeltiler....	47
3.2.2.4. CUPRAC yönteminde (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) yönteminde kullanılan çözeltiler.....	47
3.2.2.5. Metal bağlama aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler .....	47
3.2.2.6. Antikolinesteraz aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler.....	47
3.2.2.7. Üreaz enzimi inhibisyon aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler	48
3.2.2.8. İnce tabaka kromatografisinde kullanılan belirteçler .....	48
3.3. Aletler ve Diğer Gereçler .....	49
3.4. Ekstrelerin Hazırlanması.....	50
3.5. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri .....	51
3.5.1. <i>β</i> -karoten renk açılım yöntemi .....	51
3.5.2. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi .....	51
3.5.3. ABTS <sup>+</sup> radikali giderimi aktivitesi yöntemi .....	52
3.5.4. Cu (II) indirgeme aktivitesi (CUPRAC) yöntemi .....	52
3.5.5. Metal bağlama aktivitesi yöntemi .....	53
3.6. Asetilkolinesteraz ve Bütirikolinesteraz İnhibisyon Aktiviteleri Yöntemi... 53	
3.7. Üreaz İnhibisyon Aktivitesi Yöntemi .....	54
3.8. Fenolik Profillerin HPLC-DAD Sistemiyle Belirlenmesi .....	54
3.9. Silillenme İşlemi ve GC-MS Analizi .....	55



3.10. Sitotoksik Aktivite Testleri .....	56
3.10.1. Hücre kültürü .....	56
3.10.2. WST-1 sitotoksisite testi .....	56
3.11. Polisakkaritlerin İzolasyonu ve Karakterizasyonları .....	57
3.11.1. Polisakkaritlerin eldesi ve çöktürülmesi .....	57
3.11.2. Polisakkaritlerin ortalama molekül ağırlıklarının hesaplanması.....	57
3.11.3. Polisakkaritlerin FT-IR ile analizleri .....	57
3.12. Kromatografik Yöntemler .....	58
3.12.1. İnce tabaka kromatografisi.....	58
3.12.2. Kolon kromatografisi .....	58
3.12.3. Preparatif HPLC-UV-RI kullanarak biyoaktif bileşenlerin izolasyonu .	58
3.12.3.1. Preparatif HPLC çalışma şartları .....	59
3.13. Spektroskopik Yöntemler.....	59
3.13.1. Nükleer manyetik rezonans.....	59
3.13.2. Kütle spektroskopisi.....	59
3.14. İstatistik Hesaplamalar .....	60
3.15. IC <sub>50</sub> ve A <sub>0,5</sub> değerlerinin hesaplanması.....	60
<b>4. BULGULAR VE İRDELEME.....</b>	<b>61</b>
4.1. Trüf Mantarlarından Elde Edilen Ekstrelerin Miktar Sonuçları .....	61
4.2. Trüf Mantarı Ekstrelerinin Antioksidan Aktivite Sonuçları .....	61
4.2.1. $\beta$ -karoten renk açılım yöntemi sonuçları (lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi) .....	61
4.2.2. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi sonuçları .....	63
4.2.3. ABTS <sup>+</sup> radikali giderim aktivitesi yöntemi sonuçları .....	64
4.2.4. Cu (II) indirgeme kapasitesi (CUPRAC) yöntemi sonuçları .....	65
4.2.5. Metal bağlama aktivitesi yöntemi sonuçları .....	66
4.3. Trüf Mantarı Ekstrelerinin Enzim İnhibisyon Aktivite Sonuçları .....	68

4.3.1. Antikolinesteraz aktivite yöntemi sonuçları .....	68
4.3.1.1. Asetilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları.....	68
4.3.1.2. Bütilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları.....	69
4.3.2. Üreaz inhibisyon aktivitesi sonuçları.....	70
4.4. Trüf Mantarı Ekstrelerinin Sitotoksik Aktivite Sonuçları.....	71
4.4.1. Ekstrelerin Meme Kanseri hücre hattına (MCF-7) karşı toksisiteleri.....	72
4.4.2. Ekstrelerin Akciğer Kanseri hücre hattına (H1299) karşı toksisiteleri ....	72
4.4.3. Ekstrelerin Prostat Kanseri hücre hattına (PC-3) karşı toksisiteleri .....	73
4.4.4. Ekstrelerin Fare Fibroplast hücrelerine (L929) karşı toksisiteleri .....	73
4.5. Trüf Mantarlarının Fenolik ve Organik Asit İçeriklerinin Analiz Sonuçları ..	75
4.6. Trüf Mantarlarının Polisakkarit Bakımından Zenginleştirilmiş Ekstreleri Üzerine Yapılan Analiz Sonuçları.....	77
4.6.1. Trüf mantarlarının polisakkaritçe zengin olan ekstrelerin antioksidan aktivite sonuçları.....	77
4.6.1.1. $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemi sonuçları (lipit peroksidasyonu inhibisyonu aktivite).....	77
4.6.1.2. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi sonuçları .....	78
4.6.1.3. ABTS <sup>+</sup> radikali giderim aktivitesi yöntemi sonuçları.....	79
4.6.1. Trüf mantarlarının polisakkaritlerin ortalama molekül ağırlığı sonuçları	80
4.6.2. Trüf mantarlarının polisakkaritçe zengin olan ekstrelerinin FT-IR analiz sonuçları.....	82
4.7. <i>Picoa</i> Türleri Üzerine Yapılan İzolasyon Çalışmaları Sonuçları.....	83
4.7.1. <i>Picoa juniperi</i> 'nin bioaktivite kontrollü izolasyon çalışmaları sonuçları	83
4.7.2. <i>Picoa juniperi</i> 'den izole edilen bileşiklerin yapı analizi .....	88
4.7.2.1. Brassikasterol (PJM-1).....	88
4.7.2.2. Ergosterol (PJM-2).....	98
4.7.2.3. Ergosterol endoperoksit (PJM-3) .....	106

4.7.2.4. Ergosta 5,22-dien 3-O- $\beta$ -D-glukopiranozit (PJM-4).....	116
4.7.2.5. Juniperon A (Yeni Bileşik) (PJM-5).....	126
4.7.2.6. Juniperon B (Yeni Bileşik) (PJM-6).....	136
4.7.2.7. Adenozin (PJM-7).....	146
4.7.2.8. Mannitol (PJM-8).....	153
4.7.2.9. Oleik asit, Linoleik asit (PJC-1) yapı analizi.....	162
4.7.3. Picoa lefebvrei'nin bioaktivite kontrollü izolasyon çalışmaları .....	169
4.7.4. Picoa lefebvrei'den izole edilen bileşikler.....	173
4.7.4.1. Brassikasterol (PLM-1).....	173
4.7.4.2. Ergosta 5,22-dien 3-O- $\beta$ -D-glukopiranozit (PLM 2).....	173
4.7.4.3. Urasil (PLM-3) .....	174
4.7.4.4. 1- $\beta$ -L-xylofuranosil (PLM 4).....	178
4.7.4.5. Eritriol (PLM 5).....	186
4.7.4.5. $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit (PLM 6) .....	195
4.7.4.6. Brassikasteril linoleat (PLC-1).....	205
4.7.4.7. 5 $\alpha$ -6 $\alpha$ epoksi ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ -ol (PLC-2) .....	214
<b>5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>224</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>233</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>233</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Terpenlerin sınıflandırılması.....	18
Çizelge 3.2. Trüf mantarlarının besinsel içerikleri.....	27
Çizelge 3.3. Erkeklerde en sık görülen kanser türleri .....	38
Çizelge 3.4. Kadınlarda en sık görülen kanser türleri .....	38
Çizelge 3.5. Trüflerden elde edilen bioaktif bileşikler.....	42
Çizelge 4.1. HPLC-DAD cihazı analiz şartları .....	55
Çizelge 4.2. GC-MS silleme analiz şartları.....	55
Çizelge 5.1. Mantarlardan elde edilen ekstrelerin miktarları ve verimleri .....	61
Çizelge 5.2. <i>P. lefebvrei</i> ve <i>P. juniperi</i> 'nin $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemiyle lipid peroksidasyonu inhibisyonu aktivitesi.....	62
Çizelge 5.3. <i>P. lefebvrei</i> ve <i>P. juniperi</i> 'nin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi .....	63
Çizelge 5.4. <i>P. lefebvrei</i> ve <i>P. juniperi</i> 'nin ABTS katyon radikali giderim aktivitesi .....	64
Çizelge 5.5. <i>P. lefebvrei</i> ve <i>P. juniperi</i> 'nin CUPRAC yöntemiyle $\text{Cu}^{2+}$ indirgeme gücü aktivitesi .....	66
Çizelge 5.6. <i>P. lefebvrei</i> ve <i>P. juniperi</i> 'nin $\text{Fe}^{2+}$ -Ferozin yöntemiyle metal bağlama aktivitesi .....	67
Çizelge 5.7. <i>P. juniperi</i> ve <i>P.lefebvrei</i> 'nin Asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi .	68
Çizelge 5.8. <i>P. juniperi</i> ve <i>P. lefebvrei</i> 'nin Bütirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi	69
Çizelge 5.9. <i>P. juniperi</i> ve <i>P.lefebvrei</i> 'nin üreaz enzim inhibisyon aktivitesi.....	71
Çizelge 5.10. <i>P. lefebvrei</i> ve <i>P. juniperi</i> ekstrelerinin Meme Kanseri hücre hattı (MCF-7) üzerine toksisitesi.....	72
Çizelge 5.11. <i>P. lefebvrei</i> ve <i>P. juniperi</i> ekstrelerinin Akciğer Kanseri hücre hattı (H1299) üzerine toksisitesi.....	73
Çizelge 5.12. <i>P. lefebvrei</i> ve <i>P. juniperi</i> ekstrelerinin Prostat Kanseri hücre hattı (PC-3) üzerine toksisitesi.....	73
Çizelge 5.13. <i>P. lefebvrei</i> ve <i>P. juniperi</i> ekstrelerinin Fare Fibroblast hücreleri (L929) üzerine toksisitesi .....	73

Çizelge 5.14. Trüf mantarlarının fenolik profilleri ve organik asit İçerikleri ( $\mu\text{g/g}$ ).	76
Çizelge 5.15. <i>P. juniperi</i> ve <i>P. lefebvrei</i> ekstrelerinin $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemiyle lipit peroksidasyonu inhibisyonu aktivitesi.....	78
Çizelge 5.16. <i>P. juniperi</i> ve <i>P. lefebvrei</i> ekstrelerinin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi .....	78
Çizelge 5.17. <i>P. juniperi</i> ve <i>P. lefebvrei</i> ekstrelerinin ABTS katyon radikali giderim aktivitesi .....	79
Çizelge 5.18. <i>P. juniperi</i> ve <i>P. lefebvrei</i> ekstrelerinin $\text{Cu}^{+2}$ indirgeme gücü aktivitesi .....	79
Çizelge 5.19. <i>P. juniperi</i> ve <i>P. lefebvrei</i> ekstrelerinin $\text{Fe}^{2+}$ Ferrozin yöntemiyle metal bağlama aktivitesi.....	80
Çizelge 5.20. <i>P. juniperi</i> metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonların miktarları	84
Çizelge 5.21. <i>P. juniperi</i> 'den metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonların ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri .....	84
Çizelge 5.22. <i>P. juniperi</i> 'den metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonların DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri .....	85
Çizelge 5.23. <i>P. juniperi</i> kloroform ekstresinden elde edilen fraksiyonların miktarları .....	87
Çizelge 5.24. <i>P. juniperi</i> 'den kloroform ekstresinden elde edilen fraksiyonların ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri .....	87
Çizelge 5.25. <i>P. juniperi</i> 'den kloroform ekstresinden elde edilen fraksiyonların DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri .....	87
Çizelge 5.26. Brassikasterol 'ün (PJM-1) $^1\text{H-NMR}$ , $^{13}\text{C-NMR}$ ve HMBC değerleri	89
Çizelge 5.27. Ergosterol'ün (PJM-2) $^1\text{H-NMR}$ , $^{13}\text{C-NMR}$ , HMBC ve COSY değerleri .....	99
Çizelge 5.28. Ergosterol endoperoksit (PJM-3) $^1\text{H-NMR}$ , $^{13}\text{C-NMR}$ , HMBC ve COSY değerleri.....	107
Çizelge 5.29. Ergosta 5,22-dien 3- <i>O</i> - $\beta$ - <i>D</i> -glukopiranozit (PJM-4) $^1\text{H-NMR}$ , $^{13}\text{C-NMR}$ , HMBC ve COSY değerleri .....	117
Çizelge 5.30. Juniperon A (PJM-5) $^1\text{H-NMR}$ , APT-NMR, HMBC ve COSY değerleri .....	127

Çizelge 5.31. Juniperon B'nin (PJM-6) <sup>1</sup> H-NMR, APT-NMR, HMBC ve COSY değerleri.....	137
Çizelge 5.32 Adenozin'in (PJM-7) <sup>1</sup> H-NMR, <sup>13</sup> C-NMR ve HMBC değerleri.....	147
Çizelge 5.33. Mannitol'ün (PJM-8) <sup>13</sup> C-NMR <sup>1</sup> H-NMR ve HMBC değerleri.....	154
Çizelge 5.34. Linoleik asit, Oleik asit'in (PJC-1) <sup>1</sup> H-NMR ve <sup>13</sup> C-NMR değerleri	163
Çizelge 5.35. <i>P. lefebvrei</i> 'nin metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonların miktarları .....	169
Çizelge 5.36. <i>P. lefebvrei</i> 'nin metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonların ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi .....	169
Çizelge 5.37. <i>P. lefebvrei</i> 'nin metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonların DPPH serbest radikal giderim aktivitesi.....	170
Çizelge 5.38. <i>P. lefebvrei</i> kloroform ekstresinden elde edilen fraksiyonların miktarları .....	172
Çizelge 5.39. <i>P. lefebvrei</i> 'den kloroform ekstresinden elde edilen fraksiyonların ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri .....	172
Çizelge 5.40. <i>P. lefebvrei</i> 'den kloroform ekstresinden elde edilen fraksiyonların DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.....	172
Çizelge 5.41. Urasil'in (PJM-1) <sup>1</sup> H-NMR değerleri .....	174
Çizelge 5.42. 1-β-L-xylofuranosil'in (PLM-4) <sup>1</sup> H-NMR, APT-NMR, HMBC ve COSY değerleri .....	179
Çizelge 5.43 Eritriol'ün (PLM-5) <sup>1</sup> H-NMR, <sup>13</sup> C-NMR ve HMBC değerleri .....	187
Çizelge 5.44. α-D-glukopiranozil-α-D-glukopiranozit'in (PLM-6) <sup>1</sup> H-NMR, <sup>13</sup> C-NMR, HMBC ve COSY değerleri .....	196
Çizelge 5.45. Brasskasteril linoleat'ın (PLC-1) <sup>1</sup> H-NMR APT-NMR, HMBC ve COSY değerleri .....	206
Çizelge 5.46 5α-6α epoksi ergosta-7,22-dien- 3β-ol'ün (PLC-2) <sup>13</sup> C-NMR, <sup>1</sup> H-NMR, HMBC ve COSY değerleri .....	215
Çizelge 6.1. <i>Picoa juniperi</i> ve <i>Picoa lefebvrei</i> 'den izole edilen bileşiklerin bazılarının DPPH serbest radikali, ABTS katyon radikali giderimi ve Meme Kanseri (MCF-7), Akciğer Kanseri (H1299) hücre hattına karşı toksisite sonuçları .....	227

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Tez çalışmasına konu olan <i>Picoa juniperi</i> Vittad (A) ve <i>Picoa lefebvrei</i> (Pat.) Maire (B) trüf türlerinin resimleri .....	7
Şekil 3.1. Terpenlerin biyosentezi.....	20
Şekil 3.2. Tetrasiklik triterpenler .....	21
Şekil 3.3. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması .....	23
Şekil 3.4. Steroidlerin iskelet yapısı.....	30
Şekil 3.5. Steroid yapıları örnekler .....	30
Şekil 3.6. Türkiye'nin 2018 yılına ait kanser vakaları oran ve sayıları (Yaş, cinsiyet ayrımı olmaksızın).....	38
Şekil 3.7. Dünyada her 100.000 kişi'de bulunan ve ülkelere göre standart yaşta, erkek ve kadın kanser oranı .....	39
Şekil 4.1. Mantarların ekstraksiyon işlemleri .....	50
Şekil 4.2. Preparatif HPLC cihazı .....	59
Şekil 5.1. <i>P. lefebvrei</i> ve <i>P. juniperi</i> 'nin $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemiyle lipid peroksidasyonu inhibisyonu aktivitesi .....	62
Şekil 5.2. <i>P. lefebvrei</i> ve <i>P. juniperi</i> 'nin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi ..	64
Şekil 5.3. <i>P. lefebvrei</i> ve <i>P. juniperi</i> 'nin ABTS katyon radikali giderim aktivitesi ..	65
Şekil 5.4. <i>P. lefebvrei</i> ve <i>P. juniperi</i> 'nin CUPRAC yöntemiyle $\text{Cu}^{2+}$ indirgeme gücü aktivitesi .....	66
Şekil 5.5. <i>P. lefebvrei</i> ve <i>P. juniperi</i> 'nin $\text{Fe}^{2+}$ -Ferozin yöntemiyle metal bağlama aktivitesi .....	67
Şekil 5.6. <i>P. juniperi</i> ve <i>P. lefebvrei</i> 'nin AChE inhibisyon aktivitesi .....	69
Şekil 5.7. <i>P. juniperi</i> ve <i>P. lefebvrei</i> 'nin BChE enzim inhibisyon aktivitesi.....	70
Şekil 5.8. <i>P. juniperi</i> ve <i>P. lefebvrei</i> 'nin üreaz enzim inhibisyon aktivitesi.....	71
Şekil 5.9. <i>P. juniperi</i> ve <i>P. lefebvrei</i> 'nin 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ fare Fibroblast hücresi (L929) Meme Kanseri (MCF-7), Akciğer Kanseri (H1299) ve Prostat Kanseri (PC-3) hücre hatlarına karşı elde edilen % canlılık değerleri .....	74

Şekil 5.10. Fenolik bileşiklerin ve organik asit bileşiklerinin 280 nm’de HPLC-DAD kromatogramı .....	75
Şekil 5.11. <i>P. juniperi</i> ’de bulunan fenolik ve organik asit bileşiklerinin 280 nm’de HPLC-DAD kromatogramı .....	76
Şekil 5.12. <i>P. lefebvrei</i> ’de bulunan fenolik ve organik asit bileşiklerinin 280 nm’de HPLC-DAD kromatogramı .....	76
Şekil 5.13. <i>P. juniperi</i> ekstresinin HPLC-DAD Kromatogramı .....	81
Şekil 5.14. <i>P. lefebvrei</i> ekstresinin HPLC-DAD kromatogramı .....	81
Şekil 5.15. <i>P. juniperi</i> ’nin ekstresinin FT-IR spektrumu .....	82
Şekil 5.16. <i>P. lefebvrei</i> ’nin ekstresinin FT-IR spektrumu .....	82
Şekil 5.17. <i>P. juniperi</i> ’nin metanol ekstresinin izolasyon diyagramı .....	86
Şekil 5.18. <i>P. juniperi</i> ’nin kloroform ekstresinin izolasyon diyagramı .....	87
Şekil 5.19. Brassikasterol (PJM-1).....	88
Şekil 5.20. Brassikasterol’ün (PJM-1) FT-IR spektrumu .....	91
Şekil 5.21. Brassikasterol’ün (PJM-1) <sup>1</sup> H-NMR spektrumu (600 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) .....	92
Şekil 5.22. Brassikasterol’ün (PJM-1) <sup>13</sup> C-NMR spektrumu (150 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	93
Şekil 5.23. Brassikasterol’ün (PJM-1) APT-NMR spektrumu .....	94
Şekil 5.24. Brassikasterol’ün (PJM-1) HSQC spektrumu.....	95
Şekil 5.25. Brassikasterol’ün (PJM-1) HMBC spektrumu .....	96
Şekil 5.26. Brassikasterol’ün (PJM-1) EI-MS spektrum .....	97
Şekil 5.27. Ergosterol (PJM-2).....	98
Şekil 5.28. Ergosterol’ün (PJM-2) <sup>1</sup> H-NMR spektrumu (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) .....	100
Şekil 5.29. Ergosterol’ün (PJM-2) <sup>13</sup> C-NMR spektrumu (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	101
Şekil 5.30. Ergosterol’ün (PJM-2) COSY spektrumu.....	102
Şekil 5.31. Ergosterol’ün (PJM-2) HSQC spektrumu.....	103
Şekil 5.32. Ergosterol’ün (PJM-2) HMBC spektrumu.....	104
Şekil 5.33. Ergosterol’ün (PJM-2) EI-MS spektrumu .....	105
Şekil 5.34. Ergosterol endoperoksit (PJM-3).....	106
Şekil 5.35. Ergosterol endoperoksit’in (PJM-3) <sup>1</sup> H-NMR spektrumu (600 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	109



Şekil 5.36. Ergosterol endoperoksit'in (PJM-3) $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu (150 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	110
Şekil 5.37. Ergosterol endoperoksit'in (PJM-3) DEPT 135 spektrumu .....	111
Şekil 5.38. Ergosterol endoperoksit'in (PJM-3) COSY spektrumu.....	112
Şekil 5.39. Ergosterol endoperoksit'in (PJM-3) HSQC spektrumu.....	113
Şekil 5.40. Ergosterol endoperoksit'in (PJM-3) HMBC spektrumu.....	114
Şekil 5.41. Ergosterol endoperoksit'in (PJM-3) EI-MS spektrumu.....	115
Şekil 5.42. Ergosta 5,22-dien 3- <i>O</i> - $\beta$ - <i>D</i> -glukopiranozit (PJM-4) .....	116
Şekil 5.43. Ergosta 5,22-dien 3- <i>O</i> - $\beta$ - <i>D</i> -glukopiranozit'in (PJM-4) FT-IR spektrumu .....	119
Şekil 5.44. Ergosta 5,22-dien 3- <i>O</i> - $\beta$ - <i>D</i> -glukopiranozit'in (PJM-4) $^1\text{H}$ -NMR spektrumu (600 MHz; $\text{CD}_3\text{OD}$ ) .....	120
Şekil 5.45. Ergosta 5,22-dien 3- <i>O</i> - $\beta$ - <i>D</i> -glukopiranozit'in (PJM-4) $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu (150 MHz; $\text{CD}_3\text{OD}$ ) .....	121
Şekil 5.46. Ergosta 5,22-dien 3- <i>O</i> - $\beta$ - <i>D</i> -glukopiranozit'in (PJM-4) COSY spektrumu .....	122
Şekil 5.47. Ergosta 5,22-dien 3- <i>O</i> - $\beta$ - <i>D</i> -glukopiranozit'in (PJM-4) HSQC spektrumu .....	123
Şekil 5.48. Ergosta 5,22-dien 3- <i>O</i> - $\beta$ - <i>D</i> -glukopiranozit'in (PJM-4) HMBC spektrumu .....	124
Şekil 5.49. Ergosta 5,22-dien 3- <i>O</i> - $\beta$ - <i>D</i> -glukopiranozit'in (PJM-4) EI- MS spektrumu .....	125
Şekil 5.50. Juniperon A (PJM-5) .....	126
Şekil 5.51. Juniperon A'nın (PJM-5) FT-IR spektrumu .....	128
Şekil 5.52. Juniperon A'nın (PJM-5) $^1\text{H}$ -NMR spektrumu (600 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ )....	129
Şekil 5.53. Juniperon A'nın (PJM-5) APT-NMR spektrumu (150 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ). 130	
Şekil 5.54. Juniperon A'nın (PJM-5) COSY spektrumu .....	131
Şekil 5.55. Juniperon A'nın (PJM-5) HSQC spektrumu .....	132
Şekil 5.56. Juniperon A'nın (PJM-5) HMBC spektrumu .....	133
Şekil 5.57. Juniperon A'nın (PJM-5) ESI-MS spektrumu .....	134
Şekil 5.58. Juniperon A (PJM-5)'nın kütle parçalanmaları (EI-MS).....	135

Şekil 5.59. Juniperon B (PJM-6).....	136
Şekil 5.60. Juniperon B (PJM-6) ve Juniperon A'nın (PJM-7) İTK ile gösterimi...	136
Şekil 5.61. Juniperon B'nin (PJM-6) FT-IR spektrumu .....	138
Şekil 5.62. Juniperon B'nin (PJM-6) <sup>1</sup> H-NMR spektrumu (600 MHz, CD <sub>3</sub> OD) ....	139
Şekil 5.63. Juniperon B'nin (PJM-6) APT-NMR spektrumu (150 MHz, CD <sub>3</sub> OD).	140
Şekil 5.64. Juniperon B'nin (PJM-6) COSY spektrumu.....	141
Şekil 5.65. Juniperon B'nin (PJM-6) HSQC spektrumu.....	142
Şekil 5.66. Juniperon B'nin (PJM-6) HMBC spektrum.....	143
Şekil 5.67. Juniperon B'nin (PJM-6) ESI-MS spektrumu .....	144
Şekil 5.68. Juniperon B (PJM-6)'nın kütle parçalanmaları.....	145
Şekil 5.69. Adenozin (PJM-7).....	146
Şekil 5.70. Adenozin'in (PJM-7) <sup>1</sup> H-NMR spektrumu (500MHz, CD <sub>3</sub> OD).....	148
Şekil 5.71. Adenozin'in (PJM-7) <sup>13</sup> C-NMR spektrumu (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD).....	149
Şekil 5.72. Adenozin'in (PJM-7) HSQC spektrumu.....	150
Şekil 5.73. Adenozin'in (PJM-7) HMBC spektrumu .....	151
Şekil 5.74. Adenozin'in (PJM-7) EI-MS spektrumu .....	152
Şekil 5.75. Mannitol (PJM-8) .....	153
Şekil 5.76. Mannitol'ün (PJM-8) FT-IR spektrumu .....	155
Şekil 5.77. Mannitol'ün (PJM-8) <sup>1</sup> H-NMR spektrumu (600 MHz, D <sub>2</sub> O).....	156
Şekil 5.78. Mannitol'ün (PJM-8) <sup>13</sup> C-NMR spektrumu (150 MHz, D <sub>2</sub> O) .....	157
Şekil 5.79. Mannitol'ün (PJM-8) HSQC spektrumu.....	158
Şekil 5.80. Mannitol'ün (PJM-8) HMBC spektrumu .....	159
Şekil 5.81. Mannitol'ün (PJM-8) ESI-MS spektrumu .....	160
Şekil 5.82. Standart mannitol ve Mannitol'ün (PJM-8) GC-MS kromatogramları .	161
Şekil 5.83. Linoleik asit, Oleik asit (PJC-1).....	162
Şekil 5.84. Linoleik asit ve Oleik asit'in (PJC-1) <sup>1</sup> H-NMR spektrumu (600 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	164
Şekil 5.85. Linoleik asit ve Oleik asit'in (PJC-1) APT-NMR spektrumu (150 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	165
Şekil 5.86. Linoleik asit ve Oleik asit'in (PJC-1) COSY spektrumu.....	166
Şekil 5.87. Linoleik asit ve Oleik asit'in (PJC-1) HSQC spektrumu.....	167

Şekil 5.88. Linoleik asit ve Oleik asit'in (PJC-1) HMBC spektrumu.....	168
Şekil 5.89. <i>P. lefebvrei</i> 'nin kloroform ekstraksiyonu fraksiyonlandırma işlemleri.	171
Şekil 5.90. <i>P. lefebvrei</i> 'nin kloroform ekstraksiyonu fraksiyonlandırma işlemleri.	172
Şekil 5.91. Brassikasterol (PLM-1).....	173
Şekil 5.92. Ergosta 5,22-dien 3-O-β-D-glukopiranozit (PLM-2) .....	173
Şekil 5.93. Urasil (PLM-3).....	174
Şekil 5.94. Urasil'in (PLM-3) <sup>1</sup> H-NMR spektrumu (600 MHz; CD <sub>3</sub> OD).....	175
Şekil 5.95. Urasil'in (PLM-3) EI-MS spektrumu .....	176
Şekil 5.96. Urasil'in (PLM-3) bileşiğinin kütle parçalanmaları (EI-MS).....	177
Şekil 5.97. 1-β-L-xylofuranosil (PLM-4).....	178
Şekil 5.98. 1-β-L-xylofuranosil'in (PLM-4) <sup>1</sup> H-NMR spektrumu (600 MHz, CD <sub>3</sub> OD) .....	180
Şekil 5.99. 1-β-L-xylofuranosil'in (PLM-4) APT-NMR spektrumu (150 MHz, CD <sub>3</sub> OD).....	181
Şekil 5.100. 1-β-L-xylofuranosil'in (PLM-4) COSY spektrumu .....	182
Şekil 5.101. 1-β-L-xylofuranosil'in (PLM-4) HSQC spektrumu .....	183
Şekil 5.102. 1-β-L-xylofuranosil'in (PLM-4) HMBC spektrumu .....	184
Şekil 5.103. 1-β-L-xylofuranosil'in (PLM-4) ESI-MS spektrumu .....	185
Şekil 5.104. Eritriol (PLM-5).....	186
Şekil 5.105. Eritriol'ün (PLM-5) <sup>1</sup> H-NMR spektrumu (500 MHz, D <sub>2</sub> O).....	188
Şekil 5.106. Eritriol'ün (PLM-5) <sup>13</sup> C-NMR spektrumu (125 MHz, D <sub>2</sub> O).....	189
Şekil 5.107. Eritriol'ün (PLM-5) DEPT-135 spektrumu .....	190
Şekil 5.108. Eritriol'ün (PLM-5) COSY spektrumu.....	191
Şekil 5.109. Eritriol'ün (PLM-5) HSQC spektrumu.....	192
Şekil 5.110. Eritriol'ün (PLM-5) HMBC spektrumu.....	193
Şekil 5.111. Silillenmiş Eritriol'ün (PLM-5) GC-MS spektrumu .....	194
Şekil 5.112. Silillenmiş Eritriol'ün (PLM-5) GC-MS kromatogramı.....	194
Şekil 5.113. α-D-glukopiranozil-α-D-glukopiranozit (PLM-6).....	195
Şekil 5.114. α-D-glukopiranozil-α-D-glukopiranozit'in FT-IR spektrumu.....	197
Şekil 5.115. α-D-glukopiranozil-α-D-glukopiranozit'in <sup>1</sup> H-NMR spektrumu (400 MHz, D <sub>2</sub> O) .....	198

Şekil 5.116. $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit'in'in $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu (100 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ ) .....	199
Şekil 5.117. $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit'in DEPT 135 spektrumu.....	200
Şekil 5.118. $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit'in COSY spektrumu .....	201
Şekil 5.119. $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit'in HSQC spektrumu .....	202
Şekil 5.120. $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit'in HMBC spektrumu.....	203
Şekil 5.121. $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit'in EI-MS spektrumu.....	204
Şekil 5.122. Brasskasteril linoleat (PLC-1).....	205
Şekil 5.123. Brassikasteril linoleat'ın (PLC-1) FT-IR spektrumu .....	208
Şekil 5.124. Brasskasteril linoleat'ın (PLC-1) $^1\text{H}$ -NMR spektrumu (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	209
Şekil 5.125. Brasskasteril linoleat'ın (PLC-1) APT-NMR spektrumu (150 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	210
Şekil 5.126. Brasskasteril linoleat'ın (PLC-1) COSY spektrumu.....	211
Şekil 5.127. Brasskasteril linoleat'ın (PLC-1) HSQC spektrumu.....	212
Şekil 5.128. Brasskasteril linoleat'ın (PLC-1) HMBC spektrumu .....	213
Şekil 5.129. $5\alpha$ - $6\alpha$ epoksi ergosta-7,22-dien- $3\beta$ -ol (PLC-2) .....	214
Şekil 5.130. $5\alpha$ - $6\alpha$ epoksi ergosta-7,22-dien- $3\beta$ -ol'ün (PLC-2) FT-IR spektrumu .	217
Şekil 5.131. $5\alpha$ - $6\alpha$ epoksi ergosta-7,22-dien- $3\beta$ -ol'ün (PLC-2) $^1\text{H}$ -NMR spektrumu ( $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$ , 600 MHz) .....	218
Şekil 5.132. $5\alpha$ - $6\alpha$ epoksi ergosta-7,22-dien- $3\beta$ -ol'ün (PLC-2) $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu ( $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$ , 150 MHz) .....	219
Şekil 5.133. $5\alpha$ - $6\alpha$ epoksi ergosta-7,22-dien- $3\beta$ -ol'ün (PLC-2) COSY spektrumu	220
Şekil 5.134. $5\alpha$ - $6\alpha$ epoksi ergosta-7,22-dien- $3\beta$ -ol'ün (PLC-2) HSQC spektrumu	221
Şekil 5.135. $5\alpha$ - $6\alpha$ epoksi ergosta-7,22-dien- $3\beta$ -ol'ün (PLC-2) HMBC spektrumu	222
Şekil 5.136. $5\alpha$ - $6\alpha$ epoksi ergosta-7,22-dien- $3\beta$ -ol'ün (PLC-2) EI-MS spektrumu	223

## SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	2,2-Azinobis (3-etilbenzotrazolin-6-sülfonat)
AChE	Asetilkolinesteraz
APT	Bağlanmış proton testi
ATP	Adenozintrifosfat
BChE	Bütirilkolinesteraz
BHA	Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	Bütillenmiş hidroksi toluen
COSY	Korelasyon spektroskopisi
CUPRAC	Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi
Da	Dalton
DAD	Diode array dedektör
DTNB	5,5'-dithiobis (2-nitro-benzoik asit)
DEPT	Polarizasyon transferi ile distorsiyonsuz geliştirme
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EI-MS	Elektron impakt kütle spektroskopisi
ESI-MS	Elektrosprey iyonizasyon kütle spektroskopisi
FDA	Gıda ve ilaç Dairesi
FID	Alev İyonlaştırma Dedekörü
FRAP	Demir (III) indirgeme antioksidan kapasitesi
GC	Gaz Kromatografisi

GC/MS	Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi
HMBC	Heteronükleer çoklu bağ korelasyonu
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
HSQC	Heteronükleer tek kuantum korelasyonu
H1299	Akciğer Kanseri Hücre hattı
IARC	Kanser Araştırma Ajansı
IC <sub>50</sub>	Etkili inhibisyon konsantrasyonunun yarısı
IR	İnfrared spektroskopisi
İTK	İnce tabaka kromatografisi
L929	Fare fibroplast hücre hattı
nm	Nanometre
MCF-7	Meme Kanseri Hücre hattı
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
TOC	$\alpha$ -tokoferol
P	<i>Picoa</i>
PC-3	Prostat Kanseri hücre hattı
PJA	<i>Picoa juniperi</i> aseton ekstresi
PJC	<i>Picoa juniperi</i> kloroform ekstresi
PJH	<i>Picoa juniperi</i> hekzan ekstresi
PJA	<i>Picoa juniperi</i> metanol ekstresi
PJS	<i>Picoa juniperi</i> su ekstresi
PLA	<i>Picoa lefebvrei</i> aseton ekstresi
PLC	<i>Picoa lefebvrei</i> kloroform ekstresi
PLH	<i>Picoa lefebvrei</i> hekzan ekstresi

PLA	<i>Picoa lefebvrei</i> metanol ekstresi
PLS	<i>Picoa lefebvrei</i> su ekstresi
ROS	Reaktif oksijen türleri
UV	Ultraviyole
VOC	Uçucu Organik Bileşik
WST-1	Hücre Canlılığı ve Proliferasyon Deneyi



# 1. GİRİŞ

Doğada organik maddelerin ayrıştırılması gibi önemli bir görevi üstlenen funguslar, yaklaşık 148854 tanımlanmış tür ile ayrı bir alemde toplanmış olup, bu türlerden 10.000'den fazlası makrofungus olduğu açıklanmıştır (Fungorum, 2020). Ülkemiz fitocoğrafik konumundan dolayı bitkilerde olduğu gibi, mantarlarda da oldukça zengin bir floraya sahiptir. Genellikle ilkbahar ve sonbahar aylarında ortaya çıkan mantarlar, ülkemizin ekolojik şartlarının uygunluğundan dolayı her mevsimde de görmek mümkündür (Türkoğlu, 2015b). Geçmişte 'bitki' olduğu söylenmiş, ancak daha sonra bazı farklı özellikler göstermesinden dolayı hayvanlardan ve bitkilerden ayrı bir âlemde kabul edilmiştir. Halk arasında “mantar” olarak tanınan organizmaların, insanlıkla ilişkileri binlerce yıl öncesine dayanmaktadır. 4000 yıl öncesine dayanan kil tabletlerinde bulunan kayıtlar, çöl mantarlarının eski zamanlardan beri halk tarafından tüketildiğini göstermektedir (Shavit, 2008). Mantarlar, Antik Romalılar için Tanrıların yiyecekleri, Mısırlılar için Tanrı Osiris'ten bir armağan, Çinliler için ise hayat iksiri olarak değerlendirilmişlerdir (Smith ve Read, 2008). Makrofunguslar denildiğinde, doğal olarak toprak üstünde yetişen “toprak üstü mantarları; şapkalı mantarlar” ve yaşlı veya çürümüş ağaç köklerinde yetişen “ağaç mantarları” akla gelmektedir. Bunların yanısıra, toprak altında doğal olarak yetişen ve bazı bitkilerin köklerine bağlı olarak gelişen yeraltı mantarları da trüf olarak adlandırılmaktadır. Toprak altında yetişen trüf mantarları eşsiz lezzet ve aromasıyla dikkat çeken, doğal bir besin kaynağı olup, mikorizal mantarlardır (Alsheikh ve Trappe 1983a, 1983b). Fungus ile kök kelimelerinin birleşimi ile oluşan (myko+rhiza) “mikoriza”, bitkilerin ve mantarların ilişki kurmasını sağlar. Hif (tekil hypha) denilen çok ince tüp şeklindeki hücrelerden oluşmaktadır (Taiz ve Zeiger, 1995). Bu oluşum sayesinde mikorizal mantarlar bitki kökleriyle birliktelik oluştururlar. İnce hifler, kökün etrafındaki toprağın içinden ilerleyerek, minerallerin, özellikle de fosforun alınımını kolaylaştırmaktadır. Oluşan bu yapı bitkinin topraktan su ve mineralleri almasını sağlarken, mantarın da bitkinin fotosentez sonucunda elde ettiği besini almasını sağlamaktadır (Taiz ve Zeiger, 1995;



Smith ve Read, 2008). Ayrıca bu tür simbiyotik bir ilişki, zorlu iklim koşulları altında her iki tarafın da canlı kalmasını sağlamaktadır. Çöl trüfleri, *Cistaceae* familyasına ait çok sayıda tek yıllık ve çok yıllık kserofit türü bitkiler ile ortak yaşam sürdürebilirken, *Tuber* cinsleri meşe, fındık, çam, ıhlamur gibi ağaçların kökleri ile ektomikorizal ortaklık oluşturabilmektedir (Kagan-Zur vd., 1999, 2008; Díez vd., 2002; Gutierrez, 2003; Mandeel ve Al-Laith, 2007; Kagan-Zur ve Roth-Bejerano, 2008; Chevalier, 2014; Zitouni-Haouar vd., 2014; Akyüz vd., 2015; Dexheimer vd., 1985).

Yenilebilir mantarlar birçok ülkede besin ögesi olarak çok yaygın biçimde tüketilmektedir. Etkileyici tatları, aromaları ve besin değerleri sebebiyle vazgeçilmez gıdalardan biridir (De Pinho vd., 2008). Yüksek protein, lif, vitamin ve mineral içermesi ve düşük yağ seviyesine sahip olması bu besin ögesini değerli kılar (Barros, vd., 2007). Mantarların gıda olarak kullanılmasının yanı sıra oldukça büyük miktarda A, C vitaminleri ve  $\beta$ -karoten taşınmaları, hepsinin de antioksidan aktivite göstermesinden dolayı, koruyucu etkiye sahip olabileceği tespit edilmiştir (Murcia vd., 2002; Türkoğlu vd., 2007; Tong vd., 2009, Duru ve Tel-Çayan, 2015; Öztürk vd., 2015). Mantarların taşıdıkları bu biyoaktif bileşiklerle, biyolojik ortamda birçok nedenle oluşan singlet oksijen ve peroksit radikalleriyle reaksiyona girebilmekte ve ortamdaki oksidasyonu önleyebilmektedir (Sies ve Stahl, 1995; Patel, 2017). Pekçok farklı mantarın önemli düzeyde antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (El Enshasy vd., 2013; Beara, 2014; Chen, 2016; Patel, 2017). Yenilebilir mantar türlerinden elde edilen lektinlerin, polisakkaritlerin, polisakkarit-peptitlerin, polisakkarit-protein komplekslerinin, lanosten tipi triterponoidlerin, fenolik ve flavonoid yapılu bileşiklerin antikanser, antioksidan, antitümör, antiviral, antibakteriyel, antifungal, antiinflamatuvar, immunomodulatör aktiviteleri ve kolesterol düşürücü etkileri sayesinde tedavi ajanı olarak da görülmeye başlanmıştır (Türkoğlu vd., 2007; Moradali vd., 2007; Huang vd., 2007; Rout ve Banerjee, 2007; Regina vd., 2008; Tong vd., 2009, Wang ve Marcone, 2011; Patel vd., 2017; Yan vd., 2017; Tel-Çayan vd., 2017, 2018; Dahham vd., 2018; Khalifa 2019). Dolayısıyla mantarlar modern tıp için çok önemli ilaç kaynaklarından biri haline gelmiştir. Gelişmiş ülkelerde mantarların biyoaktif bileşenlerinin belirlenmesi konusunda ileri düzeylerde araştırmalar öncelikli olarak sürdürülmektedir (Tel-Çayan vd., 2015, 2017; Çayan vd., 2018; Duru vd., 2019; Deveci vd., 2019a, 2019b, 2019c).

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, kanser, kardiyovasküler rahatsızlıklardan sonra ölümlere yol açan ikinci büyük hastalıktır. Kanser ve kansere bağlı ölümler 2015 yılı esas alındığında; dünya genelinde yaklaşık 8,8 milyon kişinin ölmüş olduğu, dolayısıyla her 6 ölümden 1'inin kanser nedeni ile gerçekleştiği rapor edilmiştir. Kemoterapi ve radyasyon tedavisinin ciddi yan etkilerinin olmasından dolayı, yan etkisi olmayan, yeni doğal bileşiklerin araştırılması çalışmaları son yıllarda artmıştır (Patel, 2010; Kaur, 2011; Bray vd., 2018). Birçok mantarın çeşitli kanser hücrelerine karşı sitotoksik etki göstermesi nedeniyle, mantarlardan etken madde elde etme çalışmaları sürdürülmektedir (Beara vd., 2014). Tıbbi makrofunguslardan edinilen ve kanseri önlediği tespit edilen Krestin bu çalışmalara örnek verilebilir. Mantar kaynaklı olan Krestin, Japonya'da üretilip ticari olarak piyasaya sürülen en önemli ilaç hammaddelerinden birisi olmakla birlikte, kanserde kullanılan ilaç pazarının %25'ini oluşturmaktadır (Mizuno, 1999).

Dünyada çapında yaklaşık 50 milyon kişi demans hastası olduğu ve her yıl 10 milyon kişinin bu hastalığa yakalandığı belirtilmiştir. Alzheimer hastalığı, en sık görülen bunama rahatsızlığıdır ve demansın %60, %70'ini içerir. Beyindeki nörotransmitterlerin, asetilkolinin azalması, kolinesteraz metabolizmasındaki değişim ve dejenerasyon ile ilişkilidir (Nordberg ve Svensson, 1998; Atta-ur-Rahman ve Choudhary, 2001; Grossberg, 2003). Alzheimer, enzimlerin etkili olduğu önemli hastalıklardandır ve son yıllarda hastalığın tedavisinde en çok yararlanan ilaç grubu kolinesteraz enzim inhibitörleridir. Hastaların beyinlerinde belirgin şekilde kolinerjik aktivite kaybı tespit edilmiştir. Kolinerjik iletimi artırmak (asetilkolin ile ilgili olan) için asetil kolin yıkımını azaltmaya yönelik AChE inhibitörleri kullanıldığında, geçici de olsa tedavi sonrası bilişsel iyileşme gerçekleşebilmektedir.

Bu tez çalışmasında kullanılan materyaller olan yer altı mantarı *Picoa juniperi* ve *Picoa lefebvrei* üzerine bugüne kadar çok az sayıda bilimsel araştırma yapılmış olup, kimyasal içerikleri ve biyoaktif bileşiklerin izolasyonlarına yönelik bugüne kadar bilimsel araştırma yapılmamıştır. Bu trüf türlerinin çeşitli tıbbi aktiviteler göstermesi, biyoaktif bileşiklerin izolasyonlarıyla, özellikle antioksidan, antikanser, antikolinesteraz ve anti-ülser gibi etkilere sahip olabilecek yeni biyoaktif olan doğal etken maddeye ulaşılabilmesi olasıdır.

## 1.1. Amaç

Mantarlar lezzetli aromaları, besinsel özellikleri ve sağlığa faydalarından dolayı pek çok uygarlık için önemli bir besin kaynağı haline gelmiştir. Yenilebilir tüm mantarlar arasında yer alan trüfler, aroması, lezzeti, morfolojik ve mikorizal yapısı gibi faktörler açısından diğer mantarlardan ayrılmaktadır. Yenilebilir mantarlar dikkate alındığında bir çok trüf mantarı, diğer şapkalı mantarlardan farklı olarak yüksek ekonomik değere sahiptir (Tel- Çayan vd., 2018).

Trüf mantarları kükürt taşıyan karakteristik aromalarından dolayı oldukça ünlenmiş olup, Fransa ve İtalya mutfaklarında pişirilmeden de tüketilmektedirler. Tek başına gıda olarak kullanılmasının yanında katma değerli ürünlerden olan trüf aromalı pizzaya, patates püresine, patlamış mısıra, makarnaya, peynir gibi ürünlere dönüştürülerek kullanılmaktadır. Farklı tip salatalarda kullanılan trüf yağları, alkanlar, alkenler, terpenler, esterler, aldehitler, ketonlar, alkoller, aromatikler ve bazı kükürt taşıyan çok çeşitli uçucu organik bileşikler içermektedir (Wernig vd., 2018).

Mantarlar eski zamanlardan beri, deri, göz, solunum ile ilgili rahatsızlıklarda, romatizmada, soğuk algınlığında, yaralanmalarda kullanılmıştır (El Enshasy vd. 2013; Shavit ve Shavit, 2014). Bugüne kadar tıbbi mantarlar üzerine yapılan bilimsel araştırmalarda mantarların, antioksidan, antiviral, antimikrobial, karaciğer hasarını önleyici, antimutajenik, ve bağışıklık artırıcı etkilere sahip olduğu rapor edilmiştir (Hannan vd. 1989; Hussan ve Al-Rugaie 1999; Janakat vd., 2004, 2005, Fratianni vd., 2007; Stanikunaite vd., 2009; Janakat ve Nassar, 2010). Özellikle mantarlar, kanseri önleyici ve bağışıklık sistemini güçlendirici (immunomodüler) özelliğe sahip olan polisakkarit kaynakları olması nedeniyle de son zamanlarda bilim insanlarının dikkatini çekmektedir. Dolayısıyla, taşıdığı biyoaktif bileşiklerden dolayı mantarlar, modern tıp için çok önemli ilaç kaynaklarından biridir (Zhao vd. 2012)

Ülkemiz doğal mantar açısından oldukça zengin olmasına rağmen, yetişen trüf mantarların biyolojik aktivite gösteren etken maddelerinin izolasyonu üzerine sınırlı sayıda çalışma yapılmış olması, bizi bu araştırmaya yöneltmiştir. Ayrıca, ülkemizde yetişen, ticari potansiyele sahip olan trüf mantarlarının bugüne kadar kimyasal içerikleri ve tıbbi özelliklerinin belirlenmemiş olması, bu türlerin uluslararası pazardaki değerinin belirlenmesinde, ülkemiz üreticilerinin aleyhine olmuştur. Bu

nedenle, ticari potansiyeli olan trüf türlerinin kimyasal içerikleri, biyolojik aktiviteleri, tıbbi özellikleri ve fonksiyonel bir gıda olarak araştırılması durumunda ülkemiz ekonomisine önemli bir katma değer sağlayacağı kanaatindeyiz. Bu yaklaşımla bu doktora tez çalışmasında ülkemizde doğal olarak yetişen iki farklı trüf türü olan *Picoa juniperi*, *Picoa lefebvrei*'nin kimyasal içerikleri ve çeşitli tıbbi aktivitelerin araştırılması hedeflenmiştir.

Bu çalışma ile daha önce üzerinde hiçbir araştırma yapılmamış ve Anadolu'da doğal olarak yayılış gösteren, yenilebilir ve/veya ticari potansiyeli olan *Picoa juniperi*, *Picoa lefebvrei*'nin antioksidan, antikolinesteraz, üreaz enzim inhibisyon aktiviteleri, Meme Kanseri (MCF-7), Akciğer Kanseri (H1299), Prostat Kanseri (PC-3) hücre hatlarına ve fare Fibroblast hücreleri (L929) üzerine sitotoksik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilecek test sonuçlarına göre yapılacak antioksidan aktivite kontrollü kromatografik çalışmalarla biyoaktif bileşiklerin yapılarının aydınlatılması amaçlardan biridir. Yapısı aydınlatılan ve yeterli miktarda izole edilen maddelerin antioksidan ve sitotoksik aktivite testlerinin yapılması hedeflenmiştir. Bunların yanı sıra, *Picoa* türlerinin fenolik bileşenleri HPLC-DAD sistemi ile kalitatif ve kantitatif olarak analizi amaçlanmıştır. Ayrıca teze konu olan her iki *Picoa* türünün polisakkaritlerinin izolasyonu, antioksidan aktiviteleri ve yapılarının aydınlatılması tezin bir başka hedefidir.

## **1.2. Botanik Bilgiler**

### **1.2.1. Pyronemataceae familyası**

Trüf mantarları Pezizale takımında ve 17 aileyle temsil edilmektedir. Bunlardan Pyronemataceae ailesi *Picoa* cinslerini içerirken; Tuberaceae ailesi de *Tuber* türlerini içermektedir. *Picoa*, Pyronemataceae ailesinin 154 cinsinden birisi olup, *Picoa juniperi* Vittadini ve *P. lefebvrei* Maire isimleri ile bilinen iki türü bulunmaktadır (Vittadini, 1831; Maire, 1906; Alsheikh ve Trappe, 1983a).

### 1.2.2. *Picoa* cinsi

*Picoa* cinsi olarak adlandırılan yer mantarları, çöl trüfleri arasında yer almaktadır (Alsheikh ve Trappe, 1983a, Bawadekji vd., 2016). Suudi Arabistan, İran ve Türkiye'nin de içinde olduğu Akdeniz havzasının tüm ülkelerinde, Orta doğu, Kuzey Afrika'da *Picoa* cinsine ait farklı türler tespit edilmiştir (Alscheikh ve Trappe, 1983a; Moreno vd., 2000; Ammarellou ve Trappe, 2007, Sbiss vd. 2010). Yerel olarak Orta Doğu bölgesinde "kamma", "kemeh", "terfass", "fagga" veya "zubaydi" olarak bilinen bu mantarlar ülkemizde de "keme", "kumi", "domalan" olarak bilinmektedir. *Picoa* cinlerinin, mikorizal yapı oluşturduğu bitki de halk arasında "kumi otu" olarak tanınmaktadır (Bonito vd., 2013; El Enshasy vd., 2013; Akyüz vd., 2015a, 2016).

### 1.2.3. *Picoa* türleri

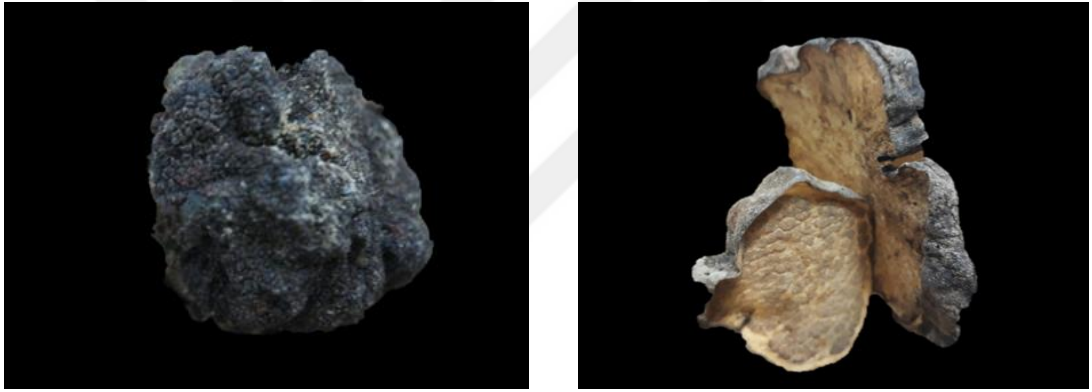
#### 1.2.3.1. *Picoa juniperi* Vittad.

*Picoa juniperi*, askokarp 1-3 cm genişliğinde, küresel veya yarı küreseldir. Yüzeyi siyahımsı veya siyahımsı kahverengi, düzenli olarak dağılmış yassı biçimde siğiller mevcuttur. Gleba kirli beyazdan soluk sarıya dönük, düzensiz olarak dağılmış soluk sarı kalıntılarla beraber mermer görünümündedir. Peridyum kirli beyazdan soluk sarıya dönük, yüzeyindeki pigmentsel hücreler sarımsı kırmızıdır, bazen septalı uzantılar gelişim gösterir. Askosporlar 20–27 × 20–22 µm olmak üzere ortalama 24,3 × 21,6 µm uzunluğunda, elips şeklindedir. Başlangıçta düz ve şeffaf, olgunlaştığında soluk sarıdan soluk yeşile dönük renkte ve dikenli yapıdadır. Şeker tadındadır, yenilir (Alsheik ve Trappe 1983a; Gücin vd., 2010; Türkoğlu ve Castellano 2014; Kagan-Zur vd., 2014; Türkoğlu vd., 2015b) Uşak, Denizli, Nevşehir, Konya, Elâzığ, Afyon ve Antalya illerinde yayılış gösterir. Bu trüf, Cistaceae ailesinde *Helianthemum* cinslerine ait farklı türlerle mikorizal olarak yetişmektedir (Gutiérrez vd., 2003; Kagan-Zur ve Roth-Bejerano, 2008; Gücin vd., 2010; Zitouni-Haouar vd., 2014; Akyüz vd., 2015a, 2015b) (Şekil.1.1).

#### 1.2.3.2. *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire

*Picoa lefebvrei*, askokarp 2-4 cm genişliğinde, küresel veya yarı küresel, yüzeyi soluk sarımsı kahverengiden sarımsı kahverengiye dönüktür. Gleba kirli beyazdan soluk

soluk sarıya dönük, mermer görünümünde, düzensiz, soluk sarı renkte kalıntılar içerir. Peridyum 440-580 µm kalınlığında, 2 tabakalı olmak üzere; dış tabaka 100-130 µm kalınlığında, kirli beyazdan sarımsı kahverengiye dönük renklindedir. Askosporlar elips şeklinde, 22-27 × 21-24 µm olmak üzere ortalama 24,2 × 21,9 µm uzunluğunda, başlangıçta şeffaf renkli sporların içerisinde geniş olarak dağılmış yağ damlacıklarına sahiptir. Sonrasında soluk yeşil, süslü, süslerin etrafını siğiller kaplamıştır. Denizli, Elâzığ, Urfa, Konya ve Aksaray illerinde yayılış göstermektedir. Şeker tadındadır, yenilir (Alsheik ve Trappe 1983a; Kagan Zur vd., 2014; Türkoğlu vd., 2015b). Yer mantarları dokuları (buruşuk, mor, pürüzsüz ve retiküle) ve renkleri bakımından (beyaz, kahverengi ve siyah) değişiklik gösterir. Bu trüf, Cistaceae ailesinde *Helianthemum* cinslerine ait farklı türlerle mikorizal olarak yetişmektedir (Gutiérrez vd., 2003; Kagan Zur ve Roth-Bejerano, 2008; Gücin vd., 2010; Zitouni-Haouar vd., 2014; Akyüz vd., 2015a, 2015b) (Şekil 1.1.).



A

B

Şekil 1.1. Tez çalışmasına konu olan *Picoa juniperi* Vittad (A) ve *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire (B) trüf türlerinin resimleri

### 1.3. Trüflerin Halk Arasında Kullanımı

Trüfler çok eski zamanlardan beri insanlar tarafından bilinmekle birlikte, Tanrıların yiyeceği olarak tanımlanıyordu. Sümer efsanelerinde, 4000 yıl öncesine dayanan kil tabletleride bulunan kayıtlar, *Terfezia*, *Tirmania* ve *Picoa* türü mantarlarının eski zamanlardan beri yerli halk tarafından tüketildiğini göstermektedir (Black vd., 1998, 2006; Shavit vd., 2008). M.Ö. 1600'lü yıllarda anonim olarak dünyanın gizemli ürünleri arasında adlandırılmışlardır. Romalılar, Yunanlılar tarafından da bilinen

mantarlar önceki zamanlarda Theophrastus (M.Ö.371-287) tarafından Libya’da yetiştiği ve “misu” adını aldığı ve trüf olarak tanımlandığı ifade edilmiştir. Kökü, tohumu, dalı, yaprağı, çiçeği, meyvesi, kabuğu, yumuşak dokusu, lifi ve damarları olmayan bitkilerden olduğu, genel olarak Afrika’da yetiştiği ve oldukça yüksek fiyatlardan alınabildiği yazılmıştır (Shavit, 2014; Bonito, 2013). Ayrıca birçok gezgin seyahatnamelerinde trüf mantarlarından bahsetmiştir. Tangier doğumlu İbn Battuta (1304-1370), Batı Afrika Sahara'nın bir kısmı boyunca yaptığı yolculukta, yer mantarlarının bol miktarda bulunduğunu belirtmiştir. 1502-1507 arasında İtalyan Ludovico di Varthema (yaklaşık 1470-1517) Orta Doğu'dan Güneydoğu Asya'ya uzun bir yolculuk yapmış ve 1510'da yazdığı seyahatnamede (Itinerario de Ludovico de Varthema Bolognese) Şam’da çok miktarda trüf mantarının satıldığı, bazen yirmi beş ya da otuz devenin trüflerle dolu olduğu ve Ermenistan ile Türkiye dağlarından gelen bu trüflerin üç ya da dört gün içinde satıldığını belirtilmiştir.

1838’de yayınlanan çalışmada, tuber türü mantarları az miktarda kullanılırken, çöl trüfü olan mantarların garnitür veya aroma olarak topluca tüketilebileceği belirtilmiştir. Bazı Arap körfez bölgelerinde trüf mahsülünün kraliyet aileleri tarafından talep edildiği, ekinlerin çoğu toplanıncaya kadar, devriyelerce kontrol edildiği belirtilmiştir. Ayrıca çöl trüfleri, yenilebilmenin yanında değerli bir armağan olarak da görülmüştür. Hatta değerinin oldukça yüksek görülmesinden dolayı bazı kesimlerde düğünlerde trüflerin hediye dışında tutulması kararı alınmıştır (Shavit, 2014). İslam peygamberi olan Hz. Muhammed bir hadisinde, trüfler hakkında” Kama Manna (Kuran-ı Kerim’de bahsedilen bir yiyecek) yiyecekleri arasındadır ve onun suyu göz hastalıklarını iyileştirir” diye ifade etmiştir (Al-Jauziyah, 2010; Khalifa vd., 2019). Bir doktor ve İslami filozof olan İbn Sina (Avicenna), trüfleri kusma, yaralanma ve zayıflık gibi çeşitli rahatsızlıklar için ilaç olarak nitelendirmiştir. Arap geleneksel tıbbının bir parçası olarak onuncu yüzyılda yazılmış olan Kanun (Tıp Kanyonu) adlı ünlü kitaplarından birinde, İbn-i Sina, gözleri temizlemek için çöl trüfü suyunu önermiş ve göz iltihapları için kullanmıştır (Shavit ve Shavit, 2014; Khalifa, 2019). Kaynamış trüf ekstreleri gözlerde iltihaplanmayı ve trahom hastalığını tedavi etmek için çoğunlukla Bedeviler tarafından kullanılmıştır (Mandeel ve Al-Laith, 2007; Khalifa, 2019). Dünya Sağlık Örgütü (WHO), özellikle az gelişmiş ülkelerde milyonlarca insanın trahom geçirdiğini ve kör olma riski altında olduğunu belirtmiştir (Mandeel ve Al-Laith, 2007). Yapılan çalışmalara bakıldığında *Terfezia claveryi*,

*Tirmania nivea* ve *Terfezia boudieri*, Orta Doğu'da deri ve göz hastalıklarında su özütlerinin kullanıldığı ortaya konmuştur (Shavit vd., 2014). Günümüzde de yerel halk tarafından topraktan çıkarılmakta, günlük olarak toplanarak tüketilmekte ve bazı türler gibi ticari olarak satılmaktadır (Murcia vd., 2003; Trappe vd., 2008; El Enshasy vd., 2013; Bawadekji vd., 2016).





## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Trüf Mantarları Üzerinde Yapılmış Literatür Çalışmaları

Dünya genelinde, yüzlerce farklı mantar türü bilim insanlarınca keşfedilmeye devam edilmektedir. Önemli Trüf'lerden olan *Tuber* cinsinin yenilebilir türlerinin çoğu, Avrupa'nın çeşitli bölgelerinde (Fransa, İtalya, İngiltere, İspanya ve Hırvatistan), Avustralya, Yeni Zelanda, Kuzey Amerika, Kuzey Batı Pasifik ve İngiltere, Kolombiya (Berch ve Bonito, 2016), Asya ve Afrika'da (Ferdman vd., 2005) yayılış göstermektedir. *Tuber* türleri genellikle gerçek trüfler olarak algılanmaktadır (Bonito vd., 2013; Khalifa, 2019). *Tuber melanosporum* (siyah trüf) "mutfağın kara elması" olarak da adlandırılmakta ve daha çok Fransa, İtalya ve İspanya'da toplanmaktadır (Türkoğlu, 2015b; Liu vd., 2015). Ticari olarak *Tuber melanosporum* Vittad., *Tuber aestivum* Vittad., *Tuber borchii* Vittad ve *Tuber magnatum* türleri Avrupa'da en yüksek değerde satışa sunulmaktadır. *Tuber* cinsi dışında olan ve yaygın olarak çöl trüfü olarak da adlandırılan *Terfezia*, *Tirmania* ve *Picoa* türlerinin mevsimsel olarak Bahreyn, Ürdün, Suriye, Irak, Umman, Kuveyt, Suudi Arabistan, Fas, Libya, Mısır, Cezayir, Güney Afrika, Botsvana ve Tunus gibi birçok ülkenin yanında ayrıca İspanya, Portekiz, Fransa, İtalya, Hollanda, Kuzey Amerika ve Türkiye'de kurak ve yarı kurak bölgelerde yetiştiği çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır (Mandee ve Al Laith, 2007; Morte vd., 2008; 2009; El Enshasy vd., 2013; Bawadekji vd., 2016). Yerel olarak Orta Doğu bölgesinde "kamma", "kemeh", "terfass", "fagga" veya "zubaydi" olarak bilinen bu mantarlar ülkemizde de "keme", "kumi", "domalan" olarak bilinmektedir. Mikorizal yapı oluşturduğu bitki ise, halk arasında "kumi otu" olarak bilinmektedir. Yeraltı mantarlarının dokuları (buruşuk, mor, pürüzsüz ve retiküle) ve renkleri (beyaz, kahverengi ve siyah) değişiklik göstermektedir. Trüfler yaşamlarını sürdürebilmeleri için bir konakçı bitkiyle mikorizal ilişki kurması gereklidir. Fungus ile kök kelimelerinin birleşimi ile oluşan (myko+rhiza) "mikoriza", bitkilerin ve mantarların ilişki kurmasını ifade eder. Oluşan bu yapı bitkinin topraktan su ve mineralleri almasını sağlarken, mantarın da bitkinin fotosentez sonucunda elde ettiği besini almasını sağlamaktadır (Smith vd., 2008). Ayrıca bu tür simbiyotik bir ilişki, zorlu iklim koşulları altında her iki tarafın da canlı kalmasını sağlamaktadır. Çöl trüfleri, *Cistaceae* familyasına ait çok sayıda tek yıllık ve çok yıllık kserofit türü bitkiler ile

ortak yaşam sürdürebilmektedir (Díez ve Martin, 2002; Guti rrez vd., 2003; Mandeel ve Al-Laith 2007; Kagan-Zur 1994,1999, 2008, 2014; Kagan-Zur ve Roth-Bejerano 2008; Zitouni-Haouar vd., 2014; Chevalier vd., 2014; Akyüz vd., 2016).

Bazı trüfler aromaları bakımından gıda katkı maddesi olarak, sos ve benzeri gıda ürünlerinde kullanılmış olup, bunlardan *Tuber* türleri aromaları bakımından gıda sektöründe ve gastronomide büyük ilgi görmektedir. Özellikle, bazı *Tuber* türlerin aromalarını içeren yağlar (Trüf yağı) ve onlardan üretilen gıda ürünleri günümüzde sosyo-ekonomik düzeyi yüksek olan ülkelerde, yüksek katma değerde, pazarda yer almaktadır. Toplumda trüflerin aromasına olan ilginin artmasıyla bilim insanları da bu yöndeki araştırmalarını arttırmıştır. Bugüne kadar trüflerde 200'den fazla uçucu organik bileşik (VOC) olduğu (Kanchiswamy vd., 2015) ve aroma bileşenlerinin trüfün yetiştiği alanlara ve biyo eşitliklerine göre değiştiği bilinmektedir (Splivallo vd., 2011; Pacioni vd., 2014). Trüfler'de alkan, alken, aldehit, alkol, keton, terpen, ester, bazı sülfür bileşikleri ve organik asitler gibi uçucu organik bileşiklerin (VOC) bulunduğu çeşitli çalışmalarda açıklanmıştır (Vita vd., 2015; Wernig vd., 2018; Khalifa vd., 2019). Ayrıca tr flere özgü keşfedilen büyük kompleks yapılı bileşiklerin de olduğu ortaya çıkarılmıştır (Pelusio vd., 1995; Bellesia vd., 1996; Mauriello vd., 2004; Gioacchini vd., 2005; Aprea vd., 2007). Trüf türlerinin, dimetil sülfid ve dimetil disülfidler gibi kükürtlü bileşikler sayesinde eşsiz aromaya sahip olduğu bilinmektedir. Ayrıca, 1-okten-3-ol'den t revlendirilen yağ asitlerinin varlığı da aromada etkili olduğu tespit edilmiştir. Yapılan  alışmalarda, *Tuber* türlerinde 2-oktenal, bis (metiltiyol) metan, 2,3-b tandien (Diasetil), dimetil disülfür (DMDS), etil butirat, dimetil sülfid (DMS), 3-metil-1-bütanol, 3-etil-5- metilfenol, 3-metil-4,5-dihidrotiyofen, 3-metiltiyofen, 3-etil-5-metilfenol, 5-metil-2-propilfenol,  $\beta$ -feniletanol, 2,3-butanedion ve 3-etilfenol gibi bazı majör aroma bileşenleri belirlenmiştir ( Mauriello vd., 2004; Zeppa vd., 2004; Splivallo vd., 2007; Splivallo vd., 2011; Cullere vd., 2010, 2013a, 2013b; Kanchiswamy vd., 2015; Liu vd., 2015, 2017; Kamle vd., 2017).  l trüflerinde de 1-okten-3-ol, benzaldehit ve benzenasetaldehit, methional ve dimetil disülfid, 2-metil b tanal ve 3-metilb tanal, heksadekanoik asit olduğu belirlenmiştir (Ömer vd., 1994, Kamle, 2017). Ayrıca, bakterilerin aroma üzerindeki davranışlarını araştıran çalışmaların yanında (Tirillini, 2000 ve Splivallo vd., 2007; Splivallo vd., 2015), coğraf  etkinin, genetiğin, mikrobiyomların aroma üzerine etkisini inceleyen çeşitli çalışmalar da artmıştır

(Buzzini vd., 2005; Benucci ve Bonito, 2016; Le Roux vd., 2016; Vahdatzadeh ve Splivallo, 2018; Vahdatzadeh vd., 2019).

Trüflere en yoğun ilgi, olasılıkla steroller, seramitler ve fenolik bileşikler, organik asitler gibi biyoaktif bileşiklerin yaygın olarak bulunmasından kaynaklandığı ileri sürülmektedir (Villares vd., 2012). Fenolik bileşikler kanser, kalp ve damarlara ilişkin hastalıklara ve iltihaplanmalara karşı koruyucu etki gösterdiği ileri sürülmektedir (Duru ve Tel-Çayan, 2015; Öztürk, vd., 2015; Tel-Cayan vd., 2018; Çayan, vd., 2018; Duru, Tel-Çayan, Deveci, 2019b). Etki mekanizmaları genellikle antioksidan özellikleriyle ilgili olduğu düşünülmektedir (Al-Laith, 2010; Villares vd., 2012).

Organik asitler, sebze ve meyve kalitesini ve duyuşsal özelliklerini korumada önemli bir rol oynamakla birlikte, nitelikleri ve konsantrasyonları mantarın lezzetine de etki edebilir (Vita, vd., 2015; Tel Çayan, 2016). Yenilebilir mantarlardaki organik asitler sentetik fenollerin, amino asitlerin, esterlerin ve aromatiklerin metabolik süreçleriyle de yakından ilgilidir. Çeşitli trüf mantarları fenolik asitler bakımında incelendiğinde; *Tuber indicum*: süksinik asit, laktik asit, formik asit, asetik asit (Li vd., 2019); *Tuber pinoyi*: malik asit, fumarik asit, sitrik asit, quinik asit içerdiği tespit edilmiştir (Stojković vd., 2013).

Lipitler, yağ asitleri, steroidler, sifingolipitler ve fosfolipitleri içeren geniş bir gruptur. Metabolizma için enerji kaynağıdır ve biomembranlar için yapısal ve fonksiyonel bileşenlerdir. Doymuş yağ asitleri vücutta aşırı olarak bulunduğunda obezite, kolesterol, kalp ve damar hastalıkları gibi sağlık problemlerine yol açmaktadır (Willett vd., 2011, Islam vd., 2019). Bunun aksine doymamış yağ asitleri ve çoklu doymamış yağ asitleri olan omega-6, omega-3 ailesinden (araşidonik asit,  $\alpha$ -linoleik asit) alındığında sağlık için, radikal giderici, kolon kanserini engelleyici, kalbi koruyucu özellik göstermektedir. Bu nedenle, düşük kalorili bir diyetle, yüksek içerikli çoklu doymamış yağ asitleri gerekmektedir (Tang vd., 2011; Öztürk vd., 2015; Tel-Çayan vd., 2016; Tel-Çayan vd., 2017; Tokul-Ölmez vd., 2018). Başlıca temel yağ asitleri, *T. pinoyi*'de oleik asit, linoleik asit, palmitik asit (Stojković vd., 2013); *C. pachysporus*'ta linoleik asit ve *S. tenuipes*'de palmitik asit (Tel-Çayan vd., 2018); *Terfezia boundri*'de linoleik asit, palmitik asit, oleik asit (Hamza vd., 2016a); *T. texense* (Beuchat vd., 1993), *T. melanosporum* (Harki vd., 2006), *T. magnatum* (Angelini vd., 2015), *T. aestivum* (Tang vd., 2011; Angelini vd., 2015), *T. indicum*

(Tang vd., 2011; Li vd., 2019), *T. sinence*, *T. himalayense* ve *T. borchii* (Tang vd., 2011), *T. latissporum*, *T. subglobosum* ve *T. pseudohimalayense* (Yan vd., 2017) vb. *Tuber* türlerinde en çok linoleik asit ve oleik asit olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca ilk kez araşidonik asit, eikosapentaenoik asit, dokosaheksanoik asit ve  $\gamma$ -linolenik asit *Tuber* türlerinde tespit edilmiştir (Tang vd., 2011).

Antimikrobiyal aktivitelerin mekanizmaları kesin olarak literatürde açıklanmamıştır, ancak olası inhibe edici bileşenler mantar lektinleri, polisakkaritler ve lakkazlar olduğu ifade edilmiştir. Trüf lektinleri, bakteriyel ekzopolisakkaritleri tanıdığı ve bunları ortadan kaldığı belirtilmiştir (Frey-Klett vd., 2011; Elsayed vd., 2014). Ek olarak, mantar polisakkaritleri bakteri savunma mekanizmalarını manipüle ettiği tespit edilmiştir. Öte yandan, lakkazlar, süperoksit anyon radikallerini serbest bırakan ve her ikisi de patojenik bakterileri inhibe etme olasılığı yüksek olan, hidrojen peroksit üreten fenollerin oksidasyonunu katalize ettiği açıklanmıştır (Nadim vd., 2015).

Trüf mantarları, göz hastalıkları (trahoma) gibi çeşitli bulaşıcı hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. *T. claveryi* Chatin'in (kahverengi yer mantarı) su ekstreleri, agar difüzyon tekniği kullanılarak 3 farklı bakteri tipine (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*) karşı etkisi ölçülmüş ve her üçü de standartla (gentamisin sülfat) karşılaştırıldığında 6 mg/mL konsantrasyonda sırasıyla 20,5 mm, 21 mm ve 26,5 mm inhibisyon alanı ile iyi bir aktivite gerçekleştirdiği ifade edilmiştir (Casarica vd., 2016). Başka bir çalışmada *T. boudieri* kloroform, aseton ve metanol özütleri, *E. coli*, *C. albicans* ve *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. Bunlardan aseton özütü, *C. albicans*'e karşı en yüksek inhibitör aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Doğan ve Aydın, 2013). *T. boudieri*, *T. claveryi*, *T. olbiensis*, *P. lefebvrei* ve *P. juniperi*'nin metil alkol özütlerinin; *E. coli*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. mutans*, *P. vulgaris*, *S. typhi*, *C. tropicalis* ve *Trichophyton* türlerini değişik oranlarda (8-22 mm çap aralığında) inhibe ettiği bulunmuştur. *Tirmania nivea* çöl trüfünün yedi farklı bakteri üzerinde yapılan çalışmada, kloroform ve metanol ekstrelerindeki aktiviteler, su ve petrol eteri ekstreleriyle karşılaştırıldıklarında daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (0,36-1,32 mg/mL) (Hamza ve Jdir, 2016a). Hamza vd., (2016b) benzer çalışmayı *Terfezia boudieri* Chatin üzerinde gerçekleştirmişlerdir. Sonuçlara göre trüfün metanol ekstresi kayda değer bir inhibitör etki göstermiştir

(0,25-1,3 mg/mL). Hussan ve Al- Ruqaie (1999), yaptıkları çalışmada *Tirmania* trüfleri hem gram pozitif hem de gram negatif bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Buna ilaveten *Tirmania* trüflerinin su ve etilasetat ekstreleri ile karşılaştırıldığında, metanol ekstrelerinin daha yüksek bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir. Sonuçlara göre %5 su ekstresi %66,4 oranında *S. aureus*'un gelişimini etkili bir şekilde inhibe ettiği (Janakat ve Al-Fakhiri 2004, 2005) ve *T. claveryi*, *T. leonis* ve *T. nivea*, trüflerin *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'un büyümesini %70-%100 oranında inhibe ettiği tespit edilmiştir (Gouzi, 2011). Gıdaların muhafazasında kullanılan kimyasal katkı maddeleri yerine alternatif olarak, mikrobiyolojik kalitesinin korunabilmesi için Stojković vd. (2013), tarafından yapılan çalışmada tavuk çorbasında *Tirmania pinoyi*'nin metanol ekstresi kullanıldığında, *Staphylococcus aureus*'un büyümesini doza bağımlı olarak hem oda sıcaklığında, hem buzdolabında, başarılı bir şekilde engellediğini ortaya çıkartmıştır. Başka bir çalışmada, trahom teşhisi konmuş hastalara *Terfezia claveryi* suyu verilerek klamid bakterilerinin inhibe edilmesi sağlanmıştır (Alhussaini vd., 2016). Kornea enflamatuvar hasarına yol açan gram negatif bir bakteriye (*Pseudomonas aeruginosa*) karşı *Terfezia claveryi* su ekstresinin etkisini ölçmek üzere *in vitro* testler yapılmıştır. Çalışmada *P. aeruginosa*'nın üç klinik türüne (ATCC 14028, ATCC 27853 ve ATCC 9027) karşı 200 mg/mL'de *Terfezia claveryi* su ekstresi test edilmiştir. Enfekte olmuş kornealara enfeksiyondan 24 saat sonra (%1) göz damlası uygulanmış ve en yüksek inhibisyon aktivitesi, *P. aeruginosa* ATCC 27853 karşı gösterdiği (28±0,6 mm; inhibisyon bölgesi çapı) kaydedilmiştir (Saddiq vd., 2016). Harir vd. (2019), yaptıkları bir çalışmada *Terfezia arenaria*'nın metanol, diklorometan ekstrelerinin *A. niger*, *Penicillium* türleri ve *C. albicans* üzerine yüksek antifungal etki gösterdiği, en yüksek inhibisyon çapının 200 mg/mL'de *A. niger*'e karşı olduğu (22 mm) tespit edilmiştir. Ayrıca diklorometan ekstresinin *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, ve *P. aeruginosa* üzerinde metanolden daha etkin bir antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu tespit etmişlerdir. En yüksek inhibisyon çapı 100 mg/mL'de *E. coli*'ye karşı olduğu (14 mm) sonucuna varılmıştır. Yapılan başka bir çalışmada *S. aureus* ve *P. aeruginosa* karşı *Tirmania pinoyi*, *Terfezia claveryi* ve *Picoa juniperi*'nin etkisi incelenmiştir. Sonuçlara göre, *Tirmania pinoyi*, *Terfezia claveryi*, patojenlere karşı 50 mg/mL konsantrasyonda minimum inhibisyon sergilemiştir (Schillaci vd., 2017).

İltihaplanma, zarar gören hücrelere, patojenlere ve zararlı uyarıcılara karşı vücudumuzda oluşan karmaşık biyolojik bir süreç olduğu ifade edilmiştir. Günümüzde, steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçların (NSAID'ler) vücuttaki enflamasyonu azaltmak için sıklıkla kullanıldığı belirtilmiştir. Bununla birlikte, birçok çalışma, NSAID'lerin uzun süreli uygulanmasının, gastrointestinal sistem (GIT) üzerinde önemli yan etkiler neden olduğunu göstermiştir. Bunlar, mukozal lezyonlar, kanama, peptik ülserler ve bağırsak delinmesi gibi sayısız zararlı etki içerir (Smalley vd. 1995; Sinha vd. 2013; Elsayed vd. 2014). Trüflerin anti-inflamatuvar etkisi, siklooksijenaz-1 ve siklooksijenaz-2 (COX-1 ve 2) üzerindeki inhibitör etkileri ile gösterilmiştir. Beara vd. (2014), COX-1 ve 12-LOX inhibisyonunun, *in vitro* koşullar altında *T. aestivum* ve *T. magnatum* kullanılarak antiinflamatuvar üzerindeki etkisini araştırmış ve sadece *T. magnatum* metanol ekstresi (IC<sub>50</sub>: 2,18 mg/mL) standartlara (asetilsalisilik asit ve kersetin) göre antiinflamatuvar özellik gösterdiği tespit etmiştir. Ayrıca, *E. laphomyces granulatus* trüflerinden elde edilen etanol ekstresinin COX-2'nin inhibisyonunda, 50 ug/mL konsantrasyonunda %68'e ulaşmıştır.

## **2.2. *Picoa* Türleri Üzerine Yapılan Çalışmalar (Kimyasal Bileşenleri ve Tıbbi Etkileri)**

Ülkemizde doğal yayılış gösteren *Picoa* türlerinin varlığı çeşitli bilimsel araştırmalarda tespit edilmiştir (Gücin vd., 2010; Şahin 2012; Türkoğlu ve Castellano, 2014; Castellano ve Türkoğlu, 2015b; Akyüz vd., 2015b; Kırbağ vd., 2015; Türkoğlu, 2015a, 2005b; Akyüz vd., 2016).

*Picoa* türleri yetiştiği sahalarda, yerel halk tarafından topraktan sopa yardımı ile çıkarılmakta, günlük olarak toplanarak tüketilmekte ve bazı türler (*Terfezia* alttürleri) gibi ticari olarak satılmaktadır. Çöl trüfleri Orta Doğu ve Kuzey Afrika toplumlarında oldukça değerli olduğu için bu bölgelerdeki insanlar tarafından ve birçok toplumda kendilerine özgü bir yiyecek olarak tüketilmektedir (Murcia vd., 2003; Trappe vd., 2008; El Enshasy vd., 2013; Bawadekji vd., 2016). Aroması ve diğer bazı aktivitelerinden dolayı oldukça önemli olan trüfler, besinsel ve lezzet değeriyle de dünya çapında ünlenmiştir. Ne yazık ki, verimliliği çok düşük olduğu için dünya nüfusunun büyük bir kısmı bu lezzetli trüflere erişememektedir. Yüzlerce ton üretilen

trüf, dünya geneline yetersiz kaldığı için de pahalıdır. Beslenme açısından zengin olduğu ve hiçbir yan etkisinin olmadığı bilinen yenilebilir trüf çeşitlerinin verimliliklerini artırmaya ve kültüre almaya yönelik çalışmalar sürdürülmektedir. Diğer trüf mantarlarıyla karşılaştırıldığında çöl trüflerinden olan, *Picoa* türlerinin taksonominin yanısıra, kimyası, dağılımı ve ekolojik öneminin aydınlatılması ile ilgili çalışmalar yetersiz kalmıştır. Çöl trüfleri ile kserofit türü bitkiler arasındaki mikorizal ilişki kurak ve yarı kurak ekosistemlerde önemlidir çünkü ekolojik bir rol oynamaktadır. (Honrubia, 1992). Ayrıca Trüf mantarları erozyonu önlemede ve çölleşme ile mücadelede, alternatif, sürdürülebilir tarımsal bir ürün olması ve biyolojik çeşitliliğe destek olması ile de eko-turizme önemli bir katkı sunmaktadır (Al-Qarawi vd., 2012; Bawadekji vd., 2016).

*Picoa* lar toprağın kısmen yüzeyinde yetişebildiğinden dolayı kuşlar için besin kaynağı olmakta ve bu nedenle kuş trüfü olarak anılmaktadır (Alsheikh ve Trappe, 1983; Castellano, vd., 2004; Türkoğlu, 2015b; Bawadekji, vd., 2016). *Picoa* türlerinin yıllık ve çok yıllık olan *Cistaceae* ailesine ait ve *Helianthemum* cinsleri ile mikorizal ortaklık sürdürdüğü belirtilmiştir (Gutiérrez, vd., 2003; Slama vd., 2010). *Picoa* hakkında yapılan sınıflandırma çalışmaları başlangıçtan beri glebanın renginin yanında, sporocarp kokusu, peridyum, spore, askomatanın morfolojisi gibi özelliklere dayanmıştır (Maire, 1906; Gücin vd., 2010; Sbissi vd., 2010). Ancak sınıflandırmanın tamamen, morfolojik karakterlere dayalı olarak yapıyor olması zordur ve yakın türler ile yapılan çalışmalarda yetersiz kalmaktadır (Jamali ve Banihashemi, 2012, 2013). Çünkü ekolojik şartlar, çevresel faktörler de etkisini göstermektedir. Son zamanlarda moleküler metotlar kullanılarak, *Picoa* ların sınıflandırılması çalışmaları incelenmektedir. Filogenetik çalışmalar sürdürülürken, moleküler işaretleyiciler üzerinde yapılan çalışmalar farklı *Picoa* türlerini ayırmada kullanışlı olacağı düşünülmektedir (Zitouni-Hauoar vd., 2014).

Besinsel içerik hakkında yapılan çalışmalarda, *Picoa lefebvrei*'nin toplam mineral içeriğinin zengin olduğu, %23 protein, %18 karbonhidrat, %1 ham yağ, %3 ham lif, toplam 26 aminoasit ve 11 yağ asidi içerdiği tespit edilmiştir (Bokhary ve Parvez, 1993). Ayrıca Murcia vd. (2003), *P. juniperi* üzerinde yaptığı çalışmada içeriğinde 637,8 g/kg nem içerdiği, kuru baz üzerinden 82,1 g/kg kül, 225,4 g/kg protein, 199,4 g/kg yağ, 130,4 g/kg lif ve 366,6 g/kg karbonhidrat içerdiği tespit edilmiştir. Bu tespit

ihmal edilmekte olan çöl trüflerinin gözetilmesi gerektiğini ve insanın beslenmesi için yüksek nitelikli bir ürün olduğunu göstermiştir.

*Picoa lefebvrei* (Pat.), *Tirmania nivea* (Desf.) ve *Terfezia boudieri* (Chatin) türlerinin aroma bileşenlerinin karakterizasyonu ve karşılaştırılması çalışmasında, bu türler açısından 1-okten-3-ol'ün moleküler ana bileşen olduğu, diğer trüf türlerine nazaran *Picoa lefebvrei*'ın 1-okten-3-ol'ü daha az içerdiğinden dolayı daha az aromatik bir trüf olduğu belirtilmiştir (Kamle vd., 2017).

Murcia vd. (2002), yaptıkları çalışmada *Terfezia claveryi* ve *Picoa juniperi* antioksidan aktivitelerinin %77 ve %85 inhibisyona sahip olduklarını saptamıştır. Akyüz vd. (2015a), yaptığı bir çalışmada *T. boudieri*, *T. claveryi*, *T. olbiensis*, *P. lefebvrei* ve *P. juniperi*'nin metanol özütlerinin; DPPH radikalini giderme etkisi ölçülmüş ve buna göre gruplar karşılaştırıldığında; 100 µL örnek eklenen grupta en fazla serbest radikal giderme aktivitesinin %8 ile *T. boudieri*'de olduğu saptanmıştır. *T. boudieri*, *T. claveryi*, *T. olbiensis*, *P. lefebvrei* ve *P. juniperi*'nin metanol ekstrelerinin *E. coli*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. mutans*, *P. vulgaris*, *S. typhi*, *C. tropicalis* ve *Trichophyton* türleri'nin gelişimlerini değişik oranlarda (8-22 mm çap) inhibe ettiği ortaya çıkarılmıştır. *Terfezia* türlerinin metanol ekstresinin, test mikroorganizmalarına karşı *Picoa* türlerinden daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Yapılan başka bir çalışmada *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* karşı *Tirmania pinoyi*, *Terfezia claveryi* ve *Picoa juniperi*'nin etkisi incelenmiş olup, bu türlerden *Tirmania pinoyi*, *Terfezia claveryi*, patojenlere karşı 50 mg/mL konsantrasyonda minimum inhibisyon göstermiştir (Schillaci vd., 2017).

*Picoa* türleri'nin sadece belirli besinsel özellikleri, antioksidan, antimikrobiyal gibi tıbbi aktiviteleri ve belirli aroma bileşenleri araştırılmış olmasına karşın kimyasal içerikleri, özellikle biyoaktif bileşenlerin izolasyonları ve yapılarının aydınlatılması üzerine bugüne kadar herhangi bir çalışma literatürde bulunmamaktadır.

### 2.3. Terpenoidler

Sekonder metabolitlerin en önemli yapıtaşlarından biri olan terpenoidler, geniş ve yapısal farklılık gösteren bileşik sınıfında yer alır. Karbon ve hidrojen içermesinin



yanında oksijen içeren yani alkol, keton, aldehit ve asit grubu taşıyan terpenler de yaygın olarak bulunmaktadır. Bunlar terpenoid olarak adlandırılırlar. Doğada en çok bitkilerde görülmekte; serbest bir yapıda bulunabildiği gibi bazen de glikozitleri halinde veya proteinlerle kompleks yapıda görülmektedirler. Terpenler, bitkilerin yanı sıra liken, alg ve mantarlarda da olduğu tespit edilmiştir (Hanson, 1972; Croteau, Porter, Spurgeon, 1981; Harborne, 1984; Dewieck, 2002; Tesso, 2005; Duru., 1999; Duru ve Tel-Çayan, 2015).

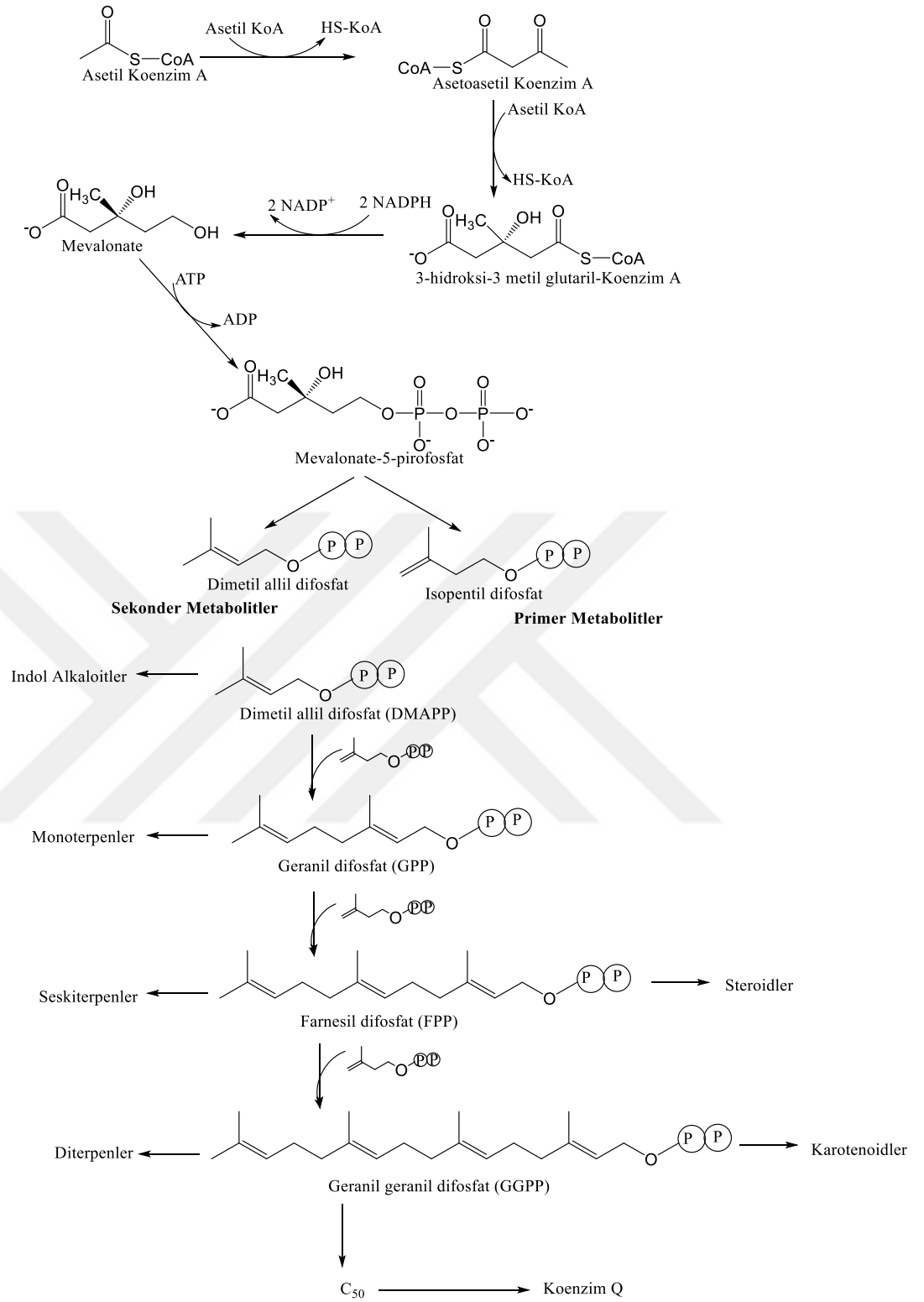
### 2.3.1. Terpenlerin biyosentezi ve sınıflandırması

Terpenlerin ana iskeletleri 5 karbonlu izopren (2–metil–1,3-butadien) moleküllerinden oluştuğundan, sınıflandırılmaları izopren birimlerinin sayısına göre yapılır. Ruzicka tarafından “izopren kuralı” olarak tanımlanmış ve bu kurala göre bütün terpenlerin karbon iskeletleri izopren birimlerinin birden fazlasının birleşmesiyle oluşmuştur (Hess, 1975). İzoprenler, kapalı formülü  $C_5H_8$  olan renksiz, uçucu sıvı hidrokarbondur. 2-metil-1.3- bütadien olarak da bilinir. İzopren kuralına göre 5 karbon içermekte olan bir yapı Hemiterpenler olarak tanımlanır. İzoprenin birbirleriyle bağlanmasıyla yeni terpenoid sınıfı bileşikler meydana gelmektedir. Monoterpenler, seskiterpenlerden (C10 ve C15) başlayan zincire, başka izoprenlerin eklenmesiyle diterpenler (C20), triterpenoidler, steroller (C30) ve karotenoidler (C40) meydana gelmektedir (Şekil 2.1. ve Çizelge 2.1.) Bu terpenoidlerin her bir grubu bitkilerin büyüme, metabolizma ve ekolojisi üzerinde büyük önem taşımaktadır (Hanson, 1972; Roberts, 1972; Hess, 1975; Croteau, 1981; Harborne, 1984; Duru., 1999; Dewieck, 2002; Tesso, 2005).

Çizelge 2.1. Terpenlerin sınıflandırılması

İzopren sayısı	Karbon Sayısı	Sınıfı
1	5 C	Hemiterpenler
2	10 C	Monoterpenoidler
3	15 C	Seskiterpenoidler
4	20 C	Diterpenoidler
6	30 C	Triterpenoidler
8	40 C	Tetraterpenoidler (Karotenoitler)
n	Cn	Poliizoprenler

İzopren, mevalonik asitin başlangıç maddesi olan Asetil KoA'dan sentezlenmektedir. İki Asetil KoA birbiriyle tepkimeye girer ardından üçüncü Asetil KoA molekülü eklenir ve 6 karbonlu yapı, NADPH<sup>+</sup> H<sup>+</sup> yoluyla Asetil KoA'nın serbest kalmasıyla mevalonik asit hidrojenlenir. Mevalonik asit mikroorganizmalarda büyüme faktörü ve ayrıca önemli bir ara üründür. Mevalonik asit, 2 molekül adenosin trifosfat (ATP) ile fosforlanması mevalonik asit-5-pirofosfatın oluşmasını sağlar. Mevalonik asit-5-pirofosfatın tersiyer hidroksil grubunun fosforlanmasının ardından, dekarboksilasyon ve dehidrasyon reaksiyonları ile izopentil pirofosfat meydana gelir. Canlı hücrelerinde, İzopentenil pirofosfat, izomerik dimetilalil pirofosfat ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CCHCH<sub>2</sub>OPP) ile denge içindedir. İzopentil pirofosfat ve dimetilalil pirofosfatın bağlanmasıyla geranilpirofosfat oluşmaktadır. Geranil pirofosfata bir başka izopren ünitesi eklenmişse, bir seskiterpen olan farnesil pirofosfat elde edilir. İlave, "başından kuyruk kısmına" oluşur: CH<sub>2</sub> grubu, IPP'nin "başı", pirofosfatın ucuna, geranil pirofosfatın "kuyruğu" na eklenir. Elde edilen farnesil pirofosfat, açık zincirli bir triterpen oluşturmak üzere "kuyruktan kuyruğa" birleştirilebilir. Böylece tüm canlı organizmalar için önemli olan steroidleri içeren siklik triterpenlerin başlangıç mekanizması oluşur. Geranilgeranil pirofosfat, diğer diterpenlere dönüştürülebilir ya da C<sub>40</sub> oluşturmak üzere siklik yapılara dönüşebilir. Bu şekilde tetraterpenler, yani karotenoidler elde edilir (Hanson, 1972; Roberts, 1972; Hess, 1975; Croteau, 1981).

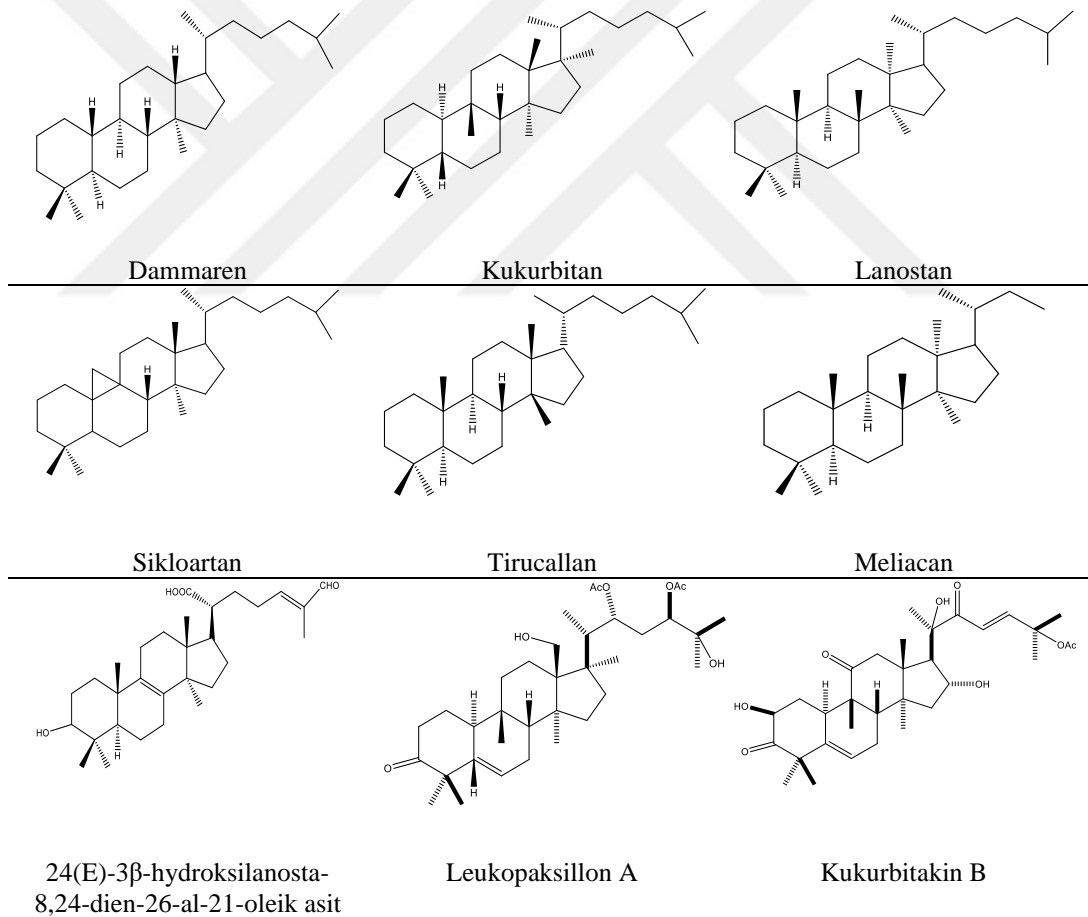


**Şekil 2.1. Terpenlerin biosentezi**

### 2.3.2. Triterpenoitler

Triterpenler altı izopren biriminden oluşmuş otuz karbonlu iskelete sahip yapılardır, bitkilerde serbest veya bağlı olarak bulunurlar. Triterpenler taşıdıkları halka sayısına göre başlıca; trisiklik, tetrasiklik ve pentasiklik yapılar olarak sınıflandırılırlar. Ayrıca kompleks yapıda olup, çoğunlukla yapılarında alkoller, aldehitler ve karboksilli asit gruplarını barındırmaktadırlar.

Halkaya bağlı fonksiyonel gruplara ve halka sayısına göre üç gruba ayrılmaktadır. Bunlar halka sayısına göre trisiklik, tetrasiklik ve pentasiklik olarak üç sınıfa ayrılır. Minör kısımlarını asiklik, bisiklik ve trisiklik triterpenler, major kısmını tetrasiklik ve pentasiklik triterpenler meydana getirir. Tetrasiklik triterpenler, dammaran, lanostan, sikloloartan, kukurbitan, tirucallane ve meliacan tipini içerir. Pentasiklik triterpenler olean, ursan, lupan ve friedelan tiplerinin içerir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Tetrasiklik triterpenler

Bugüne kadar bitkilerden çok çeşitli yapıda triterpen izole edilip yapısı aydınlatılmasına rağmen bugün hala triterpen yapısında yeni bileşikler karakterize edilmektedir.

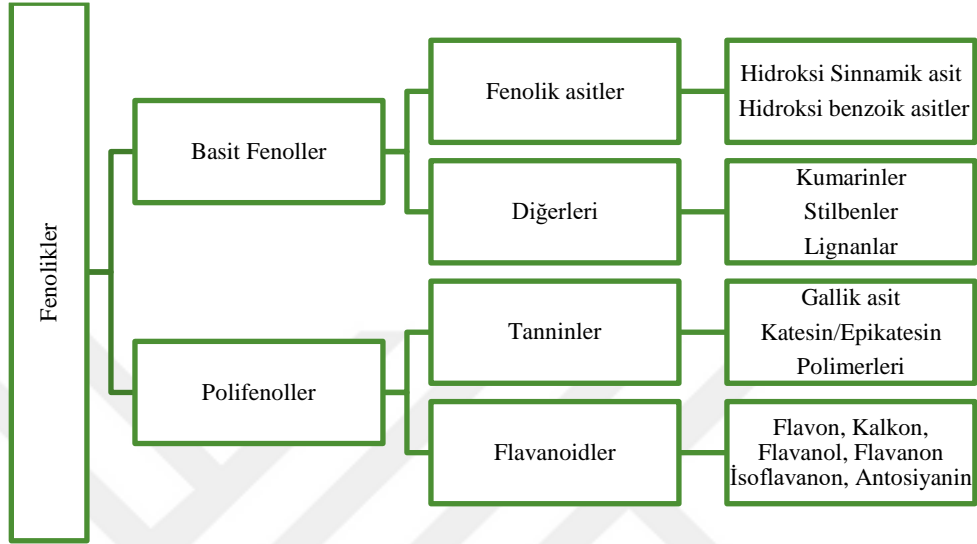
Triterpenoidlerin çeşitli biyolojik aktiviteler göstermesi bilim insanların bu tür yapılara olan ilgisini arttırmıştır.  $\beta$  amyrin, ( $\alpha$ ) amyrin, lupan, fridelan tipi dahil olmak üzere pek çok pentasiklik triterpenoidler çeşitli biyolojik işlemlerde önemli roller oynayan doğal ürünlerdir (Das ve Mahota, 1983; Butler, 2004 ; Butler, 2014; Zhang vd. 2019). Squalen, oksidosqualen veya bis-oksidosqualen bileşiklerinin siklik tepkimeleri sonucu, doğal ürünlerden veya enzimatik reaksiyonlar neticesinde yaklaşık olarak 200 farklı triterpen iskeleti tanımlanmıştır (Xu, vd., 2004). Bunlar genellikle renksiz, optikçe aktif, kristal yapıda ve erime noktaları yüksek bileşiklerdir (Harborne, 1984, Tel-Çayan, 2016). Triterpenlerin karakterize edilmesinde UV spektrumu, IR, NMR ve MS spektroskopisi teknikleri kimyasal yapının belirlenmesinde önemli bir yere sahiptir. Triterpenler yapılarında genellikle 8 adet metil grubuna sahiptir. Bu nedenle,  $^1\text{H}$  NMR spektrumunda karakteristik olan metil gruplarının bölünmeleri ve kimyasal kaymaları triterpenin iskeleti hakkında önemli bilgiler vermektedir (Erdik, 1993; Budzikiewicz vd., 1964).

Mantarlar, steroid ve terpenoid peroksitleri içeren çok miktarda peroksit üretir. Mantar hidroperoksitleri nadir bulunan yapılardır. Antikanser özelliği bulunan ergosta-4,6,8 (14),22-tetraen-3-one Vietnam'da toplanan *Xylaria* türlerinin metanol ekstraktından izole edilmiştir (Quang ve Bach, 2008). Ayrıca bu sterol diğer başka mantar türlerinin: *Alternaria solani* (Ai vd., 2012) ve *Diospyros maritime* köklerinden (Kuo vd.,1997), çin trüfü *Tuber indicum*'dan (Jinming vd., 2001), *Lentinus edodes*'den (Rivera vd., 2009) *Aspergillus niger*'den (Zhang vd., 2007), *Aspergillus versicolor*'dan, *Talaromyces* türlerinden, *Xanthoparmelia*'den (Yuan vd.,2018), endofilik bir mantar olan *Chaetomium* türünden izole edilmiştir. Geleneksel Çin tıbbında uzun süre kullanılan Chaga mantarı *Inonotus obliquus* inoterpenes ve iki hidroperoksi steroid lanostan triterpen içermektedir (Vil vd., 2019).

Şimdiye kadar mantarlardan çok çeşitli triterpen yapısında bileşenler izole edilmiş ve bunların genellikle lanostan iskeleti yapısında oluşan triterpenler olduğu tespit edilmiştir. Triterpenlerin, antibakterial, antikanser, antikandidal, antikolinesteaz, antikompliment, antileishmanial, antiinflamatuvar, antiinvasiv, antimalarial, antioksidan, antituberkular, antitumor, antiviral ve sitotoksik aktivite gösterdiği çeşitli çalışmalarda araştırılmıştır (Wasser vd., 1997; Gao vd., 2003; Türkoğlu, 2007; Duru ve Tel Çayan, 2015).

## 2.4. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, genellikle glikozitler halinde bulunabilen, aromatik halkaya sahip, geniş bir bileşik sınıfıdır. Fenolikler, basit fenol ve polifenoller olarak ikiye ayrılırlar. (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması

Flavonoidlerin serbest radikal giderici özellikleri üzerine yapılan çalışmalar, fenolik bileşenlerin antioksidan olarak tanımlanmasına olanak sağlamıştır (Duru ve Tel-Çayan, 2015). Antioksidan aktivite göstermeleri, yapılarındaki hidroksil gruplarının varlığından olduğu düşünülmektedir (Hatano vd. 1989). Reaktif oksijen türevleri, fenolik bileşikler ile konjuge olabilir böylece DNA, proteinler, lipitler radikal saldırılara ve sonradan gelecek olan oksidasyonlara karşı korunmuş olurlar. Polifenolik bileşikler içeren zengin diyetlerin düzenli olarak tüketilmesiyle mutajenez ve karsinogenez üzerinde inhibe edici etkilerin ortaya çıktığı tespit edilmiştir (Tanaka vd. 2011). Ayrıca, fenolik bileşiklerin kardiyovasküler, ateroskleroz, kanser, diyabet, alzheimer ve parkinson gibi pek çok hastalıklar üzerinde durdurucu etkisinin olduğu tespit edildiği çalışmalar bulunmaktadır (Miniati, 2007; Öztürk vd., 2015). Bu nedenle doğal kaynaklarda fenolik bileşiklerin tespit edilmesi araştırmalar açısından özellikle önemlidir.

Fenolik asitleri içeren fenolik bileşikler bitkilerde olduğu gibi mantarlarda da bulunan ikincil metabolitlerdir. Trüf mantarları üzerindeki yoğun ilgi, steroller, seramitler ve

fenolik bileşikler gibi mikrokimyasalların geniş oranda bulunduğu tespit edildiğinde oluşmuştur (Villares vd. 2012). Farklı bölgelerden elde edilen *Tirmania nivea*, *Tuber* türlerinden 10 kat daha fazla fenolik içeriğe sahip olduğu belirtilmiştir (Al-Laith, 2010). Bu da çöl trüflerindeki fenolik bileşiklerin yoğun oluşunun yaşadıkları zorlu çevre koşullarıyla açıklanabileceğini göstermektedir. Çöllerde, aynı gün, hava sıcaklıkları hem çok soğuk hem de çok sıcak olabilir. Bu nedenle, bazı bitkilerin veya mantarların bu stresli koşullara dayanma kabiliyetlerinin, özellikle fenolik bileşiklerin seviyelerinin artmasıyla, reaktif oksijen türlerini nötralize etmelerinden dolayı kaynaklanmakta olduğunu göstermektedir (Al-Lait, 2010).

Tüm trüf mantarları fenolik bileşikler içermektedir ama bazı bileşikler trüflerin kendisine özgü olabileceği düşünülmüştür. Günümüze kadar tespit edilmiş, trüflerde yoğun olarak bulunan bazı fenolik bileşikler ve buldukları trüf mantarları şu şekildedir: *Tuber aestivum* Vittad: hidrosinnamik asit, gallik asit ve protokateşik asit, homogentisik asit ve 3,4-dihidroksibenzaldehit (Villares vd., 2012); hidroksibenzoik asit, baicalin ve kamferol (Beara vd., 2014); *Tuber indicum*: gallik asit ve protokateşik asit (Villares vd., 2012), gallik asid, *p*-kumarik asit, erüsik asit (Li vd. 2019); *Tuber latissporum*: *p*-hidrobenzoikasit, 3,4-Dihidroksibenzaldehit, homogentisik asit (Yan vd. 2017); *Tuber pseudohimalayense*: homogentisik asit, 4-hidrobenzoikasit, gallik asit (Yan vd., 2017); *Tuber subglobosum*'da: homogentisik asit, gallik asit (Yan vd., 2017); *Tuber melanosporum*: vanillin (Zhang vd., 2018); *p*-hidroksibenzoik asit (Villares vd., 2012); gallik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, *o*-hidroksibenzoik asit, 2,5-dihidroksibenzoik asit (Savini vd., 2017) *Tuber magnatum* Pico: epikateşin ve kateşin (Beara vd. 2014); *Terfezia boudieri* Chatin: kateşin, sinnamik asit, ferulik asit ve *p*-kumarin asit (Doğan ve Aydın, 2013); *Terfezia pinoyi*'de: *p*-hidroksibenzoikasit, sinnamik asit (Stojković vd. 2013); *Chondrogaster pachysporus* ve *Setchelliogaster tenuipes* fumarik, protokateşik asit, linoleik asit (Tel-Cayan vd. 2017). Mantarlarda organik asitlerin de mantarın biyolojik aktivitesine katkı sağladığı bilinmektedir. Trüfler üzerine yapılan araştırmalarda *T. indicum*'da süksinik asit, laktik asit, formik asit, asetik asit belirlenirken, *T. pinoyi*'da malik asit, fumarik asit, sitrik asit, kinik asit olduğu tespit edilmiştir (Stojković vd. 2013; Li vd. 2019;).

## 2.5. Besinsel İçerikleri

Trüfler gastronomik niteliklerinden ve katma değeri yüksek olan ürünlere dönüştürülebildiğinden ticari değeri yüksek bir mantar türüdür. Birçok çeşit trüf türü küresel olarak tanınmakta ve kuru olarak, pirinç ile kaynatılarak, pişmiş sebze yemeklerinde et yerine kullanılmakta, dünya çapında tüketilmektedir (Hussein ve Eid, 1980; Khalifa 2019). Yüksek oranda aroma tadı ve kokusuyla tercih edilmekte (Dahham vd., 2018) ve ayrıca diyet ürünü olarak da dikkat çekmektedir. Bilindiği gibi çöl trüfleri protein, aminoasit, vitamin, steroller, terpenler, yağ asitleri, mineraller ve karbonhidratlar gibi pekçok kimyasal bileşiğin doğal kaynağıdır (Bawadekji vd., 2016). Çeşitli çalışmalarda protein, yağ, diyet lifi, kül, esansiyel amino asitler (metiyonin, fenilalanin, valin, serin, izolosin ve treonin) ve metaller (K, P, Fe, Cu, Zn ve Mn) bakımından zengin olduğu tespit edilmiştir. Örneğin, El Enshasy vd. (2013) çöl trüflerinin kimyasal analizi sonucunda kuru maddenin %20 ile 27'sini protein oluşturduğunu göstermiştir. Farklı trüf türleri arasında besinsel içeriklerinin türden türe değiştiği birçok araştırmada kanıtlanmıştır. Çeşitli trüf türlerinin içeriklerine ilişkin bilgiler Çizelge 2.2.'de verilmiştir. Kagan-zur ve Roth-Bejerano, (2008)'nin yaptığı çalışmada çöl trüflerinin kuru madde içeriğinin %20-27 protein, %3-7,5 protein, yağ (doymuş ve doymamış yağ asidi), %7-13 ham lif, yaklaşık %60 karbonhidrat ve %2-5 oranında askorbik asit, yüksek seviyede potasyum, fosfor ve makul miktarda demir içeriğinin olduğu tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada çöl trüflerinin (*Terfezia claveryi*) besinsel bileşiminin %16 protein (kuru ağırlık) %28,7 karbonhidrat %4 toplam ham lif ve %2 toplam ham yağ içerdiğini bulunmuştur (Bokhary ve Parvez, 1993). Hussan ve Al-Ruqaie, (1999) Irak trüflerinde 3 farklı trüf üzerinde çalışmıştır. *Terfezia claveryi*, *Tirmania nivea*, ve *Tirmania pinoyi* protein içerikleri %8,02 to 13,84, karbonhidrat oranı %16,66-24,87 arasında, kül %4,9-5,9, fosfor içeriği %9,7-25,5 arasında değişmiştir. Saltarelli vd. (2008), 4 farklı taze trüf üzerinde araştırma yapmışlardır. *T. melanosporum*, *T. aestivum*, *T. magnatum* ve *T. borchii* protein içeriklerinin 100 g örnekte %8,7- 24 (kuru ağırlık) arasında değiştiğini ispatlamıştır. Ayrıca trüf mantarları hem mineral içeriğinde hem de miktarlarda büyük farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. Si, K, Na, Ca, Mg, Mn, Fe, Al, P, S, Cu ve Zn içeren mineraller bulunmuştur (Singer, 1961). Potasyum, fosfor, demir ve kalsiyum minerallerinin Avrupa trüflerinde özellikle bol olduğu açıklanmıştır (Saltarelli vd.



2008). Çizelge 2.2.'de trüf mantarlarının besinsel içerikleri ile ilgili çalışmalar özetlenmiştir.



**Çizelge 2.2. Trüf mantarlarının besinsel içerikleri**

<i>Terfezia boudieri</i> Chatin	Kuru madde: (%20-27) protein, (%3-7,5) yağ, (%7-13) ham lif, (%60'a yakın) karbonhidrat ve (%2-5) askorbik asit. Yüksek seviyede potasyum, fosfatlar ve makul oranda demir	Kağan-zur ve Roth-Bejerano, (2008)
	Kuru madde: (%8) yağ, (%4,49) kül, (%26) protein, (%62) karbonhidrat, (%1-2) askorbik asit, (%0,1) karotenoitler ve (%3,5) antosiyaninler	Hamza vd. (2016b)
	Kuru madde: (%0,86-1,71) yağ, (%1,40-2,73) protein, (%4,8-11,60) karbonhidrat, (%2,26-3,78) ham lif, (%80,86-90,33) nem, (%1,02-1,98) kül	Dündar vd. (2012)
<i>Terfezia claveryi</i> Chatin	Kuru madde: (%6,2) protein, (%2,5) yağ, (%57-58) oranında linoleik asit ve (%18-21) palmitik asit	Al-Shabibi vd. (1982)
	Kuru madde: (%19,6) protein, (%2,8) yağlar, (%7) lif, (%4,6) kül ve (%1,8) askorbik asit	Sawaya vd. (1985)
	Kuru madde: (%16) protein, (%28) karbonhidrat, (%4) kül ve (%4) lif (%2) yağ ve sodyum, potasyum, fosfor, çinko, demir, kalsiyum, gibi elementler, nemi (%78), 9 doymuş, 4 doymamış yağ asidi, 29 aminoasit	Bokhary ve Parvez, (1993)
	Kuru madde: (730,9 g/kg) nem, (42,5 g/kg) kül, (159,5 g/kg) protein, (69,5 g/kg) yağ, (83,2 (g/kg) lif, (645,5 g/kg) karbonhidrat	Murcia vd. (2003)
	%19,60) doymuş yağ asidi, yüksek miktarda linoleik asit, (%17, 62) protein, (%62) linoleik asit	Dahham vd. (2018)
	Taze örnek: (%73) nem, (%12,87) protein, (%3,9) yağlar, (%5,5) kül, (%6,4) şeker	Wahiba vd. (2016)
	Kuru madde: (%16,66) karbonhidrat, (%8,02) protein, (%9,7) fosfor; (%5,9) kül	Hussan vd. (1999)
<i>Terfezia hafizi</i>	Kuru madde: (%5,4) protein, (%1,8) yağlar	Al-Shabibi vd. (1982)
<i>Tirmania nivea</i>	Kuru madde: (%27,2) protein, (%7,4) yağlar, (%13,2) lif, (%5,4) kül ve (%5,1) askorbik asit	Sawaya vd. (1985)
	Kuru madde: (%21,53) karbonhidrat, (%13,84) protein, (%25,5) fosfor; (%4,9) kül	Hussan vd. (1999)
	Taze örnek: (%68) nem, (%11,97) protein, (%2,5) yağlar, (%5,5) kül, (%5,01) şeker	Wahiba vd. (2016)
	Kuru madde: (6,78g/100 g) yağ, (5,06 g/100 g) kül, (28,81g/100 g) protein, (57,83g/100 g) karbonhidrat, 77,63 g/100 g nem, (10,68 mg/100 g) askorbik asit, (1,17mg/100 g) karotenoitler ve (29,1mg/100 g) antosiyaninler	Hamza vd. (2016a)

Çizelge 2.2. (Devam)

<i>Tirmania pinoyi</i>	Kuru madde: (82,60 g/ 100g kuru mantar) karbonhidratlar, (8,06g/100g dw) protein, (%32,29) oleik, (29,72) linoleik, (27,97) palmitik asit. (300,65 µg/100 g dw) p-Hidroksibenzoik ve (8,30 µg/100 g kuru mantar) sinnamik asit; 4 organik asit: (0,83 g/ 100g kuru mantar) kinik, (0,35 g/ 100g kuru mantar) malik, (0,05 g/ 100g kuru mantar) fumarik, (1,26 g/ 100g kuru mantar) sitrik asit	Stojković vd. (2013)
	Kuru madde: (%24,87) karbonhidrat, (%10,5) protein, (%21,9) fosfor; (%5,6) kül	Hussain vd, (1999)
<i>Tuber borchii</i>	Kuru madde: (%18,9) protein, (%6,21) yağlar, (%9,33) lif, (%52,81) karbonhidrat. Tannik asit gibi fenolik içerik: %0,93	Shaker, (2005)
	Çözülebilir protein: 13,1 g±1,26 g, Toplam karbonhidrat: 3,59 g (monosakkarit: 0,38 g. polisakkarit 3,21 g)	Saltarelli vd. (2008)
<i>Tuber aestivum</i>	(%11-12,9) protein, (%5,65) karbonhidrat, sülfür içeren aminoasitlerin yanında potasyum, fosfor, demir kalsiyum gibi pek çok mineral ve bazı yağ asitleri (linoleik, palmitik, oleik)	Beara vd. 2014
	Çözülebilir protein: 11,0 g±0,93 g, Toplam karbonhidrat: 5,65g (monosakkarit: 0,42 g. polisakkarit 5,23 g)	Saltarelli vd. (2008)
<i>Tuber latisporum</i>	Kuru madde: (%14,64) protein, (%2,4) yağ, (%74,63) karbonhidrat, (%8,33) kül, (%1,18) inositol, (%33,82) sorbitol, (%1,25) glukoz, (%13,84) trehaloz, (%50,1) şekerler	Yan vd. (2017)
<i>Tuber subglobosum</i>	Kuru madde: (%10,96) protein, (%2,23) yağ, (%78,68) karbonhidrat, (%8,13) kül, (%2) inositol, (%22,65) sorbitol, (%0,92) glukoz, (%4,41) trehaloz, (%29,98) şekerler	Yan vd. (2017)
<i>Tuber pseudohimalayense</i>	Kuru madde: (%14,78) protein, (%2,55) yağ, (%74,4) karbonhidrat, (%8,33) kül, (%0,9) inositol, (%17,55) sorbitol, (%1,22) glukoz, (%4,22) trehaloz, (%23,89) şekerler	Yan vd. (2017)
<i>Tuber magnatum</i>	(%20,5-24) protein, (%2,23) karbonhidratlar, sülfür içeren aminoasitlerin yanında potasyum, fosfor, demir kalsiyum gibi pek çok mineral ve bazı yağ asitleri (linoleik, palmitik, oleik)	Beara vd. (2014)
	Çözülebilir protein 24,0 g±1,02 g, toplam karbonhidrat: 2,23g (monosakkarit: 0.53 g. polisakkarit 1,70 g)	Saltarelli vd. (2008)
<i>Tuber texense</i>	Kuru madde: (%16,1) protein, (%2,8) yağlar, (%75) karbonhidrat, (%6,1) kül, (%45) oleik asit, (%38) linoleik asit, (%11,4) palmitik asit; elementler: (%2,49) potasyum, (%1,29) fosfor, (%0,68) sülfür	Beuchat vd.,(1993)
<i>Tuber melanosporum</i>	Çözülebilir protein: 8,7 g±0,83 g, Toplam karbonhidrat: 1,77g (monosakkarit: 0,25 g. polisakkarit 1,52 g)	Saltarelli vd. (2008)
<i>Picoa juniperi</i> Vittad.	Kuru madde: (82,1 g/kg) kül, (225,4 g/kg) protein, (199,4g/kg) yağ, (130,4 g/kg) lif ve 366,6 g/kg karbonhidrat	Murcia vd. (2003)

## 2.6. Steroidler

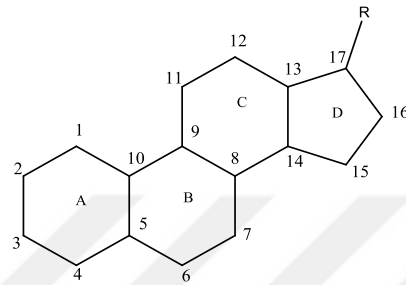
Tüm steroidler, 17 karbonlu bir çekirdek yapıya sahip olup, bağlı bir siklopentan ve üç tane sikloheksanın birbirine geçirilmiş şekli ile ifade edilmektedir. Diğer bir ifade ile, fenantren molekülünün tümüyle hidrojene olması ile bir siklopentan halkasına bağlanması sonucu oluşmaktadır. Ayrıca steroidler tetrasiklik halkalı lanostan tipi triterpenlerden oluşmuş ancak C4 ve C14 numaralı karbonlarda üç metil grubu eksiktir. Steroidler canlı dokularda hormon olarak işlev görmektedir ve Asetil KoA'nın biosentezi yoluyla oluşurlar. Halkalara bağlanmış farklı fonksiyonel gruplar sayesinde ayırt edilebilirler (Harborne, 1984). Steroid hormonlar grubunda 5 ana yapı bulunmaktadır. Bunlar 18 karbon içeren dişi hormonlarını meydana getiren östran, 19 karbonlu ve erkek hormonunu oluşturan androstan, 21 karbonlu projestatif hormonlarını ve kortikosteroidleri (böbrek üstü bezi hormonları) meydana getiren pregnan, 24 karbonlu ve safra asitlerini oluşturan kolan, 27 karbon içeren ve kolesterolü meydana getiren kolestan yapılarıdır.

Steroidler bitkilerde, hayvanlarda, mantarlarda ve yosunlarda oldukça yaygın olarak bulunan; vücutta hücre zarlarının bileşenleri olarak işlev gören doğal veya sentetik bileşiklerdir. Kolesterol, safra asidi, cinsiyet hormonları, vitamin D, adrenal korteks hormonları hayati öneme sahip bileşiklerdendir. Kortizonun enflamatuar hastalıkları etkili bir şekilde tedavi edebileceğinin 1949'da keşfedilmesi, modern tıp açısından çığır açan önemli bir gelişme olmuştur. Bu buluşa takiben, kadınlar için doğum kontrol ajanı olan steroid yapısındaki progesteronun keşfedilmesi eklenmiştir (Hogg, 1992). Steroidal yapıların en önemlilerinden birisi kolesteroldür ve tüm hayvansal dokularda bulunurken bitkilerde bulunmaz. Kolesterol, steroidlerin temel yapısını göstermektedir. Yan zincirdeki farklılıklar steroller, steroidal saponinler, kardiyookaktif glikozitler, kortikosteroidler (böbreküstü bezi hormonları) ve cinsiyet hormonları gibi biyolojik olarak önemli doğal ürünler elde etmekte rol alırlar.

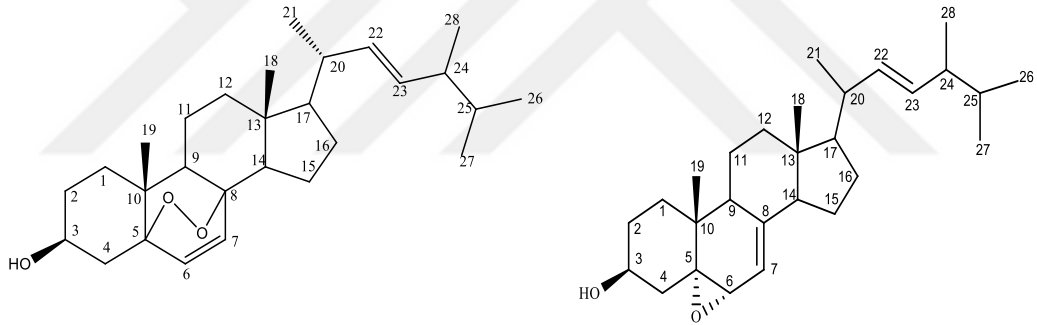
Kolesterolün oluşumu bir triterpen olan skualen ile gerçekleşir. Önemli bir biyookaktif bileşik olan skualenenin halka kapanması reaksiyonları ile hidroksilasyonun sonucunda lanosterol oluşur. Lanosterol daha sonra kolesterol gibi steroidlere dönüşmektedir. Ergosterol, kolesterolün hayvan hücrelerinde görev yaptığı

fonksiyonların çoğuna hizmet eden bir steroldür (Hess, 1975; Taşan, 2008). Ayrıca bitkisel yağlarda bulunan ergosterol D2 vitamini haline dönüşür Şekil 2.4 ve 2.5'te steroidlerin genel yapısı çizilmiştir.

Son zamanlarda bitkilerde olduğu gibi mantarlardan da izole edilen steroidler çalışmalarda yer almaktadır. Bu çeşitli steroidlerin antikomplement, antimikrobiyal, antitüberküloz, antiviral ve antikanser aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Öztürk vd., 2015).

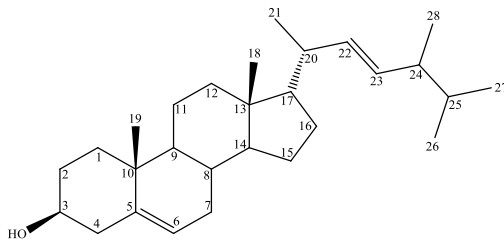


Şekil 2.4. Steroidlerin iskelet yapısı



Ergosterol peroksit

5α-6α epoksi ergosta-7,22-dien-3β-ol



Ergosta-5,22-dien 3β-ol

Şekil 2.5. Steroid yapıli bileşiklere örnekler

## 2.7. Polisakkaritler

Birden fazla monosakkaritin glikozidik bağ ile bağlanmasıyla oluşan biyolojik yapılar polisakkarit olarak isimlendirilir. Polisakkaritlerin sınıflandırılması, oluşan monosakkarit birimleri, anomerik, D veya L konfigürasyonları, halka büyüklükleri ve içerdiği substitüentlere göre yapılır. Polisakkaritler, kimyasal yapılarına göre incelendiğinde ikiye ayrılır. Bunlar homoglukanlar ve heteroglukanlardır (Anand vd., 2013; Öztürk vd., 2015). Homoglukanlar tek çeşit şeker ünitesi içerirken, heteroglukanlar ise birden fazla çeşit şeker ünitesi içerirler.

Glukanlar temel olarak glukoz tabanlı,  $\beta$ -(1→3),  $\beta$ -(1→6),  $\alpha$ -(1→3) veya  $\alpha$ -(1→6) yoluyla bağlanmış glikozidik bağlı polimerlerdir (Lindequist vd., 2005). Glukanların tamamı biyoaktivite gösterirken, aralarında  $\beta$ -glukanlar bağışıklık sistemine etki eden ve antitümör aktivite gösteren polisakkaritler arasında yer almaktadır (Hu vd., 1994). Mantarların da majör bileşenlerinden birisi polisakkaritlerdir. Örneğin lentinan, krestin, şizofillan gibi polisakkaritlerin antitümör, immunomodülatör, antidiyabetik, hipokolesterolemik, antioksidan, antimikrobiyal ve probiyotik aktivitelerine ilişkin çok sayıda araştırma göze çarpmaktadır (Bederska-Lojewska vd., 2017; Patel ve Goyal, 2012). Yapılan çalışmalarda, *Pleurotus tuber-regium* mantarında  $\beta$ -D-glukan polisakkariti, meme kanserine karşı etki gösterdiği (Zhang vd., 2001; Zhang vd., 2006), *Ganoderma lucidum* mantarında heteroglukan, manoglukan, glikopeptit polisakkaritinin hiperglisemi, antitümör ve antioksidatif etki gösterdiği (Mizuno, 1999), *Hericum erinaceus* mantarında heteroglukan, heteroglukanpeptit polisakkaritleri hiperglisemi, antitümör aktivite gösterdiği (Kawagishi vd., 1990; Hobbs, 2000), *Lentinus edodes* mantarında manoglukan, polisakkarit protein kompleks, glukan, lentinan polisakkaritinin antitümör, antiviral aktivite gösterdiği (Chihara vd., 1970; Hobbs, 2000), *Grifola frondosa* mantarında proteoglukan, glukan, galatomannan, heteroglukan, grifolan tipi polisakkaritlerin antitümör, antiviral aktivite ve karaciğeri koruyucu etki gösterdiği (Kim vd., 2004), *Polyporus umbellatus* mantarında glukan tipi polisakkaritin antitümör aktivite gösterdiği (Yang vd., 2004), *Tremella aurantialba* mantarında heteroglukan tipi polisakkaritin hiperglisemi etki gösterdiği (Liu vd., 2003), *Phellinus linteus* mantarında glukan polisakkaritin antitümör aktivite gösterdiği (Kim vd., 2004) rapor edilmiştir.

Zhao vd. (2014) yaptıkları çalışmada, 52 polisakkarit *T. melanosporum*, *T. indicum*, *T. sinense*, *T. aestivum* ve *T. indicum*, *T. himalayense*, *T. sinense*'nden izole edildiği belirtilmiş ve bu polisakkaritlerin HepG2 (hepatoselüler karsinom), A549 (akciğer adenokarsinomu), HCT-116 (kolon karsinomu), SK-BR-3 (göğüs kanseri), ve HL-60 (promyelositik lösemi) hücrelerine karşı *in vitro* koşullarda antitümör etki gösterdiği ortaya çıkarılmıştır. Böylece, polisakkaritlerin göstermiş olduğu antitümör aktivitenin, bağlı olan proteinin molekül ağırlığına ve zincir konformasyonuna göre değiştiği belirtilmiştir. Çin'in siyah trüfü olarak bilinen *Tuber sinoaestivum*'dan iki asidik polisakkarit TSP-I (*Tuber sinoaestivum* polisakkarit-1) ve TSP-II (*Tuber sinoaestivum* polisakkarit-2) elde edilirken, potansiyel bir immünomodülatör olabileceği ortaya çıkarılmıştır. Araştırmada kompleman fiksasyon aktivitesi test edilmiştir. TSP-I ve TSP-II polisakkaritlerinin IC<sub>50</sub> değerleri 32,0 ±2,3 mg/mL, 38,4±5,2 mg/mL olarak verilmiştir (Li vd., 2017). *T. indicum* (Luo vd., 2010, 2011), *T. huidongense* 'den manoz (Man), glikoz (Glc), galaktoz (Gal), ramnoz (Rha) içeren heteroliganlar (Chen vd., 2016; Pattanayak vd., 2017); *T. rufum*'dan Glc, Gal ve furuktoz içeren heteroliganlar izole edilmiştir (Pattanayak vd., 2017). THWP-1 ve THWP-2 (suda çözünebilir *Tuber huidongense* -1,2) her ikisinde α- D-Glc içeren asidik polisakkaritler olduğu (sırasıyla 128 kDa ve 729 kDa) ve sırasıyla 4mg/mL'de %82,22, %60,25 ABTS katyon radikali giderim aktivitesi gösterdiği bu nedenle iki polisakkaritin yeni bir antioksidan kaynağı olabileceği ortaya konmuştur (Chen vd., 2016). Luo vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada, *Tuber indicum*'dan elde edilen TIP-1 (*Tuber indicum* polisakkarit-1) ve TIP-2 (*Tuber indicum* polisakkarit-2)'nin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi IC<sub>50</sub> değerleri 1,74 ve 1,39 mg/mL olarak ölçülmüş. Standart olarak kullanılan BHT'den (IC<sub>50</sub>: 0,62 mg/mL) daha düşük bir antioksidan etki göstermiş olduğu tespit edilmiştir. PC12 (Sıçanlarda adrenal medula freokmositom)'una karşı koruyucu özelliği olduğu tespit edilmiştir.

## 2.8. Antioksidan Aktiviteler

Bir elementin veya bileşiğin oksijen ile tepkimeye girmesi oksidasyon olarak açıklanmaktadır. Reaktif olmayan oksijenin kısmi olarak indirgenmesi (Kumar, 2014; Neha vd., 2019), reaktif oksijen türlerini (ROS) oluşturmaktadır. Genellikle ROS,

süperoksit anyon ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil radikal (OH), singlet oksijen, nitrik oksit (NO) ve daha fazlasını içerir; bu, hücre hasarına ve DNA'ya zarar vermesinin yanı sıra onun yayılmasına sonuçta kalp, karaciğer, kanser, nörodejeneratif hastalıklarına yol açmaktadır (Kim vd., 2015; Neha vd., 2019). Reaktif oksijen oluşmasına, iltihaplanma (Husain vd., 2012), serbest metal iyonları, oksidatif patlama (Takashima vd., 2012), sigara dumanı, dış kaynaklı olan çevresel kirleticilere, UV ışınması, radyasyon ve metabolize edilmiş ilaçların yan ürünlerine maruz kalınması neden olmaktadır (Neha vd., 2019).

Antioksidanlar, ROS'un bozucu etkisini önleyerek oksidatif strese bağlı hastalıkları ortadan kaldırır (Neha vd., 2019). Doğada antioksidan olan moleküller serbest radikalleri gideren, oksidasyonu engelleyen maddelerdir. Antioksidanlar, radikallerle küçük reaktif türler oluşturdukları için "serbest radikal giderici (süpürücü)" olarak kabul edilirler (Neha vd., 2019). Günümüzde gıdaların oksidasyonla bozulmasını önlemek için, antioksidanların kullanılması bir zorunluluk haline gelmiştir. Fenolik bileşikler, askorbik asit, karotenoidler, bazı protein bazlı bileşikler, fosfolipitler ve steroller, gıdalarda bulunan doğal antioksidanlardır. (Choe ve Min, 2009). Trüfler de yüksek içerikte antioksidan ve fenolik bileşiklere sahiptir (Chen vd., 2016; El Enshasy vd. 2013; Beara, 2014; Patel, 2017).

*T. indicum*'dan elde edilen polisakkaritler, farelerin PC12 hücreleri üzerinde denenmiş ve buna göre  $H_2O_2$  stres etkenine karşı polisakkaritlerin koruyucu özellikleri araştırılmıştır. TIP-1 ve TIP-2 polisakkaritlerinin süperoksit anyonu giderim aktivitesinin  $IC_{50}$  3,06 ve 2,32mg/mL, bulunduğu 0.25–2 mg/mL TIP-1 ve TIP-2 kullanıldığında PC12 hücrelerinin  $H_2O_2$  (300 mM) hasardan korunabildiği sonucuna varılmıştır (Luo vd., 2010). Başka bir çalışmada DPPH radikallerine karşı *Terfezia boudieri*'nin radikal giderim etkisi ölçülmüş ve 5 mg/mL konsantrasyonda  $IC_{50}$  değerinin 0,031 mg/mL olduğu tespit edilmiştir (Doğan ve Aydın, 2013). Zhang vd. (2018) siyah trüfün su ekstresinin serbest radikal giderim aktivitesini ve hiperglisemi üzerine etkisini incelemişlerdir. Sonucunda siyah trüfün su ekstresinin sıçanlarda glikoz seviyelerini azalatabileceği ortaya çıkmıştır. Bu trüfün hipoglisemik etki için bir tedavi ajanı olabileceği öne sürülmüştür (Zhang vd., 2018). Li vd. (2019) tarafından dört farklı bölgeden Hebei, Tibet, Yunnan, ve Liaoning toplanmış *T. indicum*'un antioksidan aktiviteleri incelenmiş. Buna göre Yunnan'dan toplanan trüflerin en



yüksek DPPH<sup>-</sup> ve ABTS<sup>+</sup> radikal giderim aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir (IC<sub>50</sub>: 0,93 ve 0,68 mg/mL). Hamza vd. (2016) *T. nivea* üzerine yaptıkları çalışmada, fenolik ve flavonoid içeriği en yüksek olan ekstrelerin 7 farklı bakteriye karşı önemli bir antimikrobiyal aktivite gösterirken aynı zamanda DPPH serbest radikal giderim aktivitesine (IC<sub>50</sub>: 0,26 mg/mL) ve lipit peroksidasyon inhibisyon aktivitesine (IC<sub>50</sub>: 0,51 mg/mL) sahip olduğu belirlenmiştir. *T. boundieri* Chatin üzerinde yapılan çalışmada ise DPPH radikali giderim aktivitesi, IC<sub>50</sub>: 0,20 mg/mL, lipit peroksidasyon inhibisyon aktivitesi IC<sub>50</sub>: 0,36 mg/mL değerinde bulunmuştur.

Wahiba vd, (2016) *Terfezia claveryi* ve *Tirmania nivea* isimli iki trüf türünün, antioksidan aktiviteleri birbirine yakinken standart maddelere nazaran oldukça düşük olduğu saptanmıştır. Güney Cezayir'den temin edilen *Terfezia leonis*, *Tirmania pinoyi* ve *T. nivea* trüfleri arasından *Terfezia leonis*'inin en iyi antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. *T. leonis*, *T. pinoyi*, ve *T. nivea*'nin 2.6 mg/mL'de DPPH<sup>-</sup> radikal giderim aktivitesi %92,47, %53,06 ve %41,34 olduğu rapor edilmiştir (Gouzi vd., 2013). *T. latisporum*, *T. subglobosum*, *T. pseudohimalayense*'nin DPPH<sup>-</sup> ve OH<sup>-</sup> serbest radikallerine karşı iyi bir antioksidan oldukları saptanmıştır. Trüfler arasında *Tuber pseudohimalayense*'nin DPPH<sup>-</sup> ve hidroksil radikallerine karşı antioksidan aktivitesinin en yüksek olduğu görülmüştür (Sırasıyla E<sub>50</sub>: 6,03±0,26; 1,11±0,04). *T. latisporum* ise demir iyonu şelatlama aktivitesinin diğer trüflerdinkinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (E<sub>50</sub>: 0,82±0,07) (Khalifa vd., 2019; Yan vd., 2017). Tel-Çayan vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada, *Chondrogaster pachysporus* ve *Setchelliogaster tenuipes* türlerinin antioksidan etkileri incelenmiştir. Sonuçlara göre, *C. pachysporus*'un ABTS radikal giderim aktivitesi tüm ekstrelerde referans olarak kullanılan  $\alpha$ -Tokoferol'den daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca CUPRAC testinde en yüksek aktiviteyi yine *C. pachysporus* göstermiştir (A<sub>0,50</sub>: 23,21±0,07  $\mu$ g/mL). En yüksek lipit peroksidasyon inhibisyon aktivite gösteren ise *Setchelliogaster tenuipes* mantarı olmuştur (6,25±0,2  $\mu$ g/mL). *T. claveryi* çöl trüfünün etanol ekstresinin DPPH, FRAP, ABTS serbest radikal giderim aktivitelerinin kayda değer bir aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (IC<sub>50</sub>: 52, 48,5 ve 64,7  $\mu$ g/mL) (Dahham vd., 2018). Ayrıca, *Elaphomyces granulatus*'tan izole edilen şiringik asit ve şiringikaldehit gibi bileşiklerin ve *T. indicum*'dan elde edilen polisakaritlerin sırasıyla, 0,7 mg/mL ve 0,62 mg/mL olduğu belirlenmiştir (Luo vd., 2011). Murcia vd. (2002) yaptıkları çalışmada *Picoa juniperi* ve *Terfezia claveryi*'de linoleik asit

peroksidasyonunun inhibisyon aktivitesinin %85 ve %77 olduğu saptanmıştır. Akyüz vd. (2015) yaptığı bir çalışmada *T. boudieri*, *T. claveryi*, *T. olbiensis*, *P. lefebvrei* ve *P. juniperi*'nin metanol özütlerinin; DPPH radikalini giderme etkisi ölçülmüş. Buna göre gruplar karşılaştırıldığında 100 µL örnek eklenen grupta en fazla serbest radikal giderme aktivitesinin %8 ile *T. boudieri*'nin olduğu saptanmıştır (Akyüz vd., 2015a).

## 2.9. Enzim Aktiviteleri

Enzimler, metabolizmada yer alan birçok metabolik yolun düzenlenmesinde kontrol görevi yapan en önemli faktörlerden biridir (Nelson vd., 2005). Günümüzde en çok araştırılan biyomoleküller olmakla birlikte hakkında elde edilen bilgiler yeni enzimlerin ve enzim inhibitörlerinin tasarlanmasını mümkün hale getirmiştir (Friedman, 1996). Enzim inhibitörlerinin fayda sağladığı hastalıklardan biri alzheimerdir. Alzheimer hastalığı, beyindeki nörotransmitterlerin azalması, kolinesteraz metabolizmasındaki değişim ve dejenerasyonu ile ilişkili olup adını, Alman Doktor Alois Alzheimer'dan almıştır (Small ve Cappai, 2006). Alzheimer hastalığı'nın sebebi tam olarak aydınlatılamamasına rağmen, asetilkolin (ACh) seviyesinin azalmasıyla ilişkilendirilmektedir (Grossberg, 2003; Nordberg ve Svensson, 1998; Atta-ur-Rahman ve Choudhary, 2001). Beyinde kolinerjik iletimde Bütirikolinesteraz (BChE) ve Asetilkolinesteraz (AChE) rol oynamaktadır. Asetilkolinin (ACh) hafızadaki uyarıcı etkisi ve sentezinden sorumlu kolin asetiltransferaz enziminin hastalıkta belirgin bir azalmaya neden olması, hastalığın kolinerjik olduğunun düşünülmesine yol açmıştır (Tel vd., 2012; Tel-Çayan vd., 2015). AChE, asetilkolini parçalayan bir enzimdir ve amiloid  $\beta$ -peptid oluşumunu da hızlandırdığı gözlenmiştir. Asetilkolinesteraz enzim inhibitörleri asetilkolin yıkımını önler ve nöronal sinapstaki asetilkolin miktarını arttırarak kolinerjik sinapslardaki etkisini uzatır. Dolayısıyla, asetilkolinesterazın (AChE) inhibisyonu Alzheimer hastalığına karşı en yaygın kullanılan tedavi şeklidir (Orhan vd., 2007).

Dünyada çapında yaklaşık 50 milyon kişi demans hastası olduğu ve her yıl 10 milyon kişinin bu hastalığa yakalandığı belirtilmiştir. Alzheimer hastalığı, en sık görülen bunama rahatsızlığıdır ve demansın %60, %70'ini içerir. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2018'de yayınladığı rapora göre 2050 yılına kadar yaklaşık 152 milyon kişiye varacağı

ifade edilmiştir. Ayrıca hastalığın şu anki maliyeti yaklaşık 1 trilyon ABD doları olduğu ve bunun 2030 yılına kadar iki katına çıkacağı tahmin edilmektedir (Bray vd., 2018).

Alzheimer ve demans için bugün mevcut olan farmakolojik tedavilerin hiçbiri Alzheimer'ın semptomlarına neden olan ve hastalığı ölümcül yapan nöronların hasar ve yıkımını yavaşlatmaz veya durdurmaz. ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), Alzheimer'ın rivastigmin, galantamin, donepezil, memantin, ile birleştirilmiş memantin ve takrin tedavisi için altı ilacı onaylamıştır. Memantin hariç, bu ilaçlar beyindeki nörotransmitterler denilen kimyasalların miktarını artırarak semptomları geçici olarak iyileştirir. Memantin, beyindeki bazı reseptörleri sinir hücrelerine zarar verebilecek aşırı uyarılmadan bloke eder (Anonim, 2019). Halen tedavide kullanılan ajanların beklentilere tam olarak cevap verememesi, yan etkiler içermesinden dolayı çok sayıda bitkisel ajanlar diyet takviyeleri ve tıbbi gıdalar piyasaya sunulmuştur. Çeşitli araştırmalar alternatif tedavide kullanılan bu ürünlerin farklı etki mekanizmaları üzerinden, günlük yaşam aktiviteleri (uyku, duyu durumu ve bilişsel bozukluklar) üzerinde olumlu etkiler oluşturduğunu ortaya koymuştur. (Orhan vd., 2007; Anand vd., 2017). Günümüzde uygulanan tedavilerin mevcut yan etkilerinden dolayı, yan etkisi olmayan doğal ve yeni AChE inhibitörlerinin ortaya çıkarılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Enzim inhibitörleri, mide ile ilgili hastalıklarda da araştırma konusu olmuştur. Üreaz enzim inhibitörü kronik mide rahatsızlıklarını tedavi etmede kullanılabilir. Ürenin amonyak ve karbondioksit hidrolizini katalizleyen enzim, üreaz olarak adlandırılır. Bakteriyel kaynaklı, *Klebsiella aerogenes* üreazı, *Bacillus pasteurii* üreazı, *Helicobacter pylori* üreaz en bilinenleridir. Üreaz enzimi, bakterinin mide içinde düşük pH'da yaşamasına olanak sağlamasıyla birlikte kansere yol açabilecek gastrit ve peptik ülser patojenezinde görev almaktadır (Demiray ve Yılmaz, 2007). *Helicobacter pylori* midede kolonize olarak yaşayabilen bir mikrororganizmadır. Ürenin hidroliz olmasıyla amonyak, mide asidini nötralize eder ve *Helicobacter pylori*'nin kolonizasyonunu destekler. Tahriş edici amonyağın oluşumuyla ülserojenik etki gerçekleşir. *Helicobacter pylori* mide kanseri gelişiminde karsinojen bir bakteri olduğunu Dünya Sağlık Örgütü tarafından 1994 yılında, kabul etmiştir (Neubauer vd., 1997). *H. pylori*'nin gastrit, intestinal metaplazi ve gastrik asit sekresyonundaki bozukluklara ilişkili olduğu, bakterinin üreaz enzimi ile pH artışına neden olmakla

birlikte ülseri artırdığı, bu durumun da mide mukozasındaki oksidatif hasara yol açtığı tespit edilmiştir (Levi vd., 1989; Ruiz vd., 1996; Arı, 2006). Bu nedenle üreaz enzim inhibisyonu, üreaz üreten bakterilerin yol açtığı enfeksiyonlar için tedavi olarak görülür (Özer vd., 2004; Demiray ve Yılmaz, 2007; Dinç, 2009, Sarıca, 2019). Bu yaklaşımla birlikte kronik mide rahatsızlıklarını tedavi etmede üreaz enzim inhibitörlerinin kullanımına yönelik ilgi gün geçtikçe artmıştır.

## **2.10. Sitotoksik Aktivite**

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, kanser, kardiyovasküler hastalıklardan sonra ölümlere yol açan ikinci büyük sebep olarak saptanmıştır. 2015 yılında neredeyse 8,8 milyon kişinin ölümüne yol açmıştır (Bray ve ark. 2018). Küresel olarak 6 ölümden biri, ülkemizde ise her 5 ölümden biri kanser nedeniyle gerçekleşmiştir (Anonim, 2018). Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı tarafından son yıllarda 2015 kansere ilişkin değerlendirmeler mevcuttur. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından yayınlanmakta olan “Beş Kıtada Kanser” isimli beş kıtada kanser sağ kalımı ifade eden bir kitap ve aynı zamanda Londra Hıfzıssıhha ile Tropikal Tıp Okulu öncülüğünde kanser sağ kalımının dünya çapında izlenebilmesi için kurulmuş küresel bir program yapılmıştır. Bu sistemde 71 ülke, 18 kanser türüne ait veriler bulunmaktadır. Türkiye'nin 9 merkezinin (Ankara, Antalya, Bursa, Edirne, Erzurum, Eskişehir, İzmir, Samsun ve Trabzon) kaydı yapılmıştır (Anonim, 2018).

Uuslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından yayınlanan GLOBOCAN verilerine göre erkeklerde en sık görülen ilk beş kanserin dağılımı Çizelge 2.3.'te verilmektedir. Sırasıyla Akciğer, Prostat, Kolorektal, Mesane, Karaciğer dünyada erkeklerde en sık görülen ilk beş kanser türüdür. Uuslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından yayınlanan GLOBOCAN, verilerine göre kadınlarda en sık görülen ilk beş kanserin dağılımı Çizelge 2.4.'te verilmiştir. Dünyada en sık görülen kanser çeşitleri sırasıyla Meme, Kolorektal, Uterus serviksi, Akciğer, Uterus korusu kanser türüdür.

Çizelge 2.3. Erkeklerde en sık görülen kanser türleri

Türkiye*	Dünya	IARC (üye 24)	AB (üye 28)	ABD
Akciğer	Akciğer	Prostat	Prostat	Prostat
Prostat	Prostat	Akciğer	Akciğer	Akciğer
Kolorektal	Kolorektal	Kolorektal	Kolorektal	Kolorektal
Mesane	Mesane	Mesane	Mesane	Mesane
Mide	Karaciğer	Mide	Böbrek	Böbrek

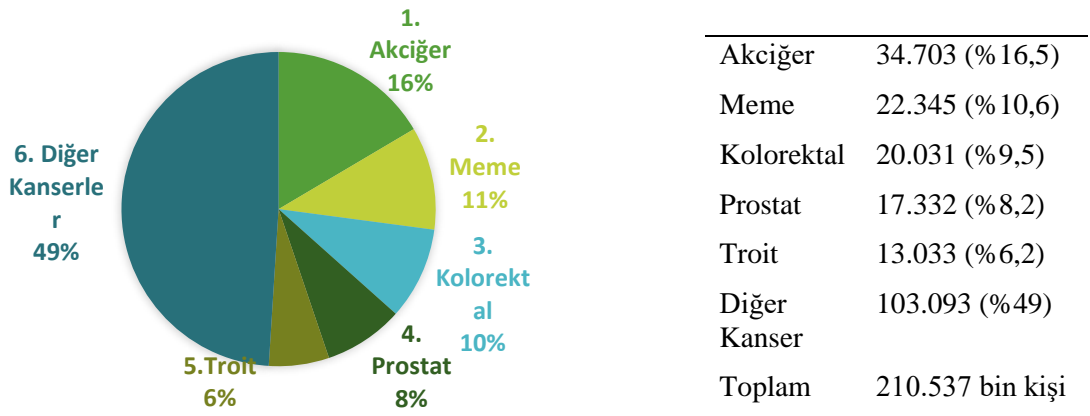
\*(Anonim, 2018; Bray, 2018)

Çizelge 2.4. Kadınlarda en sık görülen kanser türleri

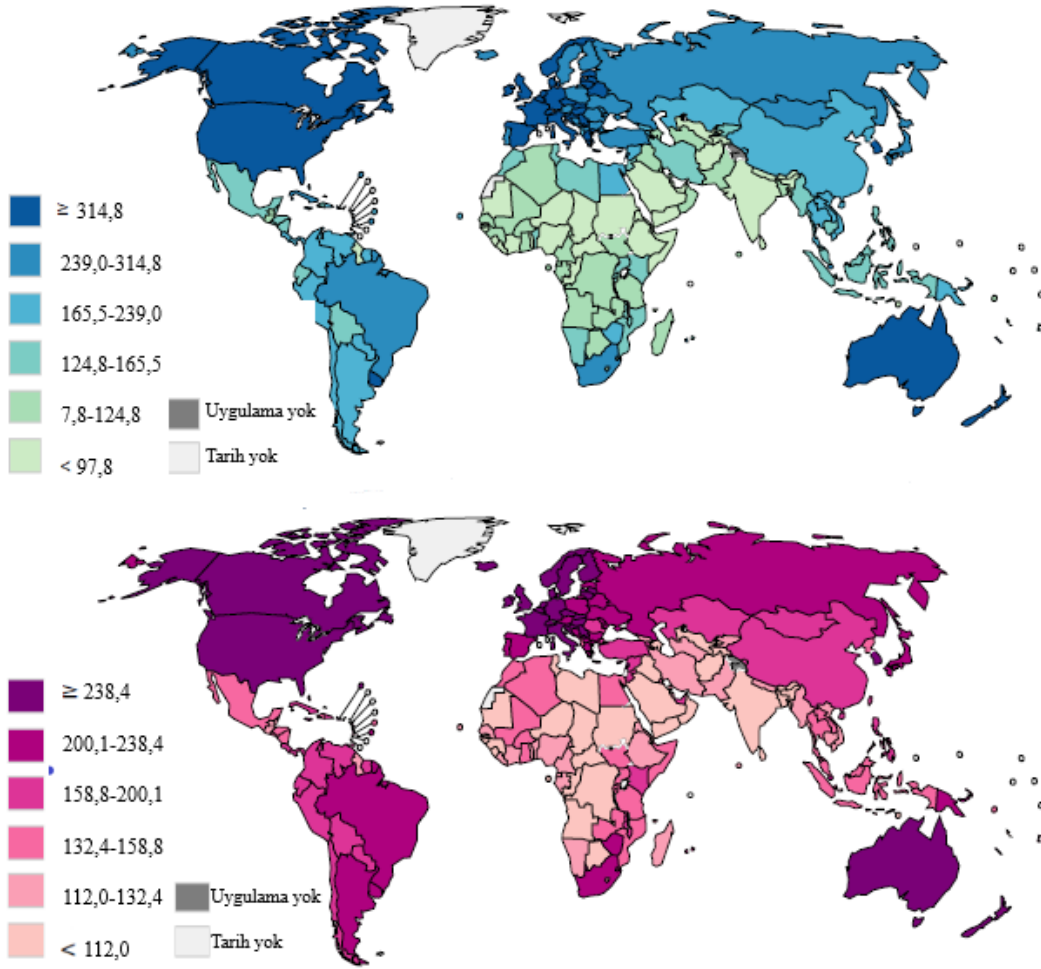
Türkiye*	Dünya	IARC (üye 24)	AB (üye 28)	ABD
Meme	Meme	Meme	Meme	Meme
Troit	Kolorektal	Kolorektal	Kolorektal	Akciğer
Kolorektal	Uterus serviksi	Akciğer	Akciğer	Kolorektal
Uterus korpusu	Akciğer	Uterus serviksi	Uterus korpusu	Troit
Akciğer	Uterus korpusu	Uterus korpusu	Uterus serviksi	Uterus

\*(Anonim, 2018; Bray, 2018)

Şekil 2.5.'te ülkemizde 2018 yılı içinde tespit edilen yeni kayıtlar gösterilmiştir. Her yaşta ve cinsiyet temel alınarak toplam 210.537 kanser tanısı içerisinde oranlar ve sayıları ifade edilmiştir. Ülkemizde en son resmi verilere göre kanser sıklığı erkeklerde yüz binde 259,9 kadınlarda ise yüz binde 183,2'dür. Bir yıl içerisinde 176.934 kişiye kanser teşhisi konulduğu, Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı tarafından ifade edilmiştir. Kanser risklerinin bu şekilde devam etmesiyle birlikte, 2040 yılında 29,5 milyon yeni vakanın oluşması tahmin edilmektedir. Bu tahminlere göre, önümüzdeki yıllarda gelişecek olan kanser vakalarının büyük bir bölümünün yine az gelişmiş ülkelerde meydana geleceği düşünülmektedir (Anonim, 2018).



Şekil 2.6. Türkiye'nin 2018 yılına ait kanser vakaları oran ve sayıları (Yaş, cinsiyet ayrımı olmaksızın)



**Şekil 2.7. Dünyada her 100.000 kişi'de bulunan ve ülkelere göre standart yaşta, erkek ve kadın kanser oranı**

Dünya çapında elde edilen sonuçlara göre, meme kanseri küresel kanser oranının %24,2'ni (2.089 milyon yeni vaka), ölüm oranı %15,0 (626000-679000 ölüm); kolorektal kanser vakası %10,2'sini (1,8 milyon yeni vaka) ölüm oranı %9,2 (881,000 ölüm); rahim ağzı kanseri %6,6'sını (569-817 yeni vaka) ölüm oranı %7,5'ini (311,365 ölüm) ifade etmektedir (Bray, 2018). Dünyada her 100.000 kişi'de bulunan ve ülkelere göre standart yaşta, erkek ve kadın kanser oranı Şekil 2.7'de verilmiştir.

Avrupa kıtasına bakıldığında, dünyanın %9'luk kısmında yer almasına karşın, dünyanın %25 oranında kanser hastasına sahiptir (Ferlay vd., 2018). AB'nin üye devletleri, 2012'de yaklaşık 2,6 milyon yeni kanser vakası sonucunda Avrupa toplamının %76'sının yani 1,26 milyon kişinin ölümü ile sonuçlandığını açıklamıştır (Ponti vd., 2017).

2019 yılında Amerikan Kanser Derneği tarafından çeşitli tahminler yapılmıştır. Değerlendirmede 228.150 akciğer kanser tanısı konulan hastaların yaklaşık 142.620 kişinin ölümüyle sonuçlanacağı; meme kanserinde ise 268.600 kişinin meme kanseri olduğu ve 41.760 kişinin ölümü ile sonuçlanacağı; 174.650 yeni prostat kanseri vakası sonucu, yaklaşık 31.620 ölümün meydana geleceği öngörülmektedir (Siegel vd., 2019).

Kanseri tedavi etmede kemoterapi ve radyasyonun ciddi yan etkileri olduğu için, birçok kanser hastası antikanser aktiviteye sahip yeni doğal bileşikler içeren tamamlayıcı tedavi metodları araştırmak zorunda kalmaktadırlar (Patel, 2010; Kaur, 2011). Antikanser aktivite gösteren doğal ürünlerden biri tıbbi mantarlardır. Mantarlar, özellikle antikanser ve immün sistemini güçlendirici özellikleriyle değerlendirilmektedir. Antihipertansiyon, antialerjik, antiviral, antimutajenik, antimikrobial, antiinflamatuvar gibi pek çok tıbbi ve biyolojik aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Zhang vd., 2007; Türkoğlu vd., 2007; Tong vd., 2009; Duru ve Tel Çayan 2015). İçeriğinde bulunan polisakkaritler, triterpenoidler, polisakkarit-protein, protein-peptid kompleksi gibi bileşiklerin çeşitli aktivitelerden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Örneğin “Krestin” mantar kaynaklı (*Trametes versicolor*) bir ilaç olup, ilaç pazarının yaklaşık %25’ine sahiptir. “Schizophyllan” (1,3-1,6 beta-glukan polisakkarit), *Schizophyllum commune*’den izole edilen kanser hastalığında bağışıklığı artırıcı olarak kullanılmaktadır (Zhang vd., 2013; Öztürk vd., 2015; Duru ve Tel Çayan, 2015). PSP olarak bilinen bir madde *Ganoderma lucidum*’un polisakkarit-peptitçe zengin bir ekstraktıdır ve Çin’de kanser için kullanılan ilaç piyasasında büyük bir oranda yer almaktadır. Bu ekstraktının kullanıldığı gıda ve ilaç destek ürünleri oldukça yüksek bir pazar payına sahiptir (Moradali vd., 2007; Tong vd.,2009; Tel Çayan, 2016).

Ayrıca bir yer altı mantarı olan trüfler de farklı tür tümör hücrelerine karşı yeni ve etkili tedaviler sunmaktadır. Beara vd. (2014) tarafından (HeLa, MCF-7 ve HT-29) tümör hücre hatlarına karşı *T. magnatum* ve *T. aestivum* metanol ve su ekstratlarının etkisi araştırılmış, MCF-7 tümör hücresine karşı IC<sub>50</sub> değeri 2,3 ile 34,5 µg/mL aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Buna ek olarak Dahham vd. (2018), tarafından *T. claveryi*’nin (MCF-7, HT-29, U-87 MG ve PC-3) kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Khalifa vd., 2019). *T. melanosporum*, *T. indicum*, *T.*

*sinense*, *T. aestivum* ve *T. indicum*, *T. himalayense*, *T. sinense*'nden izole edilen polisakkaritlerin HepG2 (hepatoselüler karsinom), A549 (akciğer adenokarsinomu), HCT-116 (kolon karsinomu), SK-BR-3 (göğüs kanseri), ve HL-60 (promyelositik lösemi) hücrelerine karşı *in vitro* koşullarda etki gösterdiği ortaya çıkarılmıştır (Zhao vd., 2014).

## 2.11. Trüflerden Elde Edilen Saf Bileşikler

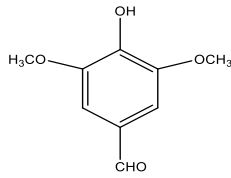
Son zamanlarda yapılan araştırmalar, bazı trüf mantarlarının insan vücudunda D vitaminine dönüşebilecek en yaygın mantar sterolü olan ergosteroidlere sahip olduğunu kanıtlamıştır (Doğan ve Aydın, 2013). Ergosterol (ergosta-5,7,22-trienol) ve brassikasterol (ergosta-5,22-dienol), *T. melanosporum*'un ana bileşenleri olarak tanımlanırken, bir polyhidroksi ergosterol üçlüsü olan bir steroidal glukosid tuberosid *Tuber indicum*'da bulunmakta olduğu tespit edilmiştir (Harki vd., 1996). *T. indicum* üzerinde yapılan bir çalışmada polihidroksi ergosterol türevleri olan (22*E*, 24*R*)-ergosta-7, 22-dien-3*b*, 5*a*, 6*β*-triol; 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(22*E*, 24*R*)-ergosta-7, 22-dien-5*a*, 6*β*-diol; 5*a*, 8*α*-epidioxy-(22*E*, 24*R*)-ergosta-6, 22-dien-3*β*-ol; (22*E*, 24*R*)-ergosta-5, 22-dien-3*β*-ol; (22*E*, 24*R*)-ergosta-4, 6, 8 (14), 22-tetraen-3-on bileşikleri izole edilmiş. *T. indicum*'un doğadaki mantarlardan daha yüksek oranda polihidroksillenmiş ergosterol glukozit'e sahip olduğunu kanıtlamıştır (Jinming vd., 2001). Başka bir çalışmada *T. indicum* kloroform metanol ekstresinden 9,10,11-Trihydroxy-(12*Z*)-12-octadecenoic acid bir yağ asidi ilk olarak izole edilmiştir (Gao vd., 2001). Luo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, *T. indicum*'dan polisakkarit eldesi için saflaştırılma işlemleri gerçekleştirilmiştir. TIP-1, TIP-2, iki polisakkaritin molekül ağırlıkları tespit edilmiştir. TIP-1'in sırasıyla mannoz, glikoz, galaktoz ve ramnozdan (molar oranı: 3,93:1,24:0,75:1,26); TIP-2'nin mannoz, glikoz ve arabinoz'dan oluşmakta olduğu (molar oranı: 5,27:1,44:0,43) tespit edilmiştir (Luo vd., 2011). *T. melanosporum*, *T. indicum*, *T. sinense* ve *T. aestivum* fermentasyon yoluyla 52 polisakkarit izole edilmiş. Bunlarda 4 polisakkarit hem fermentasyon sisteminde hem de trüfün kendisinde kimyasal içerikleri ve molekül ağırlıkları karşılaştırılarak karakterize edilmiştir. T. m-FPS-a ve T. m-FPS-1 hem *α*- hem de *β*-*D*-glucan'ı olduğu; F-T. m- MPS-1 ve T. m-FPS-1'nin protein gruplar içerdiği tespit edilmiştir.



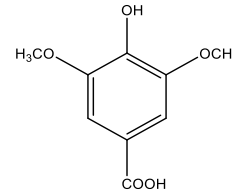
Fermentasyon ve türünün kendisinden elde edilen polisakkaritler aynı bileşime sahip olduğu ve tüm polisakkarit sisteminde *D*-mannoz, *D*-glikoz ve *D*-galaktoz'un bulunduğu tespit edilmiştir (Zhao 2014). *Elaphomyces* türleri içinde arsenik ve bileşiklerinin var olup olmadığı araştırılmıştır. Yoğun miktarda trimetilarsin oksit ve metil arsenöz asitin karaya ait organizmalarda tespit edildiği vurgulanmıştır. Elde edilen konsantrasyonlara göre bu mantar türünde arsenik biriktirmede etkin olabileceği belirtilmiştir (Braeuer vd., 2018). Stanikunaite vd. (2009), yaptıkları çalışmada *Elaphomyces granulatus*'tan siringaldehit ve siringik asit izole edilmişler. Ayrıca çalışmada elde edilen bileşiklerin antioksidan aktivitelerinin yanında antiinflamuar aktiviteleri de ölçülmüş şiringik asitin (IC<sub>50</sub>: 0,7 µg/mL) daha fazla antioksidan ve antiinflamuar aktivite (IC<sub>50</sub>: 0.4 µg/mL) gösterdiği tespit edilmiştir (Stanikunaite vd., 2009). *Tuber aestivum*, *Tuber melanosporum* ve *Tuber indicum* türlerinin ergosterol ve fenolik içerikleri HPLC ile araştırılmış olup, sırasıyla 0,36; 0,10; 0,09 mg/g ergosterol eşdeğerleri (equivalents) tespit edilmiştir (Villares vd., 2012). İzole edilen bileşikler Şekil 2.8'de verilmektedir.

**Çizelge 2.5. Trüflerden elde edilen bioaktif bileşikler**

Ascomycota/*Elaphomyces granulatus*/ Elaphomycetaceae/ Fruiting bodies: (Stanikunaite vd., 2009); (Elsayed vd., 2014)

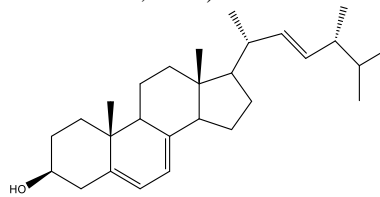


*Siringaldehit*



*Siringik asit*

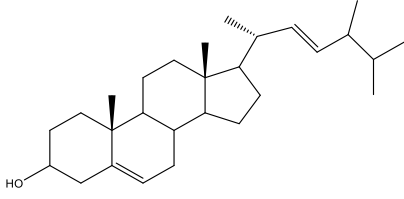
*Tuber borchii* Vitt. (Lanzotti ve Iorizzi, 2000)



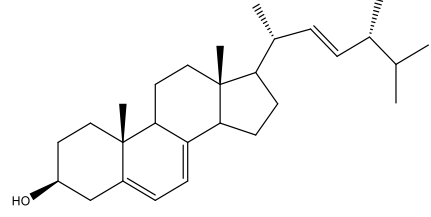
*Ergosterol*

Çizelge 2.5.(devam)

*Tuber melanosporum* (Harki vd.,1996)

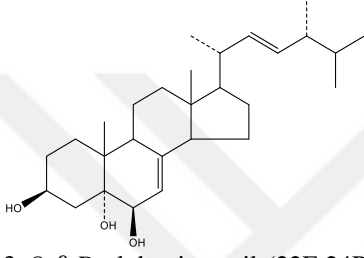


Brassikasterol

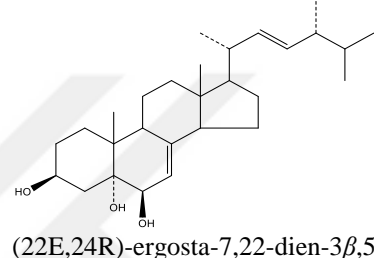


Ergosterol

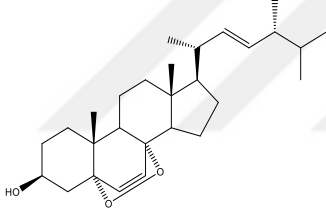
*T. indicum*, *Tuberaceae*, Fruiting bodies: *T. indicum*/*Tuberaceae*/ Fruiting bodies: (Jinming vd., 2001; Li, 2011)



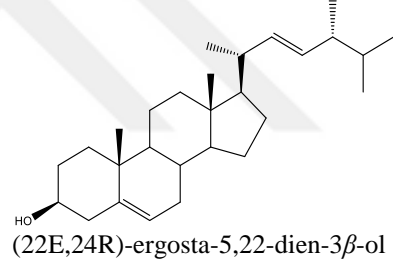
3-O- $\beta$ -D-glukopiranosil-(22E,24R)-ergosta-7,22-dien-5 $\alpha$ , 6 $\beta$ -diol



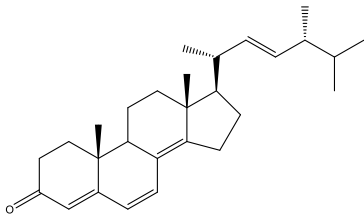
(22E,24R)-ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol



5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -epidioksi-(22E,24R)-ergosta-6,22-dien-3 $\beta$ -ol

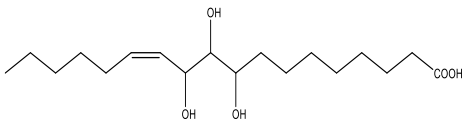


(22E,24R)-ergosta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol



(22E,24R)-ergosta-4, 6, 8 (14), 22-tetraen-3-on

*T. indicum*/*Tuberaceae*/Fruiting bodies: (Gao vd., 2001)



9, 10, 11-trihidroksi-(12Z)-12-oktadekanoik asit (trihidroksilat tekli doymamış yağ asidi)

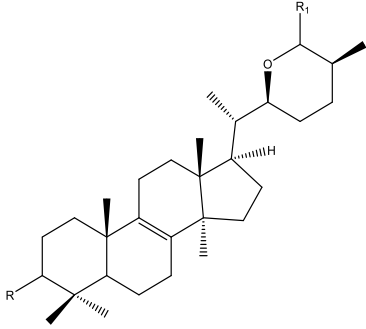
*T. indicum*/*Tuberaceae*/Fruiting bodies: (Luo vd., 2011)

Polisakkarit (TIP-1)

Polisakkarit (TIP-2)

**Çizelge 2.5.** (devam)

*Basidiomycota/Astraeus pteridis* (Shear) Zeller/Astraeaceae/Fruit-bodies: (Stanikunaite vd., 2008)



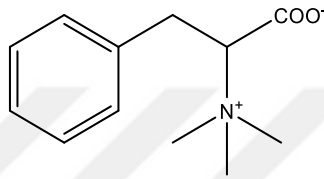
1-) R=α-OH: R<sub>1</sub>=O: 3-epi-astrahyrol

2-) R=R<sub>1</sub>=O: Astrahygrone

3-) R=O R<sub>1</sub>=α-OH: Astrapteridon

4-) R=β-OH R<sub>1</sub>=α-OH. Astrapteridiol

5-) R=R<sub>1</sub>=α-OH: 3-epi-astrapteridiol



*N,N,N-trimetilfenilalanin*

## 3. MATERİYAL VE YÖNTEM

### 3.1. Mantar Materyalleri

Doktora tezi kapsamında, kimyasal içeriklerini ve biyolojik aktivitelerini araştırmayı planladığımız ve ülkemizde doğal olarak yayılış gösteren. *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire ve *Picoa juniperi* Vittad 'nın en uygun iklim koşulları dikkate alınarak toplanmıştır.

*Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire 1 Mart-15 Mayıs tarihleri arasında Denizli'den TUBİTAK 114Z644 nolu proje materyali olarak Prof. Dr. Mehmet Emin Duru tarafından toplanmış ve Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Trüf Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde teşhisi yapılmıştır. Mantar örneği Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Biyoloji Bölümü Fungaryumu'nda MTM-1701 kodu ile saklanmaktadır.

*Picoa juniperi* Vittad 1 Mart-15 Mayıs tarihleri arasında Elazığ-Malatya civarında TUBİTAK 114Z644 nolu proje materyali olarak Prof. Dr. Mehmet Emin Duru tarafından toplanmış ve Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Trüf Uygulama ve Araştırma Merkezinde teşhisi yapılmıştır. Mantar örneği Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Biyoloji Bölümü Fungaryumu'nda MTM-1702 kodu ile saklanmaktadır.

### 3.2. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler

#### 3.2.1. Kimyasal maddeler ve çözücüler

$\beta$ -karoten, linoleik asit,  $\alpha$ -Tokoferol, gallik asit, protokateşik asit, fumarik asit, 3,4-dihidroksi benzoik asit, kateşin hidrat, p-hidroksi benzoik asit, 6,7-dihidroksi kumarin, kafeik asit, vanilin, 2,4-dihidroksi benzoik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, kumarin, trans-2-hidroksi sinnamik asit, ellajik asit, rosmarinik asit ve trans sinnamik asit Sigma kimyasaldan; 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), ve Bütillenmiş Hidroksi Anisol (BHA) Fluka; Tween-40 [polioksietilen sorbitan monopalmimat], ferrozin, demir-II-klorür, bakır-II-klorür, neokuprin, amonyumasetat, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS), 5,5'-ditiobis (2-nitro-benzoik asit) (DTNB), asetilkolin klorür (AcCl), bütirilkolin iyodür (BuI), elektrik balığından

asetilkolinesteraz [AChE, Type-VI-S, EC 3.1.1.7, 425.84 U/mg], at serumundan bütirikolinesteraz [BChE, EC 3.1.1.8, 11.4 U/mg], üreaz [Type-III from Jack Beans, EC 232-656-0, 20990 U/g solid], bor trifluorid–metanol kompleks (BF<sub>3</sub>/MeOH), silika jel 60 (0,063-0,200 mm; 70-230 mesh ASTM, Merck KGaA 1.07734), ince tabaka plakları (Alufolien Kieselgel 60F254, Merck KGaA 1.05554), TLC silika jel 60 RP-18 (Cam plate F254S, Merck KGaA 1.15685), sodyum karbonat, alüminyum nitrat, potasyum asetat, disodyum hidrojen fosfat, sodyum dihidrojen fosfat, pirokatekol, sodyum hidroksit, sülfirik asit, nitrik asit, meta fosforik asit, hidrojen klorür, fenol, hekzan, kloroform, etil asetat, metanol ve kullanılan tüm çözücüler Merck (Darmstadt, Almanya)'den temin edildi. L929 Fibroblast, MCF-7, PC-3 ve H1299 hücre hatları KUBTAL doku ve hücre kültür koleksiyonundan sağlanmıştır. DMEM (Biological Industries), Fetal Bovine Serum (Biological Industries), Penicillin-Streptomycin (Biological Industries), WST-1 kiti (Roche), Fenol Red'siz DMEM (Biological Industries), Ribonuclease-A (Serva Israil), Hoechst (Serva Israil), Propidium Iodide (Serva Israil), Trypsin-EDTA, plastik malzemeler (Biological Industries), Trypan Blue (Biological Industries), PBS (fosfat tampon çözeltisi), DMSO (Dimetil sülfoksit, Merck (Darmstadt, Almanya)) analiz için kullanıldı. Kullanılan diğer kimyasallar ve çözücüler analitik saflıktadır.

### 3.2.2. Çözeltilerin hazırlanması

#### 3.2.2.1. $\beta$ -karoten renk açılımı yönteminde kullanılan çözeltiler

- ❖  $\beta$ -karoten reaktifinin hazırlanması: 0,5 mg  $\beta$ -karoten tartılarak kloroformda (1 mL) çözüldü. 200  $\mu$ L Tween-40 ve 20  $\mu$ L linoleik asit ilave edildi ve karıştırıldı. Vakumlu olarak döner buharlaştırıcıda kloroform uzaklaştırıldı ve üzerine 50 mL oksijenle doyurulmuş ultra saf su ilave edilerek kuvvetlice çalkalandı.

#### 3.2.2.2. DPPH serbest radikal giderim yönteminde kullanılan çözeltiler

- ❖ DPPH çözeltisinin hazırlanışı (0,1 mM): 4 mg DPPH, 100 mL metanolde çözüldü.

### 3.2.2.3. ABTS<sup>+</sup> katyonu radikal giderim yönteminde kullanılan çözeltiler

- ❖ ABTS<sup>+</sup> Çözeltisinin Hazırlanması (7 mM): 19,2 mg ABTS tartıldı ve 5 mL ultra saf suda çözüldü. Konsantrasyonu 2,45 mM olacak şekilde üzerine 3,3 mg K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> ilave edildi ve karıştırıldı. Karanlıkta oda şartlarında 12-16 saat bekletildi.

### 3.2.2.4. CUPRAC yönteminde (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) yönteminde kullanılan çözeltiler

- ❖ Cu (II) çözeltisinin hazırlanması (10 mM): CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O katısından 17,05 mg tartılarak 10 mL ultra saf suda çözüldü.
- ❖ Amonyum asetat tamponunun hazırlanması (1M, pH=7): 0,77 g NH<sub>4</sub>Ac tartıldı ve 10 mL ultra saf suda çözüldü.
- ❖ Neokuprin çözeltisinin hazırlanması (7,5 mM): 39 mg neokuprin tartıldı ve 25 mL etanolde çözüldü.

### 3.2.2.5. Metal bağlama aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler

- ❖ Ferrozin çözeltisinin hazırlanması (0,5 mM): Toz halindeki Ferrozin'den 2,47 mg tartılarak 10 mL saf suda çözüldü.
- ❖ (FeCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O) çözeltisinin hazırlanması (0,2 mM): FeCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O'nun katısından 4 mg tartılarak 100 mL saf suda çözüldü.

### 3.2.2.6. Antikolinesteraz aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler

- ❖ Fosfat tamponu hazırlanması (0,1 M): 8,89 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O tartıldı. Hacmi 500 mL'ye tamamlandı. 1,56 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O tartıldı ve ultra saf su ile çözümlenerek 100 mL'lik hacme tamamlandı.
- ❖ pH=8 tamponu hazırlanması: Hazırlanan Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>'den 94,7 mL, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>'den de 5,3 mL alınarak, pH metre ile pH'ı kontrol edildi. Çözelti 200 mL'ye seyreltilti.

- ❖ pH=7 tamponu hazırlanması:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 'den 61 mL,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 'den de 39 mL alınarak, pH metre ile pH kontrol edildi ve 200 mL'ye seyreltildi.
- ❖ DTNB çözeltisinin hazırlanması: pH=7 tamponunda 16 mg DTNB çözüldü. Başka bir yerde 7,5 mg  $\text{NaHCO}_3$  1 mL pH=7 tamponunda çözüldü. İkisi karıştırıldı ve pH=7 tamponuyla 4 mL'ye seyreltildi.
- ❖ AcI (Asetilkolin iyodür) Hazırlanması: AcI'dan 16 mg tartılarak 4 mL ultra saf suda çözüldü.
- ❖ BuI (Bütirilkolin iyodür) Hazırlanması: BuI'dan 4 mg tartılarak 4 mL ultra saf suda çözüldü.

### 3.2.2.7. Üreaz enzimi inhibisyon aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler

- ❖ Fosfat tamponu hazırlanması (0,01 M): 0,1780 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  tartıldı ve bir miktar saf su ile çözüldü. Hacmi 100 mL olacak şekilde tamamlandı. 0,156 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 100 mL'lik balon jöjeye konularak, bir miktar su ile çözüldü ve 100 mL'ye tamamlandı.
- ❖ pH=8.2 Tamponu hazırlanması:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 'den 96 mL,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 'den de 4 mL alındı. pH metre ile pH kontrol edilerek 200 mL'ye seyreltildi.
- ❖ Fenol Reaktifi: 0,8 g fenol tartılarak, 10 mL suda çözüldü. % 0,005' lik sodyum nitropurisside hazırlamak için 5 mg  $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  tartılarak 10 mL'de çözüldü. 4 birim sodyum nitropurisside ve 5 birim fenol alınarak karışım hazırlandı.
- ❖ Alkali Reaktifi: NaOH'ten 0,285 g tartıldı ve 10 mL suda çözüldü. %10-15' lik NaOCl'ten 0,47 mL alındı ve 10 mL suda çözüldü. 1 birim NaOH ve 1 birim NaOCl ile karışım hazırlandı.
- ❖ Üre: 0.2553 g tartıldı, 25 mL tamponda çözüldü.

### 3.2.2.8. İnce tabaka kromatografisinde kullanılan belirteçler

- ❖ Serik sülfat belirtecinin hazırlanması: 2,0 g  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  tartılarak 100 mL %10'luk  $\text{H}_2\text{SO}_4$  eklenerek çözüldü. Hazırlanan belirteç, uygun çözücülerle

hazırlanmış ince tabaka plaklarına püskürtüldüğünde ve etüvde yaklaşık 110 °C’de bırakıldığında lekeler oluşuruncaya kadar bekletildi.

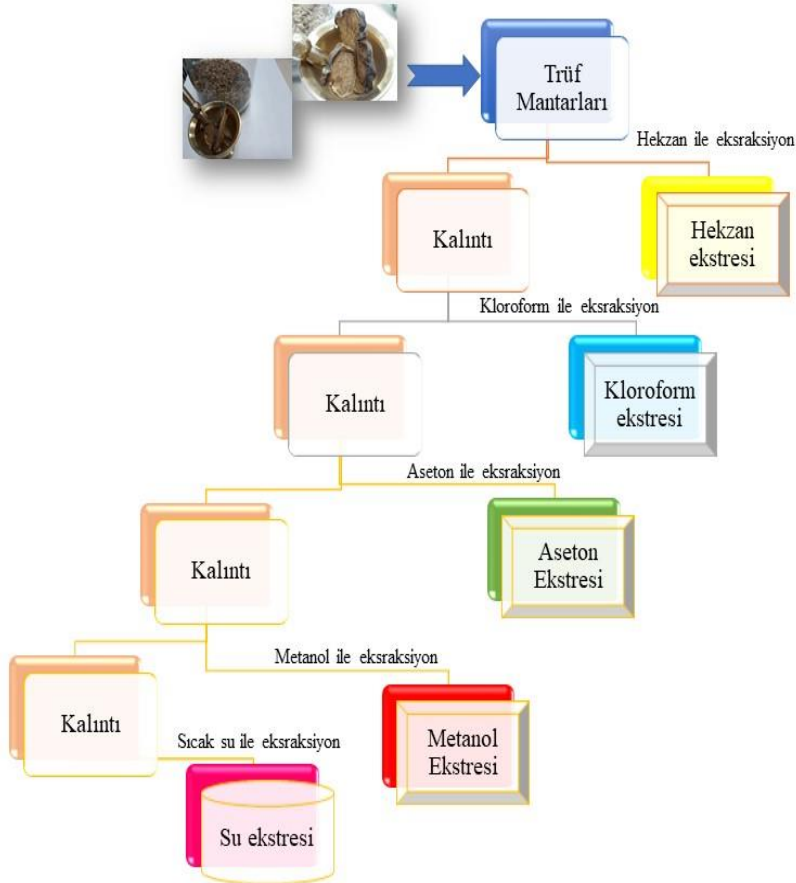
### 3.3. Aletler ve Diğer Gereçler

- Micro-Plate Reader (96’lı mikroyeylet okuyucu; Elisa Reader)
- Döner Buharlaştırıcı (Rotary evaporatör)
- Freeze dryer (Christ Alpha 1-4 LD)
- Gaz Kromatografisi (GC) cihazı (Shimadzu GC-17 AAF, V3, 230V LV)
- Gaz Kromatografisi-Kütle spektroskopisi cihazı (GC/MS) (Varian 2100)
- Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC-DAD, Shimadzu)
- Nükleer Manyetik Rezonans Cihazı (NMR), (Bruker Avance, 300 MHz, 400 MHz, 500 MHz ve 600 MHz (Cryo-cooled Probu))
- Preperatif Recycle HPLC (LC-908, Geri Dönüşümlü Preperatif HPLC, JNİ, Japan Analytical Industry Co., Ltd.)
- Nicolet IS10 FT-IR (Thermo)
- Kütle Spektrometresi (JEOL MSRoute resolüsyon:1000)
- UV Spektrofotometre (UV-Vis) (Shimadzu UV-1601, Japonya)
- Azot ve Oksijen Tüpleri
- Hassas Terazi (Scaltec SBA 31)
- pH-metre (Thermo)
- Manyetik karıştırıcı (Heidolph MR 3001, Almanya)
- Ultra saf su cihazı (Younglin Instrument, aquaMAX-Ultra, Kore)
- Otomatik Pipetler (2-20 µL, 10-100µL, 20-200µL, 100-1000µL, 50-5000µL), (Eppendorf, Almanya)
- Hesap makinesi (Casio fx-3650P Super FX, Japonya), Pulvarizatör, Balon jojeler, armudi cam balonlar, Magnetler
- ICP-MS (Agilent 7700x)



### 3.4. Ekstrelerin Hazırlanması

Topladığımız Trüf türleri kurutulduktan sonra toz haline getirildi. Her bir materyalin kuru miktarının 5 katı kadar çözücü ile oda şartlarında sırasıyla *n*-hekzan, kloroform, aseton, metanol ve sıcak su ile ekstraksiyonları yapıldı. Filtre kağıdından süzüldü ve balonlara aktarılarak döner buharlaştırıcıda vakum altında çözücüsü uzaklaştırılıp ekstreler elde edildi. Metanol ekstraksiyonlarında tam kurumayan kısım ile trüflerin sıcak su (80°C) ekstreleri süzme işleminden sonra balonlara aktarılarak sulu kısmının derin dondurucuda (-20°C) donması sağlandı ve liyofilizatör ile çözücü (su) uzaklaştırıldı. Böylece her bir trüften artan polaritelerdeki çözücülerle toplam 5 ekstre (*n*-hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su) elde edildi (Şekil 3.1). Ekstrelerin miktarları Çizelge 3.1.'da verilmektedir.



Şekil 3.1. Mantarların ekstraksiyon işlemleri

### 3.5. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

#### 3.5.1. $\beta$ -karoten renk açılım yöntemi

Linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerinin inhibisyonunun ölçülmesine dayanan metod ( $\beta$ -karoten-linoleik asit) ile ekstrelerin antioksidan aktiviteleri belirlendi (Miller, 1971; Tel vd., 2012). Reaksiyonun oluşmasından sonra, çözeltide  $\beta$ -karotenin sarı renginin giderek kaybolmasının 470 nm'de UV-spektrofotometrede ölçülmesiyle elde edilen sonuçlar standart ile karşılaştırılarak verildi.

Farklı konsantrasyonlarda örneklerden 40  $\mu$ L alındı ve mikropalakalara 3 tekrarlı olacak şekilde konuldu.  $\beta$ -karoten çözeltisi hazırlandı ve her kuyucuğa 160  $\mu$ L eklendi ve mikropalaka okuyucuda başlangıç absorbansları 470 nm'de ölçüldü. İlk ölçümün ardından örnekler 45°C'de inkübasyona bırakıldı. Kontrol (metanol) grubunu içeren kuyucuklardaki sarı rengin açılması takip edilerek, her 30 dakikada bir ölçüm sürdürüldü.

Tüm verilerin  $\beta$ -karoten renk açılım oranı (R), aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı:

$$R = \frac{\ln \frac{a}{b}}{t} \quad (3.1)$$

*In: Doğal logaritma, a: başlangıç absorbansı, b: inkübasyon sonundaki absorbans, t: inkübasyon süresi (dak)*

Antioksidan Aktivite (AA) aşağıdaki denkleme göre hesaplandı:

$$AA (\% \text{ İnhibisyon}) = \frac{R_{Kontrol} - R_{Örnek}}{R_{Kontrol}} \times 100 \quad (3.2)$$

$A_{Kontrol}$  kontrolün absorbansı,  $A_{Örnek}$  örneğin absorbansıdır.

#### 3.5.2. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi

Trüflerden elde edilen ekstrelerin ve saf maddelerin serbest radikali giderim aktiviteleri, DPPH' serbest radikali ile tespit edildi (Blois, 1958). Farklı çözücülerde çözünebilir 40  $\mu$ L her bir örnek mikropalakalara konuldu ve 160  $\mu$ L DPPH çözeltisi

eklendi. 30 dak karanlıkta inkübasyona bırakıldı. Süre bittiğinde 517 nm’de mikropleyt okuyucu yardımıyla absorbansları ölçüldü.

Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\text{DPPH Giderim Aktivitesi (\% İnhibisyon)} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100 \quad (3.3)$$

$A_{\text{Kontrol}}$  kontrolün absorbansı,  $A_{\text{Örnek}}$  örneğin absorbansıdır.

### 3.5.3. ABTS<sup>+</sup> radikali giderimi aktivitesi yöntemi

Trüf ekstrelerinin ve izole edilen bileşiklerin katyon radikal giderim aktivitelerini tespit etmek için ABTS<sup>•+</sup> yöntemi kullanıldı (Re vd., 1999). ABTS çözeltisi (7 mM) hazırlandı ve 12 saat karanlıkta bekletildi. Farklı konsantrasyonlarda her bir örnekten 40 µL alınarak mikropleyt kuyucuklarına 3 paralel şekilde konuldu ve üzerine 160 µL ABTS çözeltisi ilave edildi. Örneklerin absorbansları, kontrole karşı kıyaslandı ve ABTS radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplandı:

$$\text{ABTS}^{\bullet+} \text{ Giderim Aktivitesi (\% İnhibisyon)} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100 \quad (3.4)$$

$A_{\text{Kontrol}}$  kontrolün absorbansı,  $A_{\text{Örnek}}$  örneğin absorbansıdır.

### 3.5.4. Cu (II) indirgeme aktivitesi (CUPRAC) yöntemi

Trüf ekstrelerinin Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi (CUPRAC) kullanılarak antioksidan aktivitesi tespit edildi (Apak vd., 2004). Farklı konsantrasyonda olan örneklerden 40 µL alınarak, üzerine sırasıyla 50 µL, 10 mM Cu (II) çözeltisi, 50 µL neokuprin çözeltisi, 60 µL (NH<sub>4</sub>Ac) tamponu ilave edildi ve karıştırıldı. 1 saat süresince oda koşullarında inkübasyona bırakılarak, son olarak 450 nm’de absorbansları ölçüldü.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100 \quad (3.5)$$

$A_{\text{Kontrol}}$  kontrolün absorbansı,  $A_{\text{Örnek}}$  örneğin absorbansıdır.

### 3.5.5. Metal bağlama aktivitesi yöntemi

Trüf ekstrelerinin metal bağlama aktiviteleri Decker ve Welch, (1990) tarafından geliştirilen metoda göre belirlendi. Farklı konsantrasyonlarda belirli çözücülerle hazırlanan örneklerden 40 µL, FeCl<sub>2</sub> çözeltisinden 40 µL ve Ferrozin çözeltisinden de 80 µL eklenerek karıştırıldı ve 10 dakika oda şartlarında inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda 593 nm'de absorbansları belirlendi ve aşağıdaki eşitlik kullanılarak metal bağlama aktivitesi hesaplandı:

$$\text{Metal bağlama Aktivitesi (\% İnhibisyon)} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100 \quad (3.6)$$

$A_{\text{Kontrol}}$  kontrolün absorbansı,  $A_{\text{Örnek}}$  örneğin absorbansıdır.

### 3.6. Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz İnhibisyon Aktiviteleri Yöntemi

Trüf mantarı ekstrelerinin asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi Ellman vd. (1961) metodu ile gerçekleştirildi. Substrat olarak asetiltiyokolin iyodür (AcI) ve bütiriltiyokoliniyodür (BuI), enzim olarak yılan balığından elde edilen asetilkolinesteraz enzimi (AChE) ve at serumundan elde edilen butirilkolinesteraz enzimi (BChE) kullanıldı. Aktivite ölçümü için renk reaktifi olan 5,5'-Ditiyo-bis(2-nitrobenzoik) asit (DTNB) her iki antikolinesteraz aktivitesinin ölçümü için kullanılırken, pozitif kontrol olarak Galantamin kullanıldı.

Mikroplakaların her bir kuyucuğuna farklı konsantrasyonlar 10 µL örnek çözeltilerin üzerine 130 µL 0,1 M pH=8 fosfat tamponu ve 10 µL AChE veya BChE enzim çözeltisi eklendi. Oda sıcaklığında (25 °C) 15 dak inkübasyon sürdürüldü. Süre bitiminde 20 µL DTNB çözeltisi ve 20 µL AcI veya BuI eklenerek 10 dakika boyunca 412 nm dalga boyunda kinetik olarak ölçüm sağlandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{A_{\text{Enzim}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Enzim}}} \times 100 \quad (3.7)$$

$A_{\text{Enzim}}$  kontrolün absorbansı,  $A_{\text{Örnek}}$  örneğin absorbansıdır.

### 3.7. Üreaz İnhibisyon Aktivitesi Yöntemi

Farklı derişimlerdeki örnek çözeltiler, üreaz enzimi inhibisyon aktivitesini tespit etmek için indofenol metodu kullanıldı ve reaksiyon sonucundaki amonyağın tespit edilmesiyle spektroskopik olarak belirlendi (Weatherburn, 1967). Üreaz enzimi ile etkileştirildikten sonra substrat olarak üre eklendi. Mikroplakalara 10 µL farklı konsantrasyonlardaki örneklerden, 25 µL üreaz enzim çözeltisinden ve 50 µL üre eklendi ve 30°C de 15 dak inkübasyona bırakıldı. Kontrol grubu olarak 10 µL etanol kullanıldı. 45 µL fenol ve sodyumnitropurissit bulunduran fenol reaktifinden, 70 µL sodyumhidroksit ve sodyumhipokloröz bulunduran alkali reaktifinden ilave edildi ve 50 dakikanın ardından 630 nm’de absorbansı ölçüldü (Khan vd., 2004).

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{A_{Enzim} - A_{Örnek}}{A_{Enzim}} \times 100 \quad (3.8)$$

$A_{Enzim}$  kontrolün absorbansı,  $A_{Örnek}$  örneğin absorbansıdır.

### 3.8. Fenolik Profillerin HPLC-DAD Sistemiyle Belirlenmesi

Trüf örneklerinden yaklaşık 3 g tartılıp, 30 mL aseton: su (80:20) çözücü sistemi eklenerek -18°C’de 24 saat ekstraksiyon işlemine tabii tutuldu. Ardından örnekler ultrasonik banyoda yaklaşık 15 dak. boyunca bekletildikten sonra 4000 rpm’de 20°C’de 10 dakika santrifüjlendi. Whatman No 4 filtre kağıdından süzüldü ve kalıntı iki kez daha ekstraksiyon yapıldı. Çözücüler döner buharlaştırıcı yardımıyla uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstre su: metanol ile tekrar çözülerek, 0.20 µm filtrelerden geçirildi. Örnek HPLC-DAD (Shimadzu 20 AT series HPLC, Japan) cihazı ile analiz edildi (Barros vd., 2009). Alıkonma zamanı, standart olarak kullanılan maddeler kullanılarak pik çakıştırma ve pik alanı hesaplama gibi metodlar kullanarak nitel ve nicel sonuçlar elde edildi. Ayrıca gallik asit, fumarik asit, katekin hidrat, vanilin, *p*-hidroksi benzoik asit, 6,7-dihidroksi kumarin, kafeik asit, 3,4-dihidroksi benzoik asit, *p*-kumarik asit, ellajik asit, ferulik asit, kumarin, *trans*-2-hidroksi sinnamik asit, rosmarinik asit, 2,4-dihidroksi benzoik asit, *trans*-sinnamik asit olan fenolik asit ve organik asit standartları metanolde çözülerek HPLC’ye verildi, fenolik profil analizi gerçekleştirildi.

**Çizelge 3.1. HPLC-DAD cihazı analiz şartları**

<b>HPLC-DAD Cihaz Parametreleri</b>				
Kolon	C <sub>18</sub> kolon (5 µm, 250 mm x 4.6 mm. i.d)			
Mobil Faz A	%0,5'lik CH <sub>3</sub> COOH içeren H <sub>2</sub> O			
Mobil Faz B	%0,5'lik CH <sub>3</sub> COOH içeren MeOH			
Kolon Fırın Sıcaklığı	40°C			
Dedektör	SPD-M20A DAD dedektör			
Dedektör Dalga Boyu	280nm			
Enjeksiyon Hacmi	20µL			
Analiz süresi	60 dakika			
Gradient Program	Zaman (dak)	Akış (mL/dak)	% Solvent A	% Solvent B
	0.01	1,500	90,00	10,00
	2.00	1,500	80,00	20,00
	15.00	1,500	70,00	30,00
	30.00	1,500	00,00	100,00
	33.00	1,500	99,00	01,00
	35.00	1,500	99,00	01,00

### 3.9. Silillenme İşlemi ve GC-MS Analizi

1 mg madde 10µL susuz piridin de çözüldü, üzerine 15µL Bis(trimetisilil)trifloroasetamit eklendi ve 20 dak. 80°C'de bekletildi. 100µL Kloroform eklenerek seyreltildi ve GC-MS'e 0,2 µL enjeksiyon yapıldı. Çizelge 3.2'de verilen şartlar kullanılarak, GC-MS analizi gerçekleştirilmiştir. NİST kütüphanesi kullanılarak 3.8'de yer alan bileşenlerin analizleri gerçekleştirilmiştir.

**Çizelge 3.2. GC-MS silleme analiz şartları**

Kolon	DB-1 kapiler kolon (30 m x 0.25mm, 0.25µm)
Taşıyıcı Gaz	He
Enjeksiyon sıcaklığı	280°C
Kolon sıcaklığı	Fırın sıcaklığı 100°C de 10 dakika bekletildi. Daha sonra 300°C'ye 4°C/dak. hızla çıkarıldı ve 300°C'de 10 dak. bekletildi (Toplam 70 dak)
Split Oranı	1:20
İyon Kaynağı sıcaklığı	150 °C
Elektron enerjisi	70 Ev
Kütle aralığı	28-450 m/z
Scan aralığı	0.01
Enjeksiyon miktarı	0.2µL

### 3.10. Sitotoksik Aktivite Testleri

#### 3.10.1. Hücre kültürü

Trüf ekstrelerinin saf bileşenlerinin kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini saptamak amacıyla PC-3, MCF-7 ve H1299 insan kanser hücreleri sitotoksik etkilerini araştırmak için kullanıldı. -86°C'lik derin dondurucu da saklanan östrojen reseptörlü Fare Fibroblast (L929), Meme Kanseri (MCF-7), Prostat Kanseri (PC-3) ve Akciğer Kanseri (H1299) hücre hatları flasklara ekim yapılmak üzere çözündürüldü. Kriyotüpte bulunan hücreler falkon tüpe aktarıldı. Üzerine 1 mL medyum (%100 DMEM+%10 FetalBovine Serum+%1 Antibiyotik) ilave edildi. 3000 rpm'de 1 dak. santrifüj edildi. Süpernatant kısmı dököldü. Dipte kalan hücrelerin üzerine her bir flask için 3,5 mL medyum ilave edilip homojen hale getirildikten sonra flasklara ekim yapıldı. 37°C'de 2 gün inkübe edildi. Hücrelerin yeterli sayıya ulaşp ulaşmadığını belirlemek için otomatik hücre sayım cihazından (İnvitrogen-Countess) yararlanıldı.

#### 3.10.2. WST-1 sitotoksisite testi

48 kuyucuklu plate kullanılarak yapıldı. Her kuyucuğa 10<sup>4</sup> adet Fare Fibroblast (L929), H1299, MCF-7 ve PC-3 hücre hatları ekildi. Üzerlerine %10 Fetal bovine serum, %1 penisilin streptomisin içeren Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) eklendi. Hücreler 37°C de %5 CO<sub>2</sub>'li inkübatörde 24 saat inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyonun *Picoa juniperi* su (PJS), *Picoa lefebvrei* su (PLS), *Picoa juniperi* metanol (PJM), *Picoa lefebvrei* metanol (PLM), 1 mg/mL olarak hazırlandı. Suda çözünmeyen malzemeler (PJM, PLM) %5 DMSO+%95 DMEM hazır besiyeri içerisinde çözdürülerek 1mg/mL stok solüsyon hazırlandı. Tüm malzemelerin konsantrasyonları 200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 12,5 µg/mL, 6,25' µg/mL olarak uygulandı. Her örnek 3 tekrarlı olarak çalışıldı. Uygulamanın ardından 24 saat inkübasyon yapıldı. İnkübasyonun ardından kuyucuklardaki hücrelerin vasatları atıldı ve yerine 200 µL fenol red içermeyen besiyeri (DMEM) eklendi. Her kuyucuğa 7,5 µL WST-1 solüsyonu eklendi ve 4 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından 440 nm dalga boyunda ELISA okuyucuda absorbans ölçümü yapıldı (Moghtader, 2014).

### **3.11. Polisakkaritlerin İzolasyonu ve Karakterizasyonları**

#### **3.11.1. Polisakkaritlerin eldesi ve çöktürülmesi**

Mantar örneğinin sıcak su ile elde edilen ekstresi, deiyonize su ile çözüldükten sonra Whatman No:4 süzgeç kâğıdı ile süzüldü. Elde edilen süpernatanın üzerine 1:3 Etanol ilave edildi ve 4°C'de çöktürüldü. Bu işlem üç kez tekrarlandı. Karışım 4°C çıkarıldıktan sonra 4000 rpm'de 20° C'de 10 dakika santrifüjlendi. Çöken kısım (polisakkarit), süpernatandan Whatman No:4 süzgeç kâğıdı ile ayrıldı. Süpernatandan kısım atıldı. Çöken polisakkarit kısım 2-3 kez etanol ile yıkandı (Rana vd. 2009).

#### **3.11.2. Polisakkaritlerin ortalama molekül ağırlıklarının hesaplanması**

Molekül Ağırlığı 40° C'ta bir Shimadzu RID-10A detector ve Shimadzu LC-10 ATvp HPLC sisteminine uygun GPC Ultrahydrogel 1000 kolonu (7,8× 30,0 cm) ile tespit edildi. Her akışta 20 µL (5 mg/mL) örnek çözelti enjekte edildi ve akış hızı 0,6 mL/dak. 0,2 M NaCl ile elue edildi. Standart dekstranlar kalibre edilmiş kolondan geçirildi ve sonra elüsyon hacimleri sırasıyla molekül ağırlıklarının logaritmasına karşı grafiğe geçirildi. Saflaştırılan polisakkaritlerin elüsyon hacimleri aynı grafikte çizildi ve molekül ağırlıkları hesaplandı (Iteku vd., 2013).

#### **3.11.3. Polisakkaritlerin FT-IR ile analizleri**

Thermo Scientific one Nicolet IS10 FT-IR cihazı 650-4000 cm<sup>-1</sup> aralığında, ATR kullanılarak analiz gerçekleştirilmiştir. ATR'de, kristalin (elmas yüzey) olduğu bölge alkol ve kalıntı bırakmayan peçete ile temizlendi ve kapağı kapatıldı. Öncelikle herhangi bir örnek koymadan boş havanın spektrumu alındı. Spektrum ekranda gösterilmeden, örnek spektrumundan otomatik olarak çıkarıldı. Arkaplan çekimi tamamlandıktan sonra 1 mg kadar örnek katı, sıvı (çözücüsüz) olarak kristalin bulunduğu bölgeye bırakıldı. Platformun üzerindeki baskı eli ile uygun bir basınç uygulanarak kristalle numune arasında uygun bir temas sağlandı. Örneğin okuması gerçekleştirildi.



### **3.12. Kromatografik Yöntemler**

#### **3.12.1. İnce tabaka kromatografisi**

İnce tabaka kromatografisinde (İTK), silika jel hazır plaklar (20 x 20 cm), ters faz (RP<sub>18</sub>) C<sub>18</sub> dolgu maddeli plaklar tercih edildi. Trüflerden elde edilen ekstrelerin uygun çözücü sistemlerinin tespit edilmesi, benzer maddeleri içeren fraksiyonların birleştirilmesi, maddelerin saflık kontrolü için preparatif ince tabaka sistemi yoğun olarak kullanıldı.

#### **3.12.2. Kolon kromatografisi**

Trüflerden elde edilen ekstrelerin fraksiyonlandırılması ve fraksiyonlardan madde izole edilmesi için silika jel ve RP-C<sub>18</sub> dolgu maddeleri kullanıldı.

Ekstreler, ince tabaka kromatografisinde uygun çözücü sistemleri kullanılarak test edildikten sonra fraksiyonlandırma çalışmaları için silika jel bulunan kolonlar kullanıldı. Bunun için ekstreler çözücüsüyle çözülerek silika jel ile karıştırıldı ve oda sıcaklığında kurutuldu. Kolon ekstre miktarına uygun olarak seçildi. Dip kısmına az bir pamuk yerleştirildi ve boyunun 2/3 oranında silika jel ile dolduruldu. Kolonun üst kısmına paketlenme yöntemiyle ekstre yerleştirildi. Elüsyona %100 hekzan ile başlandı ve polarite artışı uygulanarak sırasıyla kloroform, etil asetat ve metanol ile sürdürüldü. Elüsyon %100 metanol ile tamamlandı.

#### **3.12.3. Preparatif HPLC-UV-RI kullanarak biyoaktif bileşenlerin izolasyonu**

Kolon kromatografisi yoluyla fraksiyonların saflaştırma çalışmaları, ince tabaka kromatografisi ile 3 veya 4 bileşik içerdiği tespit edilinceye kadar sürdürüldü. Ardından maddelerin saflaştırılması için Preparatif Recycle HPLC kullanıldı. Ayrılabilceğini düşündüğümüz fraksiyonlardan 15 mg tartılıp, kolon şartlarındaki çözücüsü ile çözdükten sonra Preparatif HPLC cihazına enjekte edildi. Bileşenlerin ayrılma süreleri dikkate alındı ve ardından 30 mg fraksiyon cihaza enjekte edildi. Birbirinden ayrılan maddeler cihazdan alındı.

### 3.12.3.1. Preparatif HPLC çalışma şartları

**Kolonlar:** Maddenin polaritesine göre farklı tip kolon sistemleri kullanıldı.

Kolon 1: ODS-L-80, C<sub>18</sub> kolon (250 x 20 mm ID; partikül çapı 5 µM)

Kolon 2: GS-320 (Size elution Chromatography Limit, 40.000 Da; İçerik: %70 polivinil alkol ve %30 C18; 500 x 20 mm ID)

Kolon 3: JAIGEL-SIL, SH-0,43-15 (partikül boyutu: 10/20 µm; boyut: 120(A))

**Dedektörler:** UV (254 nm) ve Refraktif İndeks

**Çözücüler:** Maddenin polaritesine göre farklı tip çözücü sistemleri kullanıldı.



Şekil 3.2. Preparatif HPLC cihazı

## 3.13. Spektroskopik Yöntemler

### 3.13.1. Nükleer manyetik rezonans

İzole edilen saf maddelerin; <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, DEPT ve 2D-NMR (HSQC, HMBC, COSY) spektrumları alındı ve çözücü olarak da döterokloroform (CDCl<sub>3</sub>), döterometanol (CD<sub>3</sub>OD) ve döterosu (D<sub>2</sub>O) kullanıldı.

### 3.13.2. Kütle spektroskopisi

Elektron iyonizasyon (EI-MS), Elektron spin iyonizasyon (ESI-MS) sistemleri kullanılarak saf bileşiklerin kütle spektrumları alındı.

### 3.14. İstatistik Hesaplamalar

Aktivitelerin hesaplanmasında 3 paralel testin ortalaması alınarak  $\pm$  standart sapmalar belirlendi ve % 95 güven aralığında student t testi uygulandı. En küçük kareler yöntemi ile, doğrusal regresyon analizi yapıldı. Eğim, intersept ve korelasyon katsayıları değerlendirildi. Verilerin homojenliği, Data varyasyonlarının normalliği ve homojenliği, %5 anlamlılık güven seviyesinde değerlendirildi. Tek yönlü varyasyon analizi, Anova Fisher yöntemi kullanılarak Minitab 16 istatistik programı ile değerlendirildi ( $P < 0,05$ ).

### 3.15. IC<sub>50</sub> ve A<sub>0,5</sub> değerlerin hesaplanması

IC<sub>50</sub> değeri aktivite sonuçlarının %50 inhibisyon konsantrasyonu ile ifade edildi. Örnek konsantrasyonu ile % inhibisyonunun grafiğinden IC<sub>50</sub> değeri; örnek konsantrasyonun absorbansa karşı çizilen grafikten A<sub>0,5</sub> değeri hesaplandı.

## 4. BULGULAR VE İRDELEME

### 4.1. Trüf Mantarlarından Elde Edilen Ekstrelerin Miktar Sonuçları

Trüfler toplandıktan sonra gölgede kurutuldu, tartıldı. 403,10 g *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire, 830,00 g *Picoa juniperi* Vittad. elde edildi. Çizelge 4.1’de mantarlaradan elde edilen ekstrelerin miktarları ve verimleri verilmiştir.

Çizelge 4.1. Mantarlardan elde edilen ekstrelerin miktarları ve verimleri

Mantar	Ekstre	Kodu	Miktarı	% Verim
<i>Picoa lefebvrei</i> (Pat.) Maire 403,1 g	<i>n</i> -hekzan	PLH	12,1	3,00
	Kloroform	PLC	4,9	1,21
	Aseton	PLA	4,5	1,12
	Metanol	PLM	24,1	5,98
	Su	PLS	44,0	10,91
<i>Picoa juniperi</i> Vittad. 830,0 g	<i>n</i> -hekzan	PJH	20,8	2,5
	Kloroform	PJC	13,2	1,59
	Aseton	PJA	5,9	0,71
	Metanol	PJM	38,64	6,00
	Su	PJS	47,0	5,66

### 4.2. Trüf Mantarı Ekstrelerinin Antioksidan Aktivite Sonuçları

#### 4.2.1. $\beta$ -karoten renk açılım yöntemi sonuçları (lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi)

*Picoa lefebvrei* ve *Picoa juniperi*’nin *n*-hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su ekstrelerinin toplam antioksidan aktivitesi (lipit peroksidasyonu inhibisyon aktivitesi)  $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemi kullanılarak belirlendi. Şekil 4.1. ve Çizelge 4.2’ de trüf türlerinin *n*-hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su ekstrelerinin lipit peroksidasyonu inhibisyonu aktiviteleri verilmektedir. Üzerinde çalıştığımız ekstrelerin aktiviteleri, standart olarak kullanılan ve sentetik antioksidan olan BHA ve  $\alpha$ -Tokoferol ile karşılaştırıldı. Elde edilen sonuçlara göre, tüm ekstrelerin artan konsantrasyonlarına paralel olarak inhibisyonlarının da arttığı belirlendi. Çizelge 4.2’de de görüldüğü üzere 800  $\mu$ g/mL konsantrasyonda *P. juniperi n*-hekzan ekstresi (%93,40), kloroform ekstresi (%79,85), *P. lefebvrei n*-hekzan ekstresi (%84,06),

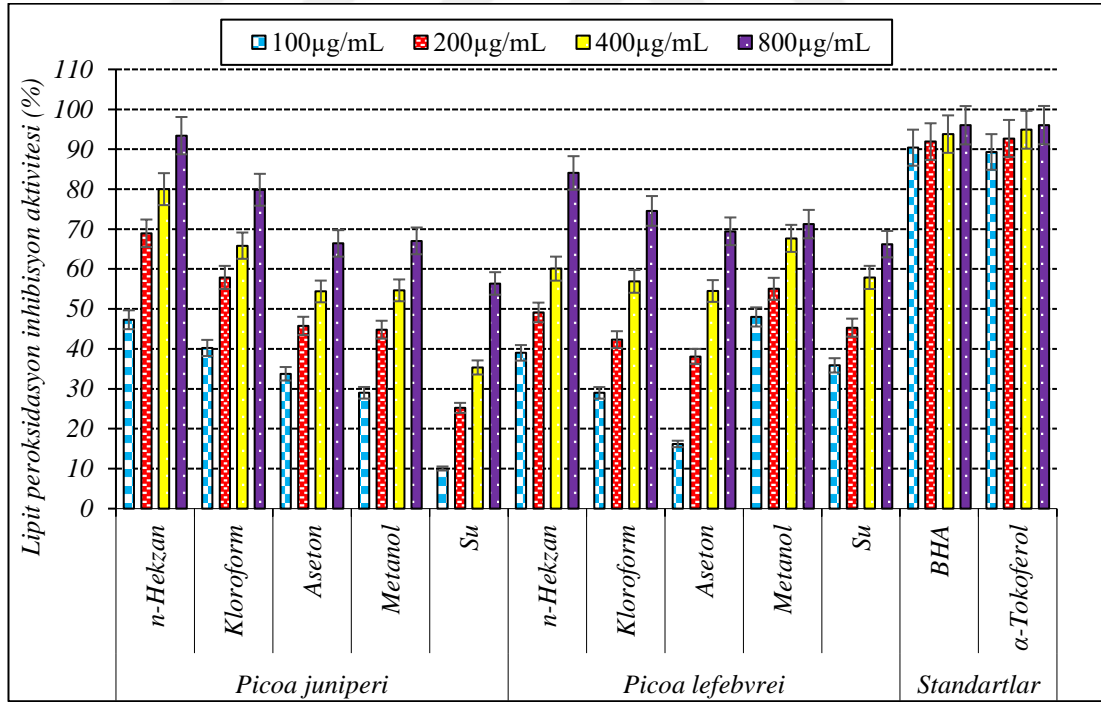
kloroform ekstresi (%74,55) inhibisyonlarıyla diğer ekstrlerden daha fazla aktivite gösterdiği tespit edildi.

**Çizelge 4.2. *P. lefebvrei* ve *P. juniperi*'nin  $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemiyle lipit peroksidasyonu inhibisyonu aktivitesi**

% Lipit Peroksidasyonu İnhibisyonu Aktivitesi						
	Ekstreler	100 $\mu$ g/mL	200 $\mu$ g/mL	400 $\mu$ g/mL	800 $\mu$ g/mL	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/mL)
<i>Picoa juniperi</i>	<i>n</i> -hekzan	47,34 $\pm$ 1,30 <sup>b</sup>	68,95 $\pm$ 2,03 <sup>b</sup>	80,01 $\pm$ 0,52 <sup>b</sup>	93,40 $\pm$ 1,36 <sup>a</sup>	115,57 $\pm$ 1,30 <sup>j</sup>
	Kloroform	40,24 $\pm$ 1,69 <sup>c</sup>	57,89 $\pm$ 0,38 <sup>c</sup>	65,85 $\pm$ 1,03 <sup>c</sup>	79,85 $\pm$ 2,49 <sup>c</sup>	156,14 $\pm$ 1,39 <sup>h</sup>
	Aseton	33,77 $\pm$ 1,29 <sup>d</sup>	45,75 $\pm$ 1,21 <sup>f</sup>	54,39 $\pm$ 2,81 <sup>fg</sup>	66,42 $\pm$ 0,86 <sup>fg</sup>	372,70 $\pm$ 1,54 <sup>d</sup>
	Metanol	29,01 $\pm$ 2,76 <sup>e</sup>	44,81 $\pm$ 1,17 <sup>fg</sup>	54,66 $\pm$ 1,97 <sup>fg</sup>	67,05 $\pm$ 2,66 <sup>fg</sup>	398,25 $\pm$ 2,14 <sup>b</sup>
	Su	10,05 $\pm$ 2,74 <sup>g</sup>	25,22 $\pm$ 0,03 <sup>i</sup>	35,35 $\pm$ 2,23 <sup>h</sup>	56,39 $\pm$ 2,61 <sup>h</sup>	671,51 $\pm$ 1,90 <sup>a</sup>
<i>Picoa lefebvrei</i>	<i>n</i> -hekzan	39,01 $\pm$ 0,33 <sup>c</sup>	49,13 $\pm$ 2,70 <sup>e</sup>	60,10 $\pm$ 1,63 <sup>d</sup>	84,06 $\pm$ 1,47 <sup>b</sup>	245,00 $\pm$ 1,53 <sup>g</sup>
	Kloroform	28,99 $\pm$ 2,72 <sup>e</sup>	42,32 $\pm$ 1,44 <sup>g</sup>	56,90 $\pm$ 1,34 <sup>ef</sup>	74,55 $\pm$ 2,46 <sup>d</sup>	363,58 $\pm$ 1,99 <sup>e</sup>
	Aseton	16,20 $\pm$ 2,14 <sup>f</sup>	38,10 $\pm$ 1,59 <sup>h</sup>	54,50 $\pm$ 0,32 <sup>fg</sup>	69,45 $\pm$ 0,03 <sup>ef</sup>	386,25 $\pm$ 1,02 <sup>c</sup>
	Metanol	48,00 $\pm$ 1,03 <sup>b</sup>	55,05 $\pm$ 1,31 <sup>d</sup>	67,68 $\pm$ 0,44 <sup>c</sup>	71,25 $\pm$ 1,37 <sup>e</sup>	127,84 $\pm$ 1,03 <sup>i</sup>
	Su	35,88 $\pm$ 2,20 <sup>d</sup>	45,31 $\pm$ 2,70 <sup>f</sup>	57,90 $\pm$ 1,12 <sup>de</sup>	66,22 $\pm$ 2,31 <sup>g</sup>	342,85 $\pm$ 2,08 <sup>f</sup>
<b>BHA*</b>		90,39 $\pm$ 0,37 <sup>a</sup>	91,91 $\pm$ 0,38 <sup>a</sup>	93,79 $\pm$ 1,16 <sup>a</sup>	96,01 $\pm$ 1,18 <sup>a</sup>	1,40 $\pm$ 0,01 <sup>k</sup>
<b><math>\alpha</math>-Tokoferol*</b>		89,32 $\pm$ 0,54 <sup>a</sup>	92,70 $\pm$ 0,69 <sup>a</sup>	94,88 $\pm$ 0,55 <sup>a</sup>	96,04 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	2,20 $\pm$ 0,05 <sup>k</sup>

\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstrler ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p <0.05).



**Şekil 4.1. *P. lefebvrei* ve *P. juniperi*'nin  $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemiyle lipit peroksidasyonu inhibisyonu aktivitesi**

#### 4.2.2. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi sonuçları

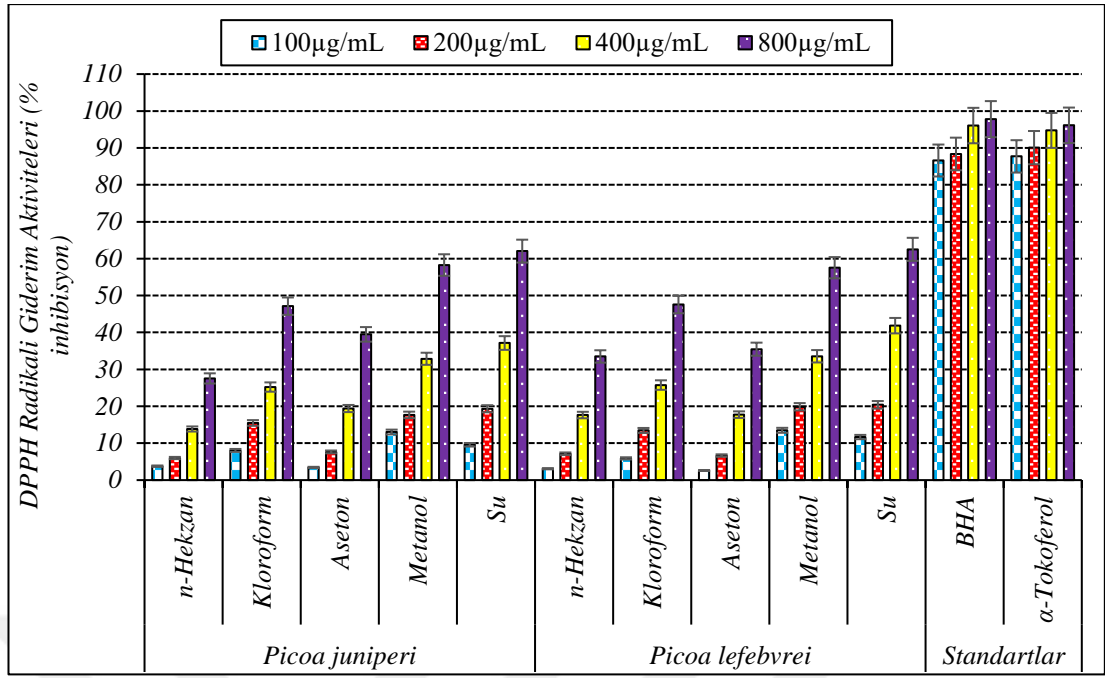
*Picoa lefebvrei* ve *P. juniperi*'nin *n*-hekzan, kloroform, aseton ve metanol ekstralarının serbest radikal giderim aktivitesi DPPH• radikal giderim yöntemi kullanılarak belirlendi. Sonuçlar Şekil 4.2'te ve Çizelge 4.3'te verilmektedir. Elde edilen sonuçlara göre, üzerine çalıştığımız tüm ekstraların ve standartların artan konsantrasyonlarına paralel olarak radikal giderimlerinin de arttığı belirlendi. Aktiviteler, referans madde olarak kullanılan ve sentetik antioksidan olarak bilinen BHA ve  $\alpha$ -Tokoferol ile karşılaştırıldı. Test sonuçları hem % inhibisyon hem de hesaplanan IC<sub>50</sub> değerleriyle Çizelge 4.3'te verilmektedir. *P. lefebvrei* ve *P. juniperi*'nin DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri karşılaştırıldığında sırasıyla, 800 µg/mL konsantrasyonda, *P. juniperi*'nin metanol ekstresi (%58,27), *P. lefebvrei*'nin metanol ekstresi (%57,54) inhibisyon ile diğer ekstralardan daha yüksek serbest radikal giderim aktivitesine sahip olduğu hesaplandı (Çizelge 4.3). *Picoa juniperi* üzerine Murcia, (2002) ve Akyüz vd. (2015) tarafından yapılan antioksidan aktivite testi sonucu da elde ettiğimiz bulguları doğrulamaktadır. Diğer trüf türleri üzerine de antioksidan aktivite testleri gerçekleştirilmiş olup bu çalışmalar da elde ettiğimiz sonuçlarla uyum içindedir (Doğan ve Aydın, 2013; Gouzi vd., 2013, Wahiba vd., 2016).

Çizelge 4.3. *P. lefebvrei* ve *P. juniperi*'nin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi

		% DPPH Serbest Radikali Giderim Aktiviteleri				
Ekstreler		100µg/mL	200µg/mL	400µg/mL	800µg/mL	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
<i>Picoa juniperi</i>	<i>n</i> -hekzan	3,77±1,19 <sup>h</sup>	5,99±0,92 <sup>h</sup>	13,85±0,21 <sup>l</sup>	27,55±0,51 <sup>l</sup>	>800 <sup>a</sup>
	Kloroform	8,04±0,14 <sup>f</sup>	15,48±0,09 <sup>e</sup>	25,21±0,58 <sup>f</sup>	47,12±0,29 <sup>e</sup>	>800 <sup>a</sup>
	Aseton	3,43±0,66 <sup>h</sup>	7,64±0,21 <sup>g</sup>	19,39±0,21 <sup>g</sup>	39,48±0,69 <sup>f</sup>	>800 <sup>a</sup>
	Metanol	13,03±0,68 <sup>c</sup>	17,67±0,38 <sup>d</sup>	32,87±0,99 <sup>e</sup>	58,27±0,19 <sup>d</sup>	671,83±0,56 <sup>c</sup>
	Su	9,57±0,47 <sup>e</sup>	19,33±0,29 <sup>c</sup>	37,14±0,23 <sup>d</sup>	62,04±0,40 <sup>c</sup>	618,10±0,34 <sup>d</sup>
<i>Picoa lefebvrei</i>	<i>n</i> -hekzan	3,08±0,07 <sup>hi</sup>	7,14±0,95 <sup>g</sup>	17,63±0,37 <sup>h</sup>	33,50±1,21 <sup>h</sup>	>800 <sup>a</sup>
	Kloroform	5,89±0,76 <sup>g</sup>	13,46±0,74 <sup>f</sup>	25,75±0,61 <sup>f</sup>	47,58±0,59 <sup>e</sup>	>800 <sup>a</sup>
	Aseton	2,60±0,29 <sup>l</sup>	6,65±0,74 <sup>gh</sup>	17,74±0,64 <sup>h</sup>	35,47±1,03 <sup>g</sup>	>800 <sup>a</sup>
	Metanol	13,49±0,39 <sup>c</sup>	19,87±0,14 <sup>c</sup>	33,55±0,11 <sup>e</sup>	57,54±0,01 <sup>d</sup>	674,67±0,65 <sup>b</sup>
	Su	11,67±0,41 <sup>d</sup>	20,40±1,17 <sup>c</sup>	41,84±0,62 <sup>c</sup>	62,52±1,11 <sup>c</sup>	594,00±0,83 <sup>e</sup>
<b>BHA</b> *		86,58±0,02 <sup>b</sup>	88,36±0,29 <sup>b</sup>	96,05±0,15 <sup>a</sup>	98,05±0,08 <sup>a</sup>	19,70±0,18 <sup>g</sup>
<b><math>\alpha</math>-Tokoferol</b> *		87,70±0,12 <sup>a</sup>	90,07±0,52 <sup>a</sup>	94,74±0,15 <sup>b</sup>	96,12±0,42 <sup>b</sup>	38,75±0,23 <sup>f</sup>

\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstralar ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p <0.05).



Şekil 4.2. *P. lefebvrei* ve *P. juniperi*'nin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi

#### 4.2.3. ABTS<sup>+</sup> radikali giderim aktivitesi yöntemi sonuçları

*Picoa lefebvrei* ve *P. juniperi*'nin *n*-hekzan, kloroform, aseton, metanol ekstralarının katyon radikali giderim aktivitesi, ABTS yöntemi kullanılarak belirlendi. Her iki materyalin ilgili ekstralarının katyon radikali giderim aktiviteleri % inhibisyon ve hesaplanan IC<sub>50</sub> (µg/mL) değerleri bazında, BHA ve α-Tokoferol ile karşılaştırmalı olarak Şekil 4.3'te ve Çizelge 4.4'te verilmektedir. Çizelge 4.4 incelendiğinde, konsantrasyon artışlarına paralel olarak, ABTS katyon radikali giderim aktivitelerinin de arttığı görülmektedir. Buna göre, 800 µg/mL konsantrasyonda, sırasıyla, *P. juniperi* kloroform ekstresi (%92,46), aseton ekstresi (%92,09), *P. lefebvrei* aseton ekstresi (%92,13), kloroform ekstresi (%92,08), *P. juniperi* metanol (%91,56), diğer ekstralere kıyasla en yüksek inhibisyona sahip olduğu belirlendi (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. *P. lefebvrei* ve *P. juniperi*'nin ABTS katyon radikali giderim aktivitesi

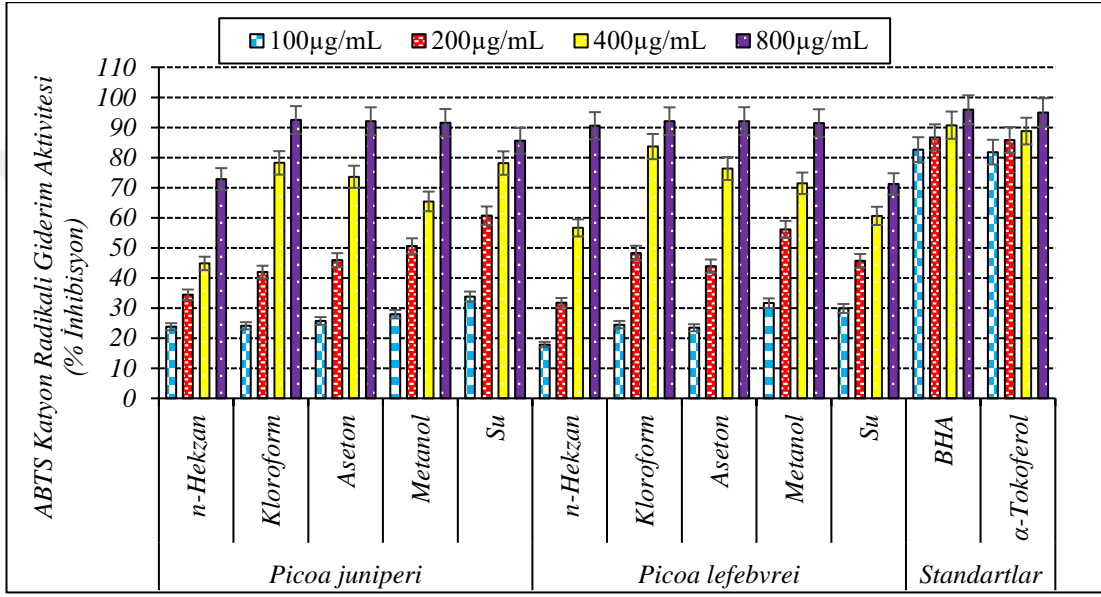
		(%) ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi				
Ekstreler		100µg/mL	200µg/mL	400µg/mL	800µg/mL	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
<i>Picoa juniperi</i>	<i>n</i> -hekzan	23,77±1,05 <sup>g</sup>	34,42±1,49 <sup>h</sup>	44,81±0,94 <sup>h</sup>	72,84±0,90 <sup>e</sup>	463,87±0,85 <sup>a</sup>
	Kloroform	24,09±0,93 <sup>g</sup>	41,96±1,32 <sup>g</sup>	78,22±0,17 <sup>c</sup>	92,46±0,33 <sup>a</sup>	278,23±0,68 <sup>d</sup>
	Aseton	25,71±0,23 <sup>f</sup>	45,94±0,80 <sup>ef</sup>	73,61±1,84 <sup>de</sup>	92,09±0,03 <sup>bc</sup>	271,16±0,93 <sup>e</sup>
	Metanol	27,95±0,76 <sup>e</sup>	50,64±0,86 <sup>d</sup>	65,42±3,04 <sup>f</sup>	91,56±0,10 <sup>bc</sup>	268,41±1,19 <sup>e</sup>

Çizelge 4.4 (devam)

	Su	33,78±1,42 <sup>b</sup>	60,70±1,09 <sup>b</sup>	78,16±0,15 <sup>c</sup>	85,58±0,28 <sup>d</sup>	147,86±1,48 <sup>h</sup>
<i>Picoa lefebvrei</i>	<i>n</i> -hekzan	17,88±0,39 <sup>h</sup>	31,75±0,51 <sup>h</sup>	56,63±0,51 <sup>g</sup>	90,56±0,52 <sup>c</sup>	382,65±0,48 <sup>b</sup>
	Kloroform	24,48±1,32 <sup>fg</sup>	48,28±0,95 <sup>de</sup>	83,65±1,50 <sup>b</sup>	92,08±0,17 <sup>bc</sup>	215,02±0,98 <sup>f</sup>
	Aseton	23,45±0,49 <sup>g</sup>	43,93±0,80 <sup>fg</sup>	76,36±0,89 <sup>cd</sup>	92,13±0,06 <sup>abc</sup>	279,15±0,56 <sup>d</sup>
	Metanol	31,62±0,48 <sup>c</sup>	56,16±0,07 <sup>c</sup>	71,44±0,30 <sup>e</sup>	91,47±0,02 <sup>bc</sup>	210,42±0,21 <sup>g</sup>
	Su	29,85±1,76 <sup>d</sup>	45,67±5,10 <sup>ef</sup>	60,62±7,70 <sup>g</sup>	71,22±7,70 <sup>e</sup>	341,07±5,56 <sup>c</sup>
<b>BHA</b> *		82,63±0,02 <sup>a</sup>	86,7±0,10 <sup>a</sup>	90,75±0,05 <sup>a</sup>	95,89±0,10 <sup>a</sup>	12,80±0,50 <sup>j</sup>
<b>α-Tokoferol</b> *		81,81±0,16 <sup>a</sup>	85,83±0,12 <sup>a</sup>	88,79±0,06 <sup>a</sup>	94,96±0,53 <sup>ab</sup>	34,50±0,47 <sup>i</sup>

\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstraller ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p <0.05).



Şekil 4.3. *P. lefebvrei* ve *P. juniperi*'nin ABTS katyon radikali giderim aktivitesi

#### 4.2.4. Cu (II) indirgeme kapasitesi (CUPRAC) yöntemi sonuçları

*Picoa lefebvrei* ve *P. juniperi*'nin *n*-hekzan, kloroform, aseton, metanol ekstralarının indirgeme gücü, CUPRAC yöntemi kullanılarak belirlendi. Ekstrelerin ve standartların konsantrasyonun absorbansa karşı çizilen grafikten Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan aktivitesi absorbans,  $A_{0.5}$  değeri hesaplandı.  $A_{0.5}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) olarak Şekil 4.4'te ve Çizelge 4.5.'te verilmektedir. Belirtilen sonuçlara göre indirgeme gücü kapasitesi; 800  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonda *P. juniperi* kloroform ekstresi %1,19, *P. lefebvrei* *n*-hekzan ekstresi %1,25'lik absorbans değerleri ile diğer ekstralere nazaran daha yüksek indirgeme gücüne sahip olduğu belirlendi.

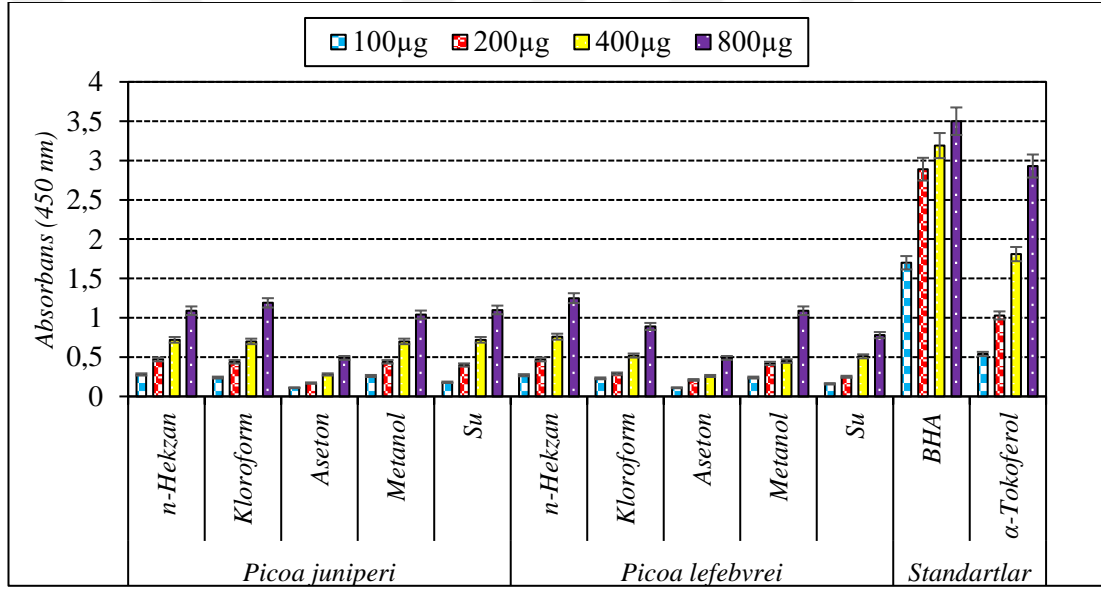


Çizelge 4.5. *P. lefebvrei* ve *P. juniperi*'nin CUPRAC yöntemiyle Cu<sup>2+</sup> indirgeme gücü aktivitesi

		(%) Cu <sup>2+</sup> indirgeme gücü aktivitesi					
		Ekstreler	100µg/mL	200µg/mL	400µg/mL	800µg/mL	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
<i>Picoa juniperi</i>	<i>n</i> -hekzan		0,28±0,02 <sup>a</sup>	0,47±0,02 <sup>a</sup>	0,72±0,01 <sup>a</sup>	1,09±0,02 <sup>a</sup>	254,54±0,01 <sup>h</sup>
	Kloroform		0,24±0,03 <sup>a</sup>	0,44±0,02 <sup>a</sup>	0,70±0,07 <sup>a</sup>	1,19±0,10 <sup>a</sup>	271,92±0,55 <sup>f</sup>
	Aseton		0,11±0,01 <sup>a</sup>	0,17±0,01 <sup>a</sup>	0,28±0,01 <sup>a</sup>	0,49±0,04 <sup>a</sup>	>800 <sup>a</sup>
	Metanol		0,26±0,01 <sup>a</sup>	0,44±0,02 <sup>a</sup>	0,70±0,01 <sup>a</sup>	1,04±0,02 <sup>a</sup>	268,81±0,02 <sup>g</sup>
	Su		0,18±0,04 <sup>a</sup>	0,40±0,24 <sup>a</sup>	0,72±0,42 <sup>a</sup>	1,10±0,68 <sup>a</sup>	290,30±0,34 <sup>d</sup>
<i>Picoa lefebvrei</i>	<i>n</i> -hekzan		0,27±0,01 <sup>a</sup>	0,47±0,02 <sup>a</sup>	0,76±0,02 <sup>a</sup>	1,25±0,05 <sup>a</sup>	232,92±0,02 <sup>i</sup>
	Kloroform		0,23±0,01 <sup>a</sup>	0,29±0,21 <sup>a</sup>	0,52±0,40 <sup>a</sup>	0,89±0,73 <sup>a</sup>	279,10±0,03 <sup>e</sup>
	Aseton		0,11±0,01 <sup>a</sup>	0,21±0,08 <sup>a</sup>	0,26±0,01 <sup>a</sup>	0,49±0,01 <sup>a</sup>	>800 <sup>a</sup>
	Metanol		0,24±0,01 <sup>a</sup>	0,42±0,01 <sup>a</sup>	0,45±0,34 <sup>a</sup>	1,09±0,01 <sup>a</sup>	322,50±0,09 <sup>c</sup>
	Su		0,16±0,00 <sup>a</sup>	0,25±0,01 <sup>a</sup>	0,51±0,01 <sup>a</sup>	0,78±0,02 <sup>a</sup>	391,67±0,01 <sup>b</sup>
<b>BHA*</b>			1,70±0,05 <sup>a</sup>	2,89±0,41 <sup>a</sup>	3,19±0,03 <sup>a</sup>	3,50±0,04 <sup>a</sup>	25,17±0,01 <sup>k</sup>
<b>α-Tokoferol*</b>			0,54±0,01 <sup>a</sup>	1,03±0,03 <sup>a</sup>	1,81±0,11 <sup>a</sup>	2,93±0,16 <sup>a</sup>	85,41±0,03 <sup>j</sup>

\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstraller ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p <0.05).



Şekil 4.4. *P. lefebvrei* ve *P. juniperi*'nin CUPRAC yöntemiyle Cu<sup>2+</sup> indirgeme gücü aktivitesi

#### 4.2.5. Metal bağlama aktivitesi yöntemi sonuçları

*Picoa lefebvrei* ve *P. juniperi*'nin *n*-hekzan, kloroform, aseton, metanol ekstrallerinin metal bağlama aktivitesi Fe<sup>++</sup>(II) iyonunu bağlama kabiliyetini ölçen Ferrozin-Fe (II) yöntemi kullanılarak belirlendi. Trüflerinin metal bağlama kapasite sonuçları Şekil 4.5 ve Çizelge 4.6'te verilmektedir. Yapılan bu çalışmalarda ekstrallerin ve standart olarak kullanılan EDTA'nın Fe<sup>++</sup>(II) iyonunu bağlama aktivitesi karşılaştırılarak sonuçlar hesaplandı. 800 µg/mL konsantrasyonda, *P. lefebvrei* %73,21 inhibisyon gösterirken *P. juniperi*'nin metanol ekstresi %68,23 inhibisyon göstermektedir. Bu sonuçlara göre,

her iki türün metanol ekstresinin 800 µg/mL konsantrasyonda metal şelat aktivitesinde standart olarak kullanılan EDTA'nın 100µg/mL konsantrasyondaki aktivitesiyle yarışmaktadır.

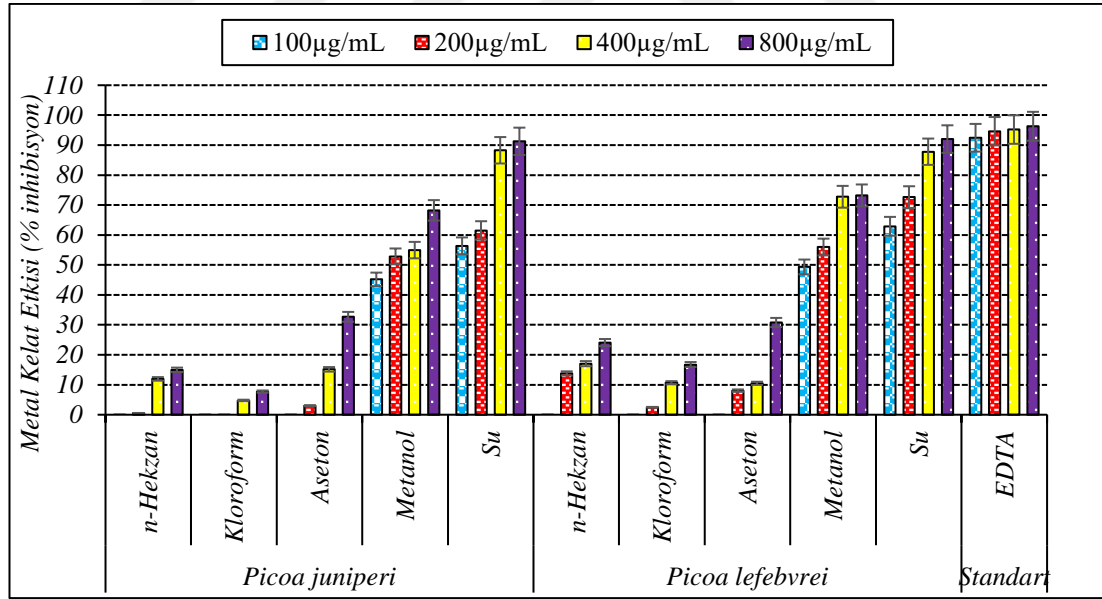
**Çizelge 4.6. *P. lefebvrei* ve *P. juniperi*'nin Fe<sup>2+</sup>-Ferrozin yöntemiyle metal bağlama aktivitesi**

		(%) Metal Bağlama Aktivitesi				
Ekstreler	100µg/mL	200µg/mL	400µg/mL	800µg/mL	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	
<i>Picoa juniperi</i>	<i>n</i> -hekzan	-	0,56±4,20 <sup>h</sup>	11,96±3,18 <sup>de</sup>	14,98±5,08 <sup>e</sup>	>800 <sup>a</sup>
	Kloroform	-	-	4,77±6,66 <sup>e</sup>	7,71±7,61 <sup>f</sup>	>800 <sup>a</sup>
	Aseton	-	3,00±0,19 <sup>h</sup>	15,15±1,33 <sup>d</sup>	32,69±1,92 <sup>c</sup>	>800 <sup>a</sup>
	Metanol	45,18±2,89 <sup>e</sup>	52,86±0,79 <sup>e</sup>	54,95±0,24 <sup>c</sup>	68,23±0,15 <sup>b</sup>	199,93±1,02 <sup>b</sup>
	Su	56,37±0,79 <sup>c</sup>	61,52±4,52 <sup>c</sup>	88,28±1,08 <sup>a</sup>	91,27±0,10 <sup>a</sup>	63,55±1,63 <sup>d</sup>
<i>Picoa lefebvrei</i>	<i>n</i> -hekzan	-	13,78±1,32 <sup>f</sup>	17,04±2,41 <sup>d</sup>	24,07±0,84 <sup>d</sup>	>800 <sup>a</sup>
	Kloroform	-	2,48±2,85 <sup>h</sup>	10,67±0,69 <sup>de</sup>	16,74±1,52 <sup>e</sup>	>800 <sup>a</sup>
	Aseton	-	8,04±1,74 <sup>g</sup>	10,48±12,27 <sup>de</sup>	30,78±1,01 <sup>c</sup>	>800 <sup>a</sup>
	Metanol	49,34±2,29 <sup>d</sup>	55,98±1,46 <sup>d</sup>	72,76±0,57 <sup>b</sup>	73,21±2,07 <sup>b</sup>	114,70±1,60 <sup>c</sup>
	Su	62,90±1,21 <sup>b</sup>	72,64±0,80 <sup>b</sup>	87,80±1,17 <sup>a</sup>	92,02±0,08 <sup>ab</sup>	57,41±0,81 <sup>e</sup>
<b>EDTA *</b>	92,46±1,40 <sup>a</sup>	94,65±0,56 <sup>a</sup>	95,20±0,13 <sup>a</sup>	96,30±0,11 <sup>a</sup>	3,50±0,11 <sup>f</sup>	

- : aktivite yok

\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstrler ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p <0.05).



**Şekil 4.5. *P. lefebvrei* ve *P. juniperi*'nin Fe<sup>2+</sup>-Ferrozin yöntemiyle metal bağlama aktivitesi**

### 4.3. Trüf Mantarı Ekstrelerinin Enzim İnhibisyon Aktivite Sonuçları

#### 4.3.1. Antikolinesteraz aktivite yöntemi sonuçları

##### 4.3.1.1. Asetilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları

*Picoa juniperi* ve *P. lefebvrei* sırayla n-hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su ile ekstraksiyonlarından elde edilen ekstreler ile standardın asetilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivite (AChE) sonuçları Çizelge 4.7 ve Şekil 4.6'da verilmektedir. *In vitro* koşullarda 4 farklı konsantrasyonda (25, 50, 100 ve 200 µg/mL) yapılan test sonuçlarına göre; bütün ekstrelerin konsantrasyon artışlarına bağlı olarak enzim inhibisyon aktivitelerinin de arttığı belirlendi. Ekstreler arasında en yüksek inhibisyon aktivitesini 100 µg/mL konsantrasyonda *Picoa juniperi* n-hekzan ekstresi (%38,95) ve *Picoa lefebvrei*'nin n-hekzan ekstresi (%25,58) göstermektedir. Galantamin standardıyla karşılaştırıldığında 200µg/mL konsantrasyonda *Picoa juniperi* n-hekzan ekstresi orta düzeyde bir aktivite göstermiştir. Farklı trüf türleri üzerinde asetil ve bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitelerinin münferit çalışmalar bulunmakta olup, elde ettiğimiz sonuçlar bu literatürlerle uyum içindedir (Akyüz vd., 2015a; Kıvrak, 2015; Tel-Çayan vd., 2017).

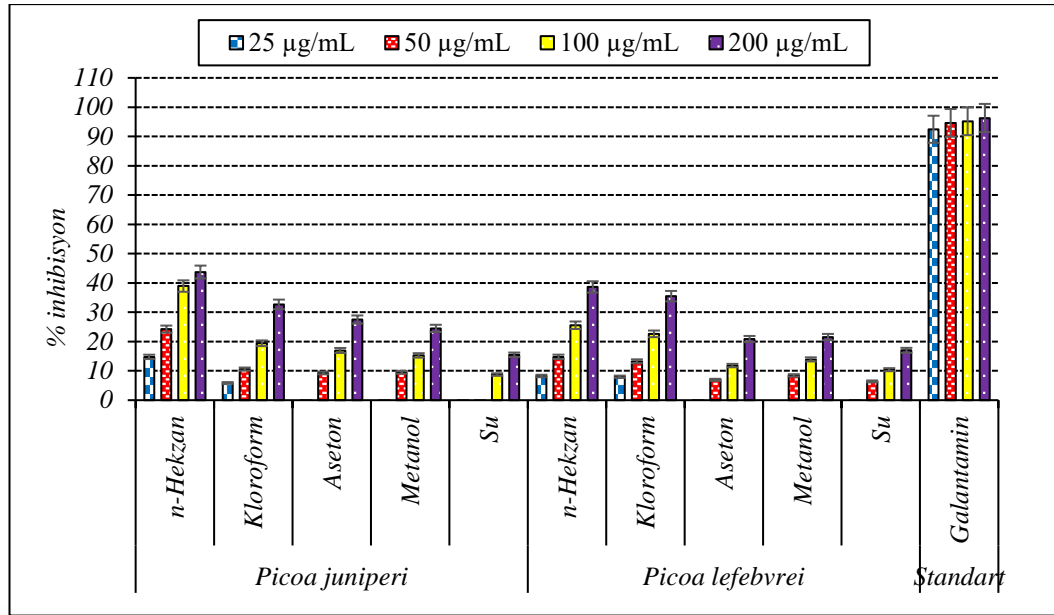
Çizelge 4.7. *P. juniperi* ve *P.lefebvrei*'nin Asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi

		(%) AChE İnhibisyon Aktivitesi			
	Ekstreler	25µg/mL	50µg/mL	100µg/mL	200µg/mL
<i>Picoa juniperi</i>	n-hekzan	14,78±0,53 <sup>b</sup>	24,25±0,95 <sup>b</sup>	38,95±0,66 <sup>b</sup>	43,74±0,36 <sup>b</sup>
	n-hekzan	5,87±0,92 <sup>d</sup>	10,61±0,82 <sup>e</sup>	19,43±0,79 <sup>e</sup>	32,70±1,06 <sup>e</sup>
	Kloroform	-	9,29±0,90 <sup>f</sup>	16,97±1,02 <sup>f</sup>	27,54±1,24 <sup>f</sup>
	Aseton	-	9,51±0,27 <sup>ef</sup>	15,28±0,94 <sup>g</sup>	24,51±1,20 <sup>g</sup>
	Metanol	-	-	8,75±0,56 <sup>i</sup>	15,48±0,76 <sup>j</sup>
	Su	8,25±0,36 <sup>c</sup>	14,80±0,78 <sup>c</sup>	25,58±1,05 <sup>c</sup>	38,65±0,84 <sup>c</sup>
<i>Picoa lefebvrei</i>	n-hekzan	7,98±0,45 <sup>e</sup>	13,27±0,63 <sup>d</sup>	22,64±1,42 <sup>d</sup>	35,51±0,96 <sup>d</sup>
	Kloroform	-	6,94±0,81 <sup>g</sup>	11,81±0,65 <sup>h</sup>	20,88±0,55 <sup>h</sup>
	Aseton	-	8,45±0,76 <sup>f</sup>	13,92±1,31 <sup>g</sup>	21,54±0,77 <sup>h</sup>
	Metanol	-	6,41±0,57 <sup>g</sup>	10,41±0,33 <sup>h</sup>	17,01±0,98 <sup>i</sup>
	<b>Galantamin*</b>	90,05±1,56 <sup>a</sup>	90,05±1,56 <sup>a</sup>	92,56±0,32 <sup>a</sup>	97,36±1,13 <sup>a</sup>

-: aktivite yok

\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstreler ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p <0.05).



Şekil 4.6. *P. juniperi* ve *P. lefebvrei*'nin AChE inhibisyon aktivitesi

#### 4.3.1.2. Bütirilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları

*Picoa juniperi* ve *P. lefebvrei* sırayla *n*-hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su ile ekstraksiyonlarından elde edilen ekstratlar ile standartın bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi (BChE) 4 farklı konsantrasyonda test edildi. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.8 ve Şekil 4.7’de verilmektedir. Elde edilen verilere göre; bütün ekstratların konsantrasyon artışlarına bağlı olarak enzim inhibisyon aktivitelerinin de arttığı belirlendi. Ekstratlar arasında en yüksek aktiviteyi 100 µg/mL konsantrasyonda *n*-hekzan ekstratı (%32,42) gösterirken, aynı konsantrasyonda kloroform ekstratı (%29,56) ise ikinci sırada enzim inhibisyon aktivitesine sahiptir. Standart olarak kullanılan Galantamin ile karşılaştırıldığında 200µg/mL konsantrasyonda *Picoa juniperi* ve *Picoa lefebvrei*’nin *n*-hekzan ekstratının BChE aktivitesinin orta düzeyde bir etki göstermektedir.

Çizelge 4.8. *P. juniperi* ve *P. lefebvrei*’nin Bütirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi

		(%) BChE İnhibisyonu Aktivitesi			
	Ekstratlar	25µg/mL	50µg/mL	100µg/mL	200µg/mL
<i>Picoa juniperi</i>	<i>n</i> -hekzan	11,26±0,83 <sup>b</sup>	20,55±0,79 <sup>b</sup>	32,42±1,14 <sup>b</sup>	54,63±0,98 <sup>b</sup>
	Kloroform	9,24±0,88 <sup>c</sup>	17,71±0,91 <sup>c</sup>	29,56±0,49 <sup>c</sup>	44,51±1,20 <sup>c</sup>
	Aseton	-	8,75±0,69 <sup>gh</sup>	14,60±0,81 <sup>g</sup>	25,88±0,93 <sup>h</sup>
	Metanol	6,24±0,67 <sup>d</sup>	10,08±0,95 <sup>f</sup>	18,38±1,15 <sup>f</sup>	30,43±0,56 <sup>f</sup>
	Su	-	5,65±0,41 <sup>i</sup>	9,30±0,95 <sup>i</sup>	15,96±0,5 <sup>ji</sup>
	Standart	Galantamin	~95	~95	~95

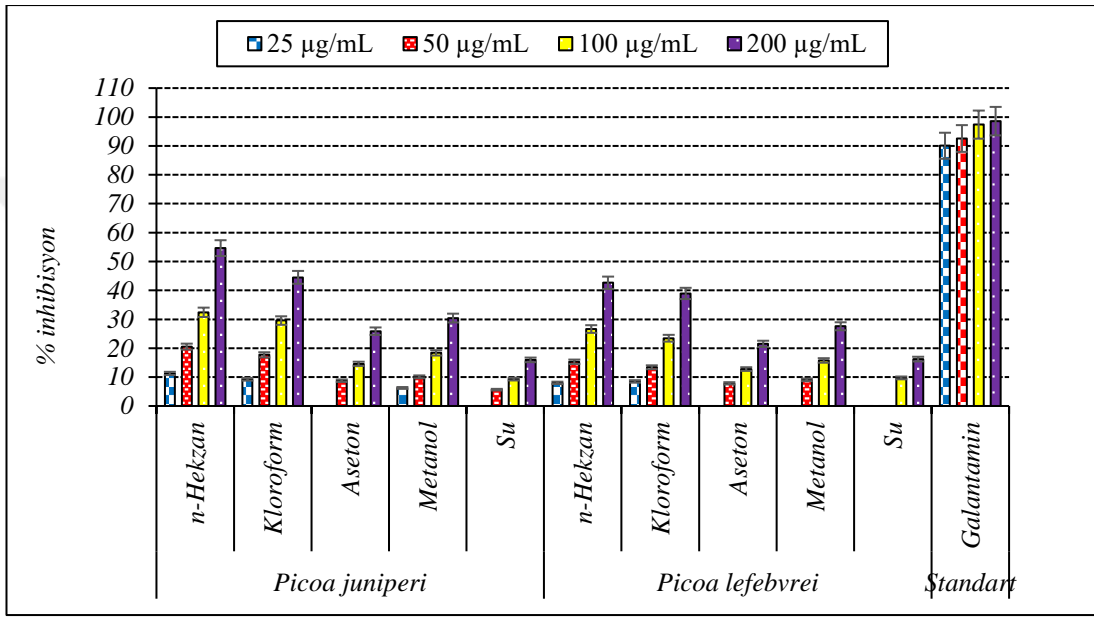
Çizelge 4.8. (devam)

<i>Picoa lefebvrei</i>	<i>n</i> -hekzan	8,01±0,35 <sup>c</sup>	15,30±0,69 <sup>d</sup>	26,63±0,85 <sup>d</sup>	42,64±1,05 <sup>d</sup>
	Kloroform	8,50±0,74 <sup>c</sup>	13,40±0,72 <sup>e</sup>	23,45±1,25 <sup>e</sup>	38,95±1,14 <sup>e</sup>
	Aseton	-	7,84±0,34 <sup>h</sup>	12,78±0,90 <sup>h</sup>	21,51±0,92 <sup>i</sup>
	Metanol	-	9,05±0,87 <sup>fg</sup>	15,76±1,19 <sup>g</sup>	27,59±0,96 <sup>g</sup>
	Su	-	-	9,72±0,47 <sup>i</sup>	16,23±0,84 <sup>j</sup>
<b>Galantamin*</b>		90,05±1,56 <sup>a</sup>	92,56±0,32 <sup>a</sup>	97,36±1,13 <sup>a</sup>	98,56±1,11 <sup>a</sup>

-: aktivite yok

\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstratlar ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p <0.05).



Şekil 4.7. *P. juniperi* ve *P. lefebvrei*'nin BChE enzim inhibisyon aktivitesi

#### 4.3.2. Üreaz inhibisyon aktivitesi sonuçları

*Picoa juniperi* ve *P. lefebvrei* sırayla *n*-hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su ile ekstraksiyonlarından elde edilen ekstratları ile standartların üreaz enzim inhibisyon aktivitesi *in vitro* koşullarda 4 farklı konsantrasyonda olarak araştırıldı. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.9 ve Şekil 4.8'de verilmektedir. Konsantrasyon artışına paralel olarak enzim inhibisyon aktivitelerinin de arttığı belirlendi. Buna göre; 200µg/mL konsantrasyonda her iki türün metanol ekstresi (sırasıyla 53,79±0,40; 55,42±0,86) diğer ekstratlerden daha yüksek üreaz enzimini inhibe etmektedir. Ancak, standart olarak kullanılan tiyüreyle ile karşılaştırıldığında, *Picoa* türlerinin üreaz enzim inhibisyon aktiviteleri standarda göre orta düzeyde bir etki göstermektedir. Ayrıca, trüf

türleri üzerine üreaz enzim inhibisyon aktivitesi *Terfezia claveryi* üzerine Taşkın vd, (2018) tarafından yapılmış olup, bulgularımız ilgili literatürle uyum içindedir.

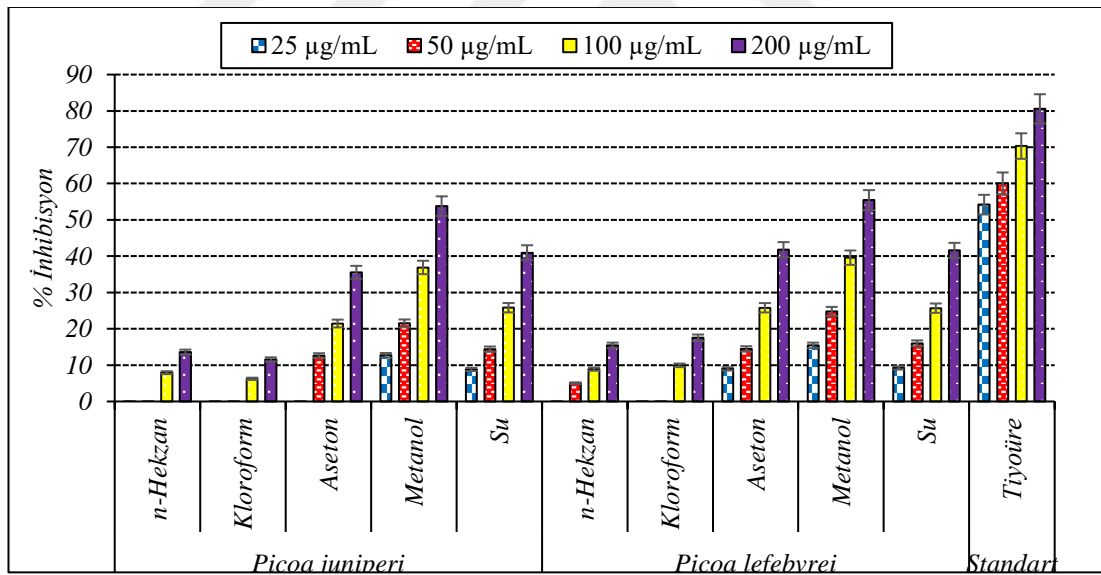
Çizelge 4.9. *P. juniperi* ve *P.lefebvrei*'nin üreaz enzim inhibisyon aktivitesi

(%) Üreaz enzim inhibisyon aktivitesi					
	Ekstreler	25µg/mL	50µg/mL	100µg/mL	200µg/mL
<i>Picoa juniperi</i>	<i>n</i> -hekzan	-	-	7,93±1,24 <sup>g</sup>	13,6±1,12 <sup>f</sup>
	Kloroform	-	-	6,24±0,54 <sup>h</sup>	11,57±1,21 <sup>g</sup>
	Aseton	-	12,65±0,62 <sup>f</sup>	21,46±0,78 <sup>e</sup>	35,56±0,52 <sup>d</sup>
	Metanol	12,7±0,51 <sup>c</sup>	21,51±0,54 <sup>c</sup>	36,90±1,12 <sup>c</sup>	53,79±0,40 <sup>b</sup>
	Su	8,82±0,04 <sup>d</sup>	14,42±0,05 <sup>e</sup>	25,81±0,08 <sup>d</sup>	40,96±0,07 <sup>c</sup>
	<i>Picoa lefebvrei</i>	<i>n</i> -hekzan	-	15,30±0,58 <sup>de</sup>	8,90±0,75 <sup>fg</sup>
	Kloroform	-	-	9,94±1,05 <sup>f</sup>	17,55±1,18 <sup>e</sup>
	Aseton	8,98±0,68 <sup>d</sup>	14,48±0,42 <sup>e</sup>	25,80±0,58 <sup>d</sup>	41,79±0,77 <sup>c</sup>
	Metanol	15,43±0,47 <sup>b</sup>	24,80±0,84 <sup>b</sup>	39,59±1,19 <sup>b</sup>	55,42±0,86 <sup>b</sup>
	Su	9,25±0,85 <sup>d</sup>	16,01±0,86 <sup>d</sup>	25,69±0,47 <sup>d</sup>	41,59±0,74 <sup>c</sup>
	<b>Tiyoüre*</b>	54,19±0,19 <sup>a</sup>	60,05±1,21 <sup>a</sup>	70,32±0,75 <sup>a</sup>	80,56±1,05 <sup>a</sup>

-: aktivite yok

\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstraller ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p <0.05).



Şekil 4.8. *P. juniperi* ve *P. lefebvrei*'nin üreaz enzim inhibisyon aktivitesi

#### 4.4. Trüf Mantarı Ekstrelerinin Sitotoksik Aktivite Sonuçları

Her iki trüf mantarından elde edilen metanol ve sıcak su ekstralarının *in vitro* koşullarda sitotoksikite çalışmaları Kırıkkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,

Biyomühendislik Bölümünde Prof. Dr. Mustafa Türk liderliğinde gerçekleştirildi. Sitotoksikite çalışması WST-1 ticari kiti kullanılarak yapıldı. Elde edilen % canlılık değerleri her bir hücre için ayrı ayrı Çizelge 4.10, Çizelge 4.11, Çizelge 4.12. Çizelge 4.13'te verilmektedir. Üzerine çalıştığımız ekstrelerin sitotoksik aktiviteleri Meme Kanseri hücre hattı (MCF-7), Akciğer Kanseri hücre hattı (H1299), Prostat Kanseri hücre hattı (PC-3), fare Fibroblast (L929) hücre hattına karşı test edildi. Elde edilen sonuçlara göre, mantar ekstrelerinin Fibroblast hücrelerine karşı sitotoksik etkisinin kanser hücre hatlarına göre daha düşük değerde olduğu, kanser hücre hatlarından Akciğer Kanseri hücre hattına karşı (H1299) sitotoksik etkinin Meme Kanseri hücre hattına (MCF-7) göre daha yüksek olduğu tespit edildi. Tüm hücre hatlarında toksisitenin konsantrasyona bağlı olarak değiştiği ve konsantrasyon arttıkça toksisitenin arttığı tespit edildi.

#### 4.4.1. Ekstrelerin Meme Kanseri hücre hattına (MCF-7) karşı toksisiteleri

Ekstrelerin Meme Kanseri hücre hattı (MCF-7) üzerine trüf ekstrelerinin toksisitesi incelendiğinde, 100 µg/mL konsantrasyonda *Picoa lefebvrei* metanol ekstresi *Picoa juniperi*'ye göre diğer ekstrelerinden daha yüksek toksisite göstermektedir (Çizelge 4.10).

**Çizelge 4.10. *P. lefebvrei* ve *P. juniperi* ekstrelerinin Meme Kanseri hücre hattı (MCF-7) üzerine toksisitesi**

Ekstreler/Fraksiyonlar		% Hücre Canlılığı						
		0 µg/mL	6,25 µg/mL	12,5 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL
<i>Picoa juniperi</i>	Metanol	100	101,1	98,4	94,6	86,9	71,4	54,2
	Su	100	99,8	98,3	95,7	92,4	91,3	82,1
<i>Picoa lefebvrei</i>	Metanol	100	102,4	99,2	94,5	78,6	57,9	41,5
	Su	100	99,1	95,5	94,7	91,3	88,5	82,1

#### 4.4.2. Ekstrelerin Akciğer Kanseri hücre hattına (H1299) karşı toksisiteleri

Akciğer Kanseri hücre hattı (H1299) üzerine trüf ekstrelerinin toksisitesi incelendiğinde 100 µg/mL konsantrasyonda en yüksek etkiyi *P. lefebvrei* su ekstresi göstermektedir. Bütün ekstrelerin konsantrasyon artışına paralel olarak H1299 kanser hücre hattına karşı toksisite de artmaktadır. Sonuçlar Çizelge 4.11'de verilmektedir.

Çizelge 4.11. *P. lefebvrei* ve *P. juniperi* ekstralarının Akciğer Kanseri hücre hattı (H1299) üzerine toksisitesi

		% Hücre Canlılığı						
Ekstreler/Fraksiyonlar		0	6,25	12,5	25	50	100	200
		µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL
<i>Picoa juniperi</i>	Metanol	100	106,1	101,2	97,7	97,6	93,5	89,6
	Su	100	99,1	95,6	92,3	86,2	85,5	79,1
<i>Picoa lefebvrei</i>	Metanol	100	147,7	144,6	126	117	116	113,2
	Su	100	51,6	46,4	38,9	34,7	27,8	25,6

#### 4.4.3. Ekstrelerin Prostat Kanseri hücre hattına (PC-3) karşı toksisiteleri

Prostat Kanser hücrelerine (PC-3) üzerine trüf ekstralarının toksisitesi incelendiğinde 100 µg/mL konsantrasyonda, *Picoa lefebvrei*'nin ve *Picoa juniperi*'nin metanol ekstresi, su ekstralarından daha yüksek toksisite göstermektedir. Diğer toksisite testlerinde olduğu gibi artan konsantrasyona bağlı olarak toksisitenin de arttığı görülmektedir. Sonuçlar Çizelge 4.12'te verilmektedir.

Çizelge 4.12. *P. lefebvrei* ve *P. juniperi* ekstralarının Prostat Kanseri hücre hattı (PC-3) üzerine toksisitesi

		% Hücre Canlılığı						
Ekstreler/Fraksiyonlar		0	6,25	12,5	25	50	100	200
		µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL
<i>P. juniperi</i>	Metanol	100	90,0	88,6	86,1	79,5	65,7	49,9
	Su	100	86,8	86,0	83,8	81,3	80,8	72,2
<i>P. lefebvrei</i>	Metanol	100	91,1	89,3	86,0	71,9	53,3	38,2
	Su	100	86,2	83,6	82,9	80,3	78,3	72,2

#### 4.4.4. Ekstrelerin Fare Fibroblast hücrelerine (L929) karşı toksisiteleri

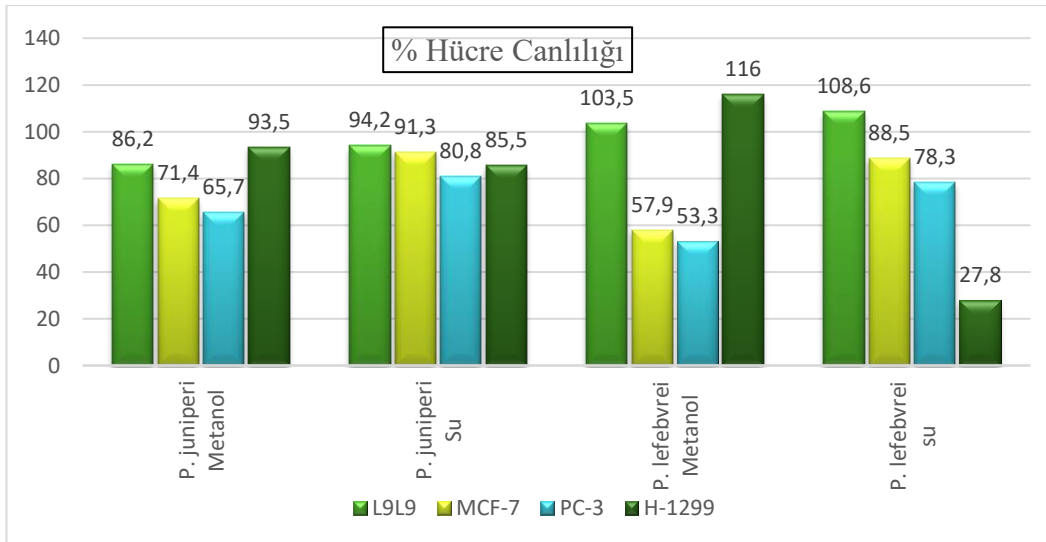
Genel olarak bakıldığında trüf türlerinin sağlıklı hücrelere karşı toksisitesinin olmadığı ve çok yüksek konsantrasyonlarda bir toksisite gösterdiği belirlendi (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. *P. lefebvrei* ve *P. juniperi* ekstralarının Fare Fibroblast hücreleri (L929) üzerine toksisitesi

		% Hücre Canlılığı						
Ekstreler/Fraksiyonlar		0	6,25	12,5	25	50	100	200
		µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL
<i>Picoa juniperi</i>	Metanol	100	112,7	106,4	99,5	97,3	86,2	78,1
	Su	100	114,3	110,6	108,1	102,1	94,2	81,5
<i>Picoa lefebvrei</i>	Metanol	100	131,2	124,5	118,2	115,7	103,5	97,9
	Su	100	128,6	127,2	120,7	114,9	108,6	103,1



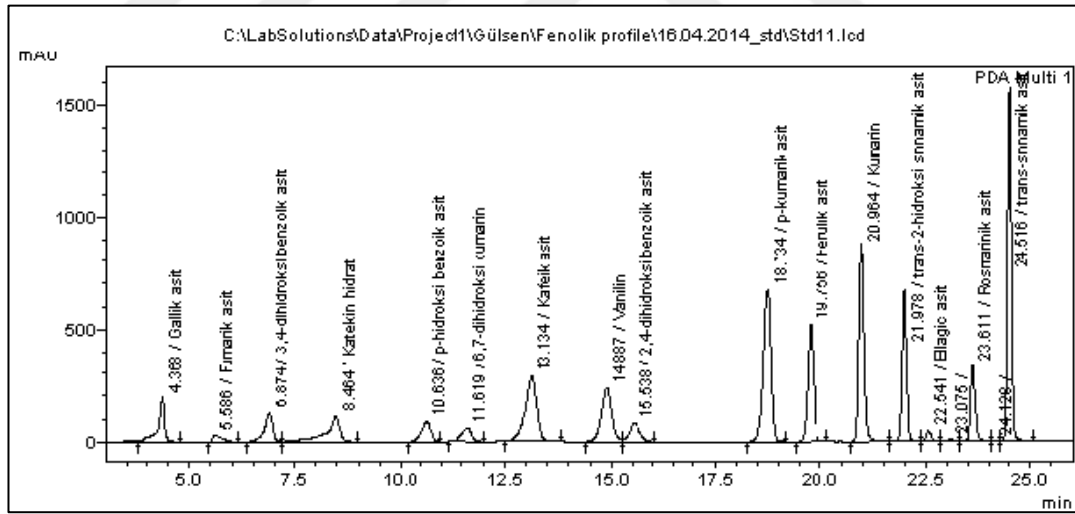
Üzerine çalıştığımız her iki trüf türünün çeşitli hücre hatları üzerine (MCF-7, PC-3 ve H1299) toksisiteyi *in vitro* testlerle belirlendi. *Picoa lefebvrei*'den elde edilen polar ekstraktlarının sırasıyla, Akciğer Kanseri (H1299), Prostat Kanseri (PC-3) ve Meme Kanseri (MCF-7) hücre hatlarına karşı, kayda değer düzeyde toksisite gösterirken, Fare Fibroblast L929 hücre hattına karşı sitotoksik olmadığı belirlendi. *Picoa juniperi* metanol ekstresinin Prostat Kanseri hücre hattına karşı, diğer hücre hatlarına nazaran %65,7 canlılık oranıyla en yüksek toksisiteye sahip olduğu belirlendi. Şekil.4.9 'da 100 µg/mL konsantrasyonda su ve metanol ekstraktlarının 4 hücreye olan etkileri incelendiğinde; *P.lefebvrei* metanol ekstresinin fare fibroblast hücrelerine toksisite göstermediği halde PC-3 ve MCF-7 kanser hücre hatlarına karşı kayda değer seviyede aktivite gösterdiği bu tez çalışmasıyla ortaya çıkarıldı. Özellikle *P.lefebvrei* su ekstresinin Akciğer Kanseri hücre hattına karşı %27,8 canlılık oranına düşürmesinden dolayı gösterdiği aktivite heyecan verici olarak bulundu. Farklı trüf türleri üzerine çeşitli kanser hücre hatlarına karşı çalışmalar yapılmış olup elde ettiğimiz sonuçlar literatürlerle uyum içindedir (Zhao vd., 2014; Beara vd., 2014; Dahham vd., 2018). Şekil 4.9'da *P. juniperi* ve *P. lefebvrei*'nin aynı ekstraktlarda 100 µg/mL'de fare Fibroblast hücresi (L929), Meme Kanseri (MCF-7), Akciğer Kanseri (H1299) ve Prostat Kanseri (PC- 3) hücre hatlarına karşı elde edilen % canlılık değerleri karşılaştırılmıştır.



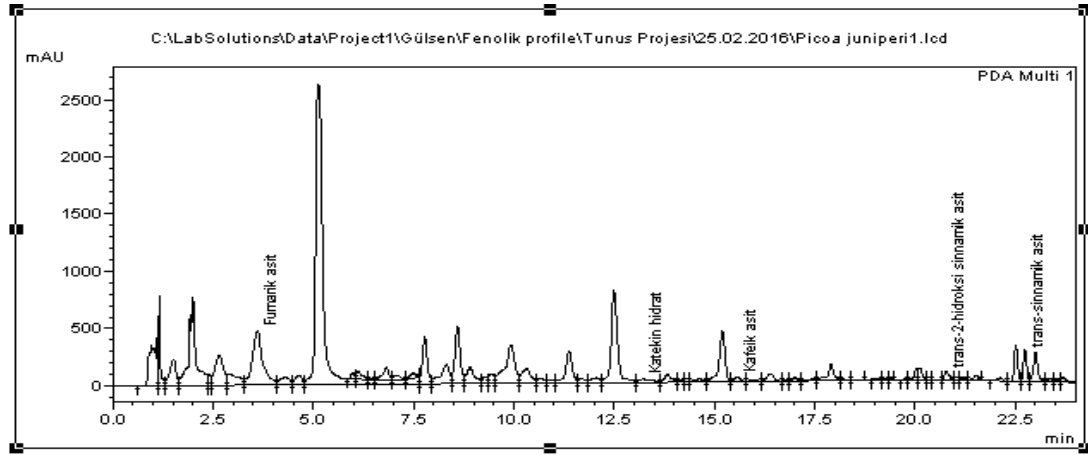
**Şekil 4.9. *P. juniperi* ve *P. lefebvrei*'nin 100 µg/mL fare Fibroblast hücresi (L929) Meme Kanseri (MCF-7), Akciğer Kanseri (H1299) ve Prostat Kanseri (PC- 3) hücre hatlarına karşı elde edilen % canlılık değerleri**

#### 4.5. Trüf Mantarlarının Fenolik ve Organik Asit İçeriklerinin Analiz Sonuçları

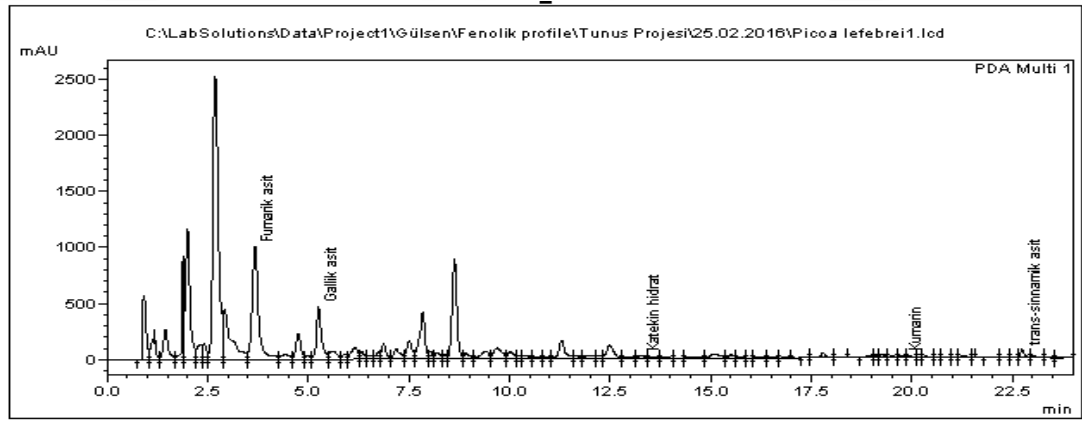
Trüf mantarlarının fenolik ve organik asit bileşik profili HPLC-DAD sistemi kullanılarak belirlendi. Fenolik ve organik asit standartları olarak; gallik asit, fumarik asit, kafeik asit, 3,4-dihidroksi benzoik asit (protokateşik asit), *p*-Hidroksibenzoik asit, 6,7-dihidroksi kumarin, kafeik asit, vanilin, 2,4-dihidroksi benzoik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, kumarin, *trans*-2-hidroksi sinamik asit, elajik asit, rosmarinik asit, *trans*-sinnamik asit kullanıldı. Kesim 3.8’de belirtilen yönteme göre elde edilen ekstrenin HPLC-DAD sisteminde 280 nm de uygun koşullarda kromatogramları alındı. Her bir trüfün içerdiği fenolik ve organik asit profilleri standartlar ile doğrulandı. Elde edilen spektrumlar Şekil 4.10, 4.11 ve 4.12’de verilmektedir. Bu kromatogramlara göre sonuçlar alıkonma zamanları, standartlarla pik çakıştırma yöntemi ve internal standartlar kullanılarak elde edilen bilgilere göre trüflerde araştırdığımız bir seri fenolik ve organik asit bileşiklerinden tespit ettiklerimiz Çizelge 4.13’te listelenmiş ve 1 g mantar içinde bulunan fenolik veya organik asit bileşik miktarları ( $\mu\text{g}$ ) Çizelge 4.14’te verilmektedir.



Şekil 4.10. Fenolik bileşiklerin ve organik asit bileşiklerinin 280 nm’de HPLC-DAD kromatogramı



Şekil 4.11. *P. juniperi*'de bulunan fenolik ve organik asit bileşiklerinin 280 nm'de HPLC-DAD kromatogramı



Şekil 4.12. *P. lefebvrei*'de bulunan fenolik ve organik asit bileşiklerinin 280 nm'de HPLC-DAD kromatogramı

Çizelge 4.14. Trüf mantarlarının fenolik profilleri ve organik asit İçerikleri (µg/g)

Fenolik Bileşikler	Alınma zamanı RT (dak)	<i>P. lefebvrei</i> (µg/g)	<i>P. juniperi</i> (µg/g)
Gallik asit	4,37	2,62	-
Fumarik asit	5,59	165,2	12,6
Protokateşik asit	6,87	-	-
Katekin hidrat	8,46	0,78	2,39
<i>p</i> -Hidroksi benzoik asit	10,64	-	-
7-Dihidroksi kumarin	11,62	-	-
Kafeik asit	13,13	-	0,28
Vanilin	14,89	-	-
2,4-Dihidroksibenzoik asit	15,54	-	-
<i>p</i> -Kumarik asit	18,74	-	-

Çizelge 4.14.(devam)

Ferulik asit	19,76	-	-
Kumarin	20,96	0,02	-
<i>trans</i> -2-Hidroksi sinnamik asit	21,98	-	0,27
Ellajik asit	22,54	-	-
Rosmarinik asit	23,61	-	-
<i>trans</i> -Sinnamik asit	24,52	0,15	0,54

-: Tespit edilemedi

*P. juniperi* ve *P. lefebvrei* fenolik bileşikleri Çizelge 4.14'te karşılaştırılarak verilmiştir. Buna göre fumarik asitin her iki trüf türünde de ana bileşen olduğu, *P. juniperi*'de fumarik asit miktarları 165,2 µg/g iken *P. lefebvrei*'de 12,6 µg/g olduğu tespit edildi. Bunun yanı sıra, kateşin hidrat ve *trans*-Sinnamik asit'in her iki türde de ortak olan diğer bileşenlerdir.

#### 4.6. Trüf Mantarlarının Polisakkarit Bakımından Zenginleştirilmiş Ekstreleri Üzerine Yapılan Analiz Sonuçları

Her iki trüf türünün polisakkaritleri izole edilerek, diğer bileşik sınıflarından ayrıldı. Çöktürülen polisakkaritlerin molekül ağırlıkları, HPLC DAD sisteminde jel kolon kullanılarak hesaplandı. Ayrıca, FTIR sisteminde karakteristik fonksiyonel gruplar üzerine, yapıları karakterize edildi. Her iki trüfün polisakkaritlerinin antioksidan aktiviteleri 5 ayrı metot ile test edildi. Yapılan çalışma aşağıda ayrı başlıklar altında verilmektedir.

##### 4.6.1. Trüf mantarlarının polisakkaritçe zengin olan ekstrelerin antioksidan aktivite sonuçları

###### 4.6.1.1. $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemi sonuçları (lipit peroksidasyonu inhibisyonu aktivite)

Polisakkaritlerin toplam antioksidan aktivitesi (lipit peroksidasyonu inhibisyon aktivitesi)  $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemi kullanılarak belirlendi. Polisakkaritçe zengin olan trüf ekstrelerin aktiviteleri, standart olarak kullanılan sentetik antioksidan BHA ve  $\alpha$ -Tokoferol ile karşılaştırıldı. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.15'te

verilmektedir. Sonuçlara göre, üzerine çalıştığımız tüm ekstrelerin artan konsantrasyonlarına paralel olarak, inhibisyonlarının da arttığı belirlendi.

**Çizelge 4.15. *P. juniperi* ve *P. lefebvrei* ekstrelerinin  $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemiyle lipit peroksidasyonu inhibisyonu aktivitesi**

Polisakkarit Ekstreleri	% Lipit Peroksidasyonu İnhibisyonu Aktivitesi				
	100 $\mu$ g/mL	200 $\mu$ g/mL	400 $\mu$ g/mL	800 $\mu$ g/mL	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/mL)
<i>Picoa juniperi</i>	45,67 $\pm$ 0,09 <sup>c</sup>	68,74 $\pm$ 0,42 <sup>b</sup>	81,01 $\pm$ 1,03 <sup>b</sup>	91,86 $\pm$ 1,44 <sup>b</sup>	81,16 $\pm$ 0,85 <sup>b</sup>
<i>Picoa lefebvrei</i>	4,25 $\pm$ 0,81 <sup>d</sup>	8,56 $\pm$ 0,04 <sup>c</sup>	12,54 $\pm$ 0,74 <sup>c</sup>	27,70 $\pm$ 1,75 <sup>c</sup>	>800 <sup>a</sup>
<b>BHA</b> *	90,39 $\pm$ 0,37 <sup>a</sup>	91,91 $\pm$ 0,38 <sup>a</sup>	93,79 $\pm$ 1,16 <sup>a</sup>	96,01 $\pm$ 1,18 <sup>a</sup>	1,40 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>
<b><math>\alpha</math>-Tokoferol</b> *	89,32 $\pm$ 0,54 <sup>b</sup>	92,70 $\pm$ 0,69 <sup>a</sup>	94,88 $\pm$ 0,55 <sup>a</sup>	96,04 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	2,20 $\pm$ 0,05 <sup>c</sup>

\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstreler ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p <0.05).

#### 4.6.1.2. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi sonuçları

Trüf türlerinin polisakkaritçe zenginleştirilen ekstrelerin serbest radikal giderim aktivitesi DPPH• radikal giderim yöntemi kullanılarak belirlendi. Sonuçlar, Çizelge 4.16 'da BHA ve  $\alpha$ -Tokoferol ile karşılaştırılarak verilmektedir. Çizelge 4.16 'daki verilere göre, konsantrasyon artışına paralel olarak ekstrelerin DPPH serbest radikal giderim aktivitelerinin de arttığı görülmektedir. İki trüf türlerinin DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri karşılaştırıldığında sırasıyla, 800  $\mu$ g/mL konsantrasyonda, *P. juniperi* (%42,65), *P. lefebvrei* 'den daha yüksek serbest radikal giderim aktivitesine sahip olduğu belirlendi (Çizelge 4.16). Genel olarak değerlendirildiğinde, polisakkaritçe zenginleştirilen trüf ekstrelerinin DPPH serbest radikal giderim kapasitelerinin standart antioksidanlara kıyasla çok daha düşük olduğu görülmektedir.

**Çizelge 4.16. *P. juniperi* ve *P. lefebvrei* ekstrelerinin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi**

Polisakkarit Ekstreleri	% DPPH Serbest Radikali Giderim Aktiviteleri			
	100 $\mu$ g/mL	200 $\mu$ g/mL	400 $\mu$ g/mL	800 $\mu$ g/mL
<i>Picoa juniperi</i>	14,36 $\pm$ 0,28 <sup>c</sup>	23,54 $\pm$ 0,65 <sup>d</sup>	31,65 $\pm$ 1,74 <sup>b</sup>	42,65 $\pm$ 1,38 <sup>b</sup>
<i>Picoa lefebvrei</i>	8,83 $\pm$ 0,16 <sup>d</sup>	14,30 $\pm$ 1,08 <sup>c</sup>	25,20 $\pm$ 1,21 <sup>c</sup>	27,64 $\pm$ 1,84 <sup>c</sup>
<b>BHA</b> *	86,58 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	88,36 $\pm$ 0,29 <sup>b</sup>	96,05 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	97,79 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>
<b><math>\alpha</math>-Tokoferol</b> *	87,70 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	90,07 $\pm$ 0,52 <sup>a</sup>	94,74 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	96,12 $\pm$ 0,42 <sup>a</sup>

\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstreler ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p <0.05).

#### 4.6.1.3. ABTS<sup>+</sup> radikali giderim aktivitesi yöntemi sonuçları

Trüf türlerinin polisakkaritçe zenginleştirilen ekstrelerin katyon radikal giderim aktivitesi, ABTS<sup>+</sup> giderim yöntemi kullanılarak belirlendi. Söz konusu ekstrelerin katyon radikali giderim aktiviteleri, standart antioksidan olan BHA ve  $\alpha$ -Tokoferol ile karşılaştırılmak suretiyle Çizelge 4.17’de verilmektedir. Çizelge 4.17. incelendiğinde ABTS katyon radikali giderim aktivitesi her bir ekstre için 4 farklı konsantrasyonda araştırılmış olup, ekstrelerin artan konsantrasyonlarına paralel olarak inhibisyon değerlerinin de arttığı görülmektedir. Buna göre, 800  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonda, *P. lefebvrei*’nin (%85,44), *P. juniperi*’ye kıyasla daha yüksek inhibisyon göstermektedir (Duru vd., 2017).

Çizelge 4.17. *P. juniperi* ve *P. lefebvrei* ekstrelerinin ABTS katyon radikali giderim aktivitesi

Polisakkarit Ekstreleri	% ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi				
	100 $\mu\text{g/mL}$	200 $\mu\text{g/mL}$	400 $\mu\text{g/mL}$	800 $\mu\text{g/mL}$	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
<i>Picoa juniperi</i>	18,56 $\pm$ 0,40 <sup>d</sup>	30,51 $\pm$ 1,67 <sup>c</sup>	49,06 $\pm$ 0,18 <sup>d</sup>	69,92 $\pm$ 1,28 <sup>c</sup>	417,67 $\pm$ 0,88 <sup>a</sup>
<i>Picoa lefebvrei</i>	26,08 $\pm$ 0,60 <sup>c</sup>	51,67 $\pm$ 0,16 <sup>b</sup>	78,27 $\pm$ 0,53 <sup>c</sup>	85,44 $\pm$ 0,38 <sup>b</sup>	187,44 $\pm$ 0,41 <sup>b</sup>
BHA*	82,63 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	86,7 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>	90,75 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	95,89 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>	12,80 $\pm$ 0,50 <sup>d</sup>
$\alpha$ -Tokoferol*	81,81 $\pm$ 0,16 <sup>b</sup>	85,83 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	88,79 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	94,96 $\pm$ 0,53 <sup>a</sup>	34,50 $\pm$ 0,47 <sup>c</sup>

\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstreler ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p < 0.05).

#### 4.6.1.4. Cu (II) indirgeme kapasitesi (CUPRAC) yöntemi sonuçları

Üzerine çalıştığımız Trüf türlerinin polisakkarit bakımından zenginleştirilen ekstrelerin indirgeme gücü aktivitesi, CUPRAC yöntemi kullanılarak belirlendi. Çizelge 4.19’da ekstrelerinin indirgeme gücü aktivitesi, standart olarak kullanılan sentetik antioksidan BHA ve  $\alpha$ -Tokoferol ile karşılaştırılmak suretiyle verilmektedir. Çizelge 4.18’de verilen sonuçlara göre trüf türlerinin 800  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonda indirgeme gücü aktivitesi sırayla, 0,80 $\pm$ 1,90 ve 0,64 $\pm$ 1,40 olduğu hesaplandı. Ancak bu değerlerin standartlara göre göre oldukça düşük olduğu tespit edildi.

Çizelge 4.18. *P. juniperi* ve *P. lefebvrei* ekstrelerinin Cu<sup>+2</sup> indirgeme gücü aktivitesi

Polisakkarit Ekstreleri	% CUPRAC indirgeme gücü aktivitesi				
	100 $\mu\text{g/mL}$	200 $\mu\text{g/mL}$	400 $\mu\text{g/mL}$	800 $\mu\text{g/mL}$	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
<i>Picoa juniperi</i>	0,17 $\pm$ 1,69 <sup>a</sup>	0,27 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	0,45 $\pm$ 1,70 <sup>a</sup>	0,80 $\pm$ 1,90 <sup>a</sup>	466,66 $\pm$ 1,34 <sup>b</sup>
<i>Picoa lefebvrei</i>	0,13 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	0,17 $\pm$ 1,21 <sup>a</sup>	0,32 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>	0,64 $\pm$ 1,40 <sup>a</sup>	612,5 $\pm$ 2,95 <sup>a</sup>

**Çizelge 4.18.** devam

<b>BHA*</b>	1,70±0,05 <sup>a</sup>	2,89±0,41 <sup>a</sup>	3,19±0,03 <sup>a</sup>	3,50±0,04 <sup>a</sup>	25,17±0,0 <sup>d</sup>
<b>α-Tokoferol*</b>	0,54±0,01 <sup>a</sup>	1,03±0,03 <sup>a</sup>	1,81±0,11 <sup>a</sup>	2,93±0,16 <sup>a</sup>	85,41±0,0 <sup>c</sup>

\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstreler ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p &lt;0.05).

#### 4.6.1.5. Metal bağlama aktivitesi yöntemi sonuçları

Trüf türlerinin polisakkaritçe zenginleştirilen ekstrelerinin metal bağlama aktivitesi Fe<sup>++</sup>(II) iyonunu bağlama kabiliyetini ölçen Ferrozin-Fe (II) yöntemi kullanılarak belirlendi. Çizelge 4.19’da verilmektedir. Ekstrelerin ve standart olarak kullanılan EDTA’nın Fe<sup>++</sup>(II) iyonunu bağlama aktivitesi karşılaştırılarak sonuçlar hesaplandı. Elde edilen sonuçlara göre, *P. lefebvrei* (%92,27), *P. juniperi* (%90,11) polisakkarit bakımından zenginleştirilen ekstrelerinin diğer trüf türlerine nazaran daha yüksek metal bağlama aktivitesine sahip olduğu belirlendi. 800 µg/mL konsantrasyonda *P. lefebvrei* ve *P. juniperi* ekstrelerinin standart olarak kullanılan EDTA’nın 100µg/mL konsantrasyondaki aktivitesiyle yarıştığı görülmektedir (Çizelge 4.19)

**Çizelge 4.19. *P. juniperi* ve *P. lefebvrei* ekstrelerinin Fe<sup>2+</sup> Ferrozin yöntemiyle metal bağlama aktivitesi**

Polisakkarit Ekstreleri	% Metal Bağlama Aktivitesi			
	100µg/mL	200µg/mL	400µg/mL	800µg/mL
<i>Picoa juniperi</i>	72,31±1,23 <sup>b</sup>	79,77±0,10 <sup>c</sup>	85,65±0,15 <sup>c</sup>	90,11±0,77 <sup>c</sup>
<i>Picoa lefebvrei</i>	71,10±1,84 <sup>b</sup>	86,65±0,27 <sup>b</sup>	89,46±0,65 <sup>b</sup>	92,27±0,23 <sup>b</sup>
<b>EDTA*</b>	92,46±1,40 <sup>a</sup>	94,65±0,56 <sup>a</sup>	95,20±0,13 <sup>a</sup>	96,30±0,11 <sup>a</sup>

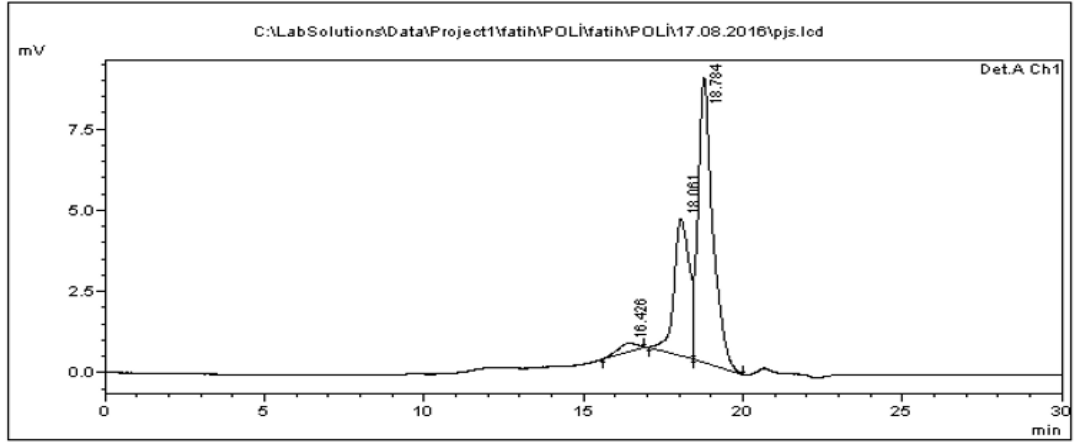
\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstreler ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p &lt;0.05).

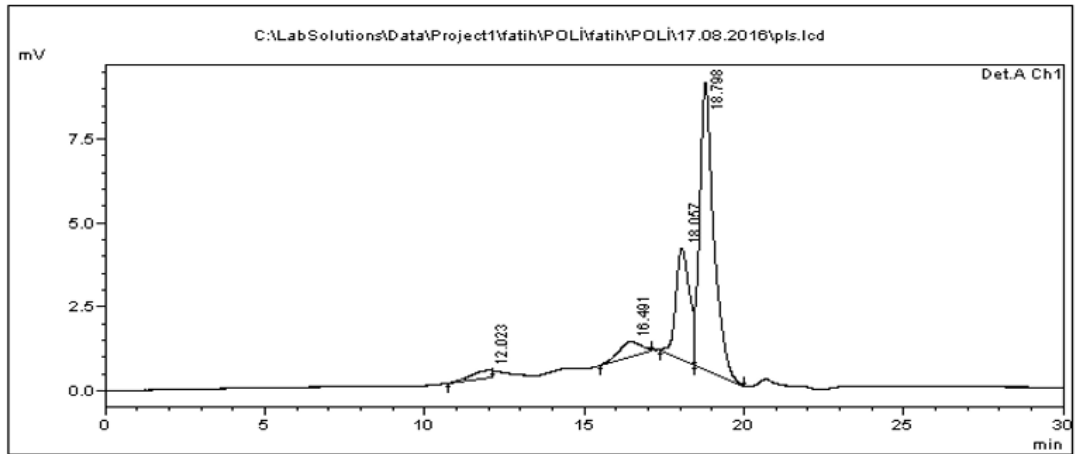
#### 4.6.1. Trüf mantarlarının polisakkaritlerin ortalama molekül ağırlığı sonuçları

Trüflerden elde ettiğimiz ve polisakkarit bakımından zengin olan ekstrelerde çalışmaya başlamadan önce, bir dizi dekstran (1000, 5000, 12000, 25000, 50000, 80000, 150000, 270000, 410000, 670000 Da) standardı 3.11.2’de yazılan sistem ve koşullarda araştırmak suretiyle, örneklerin elüsyon hacimleri tespit edildi. Elüsyon hacmine karşı molekül ağırlığı grafiği çizildi. Bu çalışma tamamlandıktan sonra, trüf lardan elde ettiğimiz numuneler, aynı kromatografik koşullarda analiz edildi ve standartlar kullanılarak elde edilen elüsyon hacmine karşı molekül ağırlığı grafiğinden yararlanarak numunelerin molekül ağırlıkları tespit edildi. Elde edilen sonuçlar

Çizelge 4.20’de; HPLC-DAD sisteminde elde ettiğimiz her bir trüf türünün polisakkarit ekstresinin kromatogramı Şekil 4.12 ve 4.13’te verilmektedir.



Şekil 4.13. *P. juniperi* ekstresinin HPLC-DAD Kromatogramı



Şekil 4.14. *P. lefebvrei* ekstresinin HPLC-DAD kromatogramı

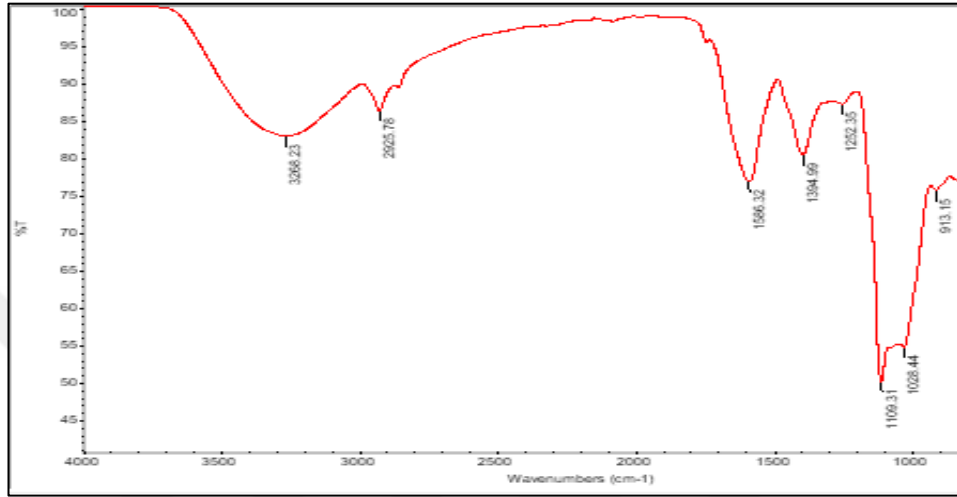
Çizelge 4.1. *P. juniperi* ve *P. lefebvrei*’nin polisakkaritlerinin ortalama molekül ağırlıkları

Trüf Türünün Adı	Kodları	Ortalama Molekül Ağırlığı (Da)
<i>Picoa juniperi</i>	PJS1	11482
	PJS2	2089
<i>Picoa lefebvrei</i>	PLS1	1148154
	PLS2	10715
	PLS3	2089

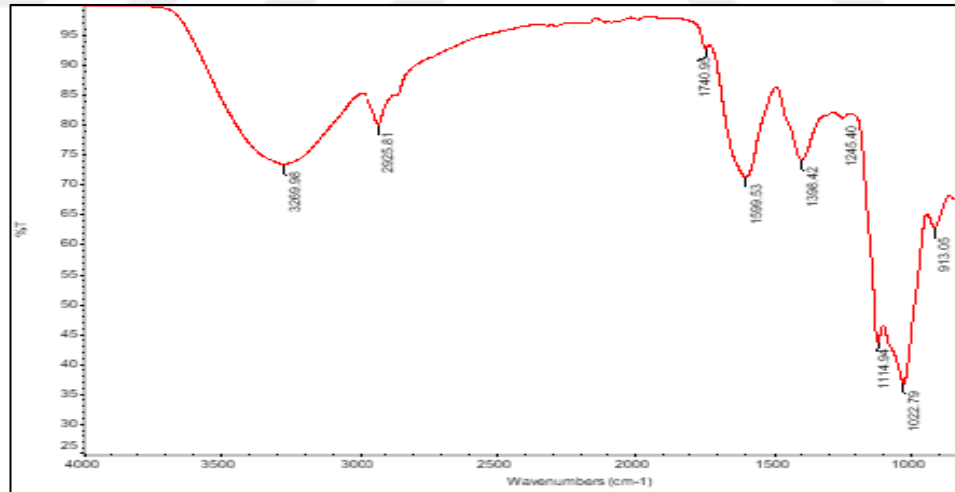


#### 4.6.2. Trüf mantalarının polisakkaritçe zengin olan ekstralarının FT-IR analiz sonuçları

Trüf türlerinin 3.11.1’de belirtilen yöntemle elde edilen polisakkarit bakımından zenginleştirilmiş ekstralar Thermo Scientific one Nicolet IS 10 FT-IR cihazında 800-4000  $\text{cm}^{-1}$  aralığında spektrumlar alındı. Elde edilen spektrumlar Şekil 4.14, Şekil 4.15 ve 4.16 ‘da verilmektedir.



Şekil 4.15. *P. juniperi*'nin ekstresinin FT-IR spektrumu



Şekil 4.16. *P. lefebvrei*'nin ekstresinin FT-IR spektrumu

Şekil 4.15 ve 4.16’te verilen FT-IR spektrumlarında; 3200-3500  $\text{cm}^{-1}$ ’deki hidrojen bağlı hidroksil gruplarını destekleyen absorpsiyon bantları, 2900 – 2935  $\text{cm}^{-1}$ ’deki absorpsiyon bantları polisakkaritin varlığını ortaya çıkaran -CH genişlemesinden dolayı görülmüştür. 1560 – 1645  $\text{cm}^{-1}$ ’deki absorpsiyon bantları polisakkaritteki – OH

fonksiyonel gruplarını, 1370 – 1450 cm<sup>-1</sup>'deki absorpsiyon bantları -CH (O-CH<sub>2</sub>) gerilme titreşimlerini, 1200 – 1260 cm<sup>-1</sup>'deki zayıf titreşim bandı C-O gerilme titreşimlerini, 900 – 925 cm<sup>-1</sup>'deki absorpsiyon bantları ana zincirdeki  $\alpha$  bağlı glikozil gruplarının varlığını ve 990 – 1050 cm<sup>-1</sup>'deki yoğun absorpsiyon bantları ise glikozidik zincirindeki  $\beta$  bağların varlığını göstermektedir. Üzerine çalıştığımız ekstrenin polisakkarit yapısında olduğunu ve  $\alpha$  ve  $\beta$  bağlanmalarında ana zincirde var olduğunu FT-IR ile yapılan çalışmalarımızda ortaya çıkarılmıştır. Trüf türlerinin polisakkarit ekstrelerinde yukarıda açıkça belirttiğimiz titreşim bantları ortak olarak bulunmaktadır. Trüf polisakkaritlerinde elde ettiğimiz bu veriler bugüne kadar mantarların polisakkaritlerinin karakterizasyonu üzerine yapılan çalışmalarla tamamen uyum içerisinde (Kozarski vd. 2011).

#### **4.7. *Picoa* Türleri Üzerine Yapılan İzolasyon Çalışmaları Sonuçları**

Tez çalışmasına konu olan, ülkemizde doğal olarak yetişen ve ticari potansiyeli olan *Picoa* türlerinin çeşitli aktivite testleri, tez kapsamında yapıldı. Her iki trüf türünde hem radikal giderim aktivitesi hem de çeşitli kanser hücre hatlarına karşı etkinlik gösteren, başta polar (metanol ve su ekstreleri) olan ekstre ve fraksiyonlar öncelikli olarak çalışıldı. Ekstre ve fraksiyonların üzerinde DPPH ve ABTS radikali giderim aktivite kontrollü olarak biyoaktif maddeleri izole etmek üzere çeşitli kromatografik tekniklerle çalışmalar yapıldı. Bu çalışmalar kapsamında ince tabaka kromatografisi (İTK), kolon kromatografisi (KK), recycle HPLC, sistemlerinde farklı adsorbanlar kullanılarak izolasyonlar gerçekleştirildi.

##### **4.7.1. *Picoa juniperi*'nin bioaktivite kontrollü izolasyon çalışmaları sonuçları**

*P. juniperi*'nin metanol ekstresinde kromatografik olarak fraksiyonlandırma yoluna gidildi. Bu nedenle ince tabaka kromatografisinde denemeler yapılarak uygun çözücü sistemi ve adsorban seçimi yapıldı. Kolon kromatografisinde adsorban olarak silika jel kullanıldı. Metanol ekstresi (38,64 g) az miktarda uygun çözücüde çözülerek adsorban ile karıştırıldı. Uygun bir kolonda silika jel adsorban kullanıldı ve karışım kuru tatbik edilerek kolona yüklendi. Elüsyona %100 *n*-hekzandan başlayarak sırasıyla, *n*-hekzan-kloroform (100:0/0:100); kloroform-aseton (100:0/0:100) ve aseton-metanol

(100:0/0:100) sistemleri kullanılarak elüsyon tamamlandı. Bu işlem sonucunda toplamda 72 fraksiyon toplandı. Toplanan fraksiyonlar ince tabaka kromatografisi ile yapılan testler sonucunda benzer olanlar birleştirildi ve toplamda 15 fraksiyon elde edildi (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.20. *P. juniperi* metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonların miktarları

Fraksiyonun Kodu		Miktarı	Fraksiyonun Kodu		Miktarı
1	<b>PJM 1-8</b>	425 mg	9	<b>PJM 48-50</b>	2650 mg
2	<b>PJM 9-11</b>	1020 mg	10	<b>PJM 51-57</b>	3340 mg
3	<b>PJM 12-14</b>	447 mg	11	<b>PJM 58-60</b>	2500 mg
4	<b>PJM 15-21</b>	600 mg	12	<b>PJM 61-63</b>	2710 mg
5	<b>PJM 22-26</b>	825 mg	13	<b>PJM 64-67</b>	2600 mg
6	<b>PJM 27-34</b>	910 mg	14	<b>PJM 68-69</b>	3110 mg
7	<b>PJM 35-43</b>	1200 mg	15	<b>PJM 70-72</b>	3530 mg
8	<b>PJM 44-47</b>	1000 mg			

Çizelge 4.21. *P. juniperi*'den metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonların ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri

Fraksiyonlar	% ABTS Katyon Radikal Giderim Aktivitesi			
	100µg/mL	200µg/ mL	400µg/ mL	800µg/ mL
<b>PJM 1-8</b>	15,11±1,18 <sup>g</sup>	22,40±0,67 <sup>j</sup>	29,78±1,78 <sup>i</sup>	33,39±1,31 <sup>i</sup>
<b>PJM 9-11</b>	3,70±0,94 <sup>i</sup>	7,96±0,54 <sup>i</sup>	10,87±0,27 <sup>i</sup>	17,26±0,16 <sup>k</sup>
<b>PJM 12-14</b>	15,66±0,80 <sup>g</sup>	21,59±0,73 <sup>j</sup>	27,95±0,13 <sup>j</sup>	35,55±0,82 <sup>h</sup>
<b>PJM 15-21</b>	12,98±0,74 <sup>h</sup>	17,48±0,94 <sup>k</sup>	19,69±0,40 <sup>k</sup>	27,29±0,47 <sup>j</sup>
<b>PJM 22-26</b>	3,10±0,65 <sup>i</sup>	7,14±1,91 <sup>i</sup>	10,61±1,33 <sup>i</sup>	12,79±0,09 <sup>i</sup>
<b>PJM 27-34</b>	<b>55,17±0,67<sup>c</sup></b>	<b>72,83±0,33<sup>e</sup></b>	<b>84,98±0,94<sup>d</sup></b>	<b>87,93±0,04<sup>cd</sup></b>
<b>PJM 35-43</b>	<b>20,18±1,42<sup>f</sup></b>	<b>30,76±0,84<sup>h</sup></b>	<b>40,17±0,38<sup>h</sup></b>	<b>72,52±1,78<sup>f</sup></b>
<b>PJM 44-47</b>	<b>18,98±1,06<sup>g</sup></b>	<b>32,70±1,32<sup>g</sup></b>	<b>54,50±0,91<sup>f</sup></b>	<b>72,98±0,90<sup>f</sup></b>
<b>PJM 48-50</b>	20,01±1,44 <sup>f</sup>	29,56±0,52 <sup>i</sup>	50,15±0,15 <sup>g</sup>	64,43±1,21 <sup>g</sup>
<b>PJM 51-57</b>	<b>23,68±0,34<sup>e</sup></b>	<b>46,77±0,16<sup>f</sup></b>	<b>68,46±1,28<sup>e</sup></b>	<b>88,54±0,28<sup>bed</sup></b>
<b>PJM 58-60</b>	<b>75,81±1,22<sup>b</sup></b>	<b>83,71±0,07<sup>b</sup></b>	<b>87,19±0,33<sup>c</sup></b>	<b>90,05±1,57<sup>b</sup></b>
<b>PJM 61-63</b>	<b>75,41±1,85<sup>b</sup></b>	<b>80,50±0,23<sup>c</sup></b>	<b>85,68±0,34<sup>d</sup></b>	<b>88,36±1,54<sup>cd</sup></b>
<b>PJM 64-67</b>	<b>81,40±0,65<sup>a</sup></b>	<b>83,43±0,23<sup>b</sup></b>	<b>85,34±0,25<sup>d</sup></b>	<b>87,26±0,96<sup>d</sup></b>
<b>PJM 68-69</b>	<b>75,59±1,47<sup>b</sup></b>	<b>77,67±2,02<sup>d</sup></b>	<b>85,74±0,18<sup>d</sup></b>	<b>88,79±0,20<sup>bc</sup></b>
<b>PJM-70-72</b>	<b>51,39±0,60<sup>d</sup></b>	<b>85,98±0,75<sup>a</sup></b>	<b>89,21±1,20<sup>b</sup></b>	<b>85,27±0,38<sup>e</sup></b>
<b>BHA*</b>	82,63±0,02 <sup>a</sup>	86,7±0,10 <sup>a</sup>	90,75±0,05 <sup>a</sup>	95,89±0,10 <sup>a</sup>
<b>α-Tokoferol*</b>	81,81±0,16 <sup>a</sup>	85,83±0,12 <sup>a</sup>	88,79±0,06 <sup>b</sup>	94,96±0,53 <sup>a</sup>

\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstrler ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p <0.05).

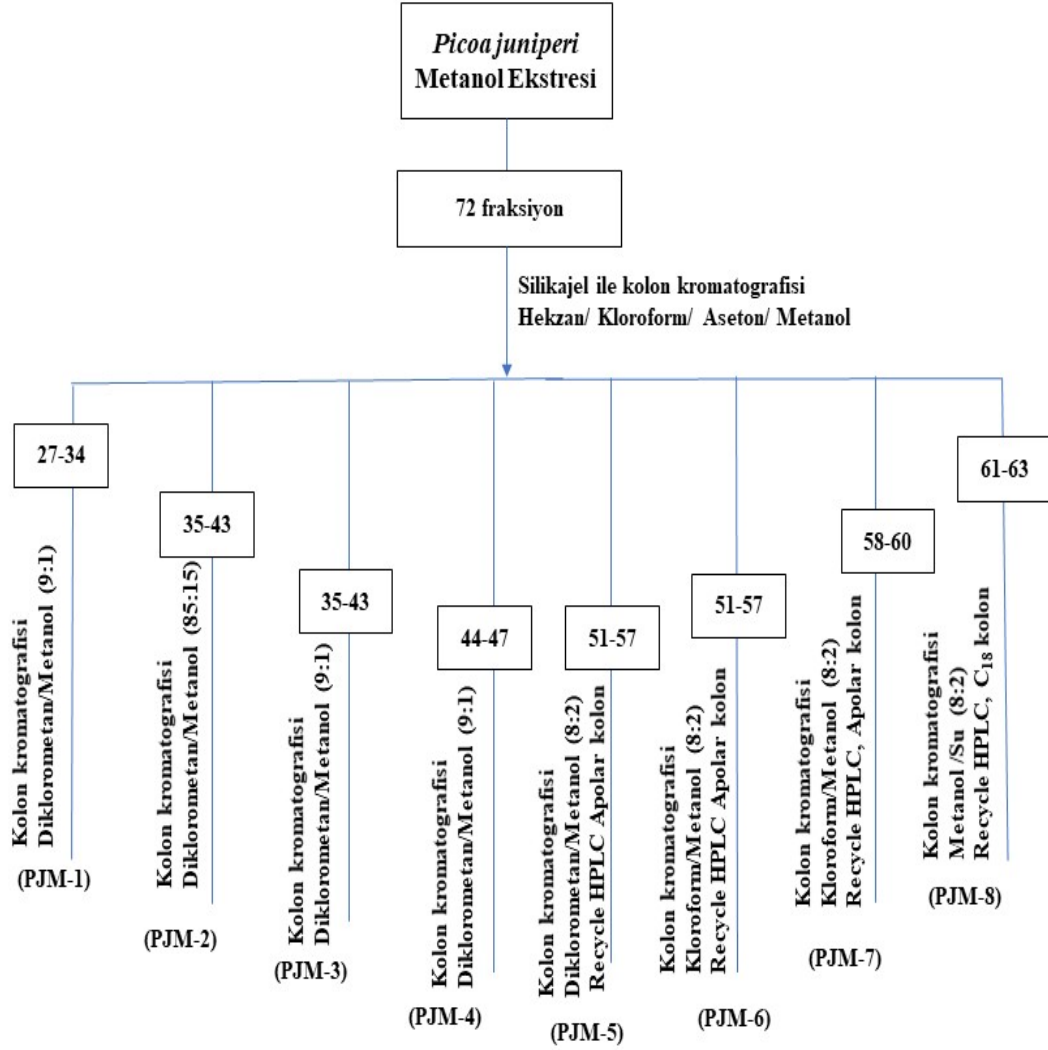
Çizelge 4.22. *P. juniperi*'den metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonların DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri

% DPPH Radikal Giderim Aktivitesi				
Fraksiyonlar	100µg/mL	200µg/ mL	400µg/ mL	800µg/ mL
<b>PJM 1-8</b>	11,01±0,71 <sup>1</sup>	13,72±0,94 <sup>1</sup>	20,05±1,01 <sup>h</sup>	33,89±0,56 <sup>h</sup>
<b>PJM 9-11</b>	3,05±1,11 <sup>o</sup>	4,17±0,21 <sup>m</sup>	6,11±1,04 <sup>n</sup>	10,15±0,66 <sup>k</sup>
<b>PJM 12-14</b>	5,95±0,46 <sup>lm</sup>	8,09±0,79 <sup>l</sup>	14,39±0,69 <sup>k</sup>	24,07±2,49 <sup>1</sup>
<b>PJM 15-21</b>	7,24±0,30 <sup>j</sup>	9,95±0,10 <sup>k</sup>	12,30±0,38 <sup>l</sup>	16,53±1,34 <sup>j</sup>
<b>PJM 22-26</b>	7,00±1,01 <sup>jk</sup>	12,42±0,40 <sup>ij</sup>	18,67±1,90 <sup>1</sup>	23,90±0,49 <sup>1</sup>
<b>PJM 27-34</b>	<b>47,80±0,64<sup>c</sup></b>	<b>66,00±1,17<sup>c</sup></b>	<b>80,61±0,10<sup>c</sup></b>	<b>85,29±0,20<sup>b</sup></b>
<b>PJM 35-43</b>	2,77±0,20 <sup>o</sup>	9,58±1,38 <sup>k</sup>	10,52±0,71 <sup>m</sup>	17,00±0,40 <sup>j</sup>
<b>PJM 44-47</b>	4,56±0,30 <sup>n</sup>	9,88±0,74 <sup>k</sup>	16,99±1,26 <sup>j</sup>	31,72±0,72 <sup>h</sup>
<b>PJM 48-50</b>	5,29±0,11 <sup>mn</sup>	12,35±0,82 <sup>ij</sup>	15,00±0,37 <sup>k</sup>	24,46±0,05 <sup>1</sup>
<b>PJM 51-57</b>	6,27±0,19 <sup>kl</sup>	11,52±1,28 <sup>j</sup>	20,41±0,24 <sup>h</sup>	39,64±0,11 <sup>g</sup>
<b>PJM 58-60</b>	<b>29,47±0,74<sup>e</sup></b>	<b>50,46±0,66<sup>d</sup></b>	<b>66,25±0,22<sup>d</sup></b>	<b>69,75±0,94<sup>c</sup></b>
<b>PJM 61-63</b>	<b>18,66±0,59<sup>g</sup></b>	<b>36,44±0,61<sup>g</sup></b>	<b>61,19±0,78<sup>e</sup></b>	<b>71,77±0,32<sup>c</sup></b>
<b>PJM 64-67</b>	<b>30,69±0,19<sup>d</sup></b>	<b>45,91±1,33<sup>e</sup></b>	<b>65,21±0,74<sup>d</sup></b>	<b>56,20±0,10<sup>e</sup></b>
<b>PJM 68-69</b>	21,20±1,04 <sup>f</sup>	38,85±1,62 <sup>f</sup>	40,89±0,10 <sup>f</sup>	62,62±0,50 <sup>d</sup>
<b>PJM-70-72</b>	12,83±0,30 <sup>h</sup>	16,57±0,28 <sup>h</sup>	33,51±0,38 <sup>g</sup>	47,35±8,13 <sup>f</sup>
<b>BHA<sup>*</sup></b>	86,58±0,02 <sup>b</sup>	88,36±0,29 <sup>b</sup>	97,79±0,15 <sup>a</sup>	96,05±0,08 <sup>a</sup>
<b>α-Tokoferol<sup>*</sup></b>	87,70±0,12 <sup>a</sup>	90,07±0,52 <sup>a</sup>	94,74±0,15 <sup>b</sup>	96,12±0,42 <sup>a</sup>

\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstrler ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p <0.05).

*Picoa juniperi*'nin metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonlar DPPH serbest radikal giderimi ve ABTS<sup>+</sup> katyon radikali giderim aktiviteleri karşılaştırıldıktan sonra yüksek aktivite gösterip, miktar bakımından, izolasyon çalışmaları için yeterli olan ve İTK ile kontrol edilip ayrılması mümkün olan fraksiyonların izolasyon çalışmalarına devam edildi. Saflaştırılan bileşiklerin yapılarını aydınlatmak amacıyla <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, APT, 2D (HMBC, HSQC) ve MS analizleri yapıldı.



Şekil 4.17. *P. juniperi*'nin metanol ekstresinin izolasyon diyagramı

*Picoa juniperi* kloroform ekstresinden bileşik izolasyonu yapılmasına karar verildi. Kolon kromatografisi kullanılarak fraksiyonlandırıldı. Buna göre ekstre, ince tabaka kromatografisinde (İTK) denemeler yapılarak, uygun bir çözücü sistemi ve adsorban seçimi yapıldı. 13,2 g kloroform ekstresi kolon kromatografisinde silika jel adsorban kullanılarak sırasıyla hekzan: kloroform (100:0/0:100), kloroform: etil asetat (100:0/0:100), çözücü sistemleri kullanılarak fraksiyonlandırma işlemi gerçekleştirildi. Bu işlemlerin ardından ince tabaka kromatografisi yardımıyla benzer olan fraksiyonlar birleştirildi ve 5 adet fraksiyon elde edildi (Çizelge 4.23). PJC-5 fraksiyonu DPPH serbest radikal giderimi ve ABTS<sup>+</sup> katyon radikali giderim aktivitesi bakımından diğerlerine göre daha yüksek aktivite gösterdiği için PJC-5'in fraksiyonlandırma işlemleri yapıldı (Çizelge 4.24, Çizelge 4.25 ve Şekil 4.18).

Çizelge 4.23. *P. juniperi* kloroform ekstresinden elde edilen fraksiyonların miktarları

Fraksiyonun Kodu	Miktarı
PJC-1	2,88 mg
PJC-2	100 mg
PJC-3	2,83 mg
PJC-4	3,08 g
PJC-5	3,29 g

Çizelge 4.24. *P. juniperi*'den kloroform ekstresinden elde edilen fraksiyonların ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri

% ABTS Katyon Radikal Giderim Aktivitesi				
Fraksiyonlar	100µg/mL	200µg/ mL	400µg/ mL	800µg/ mL
PJC 1	0,85±0,02 <sup>d</sup>	2,16±1,49 <sup>cd</sup>	3,06±0,03 <sup>e</sup>	4,87±0,05 <sup>c</sup>
PJC 2	-	0,65±0,02 <sup>d</sup>	3,66±0,05 <sup>e</sup>	3,51±0,04 <sup>c</sup>
PJC 3	3,06±1,28 <sup>b</sup>	4,72±0,64 <sup>b</sup>	8,78±1,92 <sup>d</sup>	20,52±3,41 <sup>b</sup>
PJC 4	2,16±0,85 <sup>bc</sup>	5,47±3,41 <sup>b</sup>	11,79±2,98 <sup>c</sup>	20,82±1,70 <sup>b</sup>
PJC 5	<b>1,86±0,02<sup>cd</sup></b>	<b>3,96±0,05<sup>bc</sup></b>	<b>16,61±0,15<sup>b</sup></b>	<b>21,42±0,12<sup>b</sup></b>
BHA*	82,63±0,02 <sup>a</sup>	86,7±0,10 <sup>a</sup>	90,75±0,05 <sup>a</sup>	95,89±0,10 <sup>a</sup>
α-Tokoferol *	81,81±0,16 <sup>a</sup>	85,83±0,12 <sup>a</sup>	88,79±0,06 <sup>a</sup>	94,96±0,53 <sup>a</sup>

-: aktivite yok

\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstratlar ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p <0.05).

Çizelge 4.25. *P. juniperi*'den kloroform ekstresinden elde edilen fraksiyonların DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri

% DPPH Radikal Giderim Aktivitesi				
Fraksiyonlar	100µg/mL	200µg/ mL	400µg/ mL	800µg/ mL
PJC 1	0,53±0,05 <sup>e</sup>	1,15±0,18 <sup>e</sup>	1,64±0,18 <sup>f</sup>	2,02±0,35 <sup>e</sup>
PJC 2	0,28±0,02 <sup>f</sup>	0,53±0,07 <sup>f</sup>	0,77±0,05 <sup>g</sup>	1,60±0,06 <sup>f</sup>
PJC 3	0,77±0,04 <sup>d</sup>	1,64±0,08 <sup>d</sup>	2,89±0,07 <sup>d</sup>	5,00±0,01 <sup>c</sup>
PJC 4	0,77±0,05 <sup>d</sup>	1,64±0,06 <sup>d</sup>	2,27±0,20 <sup>e</sup>	4,13±0,18 <sup>d</sup>
PJC 5	<b>2,64±0,03<sup>c</sup></b>	<b>2,75±0,06<sup>c</sup></b>	<b>6,49±0,25<sup>c</sup></b>	<b>11,34±0,18<sup>b</sup></b>
BHA*	86,58±0,02 <sup>b</sup>	88,36±0,29 <sup>b</sup>	97,79±0,15 <sup>a</sup>	96,05±0,08 <sup>a</sup>
α-Tokoferol *	87,70±0,12 <sup>a</sup>	90,07±0,52 <sup>a</sup>	94,74±0,15 <sup>b</sup>	96,12±0,42 <sup>a</sup>

\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstratlar ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p <0.05).

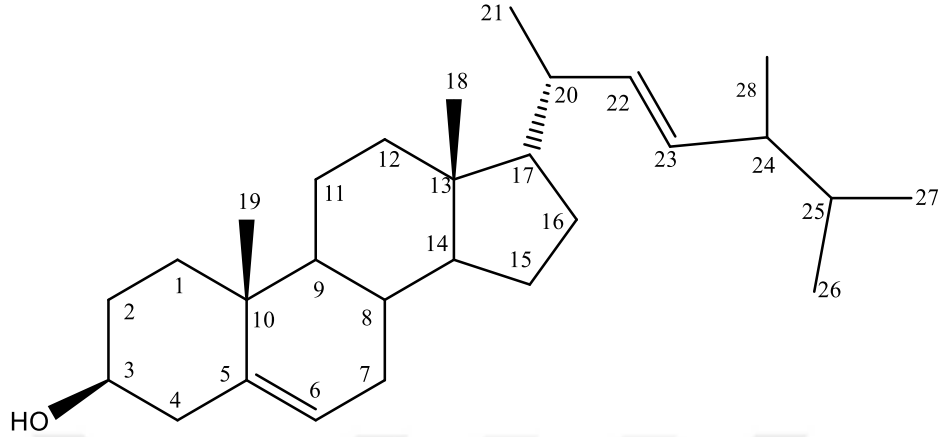
***Picoa juniperi* Kloroform Ekstresi  
PJC-5 Fraksiyonundan**

PJC-5 fraksiyonu: Silikajel ile kolon kromatografisi,  
hekzan/etilasetat (PJC-1)

Şekil 4.18. *P. juniperi*'nin kloroform ekstresinin izolasyon diyagramı

## 4.7.2. *Picoa juniperi*'den izole edilen bileşiklerin yapı analizi

### 4.7.2.1. Brassikasterol (PJM-1)



**Molekül formülü: C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>O**

**Molekül ağırlığı: 398,35**

**Şekil 4.19. Brassikasterol (PJM-1)**

PJM-1 bileşiği beyaz renkli olarak amorf halde elde edildi (7,5 mg). İnce tabaka kromatografisinde UV 254 nm'de görünmeyen madde, serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu mor renk oluştuğu gözlemlendi. Molekül formülü C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>O olarak belirlenen PJM-1 numaralı bileşiğin yapısı NMR (1D, 2D), MS, FT-IR teknikleri kullanılarak aydınlatıldı.

FT-IR spektrumunda (Şekil 4.20) gözlenen  $\bar{\nu}$  3423 cm<sup>-1</sup> 'deki titreşim bandı, hidroksil gerilmesini ve  $\bar{\nu}$  2953 cm<sup>-1</sup> 'deki titreşim bandı ise vinilik gerilmesini göstermiştir

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm), 600 MHz, Şekil 4.21),  $\delta$  0,67 (3H, *s*, H-18), 0,98 (3H, *s*, H-19),  $\delta$  0,80 (3H, *d*, *J*= 6,6 Hz, H-27),  $\delta$  0,81 (3H, *d*, *J*= 7,2 Hz, H-26),  $\delta$  0,89 (3H, *d*, *J*= 6,6 Hz, H-28) ve  $\delta$  0,94 (3H, *d*, *J*= 6,0 Hz, H-21) ppm'de rezonans olan sinyaller metil protonlarına aittir.  $\delta$  5,32 (1H, *t*, *J*= 2,4 Hz, H-6),  $\delta$  5,17 (1H, *dd*, *J*= 15,0; 7,8 Hz, H-22),  $\delta$  5,19 (1H, *dd*, *J*= 15,6; 7,2 Hz, H-23),  $\delta$  3,50 (1H, *m*, H-3) ppm'de rezonans olan olefinik hidrojen pikleri görülmüştür.  $\delta$  3,50 (1H, *m*, H-3) ppm'de rezonans olan pik C-3 pozisyonunda hidrojenin  $\alpha$  konumunda olduğunu göstermiştir.

$^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm), 150 MHz, Şekil 4.22) ve APT (Şekil 4.23) spektrumları beraber değerlendirildiğinde 6 metil, 8 metilen, 11 metin ve 3 katerner karbon belirlendi,  $\delta$  140,7 (C-5),  $\delta$  135,8 (C-22),  $\delta$  131,7 (C-23) ve  $\delta$  121,7 (C-6) ppm'de rezonans olan pikler olefinik karbon sinyallerine,  $\delta$  20,9 (C-21),  $\delta$  19,9 (C-26),  $\delta$  19,6 (C-27),  $\delta$  19,4 (C-19),  $\delta$  17,6 (C-28) ve  $\delta$  12,1 (C-18) ppm'de rezonans olan pikler ise molekülde bulunan 6 adet metil sinyallerine aittir.

Kütle spektrumun incelendiğinde (Şekil 4.26), moleküler iyon piki 398,3  $[\text{M}]^+$  olarak gözlenmiştir.  $m/z$  380  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$  parçalanma, bir molekül suyun ayrılması sonucu oluşmuştur.

$^1\text{H}$ -NMR (Şekil 4.21)  $^{13}\text{C}$ -NMR (Şekil 4.22), APT (Şekil 4.23), HSQC (Şekil 4.24) ve HMBC (Şekil 4.25) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde PJM-1 maddesinin yapısının tamamı doğrulandı. Çizelge 4.26'daki  $^1\text{H}$ -NMR,  $^{13}\text{C}$ -NMR ve HMBC değerleri literatür ile karşılaştırıldığında, PJM-1 maddesinin Brassikasterol (Şekil 4.19) olduğu belirlendi (Sethi vd, 2014, Küçükaydın, 2017).

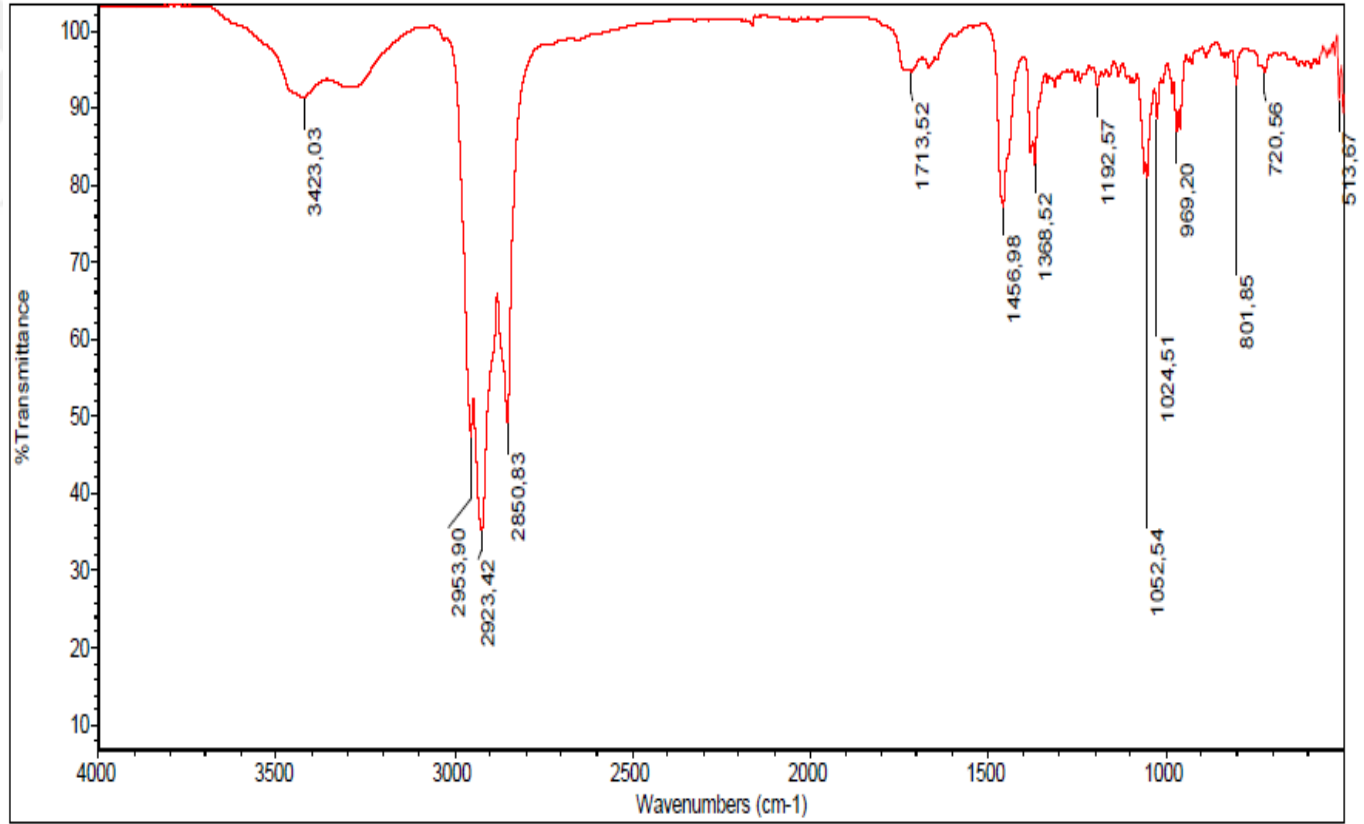
**Çizelge 4.26. Brassikasterol 'ün (PJM-1)  $^1\text{H}$ -NMR,  $^{13}\text{C}$ -NMR ve HMBC değerleri**

C.no.	$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\delta$ )	$^1\text{H}$ -NMR ( $\delta$ )	HMBC
1	37,2	1,82 (1H, <i>m</i> ), 1,06 (1H, <i>m</i> )	C-19
2	31,9	1,80 (2H, <i>m</i> )	
3	71,8	3,50 (1H, <i>m</i> )	C-1, C-2, C-4
4	42,3	2,27 (1H, <i>m</i> ), 1,82 (1H, <i>m</i> )	
5	140,7	-	C-1, C-4, C-19
6	121,7	5,32 (1H, <i>t</i> , $J = 2,4$ Hz)	C-4, C-8
7	31,7	1,95 (2H, <i>m</i> )	
8	31,9	1,44 (1H, <i>m</i> )	
9	50,2	0,91 (1H, <i>m</i> )	C-7, C-8, C-19
10	36,5	-	
11	21,1	1,46 (2H, <i>m</i> )	
12	39,7	1,97 (1H, <i>m</i> ), 1,15 (1H, <i>m</i> )	
13	42,2	-	
14	56,0	1,11 (1H, <i>m</i> )	C-7, C-18
15	24,3	1,51 (1H, <i>m</i> ), 1,00 (1H, <i>m</i> )	
16	28,5	1,65 (1H, <i>m</i> ), 1,23 (1H, <i>m</i> )	
17	56,8	0,98 (1H, <i>m</i> )	C-20
18	12,1	0,67 (3H, <i>s</i> )	C-12, C-14
19	19,4	0,98 (3H, <i>s</i> )	C-1
20	40,1	1,97 (1H, <i>m</i> )	C-21, C-22, C-23

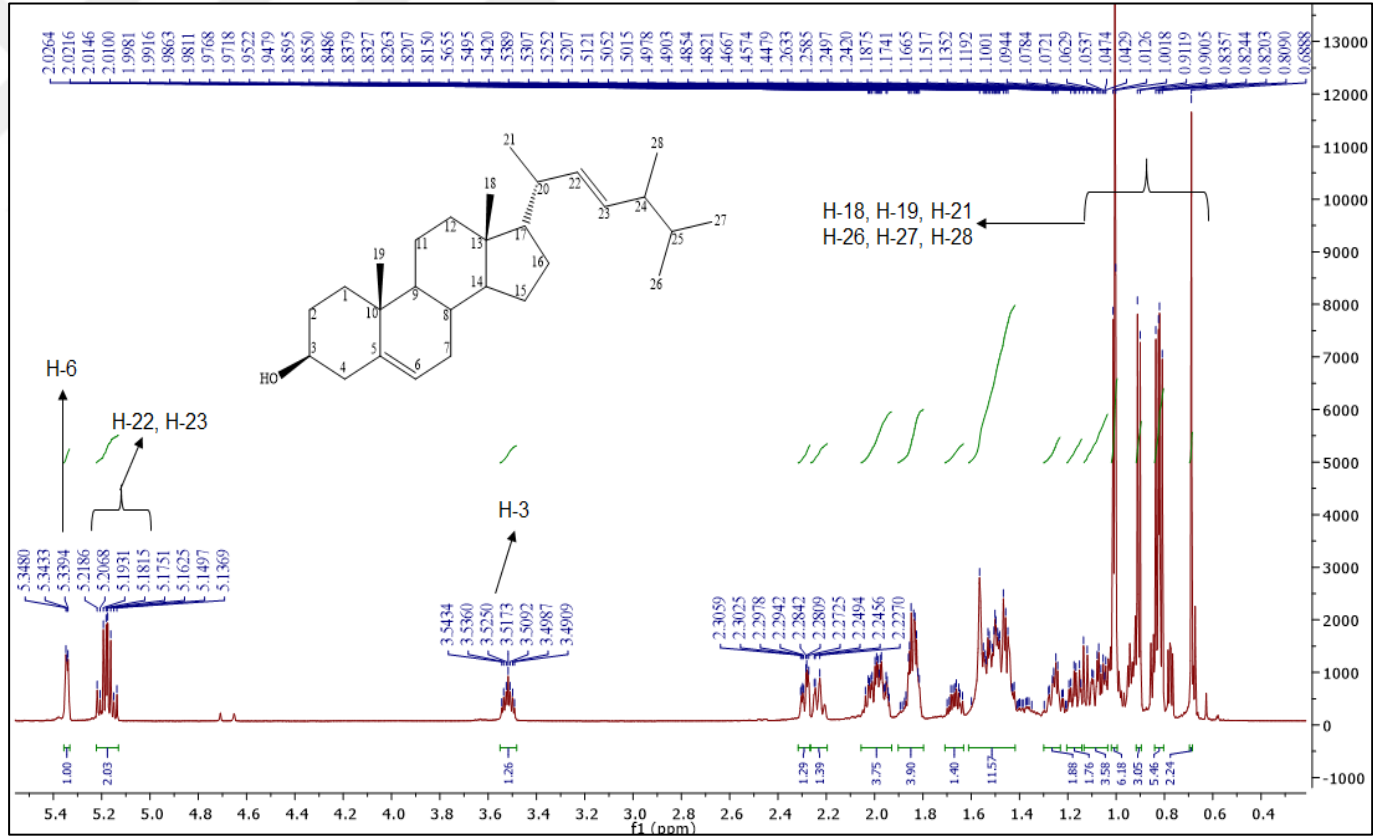


Çizelge 4.26.(devamı)

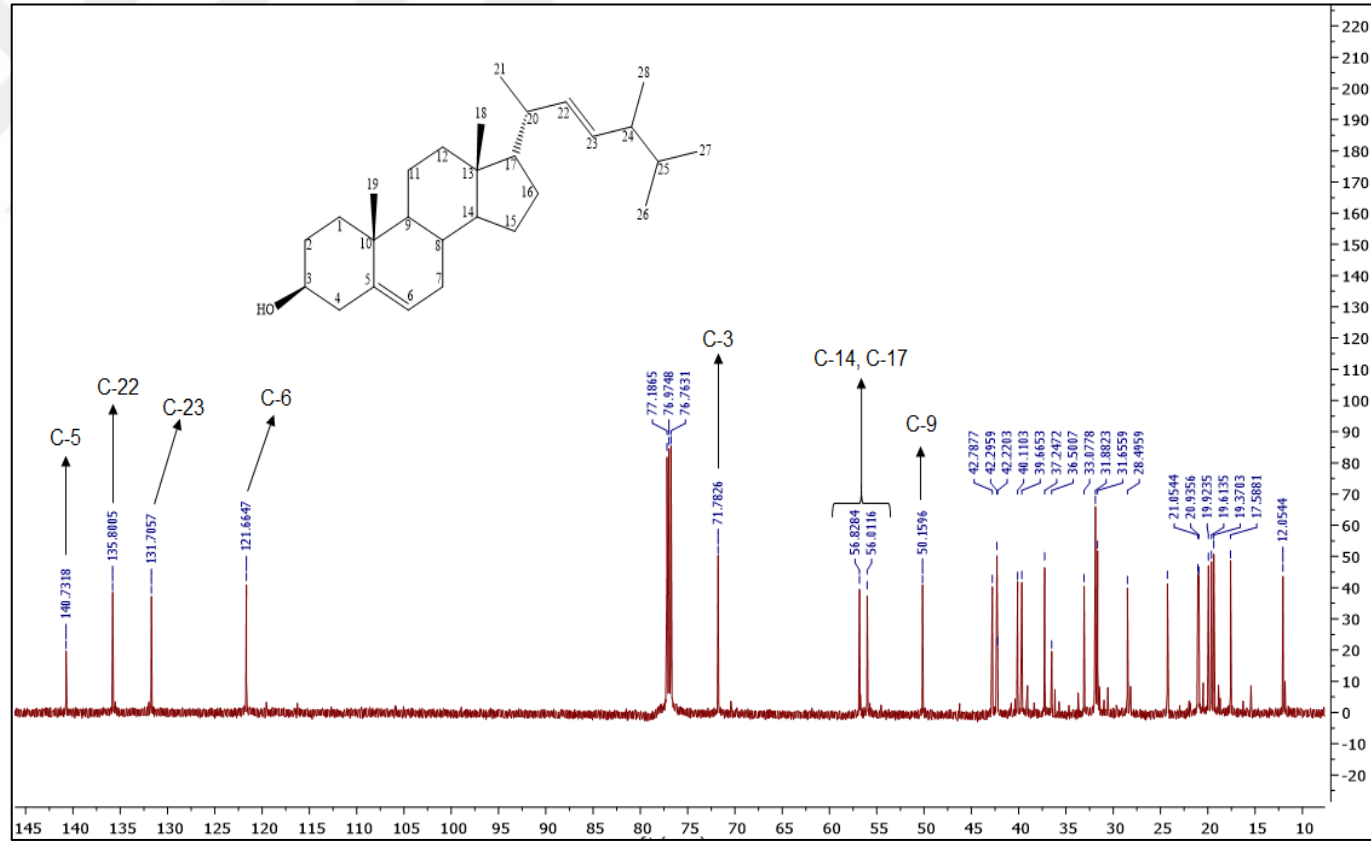
21	20,9	0,94 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,0 Hz)	C-20, C-22
22	135,8	5,17 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 15,0, 7,8 Hz)	C-20, C-21, C-28
23	131,7	5,19 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 15,6, 7,2 Hz)	C-20, C-22, C-24
24	42,8	0,87 (1H, <i>m</i> )	C-22, C- 27
25	33,1	1,43 (1H, <i>m</i> )	C-27, C-28
26	19,9	0,81 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,2 Hz)	C-24, C-25
27	19,6	0,80 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,6 Hz)	C-24, C-25
28	17,6	0,89 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,6 Hz)	C-25



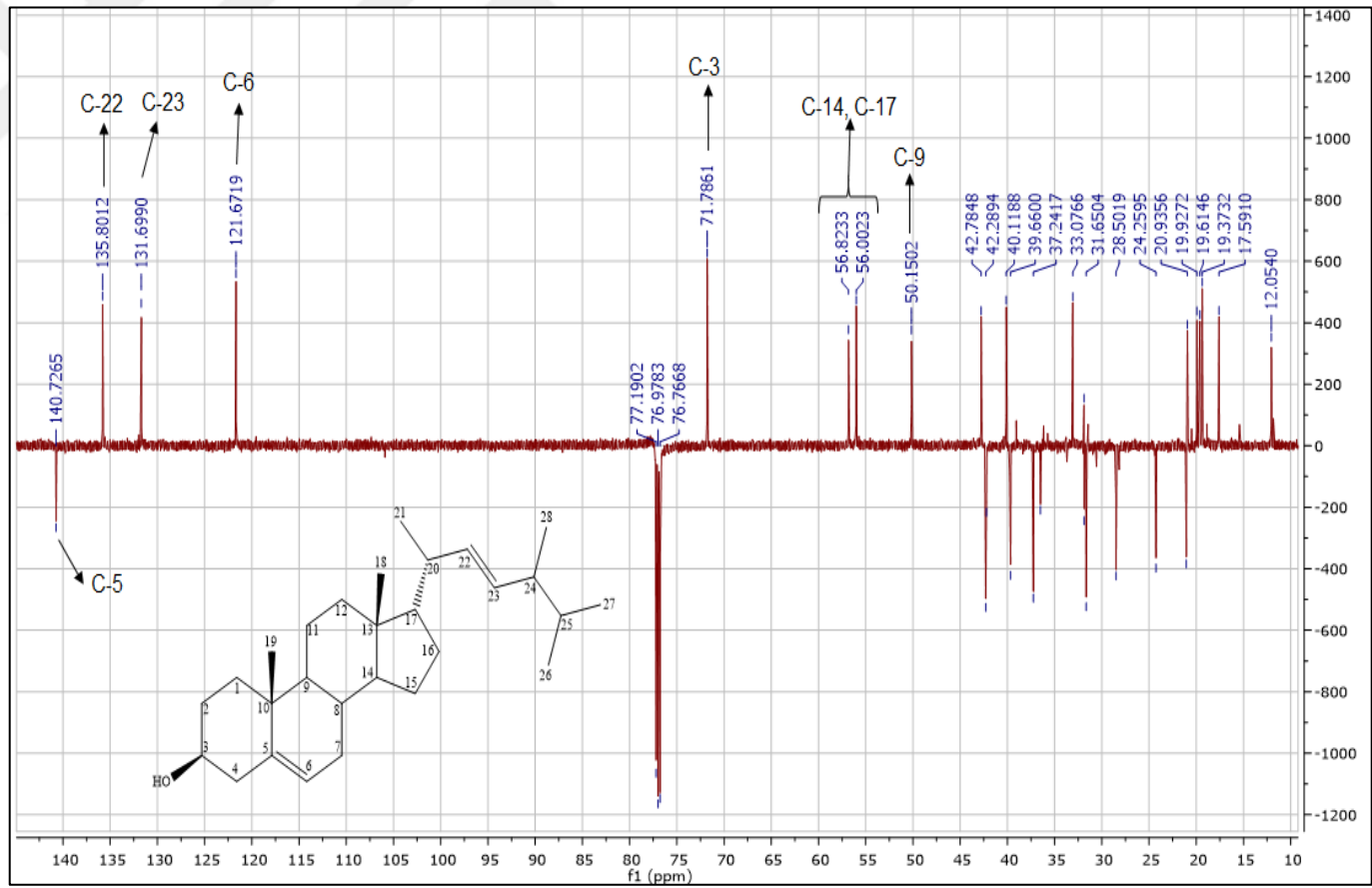
Şekil 4.20. Brassikasterol'ün (PJM-1) FT-IR spektrumu



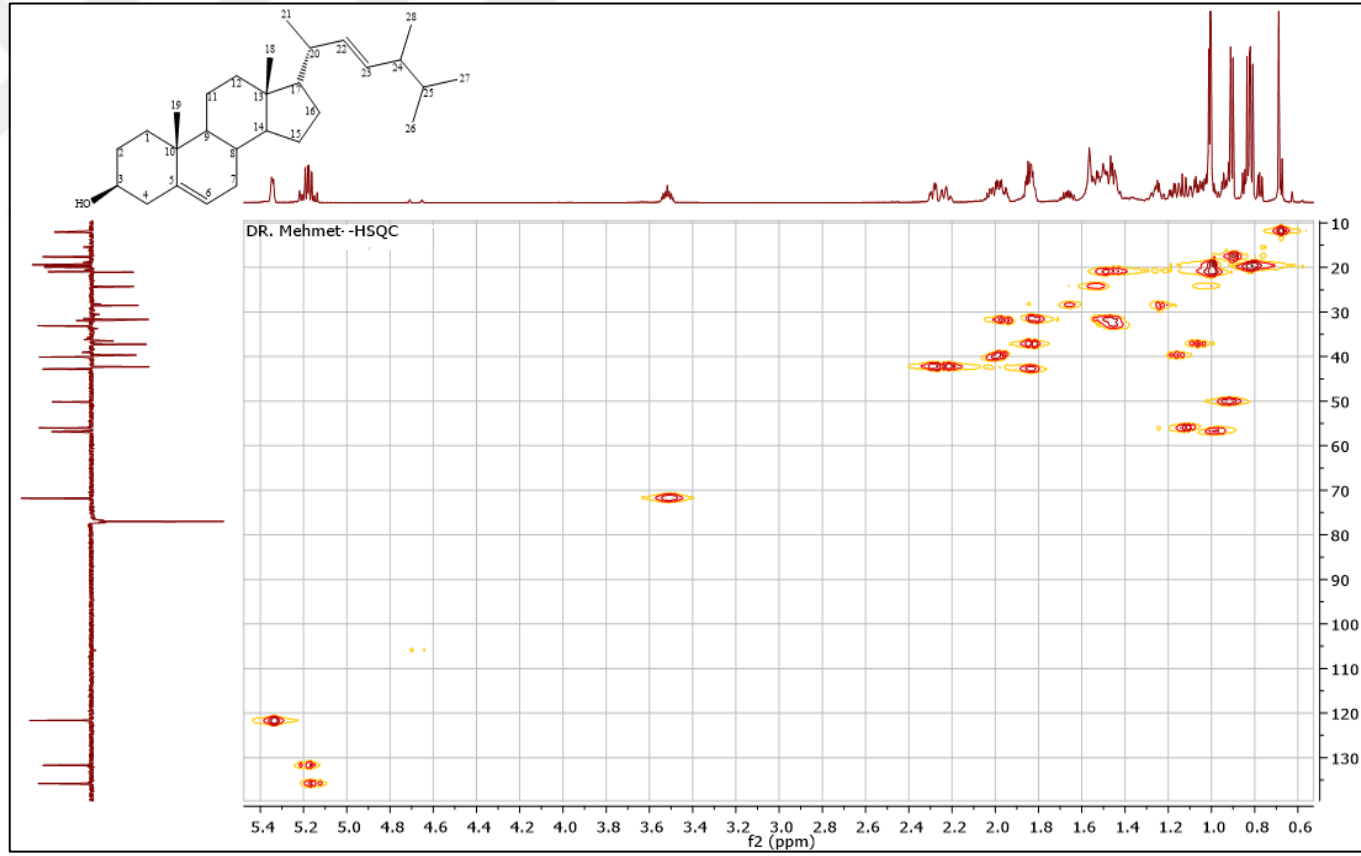
Şekil 4.21. Brassikasterol'ün (PJM-1) <sup>1</sup>H-NMR spektrumu (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)



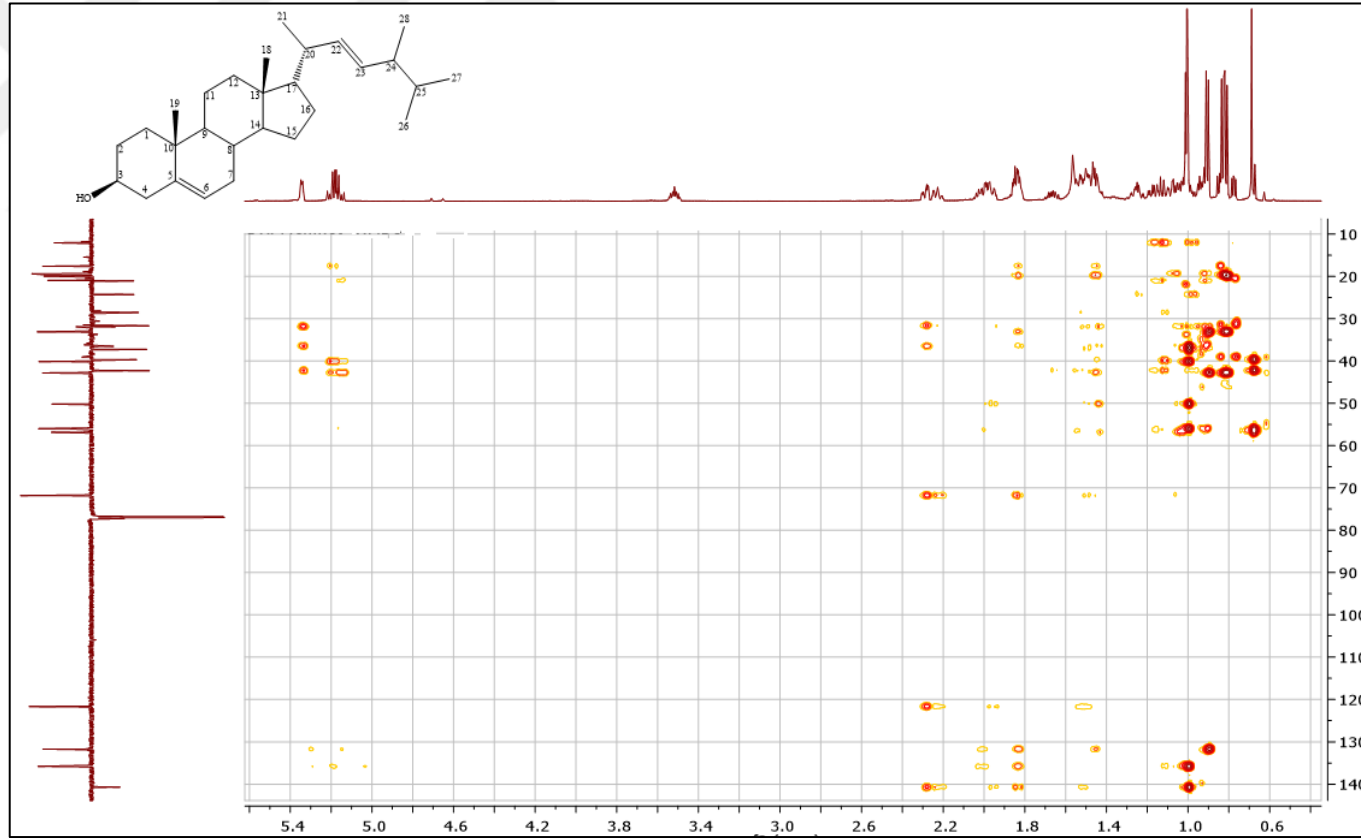
Şekil 4.22. Brassikasterol'ün (PJM-1) <sup>13</sup>C-NMR spektrumu (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)



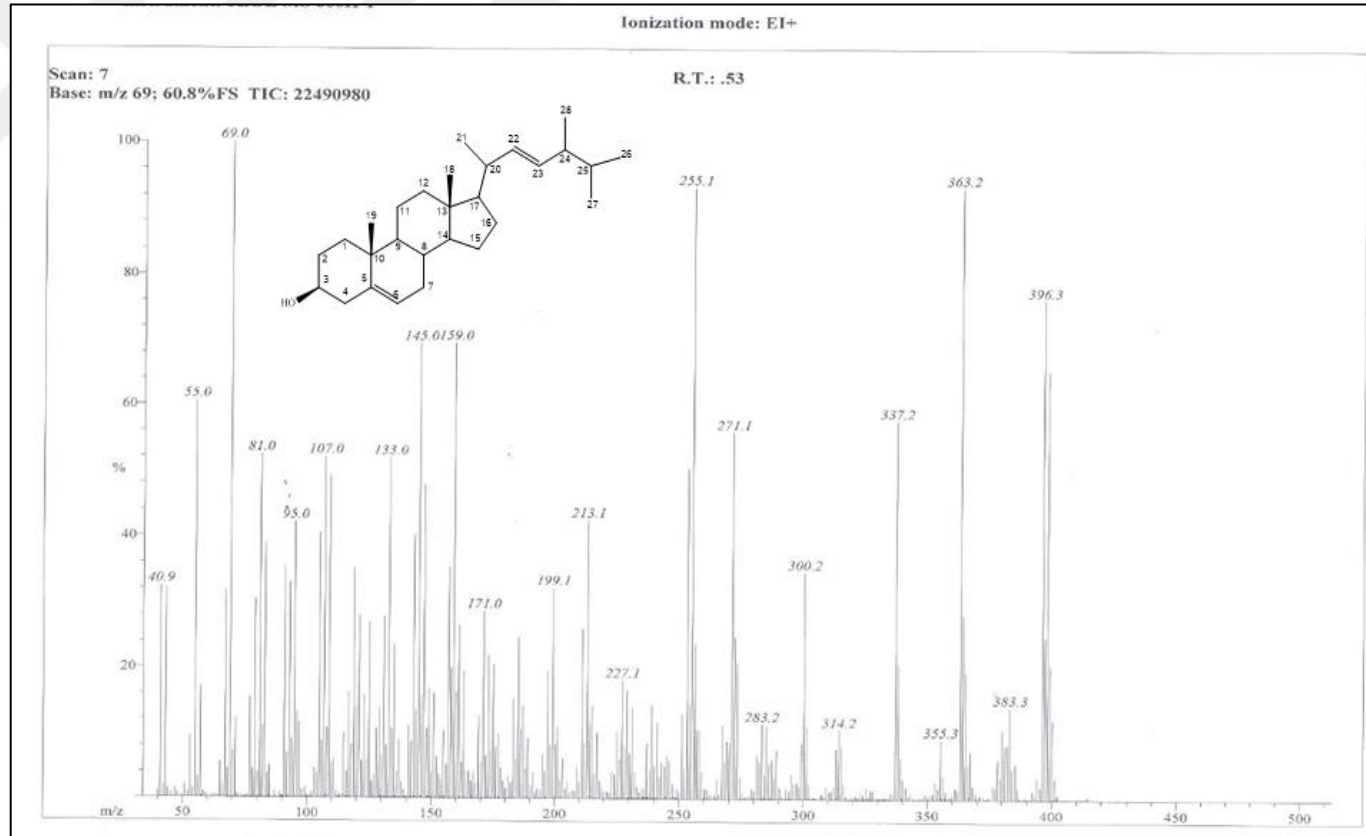
Şekil 4.23. Brassikasterol'ün (PJM-1) APT-NMR spektrumu



Şekil 4.24. Brassikasterol'ün (PJM-1) HSQC spektrumu



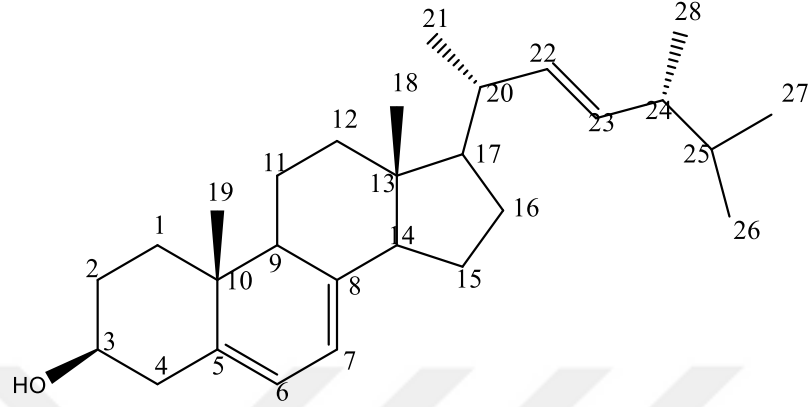
Şekil 4.25. Brassikasterol'ün (PJM-1) HMBC spektrumu



Şekil 4.26. Brassikasterol' ün (PJM-1) EI-MS spektrum



#### 4.7.2.2. Ergosterol (PJM-2)



**Molekül formülü: C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O**

**Molekül ağırlığı: 396,3**

**Şekil 4.27. Ergosterol (PJM-2)**

PJM-2 kodlu bileşik beyaz amorf katı olarak elde edildi (10 mg). İnce tabaka kromatografisinde UV 254 nm’de görünmezken, serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu kahverengi renk oluştuğu gözlemlendi. Molekül formülü C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O olarak belirlenen PJM-2 numaralı bileşiğin yapısı NMR (1D, 2D), MS spektroskopisi teknikleri kullanılarak aydınlatıldı.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm), 500 MHz, Şekil 4.28) spektrumunda δ 0,59 (3H, *s*, H-18), 0,79 (3H, *s*, H-19), 0,93 (3H, *br. s*, H-21), 0,82 (3H, *s*, H-25), 0,75 (3H, *m*, H-27), 0,76 (3H, *m*, H-28) ppm’lerde 6 metil protonu, 3,45 (1H, *m*, H-3) ppm’de bir oksijen bağlı metin protonu, 5,36 (1H, *br. s*, H-6), 5,54 (1H, *s*, H-7), 5,14 (1H, *m*, H-22) ve 5,11 (1H, *m*, H-23) ppm’lerde 4 olefinik proton gözlemlenmiştir.

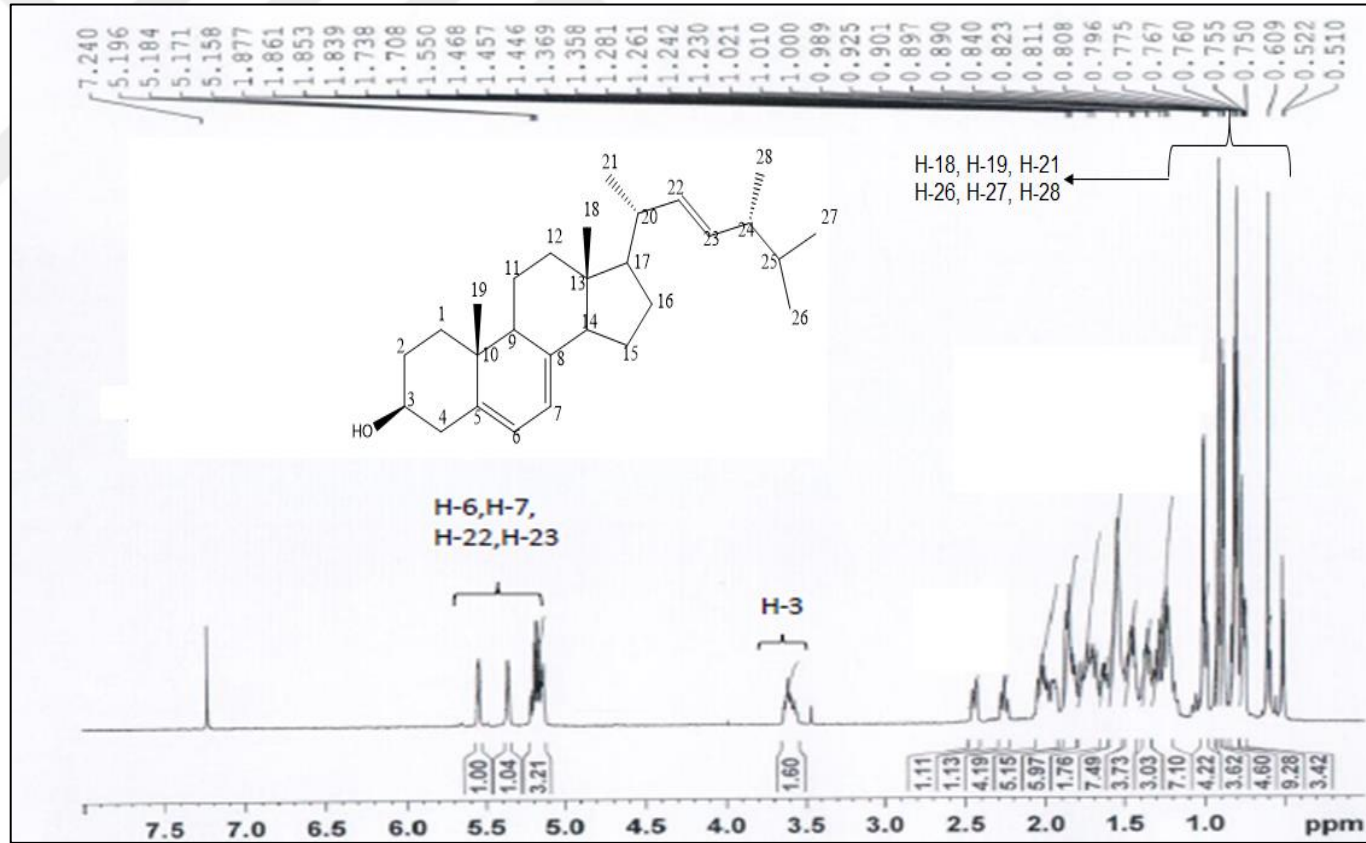
<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, (δ ppm), 125 MHz, Şekil 4.29) spektrumunda δ 71,0 (C-3) ppm de 1 oksijene bağlı karbon sinyali, δ 141,3 (C-5), 119,5 (C-6), 116,2 (C-7), 139,7 (C- 8), 131,8 (C-22) ve 135,6 (C-23) ppm’lerde ise 6 olefinik karbon sinyali gözlemlenmiştir.

<sup>1</sup>H-NMR (Şekil 4.28), <sup>13</sup>C-NMR (Şekil 4.29), COSY (Şekil 4.30), HSQC (Şekil 4.31) ve HMBC (Şekil 4.32) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde PJM-2 maddesinin

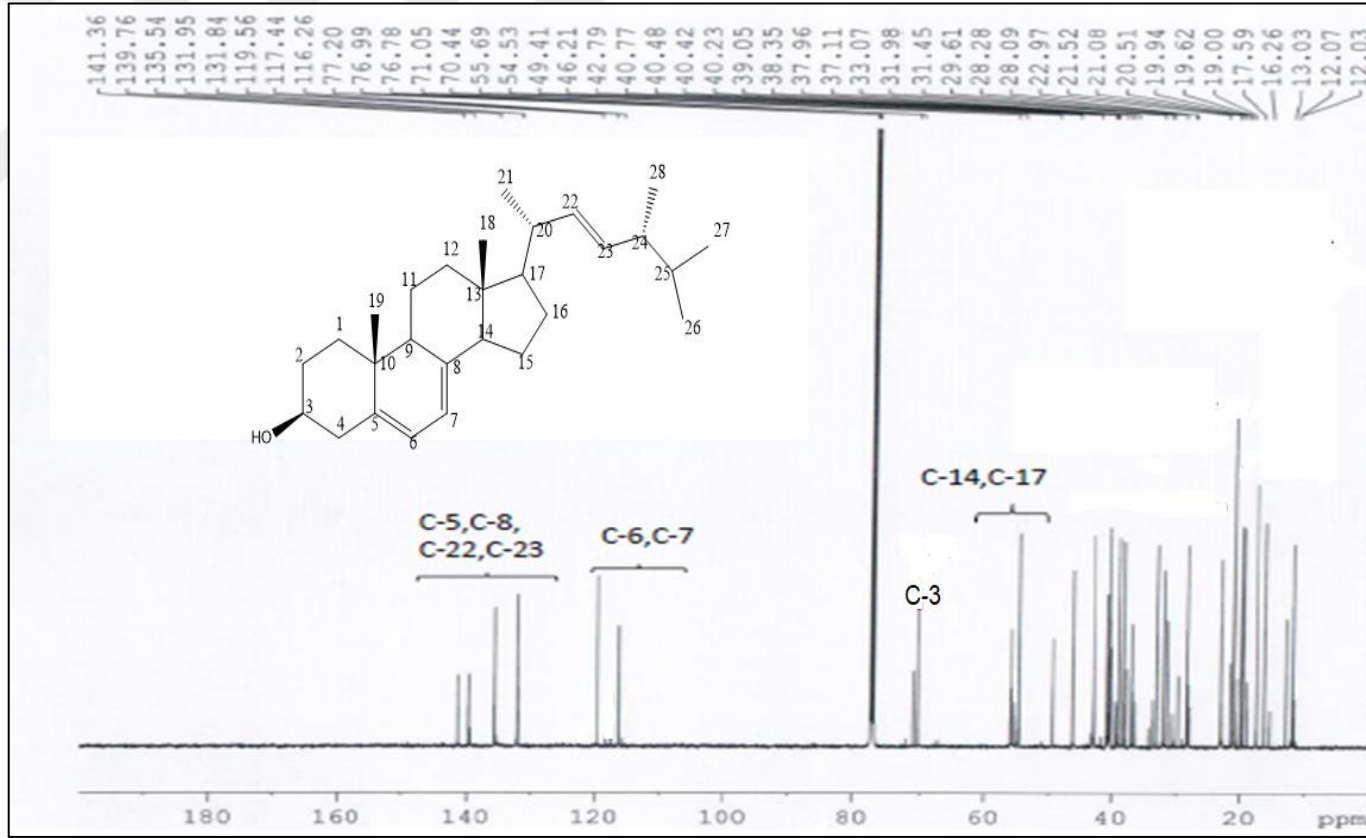
yapısının tamamı doğrulandı. Çizelge 4.27'deki  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , HMBC ve COSY değerleri literatür ile karşılaştırıldığında, PJM-2 maddesinin Ergosterol (Şekil 4.27) olduğu belirlendi (Kanagasabapathy vd., 2011; Ivanova vd., 2013; Noh vd., 2015; Li vd., 2015b, Kaplaner, 2017).

**Çizelge 4.27. Ergosterol'ün (PJM-2)  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , HMBC ve COSY değerleri**

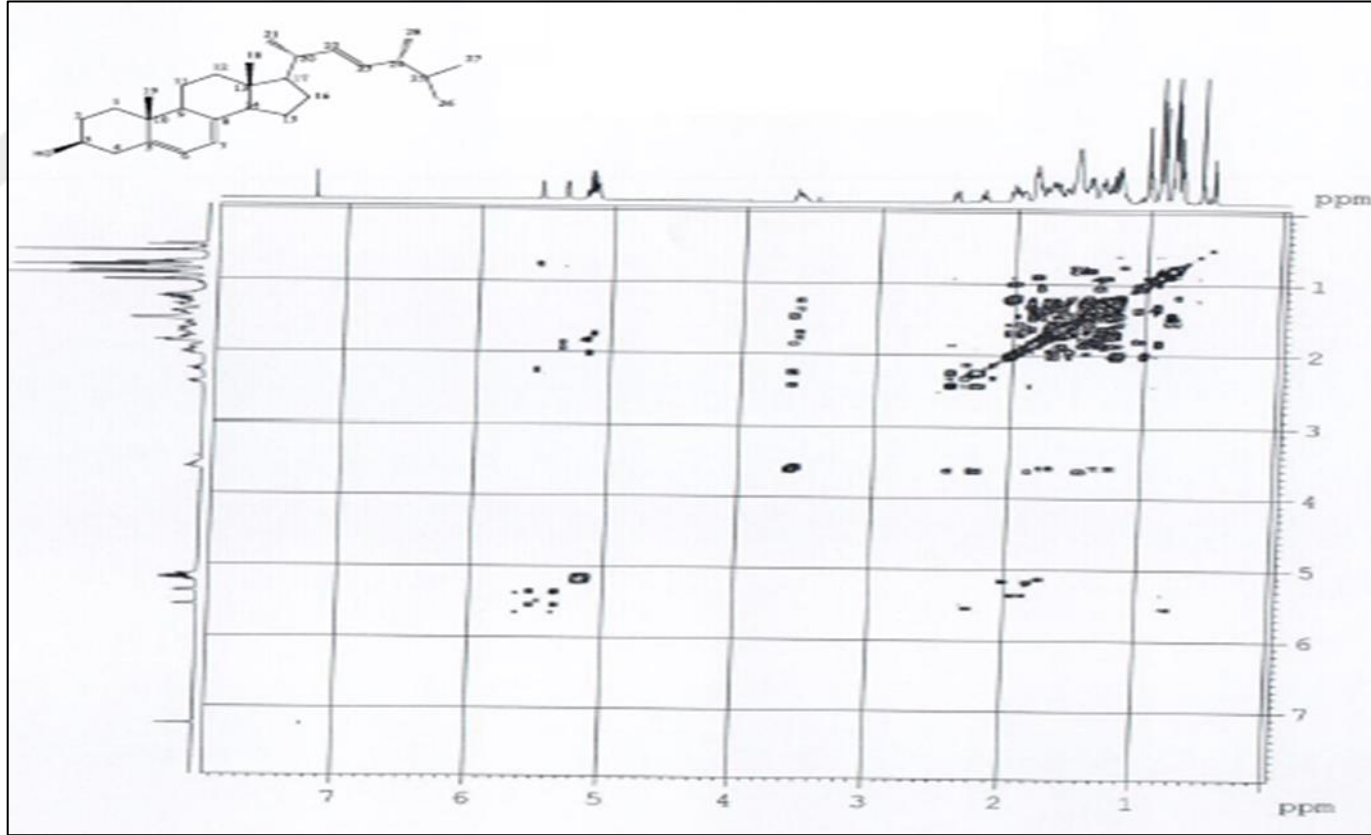
C.no.	$^{13}\text{C-NMR}$ ( $\delta$ )	$^1\text{H-NMR}$ ( $\delta$ )	HMBC	COSY
1	38,3	1,16 (1H, <i>m</i> ), 1,87 (1H, <i>m</i> )	C-1, C-2	
2	31,4	1,38 (1H, <i>m</i> ), 1,78 (1H, <i>m</i> )	C-4, C-5, C-10, C-19	
3	71,0	3,45 (1H, <i>m</i> )		H-4
4	40,2	2,34 (1H, <i>m</i> ), 2,18 (1H, <i>m</i> )	C-2, C-3, C-5, C-6, C-10	
5	141,3	-		
6	119,5	5,36 (1H, <i>br. s</i> )	C-4, C-7, C-8, C-10	H-7
7	116,2	5,54 (1H, <i>s</i> )	C-5, C-6, C-9	
8	139,7	-		
9	46,1	1,87 (1H, <i>br. s</i> )	C-8	
10	36,9	-		
11	20,9	0,94 (1H, <i>m</i> ), 0,95 (1H, <i>m</i> )	C-8, C-9, C-12, C-13	
12	28,1	1,23 (1H, <i>m</i> ), 1,22 (1H, <i>m</i> )		
13	42,7	-		
14	54,5	1,19 (1H, <i>m</i> )	C-8, C-13	
15	22,8	1,26 (1H, <i>m</i> ), 1,55 (1H, <i>m</i> )	C-13, C-14	
16	39,05	1,96 (1H, <i>m</i> ), 1,98 (1H, <i>m</i> )	C-15, C-17	
17	55,6	1,17 (1H, <i>m</i> )	C-16, C-18, C-20	
18	11,9	0,59 (3H, <i>s</i> )	C-12, C-13, C-14, C-17	
19	16,1	0,79 (3H, <i>s</i> )	C-1, C-5, C-9, C-10	
20	40,4	1,95 (1H, <i>br. s</i> )	C-17, C-21, C-22, C-23	
21	20,9	0,93 (3H, <i>br. s</i> )	C-17, C-20, C-22	
22	131,8	5,14 (1H, <i>m</i> )	C-21, C-23, C-24	H-23
23	135,6	5,11 (1H, <i>m</i> )	C-22, C-24, C-28	H-22
24	42,7	1,81 (1H, <i>br. s</i> )	C-26, C-25, C-27, C-28,	H-23
25	17,4	0,82 (3H, <i>s</i> )	C-26, C-24, C-27, C-28, C-23	
26	32,9	1,39 (1H, <i>m</i> )	C-24, C-25, C-27	H-27
27	19,5	0,75 (3H, <i>m</i> )	C-24, C-25, C-26	H-26
28	19,8	0,76 (3H, <i>m</i> )	C-23, C-24, C-25	



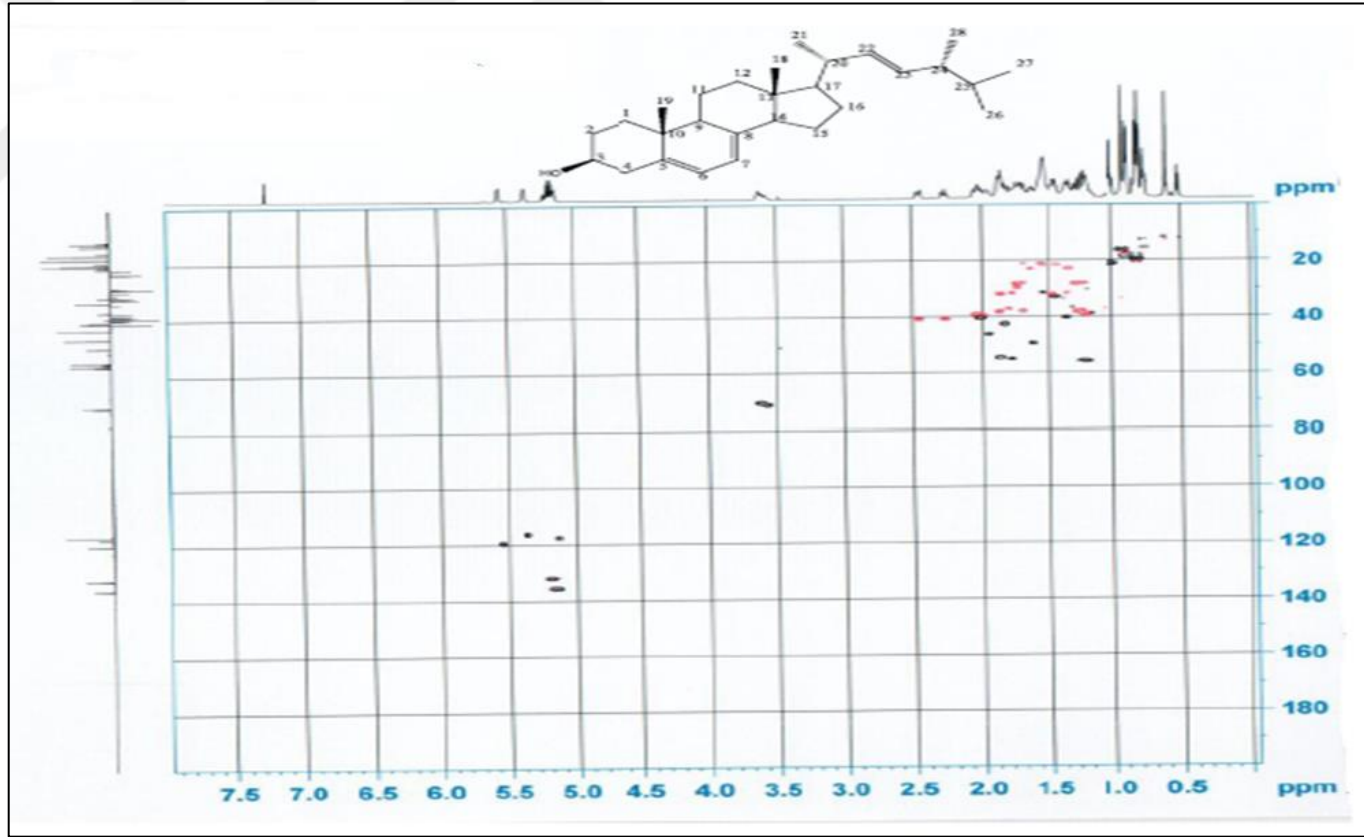
Şekil 4.28. Ergosterol'ün (PJM-2) <sup>1</sup>H-NMR spektrumu (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)



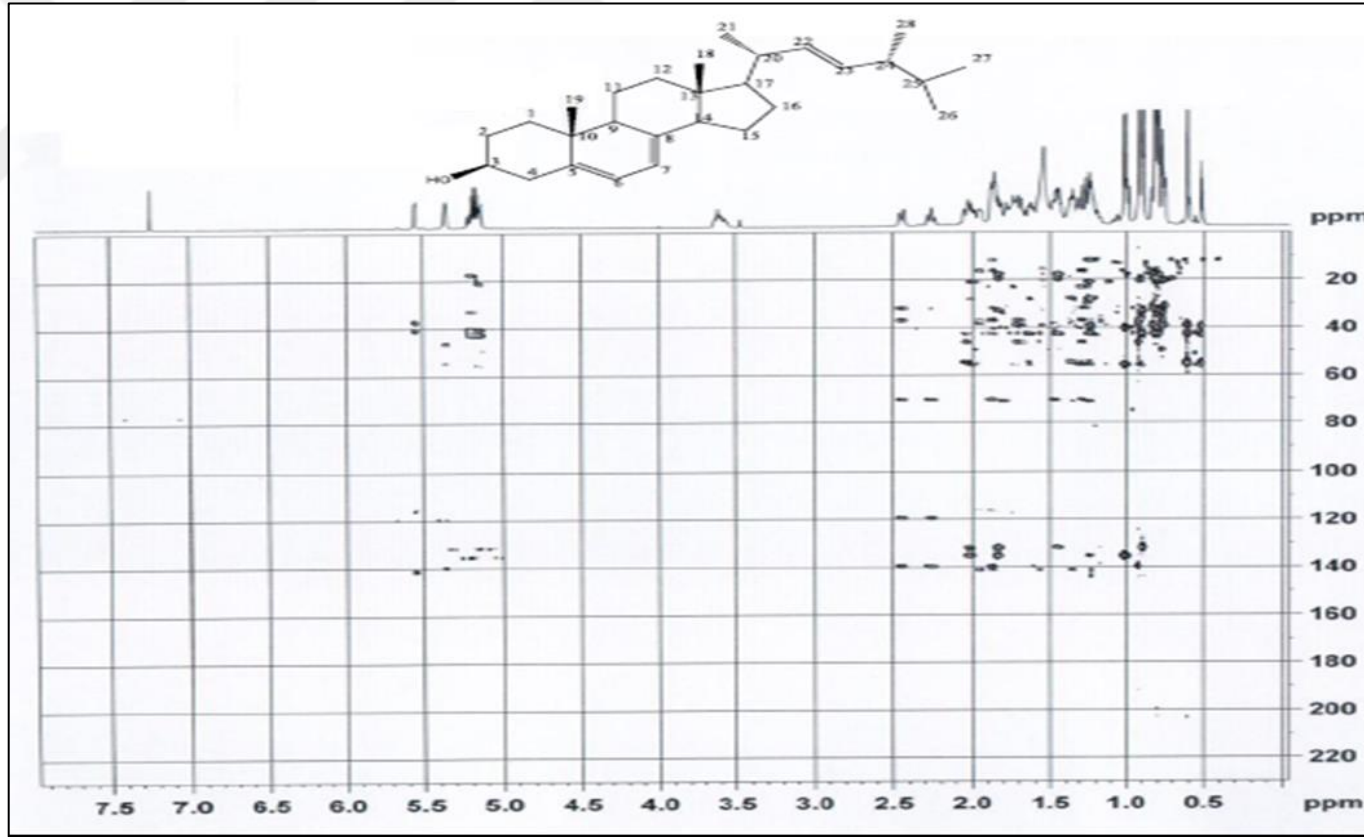
Şekil 4.29. Ergosterol'ün (PJM-2) <sup>13</sup>C-NMR spektrumu (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)



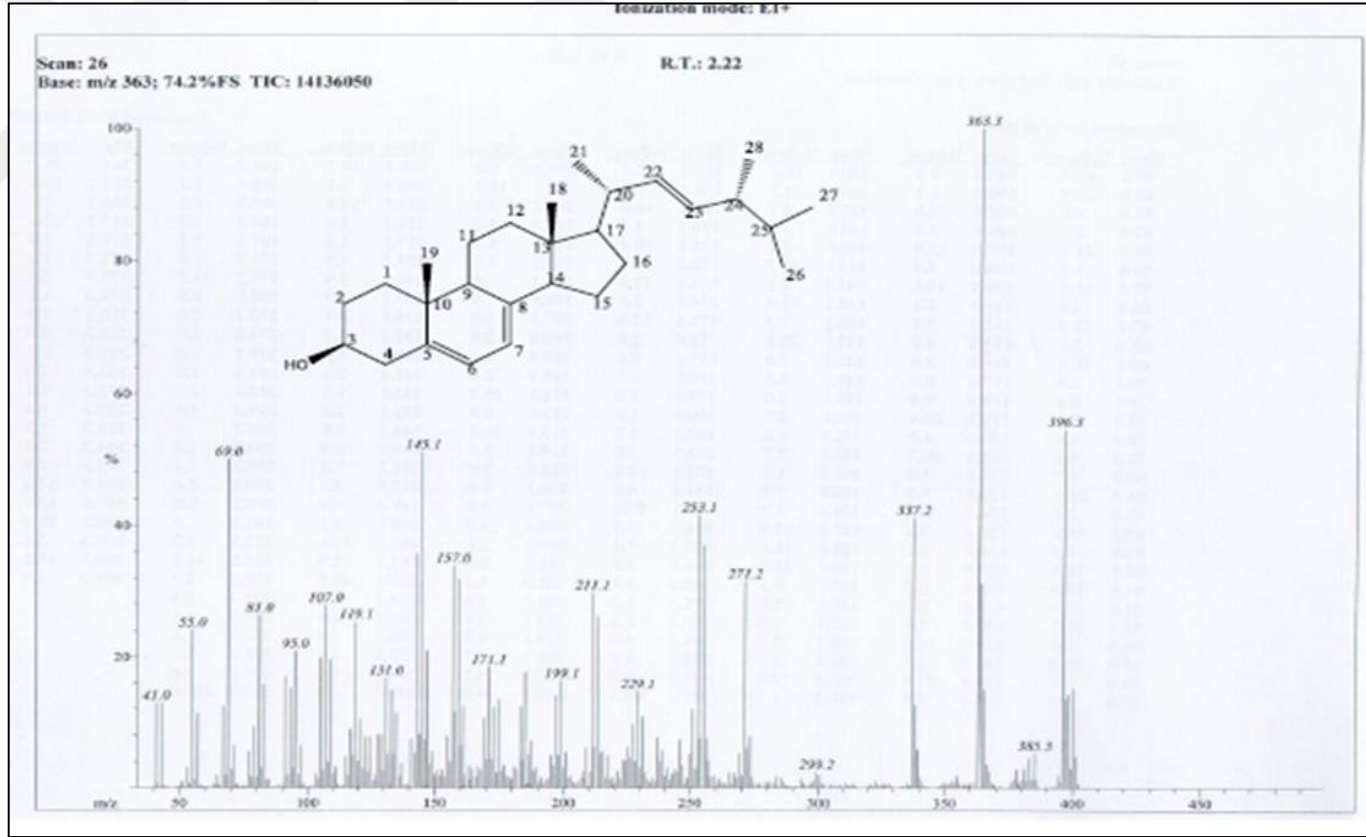
Şekil 4.30. Ergosterol'ün (PJM-2) COSY spektrumu



Şekil 4.31. Ergosterol'ün (PJM-2) HSQC spektrumu



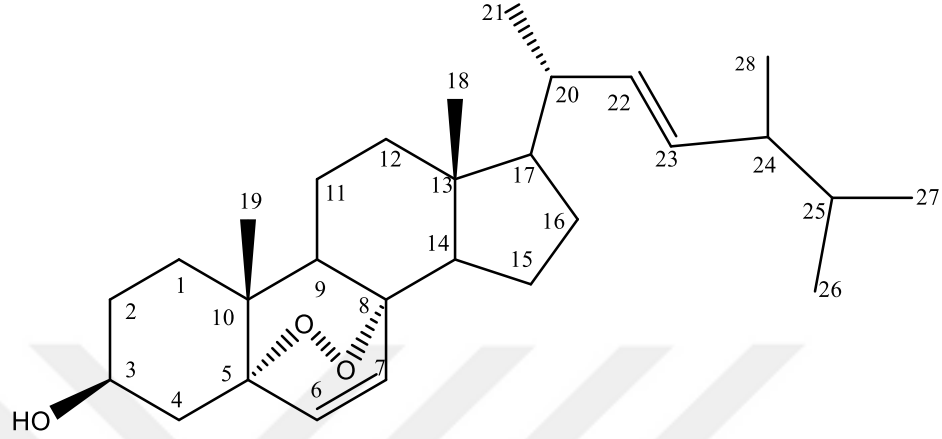
Şekil 4.32. Ergosterol'ün (PJM-2) HMBC spektrumu



Şekil 4.33. Ergosterol'ün (PJM-2) EI-MS spektrumu



#### 4.7.2.3. Ergosterol endoperoksit (PJM-3)



**Molekül formülü: C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O<sub>3</sub>**

**Molekül ağırlığı: 428,33**

**Şekil 4.34. Ergosterol endoperoksit (PJM-3)**

Beyaz renkli olan PJM-3 bileşiği amorf halde elde edildi (4,5 mg). İnce tabaka kromatografisinde UV 254 nm’de görülen bileşik, serik sülfat belirteci ile püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu yeşilimsi renk oluştuğu gözlemlendi. Molekül formülü C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O<sub>3</sub> olarak belirlenen PJM-3 numaralı bileşiğin yapısı NMR (1D, 2D), MS teknikleri kullanılarak aydınlatıldı.

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda (CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm), 600 MHz, Şekil 4.35) δ 0,79 (3H, *s*, H-18), δ 0,80 (3H, *d*, *J*= 6,5 Hz, H-27), δ 0,80 (3H, *d*, *J*=7,0 Hz, H-26), δ 0,86 (3H, *s*, H-19), δ 0,88 (3H, *d*, *J*= 6,5 Hz, H-28) ve δ 0,98 (3H, *d*, *J*=6,6, H-21)’da 6 tane metil; δ 3,95 (1H, *m*, H-3) ppm’de hidroksil grubuna komşu hidrojen; δ 5,14 (1H, *d*, *J*=9,0, H-22) ve δ 5,19 (1H, *d*, *J*=7,8, H-23)’de vinilik hidrojen; δ 6,22 (1H, *d*, *J*=8,4 Hz, H-7) ve δ 6,49 (1H, *d*, *J*=8,4 Hz, H-6) olefinik hidrojen pikleri izlenmiştir.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumu (CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm), 150 MHz, Şekil 4.36) DEPT-135 spektrumu ile birlikte değerlendirildiğinde 6 metil, 7 metilen, 11 metin ve 4 katerner karbon gözlemlenmiştir. δ 66,4 (C-3) ppm’de hidroksillenmiş karbon sinyali, δ 135,4 (C-6), δ 130,8 (C-7), δ 135,2 (C-22) ve δ 132,3 (C-23) ppm’de olefinik karbon sinyalleri, δ

12,8 (C-18),  $\delta$  17,5 (C-19),  $\delta$  20,8 (C-21),  $\delta$  19,9 (C-26),  $\delta$  19,7 (C-27) ve  $\delta$  18,1 (C-28) ppm'de metil karbonlarına ait sinyaller gözlenmiştir. Çifte bağın yeri HMBC spektrumu ile belirlenirken, C-5 ve C-8 arasında bir peroksit köprüsünün olduğu HMBC ve  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu ile belirlendi (Şekil 4.40, Şekil 4.36).

Kütle spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.39),  $m/z$  428  $[\text{M}]^+$  piki gözlenmiştir.  $m/z$  410  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$  parçalanma, bir molekül suyun ayrılması sonucu oluşmuştur.

$^1\text{H}$ -NMR (Şekil 4.35)  $^{13}\text{C}$ -NMR (Şekil 4.36), DEPT-135 (Şekil 4.37), COSY (Şekil 4.38), HSQC (Şekil 4.39) ve HMBC (Şekil 4.40) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde PJM-3 maddesinin yapısının tamamı doğrulandı. Çizelge 4.28'deki  $^1\text{H}$ -NMR,  $^{13}\text{C}$ -NMR ve HMBC değerleri literatür ile karşılaştırıldığında, PJM-3 maddesinin ergosterol endoperoksit (Şekil 4.34) olduğu belirlendi (Kahlos vd.,1989, Deveci, 2018).

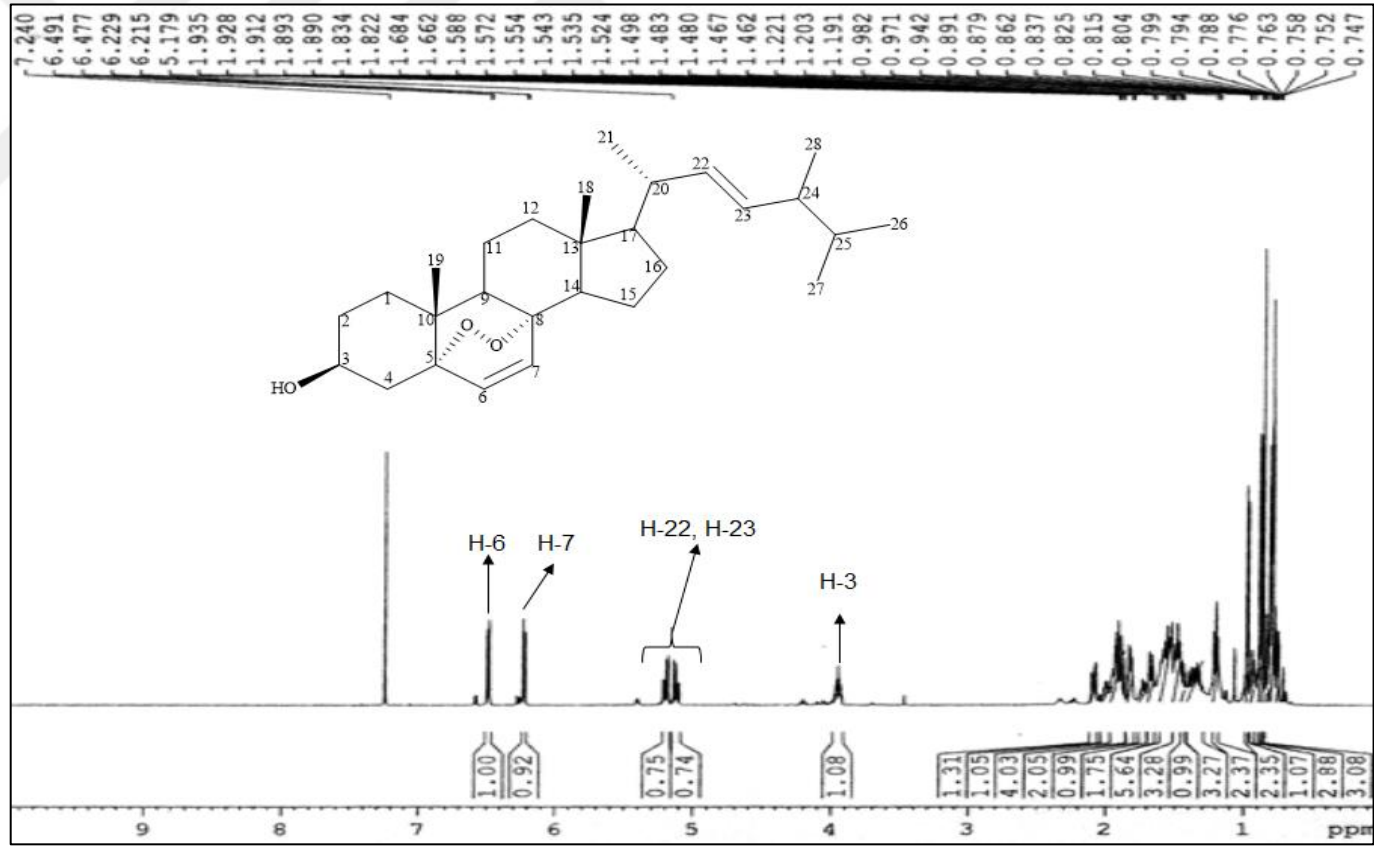
**Çizelge 4.28. Ergosterol endoperoksit (PJM-3)  $^1\text{H}$ -NMR,  $^{13}\text{C}$ -NMR, HMBC ve COSY değerleri**

C.no.	$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\delta$ )	$^1\text{H}$ -NMR ( $\delta$ )	HMBC	COSY
1	36,9	2,10 (1H, <i>m</i> ), 1,91 (1H, <i>m</i> )	C-3, C-4	
2	28,6	1,75 (1H, <i>m</i> ), 1,33 (1H, <i>m</i> )		
3	66,4	3,95 (1H, <i>m</i> )		
4	30,1	1,81 (1H, <i>m</i> ), 1,50 (1H, <i>m</i> )		
5	79,4	-		
6	135,4	6,49 (1H, <i>d</i> , $J = 8,4$ Hz)	C-5, C-8,	H-6
7	130,8	6,22 (1H, <i>d</i> , $J = 8,4$ Hz)	C-5, C-8	
8	82,1	-		
9	39,7	2,01 (1H, <i>m</i> )		
10	35,6	-		
11	23,4	1,49 (1H, <i>m</i> ), 1,20 (1H, <i>m</i> )		H-9
12	28,6	1,94 (1H, <i>m</i> ), 1,24 (1H, <i>m</i> )	C-13	
13	44,6	-		
14	51,0	1,55 (1H, <i>m</i> )	C-13, C-18, C-8, C-15	
15	34,6	1,93 (1H, <i>m</i> ), 1,69 (1H, <i>m</i> )		H-16
16	23,6	1,44 (1H, <i>m</i> ), 1,21 (1H, <i>m</i> )		H-17
17	56,1	1,21 (1H, <i>m</i> )	C-12, C-13, C-14, C-18	
18	12,8	0,79 (3H, <i>s</i> )	C-12, C-13, C-17	
19	17,5	0,86 (3H, <i>s</i> )	C-10, C-5, C-1, C-9	
20	39,8	2,01 (1H, <i>m</i> )	C-22, C-23	
21	20,8	0,98 (3H, <i>d</i> , $J = 6,6$ Hz)	C-17, C-22	
22	135,2	5,14 (1H, <i>d</i> , $J = 9,0$ Hz)	C-23, C-21, C-20, C-24	H-23
23	132,3	5,19 (1H, <i>d</i> , $J = 7,8$ Hz)	C-20, C-24	
24	42,7	1,83 (1H, <i>m</i> )	C-23	H-28
25	33,1	1,44 (1H, <i>m</i> )		

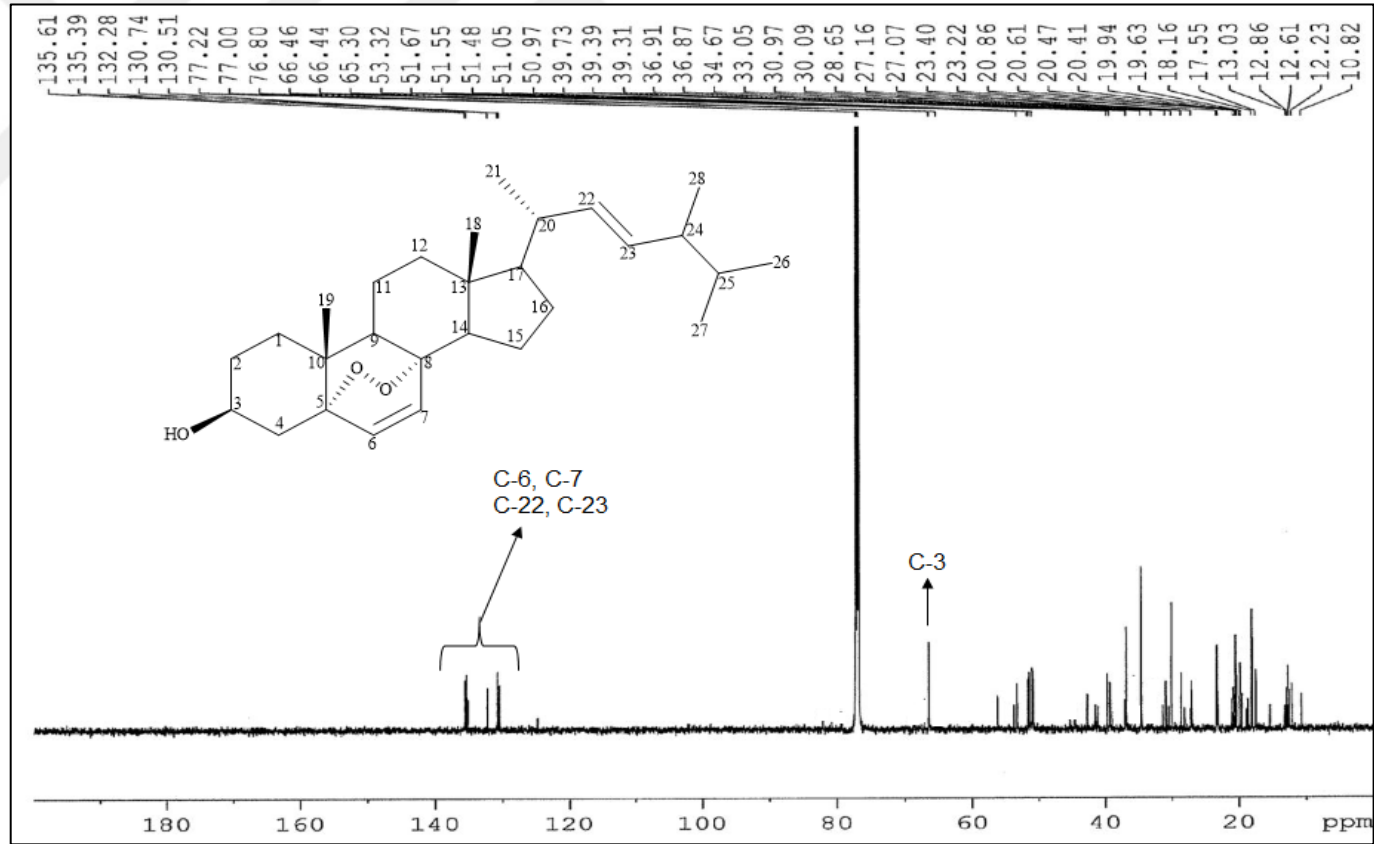
Çizelge 4.28 (devam)

26	19,9	0,80 (3H, $d, J = 7,0$ Hz)	C-25, C-24, C-27	H-27
27	19,7	0,80 (3H, $d, J = 6,5$ Hz)	C-25, C-24, C-26	
28	18,1	0,88 (3H, $d, J = 6,5$ Hz)	C-25, C-24, C-23	

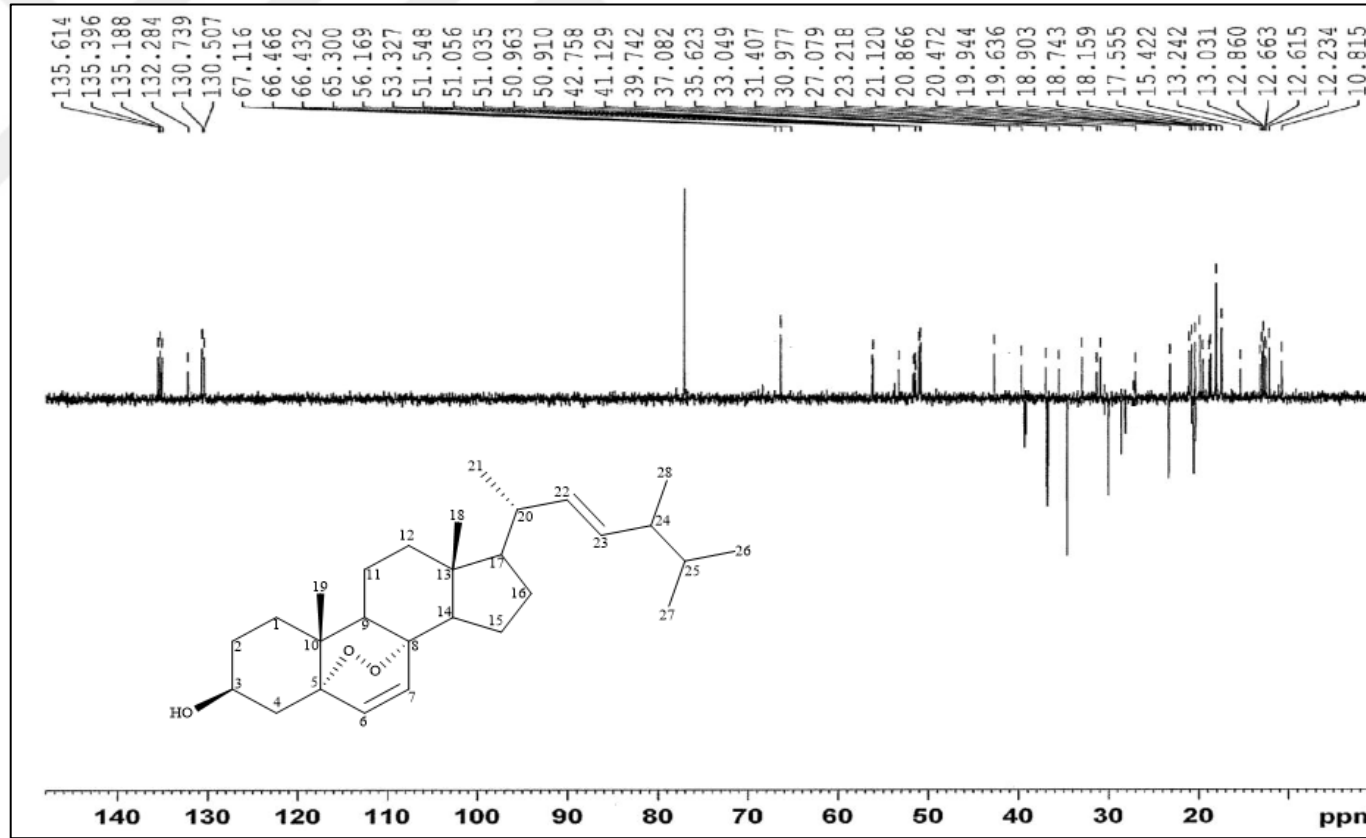




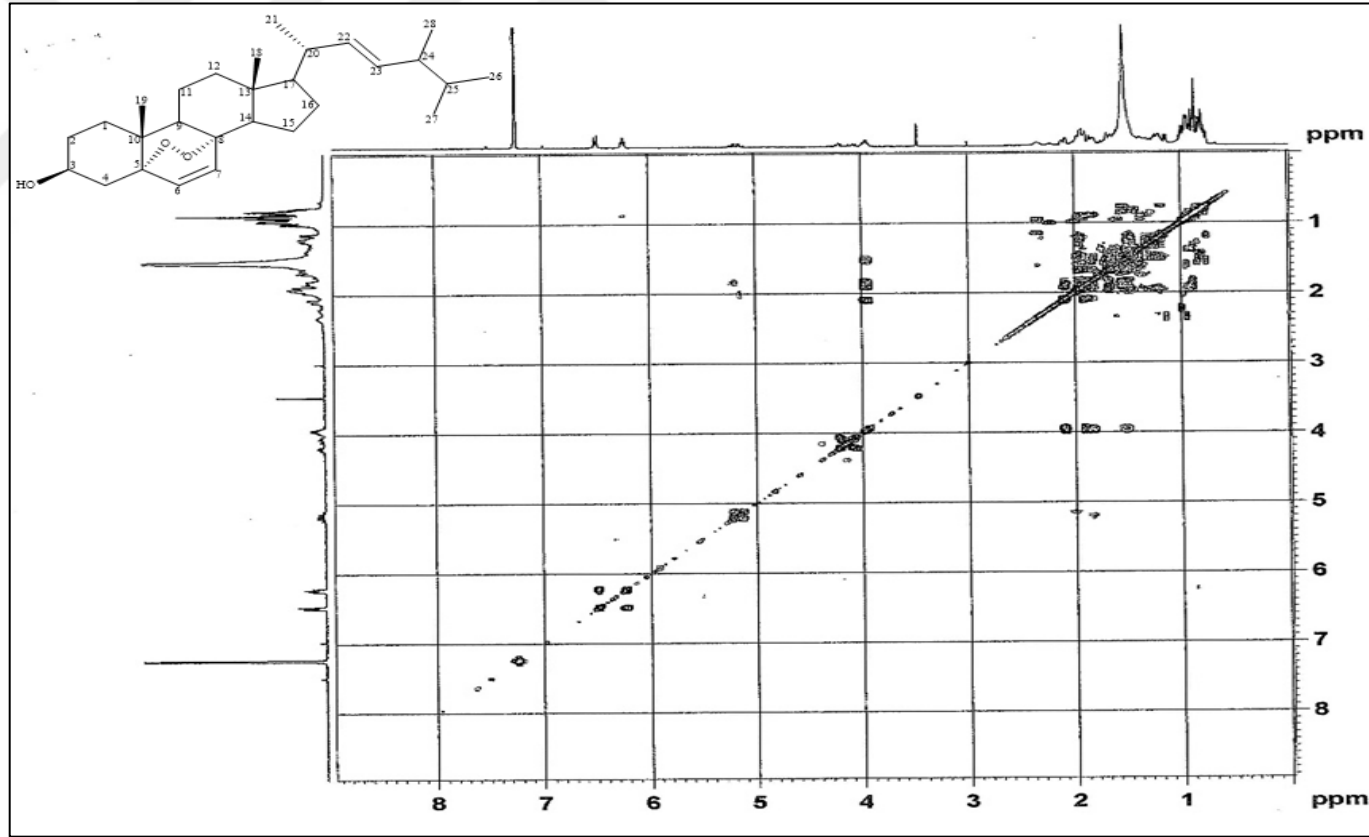
Şekil 4.35. Ergosterol endoperoksit'in (PJM-3) <sup>1</sup>H-NMR spektrumu (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)



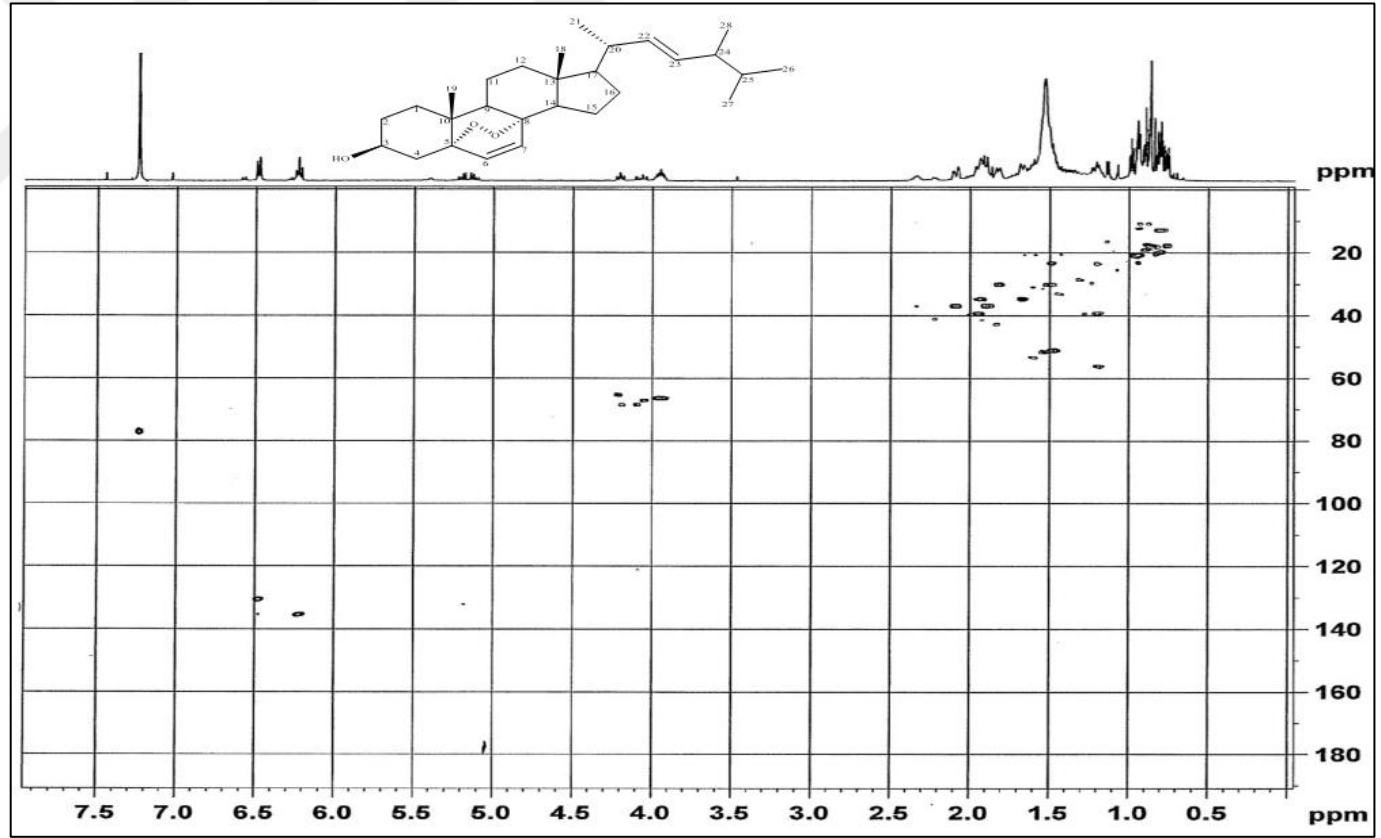
Şekil 4.36. Ergosterol endoperoksit'in (PJM-3) <sup>13</sup>C-NMR spektrumu (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)



Şekil 4.37. Ergosterol endoperoksit'in (PJM-3) DEPT 135 spektrumu

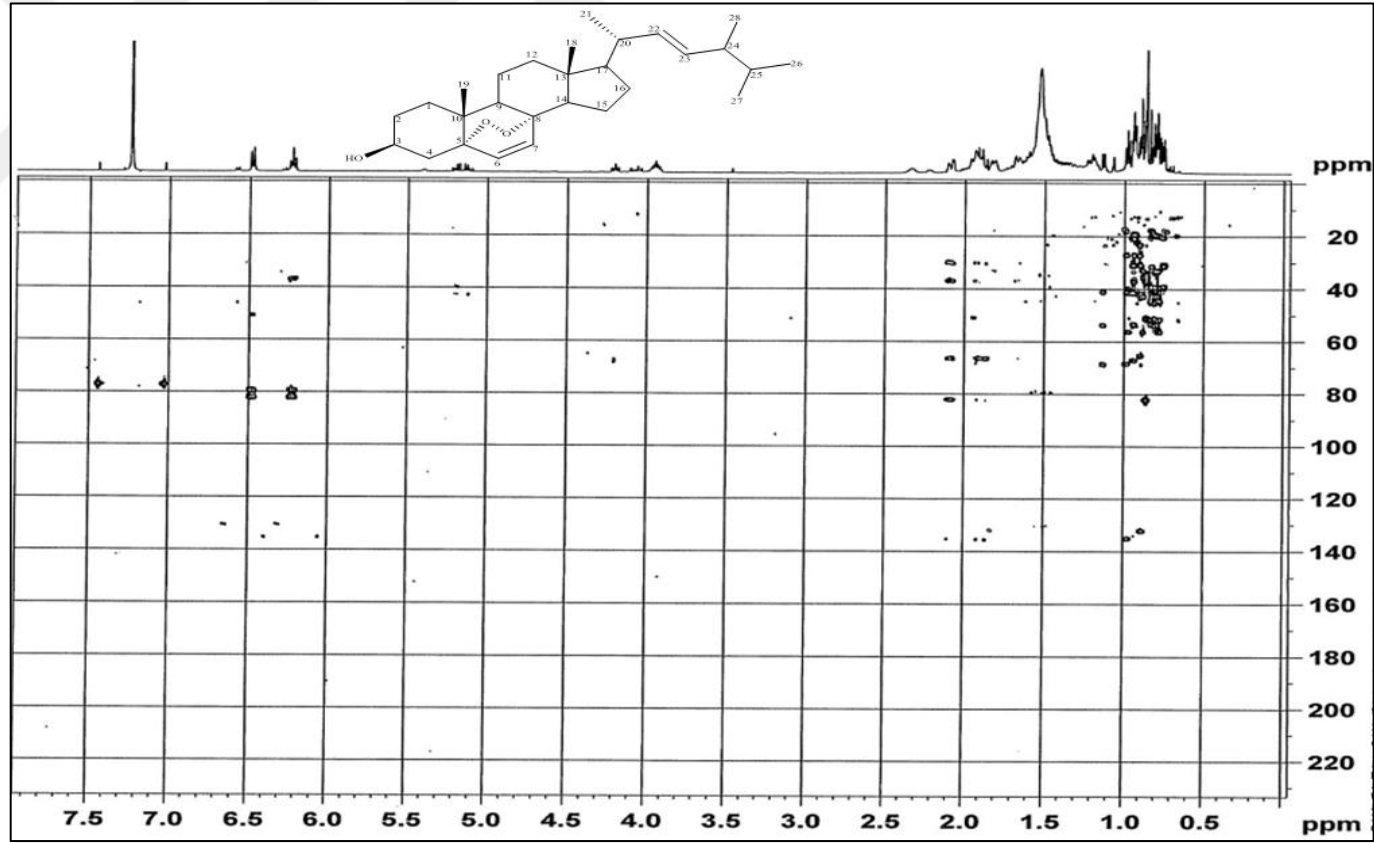


Şekil 4.38. Ergosterol endoperoksit'in (PJM-3) COSY spektrumu

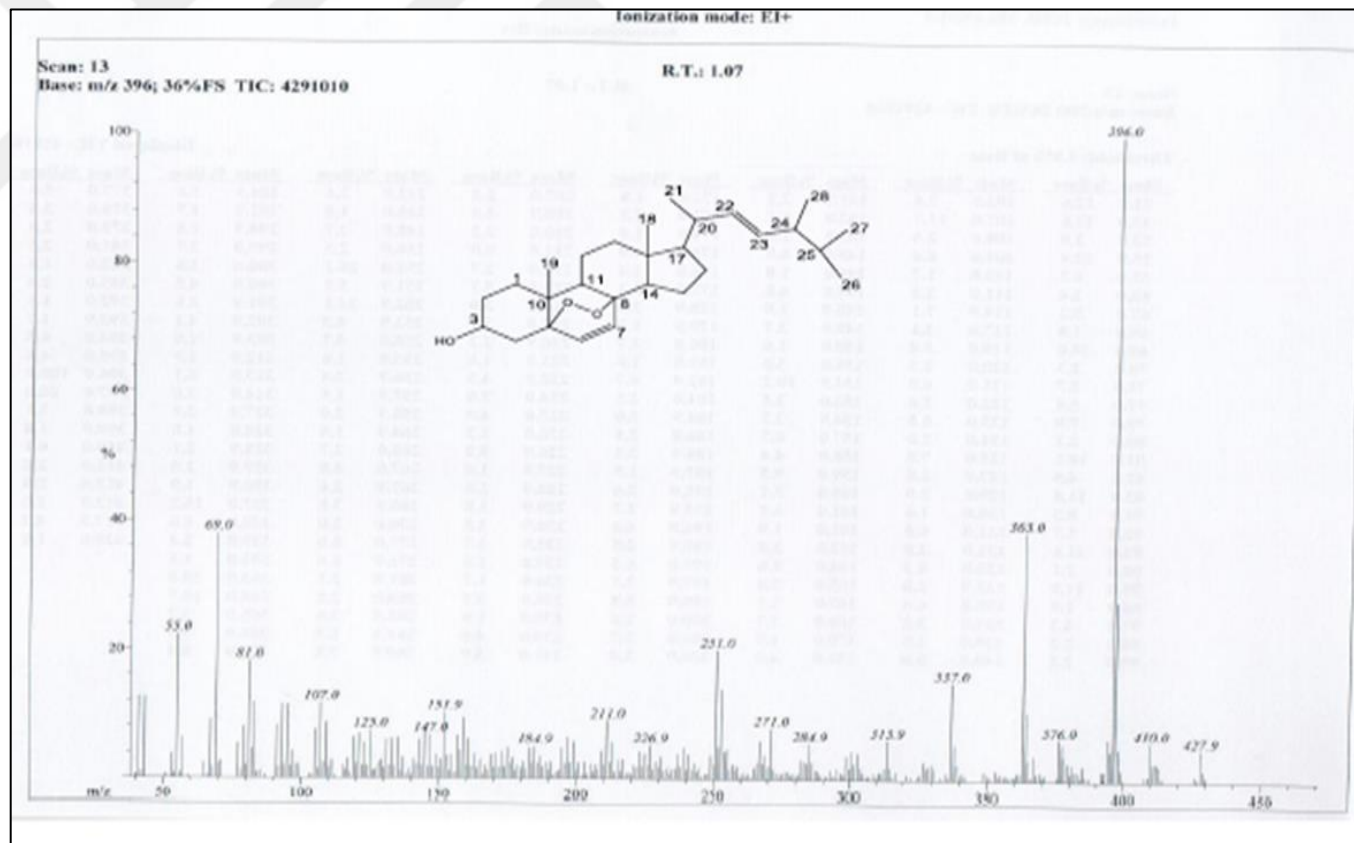


Şekil 4.39. Ergosterol endoperoksit'in (PJM-3) HSQC spektrumu



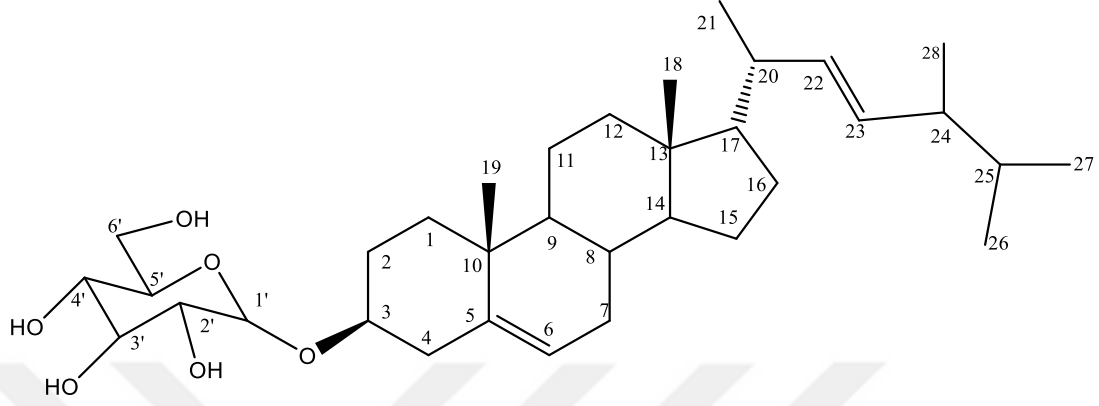


Şekil 4.40. Ergosterol endoperoksit'in (PJM-3) HMBC spektrumu



Şekil 4.41. Ergosterol endoperoksit'in (PJM-3) EI-MS spektrumu

#### 4.7.2.4. Ergosta 5,22-dien 3-O-β-D-glukopiranozit (PJM-4)



**Molekül formülü: C<sub>34</sub> H<sub>56</sub> O<sub>6</sub>**

**Molekül ağırlığı: 560,80**

**Şekil 4.42. Ergosta 5,22-dien 3-O-β-D-glukopiranozit (PJM-4)**

Beyaz renkli olan PJM-4 bileşiği amorf halde elde edildi (7 mg). İnce tabaka kromatografisinde UV 254 nm'de görülmeyen madde, serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) erguvan renk gözlemlendi. Molekül formülü C<sub>34</sub>H<sub>56</sub>O<sub>6</sub> olarak belirlenen PJM-4 numaralı bileşiğin yapısı NMR (1D, 2D), MS, FT-IR teknikleri kullanılarak aydınlatıldı.

FT-IR spektrumunda (Şekil 4.43) gözlenen  $\bar{\nu}$  3370 cm<sup>-1</sup>'de titreşim bandı hidroksil gerilmesini ve  $\bar{\nu}$  2955 cm<sup>-1</sup>'deki titreşim bandı vinilik gerilmeleri göstermiştir.

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda (CD<sub>3</sub>OD, δ(ppm), 600 MHz, Şekil 4.44) δ 0,60 (3H, s, H-18) ve 0,98 (3H, s, H-19) ile δ 0,91 (3H, d, J= 5,52 Hz, H-27), δ 0,76 (3H, d, J= 7,14 Hz, H-26), δ 0,81 (3H, d, J= 6,9 Hz, H-28) ve δ 0,92 (3H, d, J= 6,5 Hz, H-21) ppm'de rezonans olan pikler karakteristik ergostan tipi steroidin metillerine aittir. δ 5,29 (1H, br.s, H-6) ppm ile δ 5,12 (1H, dd, J= 15,1;7,2 Hz, H-22) ve δ 5,10 (1H, dd, J= 15,1; 7,8 Hz, H-23) ve δ 3,49 (1H, m, H-3,) ppm'de rezonans olan pikler ergostan tipi bir steroid yapısını desteklemiştir. δ 3,49 (1H, m, H-3) ppm'de rezonans olan multipl pik C-3 pozisyonunda hidrojenin β konumunda olduğunu da göstermiştir. δ 4,31 (1H,

$d, J=7,8$  Hz,  $H-1'$ ) ppm'de rezonans olan  $H-1'$ , şekerin anomerik protonuna ait olup, şekerin  $\beta$  olduğunu ispatlamaktadır.

$^{13}C$ -NMR spektrumu ( $CD_3OD$ ,  $\delta$ (ppm), 150 MHz, Şekil 4.45) ve HSQC (Şekil 4.46) spektrumu ile değerlendirildiğinde 6 metil, 9 metilen, 16 metin ve 3 katerner karbon gözlemlendi. Aglikon kısmı  $\delta$  140,1 (C-5),  $\delta$  135,7 (C-22),  $\delta$  131,9 (C-23) ve  $\delta$  122,0 (C-6) karakteristik piklerini vererek ergosta tipi steroid olduğunu belirtmiştir. Şeker kısmında  $\delta$  101,0 (C-1') ppm ile  $\delta$  61,6 (C-6') ppm arasında rezonans olan 6 adet karakteristik şeker piki de izlenmiştir.  $\delta$  20,6 (C-21),  $\delta$  19,8 (C-27),  $\delta$  19,7 (C-19),  $\delta$  19,5 (C-26),  $\delta$  17,5 (C-28) ve  $\delta$  11,9 (C-18) ppm'de rezonans olan pikler molekülde bulunan 6 adet metil sinyaline aittir.

HMBC spektrumunda  $\delta$  4,31 (1H,  $d, J=7,8$  Hz,  $H-1'$ ) ppm'de rezonans olan  $H-1'$ , 101,0 ppm'de rezonans olan C-3 ile etkileşmesi şekerin anomerik protonunun, aglikonun C-3 pozisyonuna bağlı olduğunu gösterdi.

Kütle spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.48), moleküler iyon piki  $[M]^+$  gözlenmemiştir.  $m/z$  396  $[M-\text{şeker}]^+$  ve  $m/z$  380  $[C_{28}H_{44}]^+$  parçalanmaları bileşiğin  $C_{34}H_{56}O_6$  kapalı formülünü önermiştir.  $m/z$  163  $[M-C_{28}H_{46}O]^+$  ve  $m/z$  179  $[M-C_{28}H_{45}]^+$  parçalanmaları ise glukoz şekerinin yapıda varlığını göstermiştir.

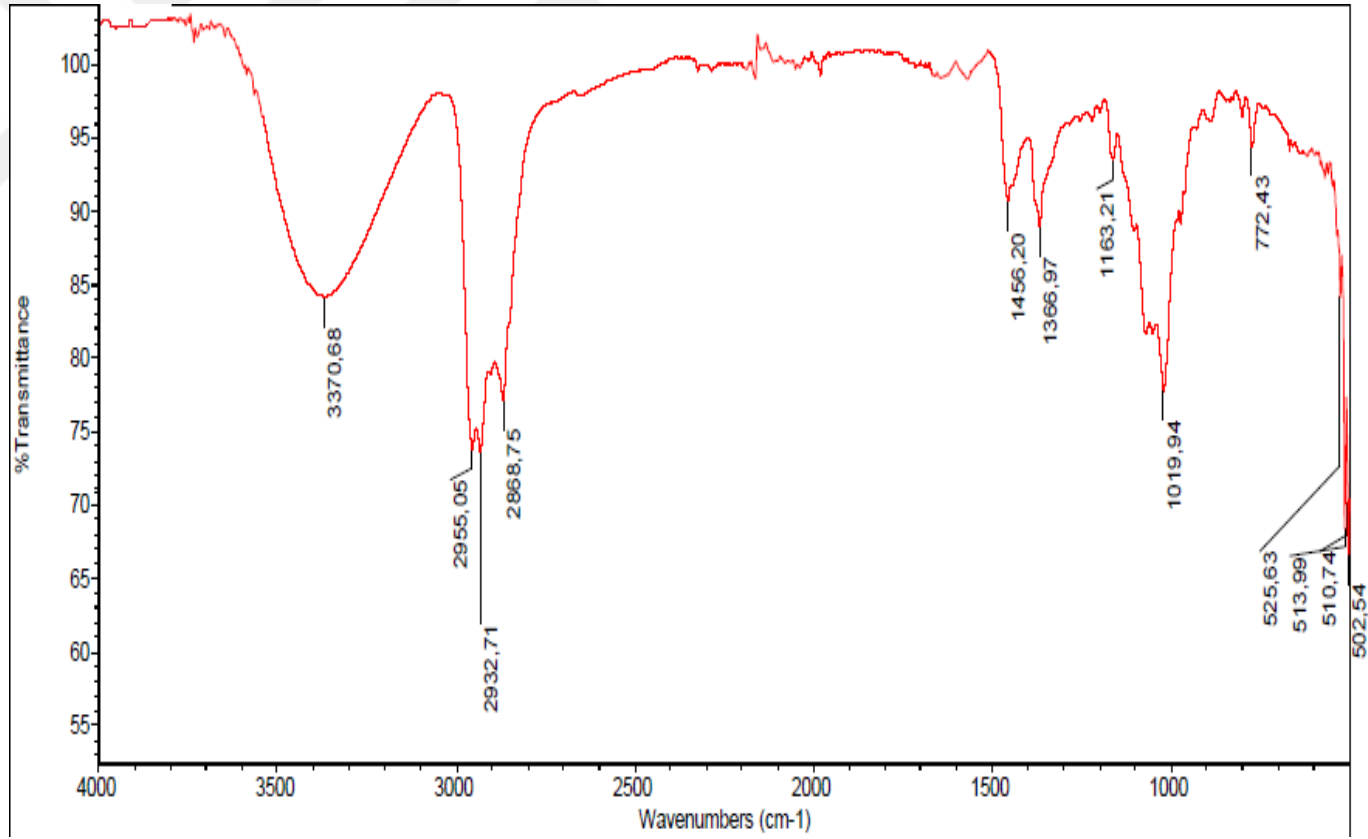
$^1H$ -NMR (Şekil 4.44)  $^{13}C$ -NMR (Şekil 4.45), COSY (Şekil 4.46), HSQC (Şekil 4.47), HMBC (Şekil 4.48) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde PJM-4 maddesinin yapısının tamamı doğrulandı. Çizelge 4.29'daki  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR, HMBC ve COSY değerleri literatür ile karşılaştırıldığında, PJM-4 maddesinin ergosta 5,22-dien 3- $O$ - $\beta$ - $D$ -glukopiranozit (Şekil 4.42) olduğu belirlendi (Jinming vd., 2008).

**Çizelge 4.29. Ergosta 5,22-dien 3- $O$ - $\beta$ - $D$ -glukopiranozit (PJM-4)  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR, HMBC ve COSY değerleri**

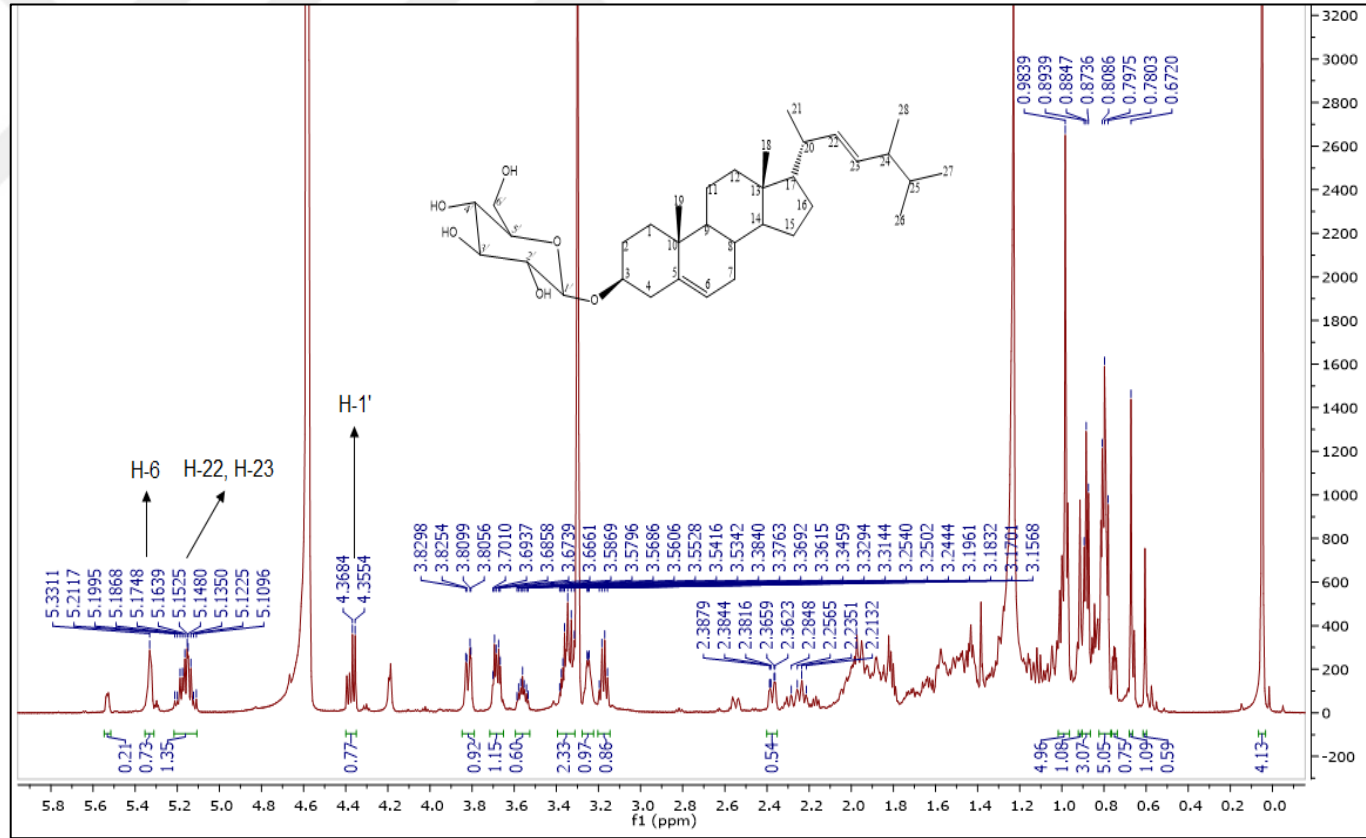
C.no.	$^{13}C$ -NMR ( $\delta$ )	$^1H$ -NMR ( $\delta$ )	HMBC	COSY
1	37,1	1,77 (1H, <i>m</i> ), 0,97 (1H, <i>m</i> )	C-19	
2	24,1	1,44 (1H, <i>m</i> ), 0,97 (1H, <i>m</i> )		H-3
3	79,0	3,49 (1H, <i>m</i> )	C-1'	H-2, H-4
4	38,6	2,3 (1H, <i>m</i> ), 2,18 (1H, <i>m</i> )		H-3
5	140,1	-	C-19	
6	122,0	5,29 (1H, <i>br, s</i> )		
7	31,7	1,49 (1H, <i>m</i> ), 1,17 (1H, <i>m</i> )	C-6	
8	31,8	1,87 (1H, <i>m</i> )		

Çizelge 4.29. (devam)

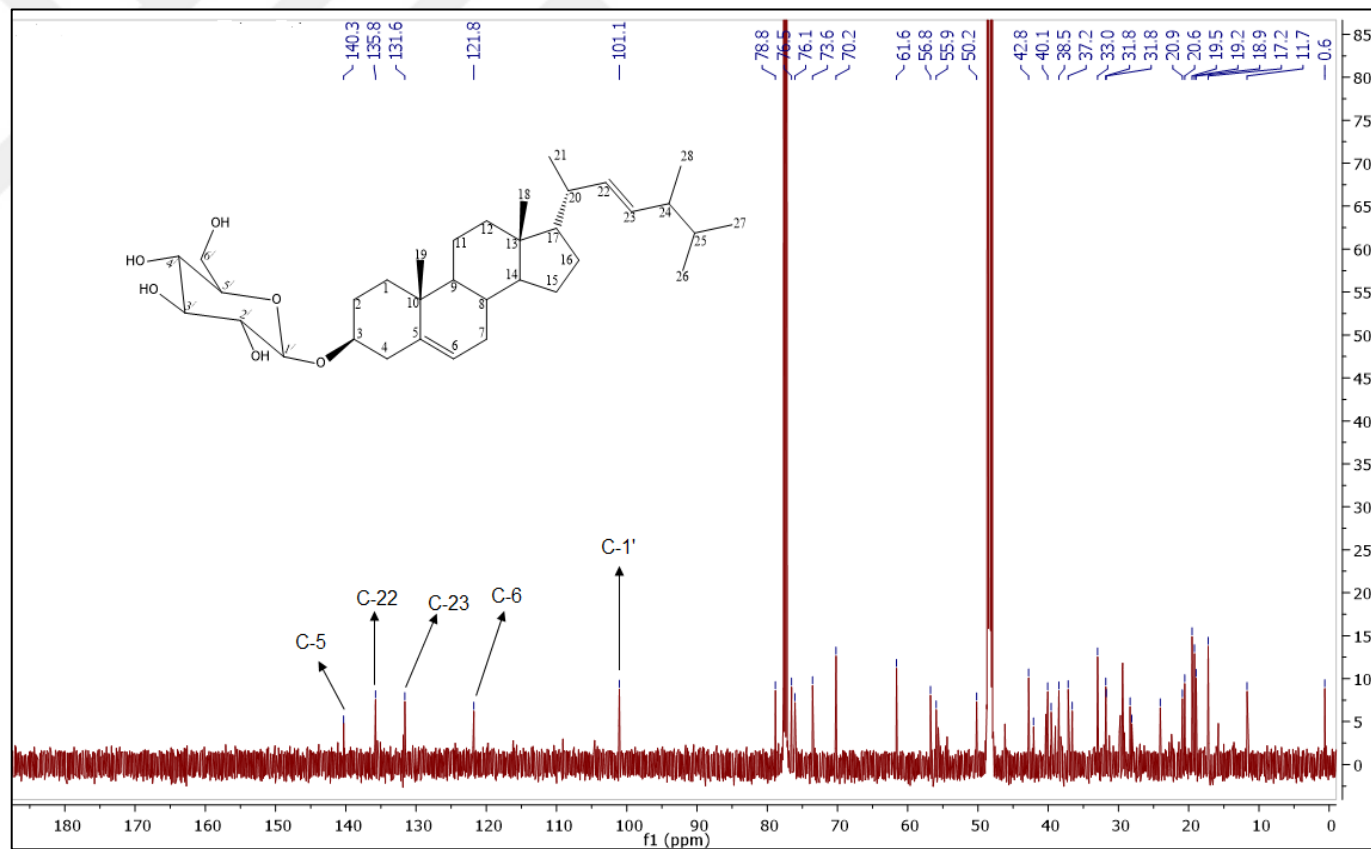
9	50,0	0,83 (1H, <i>m</i> )		
10	36,6	-	C-19	
11	20,9	1,15 (1H, <i>m</i> ), 1,37 (1H, <i>m</i> )	C-19	
12	39,5	1,88 (1H, <i>m</i> ), 1,07 (1H, <i>m</i> )	C-18	
13	42,1	-	C-18	
14	55,7	1,03 (1H, <i>m</i> )	C-17	
15	28,1	1,86 (1H, <i>m</i> ), 1,21 (1H, <i>m</i> )	C-17	
16	29,4	1,77 (1H, <i>m</i> ), 1,17 (1H, <i>m</i> )		
17	56,7	0,92 (1H, <i>m</i> )	C-18	
18	11,9	0,60 (3H, <i>s</i> )	C-14	
19	19,7	0,98 (3H, <i>s</i> )		
20	40,1	1,93 (1H, <i>m</i> )	C-22	
21	20,6	0,92 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,5 Hz)	C-22	
22	135,7	5,12 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 15,1; 7,2 Hz)		
23	131,9	5,10 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 15,1; 7,8 Hz)	C-28	H-24
24	42,7	1,77 (1H, <i>m</i> )	C-22, C-26, C-27, C-28	H-23, H-28
25	32,0	1,36 (1H, <i>m</i> )	C-26, C-27, C-28	H-26
26	19,5	0,76 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,14 Hz)		H-25
27	19,8	0,91 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 5,52 Hz)		
28	17,5	0,81 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,9 Hz)	C-24, C-25	H-24
1'	101,0	4,31 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,8 Hz)		H-2'
2'	73,4	3,18 (1H, <i>m</i> )	C-3', C-4'	H-1', H-3'
3'	76,2	3,37 (1H, <i>m</i> )	C-1', C-2', C-4'	H-2'
4'	69,9	3,34 (1H, <i>m</i> )	C-3'	
5'	75,6	3,18 (1H, <i>m</i> )		H-6'
6'	61,6	3,74 (1H, <i>m</i> ), 3,66 (1H, <i>m</i> )		H-5'



Şekil 4.43. Ergosta 5,22-dien 3-O- $\beta$ -D-glukopiranozit'in (PJM-4) FT-IR spektrumu

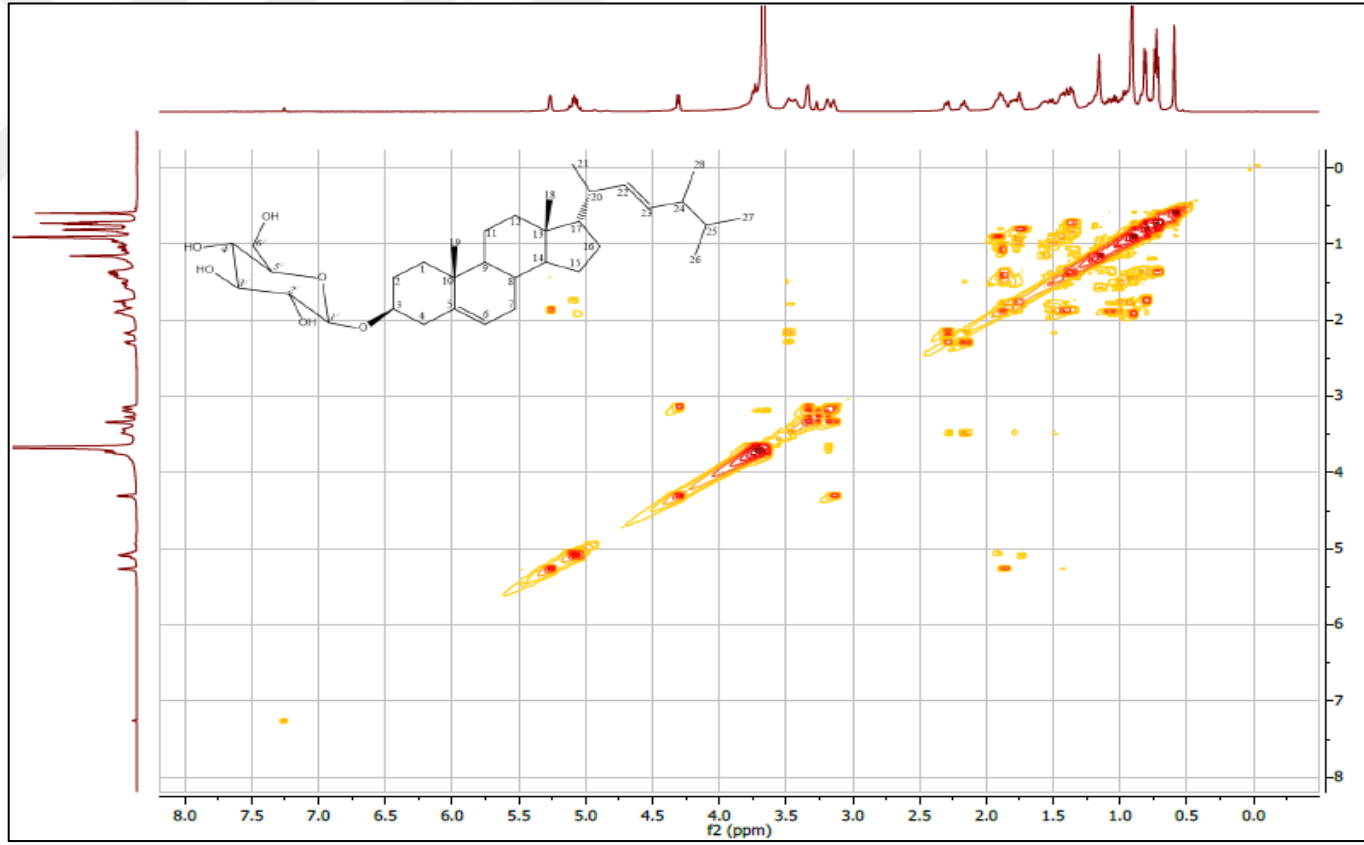


Şekil 4.44. Ergosta 5,22-dien 3-O-β-D-glukopiranozit'in (PJM-4) <sup>1</sup>H-NMR spektrumu (600 MHz; CD<sub>3</sub>OD)

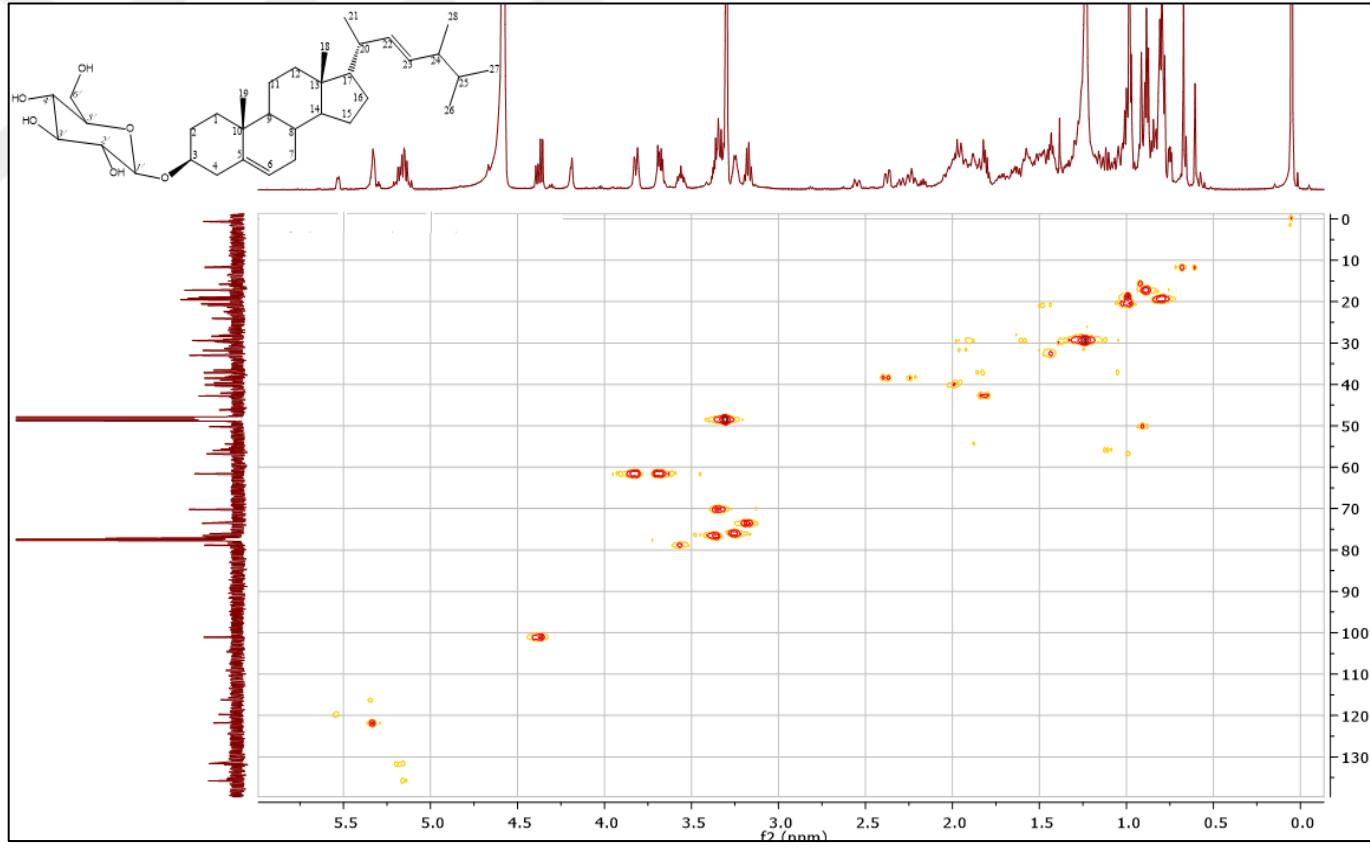


Şekil 4.45. Ergosta 5,22-dien 3-O-β-D-glukopiranozit'in (PJM-4) <sup>13</sup>C-NMR spektrumu (150 MHz; CD<sub>3</sub>OD)

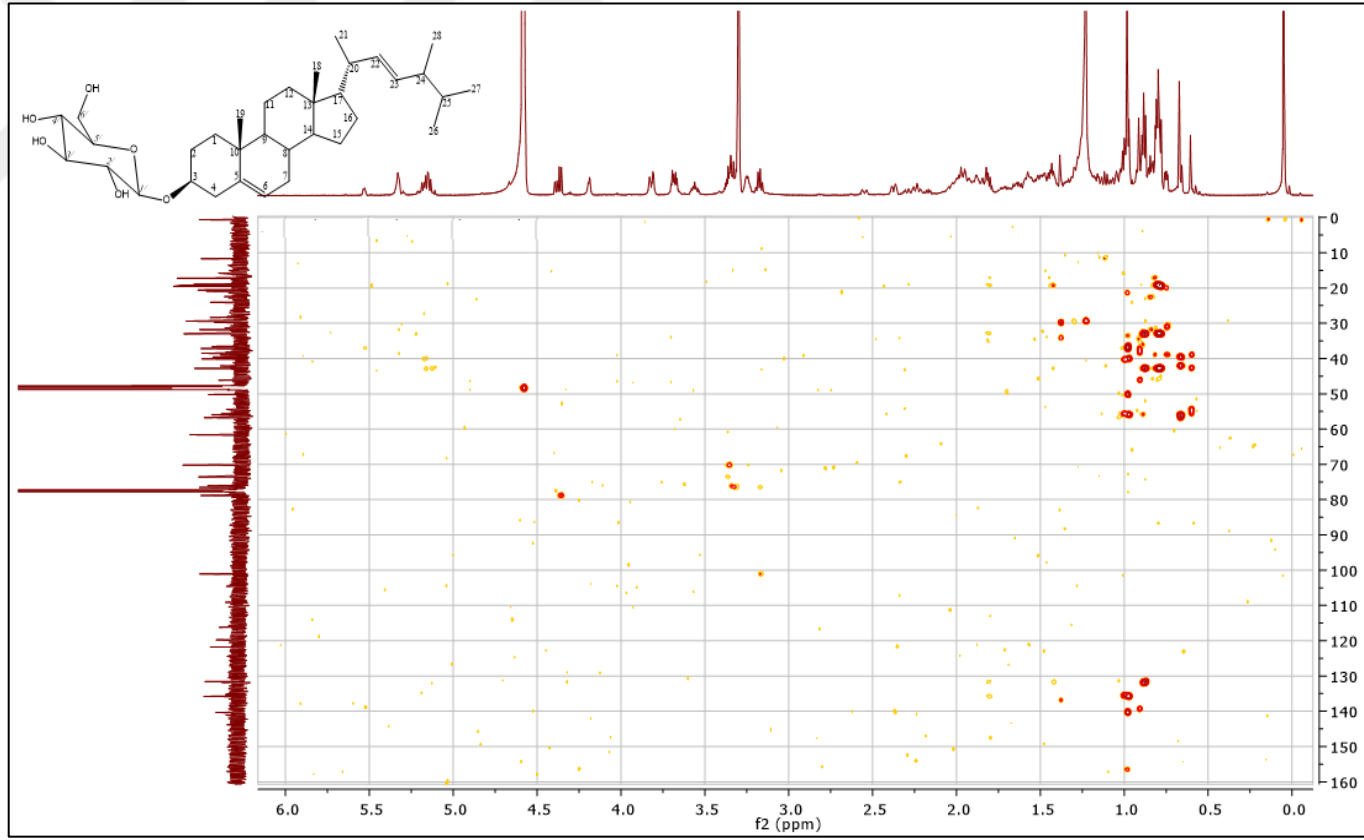




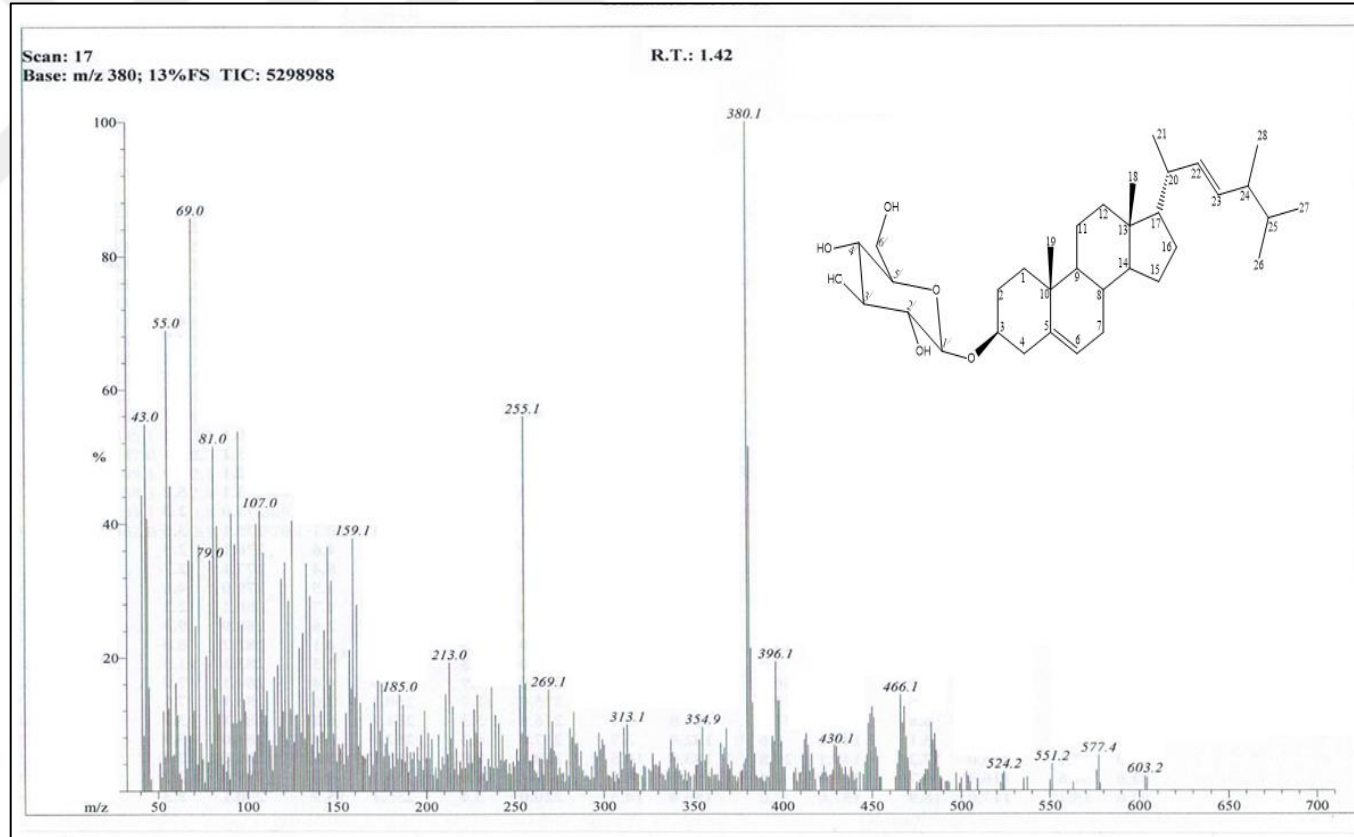
Şekil 4.46. Ergosta 5,22-dien 3-O- $\beta$ -D-glukopiranozit'in (PJM-4) COSY spektrumu



Şekil 4.47. Ergosta 5,22-dien 3-O- $\beta$ -D-glukopiranozit'in (PJM-4) HSQC spektrumu

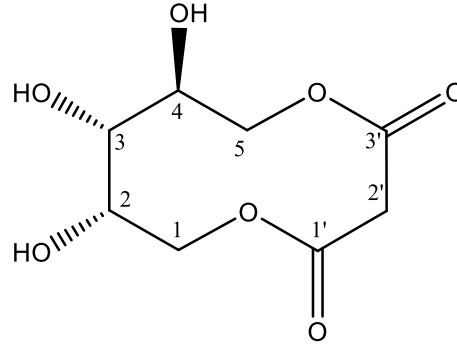


Şekil 4.48. Ergosta 5,22-dien 3-O- $\beta$ -D-glukopiranozit'in (PJM-4) HMBC spektrumu



Şekil 4.49. Ergosta 5,22-dien 3-O-β-D-glukopiranozit'in (PJM-4) EI- MS spektrumu

#### 4.7.2.5. Juniperon A (Yeni Bileşik) ( PJM-5 )



**Molekül formülü: C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>**

**Molekül ağırlığı: 220,00**

**Şekil 4.50. Juniperon A (PJM-5)**

PJM-5 bileşiği sıvı, yapışkan olarak elde edildi (9,5 mg). İnce tabaka kromatografisinde UV 254 nm'de görünmeyen madde, serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) kahverengi renk oluştuğu gözlemlendi. Molekül formülü C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub> olarak belirlenen PJM-5 numaralı bileşiğin yapısı NMR (1D, 2D), MS, FT-IR teknikleri kullanılarak aydınlatıldı. Yeni bir bileşik olduğu düşünülen PJM-5 numaralı bileşiğin ince tabaka kromatografisindeki görüntüsü Şekil 4.60'ta verilmiştir.

FT-IR spektrumunda (Şekil 4.51) maddenin  $\bar{\nu}$  3347 cm<sup>-1</sup>'deki titreşim bandı, hidroksil gerilmesini ve  $\bar{\nu}$  2924 cm<sup>-1</sup>'deki titreşim bandı CH olefinik gerilmesini göstermiştir.

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda (CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$ (ppm), 600 MHz, Şekil 4.52),  $\delta$  1,75 (1H, *d*, *j*=14,04 Hz, H-2') ve 1,56 (1H, *dd*, *j*=11,70; 13,95 Hz, H-2') ppm'de rezonan olan sinyaller C-2'na ait olduğu, oksijene bağlı karbonların hidrojenleri  $\delta$  3,49 (1H, *dd*, *j*=1,74;11,8 Hz, H-1),  $\delta$  3,44 (1H, *dd*, *j*=6,24; 11,6 Hz, H-1),  $\delta$  3,64 (1H, *d*, *j*=6,79 Hz, H-5), 3,59 (1H, *dd*, *J*=12,33; 9,59 Hz) ppm'de rezonans olan pikler olduğu ve ester yapısına bağlı karbonlara ait oldukları belirlenmiştir.

APT-NMR spektrumu (CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$ (ppm), 150 MHz, Şekil 4.53), HSQC (Şekil 4.55) spektrumu ile değerlendirildiğinde 3 metilen, 3 metin ve 2 katerner karbon gözlemlenmiştir. Aşağı alanda  $\delta$  177,2 ppm de rezonans olan pikler C-1' ile C-3' katerner

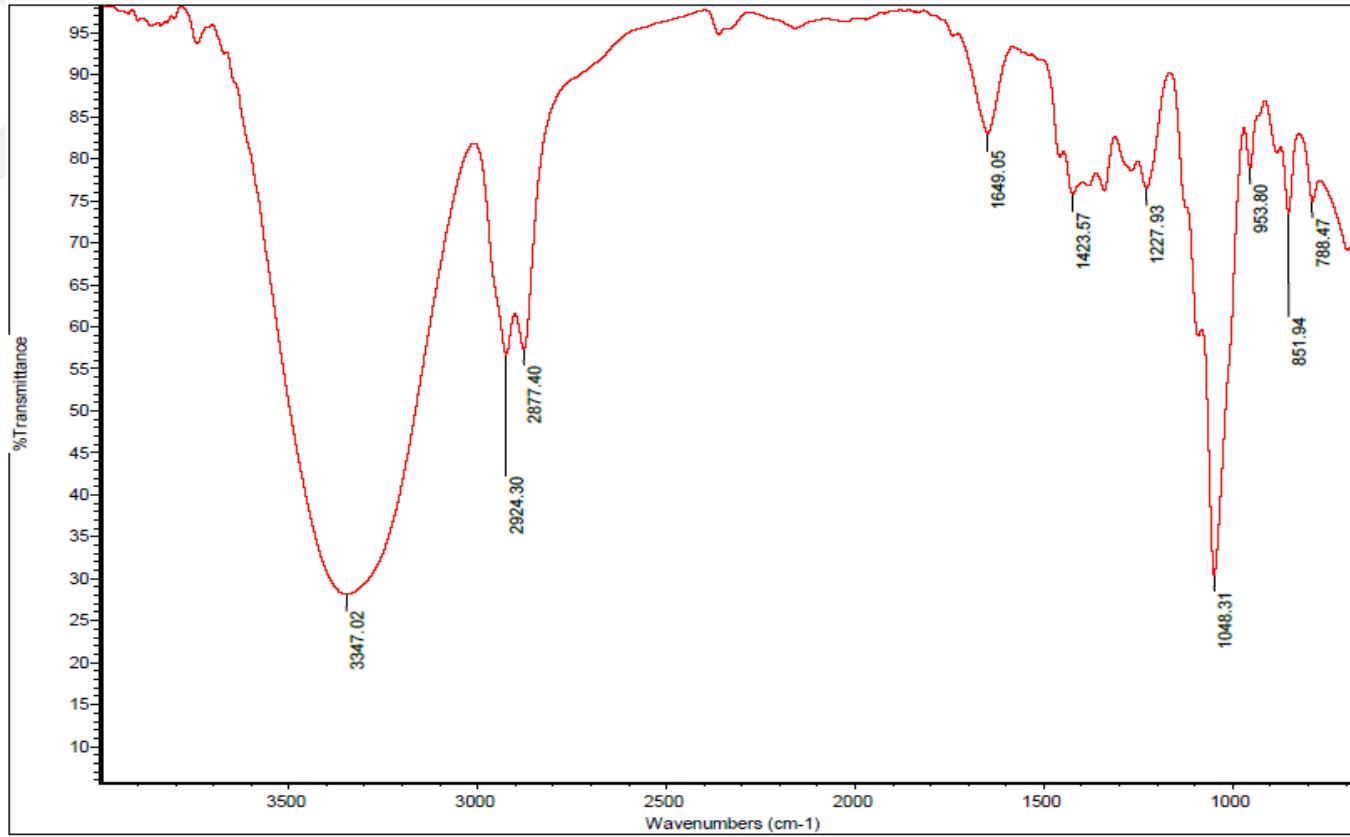
karbonlarına aittir.  $\delta$  67,79 (C-4),  $\delta$  68,77 (C-3),  $\delta$  73,15 (C-2) metin karbonları olup hidroksil bağı pikleri göstermiştir.

Kütle spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.57), moleküler iyon piki  $[M]^+$  gözlenmemiştir. Ancak molekülün sırasıyla parçalanması sonucunda (Şekil 4.58),  $m/z$ :117,1  $[M-C_3H_2O_4]^+$ ,  $m/z$ : 99,04  $[M-C_3H_3O_5]$ ,  $m/z$ : 87,04  $[M-C_4H_4O_5]$  pikleri  $C_8H_{12}O_7$  kapalı formülünü önerdi.

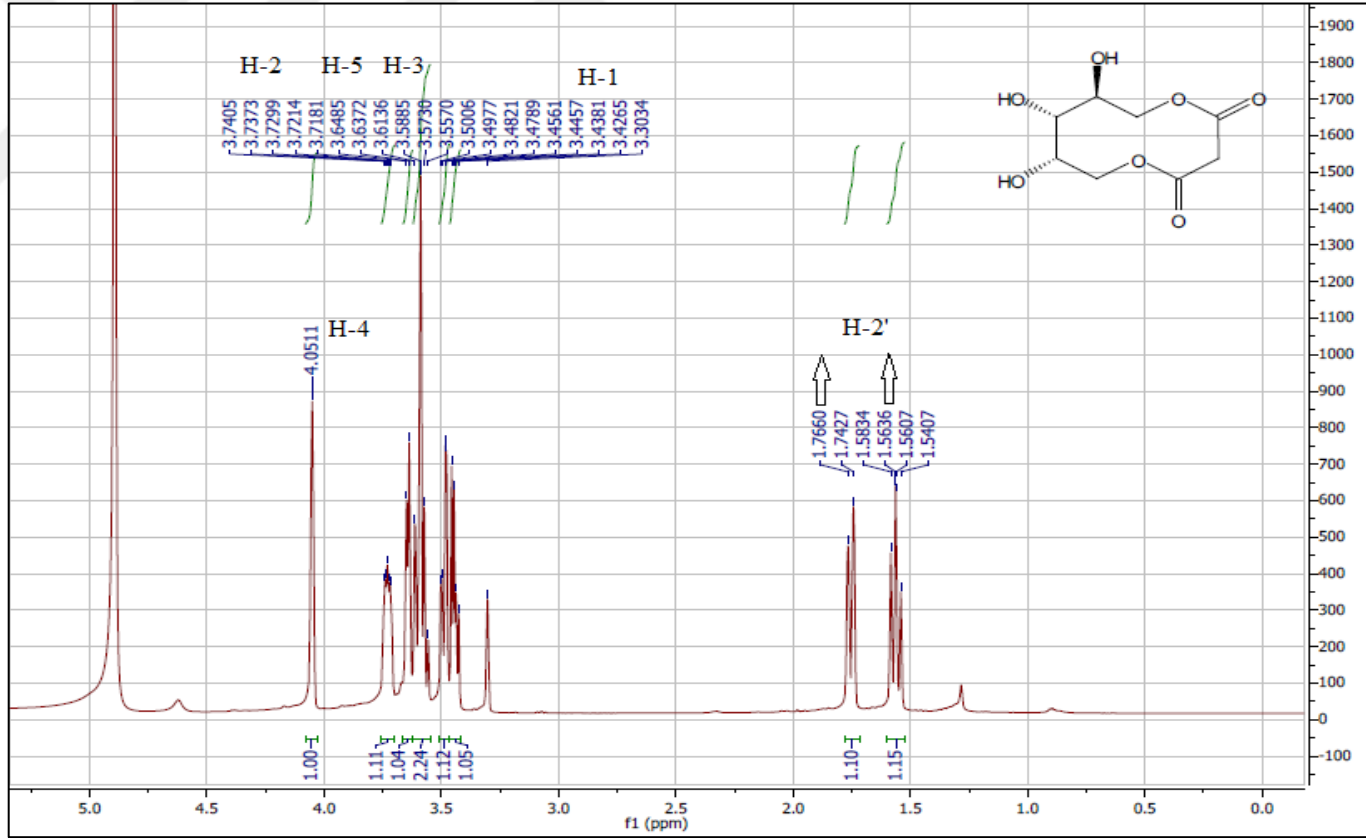
$^1H$ -NMR (Şekil 4.52), APT-NMR (Şekil 4.53), COSY (Şekil 4.54), HSQC (Şekil 4.55), HMBC (Şekil 4.56) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde ve var olan literatür çalışmaları incelendiğinde, Juniperon A bileşiğinin (Şekil 4.50) ilk defa bu tez çalışması ile izole edilmiş yeni bir bileşik olduğu tespit edilmiştir. Juniperon A bileşiğinin  $^1H$ -NMR, APT-NMR, HMBC ve COSY değerleri Çizelge 4.30'da verilmektedir.

**Çizelge 4.30. Juniperon A (PJM-5)  $^1H$ -NMR, APT-NMR, HMBC ve COSY değerleri**

C.no.	APT-NMR ( $\delta$ )	$^1H$ -NMR ( $\delta$ )	HMBC	COSY
1'	177,2	-	C-1	
2'	34,99	1,75 (1H, <i>d</i> , $J = 14,04$ Hz) 1,56 (1H, <i>dd</i> , $J = 11,70, 13,95$ Hz)	C-1	H-3, H-4
3'	177,2	-	C-1	
1	65,91	3,49 (1H, <i>dd</i> $J = 1,74, 11,8$ Hz), 3,44 (1H, <i>dd</i> , $J = 6,24, 11,6$ Hz)	C-2'	
2	73,15	3,73 (1H, <i>td</i> , $J = 6,09; 1,98$ Hz)	C-5, C-1, C-2'	
3	68,77	3,59 (1H, <i>m</i> )	C-5	H-2'
4	67,79	4,05 (1H, <i>s</i> )	C-2', C-3'	H-2'
5	66,77	3,64 (1H, <i>d</i> , $J = 6,79$ Hz), 3,59 (1H, <i>dd</i> , $J = 12,33; 9,59$ Hz)	C-1	

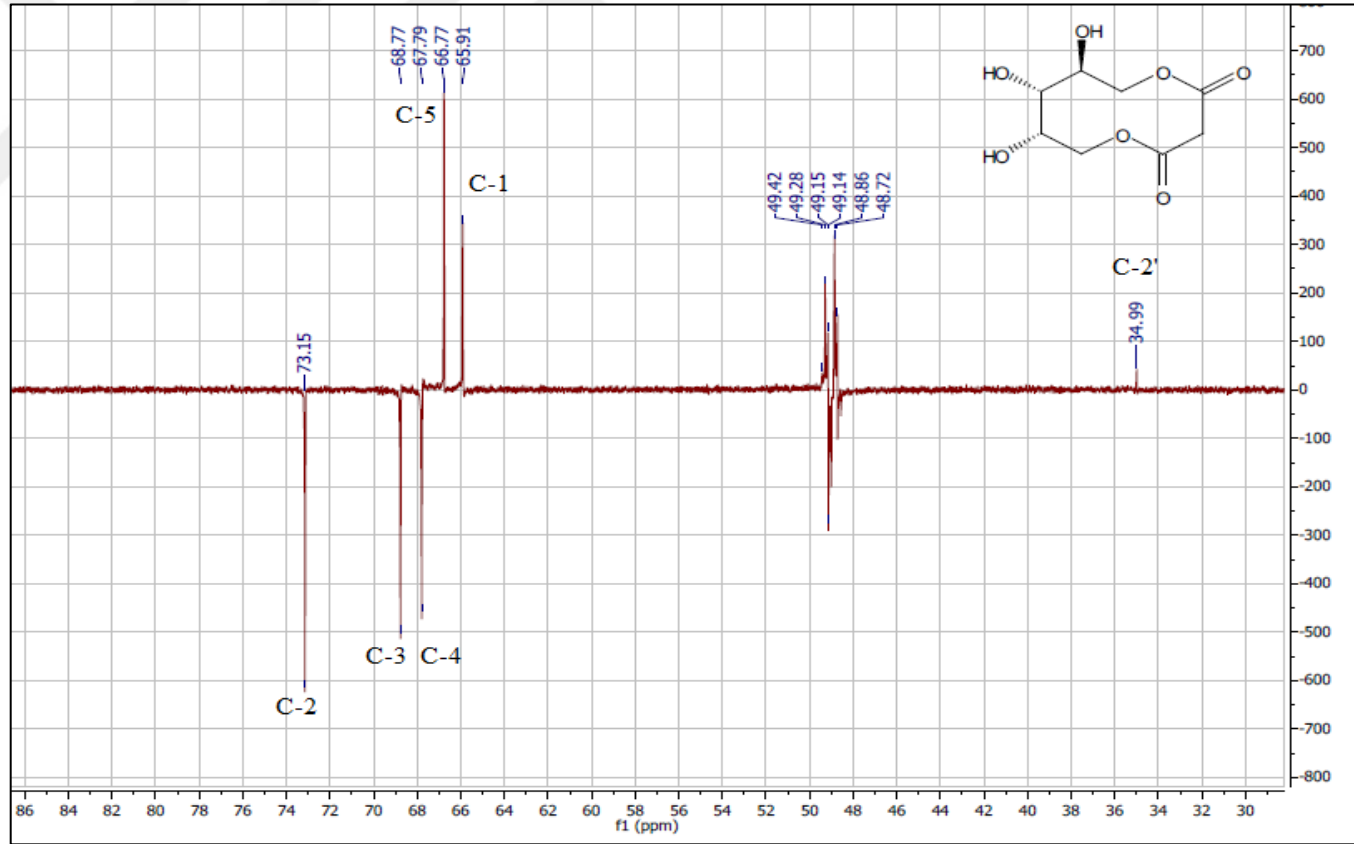


Şekil 4.51. Juniperon A'nın (PJM-5) FT-IR spektrumu

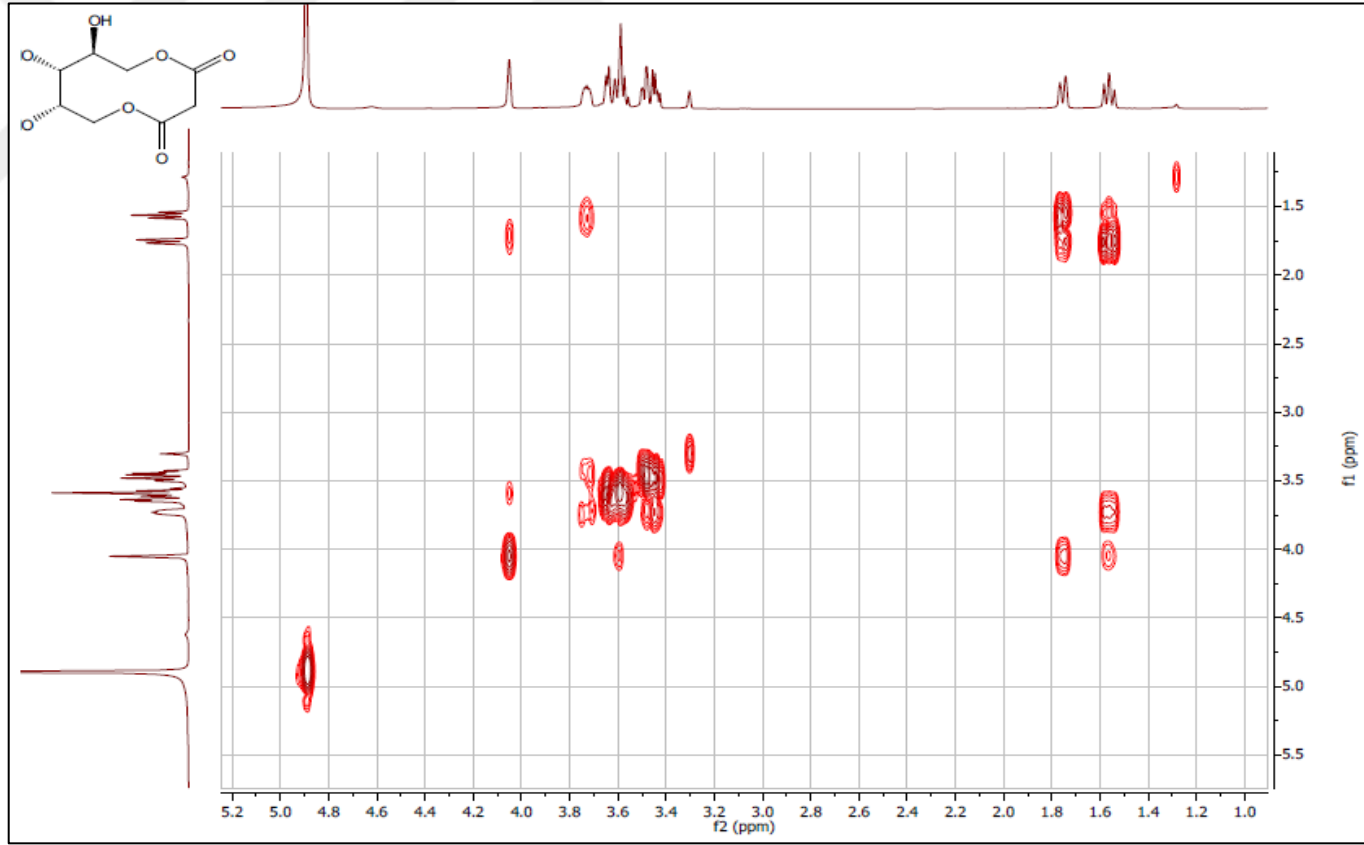


Şekil 4.52. Juniperon A'nın (PJM-5) <sup>1</sup>H-NMR spektrumu (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

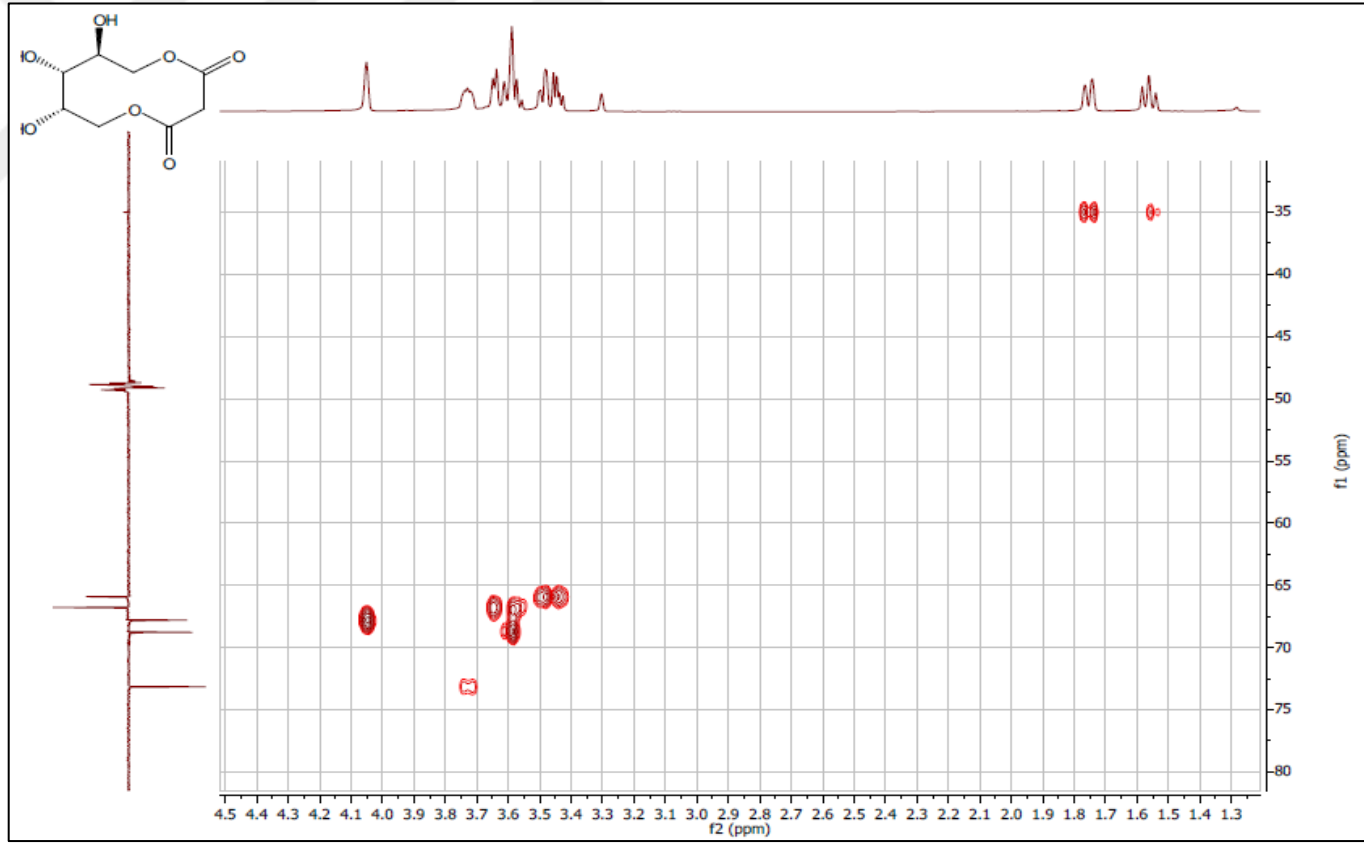




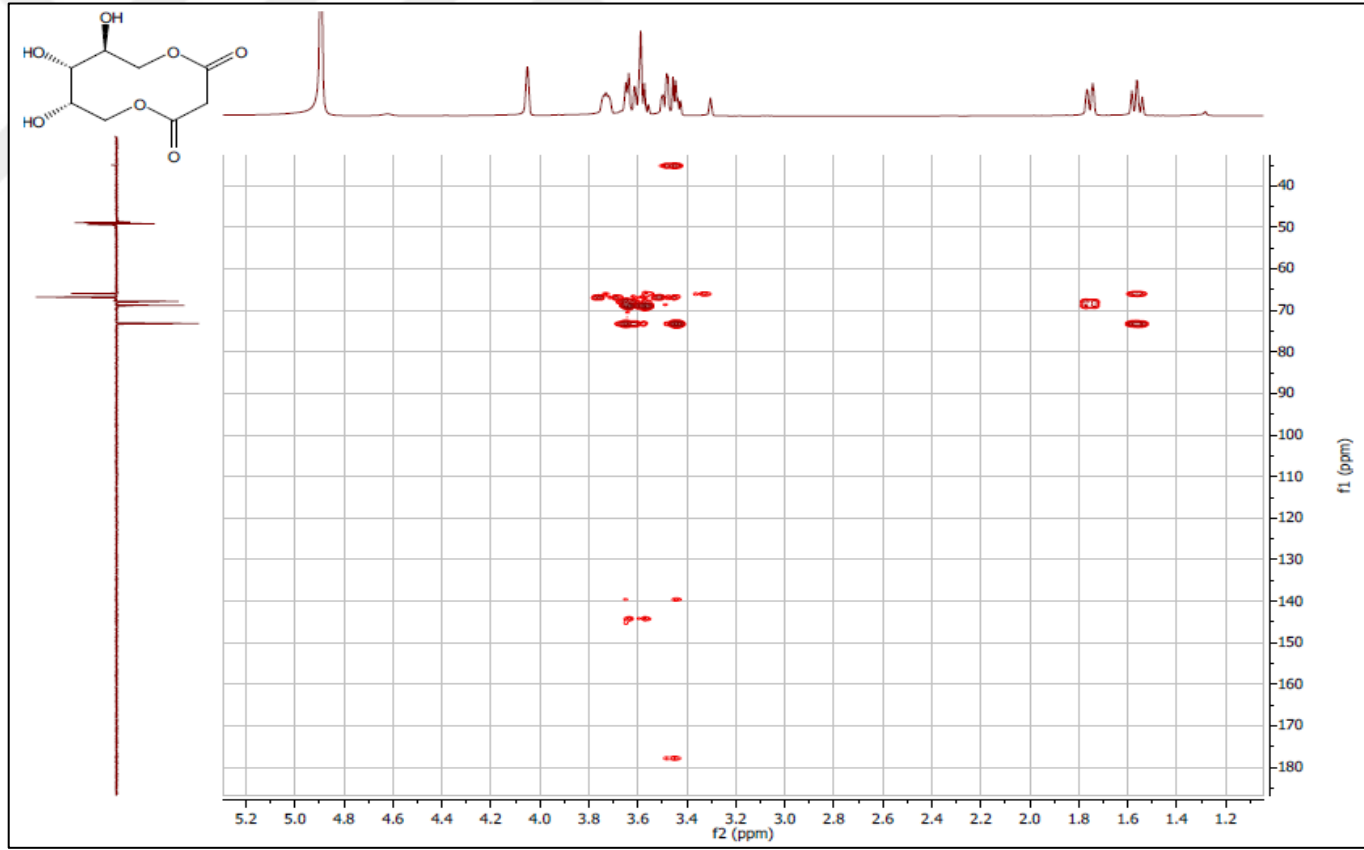
Şekil 4.53. Juniperon A'nın (PJM-5) APT-NMR spektrumu (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)



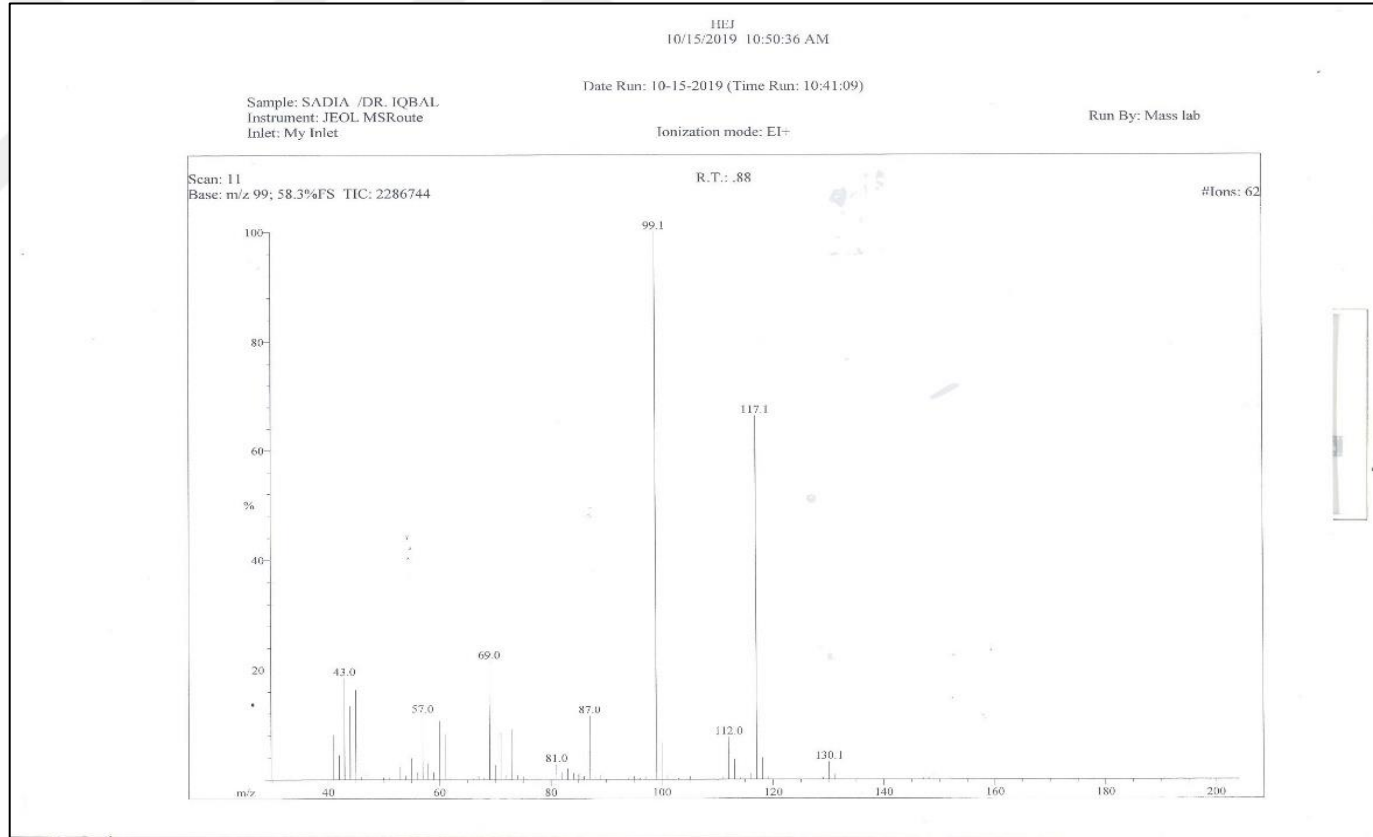
Şekil 4.54. Juniperon A'nın (PJM-5) COSY spektrumu



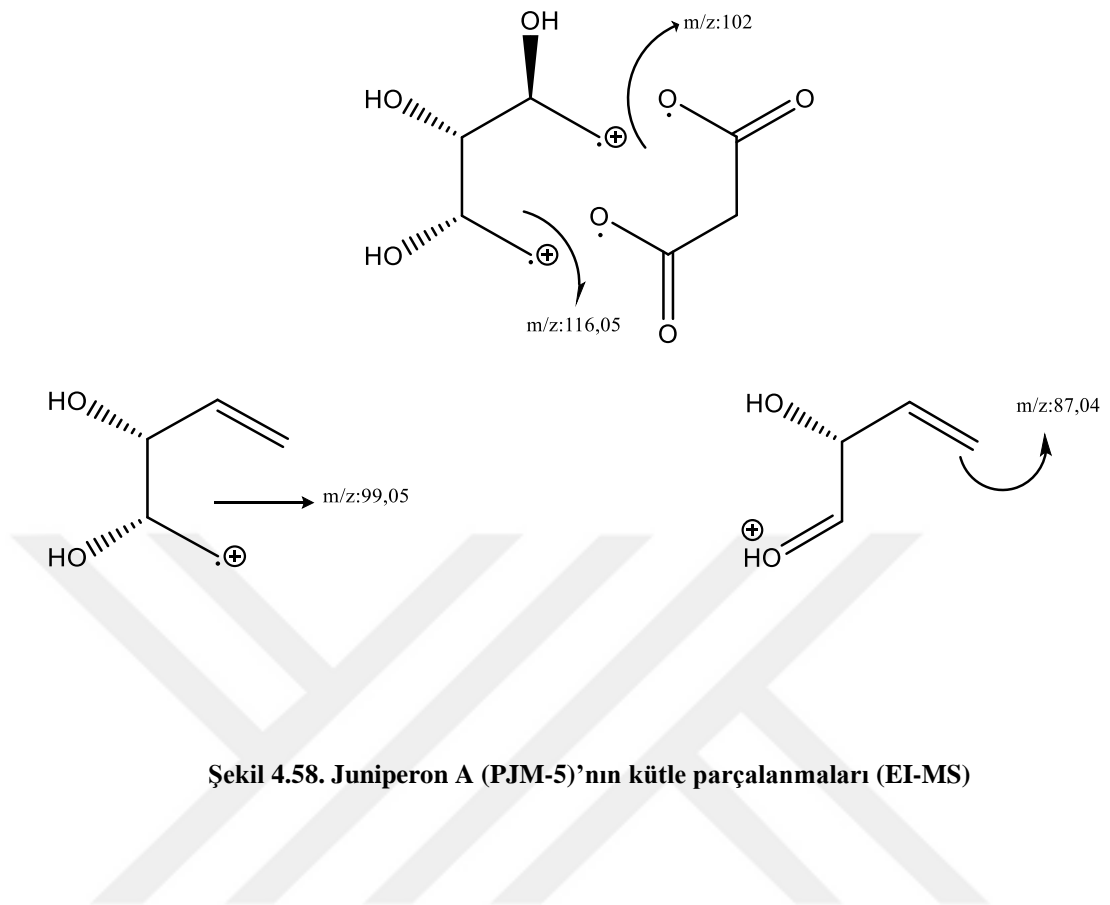
Şekil 4.55. Juniperon A'nın (PJM-5) HSQC spektrumu



Şekil 4.56. Juniperon A'nın (PJM-5) HMBC spektrumu

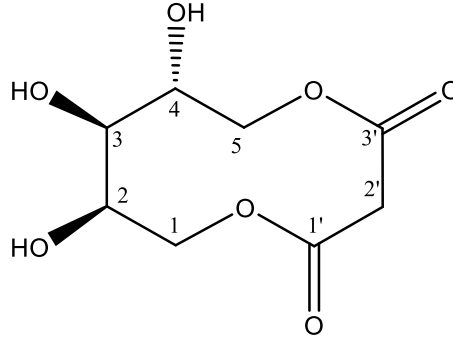


Şekil 4.57. Juniperon A'nın (PJM-5) ESI-MS spektrumu



Şekil 4.58. Juniperon A (PJM-5)'nin kütle parçalanmaları (EI-MS)

#### 4.7.2.6. Juniperon B (Yeni Bileşik) (PJM-6)



Şekil 4.59. Juniperon B (PJM-6)

**Molekül formülü: C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>**

**Molekül ağırlığı: 220,00**

PJM-6 bileşiği sıvı, yapışkan olarak elde edildi (5,6 mg). İnce tabaka kromatografisinde UV 254 nm'de görülmeyen madde, serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) kahverengi renk oluştuğu gözlemlendi. Molekül formülü C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub> olarak belirlenen PJM-6 numaralı bileşiğin yapısı yapı NMR (1D, 2D), MS, FT-IR teknikleri kullanılarak aydınlatıldı. Yeni bir bileşik olduğu düşünülen PJM-6 numaralı bileşiğin ince tabaka kromatografisindeki görüntüsü PJM-5 numaralı bileşik ile birlikte Şekil 4.60'ta verilmiştir.



Şekil 4.60. Juniperon B (PJM-6) ve Juniperon A'nın (PJM-7) İTK ile gösterimi

FT-IR spektrumunda (Şekil 4.61) maddenin  $\bar{\nu}$  3326 cm<sup>-1</sup>'deki titreşim bandı OH gerilmesi ve  $\bar{\nu}$  2917 cm<sup>-1</sup>'deki titreşim bandı CH olefinik gerilmesini göstermiştir.

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda (CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$ (ppm), 600 MHz, Şekil 4.62) 1,91 (1H, *dd*,  $j=12,78$ , 4,99 Hz, H-2'): 1,30 (1H, *q*,  $j=12,09$  Hz, H-2') ppm'de rezonans olan pikler C-2' ait olduğu,  $\delta$  3,90 (1H, *dd*,  $j=11,03$ , 5,16 Hz, H-5);  $\delta$  3,10 (1H, *t*,  $J= 10,76$  Hz, H-

5),  $\delta$  3,50 (1H, *d*,  $J=4,71$  Hz, H-1) ppm'de rezonans olan pikler olduğu ve ester yapısına bağlı karbonlara ait oldukları tespit edilmiştir.

APT-NMR spektrumu (CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$ (ppm), 150 MHz, Şekil 4.63), HSQC (Şekil 4.65) spektrumları ile değerlendirildiğinde 3 metilen, 3 metin ve 2 katerner karbon gözlenmiştir. Aşağı alanda  $\delta$  176,4 ppm de rezonans olan pikler C-1' ile C-3' katerner karbonlarına aittir.  $\delta$  72,90 (C-4),  $\delta$  73,73 (C-3),  $\delta$  78,48 (C-2) metin olup hidroksil bağlı pikleri göstermiştir.

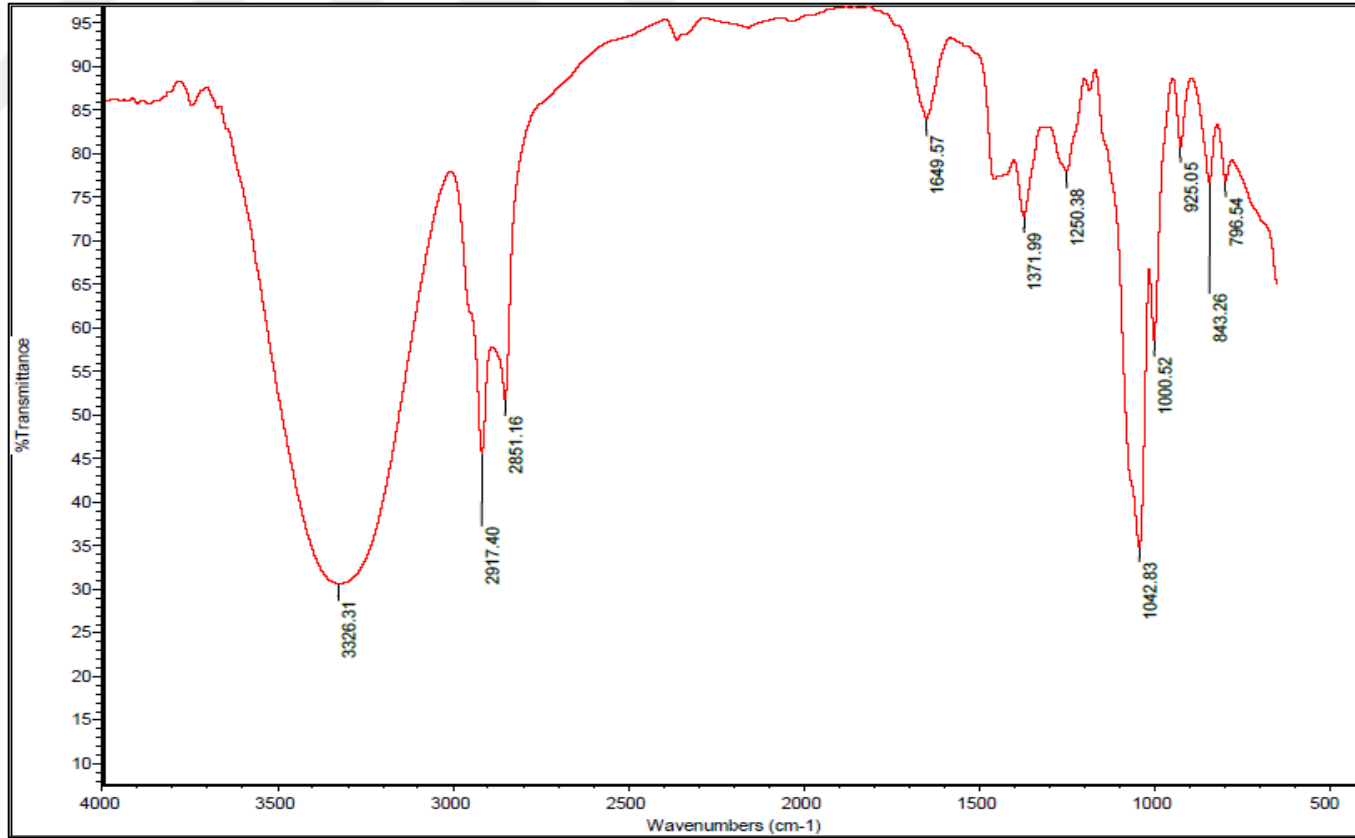
Kütle spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.67), moleküler iyon piki [M]<sup>+</sup> gözlenmemiştir. Ancak molekülün sırasıyla parçalanması sonucunda (Şekil 4.68),  $m/z$ : 117,1 [M-C<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup>,  $m/z$  99,04 [M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>O<sub>5</sub>],  $m/z$  87,04 [M-C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>5</sub>] pikleri C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub> kapalı formülünü önermiştir.

<sup>1</sup>H-NMR (Şekil 4.62), APT-NMR (Şekil 4.63), COSY (Şekil 4.64), HSQC (Şekil 4.65), HMBC (Şekil 4.66) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde ve varolan literatür çalışmaları incelendiğinde, Juniperon B bileşiğinin ilk defa bu tez çalışması ile izole edilmiş yeni bir bileşik olduğu tespit edilmiştir. Juniperon B bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR, APT-NMR, HMBC ve COSY değerleri Çizelge 4.31'de verilmektedir.

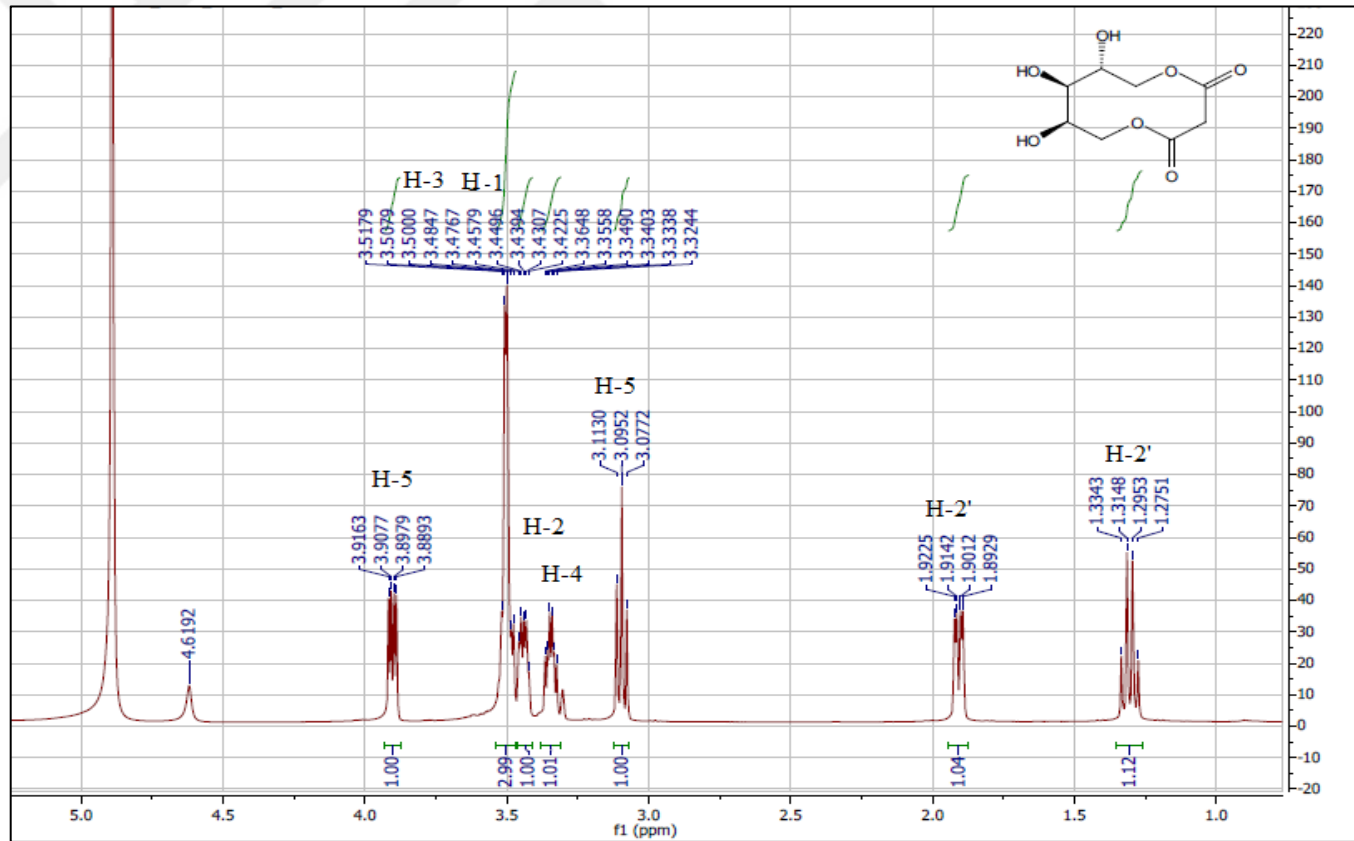
**Çizelge 4.31. Juniperon B'nin (PJM-6) <sup>1</sup>H-NMR, APT-NMR, HMBC ve COSY değerleri**

C.no.	APT-NMR ( $\delta$ )	<sup>1</sup> H-NMR ( $\delta$ )	HMBC	COSY
1'	176,4	-	C-1	
2'	36,42	1,91 (1H, <i>dd</i> , $J = 12,78; 4,99$ Hz) 1,30 (1H, <i>q</i> , $J=12,09$ Hz)	C-1	
3'	176,4	-	C-1	
1	65,74	3,50 (1H, <i>d</i> , $J=4,71$ Hz)	C-2', C-2	H-2'
2	78,48	3,44 (1H, <i>dt</i> , $J=10,12; 4,95$ Hz)	C-2', C-5', C-3, C-1	H-2'
3	73,73	3,50 (1H, <i>m</i> )	C-5	H-2'
4	72,90	3,34 (1H, <i>td</i> , $J=9,48; 5,50$ Hz)	C-2'	H-5
5	71,00	3,90 (1H, <i>dd</i> , $J=11,03; 5,16$ Hz) 3,10 (1H, <i>t</i> , $J=10,76$ Hz)		H-4

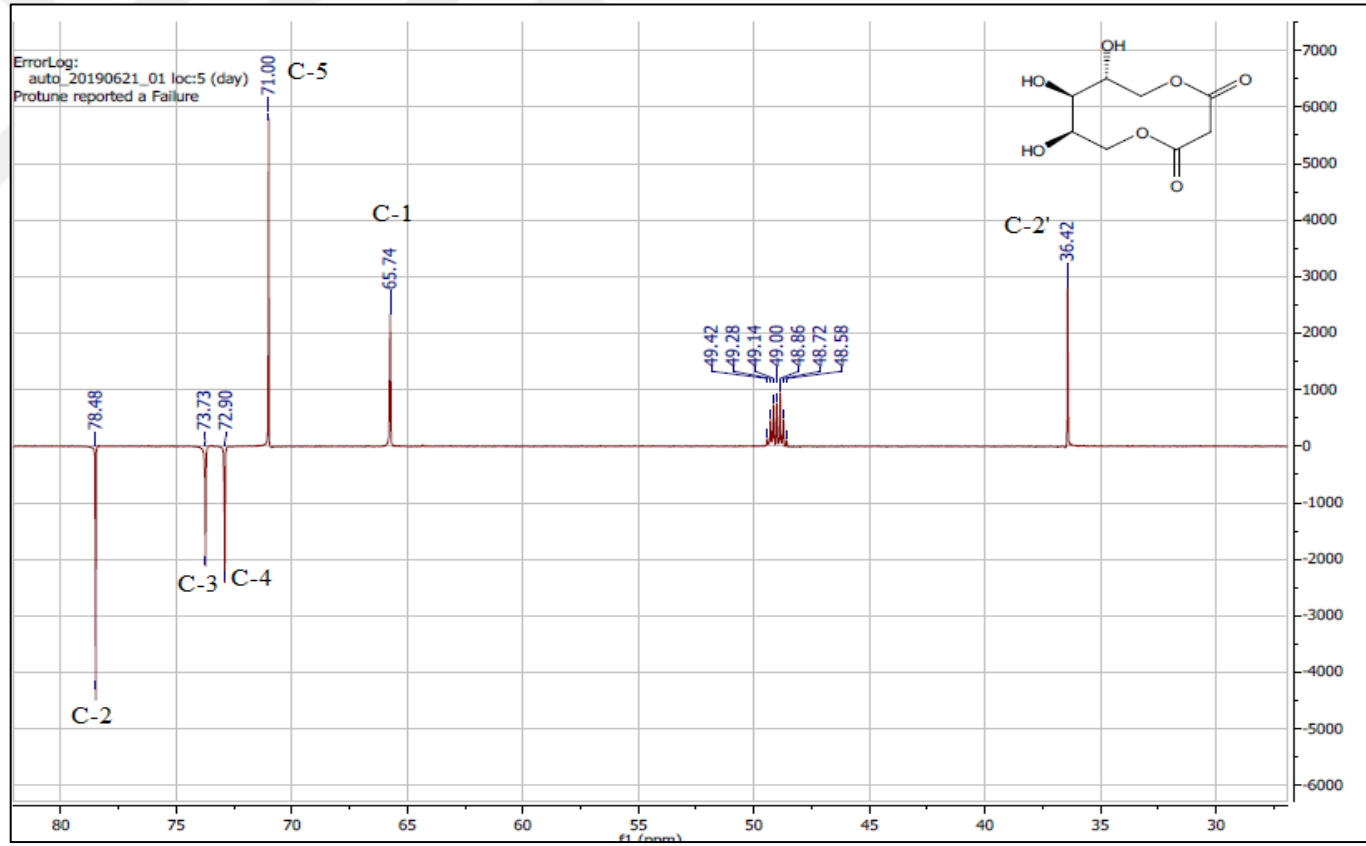




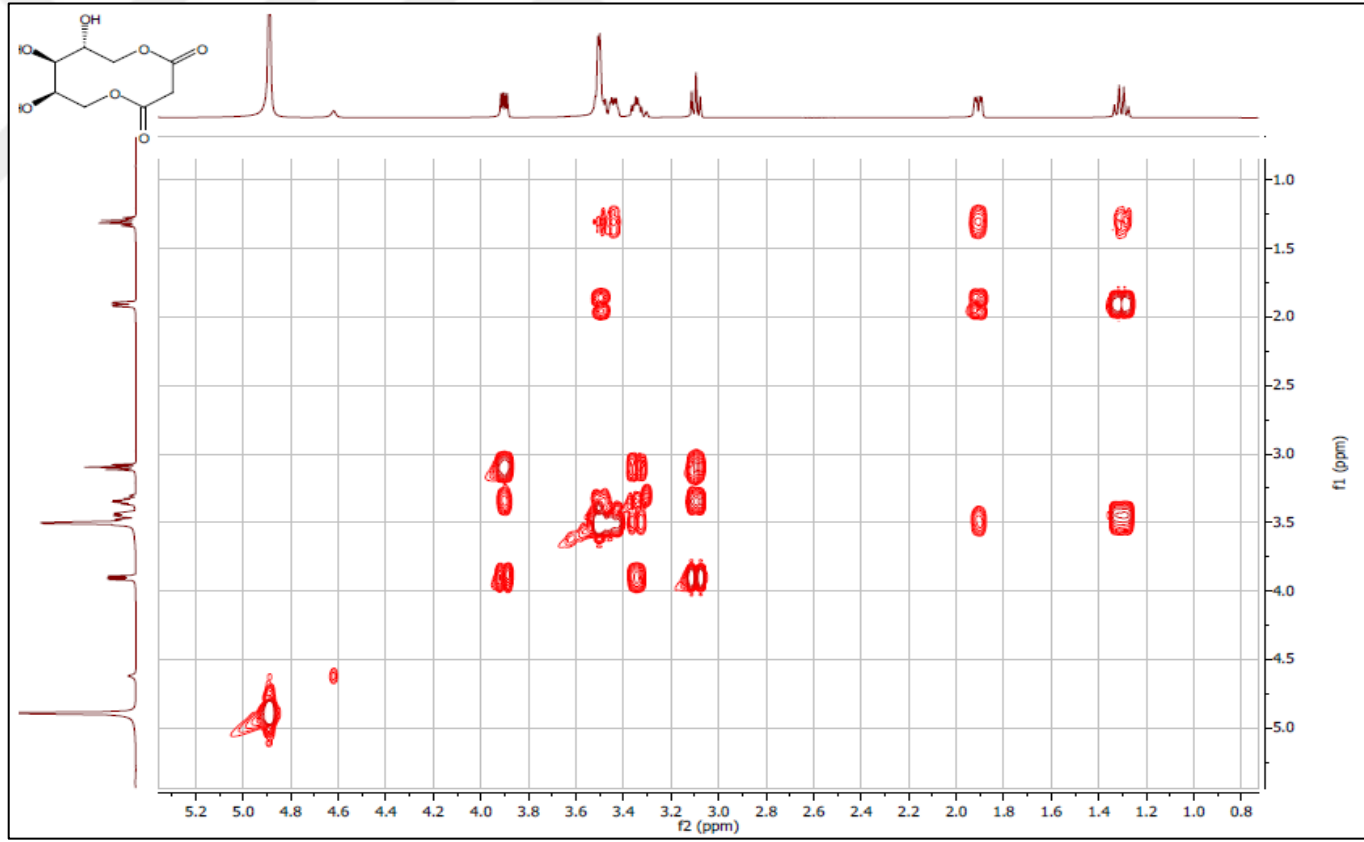
Şekil 4.61. Juniperon B'nin (PJM-6) FT-IR spektrumu



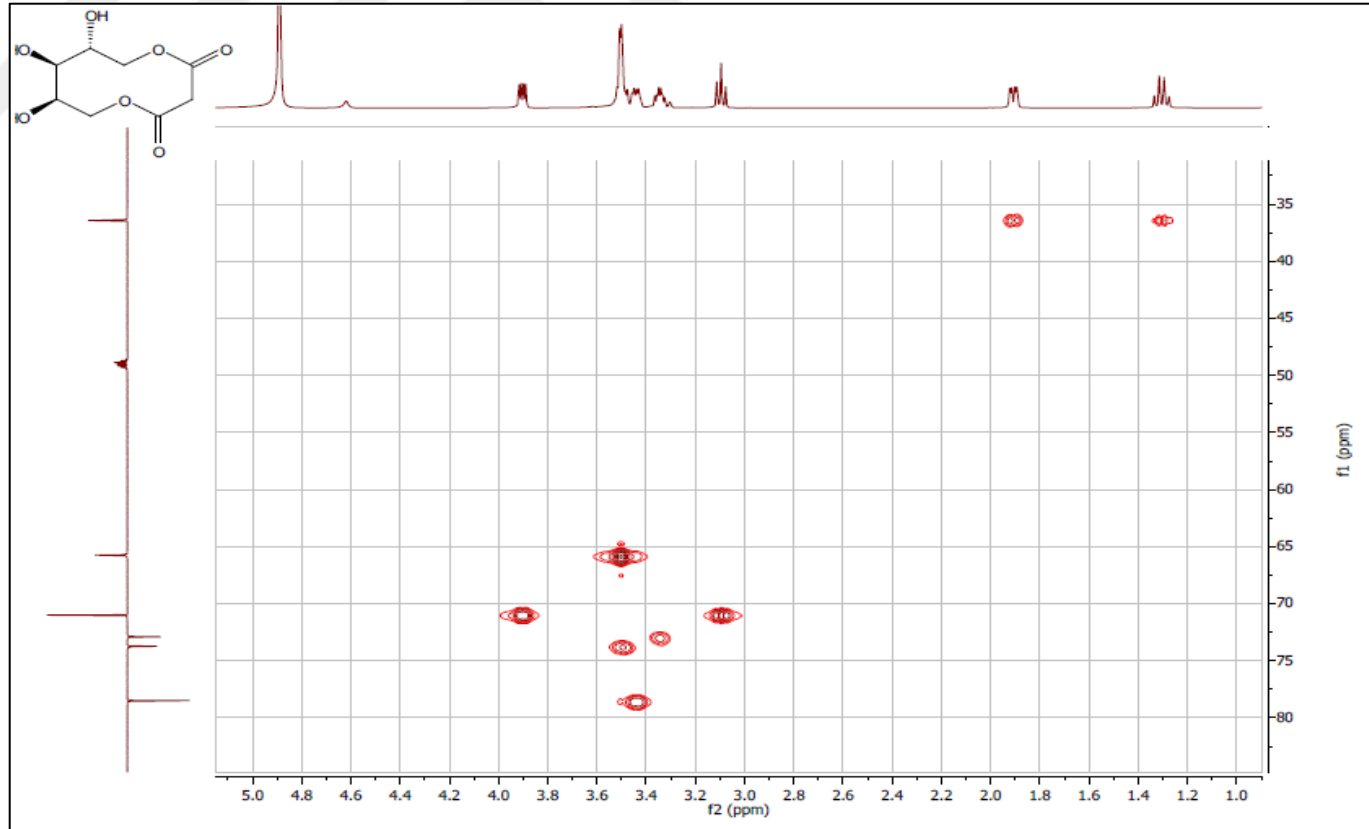
Şekil 4.62. Juniperon B'nin (PJM-6) <sup>1</sup>H-NMR spektrumu (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)



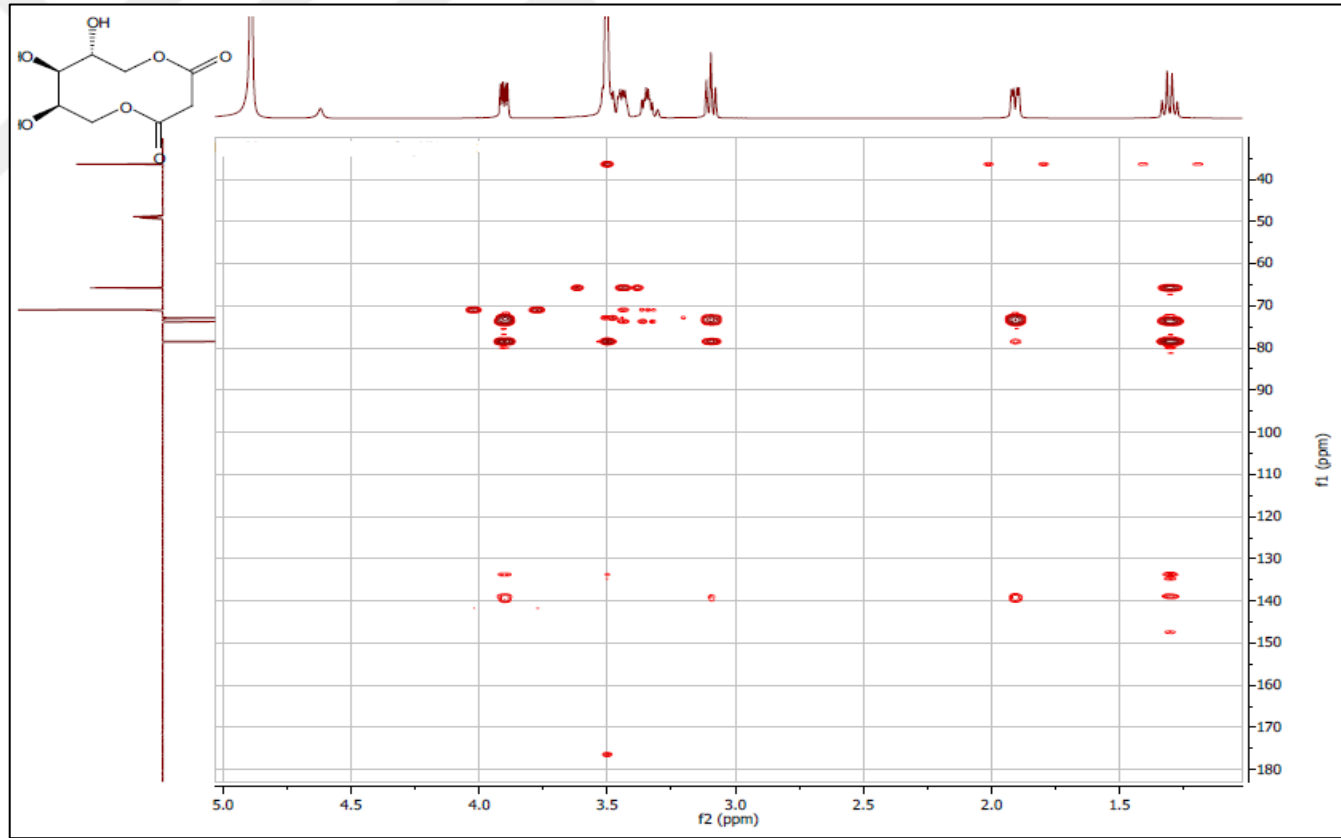
Şekil 4.63. Juniperon B'nin (PJM-6) APT-NMR spektrumu (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)



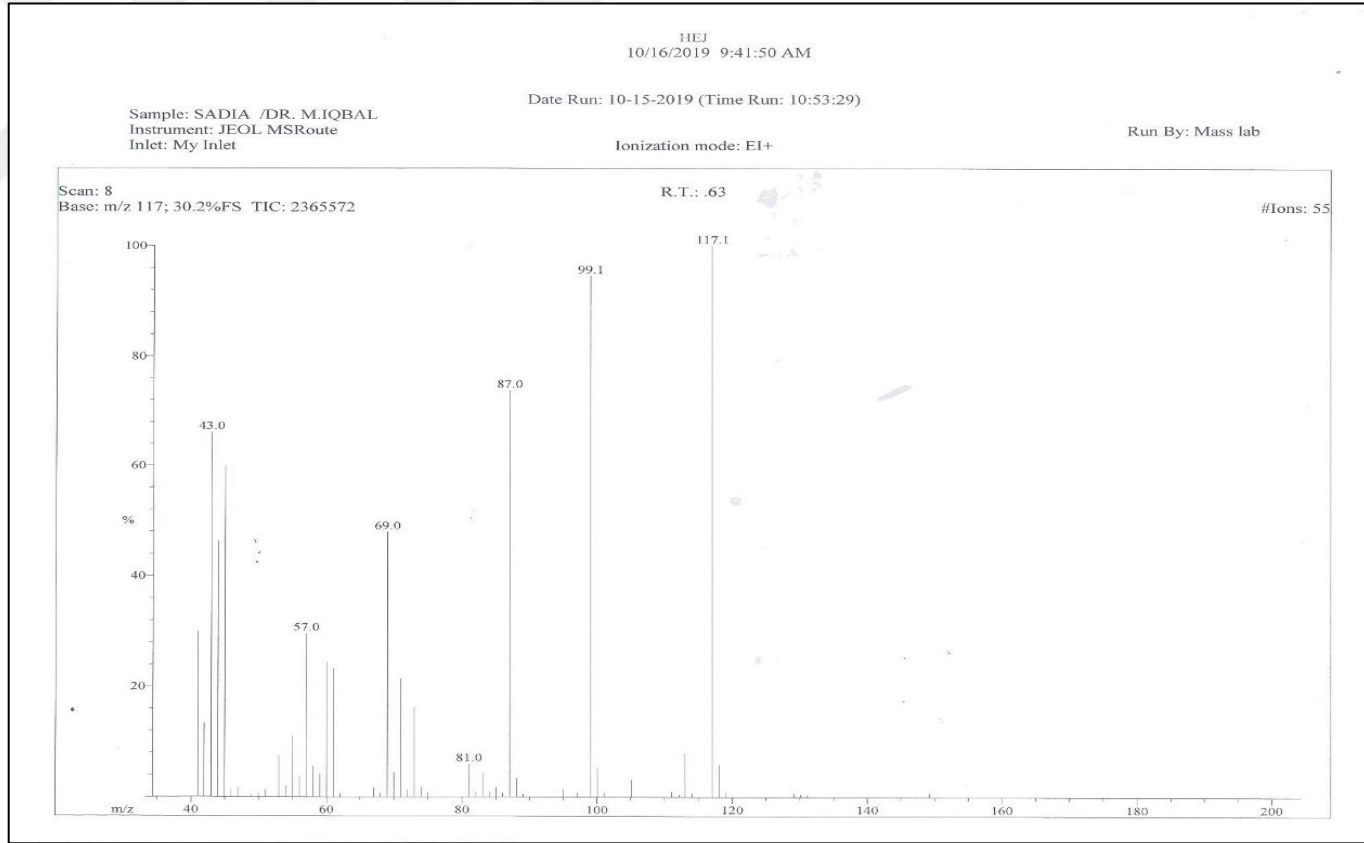
Şekil 4.64. Juniperon B'nin (PJM-6) COSY spektrumu



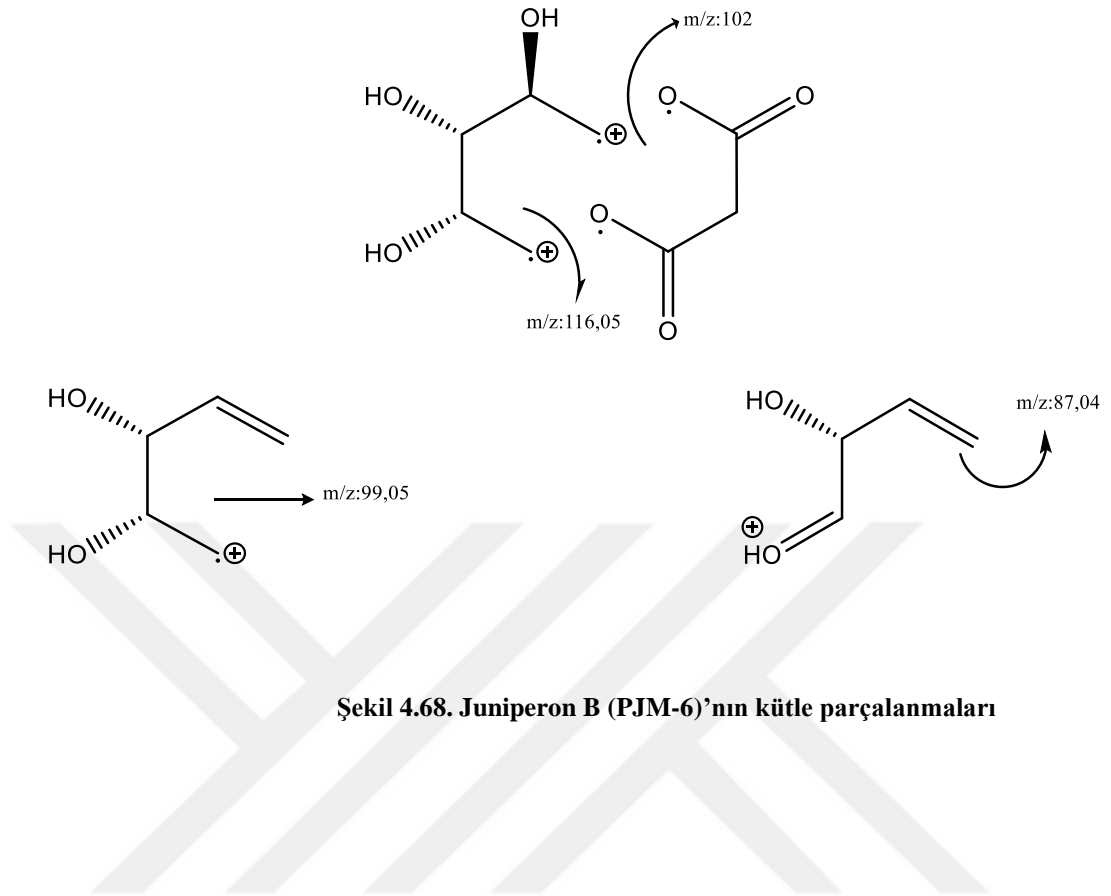
Şekil 4.65. Juniperon B'nin (PJM-6) HSQC spektrumu



Şekil 4.66. Juniperon B'nin (PJM-6) HMBC spektrum



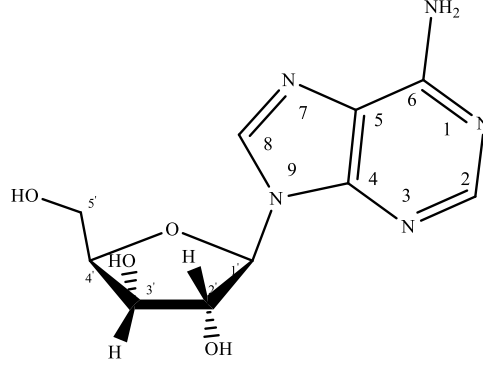
Şekil 4.67. Juniperon B'nin (PJM-6) ESI-MS spektrumu



Şekil 4.68. Juniperon B (PJM-6)'nın kütle parçalanmaları



#### 4.7.2.7. Adenozin (PJM-7)



**Molekül formülü: C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>**

**Molekül ağırlığı: 267,24**

**Şekil 4.69. Adenozin (PJM-7)**

PJM-7 kodlu bileşik katı halde elde edildi (4,0 mg). İnce tabaka kromatografisinde UV 254 nm'de görünen madde, seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) kahverengi renk oluştuğu gözlemlendi. Molekül formülü C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> olarak belirlenen PJM-7 numaralı bileşiğin yapısı NMR (1D, 2D), MS teknikleri kullanılarak aydınlatıldı.

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda (CD<sub>3</sub>OD, δ(ppm), 500 MHz, Şekil 4.70), δ 8,17 (1H, s, H-2) ve δ 8,30 (1H, s, H-8) ppm'de rezonans olan iki adet singlet ile 3-5 ppm arasında rezonans olan oksijene bağlı karbonlara ait hidrojen sinyalleri yapının adenozin olabileceği kanaatini oluşturmuştur. δ 5,95 (1H, d, J=6,5 Hz, H-1') ppm'de rezonans olan pik anomerik hidrojene aittir. Şekerin diğer pikleri δ 4,15 (1H, q, H-4'), δ 4,31 (1H, dd, J=2,5; 5,0 Hz, H-3') ve δ 4,00 (1H, ddd, J=5,1; 6,2; 6,3 Hz, H-2') ppm'de rezonans oldukları görülmüştür. δ 4,45 (1H, dd, J=2,5; 12,5 Hz, H-5'a) ve 4,37 (1H, dd, J= 2,5; 13,0 Hz, H-5'b) ppm'de rezonans olan pikler ise şekerin metilen pikine aittir.

<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, δ(ppm), 125 MHz, Şekil 4.71) ve HSQC (Şekil 4.72) spektrumu ile değerlendirildiğinde 3 adet katerner, 6 adet metin ve 1 adet metilen olduğu izlenmiştir. δ 152,4 (C-2) ve δ 140,0 (C-8) ppm'de rezonans olan karbonlar iki adet elektronegatif atom arasında bulduklarını düşündürmüştür. δ 149,0 (C-4\*), δ 119,0

(C-5\*),  $\delta$  156,2 (C-6\*) katerner karbonları değerlendirildiğinde aglikonun adenin yapısında olduğunu doğrulanmıştır.

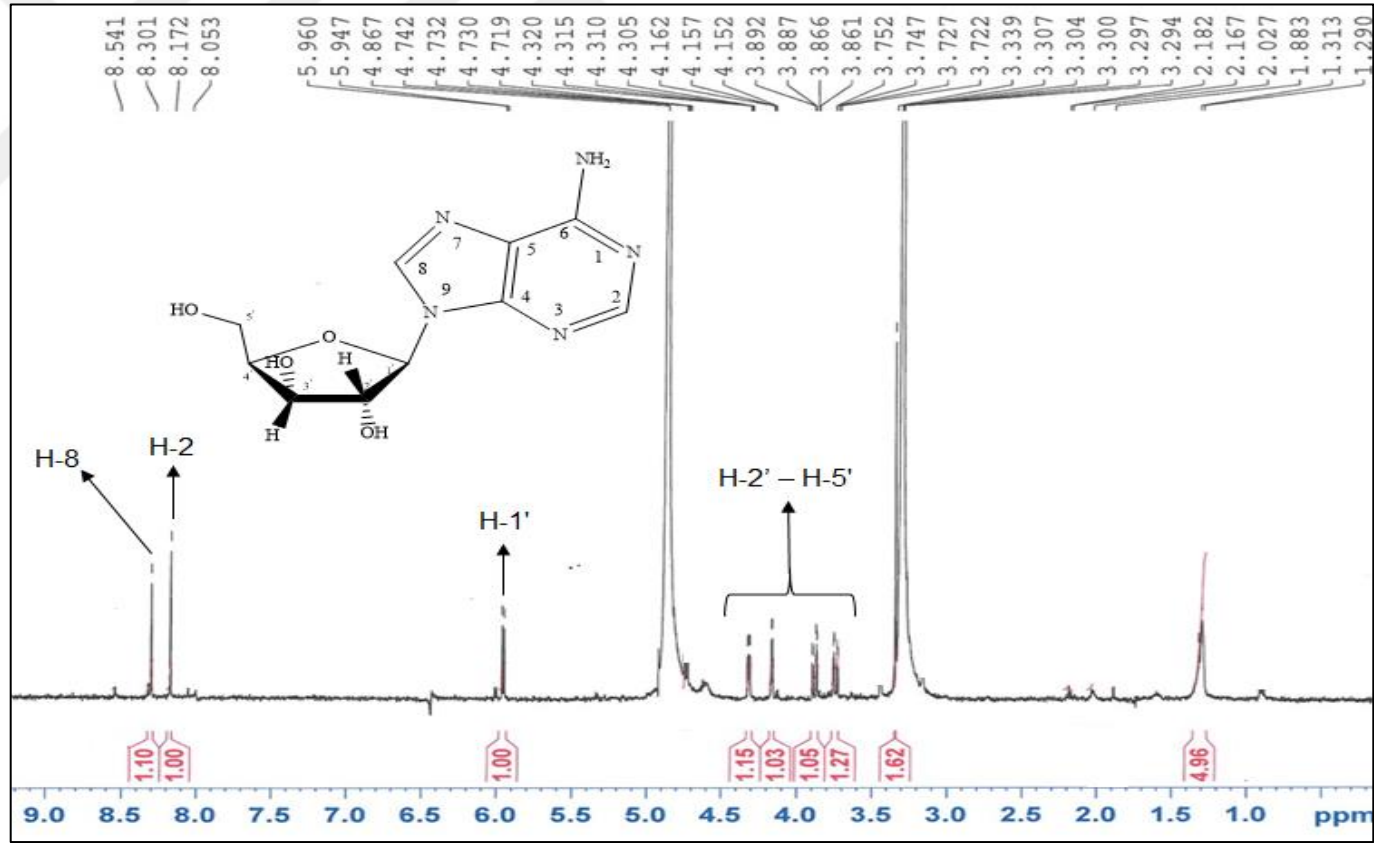
C-1'ın anomerik karbon olduğu,  $\delta$  5,95 ppm'de rezonans olan anomerik protonun 149,0 (C-4\*) ve 140,0 (C-8) karbon etkileşimleri ve HMBC korelasyonu ile doğrulanmıştır. Ayrıca anomerik protonu 5,95 ppm'de rezonans olması, şekerin aglikona göre  $\alpha$  pozisyonunda olduğunu kanıtlamıştır.

Kütle spektrumu incelendiğinde, (Şekil 4.74)  $m/z$  267  $[M]^+$  piki, 7 doymamışlık derecesi ile  $C_{10}H_{13}N_5O_4$  kapalı formülünü doğrulamıştır.

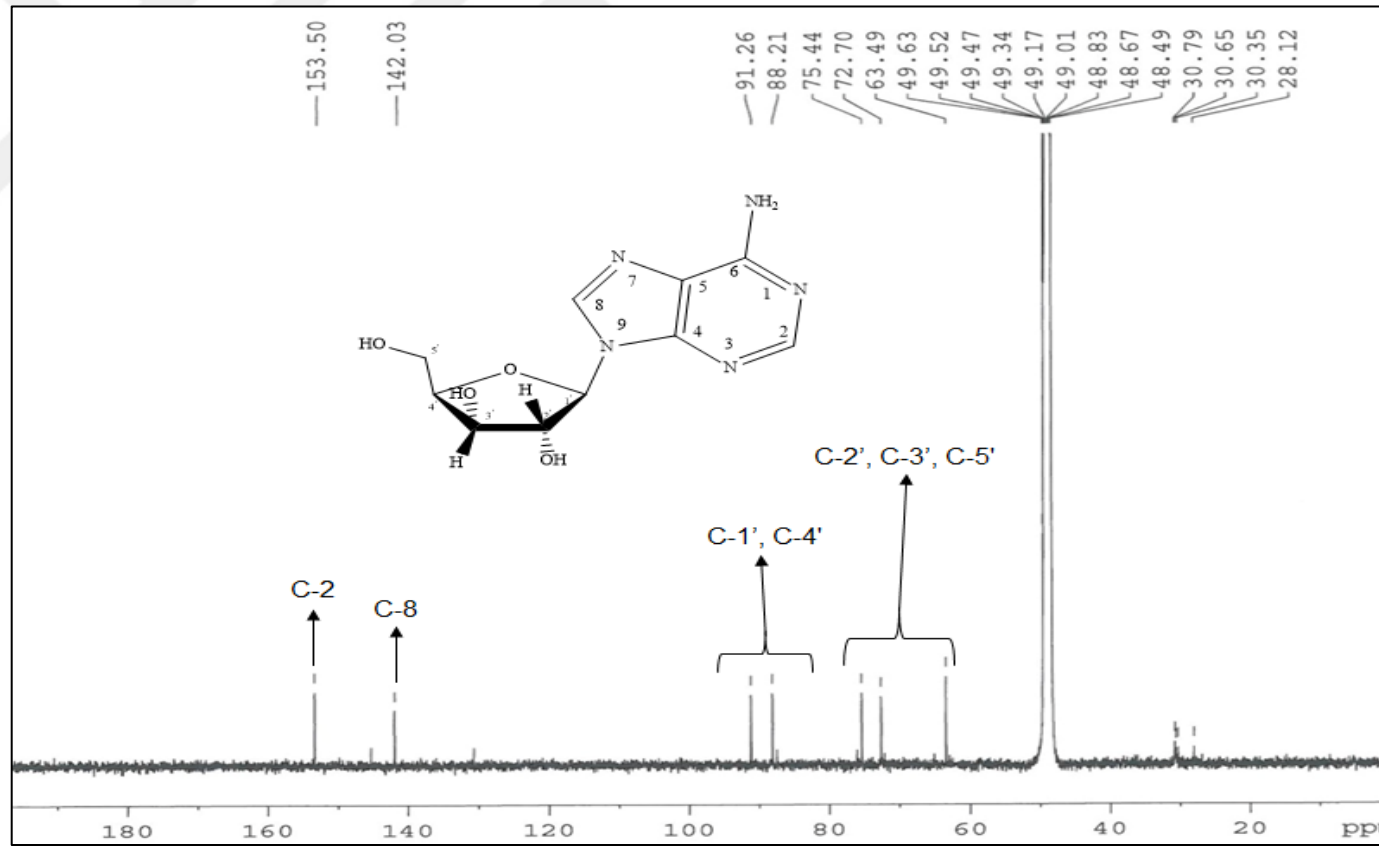
$^1H$ -NMR (Şekil 4.70)  $^{13}C$ -NMR (Şekil 4.71), HSQC (Şekil 4.72) ve HMBC (Şekil 4.73) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde PJM-7 maddesinin yapısının tamamı doğrulandı. Çizelge 4.26'daki  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR ve HMBC değerleri, literatür ile karşılaştırıldığında, PJM-7 maddesinin adenozin olduğu belirlendi (Ciuffreda vd., 2007; Elik, 2017).

**Çizelge 4.32 Adenozin'in (PJM-7)  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR ve HMBC değerleri**

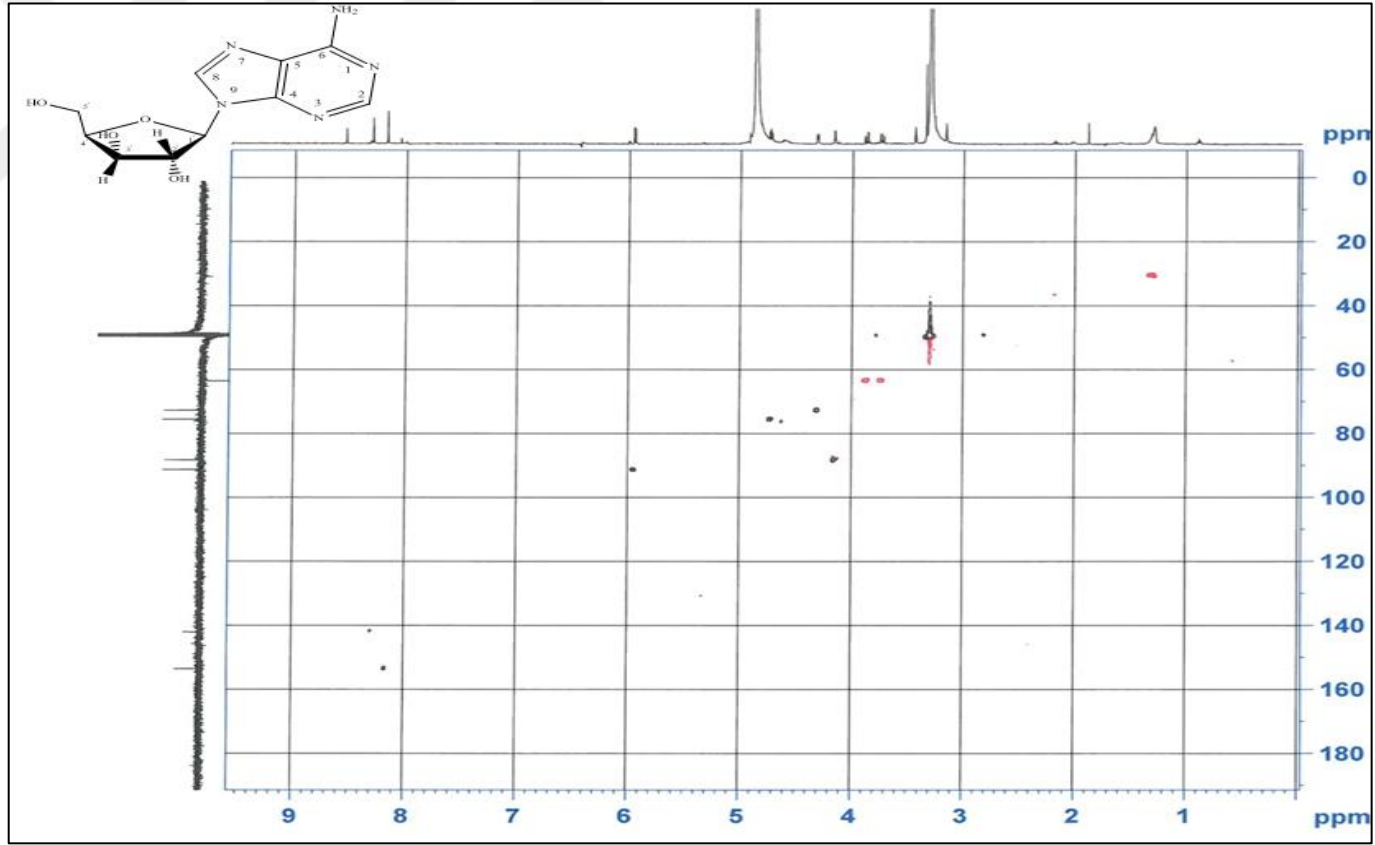
C.no.	$^{13}C$ -NMR( $\delta$ )	$^1H$ -NMR( $\delta$ )	HMBC
2	152,4	8,17 (1H, s)	C-4; C-6
4*	149,0	-	
5*	119,0	-	
6*	156,2	-	
8	140,0	8,30 (1H, s)	C-2
1'	87,9	5,95 (1H, d, $J=6,5$ Hz)	C-4, C-8
2'	73,4	4,00 (1H, ddd, $J=5,1; 6,2; 6,3$ Hz)	C-3', C-4'
3'	70,6	4,31 (1H, dd, $J=2,5; 5,0$ Hz)	C-1', C-5'
4'	85,9	4,15 (1H, q)	C-3'
5'a	61,6	4,45 (1H, dd, $J=2,5; 12,5$ Hz)	C-3' C-4'
5'b	61,6	4,37 (1H, dd, $J=2,5; 13,0$ Hz)	C-3' C-4'



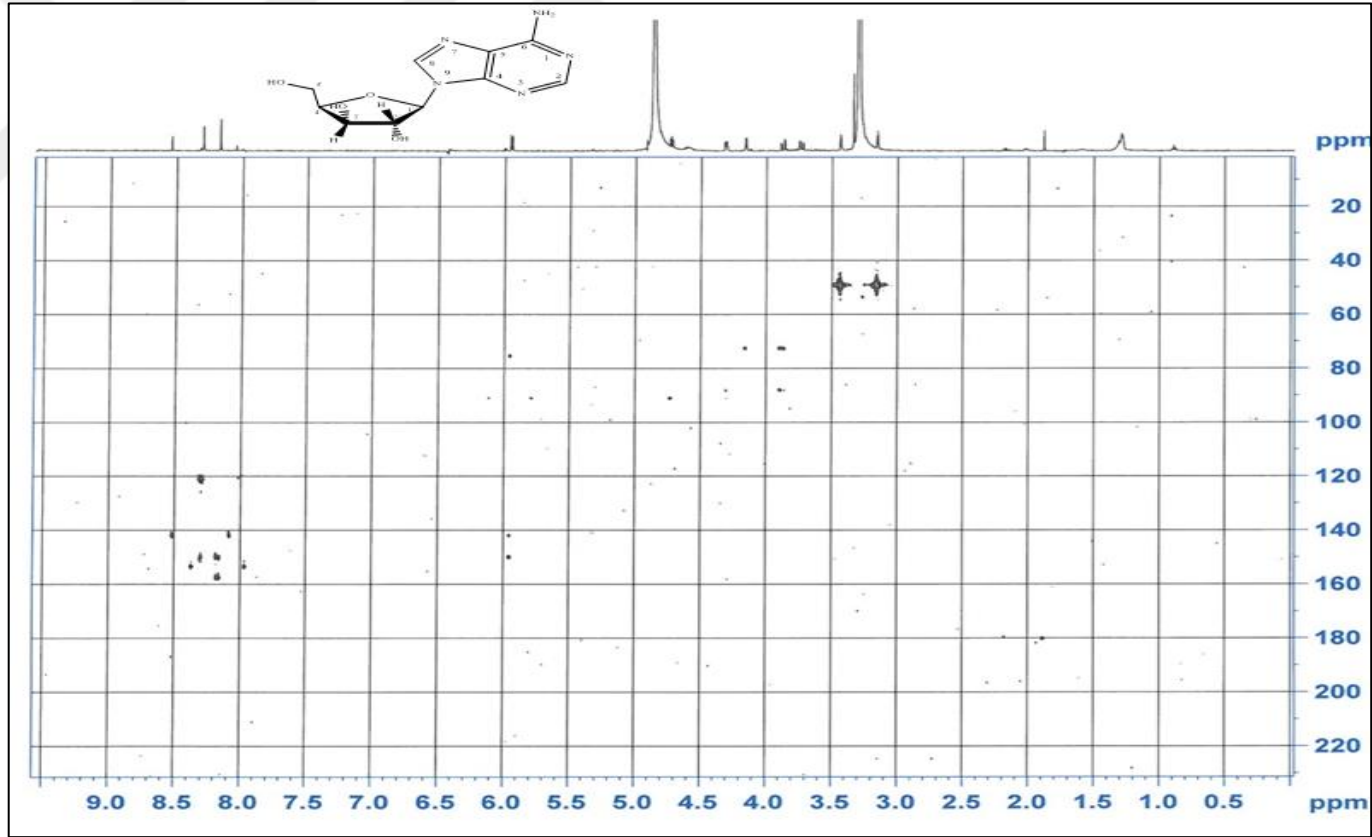
Şekil 4.70. Adenosin'in (PJM-7) <sup>1</sup>H-NMR spektrumu (500MHz, CD<sub>3</sub>OD)



Şekil 4.71. Adenosin'in (PJM-7)  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

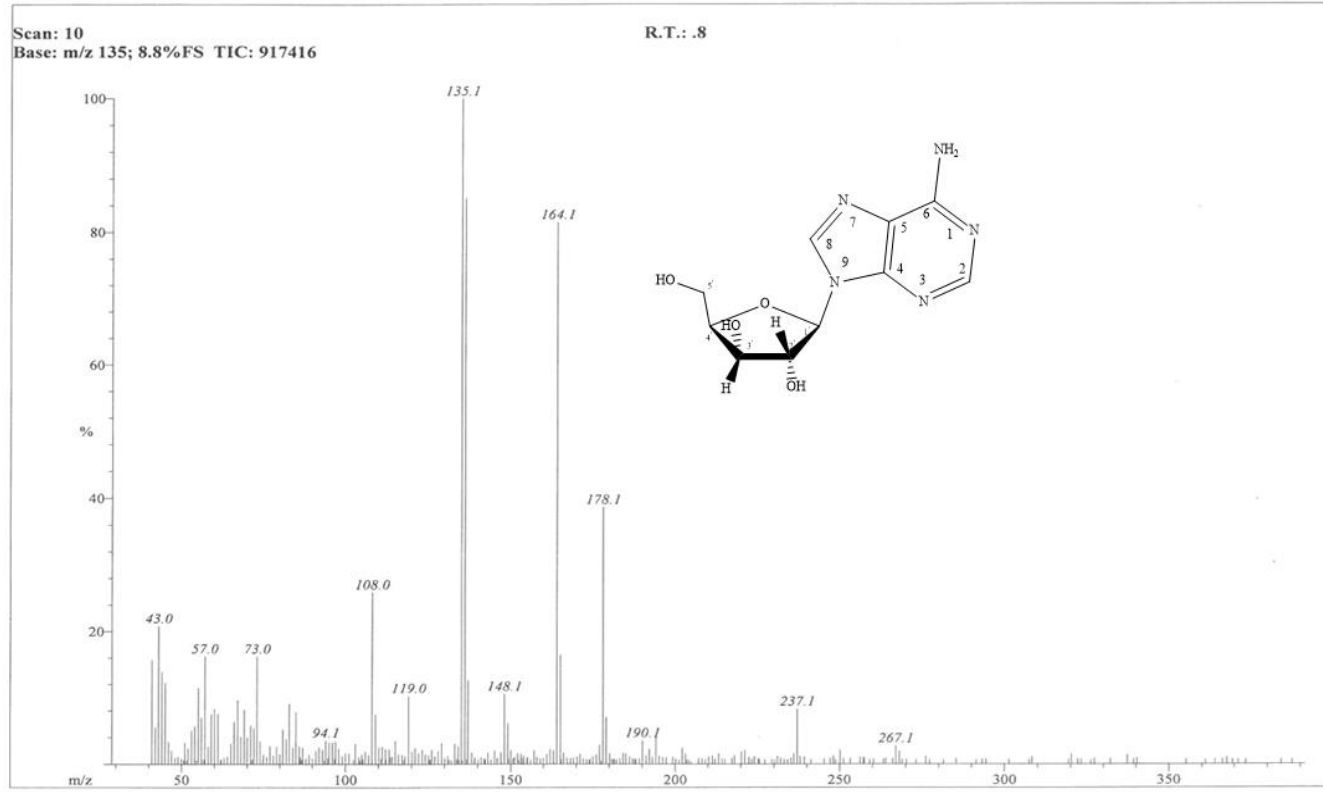


Şekil 4.72. Adenozin'in (PJM-7) HSQC spektrumu



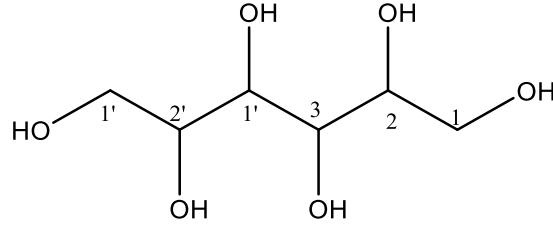
Şekil 4.73. Adenozin'in (PJM-7) HMBC spektrumu

Ionization mode: EI+



Şekil 4.74. Adenosin'in (PJM-7) EI-MS spektrumu

#### 4.7.2.8. Mannitol (PJM-8)



**Molekül formülü:** C<sub>6</sub> H<sub>14</sub> O<sub>6</sub>

**Molekül ağırlığı:** 205,0

**Şekil 4.75. Mannitol (PJM-8)**

Beyaz renkli olan bileşik amorf halde elde edildi (12,0 mg). İnce tabaka kromatografisinde UV 254 nm’de görünmeyen madde, serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) siyahımsı renk oluştuğu gözlemlendi. Molekül formülü C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub> olarak belirlenen PJM-8 numaralı bileşiğin yapısı NMR (1D, 2D), MS, FT-IR teknikleri kullanılarak aydınlatıldı.

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, δ(ppm), 600 MHz, Şekil 4.77) spektrumu δ 3,74 (1H, *dd*, *J*=9,12; 2,50 Hz, H-1,1'), δ 3,54 (1H, *dd*, *J*=11,82; 6,18 Hz, H-1,1'), δ 3,66 (1H, *dt*, *J*=6,00; 2,50 Hz, H-2,2') ve δ 3,69 (1H, *d*, *J*=6,00 Hz, H-3,3') ppm’de rezonan olan pikler PJM-8 maddesinin anemorik protonu olmayan bir doğrusal şeker olduğunu göstermiştir.

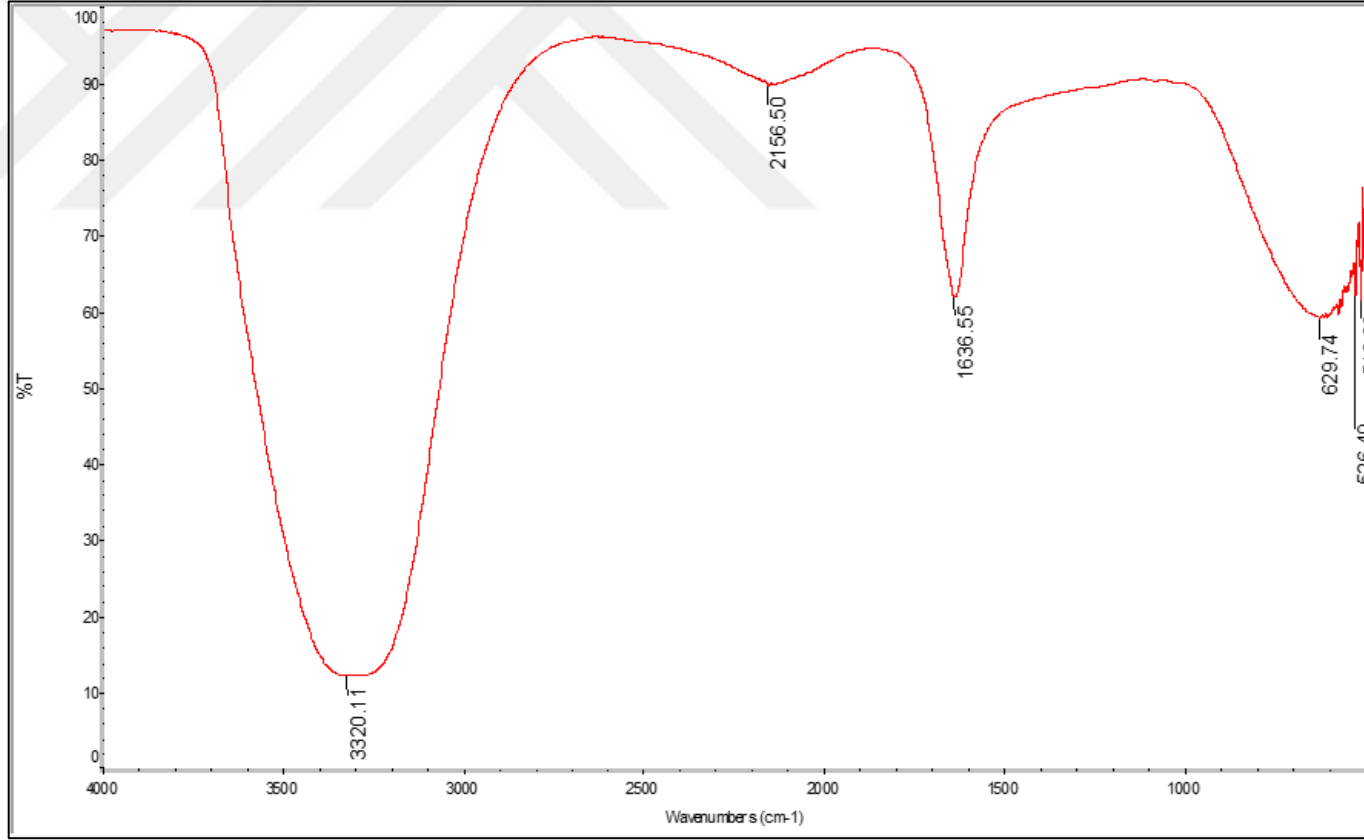
<sup>13</sup>C-NMR (D<sub>2</sub>O, δ(ppm), 150 MHz, Şekil 4.78) spektrumunda δ 63,1 (C-1,1'), δ 70,8 (C-2,2') ve δ 69,2 (C-3,3') ppm’de rezonans olan pikler izlenmiştir. HSQC (Şekil 3.79) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde 2 adet metin, 1 adet metilen karbon sinyali görülmüştür.

Kütle spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.81), *m/z* 205,0 [M+Na]<sup>+</sup> piki ile C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>Na kapalı formülü doğrulanmıştır. Bölüm 3.9’da verilen GC-MS şartlarında, standartlar ile karşılaştırıldı. Şekil 4.78’de verilen GC-MS kromatogramları, MS spektrumunun Wiley 2008 kütüphanesi ile karşılaştırılması ve FT-IR (Şekil 4.76), <sup>1</sup>H-NMR (Şekil 4.77) <sup>13</sup>C-NMR (Şekil 4.78), HSQC (Şekil 4.79), HMBC (Şekil 4.80), ESI-MS (Şekil 4.81), spektrumları birlikte değerlendirildiğinde PJM-8 maddesinin yapısının tamamı doğrulandı. Çizelge 4.33’te <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, HMBC değerleri, literatür ile karşılaştırıldığında yapının mannitol olduğu belirlendi (Duquesnoy vd., 2008, Taş, M).

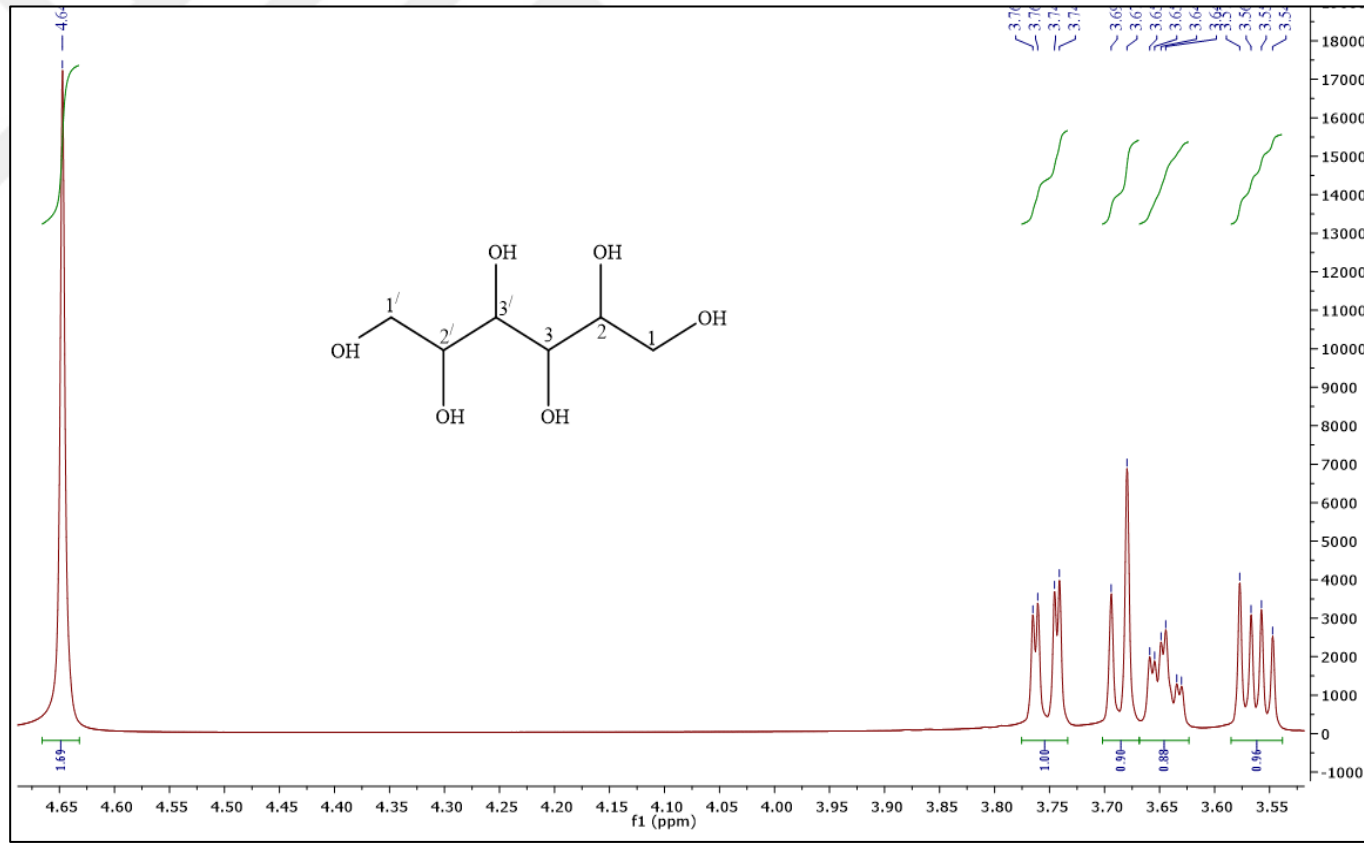


Çizelge 4.33. Mannitol'ün (PJM-8) <sup>13</sup>C-NMR <sup>1</sup>H-NMR ve HMBC değerleri

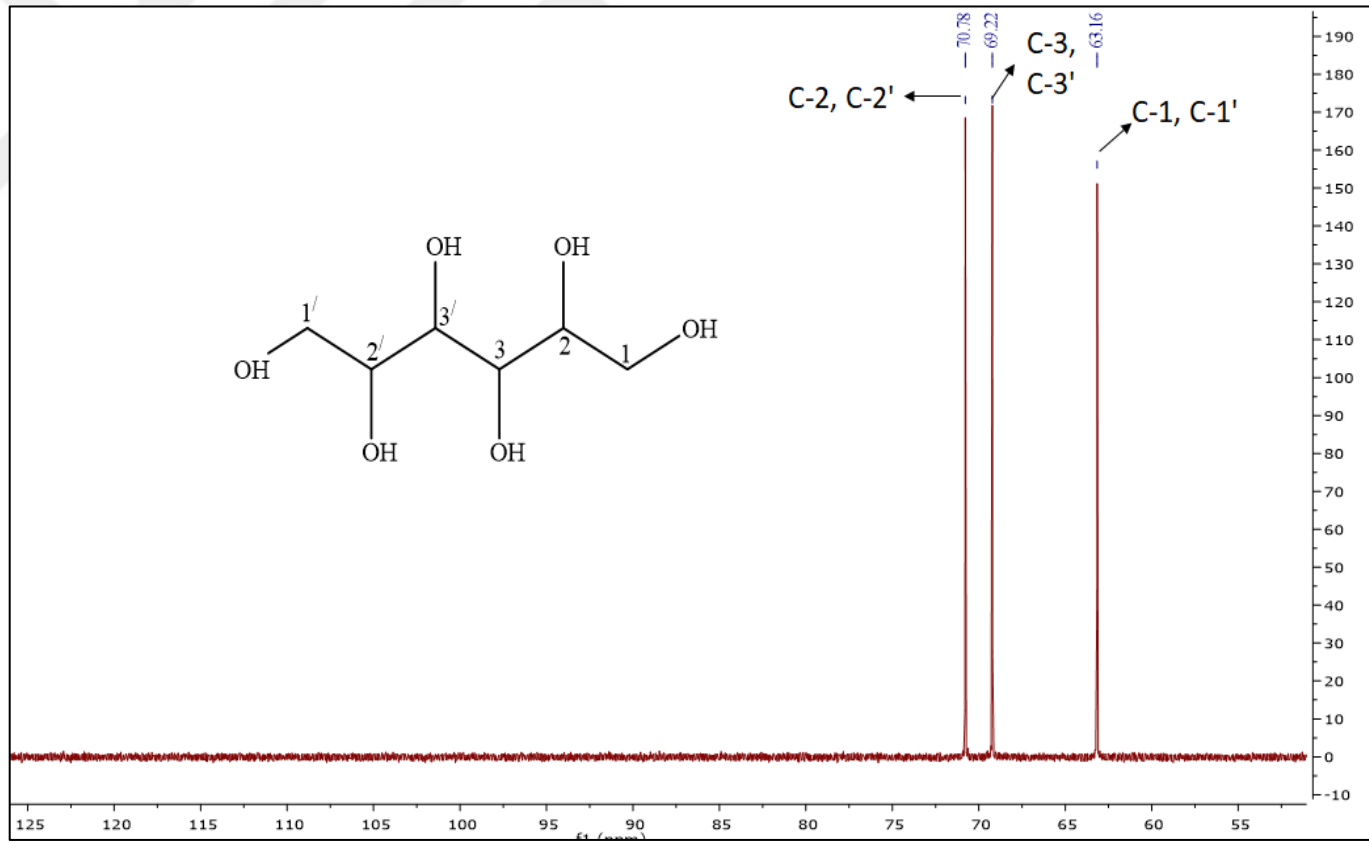
C.no.	<sup>13</sup> C-NMR (δ)	<sup>1</sup> H-NMR (δ)	HMBC
1-1'	63,1	3,74 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 9,12, 2,5 Hz), 3,54 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,82, 6,18 Hz)	C-3, 3', C-2, 2'
2-2'	70,8	3,66 (1H, <i>dt</i> , <i>J</i> = 6,00, 2,50 Hz)	C-3, 3', C-1, 1'
3-3'	69,2	3,69 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,00 Hz)	C-2, 2', C-3, 3'



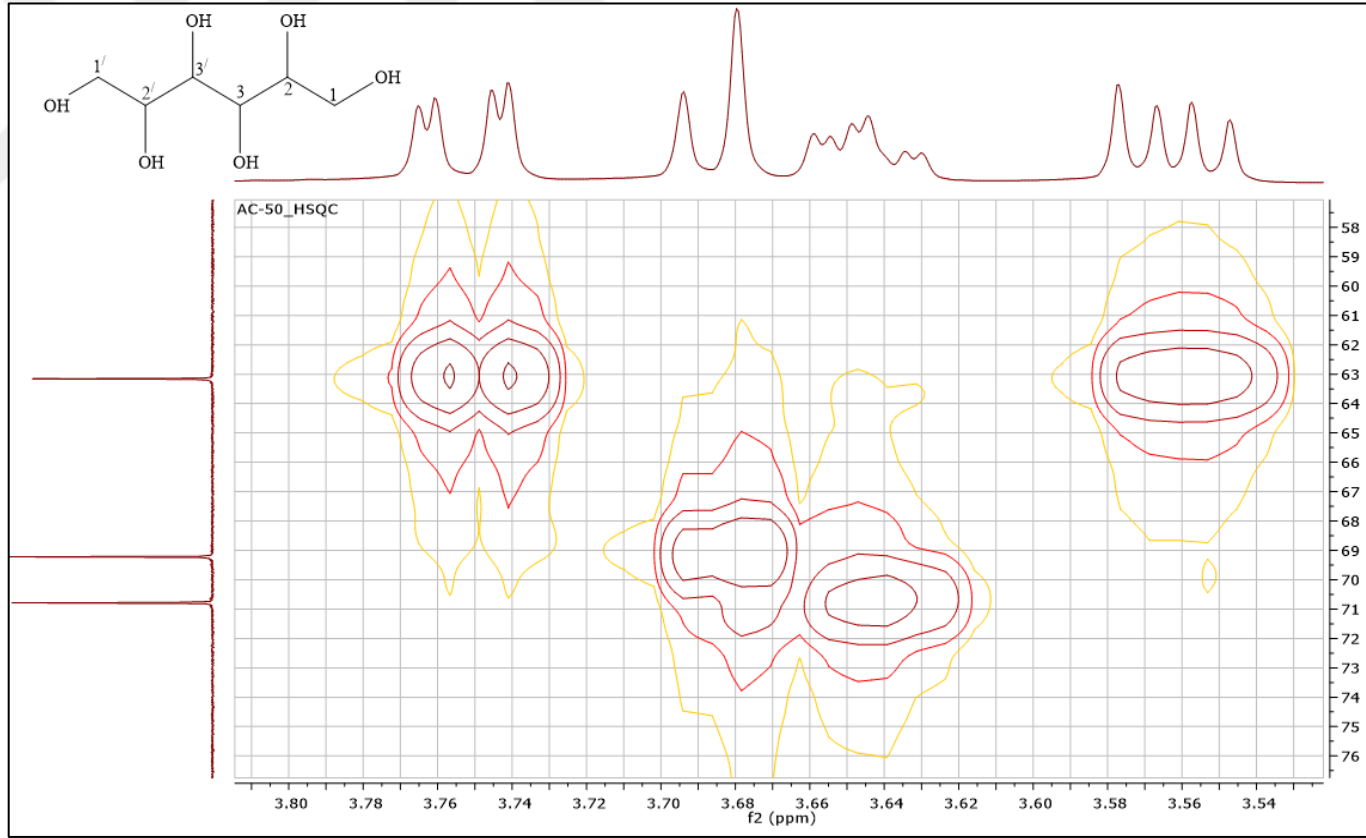
Şekil 4.76. Mannitol'ün (PJM-8) FT-IR spektrumu



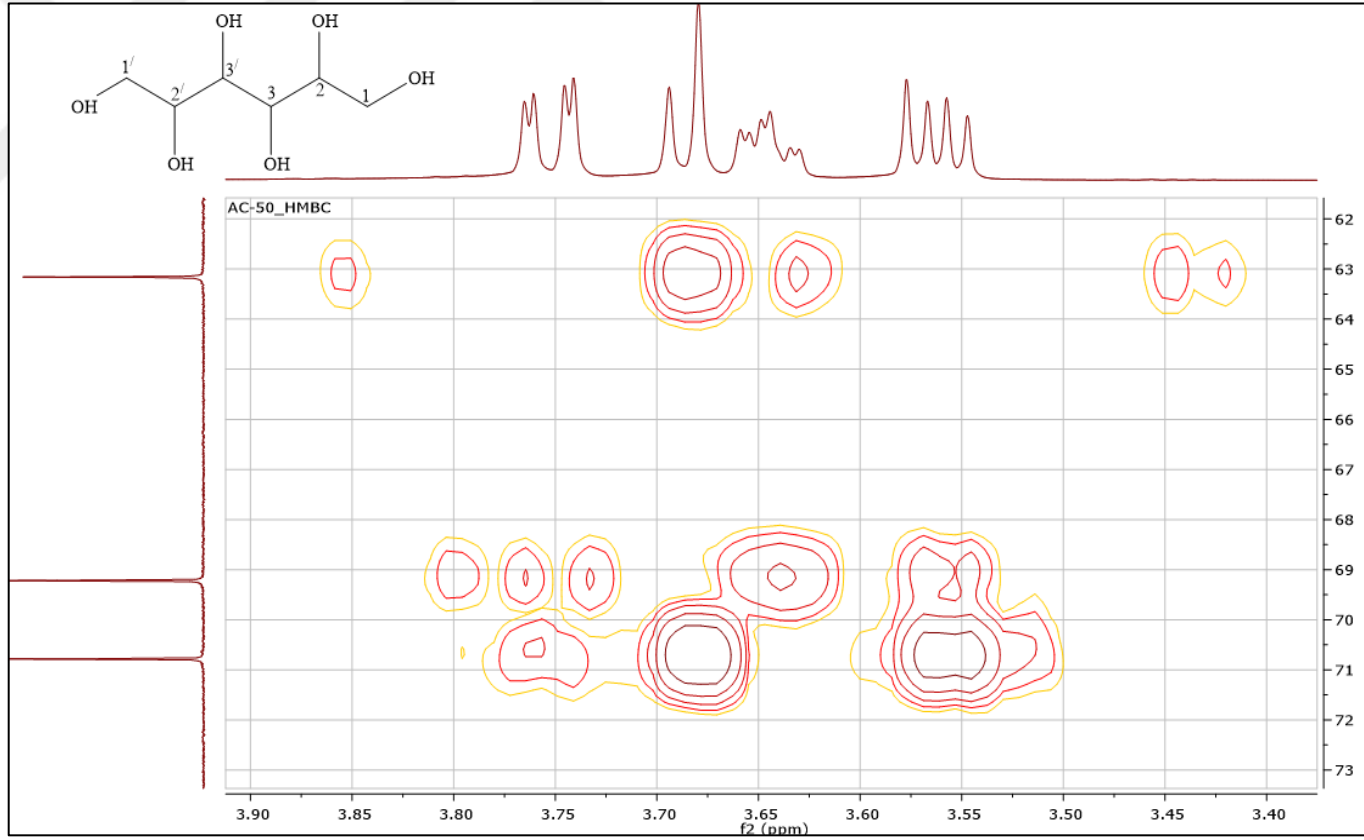
Şekil 4.77. Mannitol'ün (PJM-8) <sup>1</sup>H-NMR spektrumu (600 MHz, D<sub>2</sub>O)



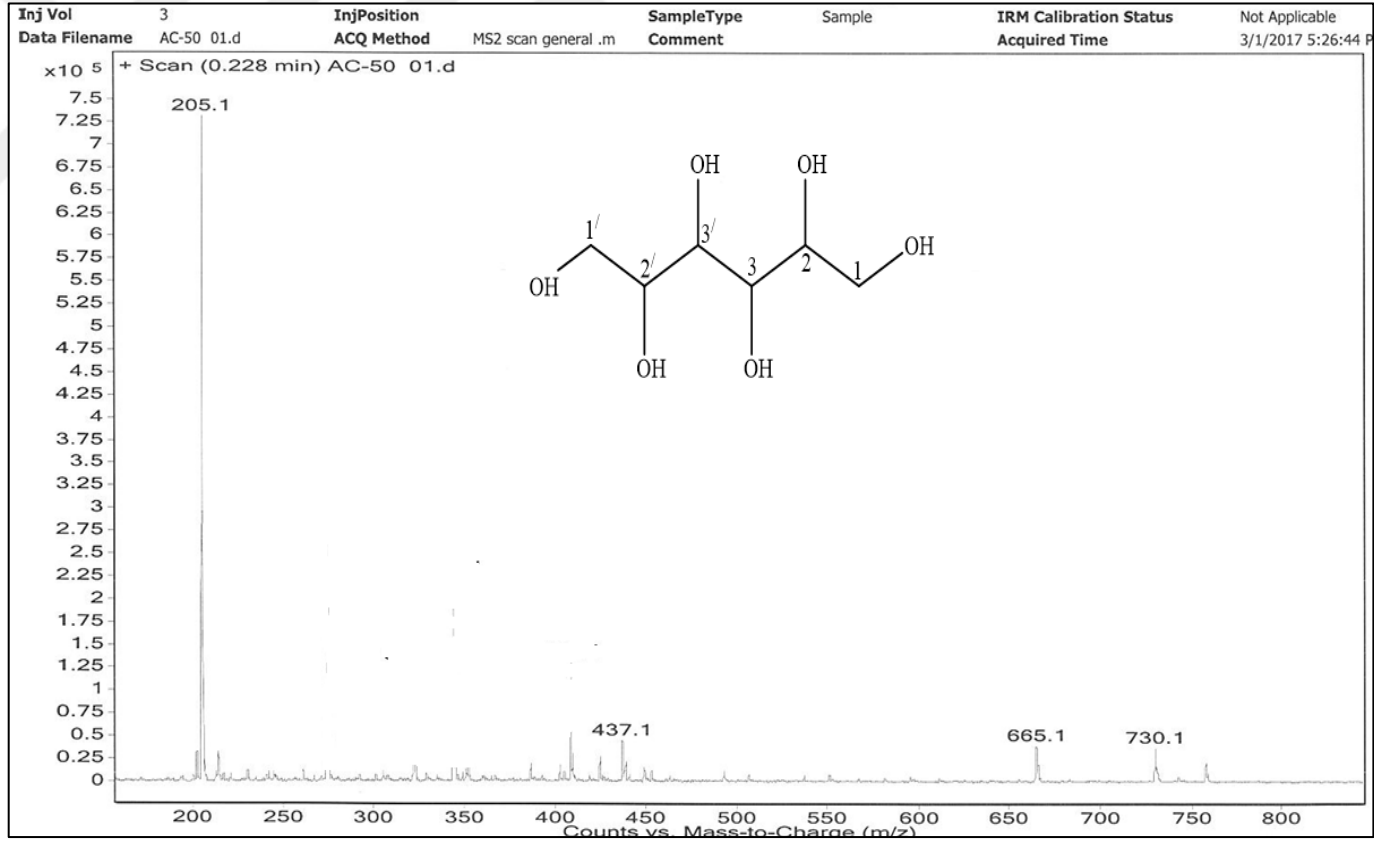
Şekil 4.78. Mannitol'ün (PJM-8)  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu (150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )



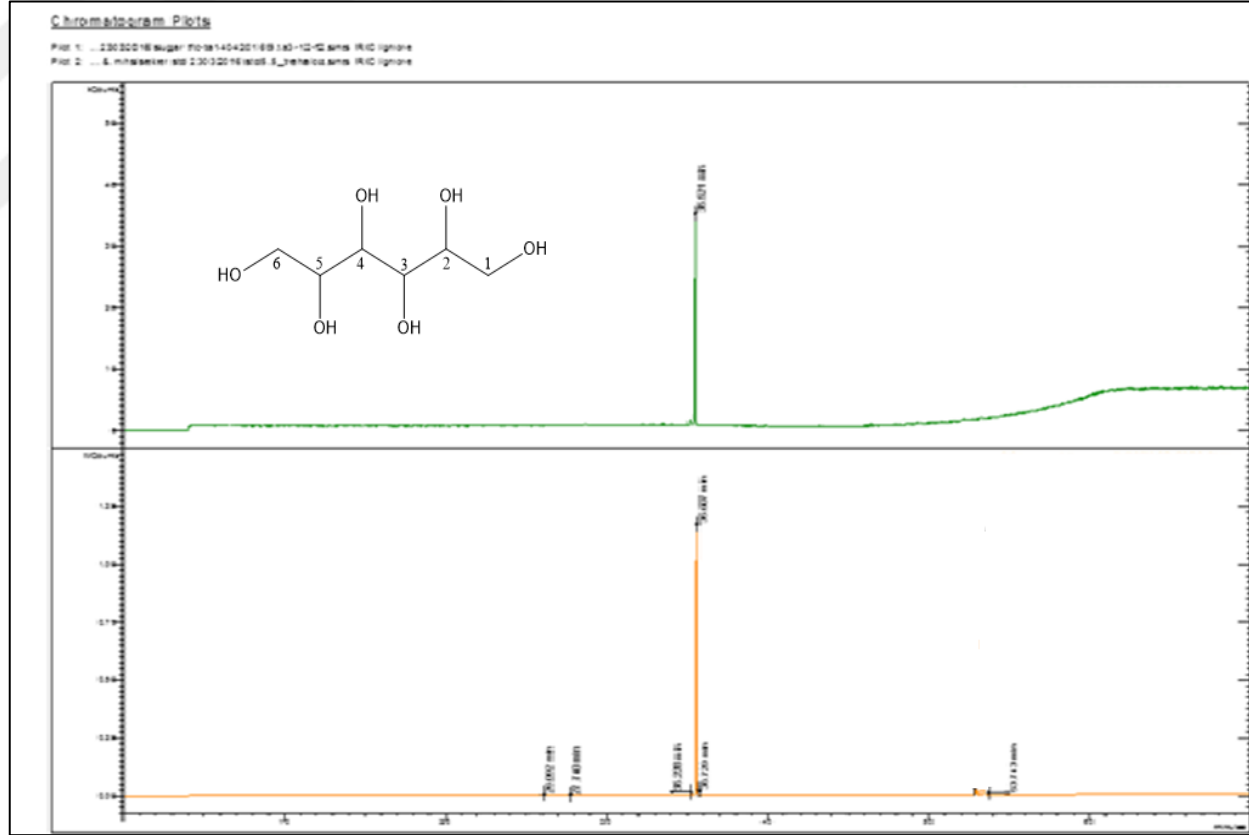
Şekil 4.79. Mannitol'ün (PJM-8) HSQC spektrumu



Şekil 4.80. Mannitol'ün (PJM-8) HMBC spektrumu



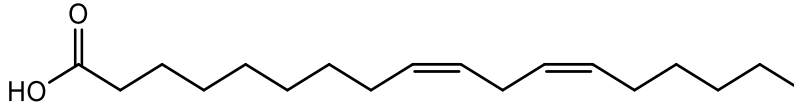
Şekil 4.81. Mannitol'ün (PJM-8) ESI-MS spektrumu



Şekil 4.82. Standart mannitol ve Mannitol'ün (PJM-8) GC-MS kromatogramları



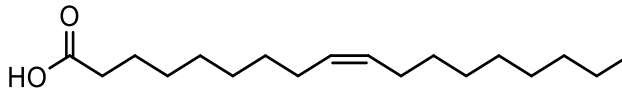
4.7.2.9. Oleik asit, Linoleik asit (PJC-1) yapı analizi



Linoleik asit

**Molekül formülü: C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>**

**Molekül Ağırlığı: 280,4**



Oleik asit

**Molekül formülü: C<sub>18</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub>**

**Molekül Ağırlığı: 282,5**

Şekil 4.83. Linoleik asit, Oleik asit (PJC-1)

PJC-1 bileşiği renksiz, sıvı halde elde edildi (5,3mg). İnce tabaka kromatografisinde UV 254 nm'de görünmeyen madde, serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) kahverengi renk oluştuğu gözlemlendi. Molekül formülü C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub> ve C<sub>18</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub> olarak belirlenen PJC-1 numaralı bileşiğin yapısı NMR (1D, 2D) teknikleri kullanılarak aydınlatıldı.

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda (CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm), 600 MHz, Şekil 4.84) 5,33 (1H, *m*, H-9), 5,35 (1H, *m*, H-10), 5,35 (1H, *m*, H-12), 5,31 (1H, *m*, H-13) ppm'de rezonans olan pikler vinilik protonlara aittir.

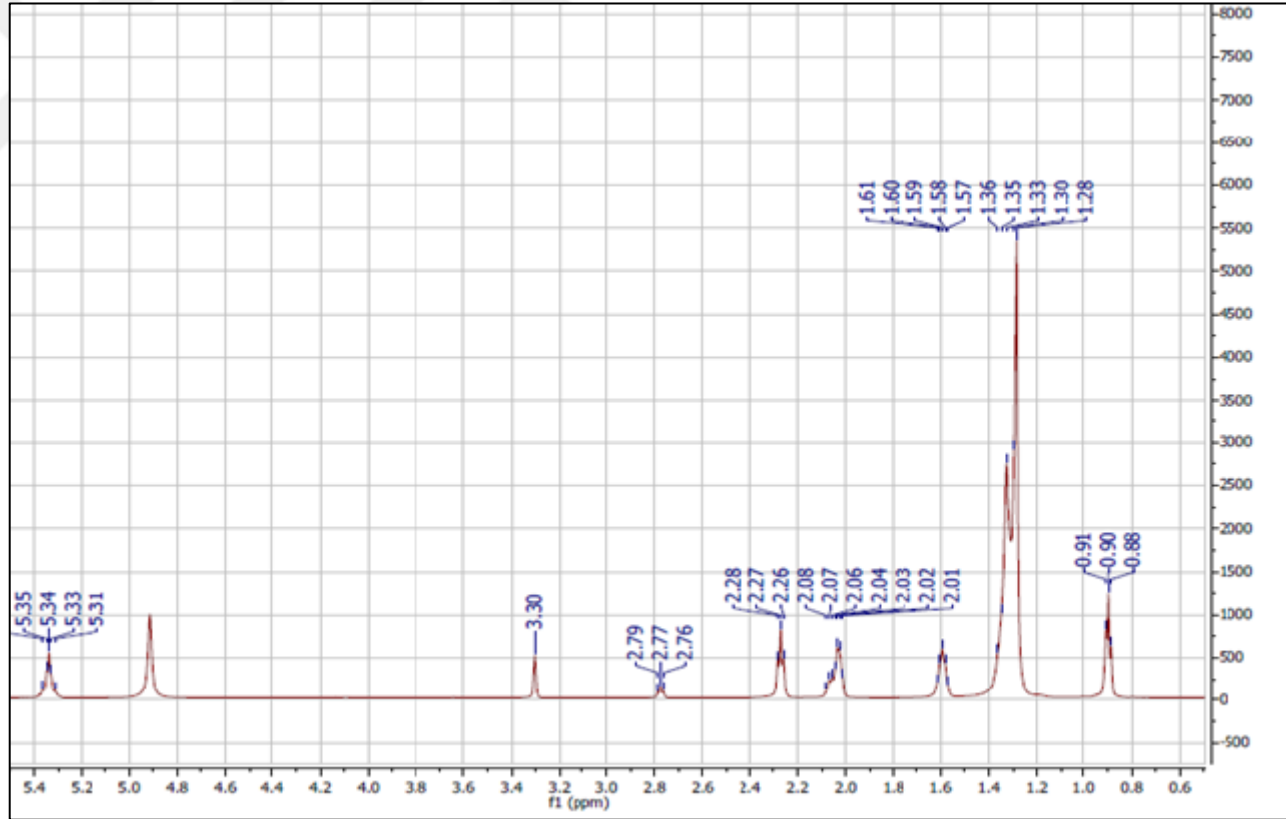
APT-NMR spektrumu (CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm), 150 MHz, Şekil 4.85)'de değerlendirildiğinde, 6 metin, 2 katerner karbon belirlendi. Linoleik asite ait δ 130,8, 129,1, ppm'de rezonans olan pikler C-9, C-13; C-10, C-12'e ait iken, oleik asite ait olan pikler, δ 130,8, ppm'de C-9 ve C-10 karbonlarına aittir. δ 32,7 ppm'de rezonans olan sinyaller her iki yağ asitinin C-2 pozisyonundaki karbona aittir.

<sup>1</sup>H-NMR (Şekil 4.84) APT-NMR (Şekil 4.85), COSY (Şekil 4.86), HSQC (Şekil 4.87) ve HMBC (Şekil 4.88) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde PJC-1 maddesinin

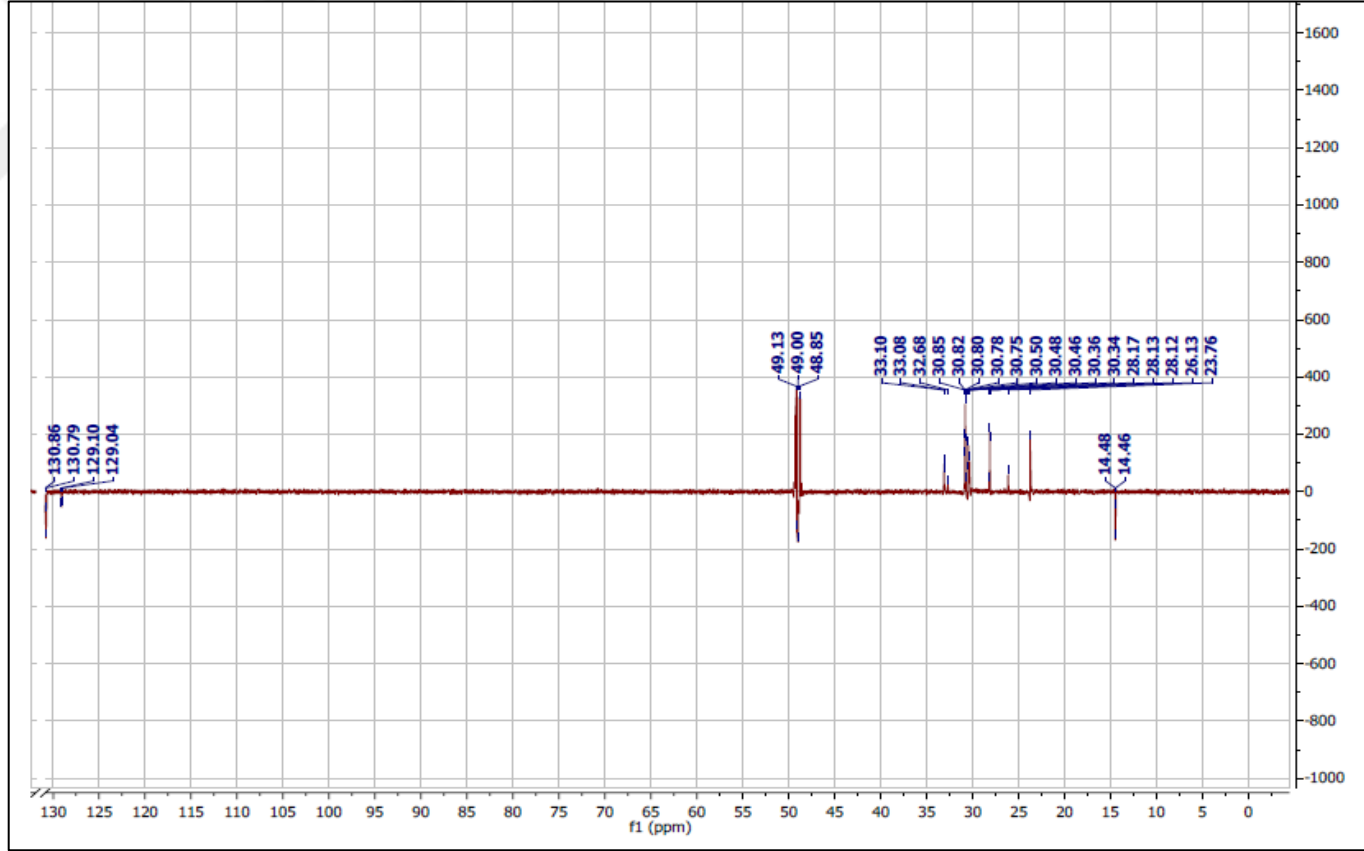
yapısının tamamı doğrulandı. Çizelge 4.33'daki  $^1\text{H}$ -NMR ve APT-NMR değerleri literatür ile karşılaştırıldığında, PJC-1 maddesinin Linoleik asit ve Oleik asit (Şekil 4.83) karışımı olduğu belirlendi (Schaefer, 1974; Davis vd., 1999).

**Çizelge 4.34. Linoleik asit, Oleik asit'in (PJC-1)  $^1\text{H}$ -NMR ve  $^{13}\text{C}$ -NMR değerleri**

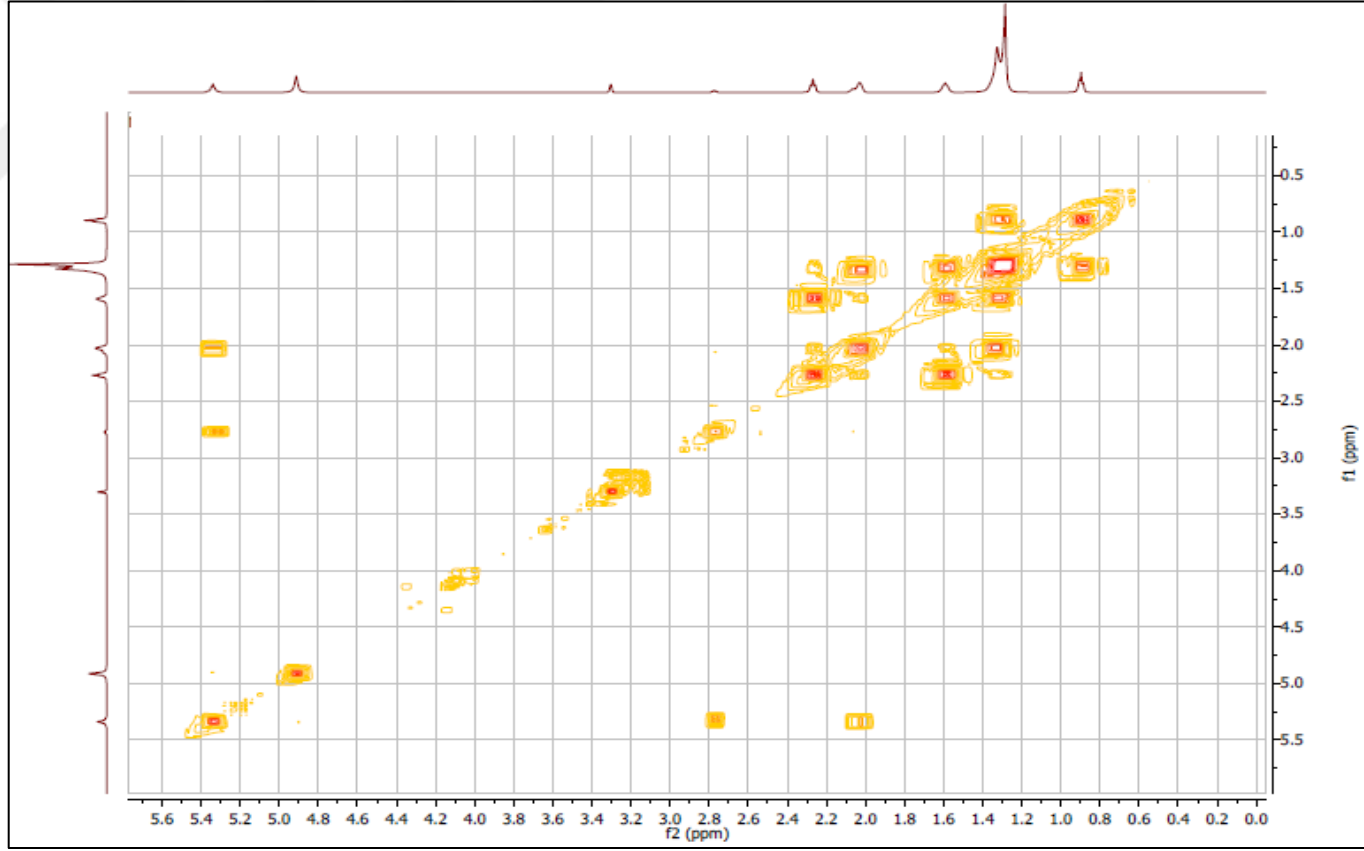
C.no.	Linoleik asit		Oleik asit	
	APT-NMR ( $\delta$ )	$^1\text{H}$ -NMR ( $\delta$ )	APT-NMR ( $\delta$ )	$^1\text{H}$ -NMR ( $\delta$ )
1	178,4	-	178,4	-
2	32,7	2,27 (1H, <i>t</i> , $J=6,0$ Hz)	32,7	2,27 (1H, <i>t</i> , $J=6,0$ Hz)
3	26,1	1,59 (2H, <i>m</i> )	26,1	1,59 (2H, <i>m</i> )
4	30,8	1,30 (2H, <i>m</i> )	30,8	1,30 (2H, <i>m</i> )
5	30,8	1,26 (2H, <i>m</i> )	30,8	1,26 (2H, <i>m</i> )
6	30,8	1,33 (2H, <i>m</i> )	30,6	1,33 (2H, <i>m</i> )
7	30,5	1,30 (2H, <i>m</i> )	30,5	1,30 (2H, <i>m</i> )
8	28,1	2,08 (2H, <i>m</i> )	28,1	2,08 (2H, <i>m</i> )
9	130,9	5,33 (1H, <i>m</i> )	130,8	5,34 (1H, <i>m</i> )
10	129,1	5,35 (1H, <i>m</i> )	130,8	5,34 (1H, <i>m</i> )
11	28,2	2,78 (2H, <i>m</i> )	28,2	2,16 (1H, <i>m</i> )
12	129,1	5,35 (1H, <i>m</i> )	30,5	1,30 (1H, <i>m</i> )
13	130,9	5,31 (1H, <i>m</i> )	28,1	1,33 (1H, <i>m</i> )
14	28,1	2,04 (2H, <i>m</i> )	28,1	2,04 (H, <i>m</i> )
15	30,3	1,30 (2H, <i>m</i> )	30,3	1,30 (2H, <i>m</i> )
16	33,1	1,30 (2H, <i>m</i> )	33,1	1,30 (2H, <i>m</i> )
17	23,7	1,30 (2H, <i>m</i> )	23,7	1,30 (2H, <i>m</i> )
18	14,5	0,88 (3H, <i>t</i> , $J=6,0$ )	14,5	0,88 (3H, <i>t</i> , $J=6,0$ )



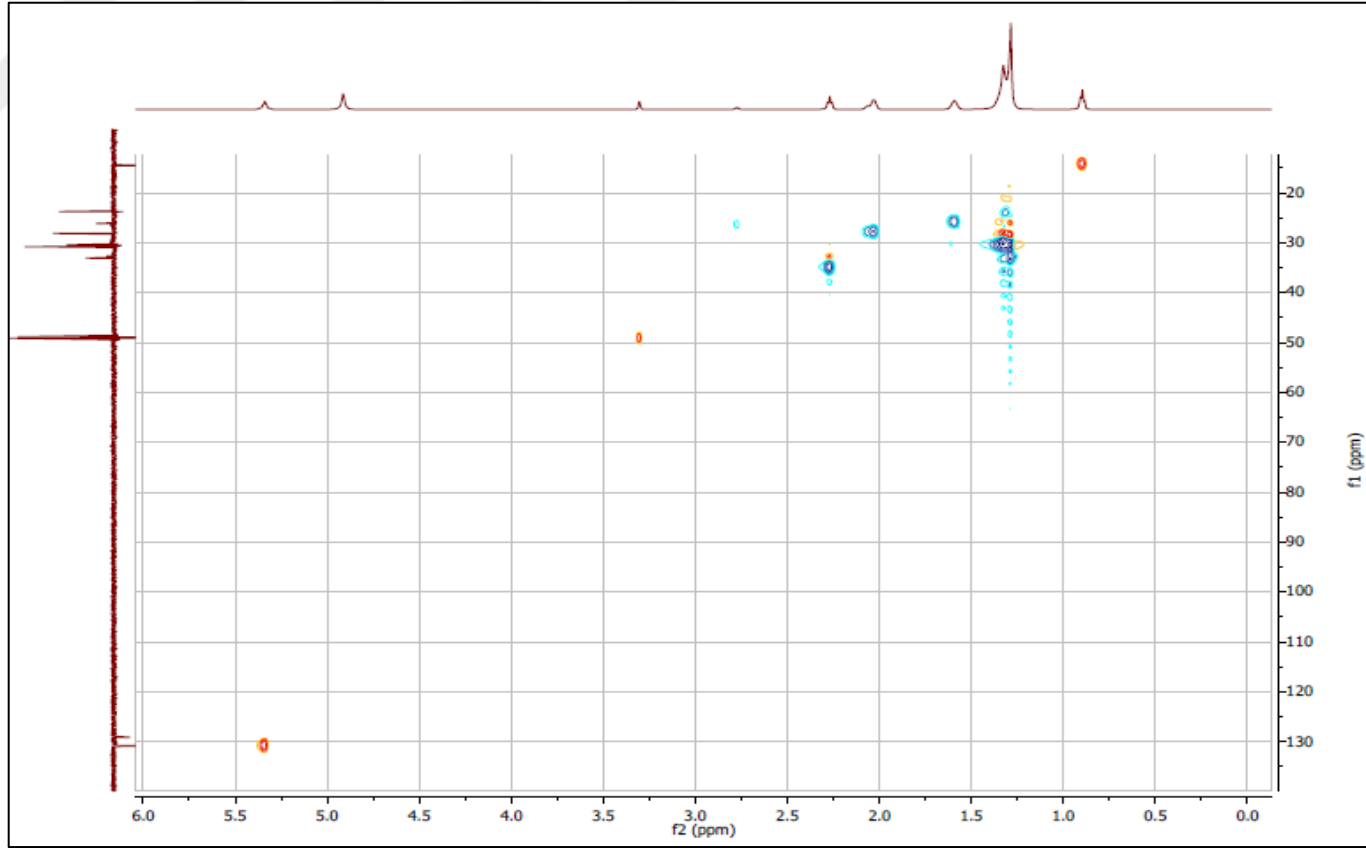
Şekil 4.84. Linoleik asit ve Oleik asit'in (PJC-1) <sup>1</sup>H-NMR spektrumu (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)



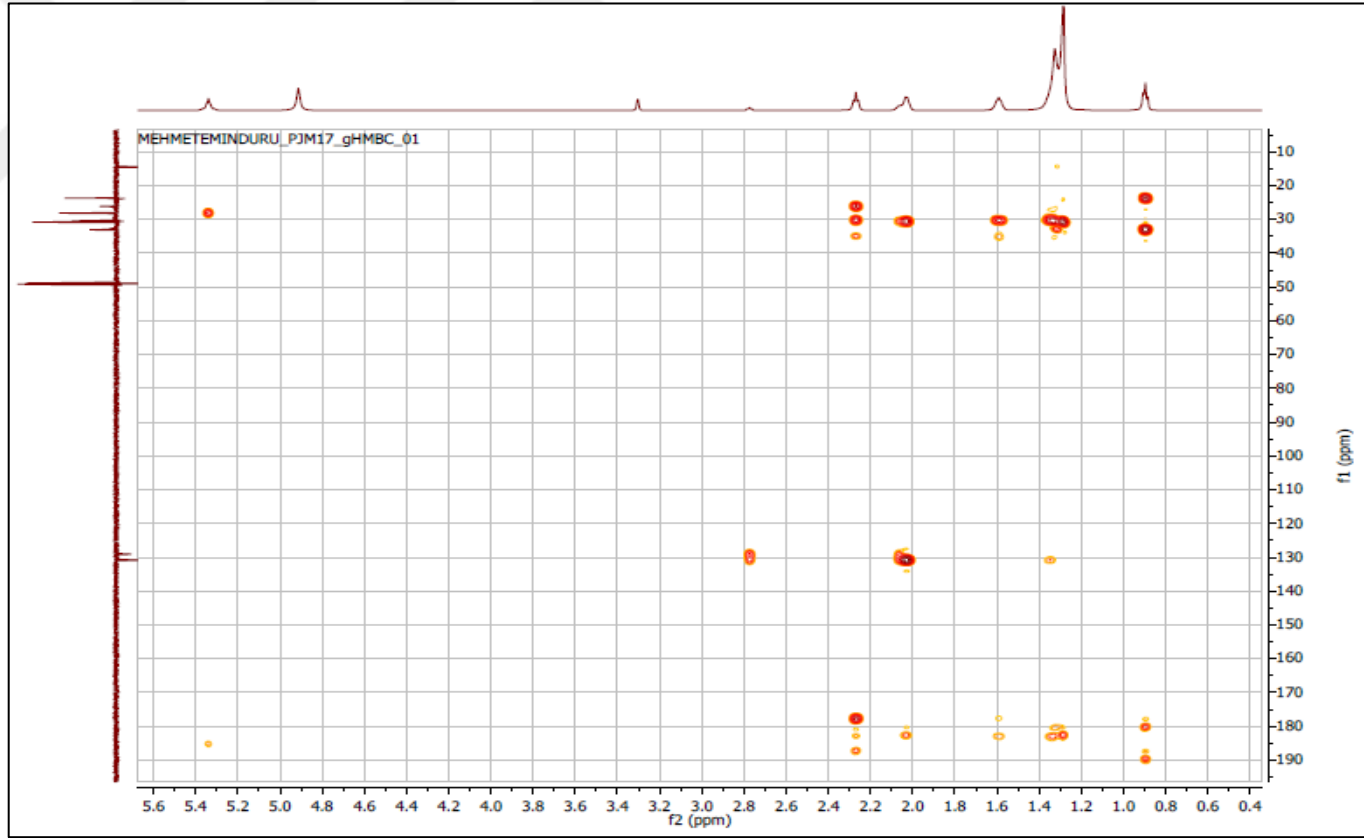
Şekil 4.85. Linoleik asit ve Oleik asit'in (PJC-1) APT-NMR spektrumu (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )



Şekil 4.86. Linoleik asit ve Oleik asit'in (PJC-1) COSY spektrumu



Şekil 4.87. Linoleik asit ve Oleik asit'in (PJC-1) HSQC spektrumu



Şekil 4.88. Linoleik asit ve Oleik asit'in (PJC-1) HMBC spektrumu

#### 4.7.3. *Picoa lefebvrei*'nin bioaktivite kontrollü izolasyon çalışmaları

*Picoa lefebvrei*'nin metanol ekstresinde kromatografik olarak fraksiyonlandırma yoluna gidildi. Bu nedenle ince tabaka kromatografisinde denemeler yapılarak uygun çözücü sistemi ve adsorban seçimi yapıldı. Kolon kromatografisinde adsorban olarak silika jel kullanıldı. Metanol ekstresi (24,1 g) az miktarda uygun çözücüde çözülerek adsorban ile karıştırıldı. Uygun bir kolonda silika jel adsorban kullanıldı ve karışım kuru tatbik edilerek kolona yüklendi. Elüsyona %100 hekzandan başlayarak sırasıyla, hekzan-kloroform (100:0/0:100), kloroform-aseton (100:0/0:100), aseton-metanol (100:0/0:100) sistemleri kullanılarak elüsyon tamamlandı. Bu işlem sonucunda 35 fraksiyon toplandı. Toplanan fraksiyonun ince tabakaları kontrol edilerek, benzer olanlar birleştirildi ve toplamda 14 fraksiyon elde edildi (Çizelge 4.35).

Çizelge 4.35. *P. lefebvrei*'nin metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonların miktarları

Fraksiyonun Kodu		Miktarı	Fraksiyonun Kodu		Miktarı
1	PLM 1-5	32,2 mg	8	PLM 27	2,0 g
2	PLM 6	2,5 g	9	PLM 28	1,2 g
3	PLM 7-8	602,8 mg	10	PLM 29	404 mg
4	PLM 9-14	332 mg	11	PLM 30	200 mg
5	PLM 15-18	716,7 mg	12	PLM 31-33	602 mg
6	PLM 19-25	1,5 g	13	PLM 34	636 mg
7	PLM 26	4,6 g	14	PLM 35	2,8 g

*Picoa lefebvrei*'nin metanol ekstresinden elde edilen tüm fraksiyonların DPPH serbest radikal ve ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri Çizelge 4.36 ve Çizelge 4.37'da verilmektedir. Sonuçlara bakıldığında konsantrasyon artışına paralel olarak fraksiyonların DPPH serbest radikal giderim aktivitesi ve ABTS katyon radikal giderim aktivitelerinin arttığı görülmektedir.

Çizelge 4.36. *P. lefebvrei*'nin metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonların ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi

Fraksiyonlar	% ABTS Katyon Radikal Giderim Aktivitesi			
	100µg/mL	200µg/ mL	400µg/ mL	800µg/ mL
PLM 1-5	3,02±0,90 <sup>l</sup>	7,14±0,56 <sup>l</sup>	9,98±0,01 <sup>k</sup>	11,36±0,37 <sup>k</sup>
PLM 6	4,33±0,02 <sup>k</sup>	6,59±0,05 <sup>l</sup>	8,70±0,19 <sup>l</sup>	14,00±0,14 <sup>j</sup>
PLM 7-8	7,51±0,31 <sup>j</sup>	14,00±1,81 <sup>h</sup>	21,55±0,75 <sup>j</sup>	28,84±0,19 <sup>l</sup>
PLM 9-14	18,20±0,15 <sup>l</sup>	32,16±1,50 <sup>g</sup>	49,91±1,45 <sup>l</sup>	87,81±1,18 <sup>c</sup>
PLM 15-18	51,78±0,19 <sup>h</sup>	61,19±0,17 <sup>f</sup>	72,83±0,60 <sup>f</sup>	80,75±0,28 <sup>f</sup>



Çizelge 4.36. (devam)

PLM 19-25	66,22±0,34 <sup>c</sup>	71,91±0,19 <sup>b</sup>	79,39±0,18 <sup>c</sup>	89,43±0,51 <sup>b</sup>
PLM 26	59,54±0,51 <sup>e</sup>	65,79±1,02 <sup>d</sup>	75,17±0,24 <sup>e</sup>	83,15±0,64 <sup>e</sup>
PLM 27	64,46±1,4 <sup>d</sup>	73,09±1,02 <sup>b</sup>	79,16±1,25 <sup>c</sup>	82,15±1,02 <sup>ef</sup>
PLM 28	55,81±1,00 <sup>f</sup>	62,19±1,72 <sup>ef</sup>	69,39±1,00 <sup>h</sup>	85,25±1,33 <sup>d</sup>
PLM 29	54,13±1,70 <sup>g</sup>	63,03±0,51 <sup>e</sup>	71,19±0,11 <sup>g</sup>	78,90±0,17 <sup>h</sup>
PLM 30	68,90±0,14 <sup>b</sup>	73,18±0,17 <sup>b</sup>	77,77±0,28 <sup>d</sup>	80,17±0,99 <sup>g</sup>
PLM 31-33	65,17±0,45 <sup>cd</sup>	70,17±0,55 <sup>c</sup>	73,78±1,02 <sup>f</sup>	78,66±0,78 <sup>h</sup>
PLM 34	51,97±1,01 <sup>h</sup>	67,00±1,84 <sup>d</sup>	75,12±0,86 <sup>e</sup>	81,12±0,17 <sup>fg</sup>
PLM 35	58,69±1,04 <sup>e</sup>	61,12±1,13 <sup>f</sup>	72,99±0,86 <sup>f</sup>	80,92±0,79 <sup>g</sup>
BHA *	82,63±0,02 <sup>a</sup>	86,7±0,10 <sup>a</sup>	90,75±0,05 <sup>a</sup>	95,89±0,10 <sup>a</sup>
$\alpha$ -Tokoferol *	81,81±0,16 <sup>a</sup>	85,83±0,12 <sup>a</sup>	88,79±0,06 <sup>b</sup>	94,96±0,53 <sup>a</sup>

\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstraller ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p &lt;0.05).

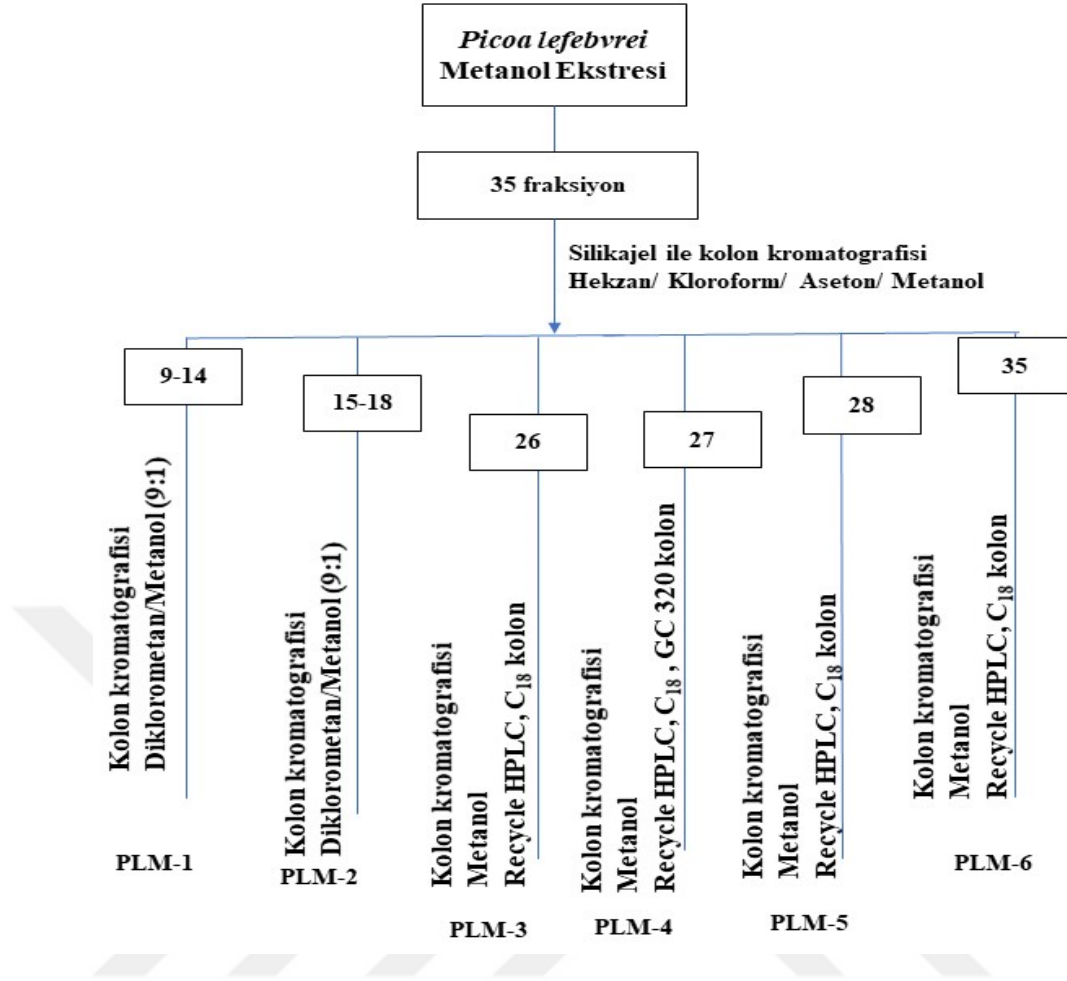
Çizelge 4.37. *P. lefebvrei*'nin metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonların DPPH serbest radikal giderim aktivitesi

% DPPH Radikal Giderim Aktivitesi				
Fraksiyonlar	100µg/mL	200µg/ mL	400µg/ mL	800µg/ mL
PLM 1-5	5,71±1,81 <sup>e</sup>	9,31±1,16 <sup>g</sup>	11,20±1,40 <sup>j</sup>	17,84±1,88 <sup>k</sup>
PLM 6	4,52±1,83 <sup>ef</sup>	6,25±1,07 <sup>h</sup>	7,54±1,23 <sup>i</sup>	11,84±1,88 <sup>k</sup>
PLM 7-8	3,47±0,23 <sup>f</sup>	5,58±0,47 <sup>h</sup>	10,78±0,13 <sup>i</sup>	14,77±1,13 <sup>j</sup>
PLM 9-14	21,39±0,89 <sup>c</sup>	41,61±1,99 <sup>b</sup>	69,01±1,66 <sup>c</sup>	74,95±1,34 <sup>cd</sup>
PLM 15-18	20,29±1,32 <sup>c</sup>	42,12±0,83 <sup>b</sup>	72,09±0,58 <sup>b</sup>	76,85±0,92 <sup>bc</sup>
PLM 19-25	19,71±0,92 <sup>c</sup>	39,12±0,79 <sup>c</sup>	62,12±1,61 <sup>d</sup>	76,48±1,90 <sup>bcd</sup>
PLM 26	19,71±0,92 <sup>c</sup>	39,12±0,79 <sup>c</sup>	62,12±1,61 <sup>d</sup>	76,48±1,90 <sup>bcd</sup>
PLM 27	15,68±0,55 <sup>d</sup>	34,14±1,11 <sup>e</sup>	54,65±0,44 <sup>f</sup>	74,21±1,68 <sup>cd</sup>
PLM 28	15,90±1,63 <sup>d</sup>	27,91±0,31 <sup>f</sup>	45,05±1,71 <sup>h</sup>	77,44±1,11 <sup>b</sup>
PLM 29	14,65±0,92 <sup>d</sup>	28,86±1,17 <sup>f</sup>	52,53±1,22 <sup>g</sup>	68,86±1,09 <sup>c</sup>
PLM 30	19,63±0,34 <sup>c</sup>	34,36±1,35 <sup>e</sup>	61,17±1,25 <sup>d</sup>	75,07±1,35 <sup>cd</sup>
PLM 31-33	20,29±0,49 <sup>c</sup>	36,33±1,06 <sup>d</sup>	58,09±1,19 <sup>e</sup>	62,74±1,90 <sup>f</sup>
PLM 34	16,11±1,63 <sup>d</sup>	32,69±0,48 <sup>e</sup>	46,56±1,34 <sup>h</sup>	57,78±1,06 <sup>h</sup>
PLM 35	28,97±1,68 <sup>b</sup>	40,67±1,51 <sup>bc</sup>	52,18±1,39 <sup>g</sup>	60,17±1,14 <sup>g</sup>
BHA *	86,58±0,02 <sup>b</sup>	88,36±0,29 <sup>b</sup>	97,79±0,15 <sup>a</sup>	96,05±0,08 <sup>a</sup>
$\alpha$ -Tokoferol *	87,70±0,12 <sup>a</sup>	90,07±0,52 <sup>a</sup>	94,74±0,15 <sup>b</sup>	96,12±0,42 <sup>a</sup>

\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstraller ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p &lt;0.05).

*Picoa lefebvrei*'nin metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonların DPPH serbest radikal giderimi ve ABTS<sup>+</sup> katyon radikali giderim aktiviteleri karşılaştırıldıktan yüksek aktivite gösterip, miktar bakımından, izolasyon çalışmaları için yeterli olan ve İTK ile kontrol edilip ayrılması mümkün olan fraksiyonlar ile izolasyon çalışmalarına devam edildi. Saflaştırılan bileşiklerin yapılarını aydınlatmak amacıyla <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C NMR, DEPT-90, DEPT-135, HMBC, HSQC ve MS analizleri yapıldı.



Şekil 4.89. *P. lefebvrei*'nin kloroform ekstraksiyonu fraksiyonlandırma işlemleri

Ayrıca *Picoa lefebvrei* kloroform ekstresinden bileşik izolasyonu yapılmasına karar verildi. Kolon kromatografisi kullanılarak fraksiyonlandırıldı. Buna göre ekstre, ince tabaka kromatografisinde (İTK) farklı çözücü sistemleriyle denemeler yapılarak, uygun çözücü sistemi ve adsorban seçildi. 4,9 g kloroform ekstresi kolon kromatografisinde silika jel adsorban kullanılarak sırasıyla hekzan: diklorometan (100:0/0:100), diklorometan: etilasetat (100:0/0:100) çözücü sistemleri kullanılarak fraksiyonlandırma işlemi gerçekleştirildi. Bu işlemlerin ardından ince tabaka kromatografisi yardımıyla benzer olan fraksiyonlar birleştirildi ve 5 adet ana fraksiyon elde edildi. PLC-5 fraksiyonu DPPH serbest radikal giderimi ve ABTS<sup>+</sup> katyon radikali giderim aktivitesi bakımından diğerlerine göre daha yüksek aktivite gösterdiği için PLC-5'in fraksiyonlandırma işlemleri yapılmıştır (Çizelge 4.24 ve Çizelge 4.25; Şekil 4.18).

Çizelge 4.38. *P. lefebvrei* kloroform ekstresinden elde edilen fraksiyonların miktarları

Fraksiyonun Kodu	Miktarı
PLC-1	2650 mg
PLC-2	276 mg
PLC-3	507 mg
PLC-4	545 mg
PLC-5	451 mg

Çizelge 4.39. *P. lefebvrei*'den kloroform ekstresinden elde edilen fraksiyonların ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri

% ABTS Katyon Radikal Giderim Aktivitesi				
Fraksiyonlar	100µg/mL	200µg/ mL	400µg/ mL	800µg/ mL
PLC 1	-	-	-	-
PLC 2	2,11±0,05 <sup>d</sup>	1,56±0,02 <sup>d</sup>	5,77±0,05 <sup>d</sup>	8,18±0,09 <sup>e</sup>
PLC 3	4,94±2,73 <sup>c</sup>	8,36±0,21 <sup>c</sup>	11,04±0,15 <sup>c</sup>	16,10±0,05 <sup>d</sup>
PLC 4	3,16±2,31 <sup>cd</sup>	9,40±2,31 <sup>c</sup>	13,57±3,16 <sup>c</sup>	25,62±0,84 <sup>c</sup>
PLC 5	<b>16,10±0,84<sup>b</sup></b>	<b>21,75±1,68<sup>b</sup></b>	<b>40,79±2,52<sup>b</sup></b>	<b>61,32±0,84<sup>b</sup></b>
BHA*	82,63±0,02 <sup>a</sup>	86,7±0,10 <sup>a</sup>	90,75±0,05 <sup>a</sup>	95,89±0,10 <sup>a</sup>
α-Tokoferol*	81,81±0,16 <sup>a</sup>	85,83±0,12 <sup>a</sup>	88,79±0,06 <sup>a</sup>	94,96±0,53 <sup>a</sup>

-: aktivite yok

\*: Standart

Farklı üst simge değerleri, farklı ekstratlar ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p <0.05).

Çizelge 4.40. *P. lefebvrei*'den kloroform ekstresinden elde edilen fraksiyonların DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri

% DPPH Radikal Giderim Aktivitesi				
Fraksiyonlar	100µg/mL	200µg/ mL	400µg/ mL	800µg/ mL
PLC 1	2,76±0,05 <sup>c</sup>	2,64±0,17 <sup>de</sup>	6,49±0,08 <sup>d</sup>	11,34±0,18 <sup>c</sup>
PLC 2	0,03±0,12 <sup>d</sup>	1,56±0,18 <sup>de</sup>	1,27±0,70 <sup>g</sup>	2,76±0,35 <sup>f</sup>
PLC 3	0,65±0,45 <sup>d</sup>	1,14±0,23 <sup>e</sup>	2,61±0,35 <sup>f</sup>	4,45±1,25 <sup>e</sup>
PLC 4	2,61±2,05 <sup>c</sup>	3,10±2,21 <sup>d</sup>	4,81±0,06 <sup>e</sup>	8,97±0,08 <sup>d</sup>
PLC 5	<b>4,45±0,17<sup>b</sup></b>	<b>8,48±0,35<sup>c</sup></b>	<b>16,07±0,03<sup>c</sup></b>	<b>31,12±0,52<sup>b</sup></b>
BHA*	86,58±0,02 <sup>a</sup>	88,36±0,29 <sup>b</sup>	97,79±0,15 <sup>a</sup>	96,05±0,08 <sup>a</sup>
α-Tokoferol*	87,70±0,12 <sup>a</sup>	90,07±0,52 <sup>a</sup>	94,74±0,15 <sup>b</sup>	96,12±0,42 <sup>a</sup>

\*: Standart

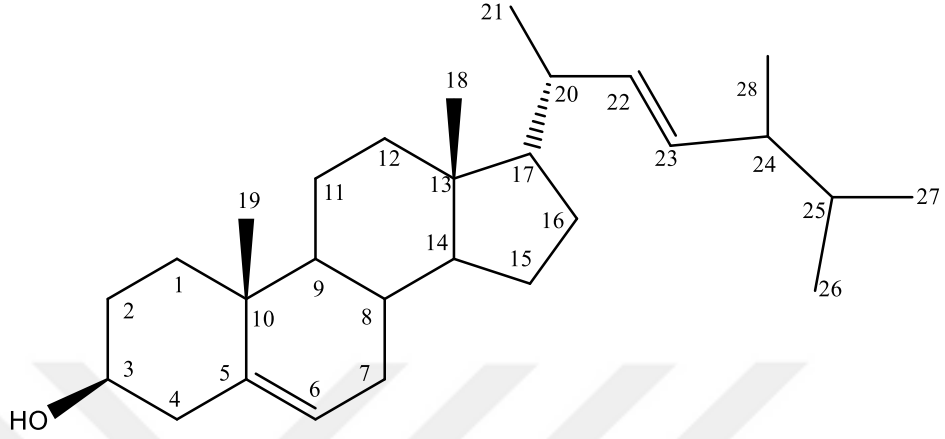
Farklı üst simge değerleri, farklı ekstratlar ve aynı derişim arasındaki önemli farklılıkları gösterir (tek yönlü ANOVA, Fisher Testi; p <0.05).



Şekil 4.90. *P. lefebvrei*'nin kloroform ekstraksiyonu fraksiyonlandırma işlemleri

#### 4.7.4. *Picoa lefebvrei*'den izole edilen bileşikler

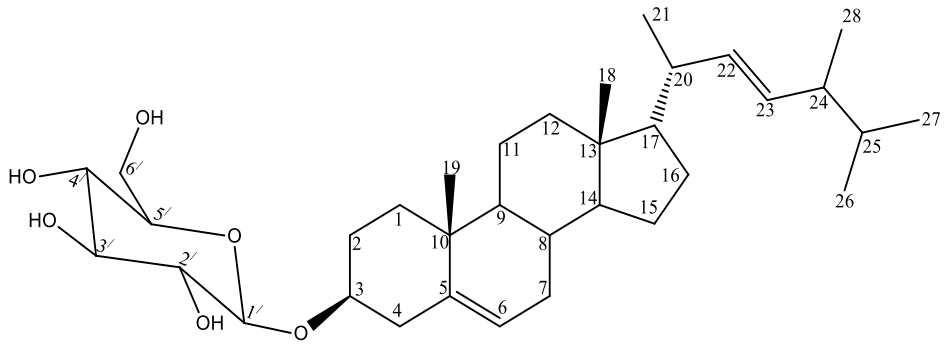
##### 4.7.4.1. *Brassikasterol (PLM-1)*



Şekil 4.91. *Brassikasterol (PLM-1)*

PLM-1 bileşiği beyaz renkli olarak amorf halde elde edildi (6,0 mg). Bu bileşiğin spektral verileri için bölüm 4.7.2.1.'e bakınız.

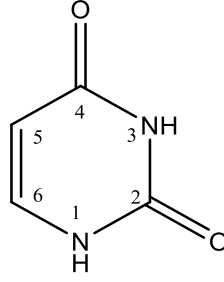
##### 4.7.4.2. *Ergosta 5,22-dien 3-O-β-D-glukopiranozit (PLM 2)*



Şekil 4.92. *Ergosta 5,22-dien 3-O-β-D-glukopiranozit (PLM-2)*

PLM-2 bileşiği beyaz renkli olarak amorf halde elde edildi (5,7 mg). Bu bileşiğin spektral verileri için bölüm 4.7.2.4'e bakınız.

#### 4.7.4.3. Urasil (PLM-3)



**Molekül formülü: C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

**Molekül Ağırlığı: 112,02**

**Şekil 4.93. Urasil (PLM-3)**

PLM-3 bileşiği beyaz renkli olarak amorf halde elde edildi (1,24 mg). Ters faz ince tabaka kromatografisinde UV 366 nm’de halka şeklinde koyu renkli görünürken, serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) maddenin rengi kaybolduğu gözlemlendi. Molekül formülü C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> olarak belirlenen PLM-3 numaralı bileşiğin yapısı <sup>1</sup>H-NMR ve MS teknikleri kullanılarak aydınlatıldı.

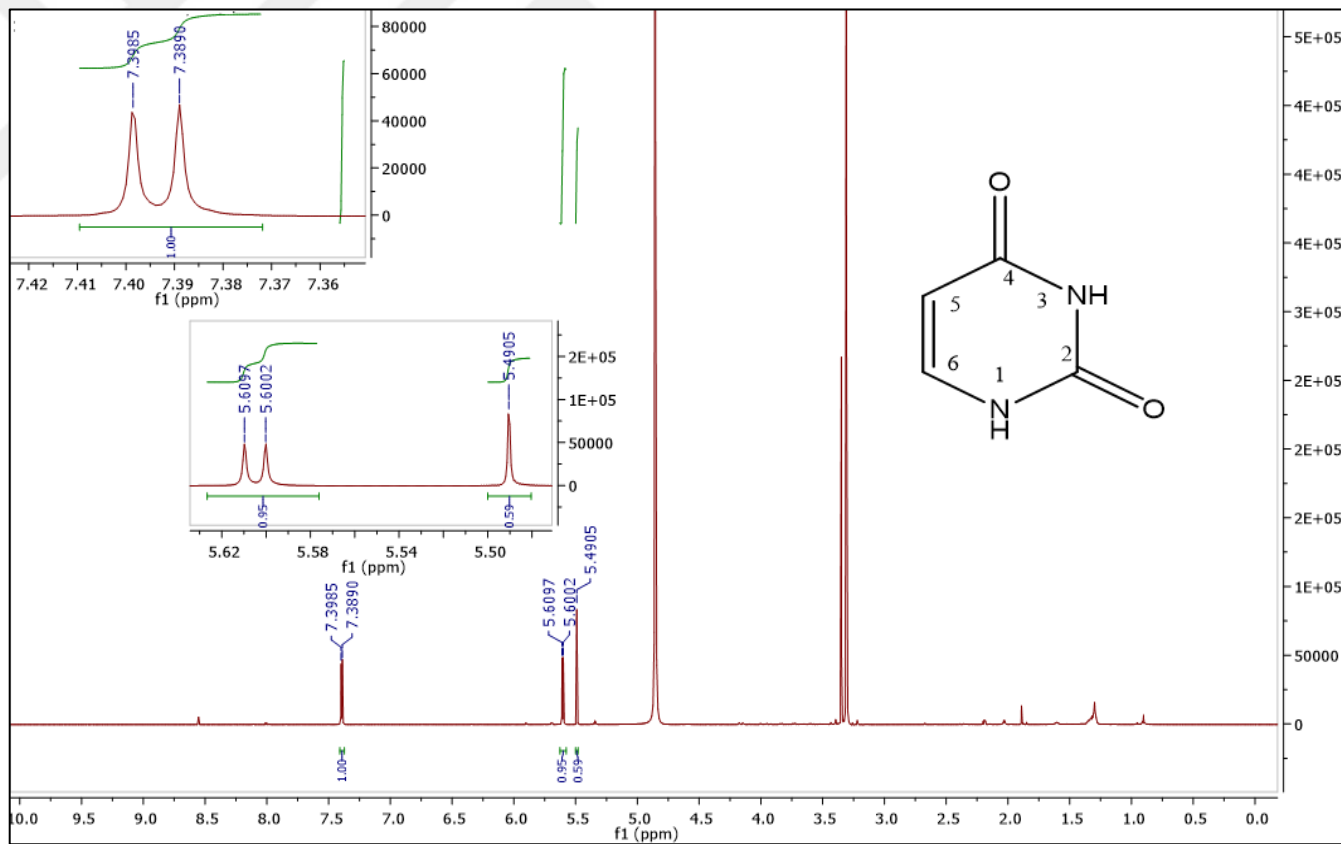
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda (CD<sub>3</sub>OD, δ(ppm), 600 MHz, Şekil 4.94) aromatik bölgede δ 7,39 (1H, *d*, *J*=7,6 Hz, H-6), δ 5,61 (1H, *d*, *J*=7,6 Hz, H-5) ve δ 5,49 (1-NH) ile δ 8,54 (3-NH) pikleri izlenmiştir.

Kütle spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.95), *m/z* 112 [M]<sup>+</sup> piki 4 doymamışlık derecesi ile C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kapalı formülünü doğrulamıştır. EI-MS spektrumunda *m/z* 97,0 [M-3-NH]<sup>+</sup>, *m/z* 69,0 ve *m/z* 42,0 kütle parçalanmaları görülmektedir (Şekil 4.96).

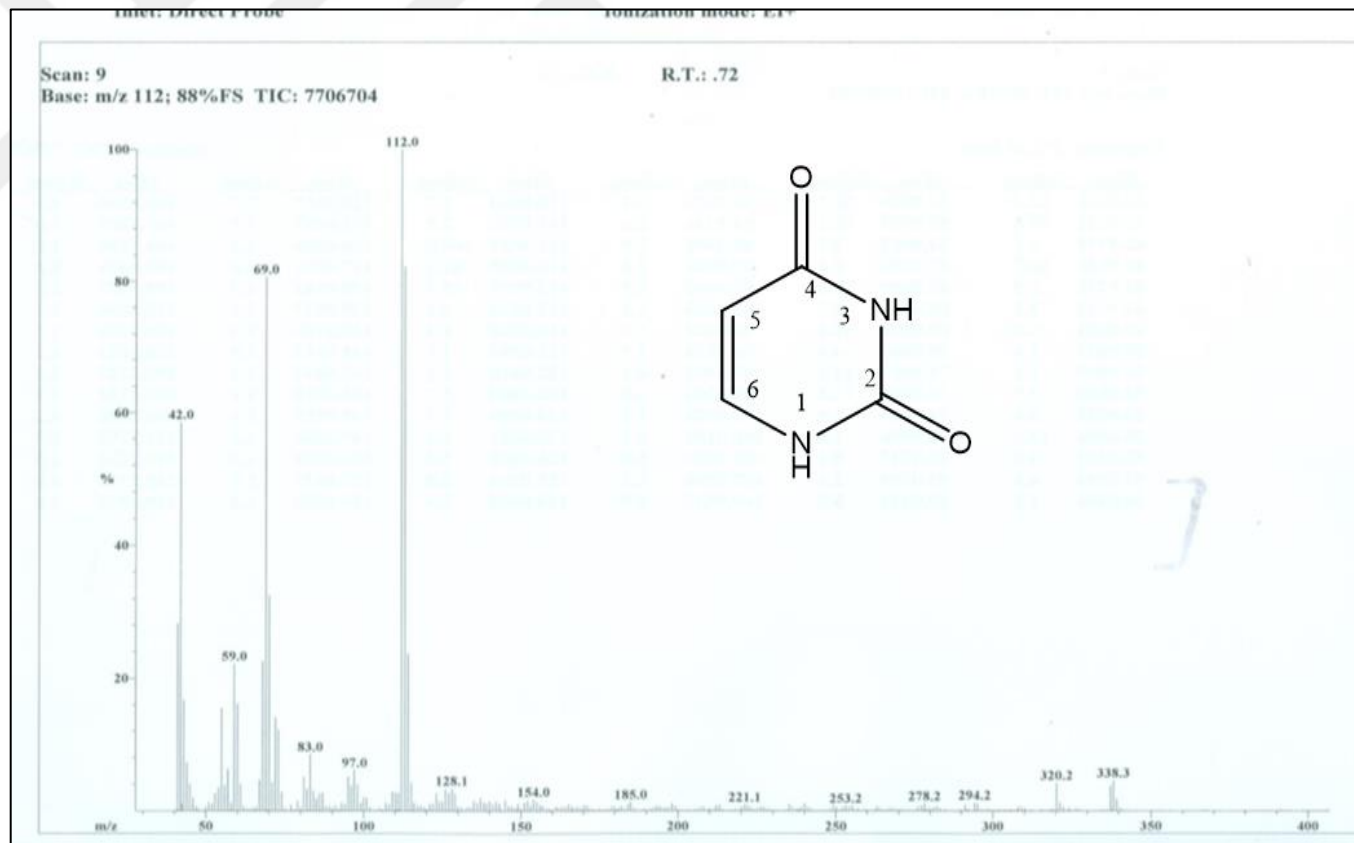
<sup>1</sup>H-NMR (Şekil 4.94) ve EI-MS (Şekil 4.95) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde PLM-3 maddesinin yapısının tamamı doğrulandı. Çizelge 4.41’deki <sup>1</sup>H-NMR, değerleri literatür ile karşılaştırıldığında, PLM-3 maddesinin Urasil (Şekil 4.93) olduğu belirlendi (Kokko vd.,1962).

**Çizelge 4.41. Urasil’in (PJM-1) <sup>1</sup>H-NMR değerleri**

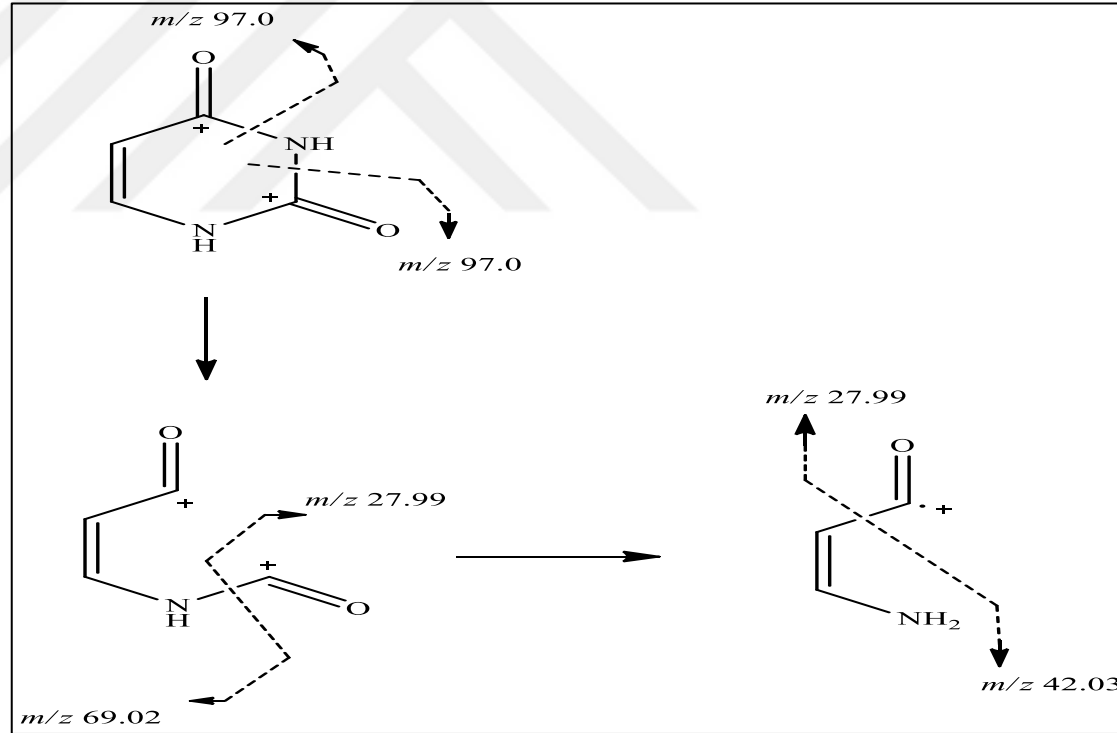
C.no.	<sup>1</sup> H-NMR (δ)
1*	5,49 (1H, <i>s</i> )
3*	8,54 (1H, <i>s</i> )
5	5,61 (1H, <i>d</i> , <i>j</i> =7,6 Hz)
6	7,39 (1H, <i>d</i> , <i>j</i> = 7,6 Hz)



Şekil 4.94. Urasil'in (PLM-3)  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu (600 MHz;  $\text{CD}_3\text{OD}$ )



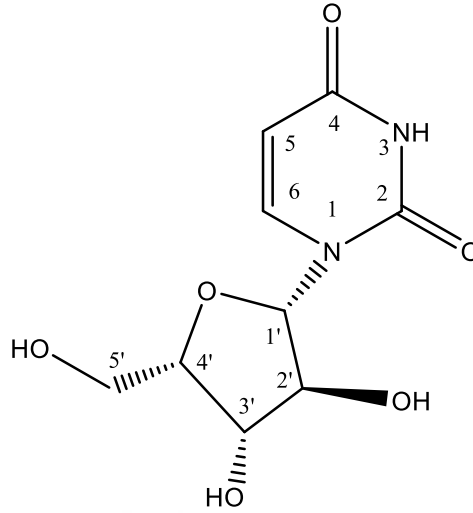
Şekil 4.95. Urasil'in (PLM-3) EI-MS spektrumu



Şekil 4.96. Urasil'in (PLM-3) bileşiğinin kütle parçalanmaları (EI-MS)



#### 4.7.4.4. 1- $\beta$ -L-xylofuranosil (PLM 4)



**Molekül formülü: C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>**

**Molekül Ağırlığı: 244,20**

**Şekil 4.97. 1- $\beta$ -L-xylofuranosil (PLM-4)**

PLM-4 bileşiği amorf halde elde edildi (2,72 mg). İnce tabaka kromatografisinde UV 254 nm’de görünmeyen madde, serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu mor renk oluştuğu gözlemlendi. Molekül formülü C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> olarak belirlenen PLM-4 numaralı bileşiğin yapısı NMR (1D, 2D), MS teknikleri kullanılarak aydınlatıldı.

<sup>1</sup>H NMR spektrumunda (CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$ (ppm), 600 MHz, Şekil 4.98)  $\delta$  8,00 (1H, *d*, *J*=8,4 Hz, H-6) ve  $\delta$  5,68 (1H, *d*, *J*=8,4 Hz, H-5) ppm’de iki adet vinilik proton,  $\delta$  5,89 (1H, *d*, *J*=4,3 Hz, H-1') ppm’de iki heteroatom arasında kalan anomerik proton gözlemlenmiştir. 5,89 (1H, *d*, *J*=4,3 Hz H-1'),  $\delta$  4,14 (1H, *t*, *J*=7,7 Hz, H-2'),  $\delta$  4,16 (1H, *t*, *J*=4,3 Hz, H-3'),  $\delta$  3,99 (1H, br. *s*, H-4') ppm’de oksijene bağlı karbona ait metin proton sinyali,  $\delta$  3,82 (1H, *d*, *J*=12,2 Hz, H-5/a) ve  $\delta$  3,71 (1H, *d*, *J*=12,2 Hz, H-5/b) ppm’de metilen protonun sinyali izlenmiştir.

APT-NMR spektrumu (CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$ (ppm), 150 MHz, Şekil 4.99) değerlendirildiğinde yapıda 2 katerner, 6 metin ve 1 metilen karbonu olduğu tespit edilmiştir.  $\delta$  142,8 (C-6) ve  $\delta$  102,7 (C-5) ppm’de metin karbonu,  $\delta$  166,3 (C-4),  $\delta$  152,5 (C-2) ppm’de ise iki konjuge keton karbonil pikleri gözlemlenmiştir.

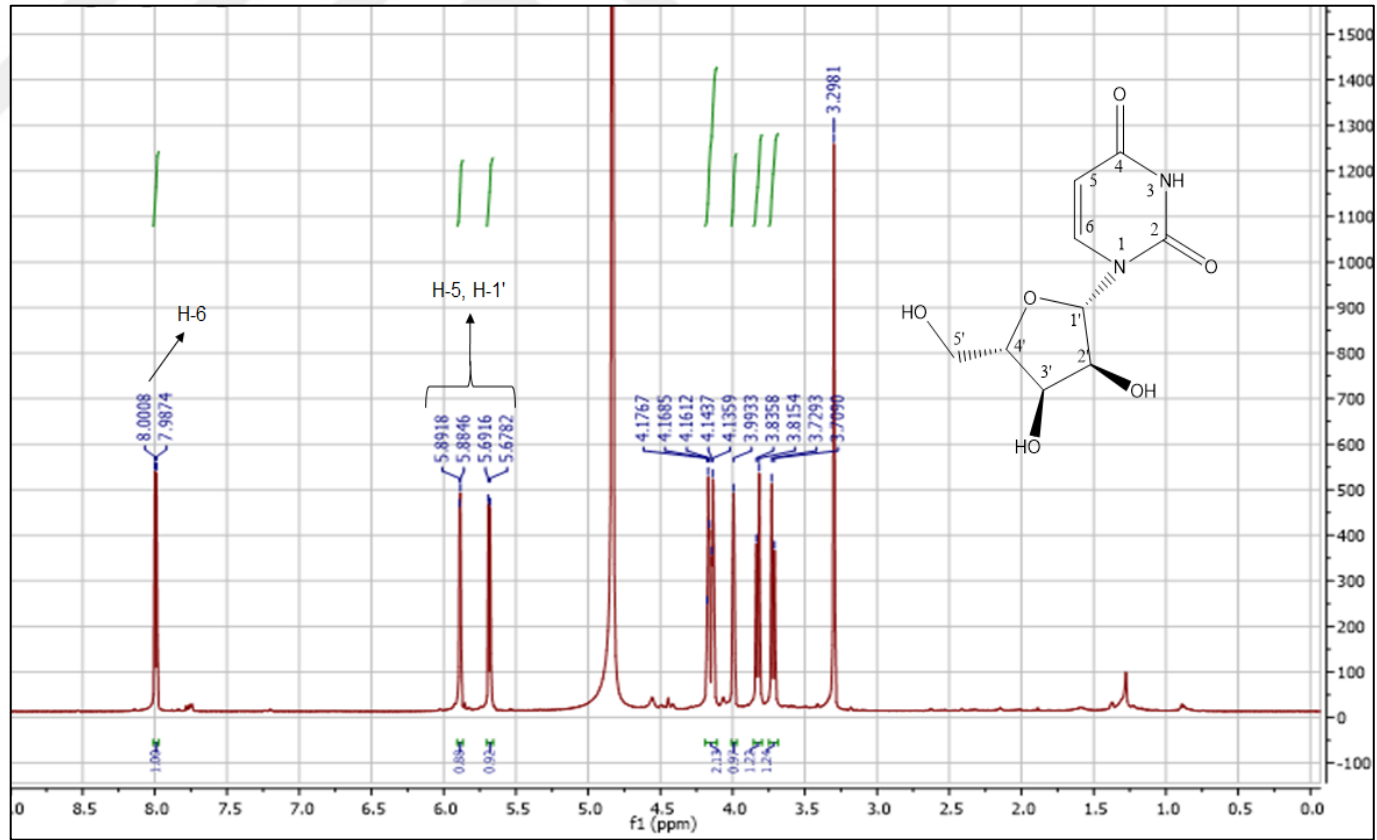
HMBC spektrumu incelendiğinde  $\delta$  8,00 (1H, *d*,  $J=8,4$  Hz, H-6) ppm'deki hidrojen piki  $\delta$  152,5 (C-2),  $\delta$  166,3 (C-4),  $\delta$  102,7 (C-5),  $\delta$  90,8 (C-1') ppm'deki karbonlarıyla korelasyon kurmuştur. Ayrıca  $\delta$  5,89 (1H, *d*,  $J=4,3$  Hz, H-1') ppm'deki anomerik proton,  $\delta$  152,5 (C-2), 142,8 (C-6), 75,8 (C-3') ppm'deki karbonlar ile korelasyon kurduğu için glikozitin 1 pozisyonundaki azot atomu üzerinden bağlı olduğu belirlenmiştir.

Kütle spektrumu incelendiğinde  $m/z$  267'de [M+Na] piki görülmüştür.

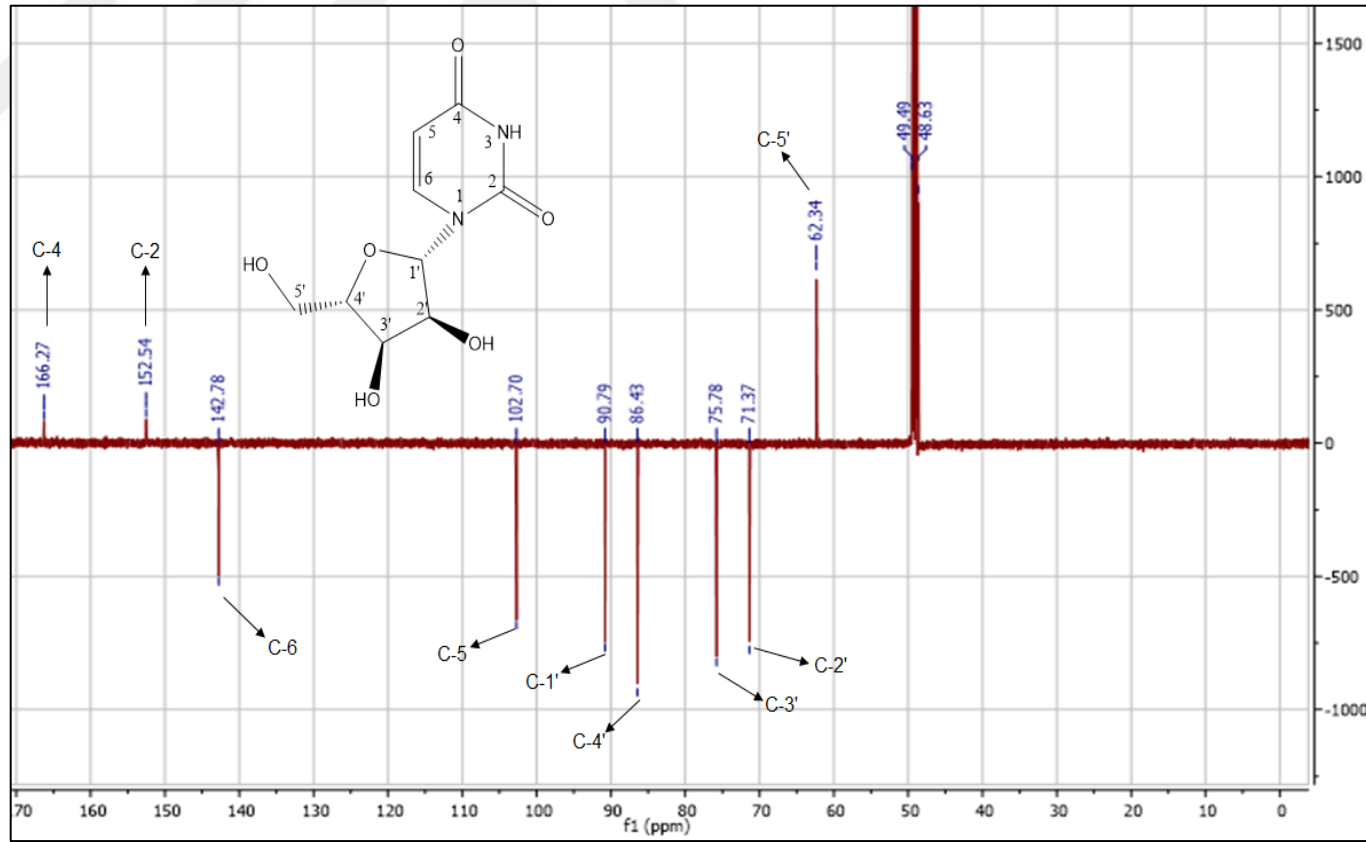
$^1\text{H-NMR}$  (Şekil 4.98) APT-NMR (Şekil 4.99), COSY (Şekil 4.100), HSQC (Şekil 4.101) ve HMBC (Şekil 4.102) ESI-MS (Şekil 4.103) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde PLM-4 maddesinin yapısının tamamı doğrulandı. Çizelge 4.42'deki  $^1\text{H-NMR}$ , APT-NMR, HMBC ve COSY değerleri literatür ile karşılaştırıldığında, PLM-4 maddesinin 1- $\beta$ -L-xylofuranosil (Şekil 4.97) olduğu belirlendi (Gosselin vd., 1993).

**Çizelge 4.42. 1- $\beta$ -L-xylofuranosil'in (PLM-4)  $^1\text{H-NMR}$ , APT-NMR, HMBC ve COSY değerleri**

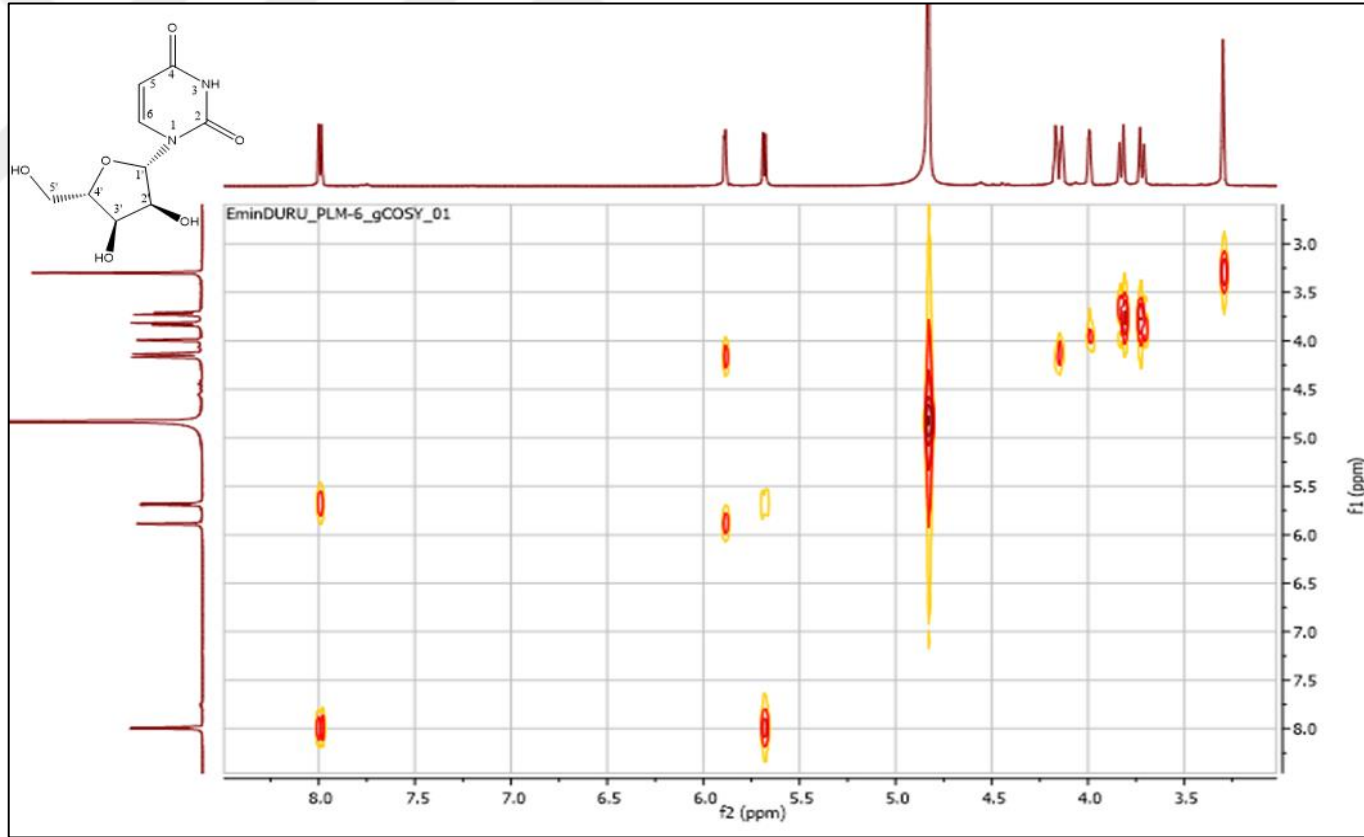
C.no.	APT-NMR( $\delta$ )	$^1\text{H-NMR}$ ( $\delta$ )	HMBC	COSY
2	152,5	-		
4	166,3	-		
5	102,7	5,68 (1H, <i>J</i> =8,4 Hz)	C-4, C-6	H-6
6	142,8	8,00 (1H, <i>d</i> , $J= 8,4$ Hz)	C-2, C-4, C-5, C-1'	H-5
1'	90,8	5,89 (1H, <i>d</i> , $J=4,3$ Hz)	C-2, C-6, C-3'	H-2'
2'	71,4	4,14 (1H, <i>t</i> , $J= 7,7$ Hz)	C-1', C-5'	H-1'
3'	75,8	4,16 (1H, <i>t</i> , $J= 4,3$ Hz)	C-1', C-4'	
4'	86,4	3,99, (1H, br. <i>s</i> )	C-2'	
5'a	62,3	3,82 (1H, <i>d</i> , $J= 12,2$ Hz)	C-2', C-4'	
5'b	62,3	3,71 (1H, <i>d</i> , $J= 12,2$ Hz)	C-2', C-4'	



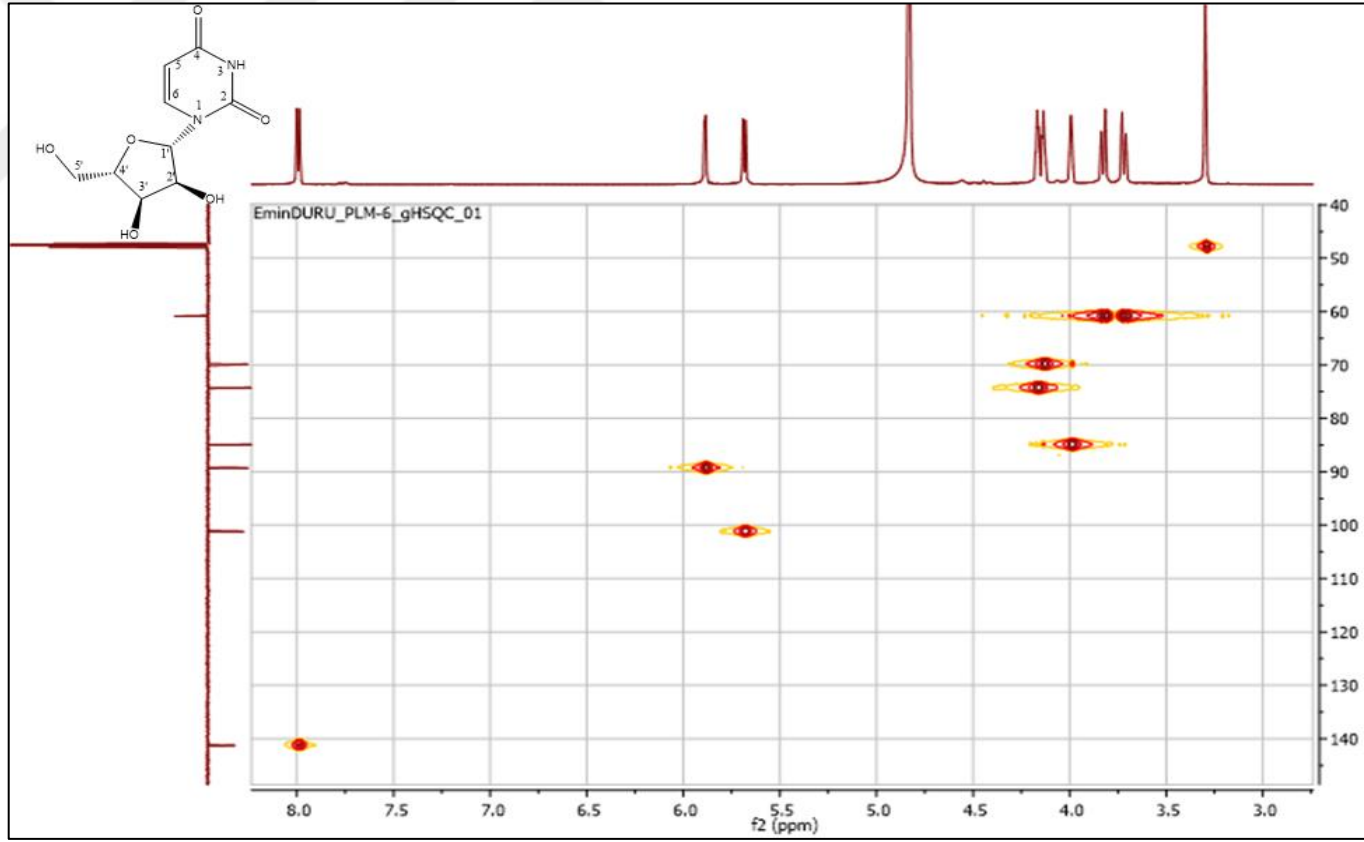
Şekil 4.98. 1-β-L-xylofuranosil'in (PLM-4) <sup>1</sup>H-NMR spektrumu (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)



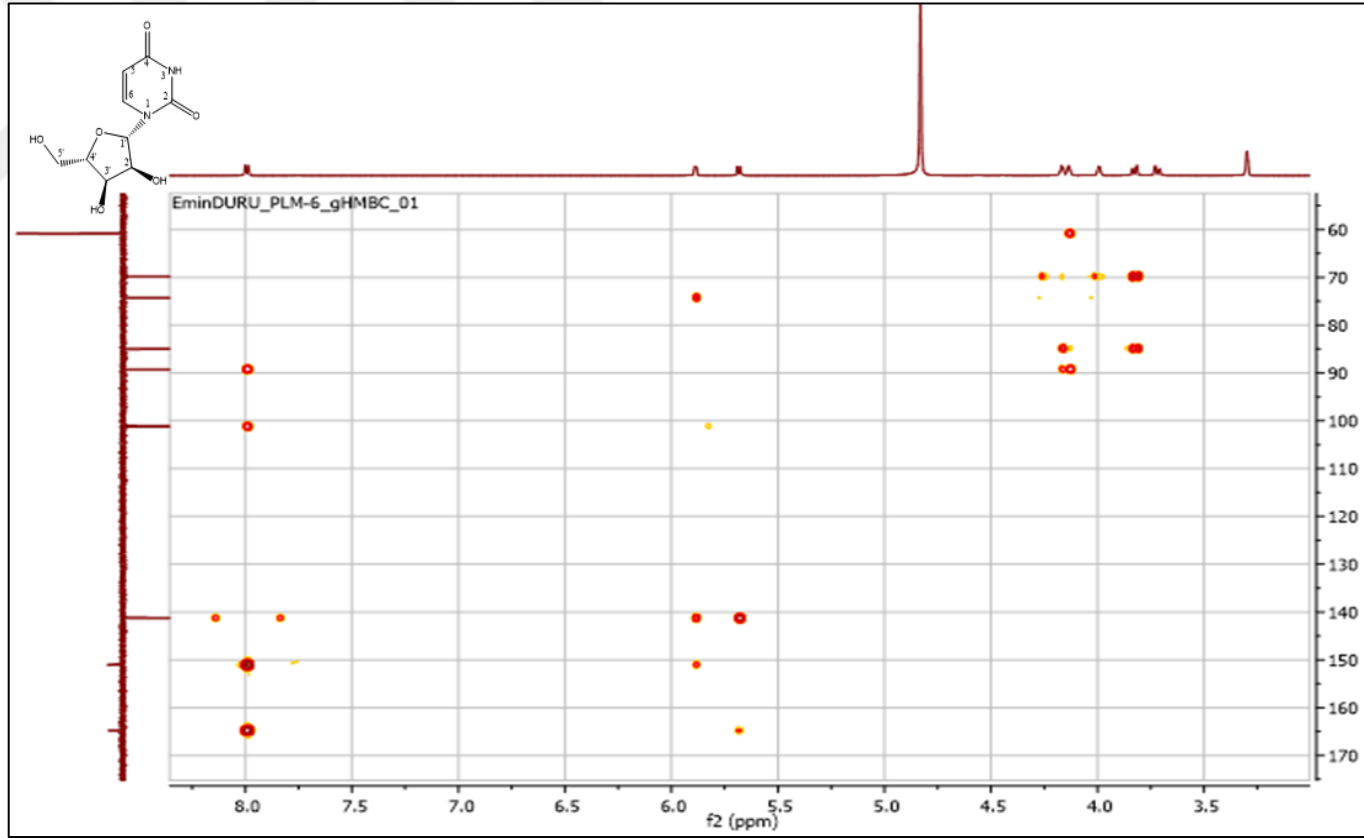
Şekil 4.99. 1-β-L-xylofuranosil'in (PLM-4) APT-NMR spektrumu (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)



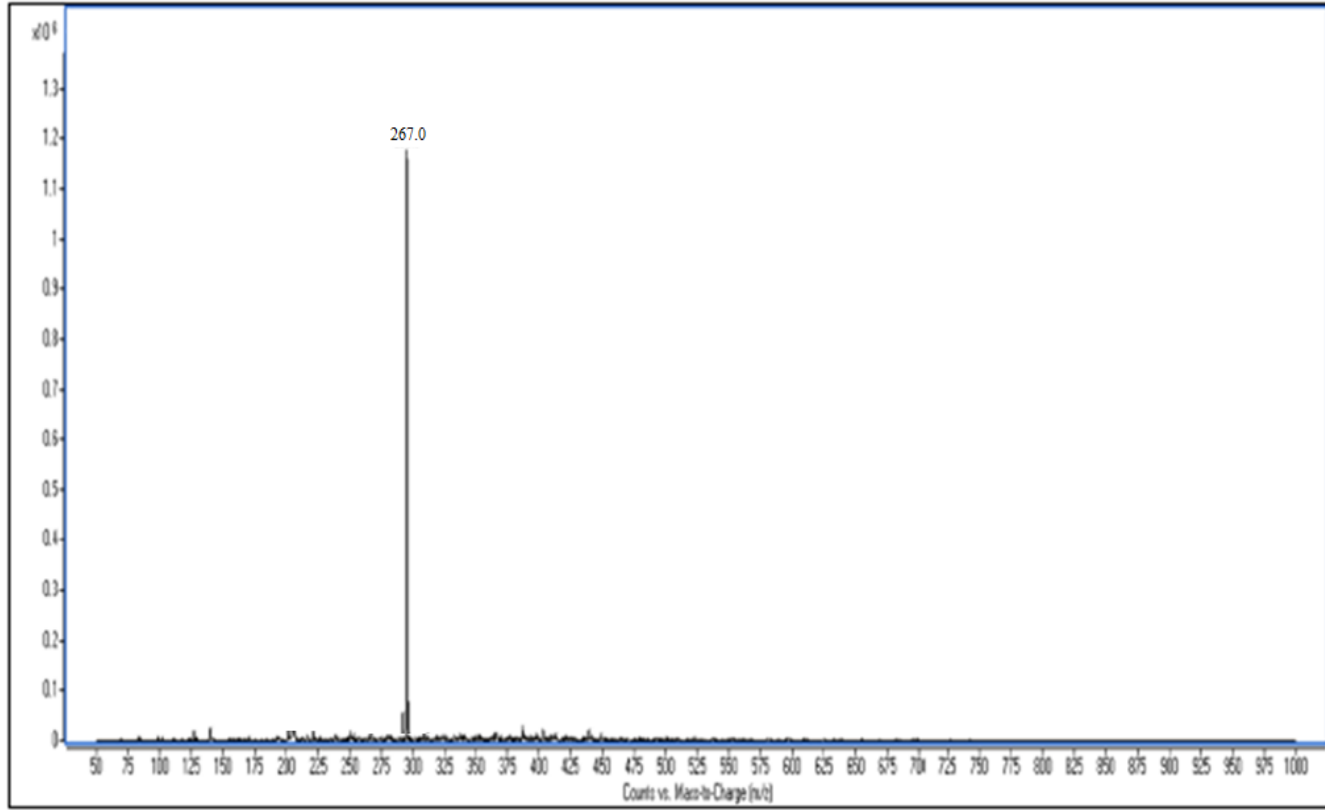
Şekil 4.100. 1-β-L-xylofuranosil'in (PLM-4) COSY spektrumu



Şekil 4.101. 1-β-L-xylofuranosil'in (PLM-4) HSQC spektrumu



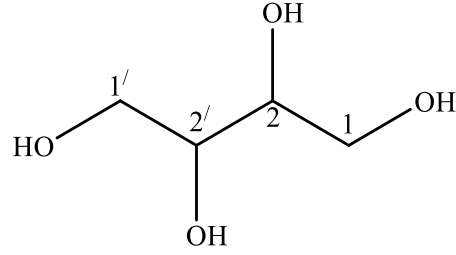
Şekil 4.102. 1- $\beta$ -L-xylofuranosil'in (PLM-4) HMBC spektrumu



Şekil 4.103. 1-β-L-xylofuranosil'in (PLM-4) ESI-MS spektrumu



#### 4.7.4.5. Eritriol (PLM 5)



**Molekül formülü: C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>**

**Molekül ağırlığı: 122,11**

**Şekil 4.104. Eritriol (PLM-5)**

PLM-5 bileşiği beyaz renkli olarak kristal halde elde edildi (2,25 mg). İnce tabaka kromatografisinde UV 254 nm'de görünmeyen madde, serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) siyahımsı yeşil renk oluştuğu gözlemlendi. Molekül formülü C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub> olarak belirlenen PLM-5 numaralı bileşiğin yapısı NMR (1D, 2D), MS teknikleri kullanılarak aydınlatıldı.

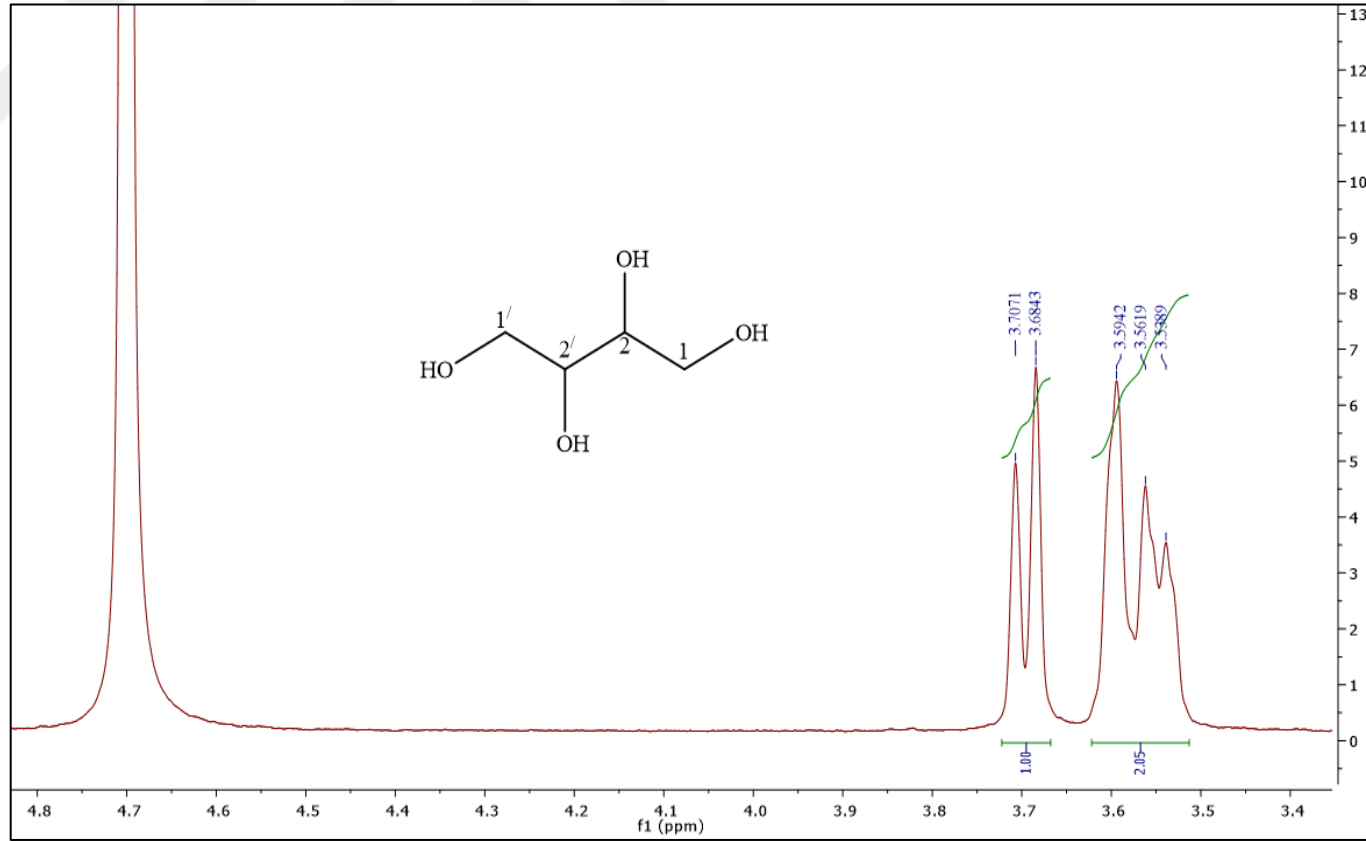
<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, δ(ppm), 500 MHz, Şekil 4.105) spektrumu δ 3,55 (1H, s, H-1-1'), δ 3,69 (1H, d, J=10,8 Hz), 3,53 (1H, t, j=4,5 Hz) ppm'de rezonans olan pikler izlenmiştir.

<sup>13</sup>C-NMR (D<sub>2</sub>O, δ(ppm), 125 MHz, Şekil 4.106) ve DEPT-135 (Şekil 4.107) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde δ 65,23 (C-2,2'), δ 74,62 (C-1,1') ppm'de rezonans olan 1 adet metin, 1 adet metilen karbon sinyali görülmüştür. COSY (Şekil 4.108), HSQC (Şekil 4.109) spektrum değerleri incelenmiş veriler Çizelge 4.43'te verilmiştir.

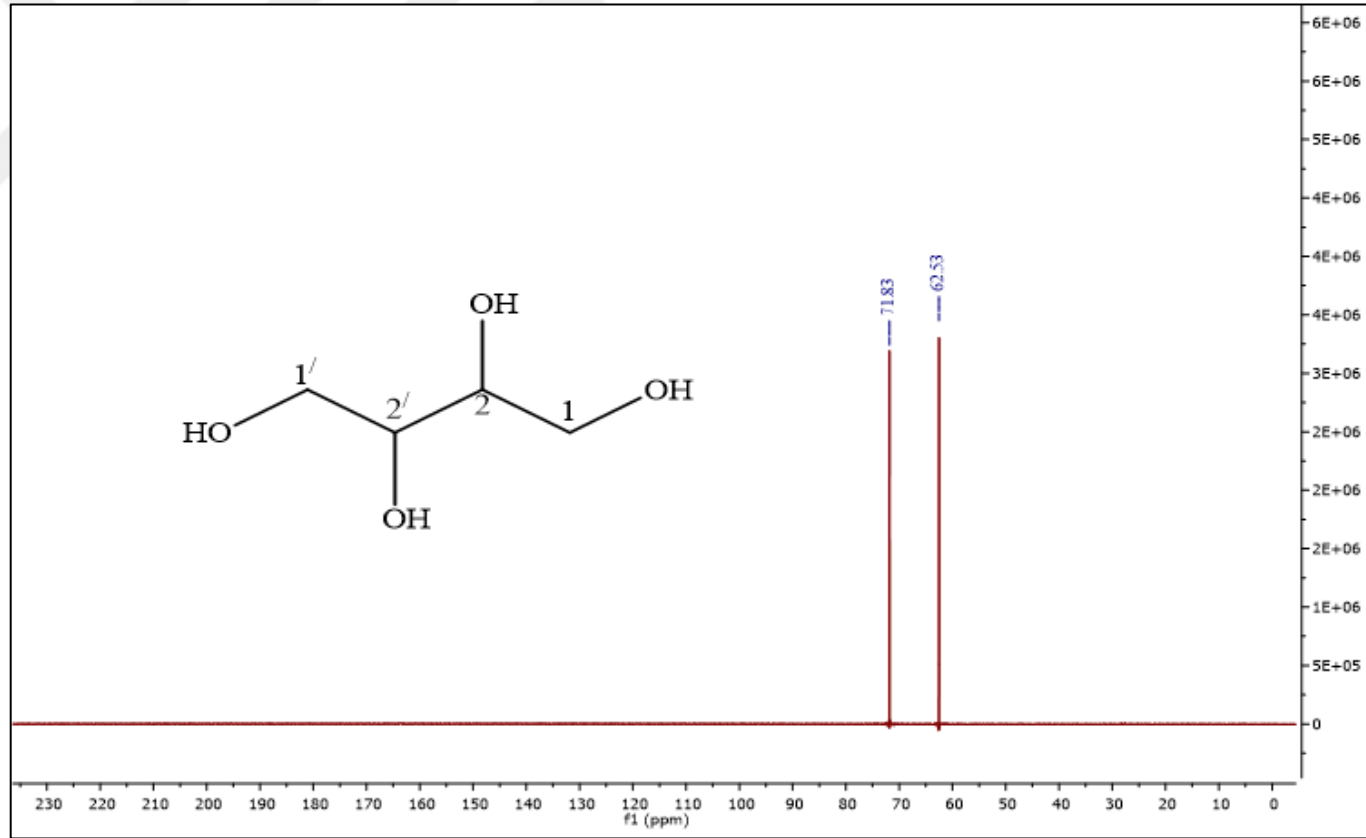
Silillenmiş maddenin, GC-MS (Şekil 4.111) analizi ve kütle spektrum sonuçlarının Wiley 2008 kütüphanesi ile karşılaştırılması sonucunda PJM-5 maddesinin Eritriol olduğu (Şekil 4.105) ve <sup>13</sup>C-NMR'da görülen karbonların simetrik olduğu tespit edilmiştir. <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, HMBC, COSY değerleri, Çizelge 4.43'te verilmiştir (Hirata, 1999; Duquesnoy vd., 2008).

Çizelge 4.43 Eritriol'ün (PLM-5)  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  ve HMBC değerleri

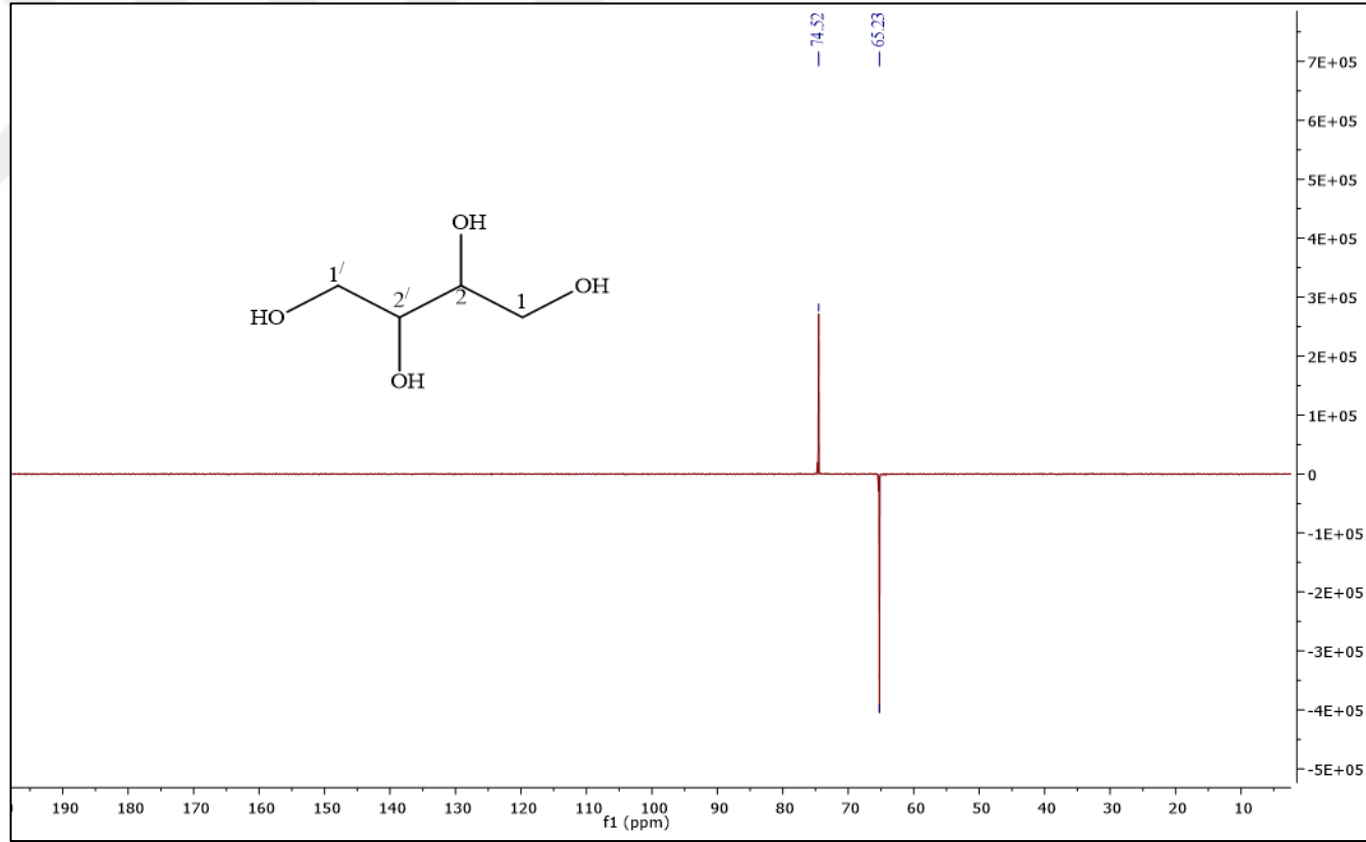
C.No.	$^{13}\text{C-NMR}(\delta)$	$^1\text{H-NMR}(\delta)$	HMBC	COSY
1-1'	74,52	3,55 (1H, br. s)	C-2, C-2'	H-2, H-2'
2-2'	65,23	3,69 (1H, d, $J=10,8$ Hz), 3,53 (1H, t, $j=4,5$ )	C-1, C-1'	H-1, H-1'



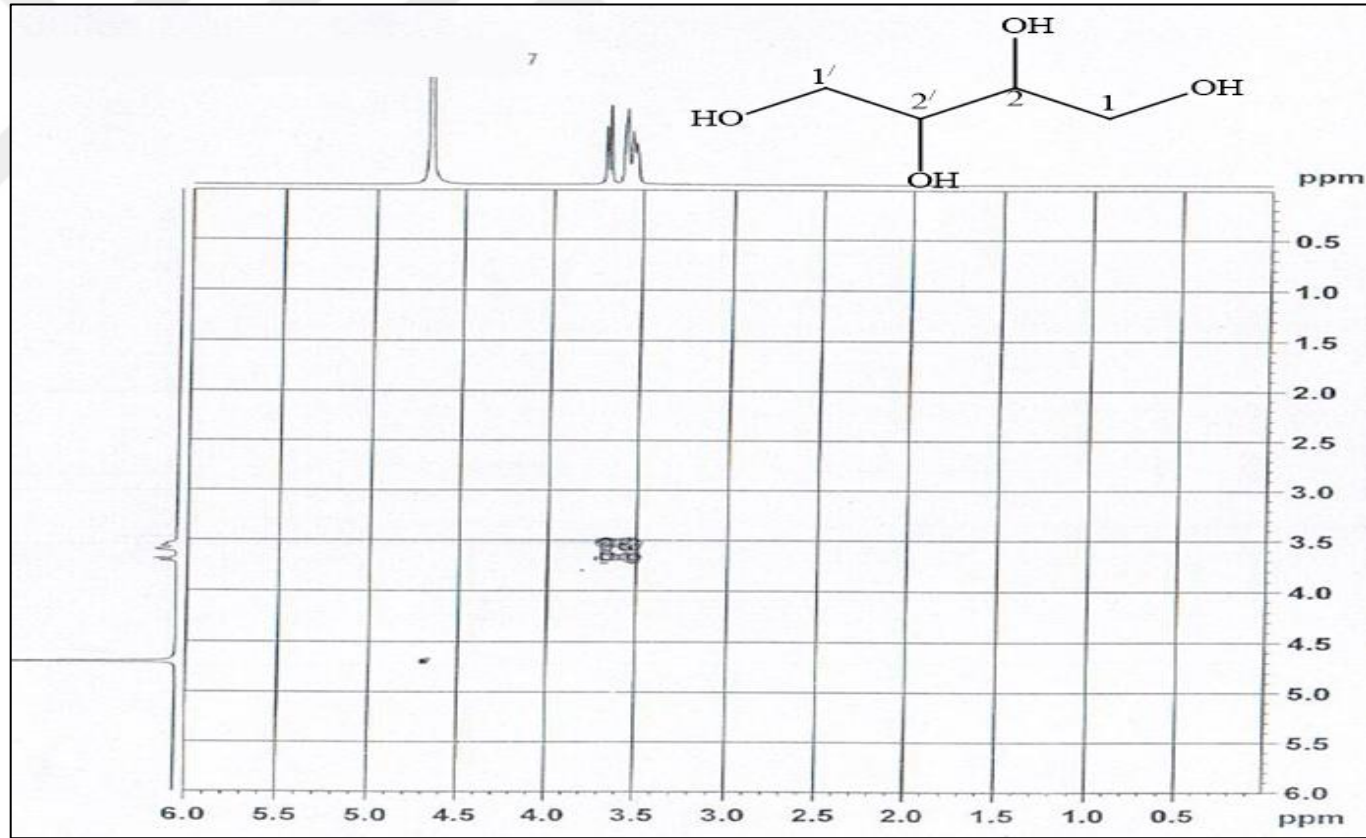
Şekil 4.105. Eritriol'ün (PLM-5) <sup>1</sup>H-NMR spektrumu (500 MHz, D<sub>2</sub>O)



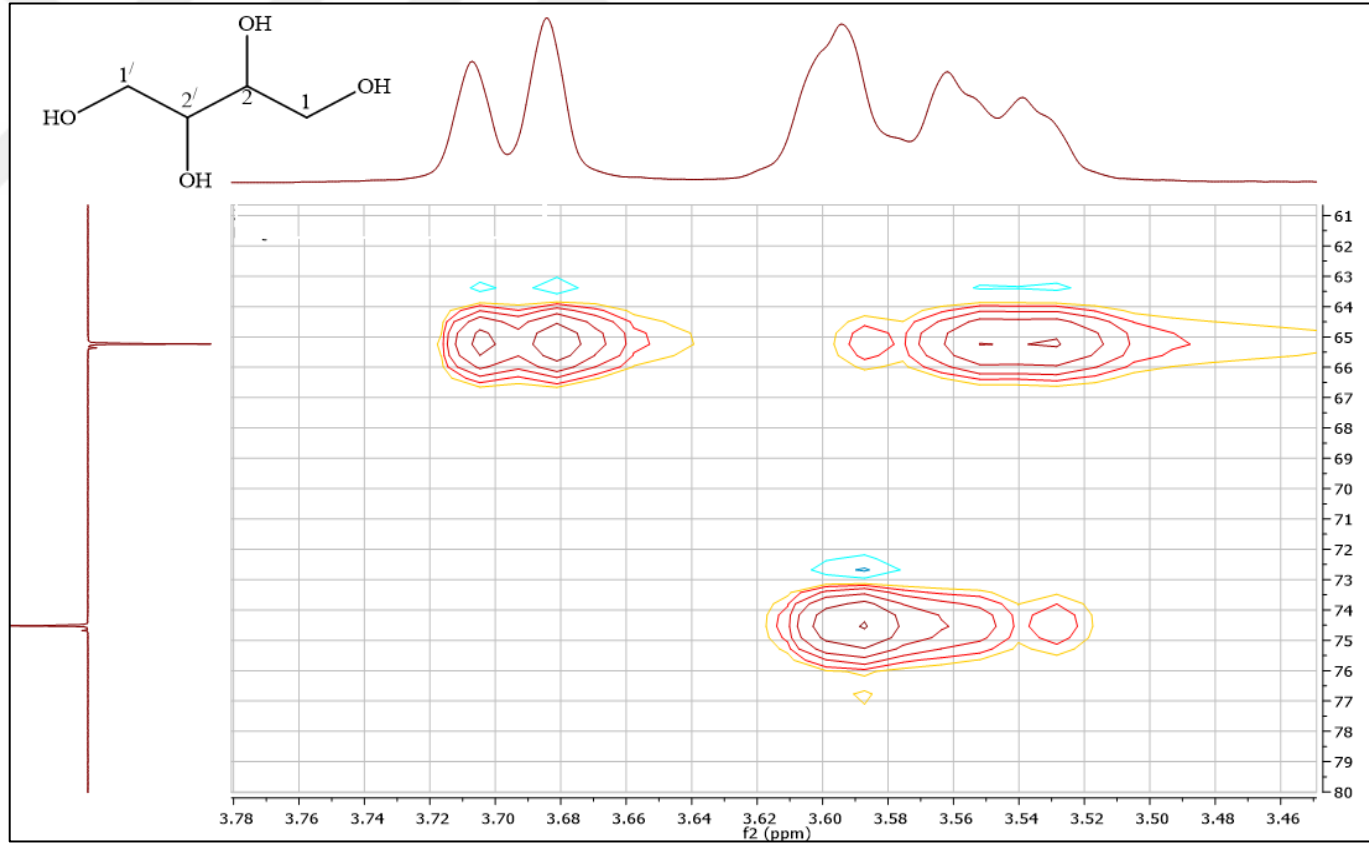
Şekil 4.106. Eritriol'ün (PLM-5)  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )



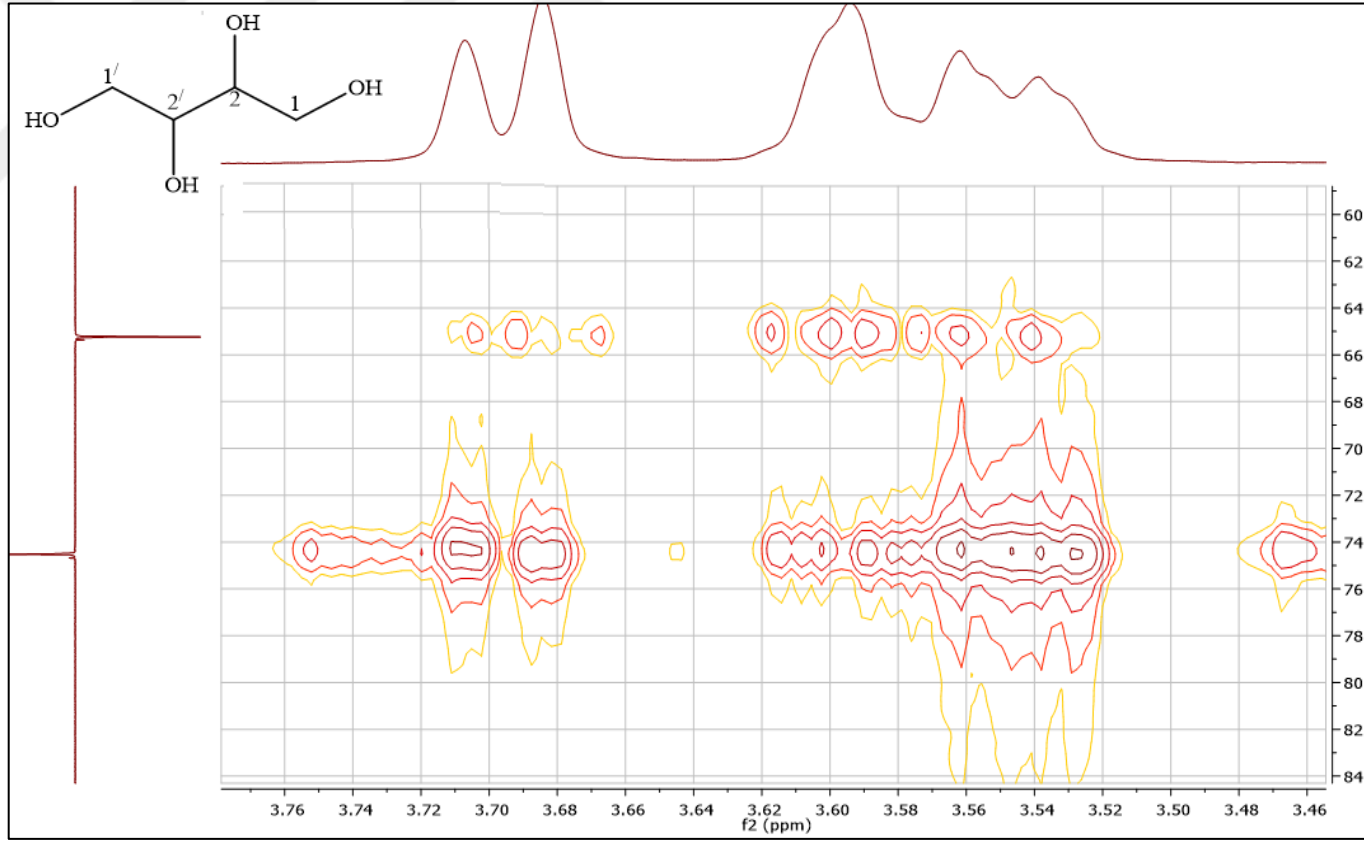
Şekil 4.107. Eritriol'ün (PLM-5) DEPT-135 spektrumu



Şekil 4.108. Eritriol'ün (PLM-5) COSY spektrumu

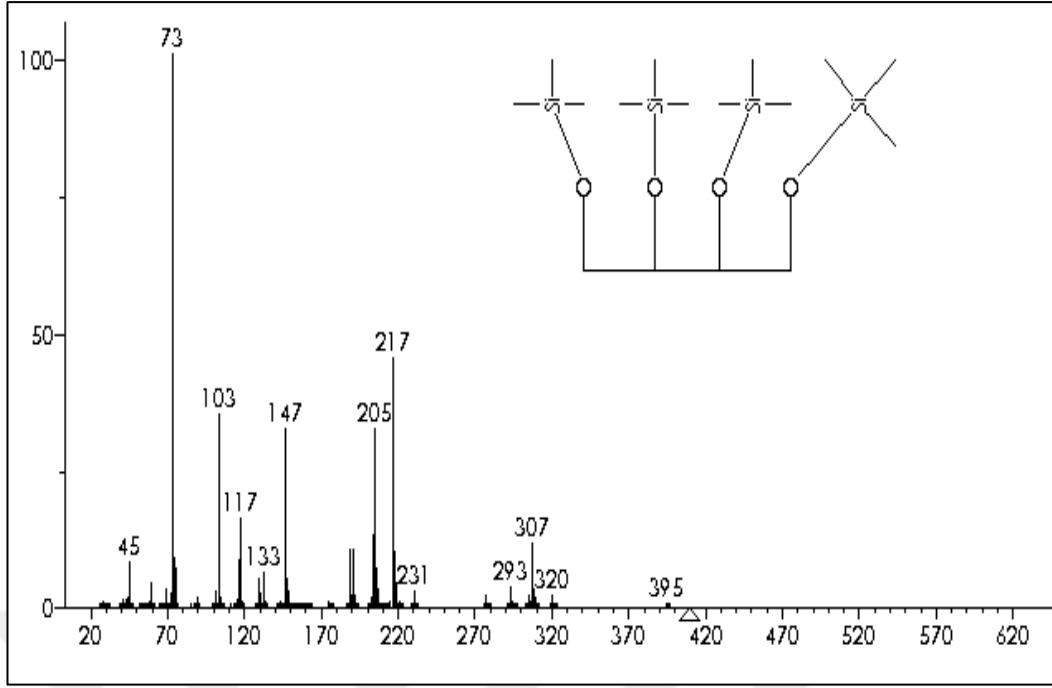


Şekil 4.109. Eritriol'ün (PLM-5) HSQC spektrumu

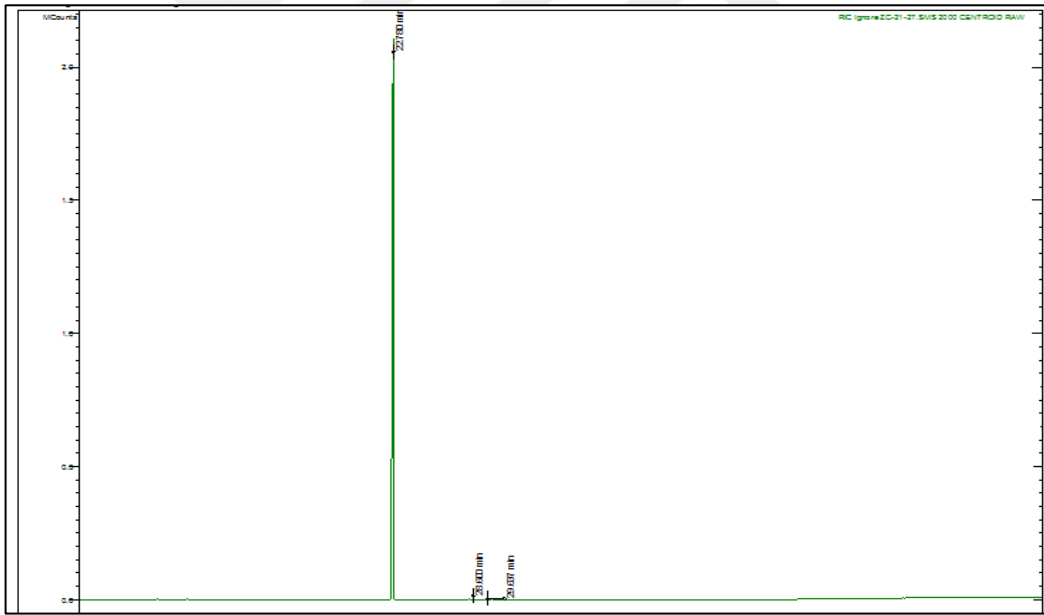


Şekil 4.110. Eritriol'ün (PLM-5) HMBC spektrumu



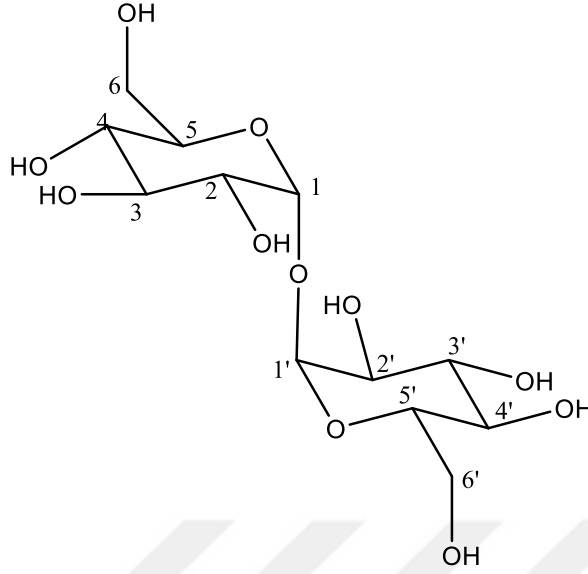


Şekil 4.111. Silillenmiş Eritriol'ün (PLM-5) GC-MS spektrumu



Şekil 4.112. Silillenmiş Eritriol'ün (PLM-5) GC-MS kromatogramı

#### 4.7.4.5. $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit (PLM 6)



**Molekül formülü: C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>**

**Molekü Ağırlığı: 342,30**

**Şekil 4.113.  $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit (PLM-6)**

PLM-6 bileşiği beyaz renkli olarak kristal halde elde edildi (7,0 mg). İnce tabaka kromatografisinde UV 254 nm'de görünmeyen madde, serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) siyahımsı renk oluştuğu gözlemlendi. Molekül formülü C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub> olarak belirlenen PLM-6 numaralı bileşiğin yapısı NMR (1D, 2D), MS, FT-IR teknikleri kullanılarak aydınlatıldı.

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda (D<sub>2</sub>O,  $\delta$  (ppm), 400 MHz, Şekil 4.115),  $\delta$  5,07 (1H, *d*, *J*=3,6 Hz H-1-1') ppm de rezonans olan pik  $\alpha$  anomerik protona aittir.  $\delta$  3,50 (1H, *dd*, *J* = 9,9, 3,6 Hz, H-2, 2'),  $\delta$  3,30 (1H, *t*, *J* = 9,6 Hz, H-3, 3'),  $\delta$  3,69 (1H, *m*, H-4, 4') ve  $\delta$  3,73 (1H, *d*, *J* = 3,6 Hz, H-5, 5') metin protonlarına; 3,70 (1H, *t*, *J* = 5,4 Hz, H-6a, 6a'), 3,63 (1H, *dd*, *J* = 12,0; 5,4 Hz, H-6b, 6b') sinyalleri metilen protonlarına aittir.

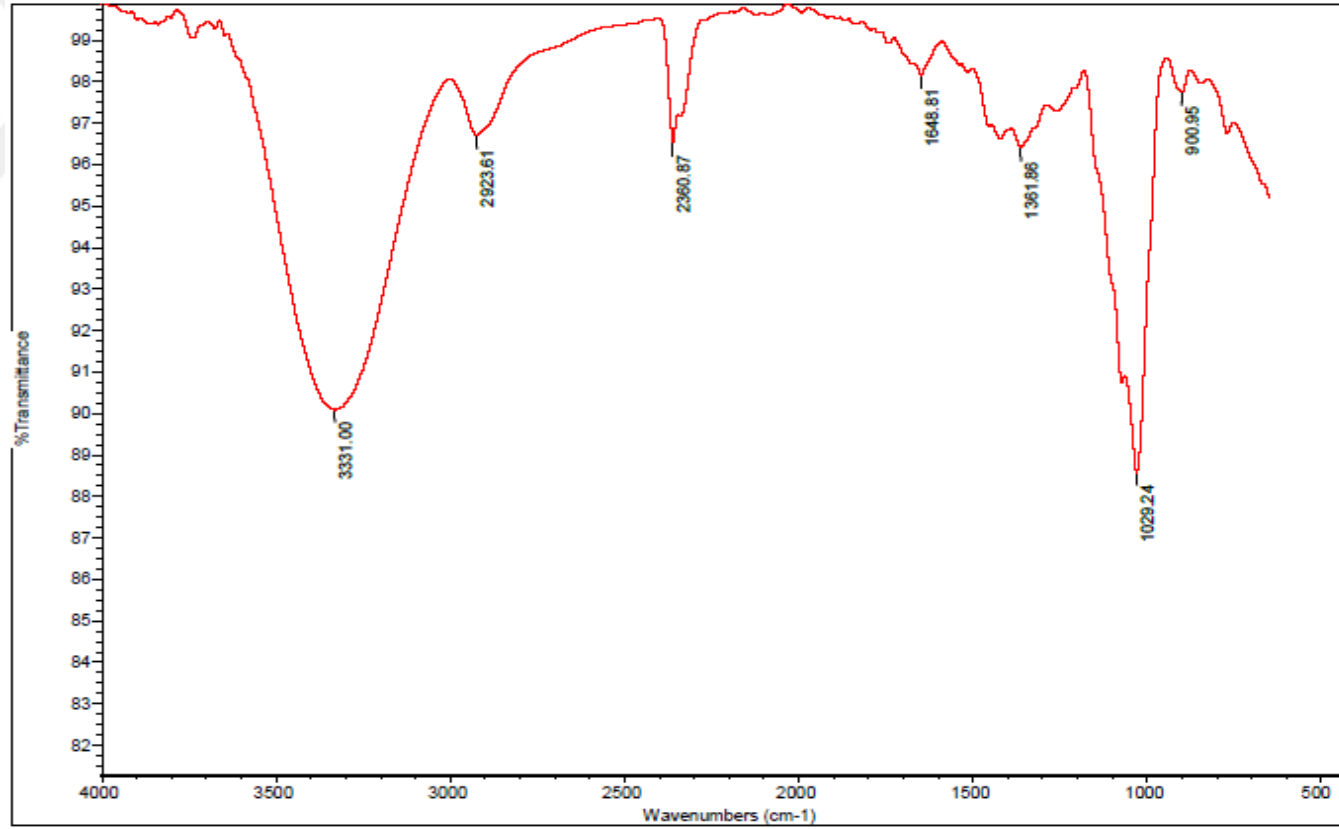
<sup>13</sup>C-NMR spektrumu (D<sub>2</sub>O,  $\delta$  (ppm), 100 MHz, Şekil 4.116) incelendiğinde  $\delta$  95,9 (C-1-1'), 73,7 (C-2, 2'), 72,4 (C-3, 3'), 74,8 (C-4, 4'), 75,2 (C-5, 5') ppm'de rezonans olan pikler molekülde bulunan metin karbonlarına ve 63,2 (C-6a, 6a'), 63,2 (C-6b, 6b') ppm'de rezonans olan pikler ise metilen karbonlarına ait olduğu belirlenmiştir.

Kütle spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.121)  $m/z$  365  $[M+Na]^+$  piki  $C_{12}H_{22}O_{11}$  kapalı formülünü doğrulanmıştır.

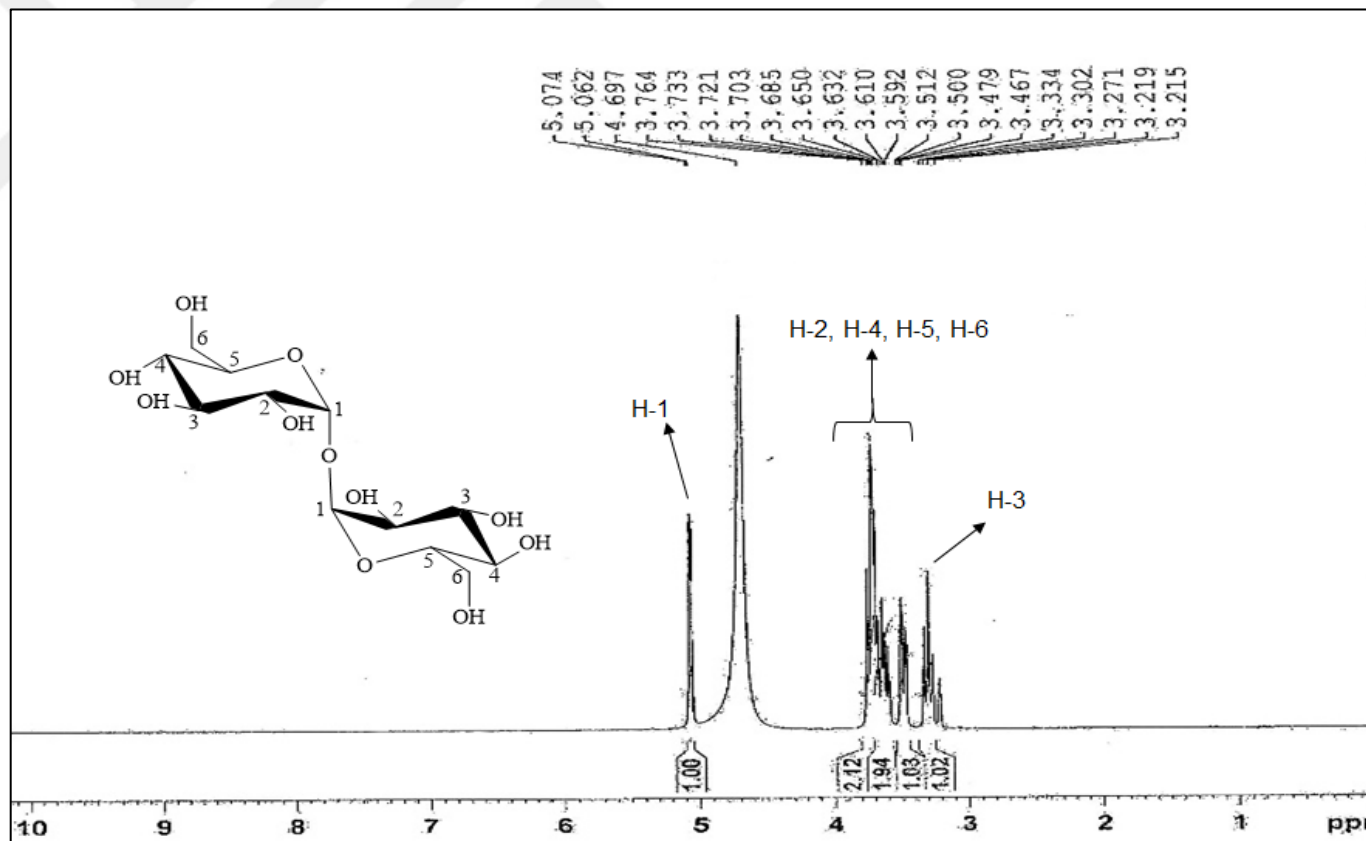
$^1H$ -NMR (Şekil 4.115)  $^{13}C$ -NMR (Şekil 4.116), DEPT-135 (Şekil 4.117), COSY (Şekil 4.118), HSQC (Şekil 4.119) ve HMBC (Şekil 4.120) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde PLM-6 maddesinin yapısının tamamı doğrulandı. Çizelge 4.44'teki  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR, HMBC ve COSY değerleri literatür ile karşılaştırıldığında, PLM-6 maddesinin  $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit (Şekil 4.113) olduğu belirlendi (Deslauriers vd.,1980, Motta vd., 2004).

**Çizelge 4.44.  $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit'in (PLM-6)  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR, HMBC ve COSY değerleri**

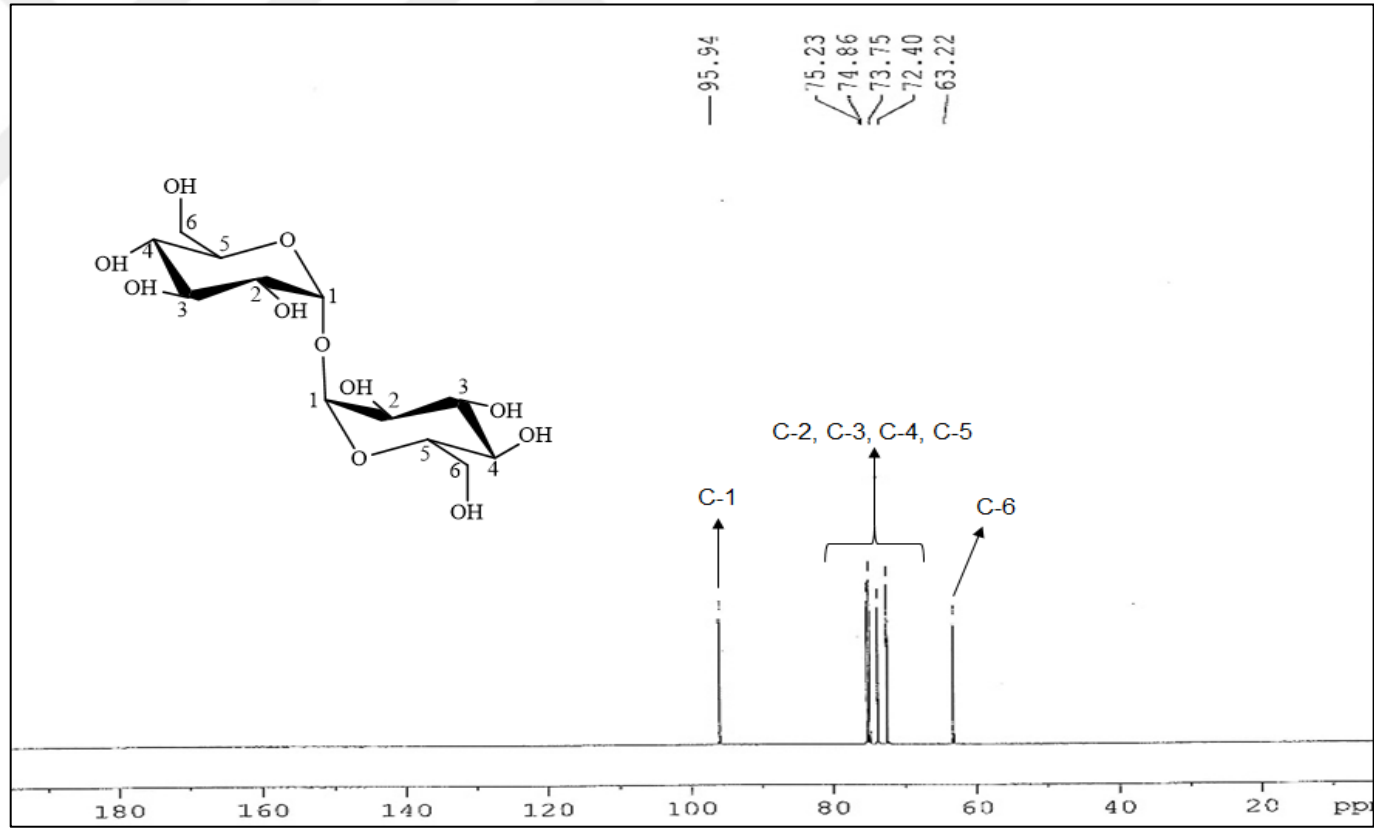
C,no	$^{13}C$ -NMR ( $\delta$ )	$^1H$ -NMR ( $\delta$ )	HMBC	COSY
1-1'	95,9	5,07 (1H, <i>d</i> , $J = 3,6$ Hz)	C-1, C-2, C-4, C-5	H-2
2-2'	73,7	3,50 (1H, <i>dd</i> , $J = 9,9, 3,6$ Hz)	C-3, C-5	H-1
3-3'	72,4	3,30 (1H, <i>t</i> , $J = 9,6$ Hz)	C-4, C-5, C-6	H-4
4-4'	74,8	3,69 (1H, <i>m</i> )	C-1, C-2, C-3, C-5, C-6	H-3, H-5
5-5'	75,2	3,73 (1H, <i>d</i> , $J = 3,6$ Hz)	C-2, C-3	H-4, H-6
6a-6a'	63,2	3,70 (1H, <i>t</i> , $J = 5,4$ Hz),	C-1, C-2, C-3, C-4	H-5
6b-6b'	63,2	3,63 (1H, <i>dd</i> , $J = 12,0; 5,4$ Hz)	C-1, C-2, C-3, C-4	H-5



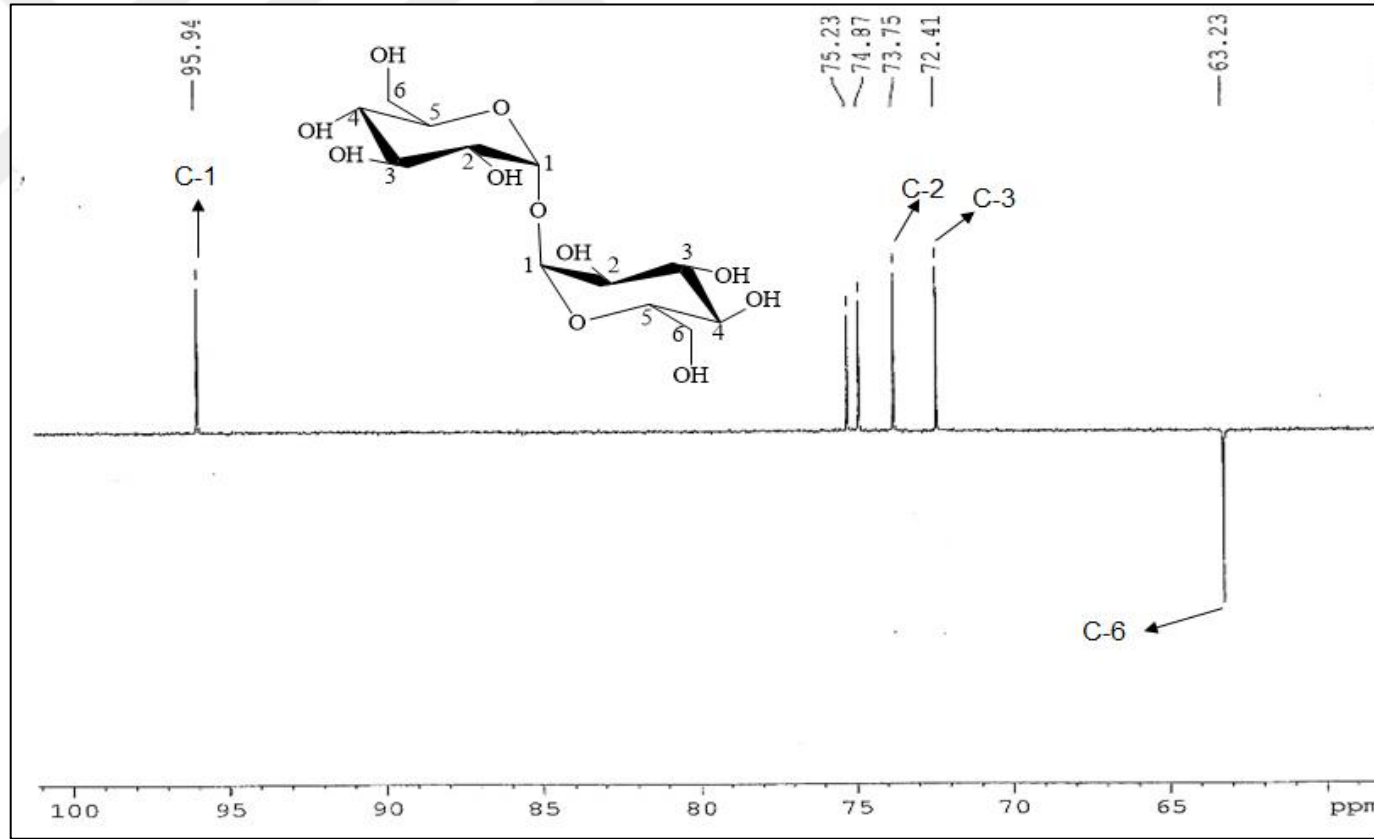
Şekil 4.114.  $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit'in FT-IR spektrumu



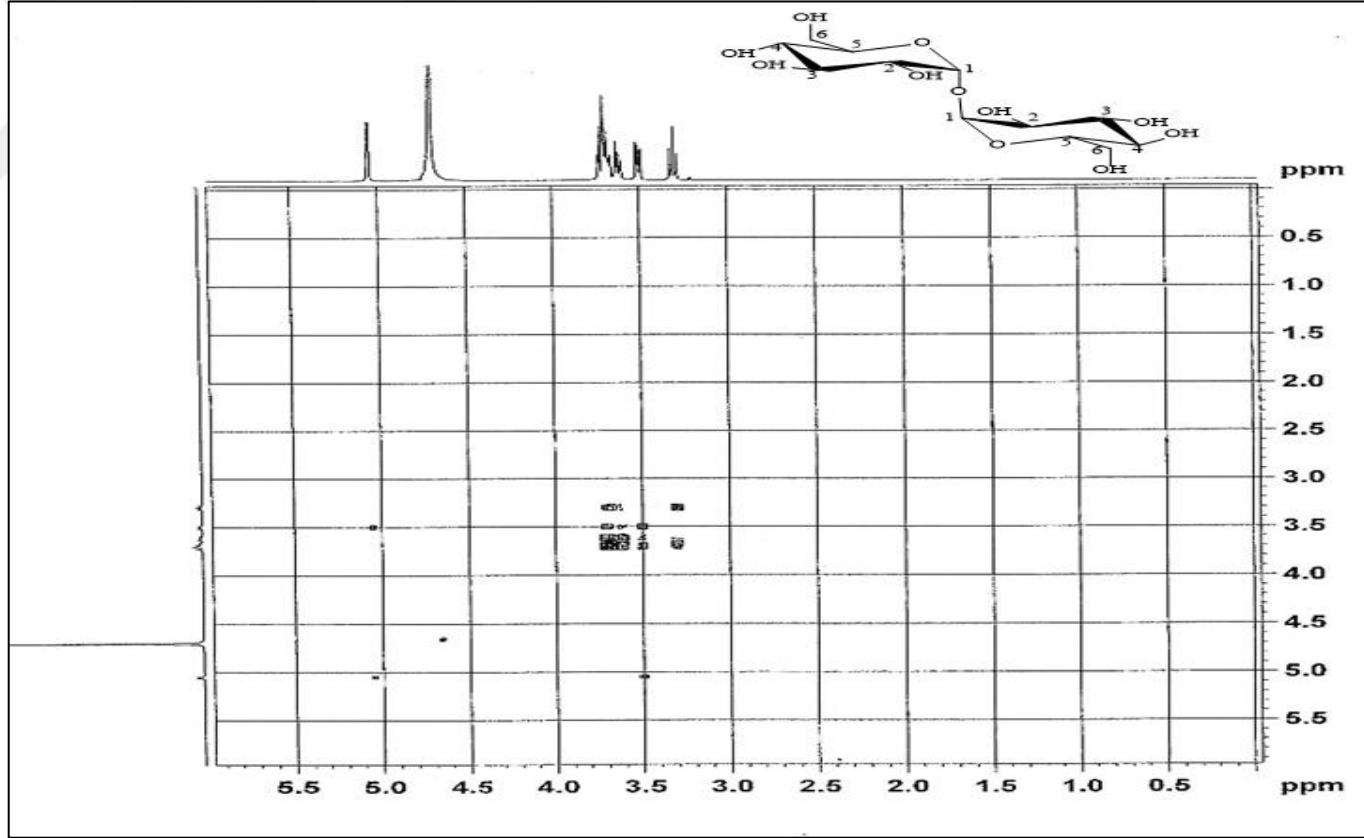
Şekil 4.115.  $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit'in  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )



Şekil 4.116.  $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit'in'in  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu (100 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )

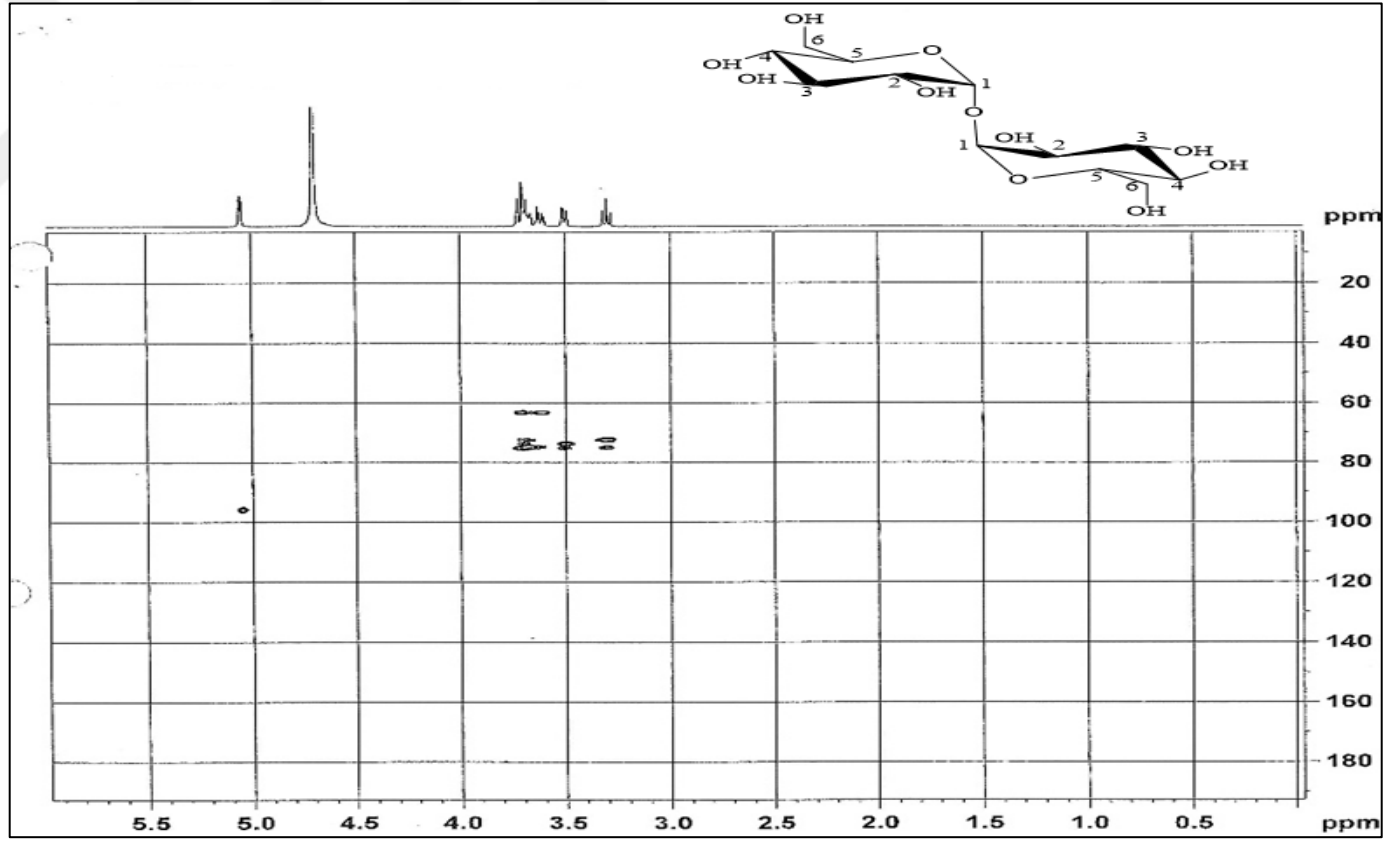


Şekil 4.117.  $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit'in DEPT 135 spektrumu

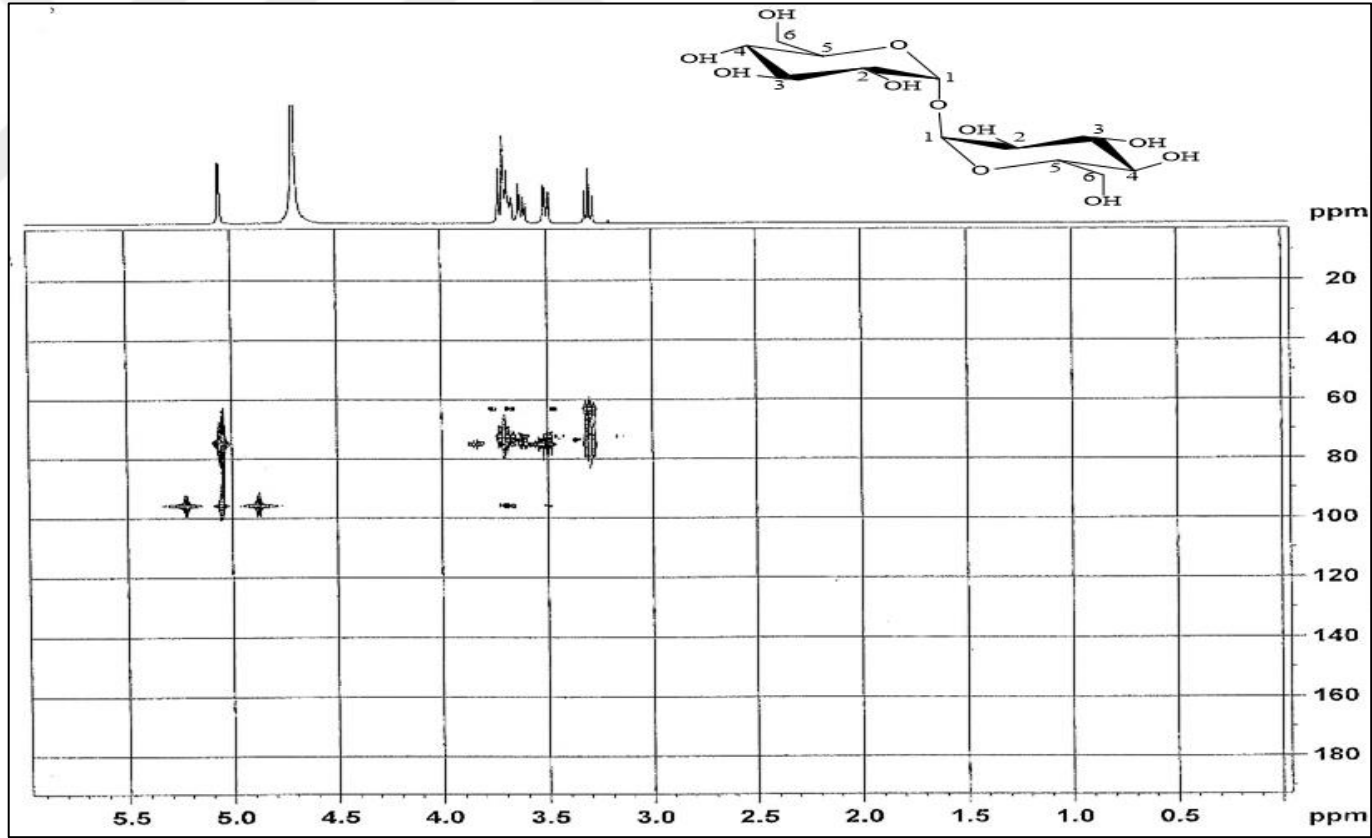


Şekil 4.118.  $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit'in COSY spektrumu

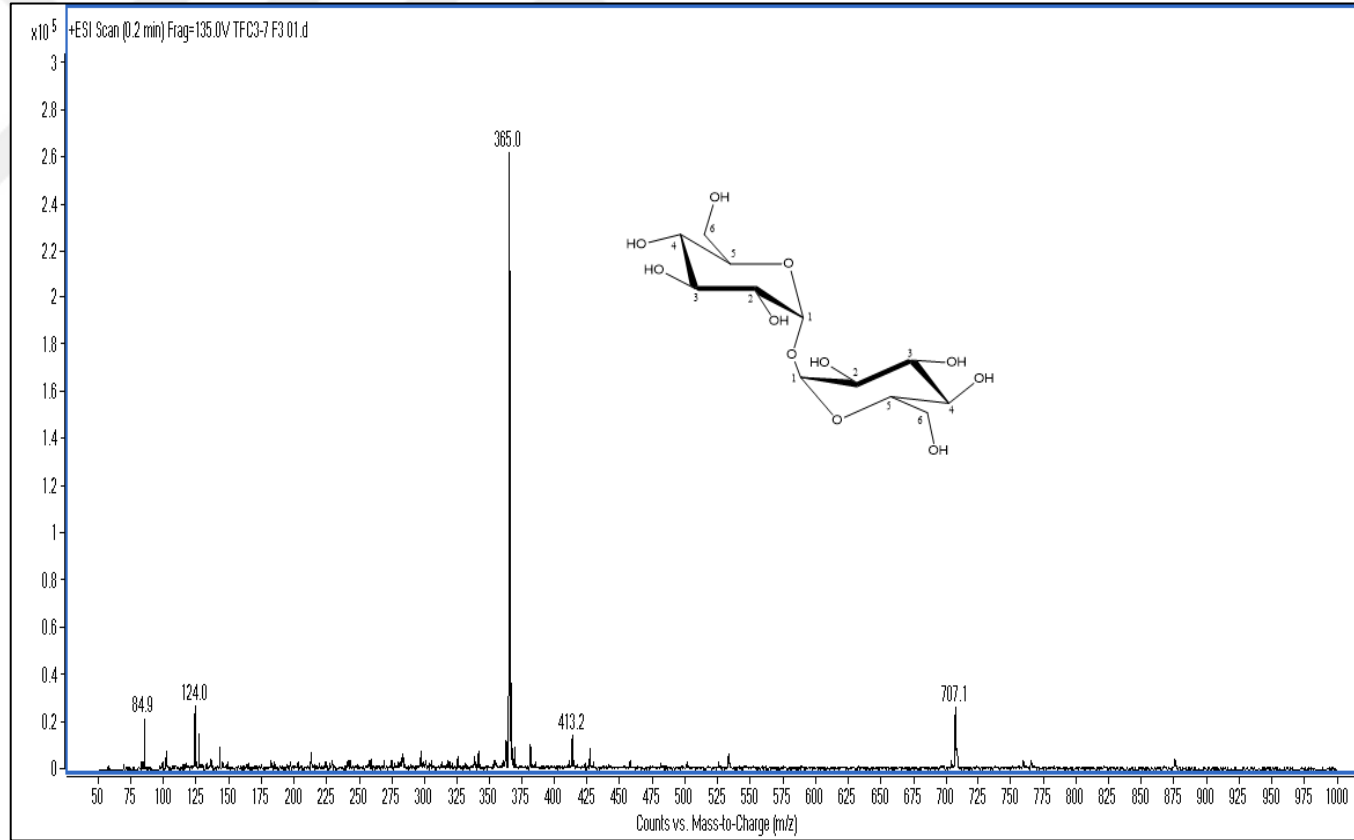




Şekil 4.119.  $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit'in HSQC spektrumu

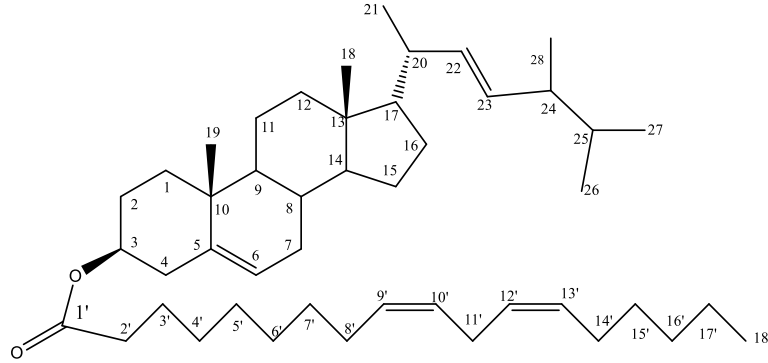


Şekil 4.120.  $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit'in HMBC spektrumu



Şekil 4.121.  $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit'in EI-MS spektrumu

#### 4.7.4.6. Brassikasteril linoleat (PLC-1)



**Molekül formülü: C<sub>46</sub>H<sub>76</sub>O<sub>2</sub>**

**Molekül ağırlığı: 661,09**

**Şekil 4.122. Brassikasteril linoleat (PLC-1)**

PLC-1 bileşiği sıvı, yapışkan halde elde edildi (5,9 mg). İnce tabaka kromatografisinde UV 254 nm’de görünmeyen madde, serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu kahverengi renk oluştuğu gözlemlendi. Molekül formülü C<sub>46</sub>H<sub>76</sub>O<sub>2</sub> olarak belirlenen PLC-1 numaralı bileşiğin yapısı NMR (1D, 2D), FT-IR teknikleri kullanılarak aydınlatıldı.

FT-IR spektrumunda gözlenen (Şekil 4.123)  $\bar{\nu}$  2927 cm<sup>-1</sup> ‘deki titreşim bandı C-H gerilmelerinin, 1734  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>’deki titreşim bandı ise C=O gerilmelerinin olduğunu göstermiştir.

<sup>1</sup>H- NMR spektrumunda (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm), 600 MHz, Şekil 4.124)  $\delta$  0,66 (3H, *s*, H-18) ve 1,00 (3H, *s*, H-19) ile  $\delta$  0,81 (3H, *m*, H-27),  $\delta$  0,80 (3H, *m*, H-26),  $\delta$  0,83 (3H, *m*, H-28) ve  $\delta$  1,00 (3H, *m*, H-21) ppm’de rezonans olan pikler karakteristik ergostan tipi stereoide aittir.  $\delta$  5,36 (1H, *m*, H-6) ppm ile  $\delta$  5,12 (1H, *m*, H-22) ve  $\delta$  5,19 (1H, *m*, H-23) ve  $\delta$  4,61 (1H, *m*, H-3) ppm’de rezonans olan pikler ergostan tipi bir steroidi olduğunu doğrulamıştır.  $\delta$  4,61 (1H, *m*, H-3) ppm’de rezonans olan pik C-3 pozisyonunda hidrojenin  $\alpha$  konumunda olduğunu göstermektedir.

APT-NMR spektrumu (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm), 150 MHz, Şekil 4.125) HSQC ile değerlendirildiğinde 7 metil, 20 metilen, 15 metin ve 4 katerner karbon belirlenmiştir.  $\delta$  139,7 (C-5),  $\delta$  135,8 (C-22),  $\delta$  131,6 (C-23) ve  $\delta$  122,5 (C-6) ppm’de rezonans olan pikler olefinik karbon sinyallerine,  $\delta$  20,9 (C-21),  $\delta$  19,9 (C-27),  $\delta$  19,6 (C-26),  $\delta$  19,3

(C-19),  $\delta$  17,6 (C-28) ve  $\delta$  12,1 (C-18) rezonans olan pikler ise molekülde bulunan 6 adet metil sinyallerine aittir.

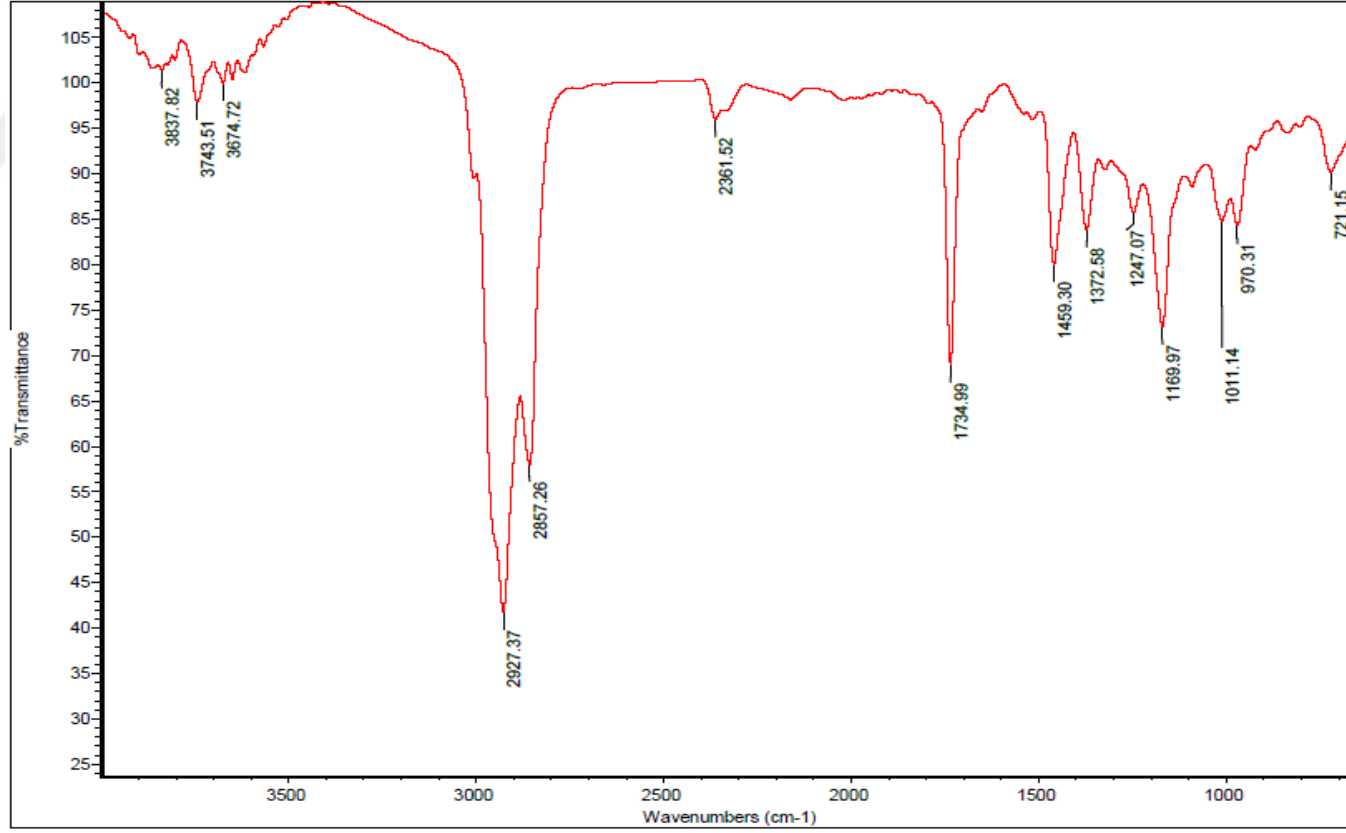
$^1\text{H-NMR}$  (Şekil 4.124), APT-NMR (Şekil 4.125), COSY (Şekil 4.126), HSQC (Şekil 4.127) ve HMBC (Şekil 4.128) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde PLC-1 maddesinin yapısının tamamı doğrulandı. Çizelge 4.45'teki PLC-1 maddesinin  $^1\text{H-NMR}$ , APT-NMR, HMBC ve COSY spektrumları verilerek, yapının "Ergosta-5,22-dien-3-ol, 3-[(9Z,12Z)-9,12-octadecadienoate], (3 $\beta$ ,22E)-" (Brasskasteril linoleat) (Şekil 4.33) olduğu belirlendi (Scholz vd., 2016, Ullah, 2017).

**Çizelge 4.45. Brasskasteril linoleat'ın (PLC-1)  $^1\text{H-NMR}$  APT-NMR, HMBC ve COSY değerleri**

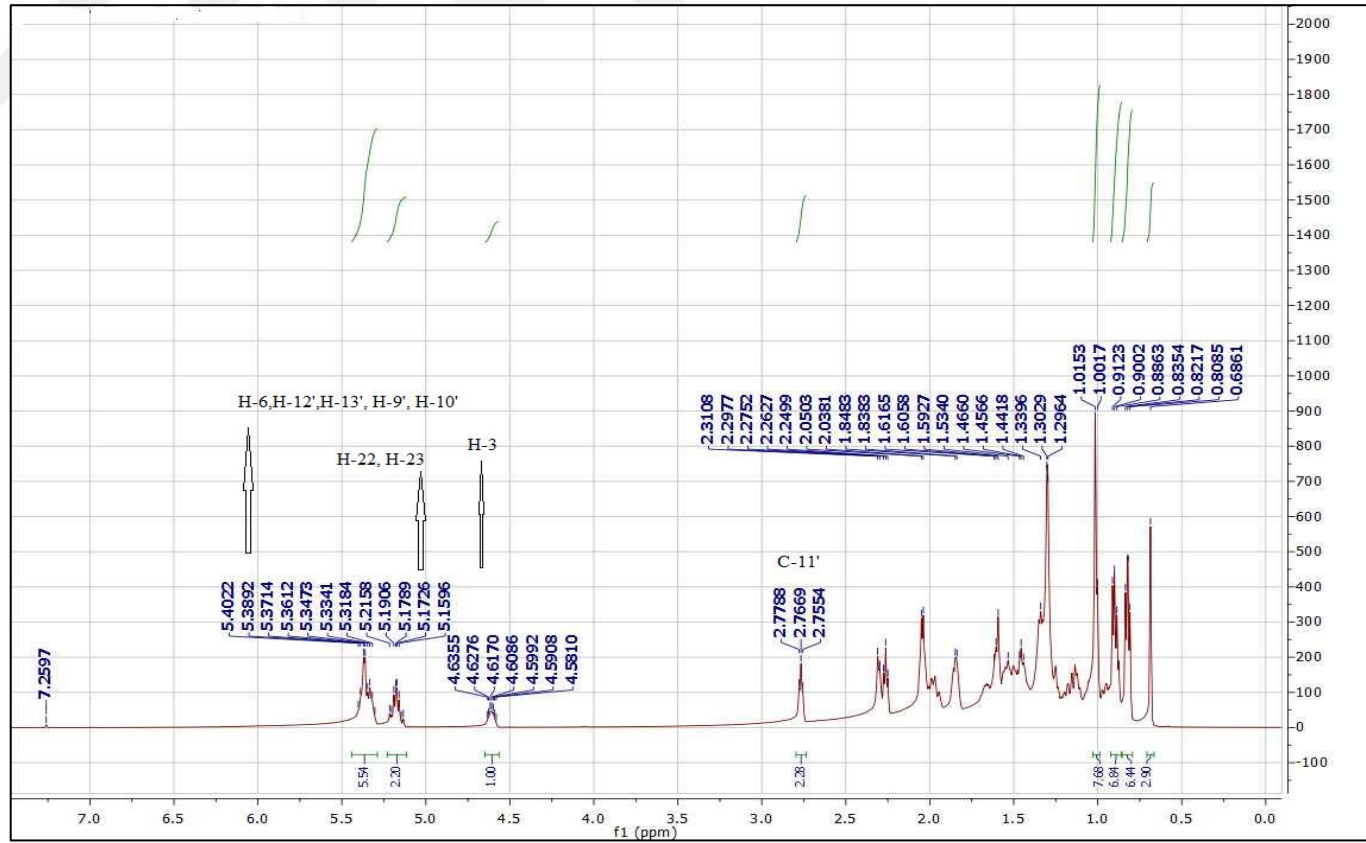
C.no.	APT-NMR ( $\delta$ )	$^1\text{H-NMR}$ ( $\delta$ )	HMBC	COSY
1	36,9	1,01 (1H, <i>m</i> ), 1,83 (1H, <i>m</i> )	C-19	
2	29,08	1,28 (2H, <i>m</i> )		
3	73,6	4,61 (1H, <i>m</i> )	C-4	H-4
4	38,14	2,30 (2H, <i>m</i> )		H-3
5	139,7	-	C-19	
6	122,5	5,36 (1H, <i>m</i> )	C4-,C-8	
7	31,9	1,53 (1H, <i>m</i> ), 1,94 (1H, <i>m</i> )	C-6, C-9	
8	31,8	1,45 (1H, <i>m</i> )	C-6	
9	50,0	0,91 (1H, <i>m</i> )	C-19	
10	36,6	-	C-18, C-19	
11	21,0	1,46 (2H, <i>m</i> )	C-9	
12	39,6	1,12 (1H, <i>m</i> ), 1,96 (1H, <i>m</i> )	C-14, C-18	
13	42,2	-	C-18	
14	56,7	1,02 (1H, <i>m</i> )	C-17, C-8	
15	25,0	1,99 (2H, <i>m</i> )		
16	28,5	1,63 (2H, <i>m</i> )		
17	55,9	1,29 (1H, <i>m</i> )	C-14	
18	12,1	0,66 (3H, <i>s</i> )		
19	19,3	1,00 (3H, <i>s</i> )	C-9	
20	40,1	2,00 (1H, <i>m</i> )	C-19, C-18	
21	20,9	1,00 (3H, <i>m</i> )		
22	135,8	5,12 (1H, <i>m</i> )	C-19	
23	131,6	5,19 (1H, <i>m</i> )	C-21	
24	42,8	1,82 (1H, <i>m</i> )	C-28, C-26	H-23, H-28
25	33,8	1,46 (1H, <i>t</i> , $J=7,3$ Hz)	C-26, C-27	H-26
26	19,6	0,80 (3H, <i>m</i> )	C-27	H-25
27	19,9	0,81 (3H, <i>m</i> )	C-26	
28	17,6	0,83 (3H, <i>m</i> )		H-24
1'	173,3	-	C-2'	
2'	34,7	2,25 (2H, <i>t</i> , $J=7,26$ Hz)	C-3'	H-3'
3'	24,2	1,45 (1H, <i>t</i> , $J=7,3$ Hz), 1,00 (1H, <i>d</i> , $J=8,2$ Hz)	C-2'	H-2'
4'	29,1	1,29 (2H, <i>m</i> )	C-2'	

Çizelge 4.45. (devam)

5'	29,2	1,29 (2H, <i>m</i> )	C-7'	H-6'
6'	29,3	1,29 (2H, <i>m</i> )	C-7', C-8'	H-5'
7'	29,6	1,28 (2H, <i>m</i> )	C-5',C-6'	
8'	27,19	2,02 (2H, <i>m</i> )		
9'	130	5,38 (1H, <i>m</i> )	C-8', C-11'	
10'	127,9	5,31 (1H, <i>m</i> )	C-8', C-11'	H-11'
11'	25,6	2,74 (2H, <i>m</i> )	C-2'	H-10'
12'	128,0	5,31 (1H, <i>m</i> )	C-8', C-11'	H-11'
13'	130	5,38 (1H, <i>m</i> )	C-8', C-11'	
14'	27,2	2,02 (2H, <i>m</i> )	C-12', C-13'	
15'	27,2	1,30 (2H, <i>m</i> )	C-14'	H-14', H-16'
16'	31,3	1,30 (2H, <i>m</i> )	C-14'	H-17', H-18'
17'	22,58	0,87 (2H, <i>m</i> )	C-18'	
18'	14,1	0,87 (3H, <i>m</i> )	C-17'	

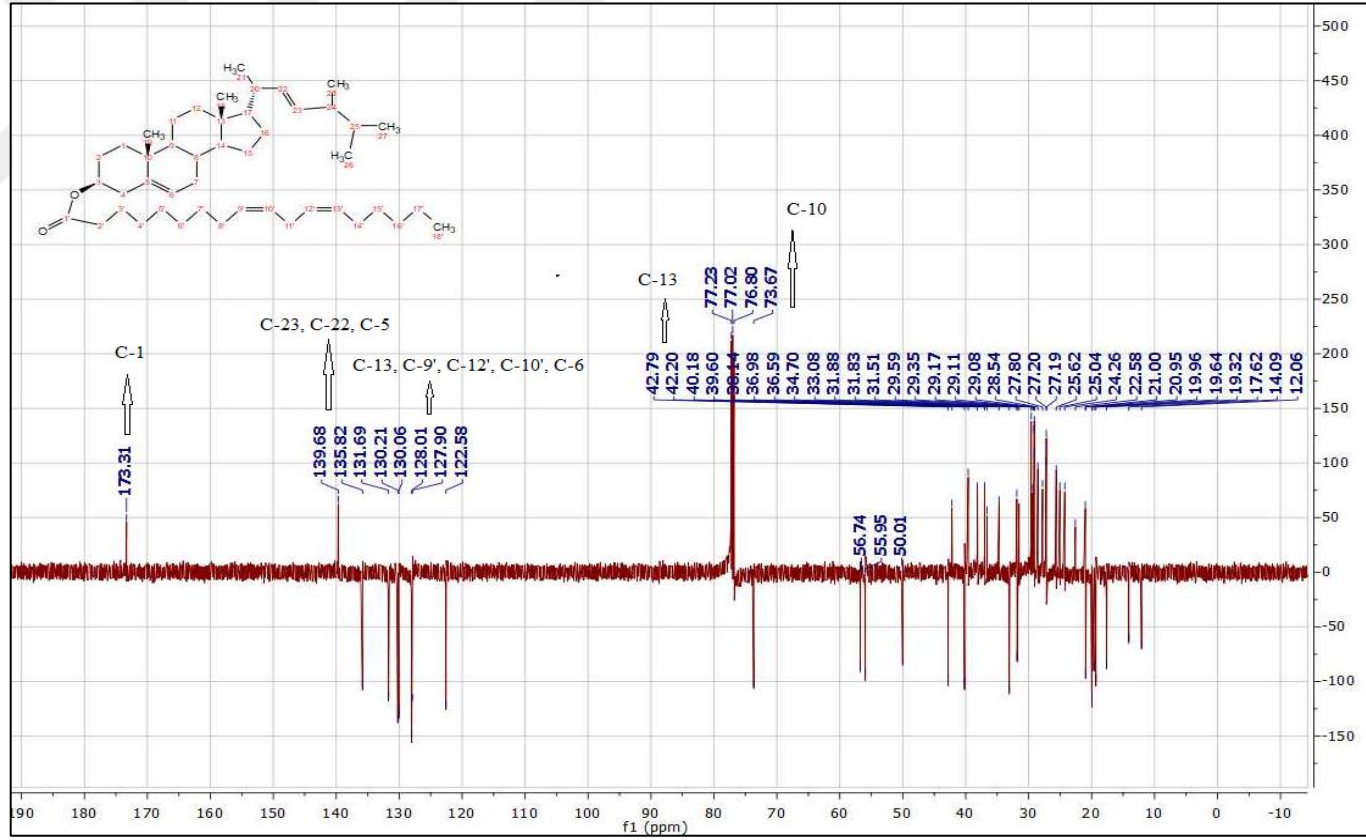


Şekil 4.123. Brassikasteril linoleat'ın (PLC-1) FT-IR spektrumu

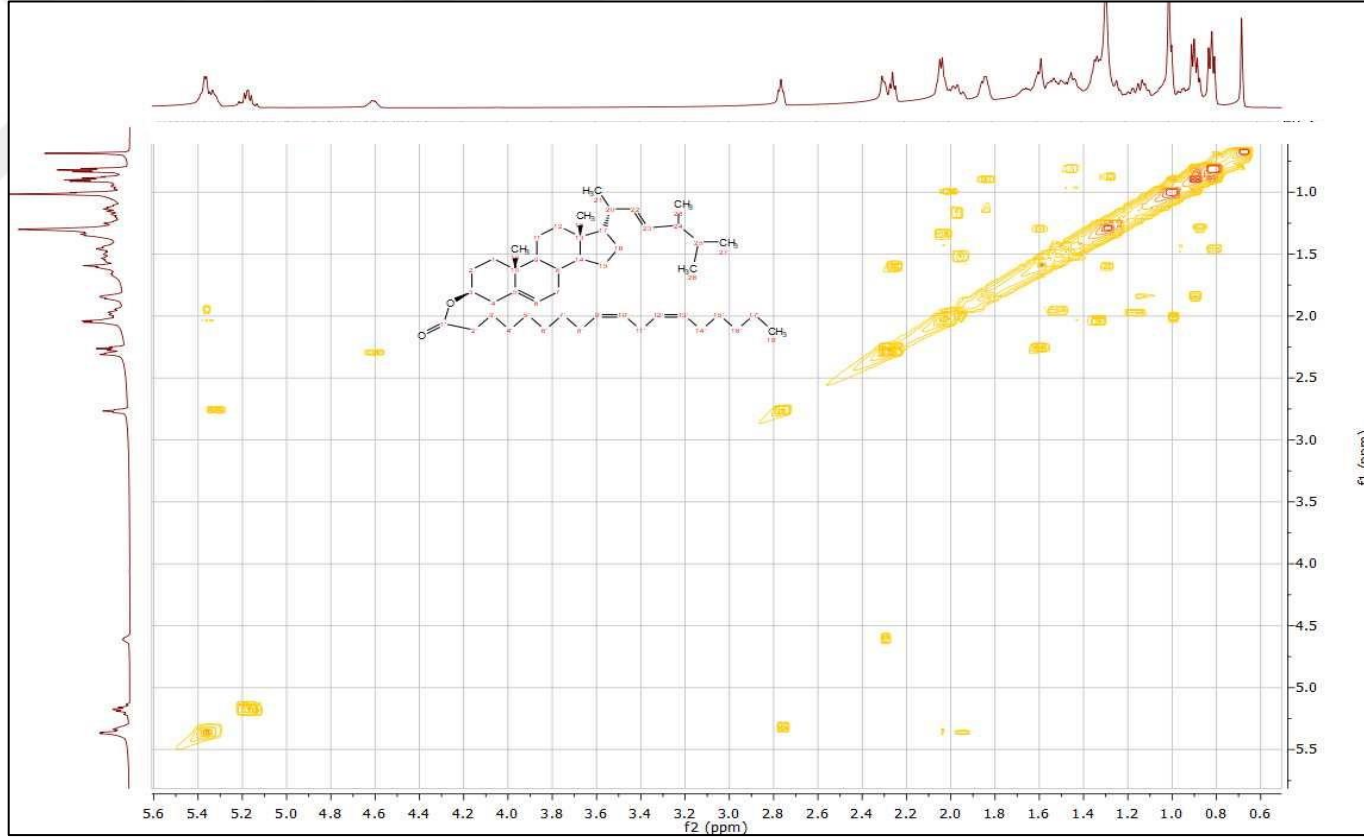


Şekil 4.124. Brasskasteril linoleat'ın (PLC-1) <sup>1</sup>H-NMR spektrumu (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

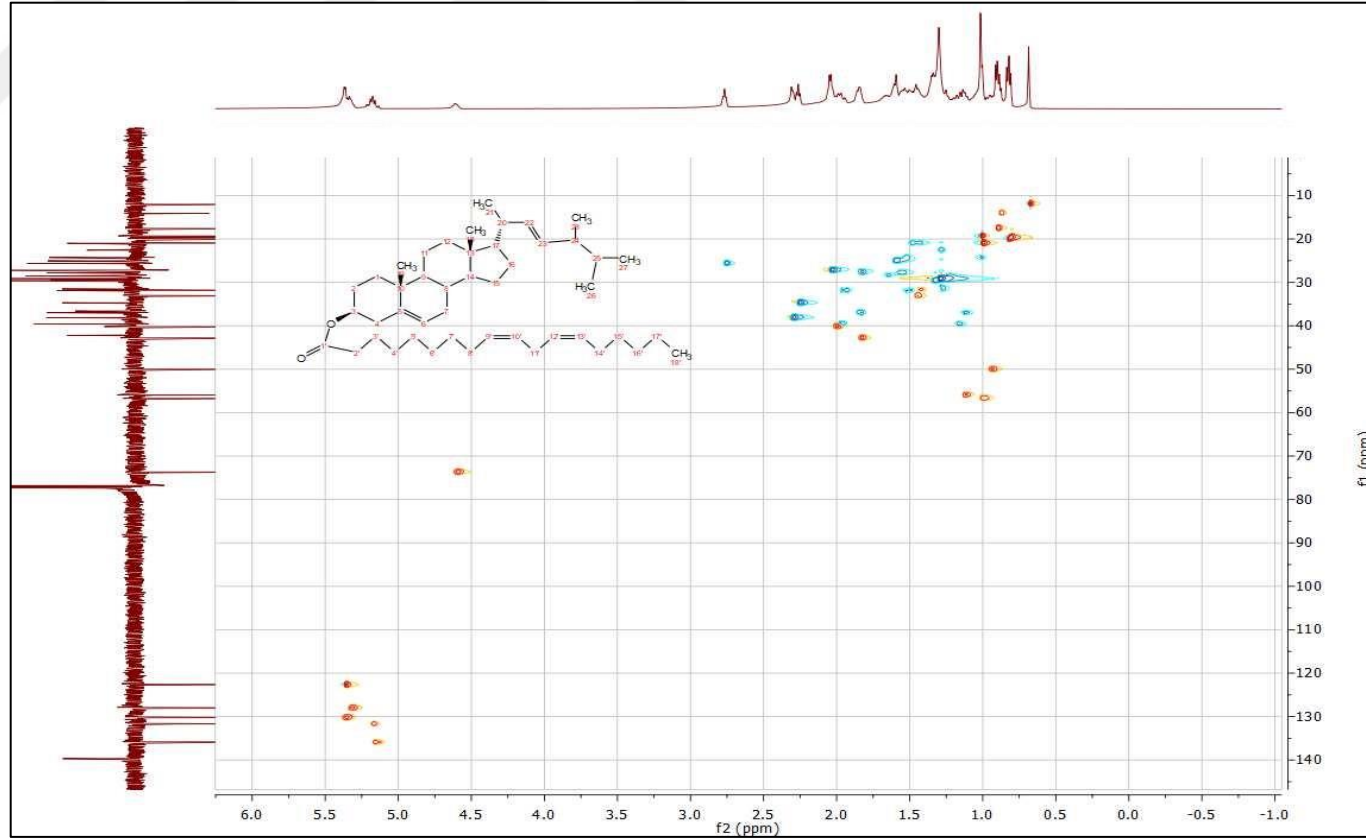




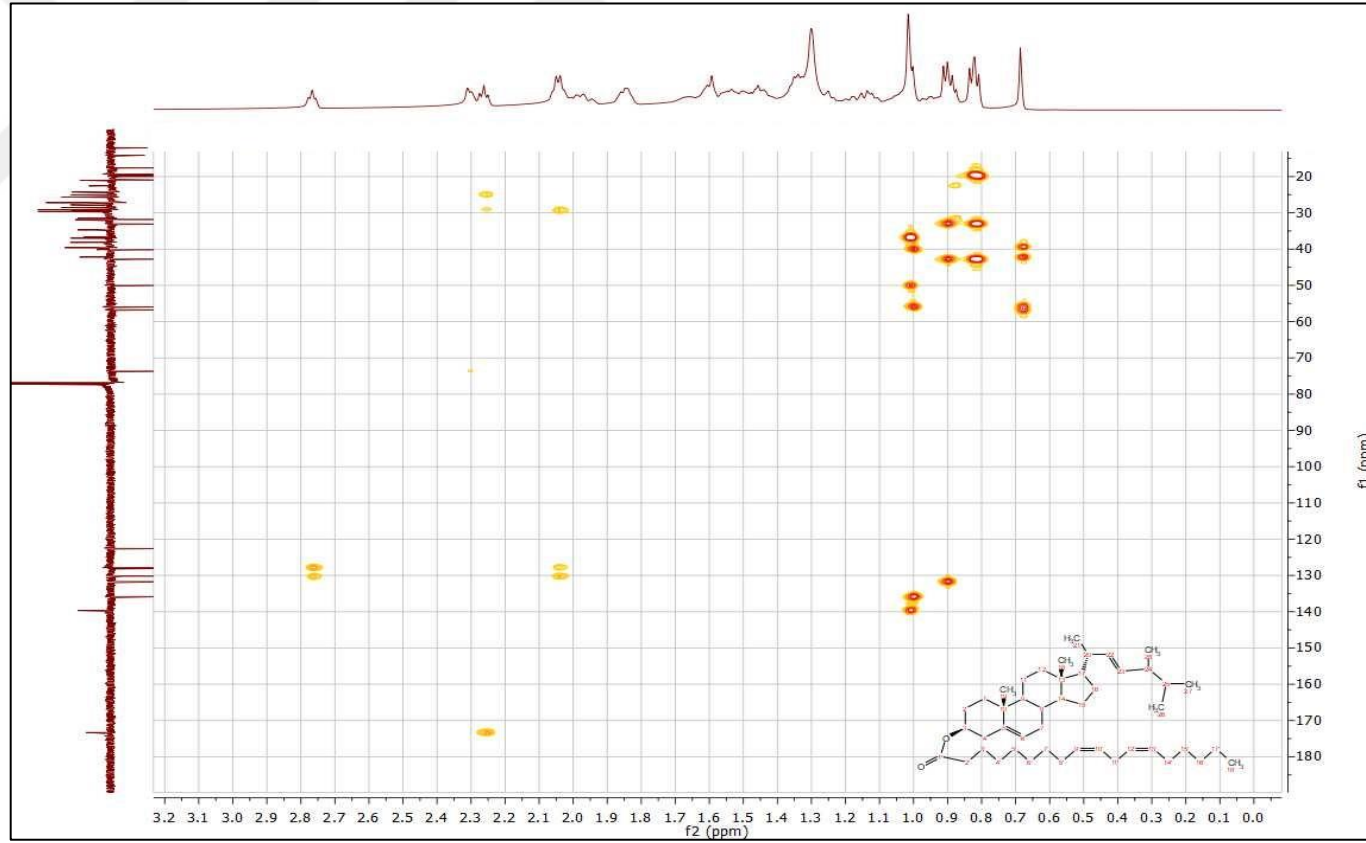
Şekil 4.125. Brasskasteril linoleat'ın (PLC-1) APT-NMR spektrumu (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)



Şekil 4.126. Brasskasteril linoleat'ın (PLC-1) COSY spektrumu

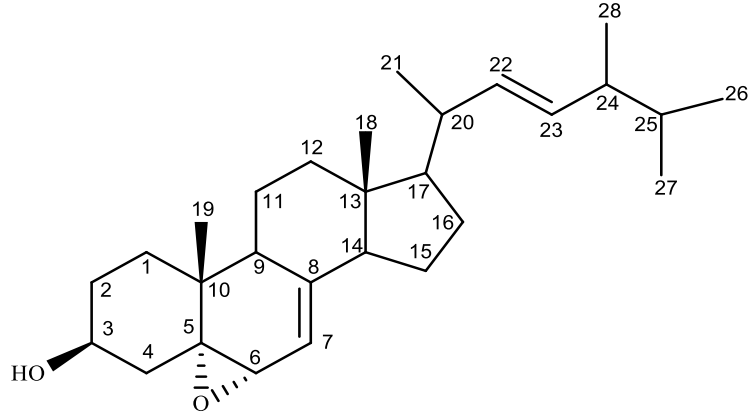


Şekil 4.127. Brasskasteril linoleat'ın (PLC-1) HSQC spektrumu



Şekil 4.128. Brasskasteril linoleat'ın (PLC-1) HMBC spektrumu

#### 4.7.4.7. 5 $\alpha$ -6 $\alpha$ epoksi ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ -ol (PLC-2)



**Molekül formülü: C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O<sub>2</sub>**

**Molekü Ağırlığı: 412,65**

**Şekil 4.129. 5 $\alpha$ -6 $\alpha$  epoksi ergosta-7,22-dien- 3 $\beta$ -ol (PLC-2)**

PLC-2 bileşiği beyaz renkli olarak amorf halde elde edildi (3 mg). İnce tabaka kromatografisinde UV 254 nm'de görülen madde, serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) mor renk oluştuğu gözlemlendi. Molekül formülü C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O<sub>2</sub> olarak belirlenen PLC-2 numaralı bileşiğin yapısı NMR (1D, 2D), MS, FT-IR teknikleri kullanılarak aydınlatıldı.

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda (CDCl<sub>3</sub>+CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$  (ppm), 600 MHz, Şekil 4.131)  $\delta$  0,53 (3H, *s*, H-18),  $\delta$  0,77 (3H, *d*, *J*= 6,96 Hz, H-27),  $\delta$  0,76 (3H, *d*, *J*= 6,84 Hz, H-26),  $\delta$  0,85 (3H, *d*, *J*= 6,78 Hz, H-28),  $\delta$  0,96 (3H, *d*, *J*= 6,54 Hz, H-21) ve  $\delta$  1,00 (3H, *s*, H-19) ppm'de 6 tane metil protonu görülmüştür.  $\delta$  3,95 (1H, *m*, H-3) ppm'de hidroksil grubuna geminal protonun multipllet yarılmaları  $\beta$ -H pozisyonunda olduğunu doğrulamıştır.  $\delta$  5,10 (1H, *dd*, *J*= 8,22; 15,3 Hz, H-22) ve  $\delta$  5,16 (1H, *dd*, *J*= 7,56; 15,24 Hz, H-23) ppm'de yan zincir vinilik hidrojen,  $\delta$  5,26 (1H, *br. d*, *J*=4,98 Hz, H-7) ppm'de olefinik hidrojen pikleri görülmüştür. <sup>13</sup>C-NMR'ı ve <sup>1</sup>HMBC spektrumlarından C-6 ve C-5 arasında bir oksijen köprüsü bulunduğu ve  $\delta$  3,52 (1H, *br. d*, *J*=4,98 Hz, H-6) ppm'de izlenen pikin oksijen köprüsünün bir ayağını oluşturduğu belirlenmiştir.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumu (CDCl<sub>3</sub>+CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$  (ppm), 150 MHz, Şekil 4.132) HSQC spektrumu (Şekil 4.134) ile değerlendirildiğinde 6 metil, 7 metilen, 11 metin ve 4

katerner karbon belirlenmiştir.  $^{13}\text{C}$ -NMR'ında  $\delta$  67,3 ppm'de rezonan olan pik C-3 pozisyonunda bir adet OH'in olduğunu göstermiştir. HMBC ile  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumları beraber değerlendirildiğinde 75,8 (C-5) ve 73,2 (C-6) ppm'de rezonans olan sinyaller C-5 ile C-6 arasında oksijen köprüsünün olduğunu göstermiştir.

Kütle spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.136),  $m/z$  412,3  $[\text{M}]^+$  piki,  $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_2$  kapalı formülü doğrulamıştır.  $m/z$  394  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$  parçalanması bir su molekülünün ayrılması sonucu oluşmuştur.

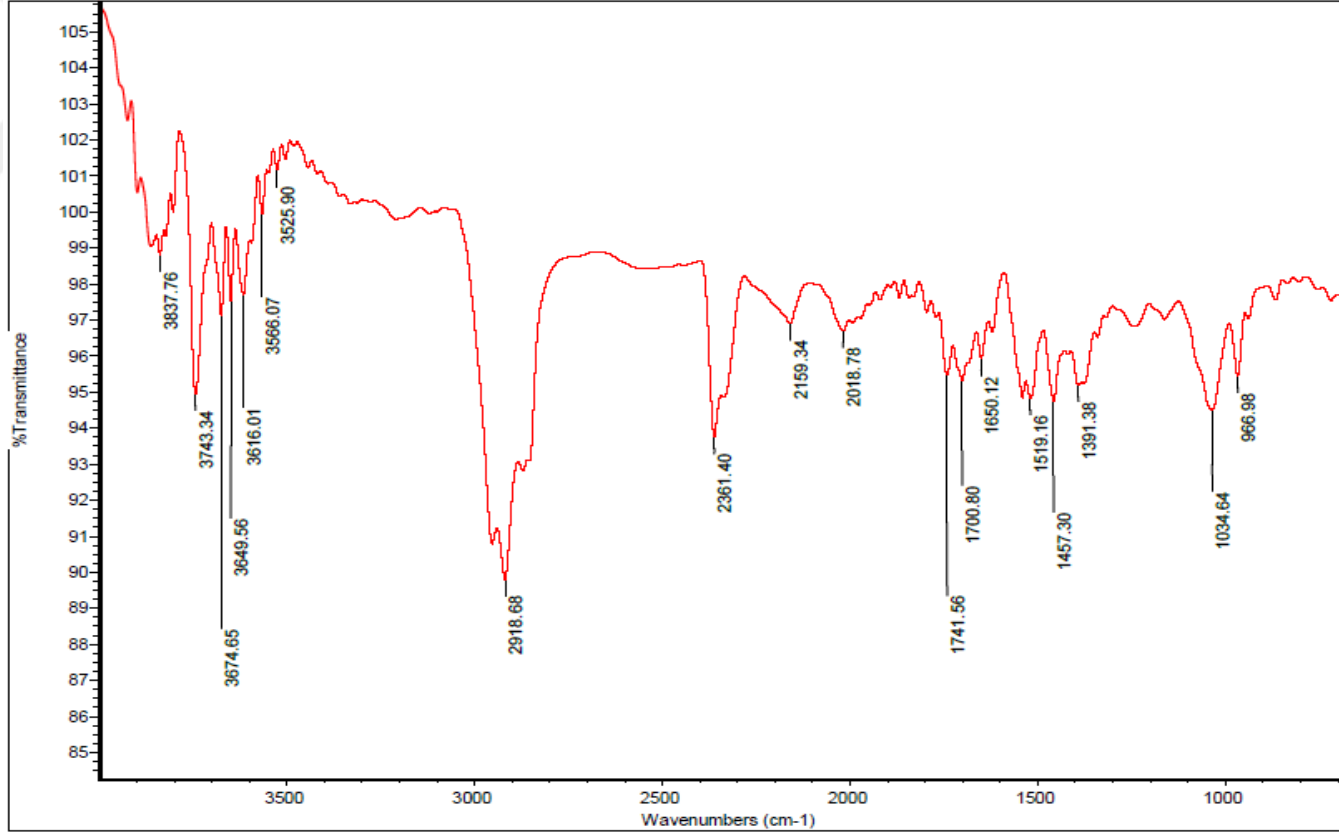
$^1\text{H}$ -NMR (Şekil 4.131)  $^{13}\text{C}$ -NMR (Şekil 4.132), COSY (Şekil 4.133) HSQC (Şekil 4.134) ve HMBC (Şekil 4.135) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde PLC-2 maddesinin yapısının tamamı doğrulandı. Çizelge 4.46'daki  $^1\text{H}$ -NMR,  $^{13}\text{C}$ -NMR, HMBC ve COSY değerleri literatür ile karşılaştırıldığında, PLC-2 maddesinin  $5\alpha$ - $6\alpha$  epoksi ergosta-7,22-dien- $3\beta$ -ol (Şekil 4.129) olduğu belirlendi (Li vd., 2015a; Yaoita vd., 1998).

**Çizelge 4.46**  $5\alpha$ - $6\alpha$  epoksi ergosta-7,22-dien- $3\beta$ -ol'ün (PLC-2)  $^{13}\text{C}$ -NMR,  $^1\text{H}$ -NMR, HMBC ve COSY değerleri

C.no.	$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\delta$ )	$^1\text{H}$ -NMR ( $\delta$ )	HMBC	COSY
1	32,7	1,47(1H, <i>m</i> ); 1,41 (1H, <i>m</i> )		H-2
2	30,4	1,76 (2H, <i>m</i> )		
3	67,3	3,95 (1H, <i>m</i> )		H-4
4	38,9	2,01;1,64 (2H, <i>m</i> )	C-5, C-3, C-2	
5	75,8	<i>q</i>		
6	73,2	3,52 (1H, br. <i>d</i> , $J=4,98$ Hz)	C-7, C-8, C-5, C-4	H-6
7	117,4	5,26 (1H, br. <i>d</i> , $J=4,98$ Hz)	C-10, C-14, C-5	
8	143,5	-		
9	43,6	1,88 (1H, <i>m</i> )	C-8, C-11	
10	39,2	<i>q</i>		
11	21,9	1,50 (2H, <i>m</i> )	C-9, C-8	H-12
12	39,2	2,01; 1,64 (2H, <i>m</i> )		
13	43,7	<i>q</i>		
14	54,6	1,86 (1H, <i>m</i> )	C-8	H-15
15	22,8	1,51 (2H, <i>m</i> )		H-16
16	27,9	1,68 (2H, <i>m</i> )		H-17
17	55,9	1,23 (1H, <i>m</i> )		
18	12,2	0,53 (3H, <i>s</i> )	C-12, C-13, C-14, C-17	
19	18,4	1,00 (3H, <i>s</i> )	C-1, C-5, C-9, C-10	
20	40,3	1,97 (1H, <i>m</i> )	C-17, C-22, C-23, C-13	H-17
21	21,0	0,96 (3H, <i>d</i> , $J=6,54$ Hz)	C-17, C-20, C-22	

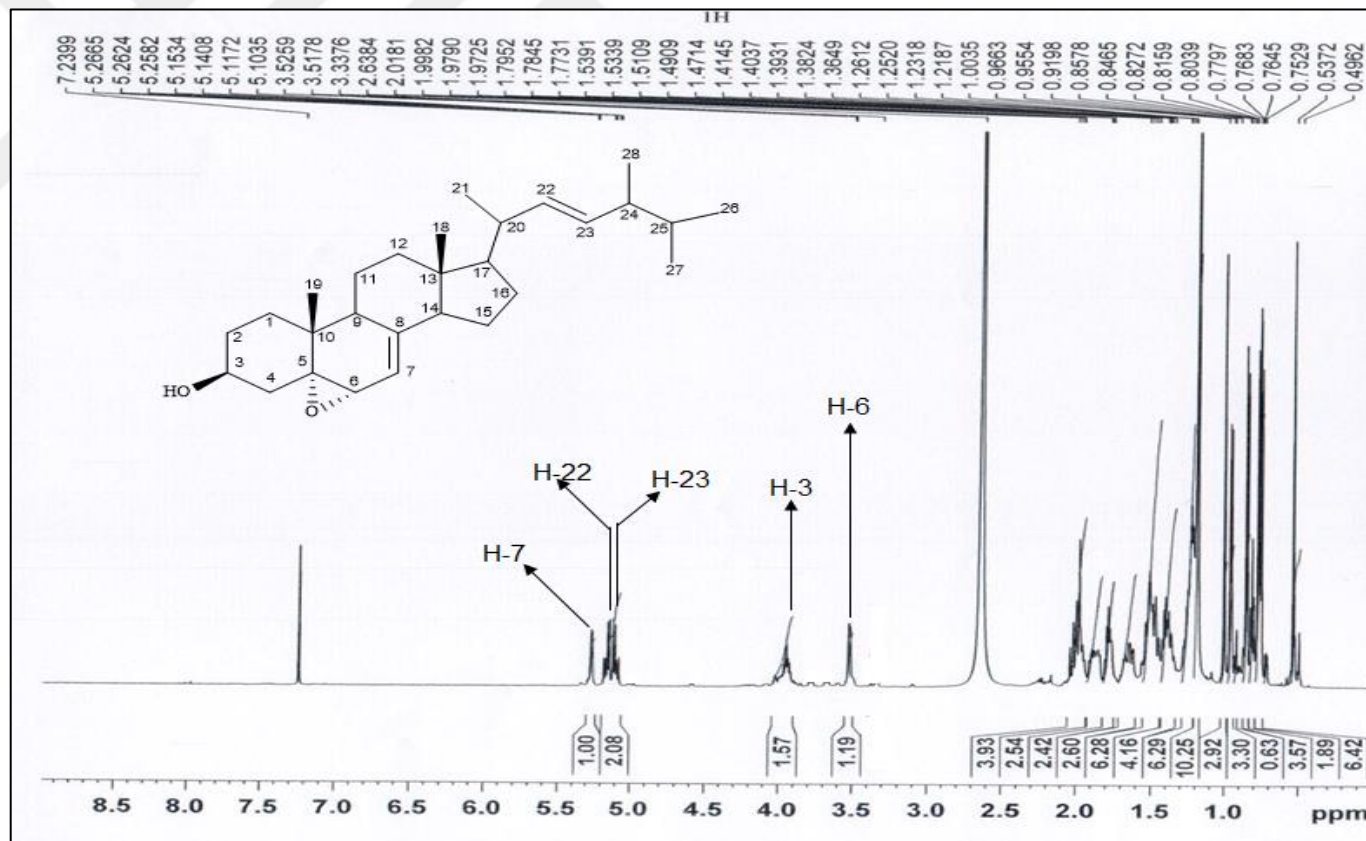
Çizelge 4.46. (Devam)

22	135,4	5,10 (1H, <i>dd</i> , $J=8,22$ ; 15,3 Hz)	C-21, C-23, C-24	
23	132,0	5,16 (1H, <i>dd</i> , $J=7,56$ , 15,24 Hz)	C-22, C-24, C-28	
24	42,7	1,80 (1H, <i>m</i> )	C-22, C-23, C-26, C-25, C-27, C-28	
25	33,0	1,47 (1H, <i>m</i> )	C-27, C-28, C-26, C-24	
26	19,5	0,76 (3H, <i>d</i> , $J=6,84$ Hz)	C-24, C-25, C-26	H-27
27	19,8	0,77 (3H, <i>d</i> , $J=6,96$ Hz)	C-24, C-25, C-27	
28	17,5	0,85 (3H, <i>d</i> , $J=6,78$ Hz)	C-23, C-24, C-25	

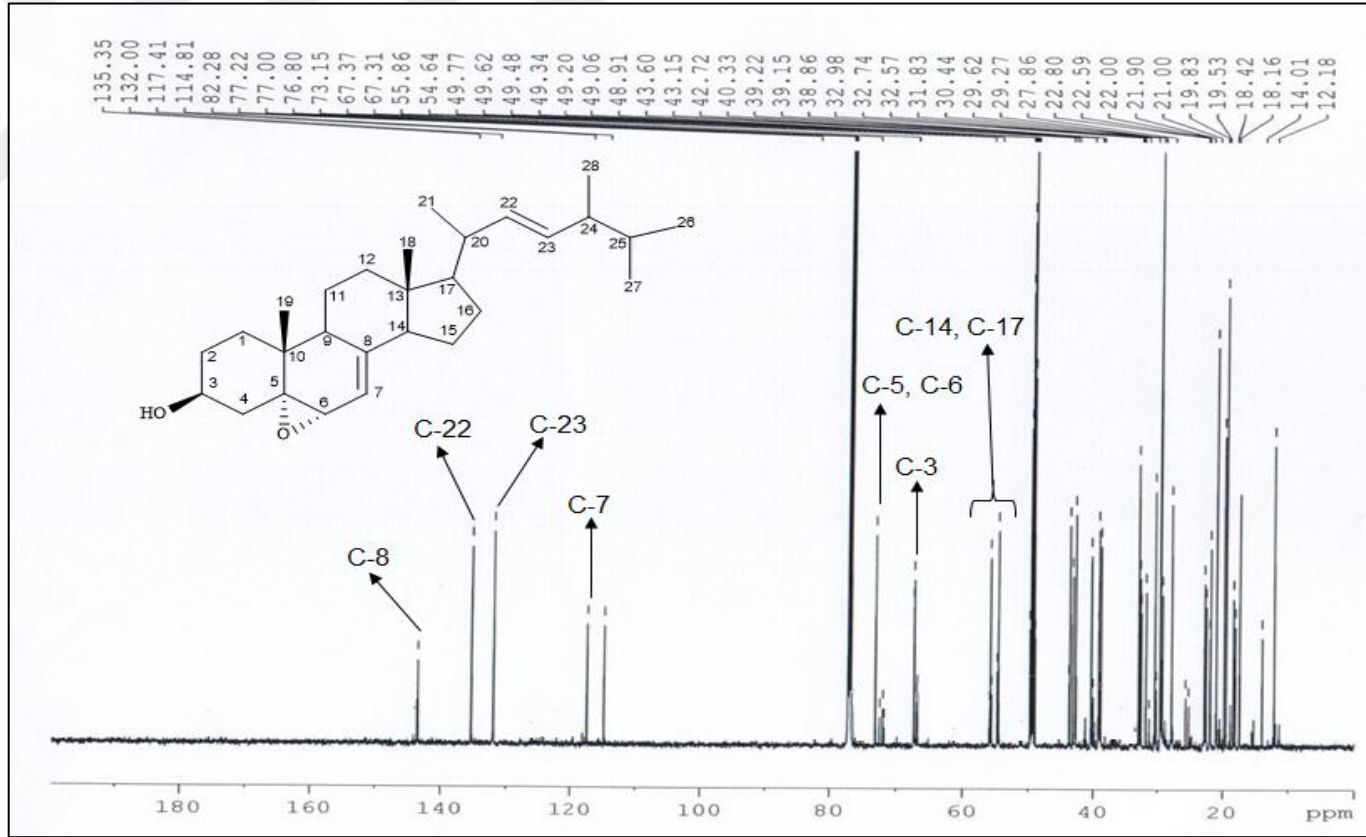


Şekil 4.130. 5 $\alpha$ -6 $\alpha$  epoksi ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ -ol'ün (PLC-2) FT-IR spektrumu

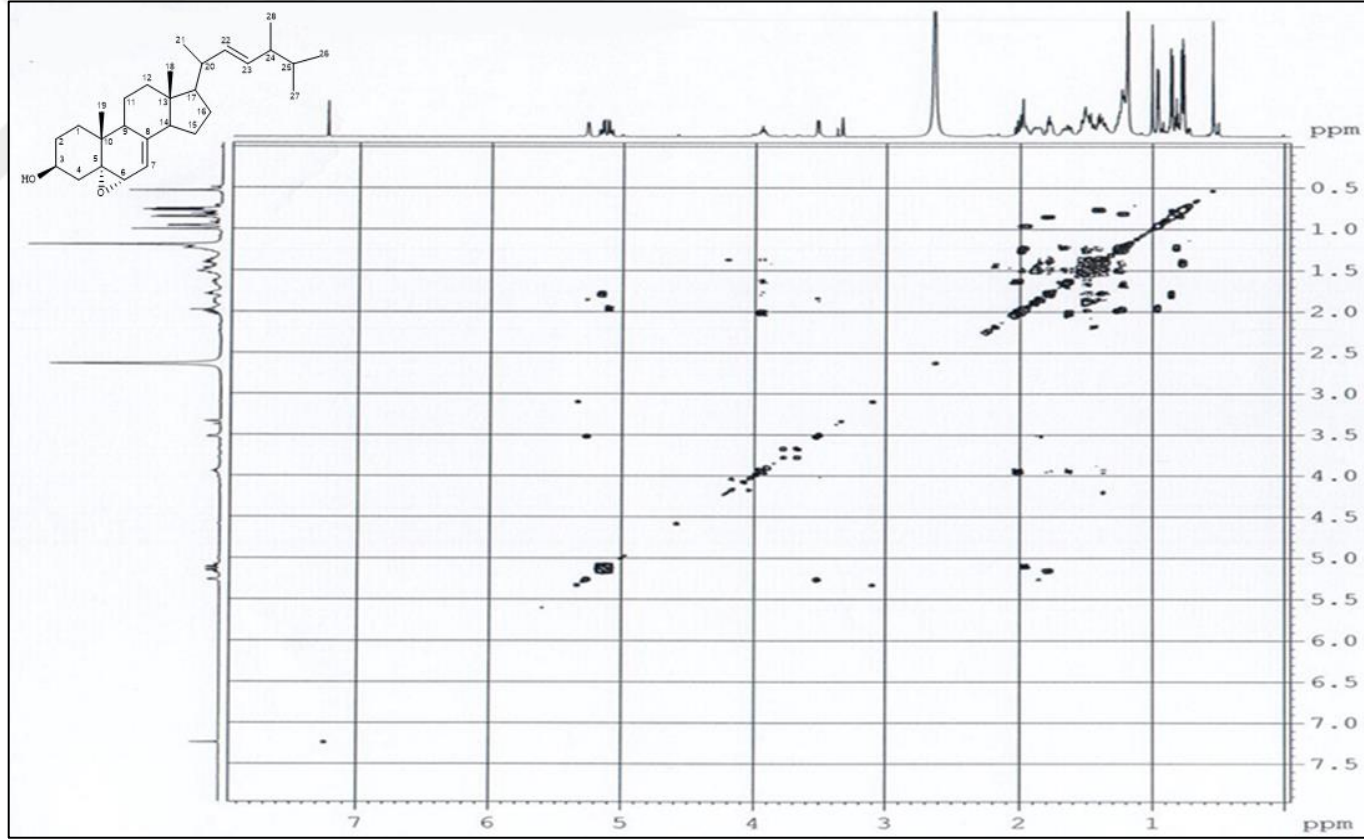




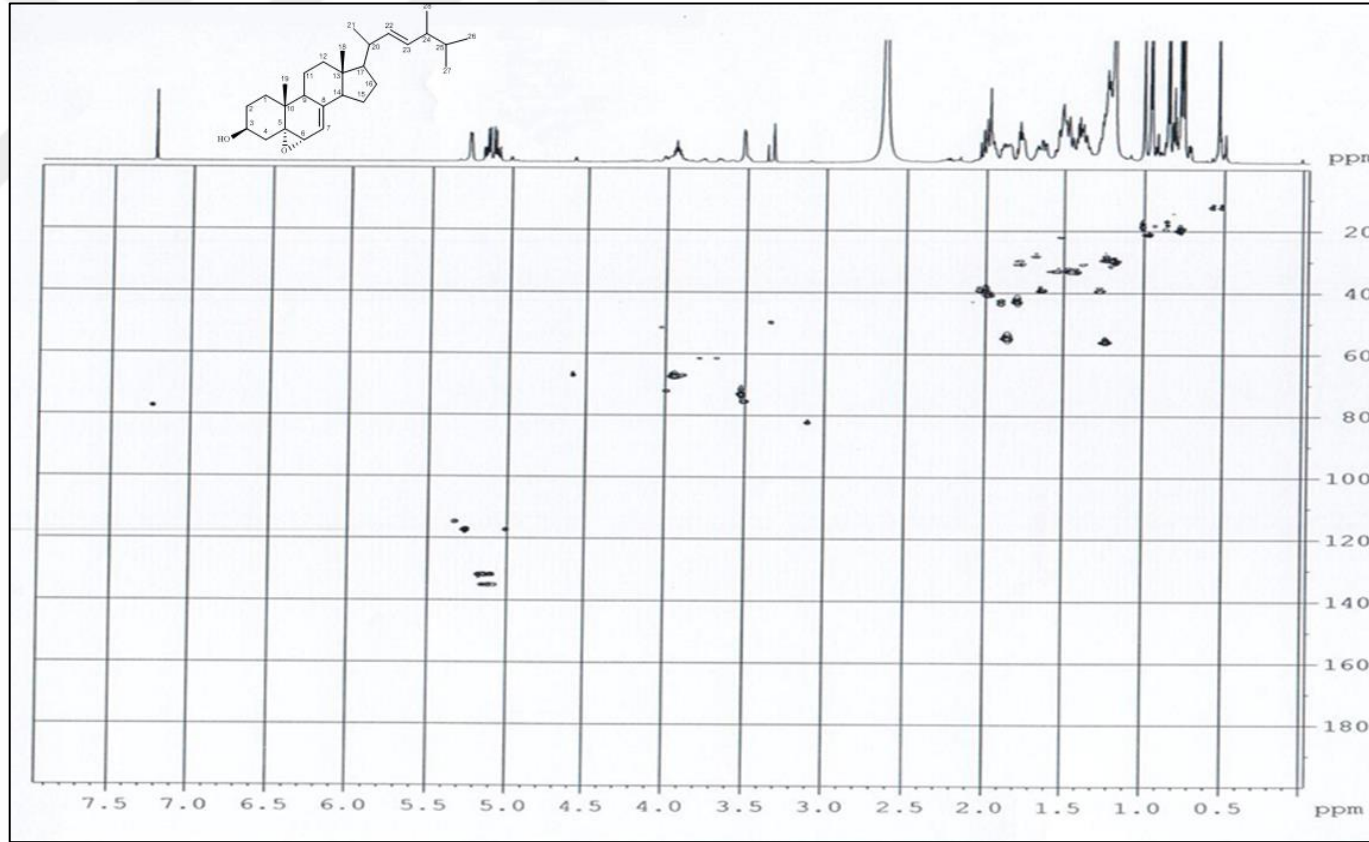
Şekil 4.131. 5α-6α epoksi ergosta-7,22-dien-3β-ol'ü'nün (PLC-2) <sup>1</sup>H-NMR spektrumu (CDCl<sub>3</sub>+CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz)



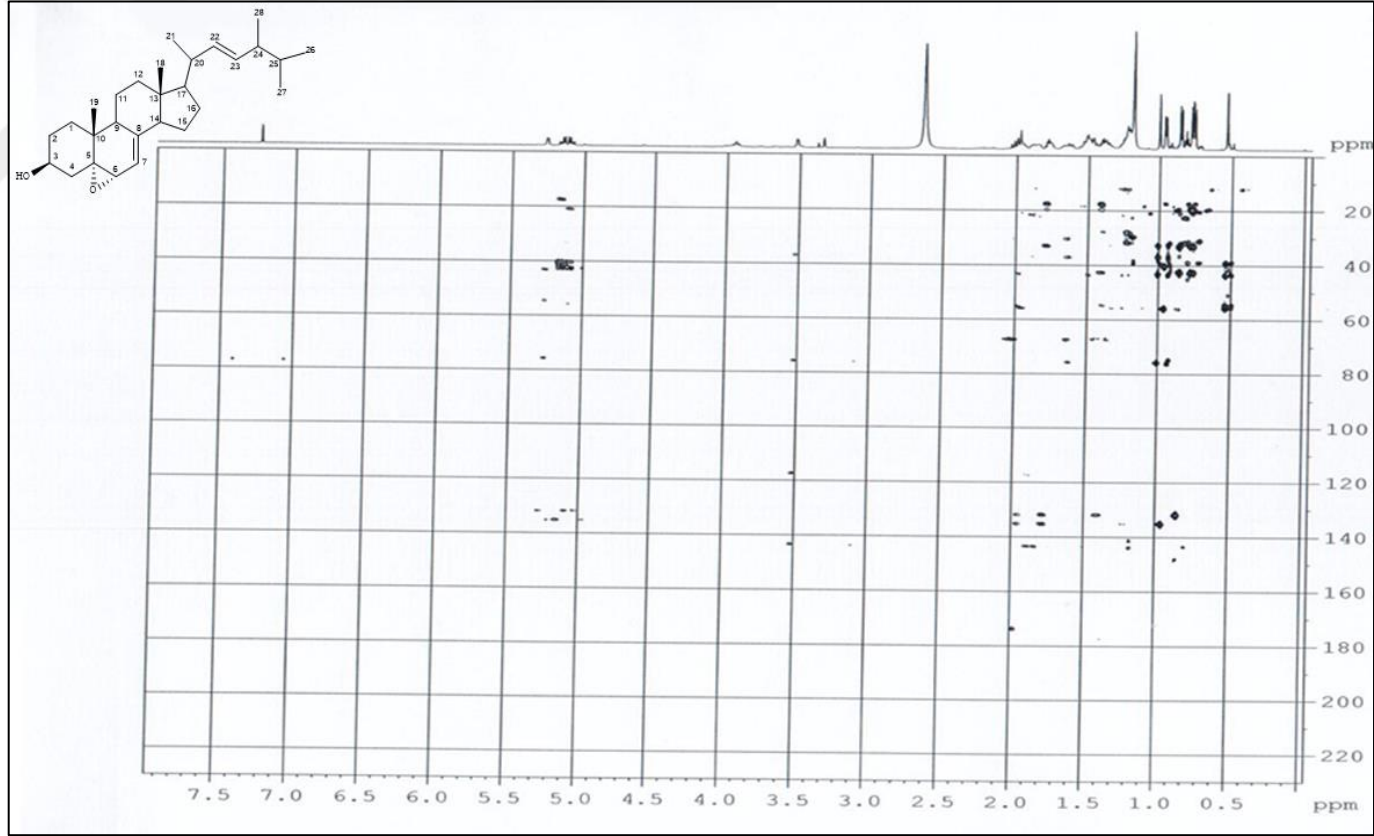
Şekil 4.132. 5α-6α epoksi ergosta-7,22-dien-3β-ol'ün (PLC-2) <sup>13</sup>C-NMR spektrumu (CDCl<sub>3</sub>+CD<sub>3</sub>OD, 150 MHz)



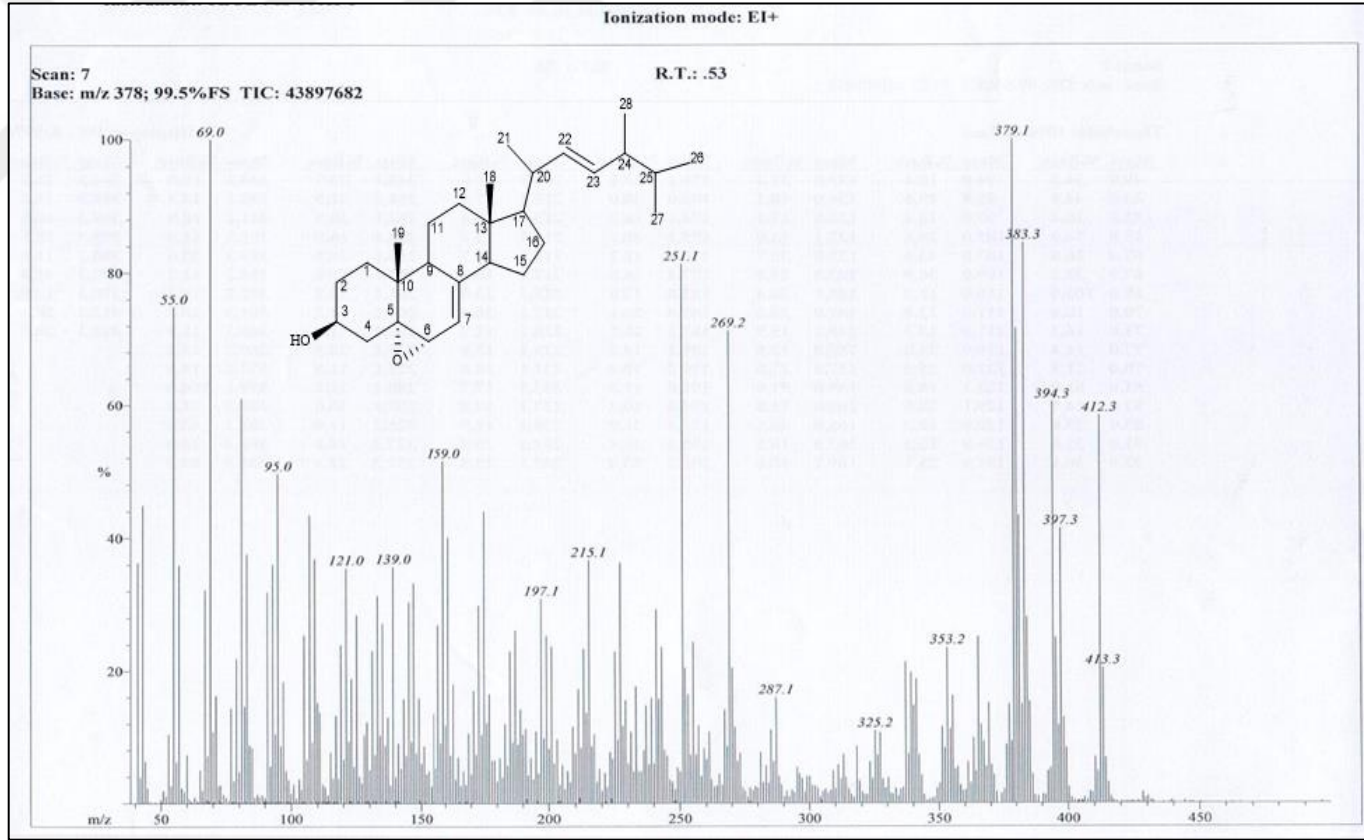
Şekil 4.133. 5 $\alpha$ -6 $\alpha$  epoksi ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ -ol'ün (PLC-2) COSY spektrumu



Şekil 4.134. 5 $\alpha$ -6 $\alpha$  epoksi ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ -ol'ün (PLC-2) HSQC spektrumu



Şekil 4.135. 5 $\alpha$ -6 $\alpha$  epoksi ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ -ol'ün (PLC-2) HMBC spektrumu



Şekil 4.136. 5 $\alpha$ -6 $\alpha$  epoksi ergosta-7,22-dien- 3 $\beta$ -ol'ün (PLC-2) EI-MS spektrumu

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasına, ülkemizde doğal olarak yetişen ve trüf olarak bilinen, *Picoa juniperi* ve *Picoa lefebvrei*'nin çeşitli biyolojik aktiviteleri ve kimyasal içerikleri konu oldu. Her iki trüf türünden farklı polaritedeki çözücülerle yaptığımız ekstraksiyonlarda; sırasıyla *n*-hekzan, kloroform, aseton, metanol ve 80°C saf su kullanılarak, 5 farklı ekstre elde edildi. Elde edilen ekstrelerin antioksidan aktiviteleri,  $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemi, DPPH serbest radikali giderim aktivitesi, ABTS kation radikali giderimi aktivitesi, CUPRAC yöntemi ve Metal Şelatlama Kapasitesi olmak üzere 5 farklı metotla belirlendi. Elde edilen sonuçlar, standart antioksidan olarak kullanılan BHA ve  $\alpha$ -Tokoferol ile karşılaştırıldı. *In vitro* koşullarda tüm ekstrelerin iki ayrı yöntemle antikolinesteraz enzim aktivitesi ve üreaz enzim inhibisyon aktivitesi belirlendi. *Picoa juniperi* ve *Picoa lefebvrei*'nin metanol ve su ekstrelerinin *in vitro* koşullarda Akciğer Kanseri hücre hattı (H1299), Meme Kanseri hücre hattı (MCF-7), Prostat Kanseri hücre hattı (PC-3) ve Fare Fibroplast hücre hattı (L929)'na karşı toksisiteyi araştırıldı. *P. juniperi* ve *P. lefebvrei* ekstreleri üzerine yaptığımız testlerde; öncelikle en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan ekstreler ve hem antioksidan aktivite hem de araştırdığımız diğer aktiviteler bakımından daha yüksek aktiviteye sahip olan ekstreler radikal giderim aktivite kontrollü olarak, çeşitli kromatografik tekniklerle biyoaktif bileşikleri tek tek ayrıldı. Saflaştırılan bileşiklerin çeşitli spektroskopik tekniklerle ( $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , APT, DEPT90, DEPT135 2D (HMBC, HSQC), MS ve FT-IR) yapıları aydınlatıldı.

Her iki trüfün farklı polaritede elde edilen ekstrelerinin antioksidan aktivite sonuçlarına göre; 800 $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonda metanol ve su ekstreleri DPPH serbest radikali giderim aktivitesi (sırasıyla %58,27 $\pm$ 0,19 ve %62,04 $\pm$ 0,40; %57,54 $\pm$ 0,01 ve %62,52 $\pm$ 1,11 inhibisyon), ABTS kation radikali giderim aktivitesi (%91,56 $\pm$  0,10 ve %85,58 $\pm$ 0,28; %91,47 $\pm$ 0,02 ve %71,22 $\pm$ 7,70 inhibisyon) ve metal bağlama aktivitesi (%68,23 $\pm$ 0,15 ve %91,27 $\pm$ 0,10; %73,21 $\pm$ 2,07 ve %92,02 $\pm$ 0,08 inhibisyon) en yüksek aktiviteye sahipken,  $\beta$ -karoten renk açılımı testine göre hekzan ekstreleri (%93,40 $\pm$ 1,36 ve %79,85 $\pm$ 2,49; %84,06 $\pm$ 1,47 ve %74,55 $\pm$ 2,46 inhibisyon) diğer ekstrelerden daha



yüksek aktivite göstermektedir. Üzerinde çalıştığımız hem *P. juniperi* hem *P. lefebvrei*'den elde edilen tüm ekstrelerin antioksidan aktiviteleri birlikte değerlendirildiğinde;  $\beta$ -karoten renk açılım testinin dışında diğer test yöntemlerinin tümünde polar ekstreler (metanol, su ekstreleri) daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlendi. CUPRAC indirgeme gücü açısından hekzan ve klorofom; metanol ve su ekstreleri ile yarışırken, aseton ekstresi oldukça düşük bir aktiviteye sahip olduğu görüldü. Sonuçlarımız bugüne kadar araştırmaya konu olan diğer trüf türlerinin antioksidan aktiviteleri ile karşılaştırıldığında uyum içinde olduğu tespit edildi (Dahham vd., 2018; Al-Laith, 2010). Tüm ekstrelerin antioksidan aktiviteleri üzerinde çalışılan testlerde standart antioksidan olarak bilinen BHA ve  $\alpha$ -Tokoferol ile karşılaştırıldığında; ekstrelerin daha düşük aktiviteye sahip olduğu, ancak, *Picoa* türlerinin gıda olarak tüketimi dikkate alındığında, hesaplanan antioksidan aktivitenin kayda değer olduğu, bu durumun da *Picoa* türlerinin lezzetli bir gıda olmasının yanı sıra, fonksiyonel bir gıda olmasına katkı sağladığı kanaatini oluşturmaktadır.

*P. juniperi* ve *P. lefebvrei*'nin üreaz, asetil- ve bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktiviteleri ilk defa bu tez çalışmasında araştırıldı. Elde edilen sonuçlara göre, her iki trüf türünün, metanol ve su ekstreleri üreaz enzim inhibisyon aktiviteleri, standart olarak kullanılan tiyoüreye göre orta standatta aktivite göstermektedir (200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyonda, sırasıyla %53,79 $\pm$ 0,40; %40,96 $\pm$ 0,07; %55,42 $\pm$ 0,86; %41,59 $\pm$ 0,74). Asetil- ve bütirilkolinesteraz hekzan ekstrelerinin enzim inhibisyon aktiviteleri ise, diğer ekstrelerden daha yüksek (200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'de sırasıyla %43,74 $\pm$ 0,36 ve %38,65 $\pm$ 0,84; %54,63 $\pm$ 0,98 ve %42,64 $\pm$ 1,05) olduğu yapılan testlerde belirlendi. Bu sonuçlar, standart olarak kullanılan Galantamin ile karşılaştırıldığında, *Picoa* türleri hem asetil- hem de bütirilkolinesteraz enzim inhibisyonları açısından orta düzeyde etki göstermektedir. Bu durum, *Picoa* türlerinin fonksiyonel bir gıda olmasına artı bir katkı sağlamaktadır. Diğer trüf türlerinin asetil- ve bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitelerinin münferit çalışmalar bulunmakta olup, elde ettiğimiz sonuçlar bu literatürlerle uyum içindedir (Akyüz vd., 2015a; Kıvrak, 2015; Tel-Çayan vd., 2017). Ayrıca, trüf türleri üzerine üreaz enzim inhibisyon aktivitesi *Terfezia claveryi* üzerine Taşkın vd, (2018) tarafından yapılmış olup, bulgularımız ilgili literatürle uyum içindedir.



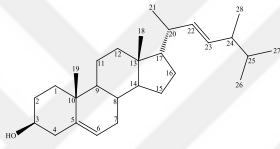
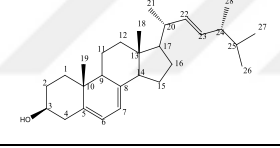
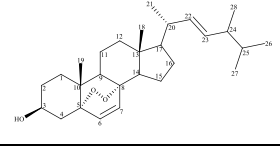
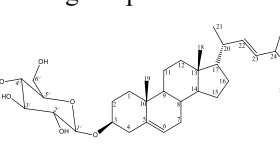
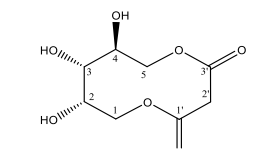
Üzerine çalıştığımız her iki trüf türünün çeşitli hücre hatları üzerine (MCF-7, PC-3 ve H1299) toksisite testleri *in vitro* testlerle belirlendi. *Picoa lefebvrei*'den elde edilen polar ekstraktların sırasıyla, Akciğer Kanseri (H1299), Prostat Kanseri (PC-3) ve Meme Kanseri (MCF-7) hücre hatlarına karşı, kayda değer düzeyde toksisite gösterdiği, fare fibroblast (L929) hücre hatlarına karşı sitotoksik olmadığı belirlendi. *Picoa juniperi*'de ise metanol ekstresi, Prostat Kanseri (PC-3) ve Meme Kanseri (MCF-7) hücre hatlarına karşı aktivite gösterdiği halde, Akciğer Kanseri (H1299) hücre hattına karşı kayda değer bir aktivite göstermemiştir. *In vitro* koşullarda yapılan sitotoksik aktivite çalışmalarında *P. lefebvrei* su ekstresinin Akciğer Kanseri hücre hattına (H1299) karşı yüksek düzeyde aktivite göstermesi (100 µg/mL konsantrasyonda, %27,8 canlılık) heyecan vericidir. *Picoa* türleri üzerinde sitotoksik aktivite çalışmaları ilk defa bu tez çalışmasında yapılmıştır. Ancak diğer trüf türlerinde bu zamana kadar yapılan toksisite testleriyle bulgularımız benzerlik göstermektedir (Beara vd., 2014; Dahham vd., 2018). Antioksidan aktivite ve enzim inhibisyon aktivitelerinde olduğu gibi bazı kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik aktivite gösteriyor olması, *Picoa* türlerinin fonksiyonel bir gıda olarak kullanılabilme avantajını artıracığı kanaatindeyiz.

Bu tez çalışması kapsamında, su ekstraktlarında bulunan polisakkaritler uygun yöntemlerle ayrıştırıldı ve yapıları karakterize edildi. Ayrıca polisakkaritlerin molekül ağırlıkları belirlendi. *P. juniperi*'de 11482 ve 2089 ortalama molekül ağırlıklı iki farklı polisakkarit yapısının olduğu, *P. lefebvrei*'de ise 2248254, 10715, 2089 molekül ağırlıklı 3 farklı molekül ağırlığın sahip polisakkarit yapısının olduğu belirlendi. Her iki mantardan elde edilen polisakkaritlerin radikal giderim aktiviteleri araştırıldı. *P. juniperi*'nin polisakkaritçe zengin olan ekstraktlarının  $\beta$ -karoten renk açılım testine göre, *P. lefebvrei*'nin çok daha fazla aktiviteye sahip olduğu (800 µg/mL'de %91,86±1,44), metal bağlama açısından da aktivitenin her iki türde de yüksek olduğu görülmüştür (800 µg/mL'de %90,11±0,77). Trüf polisakkaritlerinde elde ettiğimiz bu veriler bugüne kadar mantarların polisakkaritlerinin karakterizasyonu üzerine yapılan çalışmalarla tamamen uyum içinde olduğu literatür çalışmaları ile anlaşılmaktadır (Chen vd., 2016; Kozarski vd, 2012; Luo vd., 2011).

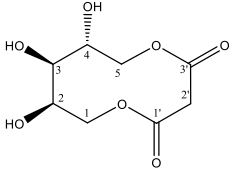
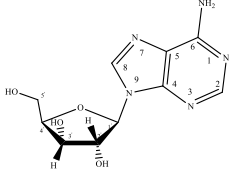
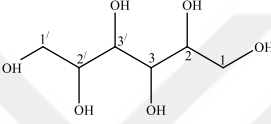
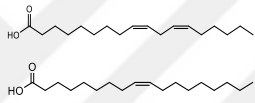
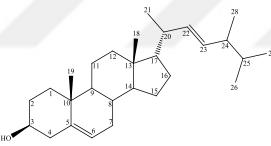
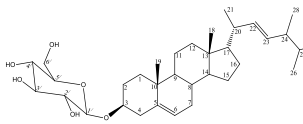
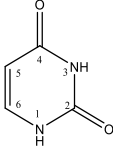
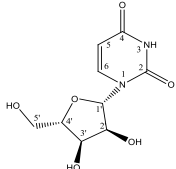
Tez kapsamında yapılan bir başka çalışma, *Picoa* türlerinin fenolik bileşenleri HPLC-DAD sistemiyle araştırılması olup, 7 farklı fenolik bileşik veya organik asit olduğu

tespit edilmiştir. Bunlardan fumarik asitin (sırasıyla 165,2 µg/g, 12,6 µg/g) majör bileşik olarak her iki türde de bulunduğu görülmüştür. Ayrıca, kateşin hidrat ve *trans*-Sinnamik asit ortak bileşik olarak görülürken, *P. lefebvrei*'de gallik asit ve kumarin, *P. juniperi*'de ise kafeik asit ve *trans*-2-hidroksi sinnamik asit farklı olarak tespit edilmiştir.

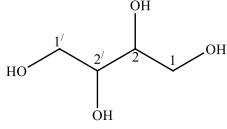
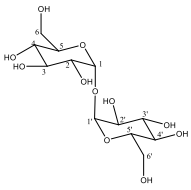
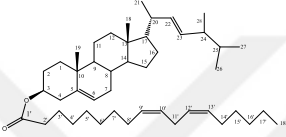
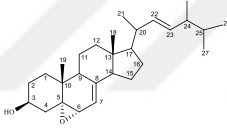
**Çizelge 5.1. *Picoa juniperi* ve *Picoa lefebvrei*'den izole edilen bileşiklerin bazılarının DPPH serbest radikali, ABTS katyon radikali giderimi ve Meme Kanseri (MCF-7), Akciğer Kanseri (H1299) hücre hattına karşı toksisite sonuçları**

	İzole Edilen Bileşikler		Sitotoksik aktivite		Antioksidan Aktivite	
	Kod	Bileşiğin adı, yapısı	MCF-7 (IC <sub>50</sub> ) (µg/ml)	H1299 (IC <sub>50</sub> ) (µg/ml)	DPPH (IC <sub>50</sub> ) (µg/ml)	ABTS (IC <sub>50</sub> ) (µg/ml)
1	PJM-1	Brassikasterol 	38,08±0,75	63,85±0,12	>200	>200
2	PJM-2	Ergosterol 	30,91±0,15	47,15±0,31	>200	190,5±0,25
3	PJM-3	Ergosterol endoperoksit 	>80,00	>80,00	>200	>200
4	PJM-4	Ergosta 5,22-dien 3-O-β-D-glukopiranozit 	49,64±0,23	71,18±0,35	>200	>200
5	PJM-5	Juniperon A 	-	-	>200	>200

Çizelge 5.1. (devam)

6	PJM-6	<p>Juniperon B</p> 	-	-	>200	>200
7	PJM-7	<p>Adenozin</p> 	34,63±0,45	58,01±0,36	8,38±0,40	6,74±0,22
8	PJM-8	<p>Mannitol</p> 	>80,00	>80,00	>200	>200
9	PJC-1	<p>Linoleik asit ve Oleik asit</p> 	-	-	>200	>200
10	PLM-1	<p>Brassikasterol</p> 	38,08±0,75	63,85±0,12	>200	>200
11	PLM-2	<p>Ergosta 5,22-dien 3-O-β-D-glukopiranozid</p> 	49,64±0,23	71,18±0,35	>200	>200
12	PLM-3	<p>Urasil</p> 	>80,00	>80,00	>200	>200
13	PLM-4	<p>1-β-L-xylofurasil</p> 	48,75±0,85	70,18±0,47	92,61±0,10	70,55±0,84

Çizelge 5.1. (devam)

14	PLM-5	<p>Eritriol</p> 	>80,00	>80,00	>200	>200
15	PLM-6	<p><math>\alpha</math>-D-glukopiranozil-<math>\alpha</math>-D-glukopiranozit</p> 	>80,00	>80,00	>200	>200
16	PLC-1	 <p>Brassicasteril linoleat</p>	-	-	>200	>200
17	PLC-2	<p>5<math>\alpha</math>-6<math>\alpha</math> epoksi ergosta-7,22-dien-3<math>\beta</math>-ol</p> 	41,32 $\pm$ 0,36	33,94 $\pm$ 0,47	>200	171,8 $\pm$ 0,12
		Doksorubisin	0,92 $\pm$ 0,08			
		BHA	-	-	19,70 $\pm$ 0,18	12,80 $\pm$ 0,50
		$\alpha$ -Tokoferol	-	-	38,75 $\pm$ 0,23	34,50 $\pm$ 0,47

Her iki trüf türünde hem radikal giderim aktivitesi (DPPH ve ABTS radikali giderim aktivite) hem de çeşitli kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik etki gösteren, öncelikle polar (metanol) olan ekstre ve fraksiyonlar üzerinde izolasyon çalışmaları yapıldı. Elde edilen bileşiklerin yapısı spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatıldı.

Bu amaçla yaptığımız çalışmalarda *Picoa juniperi*'den 9, *Picoa lefebvrei*'den 8 olmak üzere 17 bileşiğin yapısı aydınlatıldı. Bunlardan PJM-5 ve PJM-6 kodlu bileşikler ilk defa bu tez çalışmasıyla literatüre kazandırıldı. Sırasıyla bu bileşikler; *Picoa juniperi*'den Brassikasterol (1), ergosterol (2), ergosterol endoperoksit (3), Ergosta 5,22-dien 3-O- $\beta$ -D-glukopiranozit (4), Juniperon A (5), Juniperon B (6), mannitol (7),

adenozin (8), linoleik asit, oleik asit (9); *Picoa lefebvrei*'den Brassikasterol (10), Ergosta 5,22-dien 3-O- $\beta$ -D-glukopiranozit (11), Urasil (12), 11- $\beta$ -L-xylofuranosil (13), Eritriol (14),  $\alpha$ -D-glukopiranozil- $\alpha$ -D-glukopiranozit (15), Brassikasteril linoleat (16), 5 $\alpha$ -6 $\alpha$  epoksi ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ -ol (17) (Çizelge 5.1).

Çizelgeden de görüleceği üzere *Picoa juniperi*'den elde edilen bileşikler içerisinde Adenozin DPPH radikal giderimi ve ABTS kation radikali giderimi bakımından IC<sub>50</sub>: 8,38±0,40; 6,74±0,22 µg/mL en yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Bu tez çalışmasında iki ayrı mantardan izole edilip yapısı aydınlatılan bileşiklerden bazıları radikal giderim aktivitelerinin belirlenmesinin yanı sıra in vitro koşullarda Meme Kanseri (MCF-7) ve Akciğer Kanseri hücre hattına (H1299) karşı toksisiteyi belirlendi. İzole edilen ve yapısı aydınlatılan bileşiklerden 5 $\alpha$ -6 $\alpha$  epoksi ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ -ol'nin Akciğer Kanseri hücre hattına (H1299) karşı en yüksek toksisiteye sahip olduğu (IC<sub>50</sub>: 33,94±0,47 µg/mL); Ergosterol (IC<sub>50</sub>:30,91±0,15 µg/mL), Adenozin (IC<sub>50</sub>:34,63±0,45 µg/mL), Brassikasterol (IC<sub>50</sub>:38,08±0,75 µg/mL)'ün Meme Kanseri hücre hattına (MCF-7) karşı diğer bileşiklerden daha yüksek toksisiteye sahip olduğu tespit edildi.

Tez çalışmasında en yaygın olarak bulunan bileşik sınıflardan biri steroidlerdir. Bunların arasında en yaygın olan ergosterol türevi bileşiklerdir. Ergosterol (pre-vitamin D2) çeşitli biyolojik aktivitelerinden dolayı tıbbi önemi yüksek olan bileşiklerdendir (Vendittia vd., 2017). Özellikle doğal gıdalardan uzaklaştığı ve endüstriyel gıdaların öne çıktığı bu yüzyılda, insanlarda görülen D vitamini eksikliği Asya, Avrupa ve gelişmekte olan birçok ülkede karşılaşılan en büyük sağlık sorunlarından bir tanesidir. D vitamini eksikliğine önemli doğal bir kaynak olan mantarlar özellikle hayvansal ürünleri tüketmekten kaçınan vejeteryanlar için önemli bir kaynaktır (Diamond vd., 2000; Yan vd., 2000; Vieth vd., 2001; Vendittia vd., 2017). Daha önceki literatür araştırmalarında ergosterol'un antikomplement (Seo vd., 2009), antitüberkülar (Akihisa vd., 2005), anti-inflamatuar ve antikanser (Ma vd., 2013) aktivite gösterdiği rapor edilmiştir.

Ergosterol peroksit, mantarlarla ilgili izolasyon çalışmalarında sıkça karşılaşılan bir steroid olup bilim insanlarının ilgisini çekmektedir. Bugüne kadar ergosterol peroksitin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin yanı sıra bileşiğin birçok kanser hücresi üzerine toksisitesi araştırılarak rapor edilmiştir (Alves vd., 2012). Ergosterol peroksitin radikal giderim aktiviteleri ve Meme Kanseri (MCF-7) hücre

hattı üzerine toksisite sonuçları literatürle uyum içindedir (Sangsopha vd., 2018). Ayrıca Hepatit B virüsü (Hep-3B)'ne karşı sitotoksik etki gösterdiği açıklanmıştır (Lee vd., 2010; Jeong vd., 2020).

*Picoa lefebvrei*'den elde edilen PLC-1 kodlu 5 $\alpha$ -6 $\alpha$  epoksi ergosta-7,22-dien- 3 $\beta$ -ol bileşiği farklı mantar türlerinden daha önce de izole edildiği (Yu vd., 2017; Tian vd., 2017) ve antitümör aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Froufe vd., 2013).

Fitosteroller insan sağlığı açısından birçok biyolojik aktiviteye sahiptir. Kolesterolün bağırsaktaki emilimini engelleyerek, kandaki LDL-kolesterol seviyesi düşürücü etki yapmaktadır (Plat ve Mensink, 2005; Tel, 2016). Bu özelliğinden dolayı da gıdaların zenginleştirilmesi için kullanılan bileşenlerden biridir (Scholz vd., 2016). Fitosteril/stanil yağ asit esterlerden olduğu tespit edilen PLC-1 kodlu bileşik *Picoa lefebvrei*'den saflaştırılmıştır.

İzole edip yapısını aydınlatılan bileşiklerden bazıları da nükleozit sınıfındadır. Doğal nükleozitler RNA veya DNA'nın yapı taşlarıdır. Nükleozitler hücrede genetik bilgiyi taşıyan ve onu bir nesilden diğerine geçirecek maddelerdir (Ohkawa vd., 2010). Diyetle elde edilen nükleozitler vücuttaki çeşitli fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde ve modülasyonunda yer alabilir ve purinerjik ve/veya pirimidin reseptörleri aracılığıyla etkinlik gösterebilir (Kaneko vd., 2010; Tsukada vd., 2011). Diyetlerde bulunan nükleotidler ve nükleozidler, bağışıklık sistemi, ince bağırsak büyümesi ve gelişimi, lipid metabolizması ve hepatik fonksiyon üzerine olumlu etkileri olduğu belirtilmiştir (Fukai, vd., 2012; Shiozaki vd., 2013; Haraguchi, vd., 2015). Tez çalışmasında elde edilen Adenozin, Urasil ve 1- $\beta$ -L-xylofuranosil bileşikleri bu sınıftan olup biyoaktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Urasil, RNA'da yaygın olarak bulunan bir pirimidindir ve edinilmiş bağışıklık sisteminde önemli bir anahtar ara maddedir. Yapılan çalışmalar bitki ve mantarlardan da izole edilebildiğini göstermiştir, antikanser etki gösterdiği tespit edilmiştir (Kim vd., 2015; Lee vd., 2017). Daha önceki literatür araştırmalarında 1- $\beta$ -L-xylofuranosil üzerine yalnızca modifiye ve sentez çalışmaları gerçekleştirilmiş olup antiviral aktivitesi incelenmiştir. Antiviral aktivite göstermediği tespit edilmiştir (Gosselin vd., 1993; Kouni vd., 1996). Adenozinin bitki ve mantarlardan izolasyonları gerçekleştirilmiş olup, antitümör, antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Liu vd., 2011; Chen vd., 2018).

Bu tez çalışması kapsamında *Picoa* türlerinden saflaştırılan maddelerin elde edildiği biyoaktif fraksiyonların ve *in vivo* koşullarda da hayvan modellerinde araştırılmasının uygun olacağı ve ayrıca *P. juniperi* polisakkaritlerinin, Akciğer Kanseri hayvan modellerinde söz konusu etkinin, *in vivo* şartlarda araştırılmasının, bilimsel olarak yararlı olacağı kanaati oluşmuştur.



## KAYNAKLAR

- Ai, H.L., Zhang, L.M., Chen, Y.P., Zi, S.H., Xiang, H., Zhao, D.K. ve Shen, Y. (2012) Two new compounds from an endophytic fungus *Alternaria solani*, *J Asian Nat Prod Res*,14: 1144–1148.
- Akihisa, T., Tagata, M., Ukiya, M., Tokuda, H., Suzuki, T. ve Kimura, Y. (2005) Oxygenated lanostane-type triterpenoids from the fungus *Ganoderma lucidum*, *J Nat Prod*, 68: 559–563.
- Akyüz, M., Kırbağ, S. ve Bircan, B. (2015a) Medical Characteristics of Arid-Semi Arid Truffle (*Terfezia* and *Picoa*) in the Elazığ-Malatya region of Turkey, *Hacettepe J Biol Chem*, 43 (4): 301-308.
- Akyüz, M., Kırbağ, S., Bircan, B. ve Gürhan, Y. (2015b) Diversity and distribution of arid-semi arid truffle (*Terfezia* and *Picoa*) in Elazığ-Malatya region of Turkey, *Mycosphere*, 6 (6): 766–783.
- Akyüz, M., Kırbağ, S., Gürhan, Y. ve Bircan, B. (2016) Elazığ-Malatya çevresinde yetişen *Terfezia* ve *Picoa* trüf türlerinin mikorizal ilişkileri ile in situ ve ex situ koruma durumunun tespit edilmesi, *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 17 (1): 1–10.
- Alhussaini, M.S., Saadabi, A.M., Hashim, K., ve Al-Ghanayem, A.A. (2016) Efficacy of the Desert Truffle *Terfezia clavaryi* to Cure Trachoma Disease with Special Emphasis on its Antibacterial Bioactivity, *Trends Med Res*, 11 (1): 28-34.
- Al-Jauziyah, I.A.Q. (2010) In A.M. Mujahid, J. A. Rub, A.R., Abdullah, R.J. Manderola (Editörler), *Healing with the medicine of the Prophet Peace be upon him: 377*, United States of America: Fordham University.
- Al-Laith, A.A.A. (2010) Antioxidant components and antioxidant/antiradical activities of desert truffle (*Tirmania nivea*) from various Middle Eastern origins, *J Food Compos Anal*, 23 (1): 15–22.
- Al-Marzooky, M.A. (1981) Truffles in eye disease, *Proceedings of the international conference on Islamic Medicine*, 353–357, Kuwait.
- Al-Qarawi, A.A. ve Mridha, M.A.U. (2012) Status and Need of Research on Desert Truffles in Saudi Arabia. *J Pure Appl Microbio*, 6 (3): 1051-1062.



- Al-Shabibi, M.M.A., Toma, S.J. ve Haddad, B.A. (1982) Studies on Iraqi truffles. I. Proximate analysis and characterization of lipids, *Can Inst F Sci Tec J*, 15: 200–202.
- Alsheikh, A.M. ve Trappe, J.M. (1983a) Taxonomy of *Phaeangium lefebvrei*, a desert truffle eaten by birds, *Can J Bot*, 61(7): 1919-1925.
- Alsheikh, A.M. ve Trappe, J.M. (1983b) Desert truffles: the genus *Tirmania*, *Transactions of the British Mycological Society*, 81(1): 83-90.
- Alves, M.J., Ferreira, I.C., Dias, J., Teixeira, V., Martins, A. ve Pintado, M.A. (2012) Review on antimicrobial activity of mushroom extracts and isolated compounds, *Planta Med*, 78: 1707-1718.
- Anonim, *Türkiye Kanser İstatistikleri T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Müdürlüğü*, 2018, 68. [https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Turkiye\\_Kanser\\_Istatistikleri\\_2015.pdf](https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2015.pdf)
- Anonim, *Alzheimer's disease facts and figures Alzheimer's Dementia*, Alzheimer's Association, 2019, 15: 321-387.
- Ammarellou, A. ve Trappe J.M. (2007) A First Ascomycete Genus (*Picoa* sp.) Record for the fungi flora of Iran, *PJBS*, 10: 1772.
- Anand, N. ve Delhi, N. (2013) Anti-Tumour Potential of Active Compounds (Polysaccharides) of Wild Mushrooms From Rajouri Dist. of Jammu ve Kashmir, India, *NCFT*, 4 (5): 1743–1746.
- Anand, A., Patience, A.A., Sharma, N. ve Khurana, N. (2017) The present and future of pharmacotherapy of Alzheimer's disease: A comprehensive review, *Eur J Pharmacol*, 815: 364-375.
- Angelini, P., Tirillini, B., Properzi, A., Rol, C. ve Venanzoni, R. (2015) Identification and bioactivity of the growth inhibitors in *Tuber* spp. methanolic extracts, *Plant Biosyst*, 149 (6):1000–1009.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Karademir, S.E. (2004) Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric

ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method, *J Agric Food Chem*, 52: 7970–7981.

Apra, E., Biasioli, F., Carlin, S., Versini, G., Mark, T.D. ve Gasperi, F. (2007) Rapid White truffle headspace analysis by proton transfer reaction mass spectrometry and comparison with solid-phase microextraction coupled with gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Sp*, 21: 2564–2572.

Arı, A. (2006) Histolojik Olarak Mide Kanseri ile *Helicobacter Pylori* Arasındaki İlişki, T.C. Sağlık Bakanlığı İstanbul Eğitim Hastanesi II. Genel Cerrahi Kliniği, Uzmanlık tezi, İstanbul.

Atta-ur-Rahman ve Choudhary, M.I. (2001) Bioactive Natural Products as a Potential Source of New Pharmacophores, A Theory of Memory, *Pure Appl. Chem*, 73: 555-560.

Barros, L., Ferreira, M.J., Queiros, B., Ferreira, I.C.F.R. ve Baptista, P. (2007) Total phenols, ascorbic acid,  $\beta$ -carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities, *Food Chem*, 103: 413-419.

Barros, L., Duenas, M., Ferreira, I.C.F.R., Baptista, P. ve Santos-Buelga, C. (2009) Phenolic acids determination by HPLC–DAD–ESI/MS in sixteen different Portuguese wild mushrooms species, *Food Chem Toxicol*, 47: 1076–1079.

Bawadekji, A., Abdelrazek, M., Mridha, M.A.U. ve Al Ali, M. (2016) Importance of *Picoa* spp. as desert truffles fungi, *J Pure Apply Microbio*, 10 (1): 297-304.

Beara, I.N., Lesjak, M.M., Četojević-Simin, D.D., Marjanović, Ž.S., Ristić, J.D., Mrkonjić, Z.O. ve Mimica-Dukić, N.M. (2014) Phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activities of black (*Tuber aestivum* Vittad.) and white (*Tuber magnatum* Pico) truffles, *Food Chem*, 165: 460–466.

Bederska-Łojewska, D., Świątkiewicz, S., ve Muszyńska, B. (2017) The use of Basidiomycota mushrooms in poultry nutrition—A review. *Anim Feed Sci and Tech*, 230: 59–69.

Bellesia, F., Pinetti, A., Bianchi, A. ve Tirillini, B. (1996), Volatile compounds of the White truffle (*Tuber magnatum* Pico) from middle Italy, *Flavour Frag J*, 11: 239–243.

- Benucci, G.M. ve N., Bonito, G.M. (2016) The Truffle Microbiome: Species and Geography Effects on Bacteria Associated with Fruiting Bodies of Hypogeous Pezizales *Microb Ecol*, 72 (1): 4–8.
- Berch, S.M. ve Bonito, G. (2016) Truffle diversity (*Tuber*, Tuberales) in British Columbia, *Mycorrhiza*, 26 (6): 587–594.
- Beuchat, L.R., Breneman, T.B. ve Dove, C.R. (1993) Composition of the pecan truffle (*Tuber texense*), *Food Chem*, 46: 189-192.
- Black, J.A., Cunningham, G., Ebeling, J., Flückiger-Hawker, E., Robson, E., Taylor, J. ve Zólyomi, G. (1998-2006) *The Electronic Text Corpus of Sumerian Literature* (<http://etcsl.orinst.ox.ac.uk/>), Oxford. [The Marriage of Martu is text 1.7.1]
- Blois, M.S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181: 1199–1200.
- Bokhary, H.A. ve Parvez, S. (1993) Chemical composition of desert truffles *Terfezia clavaryi*, *J Food Compos Anal*, 6: 285–293.
- Bonito, G., Smith, M.E., Nowak, M., Healy, R.A., Guevara, G., Cázares, E., Kinoshita, A., Nouhra E.R., Dominguez, L.S., Tedersoo, L., Wang, Y., Moreno, B.A., Pfisher, D.H, Nara, K., Zambonelli, A., Trappe, J.M. ve Vilgalys, R. (2013) Historical Biogeography and Diversification of Truffles in the Tuberales and Their Newly Identified Southern Hemisphere Sister Lineage, *PLoS ONE*, 8 (1): e52765.
- Braeuer, S., Goessler, W., Kameník, J., Konvalinková, T., Žigová, A. ve Borovička, J. (2018). Arsenic hyperaccumulation and speciation in the edible ink stain bolete (*Cyanoboletus pulverulentus*), *Food Chem*, 242: 225-231.
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R.L., Torre, L.A. ve Jemal, A. (2018) Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries, *CA*, 68: 394–424.
- Budzikiewicz, H., Djerassi, C. ve Williams, D.H. (1964) *Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry* 2, Holden-day Inc, San Francisco, 137.

- Butler, M.S. (2004) The role of natural product chemistry in drug discovery, *J. Nat Prod*, 67: 2141–2153.
- Butler, M.S., Robertson, A.A. ve Cooper, M.A. (2014) Natural products to drugs: natural product derived compounds in clinical trials, *Nat Prod Rep*, 31: 1612–1661.
- Buzzini, P., Gasparetti, C., Turchetti, B., Cramarossa, M. R., Vaughan-Martini, A., Martini, A., Pagnoni, U.M. ve Forti, L. (2005) Production of volatile organic compounds (VOCs) by yeasts isolated from the ascocarps of black (*Tuber melanosporum* Vitt.) and white (*Tuber magnatum* Pico) truffles. *Arch Microbiol*, 184 (3): 187–193.
- Casarica, A., Moscovici, M., Daas, M., Nicu, I., Panteli, M. ve Rasit, I. (2016) A Purified Extract From Brown Truffles Of The Species *Terfezia Claveryi* Chatin and Its Antimicrobial Activity, *Farmacia*, 64 (2): 298-301.
- Chen, G.J., Zhang, S.Q., Ran, C.X., Wang, L.S. ve Kan, J.Q (2016) Extraction, characterization and antioxidant activity of water-soluble polysaccharides from *Tuber haidongense*, *Int J Biol Macromol*, 91:431–442.
- Chen, P., Qin, H. J., Li, Y. W., Ma, G. X., Yang, J. S. ve Wang, Q. (2018) Study on chemical constituents of an edible mushroom *Volvariella volvacea* and their antitumor activity in vitro, *Nat prod res*, 1-6.
- Chevalier, G. (2014) *The European Desert Truffles*, Kagan-Zur, V., Roth-Bejerano, N., Sitrit Y., Morte, A. (editörler) Soil Biol, Springer, Berlin, Heidelberg, 38: 121-141.
- Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y.Y., Arai, Y. ve Fukuoka, F. (1970) Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan, from *Lentinus edodes*, *Cancer Res*, 30: 2776-2782,
- Choe, E. ve Min, D. B. (2009) Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods, *Compr Rev Food Sci F*, 8: 345–358.
- Ciuffreda, P., Casati, S. ve Manzocchi, A. (2007) Complete <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectral assignment of  $\alpha$ - and  $\beta$ -adenosine, 2'-deoxyadenosine and their acetate derivatives, *Magn Reson Chem*, 45: 781–784.

- Croteau, R., Porter J.W. ve Spurgeon S.L. (1981) Biosynthesis of Isoprenoid compounds, J.W Wiley, New York, 1. 225.
- Cullere, L., Ferreira, V., Chevret, B., Venturini, M.E., Sanchez- Gimeno, A.C. ve Blanco, D. (2010) Characterisation of aroma active compounds in black truffles (*Tuber melanosporum*) and summer truffles (*Tuber aestivum*) by gas chromatography-olfactometry, *Food Chem*, 122: 300–306.
- Cullere, L., Ferreira, V., Venturini, M. E., Marco, P. ve Blanco, D. (2013a) Potential aromatic compounds as markers to differentiate between *Tuber melanosporum* and *Tuber indicum* truffles, *Food Chem*, 141 (1): 105–110.
- Cullere, L., Ferreira, V., Venturini, M. E., Marco, P. ve Blanco, D. (2013b) Chemical and sensory effects of the freezing process on the aroma profile of black truffles (*Tuber melanosporum*), *Food Chem*, 136 (2): 518–525.
- Çayan, F., Deveci, E., Tel-Çayan, G. ve Duru, M.E. (2018), Phenolic Acid Profile of Six Wild Mushroom Species by HPLC-DAD, *Chem Nat Compd*, 54: 5, 985-986.
- Dahham, S., Al-Rawi, S.S., Ibrahim, A.H., Abdul, M., Aman, S., Abdul, M. ve Amin, M.S. (2018) Environmental conditions, apoptosis properties and chemical composition of black truffle *Terfezia clavaryi*, *Saudi J Biol Sci*, 25 (8): 1524-1534.
- Das, M.C. ve Mahota, S.B. (1983) Triterpenoids, *Phytochemistry*, 22: 1071–1096.
- Davis, A.L., Mc Neill, G.P. ve Caswell, D.C. (1999) Analysis of conjugated linoleic acid isomers by <sup>13</sup>C NMR spectroscopy, *Chem Phys Lipids*, 97(2), 155-165.
- Decker, E.A. ve Welch, B (1990) Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food, *J Agric Food Chem*, 38: 674–677.
- Demiray, E. ve Yılmaz, O. (2007) Helicobacter Pylori İnfeksiyonunda Üreaz Enziminin Rolü ve Önemi, *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 37: 112-117.
- De Pinho, P.G., Ribeiro, B., Gonçalves, R.F., Baptista, P., Valentão ve P., Seabra (2008) Overall aroma of wild edible mushrooms, *J Agric Food Chem*, 56: 1704-1712.

- Deslauriers, R., Jarrell, H.C., Byrd, R.A. ve Smith, I.C.P. (1980) Observation by <sup>13</sup>C NMR of metabolites in differentiating amoeba, Trehalose storage in encysted *Acanthamoeba castellanii*, *FEBS Lett*, 118 (2):185–190.
- Deveci, E., (2018) *Porodaedalea pini* ve *Fuscoporia torulosa* Mantarlarının Biyoaktif Bileşiklerinin İzolasyonu ve Yapılarının Aydınlatılması, Doktora Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, 279.
- Deveci, E., Tel-Çayan, G., Duru, M.E. ve Öztürk, M. (2019a) Chemical constituents of *Porodaedalea pini* mushroom with cytotoxic, antioxidant and anticholinesterase activities, *Food Measure*, 13: 2686.
- Deveci, E., Tel-Çayan, G., Duru, M.E. ve Öztürk, M. (2019b) Isolation, characterization, and bioactivities of compounds from *Fuscoporia torulosa* mushroom, *J food biochem*, 43: (12) e13074.
- Deveci, E., Çayan, F., Tel-Çayan, G. ve Duru, M.E. (2019c) Structural characterization and determination of biological activities for different polysaccharides extracted from tree mushroom species, *J Food Biochem*, 43: (9).
- Dewieck, P.M. (2002) The biosynthesis of C5-C25 Terpenoid compounds, *Nat, Prod Rep*, 19:181-222.
- Dexheimer, J., Gerard, J., Leduc, J.P. ve Chevalier, G. (1985) Comparative ultrastructural study of symbiotic mycorrhizal associations between *Helianthemum salicifolium*-*Terfezia claveryi* and *Helianthemum salicifolium*-*Terfezia leptoderma*, *Can J Bot*, 63: 582-591.
- Diamond, T., Levy, S., Smith, A. ve Day, P. (2000) Vitamin D deficiency is common in Muslim women living in a Sydney urban community, *Bone*, 27:1–54.
- Díez, J., Manjón, J.L. ve Martin, F. (2002) Molecular phylogeny of the mycorrhizal desert truffles (*Terfezia* and *Tirmania*), host specificity and edaphic tolerance, *Mycologia*, 94 (2): 247- 259.
- Dinç, Y. (2009) *Üreaz Enziminin Bazı Tıbbi Bitkiler Tarafından İnhibisyonu*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 90.

- Doğan, H.H. ve Aydın, S. (2013) Determination of antimicrobial effect, antioxidant activity and phenolic contents of desert truffle in Turkey, *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 10 (4): 52-58.
- Duquesnoy, E., Castola, V., ve Casanova, J. (2008), Identification and quantitative determination of carbohydrates in ethanolic extracts of two conifers using <sup>13</sup>C NMR spectroscopy. *Carbohydr Res*, 343 (5): 893-902.
- Duru, M.E. (1999) *Türkiye’de yaygın olarak yetişen bazı Pistacia L. türleri üzerine fitokimyasal çalışmalar*, Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi-Erzurum.
- Duru, M. E. ve Tel Çayan, G. (2015) Biologically Active Terpenoids from Mushroom origin: A Review. *Rec Nat Prod*, 9 (4): 456-483.
- Duru, M.E., Kuş, Ç., Taş, M., Öztürk, M. Ve Neffati, M. (2017) Antioxidant Activity And Polysaccharides Of The Desert Truffle *Picoa juniperi* And *Picoa lefebvrei* International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOF), 15-17 May 2017, Cappadocia-Turkey.
- Duru, M., Tel-Çayan, G. ve Deveci, E. (2019) Evaluation of phenolic profile, antioxidant and anticholinesterase effects of *Fuscoporia torulosa*, *IJSM*, 6:1, 79-89.
- Dünder, A., Yesil, O.F., Acay, H., Okumus, V., Ozdemir, S. ve Yildiz, A. (2012) Antioxidant properties, chemical composition and nutritional value of *Terfezia boudieri* (Chatin) from Turkey, *Food Sci Technol Int*, 18 (4): 317-328
- El Enshasy, H., Elsayed, E.A., Aziz, R. ve Wadaan, M.A. (2013) Mushrooms and truffles: Historical biofactories for complementary medicine in Africa and in the middle East, *Evid-Based Compl Alt*.
- Elik, K., (2017), *Gyromitra esculenta* (Pers.) Fr. Türünün biyoaktif bileşiklerinin elde edilmesi ve yapılarının aydınlatılması, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi,227.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. ve Featherston, R.M. (1961) A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochem Pharmacol*, 7: 88–95.

- Elsayed, E.A., El Enshasy, H., Wadaan, M.A.M. ve Aziz, R. (2014) Mushrooms: A potential natural source of anti-inflammatory compounds for medical applications, *Mediat Inflamm*, 805-841.
- Erdik, E. (1993) *Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler*, Gazi Büro Kitapevi, Ankara, 234.
- Ferdman, Y., Aviram, S., Roth-Bejerano, N., Trappe, J.M. ve Kagan-Zur, V. (2005) Phylogenetic studies of *Terfezia pfeilii* and *Choiromyces echinulatus* (Pezizales) support new genera for southern African truffles: *Kalaharituber* and *Eremiomyces*, *Mycol Res*, 109 (2): 237-245.
- Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Dyba, T., Randi, G., Bettio, M., Gavin, A., Visser, O. ve Bray, F. (2018) Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018, *Eur J Cancer*, 103: 356-387.
- Fратиanni, F., Di Luccia, A., Coppola, R. ve Nazzaro, F. (2007) Mutagenic and antimutagenic properties of aqueous and ethanolic extracts from fresh and irradiated *Tuber aestivum* black truffle: a preliminary study, *Food Chem*, 102: 471–474.
- Frey-Klett, P., Burlinson, P., Deveau, A., Barret, M., Tarkka, M. ve Sarniguet, A. (2011) Bacterial-Fungal Interactions: Hyphens between Agricultural, Clinical, Environmental, and Food Microbiologists, *MMBR*, 75 (4): 583–609.
- Friedman, M. (1996) Nutritional Value of Proteins from Different Food Sources. A Review, *J Agric Food Chem*, 44 (1), 6–29.
- Froufe, H.J., Abreu, R.M. ve Ferreira, I.C. (2013) Virtual screening of low molecular weight mushrooms compounds as potential Mdm2 inhibitors, *J Enzyme Inhib Med Chem*, 28 (3): 569-575.
- Fukai, M, Tsukada, M, Miki, K, Suzuki, T, Sugita, T, Kinoshita, K, Takahashi, K, Shiro, M. ve Koyama, K (2012) Hyzpoxylonols C-F benzo [j] fluoranthenes from *Hypoxylon truncatum*, *J Nat Prod*, 75:22–25.

Fungorum-Search Page, Retrieved January 5, 2020, from <http://www.speciesfungorum.org/Names/Names.asp>



- Gao, J. M., Wang, C. Y., Zhang, A. L. ve Liu, J. K. (2001) A new trihydroxy fatty acid from the ascomycete, Chinese truffle *Tuber indicum*, *Lipids*, 36: 1365–1370.
- Gao, Y., Zhou, S.H., Chen, G., Dai, X. ve Ye, J. (2003) A phase I/II study of a *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. extract (ganopoly) in patients with advanced cancer, *Int J Med Mushroom*, 4: 207–214.
- Gioacchini, A.M., Menotta, M., Bertini, L., Rossi, I., Zeppa, S., Zambonelli, A., Piccoli, G. ve Stocchi, V. (2005) Solid-phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry: A new method for species identification of truffles, *Rapid Commun Mass Spectrom*, 19: 2365–2370.
- Gosselin, G., Bergogne, M. C., ve Imbach, J. L. (1993). Synthesis and antiviral evaluation of  $\beta$ -L-Xylo-fuanosyl nucleosides of the five naturally occurring nucleic acid bases. *J heterocycl chem*, 30 (5): 1229-1233.
- Grossberg, G.T. (2003) Cholinesterase Inhibitors for the Treatment of Alzheimer's Disease: Getting on and Staying on, *Curr Ther Res Clin Exp*, 64 (4): 216–235.
- Gouzi, H., Belyagoubi, L., Abdelali, K.N. ve Khelifi, A. (2011) In vitro antibacterial activities of aqueous extracts from Algerian desert truffles (*Terfezia* and *Tirmania*, Ascomycetes) against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*, *Int J Med Mushrooms*, 13 (6): 553-558.
- Gouzi, H., Leboukh, M. ve Bouchouka, E. (2013) Antioxidant and antiradical properties of methanolic extracts from algerian wild edible desert truffles (*Terfezia* and *Tirmania*, ascomycetes), *Int J Med Mushrooms*, 15 (5): 471-486.
- Gutiérrez, A., Morte, A. ve Honrubia, M. (2003) Morphological characterization of the mycorrhiza formed by *Helianthemum almeriense* Pau with *Terfezia clavaryi* Chatin and *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire, *Mycorrhiza*, 13 (6): 299–307.
- Gücin, F., Kaya, A., Soylu, M.K. ve Uzun, Y. (2010) *Picoa* Vittad., a new truffle genus record for Turkey, *Biodivers Conserv*, 3 (3), 23-25.
- Hamza, A., Jdir, H. ve Zouari, N. (2016a) Nutritional, antioxidant and antibacterial properties of *Tirmania nivea*, a wild edible desert truffle from Tunisia arid zone, *Med Aromat Plants*, 5 (4): 258.

- Hamza, A., Zouari, N., Zouari, S., Jdir, H., Zaidi, S., Gtari, M. ve Neffati, M. (2016b) Nutraceutical potential, antioxidant and antibacterial activities of *Terfezia boudieri* Chatin, a wild edible desert truffle from Tunisia arid zone, *Arab J Chem*, 9 (3): 383–389.
- Hannan, M.A., Al-Dakan, A.A., Aboul-Enein, H.Y. ve Al-Othaimen, A.A. (1989) Mutagenic and antimutagenic factor(s) extracted from a desert mushroom using different solvents, *Mutagenesis*, 4: 111–114.
- Hanson, J.R. (1972) In: Chemistry of Terpenes and Terpenoids, Ed. Newmann, A.A. Academic Press, London, 155.
- Haraguchi, A., Kinoshita, K., Fukai, M. ve Koyama, K. (2015) A novel nucleoside from the edible mushroom, *Tricholoma japonicum*, *J Nat Med*, 69 (4): 584–588.
- Harborne, J.B. (1984) Phytochemical methods, USA, Chapman and Hall, Newyork.
- Harir, M., Bendif, H., Yahiaoui, M., Bellahcene, M., Zohra, F. ve Rodríguez-Couto, S. (2019) Evaluation of antimicrobial activity of *Terfezia arenaria* extracts collected from Saharan desert against bacteria and filamentous fungi, *3 Biotech*, 9 (7): 281.
- Harki, E., Klaebe, A., Talou, T. ve Dargent, R. (1996) Identification and quantification of *Tuber melanosporum* Vitt, sterols, *Steroids*, 61 (10): 609–612.
- Harki, E., Bouya, D. ve Dargent, R. (2006) Maturation-associated alterations of the biochemical characteristics of the black truffle *Tuber melanosporum* Vitt, *Food Chem*, 99 (2): 394–400.
- Hatano, T., Edamatsu, R., Mori, A., Fujita, Y. ve Yasuhara, E. (1989) *Chem Pharm Bull*, 37:2016–2021.
- Hess, D. (1975) Terpenoids, In *Plant Physiology* (99-116), Springer, Berlin, Heidelberg.
- Hirata, Y., Igarashi, K., Ezaki, S., Atomi, H. ve Imanaka, T. (1999) High-level production of erythritol by strain 618A-01 isolated from pollen, *J Biosci Bioeng*, 87 (5): 630–635.

- Hobbs, C. (2000) Medicinal values of *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (*Agaricomycetidae*), A literature review, *Int J Med Mushrooms*, 2: 287-297.
- Hogg, J.A. (1992) Steroids, the steroid community, and Upjohn in perspective: a profile of innovation, *Steroids*, 57 (12): 593-616.
- Honrubia, M., Cano, A. ve Molina-Ninriola, C., (1992) Hypogeous fungi from Southern Spanish semiarid lands, *Persoonia*, 14 (4): 647-653.
- Hu, H.J., Li, P.Z., Tao, L., Huang, B.Q. ve Guo, Y.W. (1994) Effects of polysaccharide of *Tuber sinica* on tumor and immune system of mice, *J China Pharm Univ*, 25 (5): 289–292.
- Huang, Q.L., Jin, Y., Zhang, L.N., Cheung, C.K. ve Kennedy, J.F. (2007) Structure, molecular size and antitumor activities of polysaccharides from *Poria cocos* mycelia produced in fermenter, *Carbohydr Polym*, 70:324-333.
- Husain, N. ve Kumar (2012) Reactive oxygen species and natural antioxidants: a review, *Adv Bio Res*, 3:164-175.
- Hussan, G. ve Al-Ruqaie, I.M. (1999) Occurrence, chemical composition, and nutritional value of truffle: an overview, *Pakistan J Biol Sci*, 2, 510–514.
- Hussein, M.A. ve Eid, N.M. (1980) Nutrients components of truffles, *Nahrung*, 24: (8), 811–812.
- Islam, M. A., Amin, M.N., Siddiqui, S.A., Hossain, M.P., Sultana, F. ve Kabir, M.R. (2019) Trans fatty acids and lipid profile: A serious risk factor to cardiovascular disease, cancer and diabetes, *Diabetes Metab Syndr*, 13 (2): 1643–1647.
- Iteku, B.J. (2013) Purification, structural elucidation and antitumor activity of a novel mannogalactoglucan from the fruiting bodies of *Lentinus edodes*, *Fitoterapia*, 84: 338–346.
- Ivanova, V., Kolarova, M., Aleksieva, K., Schlegel, R., Schumann, P. ve Graefe, U. (2013) Octadeca-8,11-dienoic acid methylester, a new fatty acid metabolite from *Fistulina hepatica*, *J Mod Med Chem*, 1: 43–48.

- Jamali, S. ve Banihashemi, Z. (2012) Hosts and distribution of desert truffles in Iran, based on morphological and molecular criteria, *J Agric Sci Technol*, 14 (6): 1379–1393.
- Jamali, S. ve Banihashemi, Z. (2013) Species-specific ITS primers for the identification of *Picoa juniperi* and *Picoa lefebvrei* and using nested-PCR for detection of *P. juniperi* in planta, *Molecular Biology Reports*, 40 (10): 5701–5712.
- Janakat, S., Al-Fakhiri, S. ve Sallal, A.K. (2004) A promising peptide antibiotic from *Terfezia claveryi* aqueous extract against *Staphylococcus aureus* in vitro, *Phytother Res*, 18 (10): 810–813.
- Janakat, S.M., Al-Fakhiri, S.M. ve Sallal, A.K.J. (2005) Evaluation of antibacterial activity of aqueous and methanolic extracts of the truffle *Terfezia claveryi* against *Pseudomonas aeruginosa*, *Saudi Med J*, 26 (6): 952–955.
- Janakat, S. ve Nassar, M. (2010) Hepatoprotective activity of desert truffle (*Terfezia claveryi*) in comparison with the effect of *Nigella sativa* in the rat, *Pak J Nutr*, 9: 52–56.
- Jeong, Y. U. ve Park, Y. J. (2020) Ergosterol Peroxide from the Medicinal Mushroom *Ganoderma lucidum* Inhibits Differentiation and Lipid Accumulation of 3T3-L1 Adipocytes. *Int J Mol Sci*, 21:2 460
- Jinming, G.L.H. ve Jikai, L., (2001) A novel sterol from Chinese truffles *Tuber indicum*, *Steroids*, 66: 771–775.
- Kagan-Zur, V., Raveh, E., Lischinsky, S. ve Roth-Bejerano, N. (1994) Initial association between *Helianthemum* and *Terfezia* is enhanced by low iron in growth medium, *New Phytol*, 127: 567-570.
- Kagan-Zur, V., Kuang, J., Tabak, S., Taylor, F.W. ve Roth-Bejerano, N. (1999) Potential verification of a host plant for the desert truffle *Terfezia pfeilii* by molecular methods, *Mycol Res*, 103: 1270-1274.
- Kagan-Zur, V., Zaretsky, M., Sitrit, Y. ve Roth-Bejerano, N. (2008) Hypogeous Pezizaceae: physiology and molecular genetics, 161-183, Varma A (editör), *Mycorrhiza*, Springer Berlin Heidelberg, 803.

- Kagan-Zur, V. ve Roth-Bejerano, N. (2008) Desert Truffles, *Fungi*, 1 (3): 32-37.
- Kagan-Zur, V., Roth, Bejerano, N., Sitrit Y. ve Morte, A. (2014) *Desert Truffle: Phylogeny, Physiology, Distribution and Domesticatio, Soil Biology*, 38, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 391.
- Kahlos, K., Kangas, L. ve Hiltunen, R. (1989) Ergosterol peroxide, an active compound from *Inonotus radiatus*, *Planta medica*, 55 (04): 389-390.
- Khalifa, S.A., Farag, M.A., Yosri, N., Sabir, J.S., Saeed, A., Al-Mousawi, S.M., Taha W., Musharraf S.G., Patel, S. ve El-Seedi, H.R. (2019) Islamic culture to chemistry, pharmacology, and food trends in recent times, *Trends Food Sci Technol*, 91:193–218.
- Khan, M.A., Sarwar, M. ve Sajjad Khan, M.M. (2004) Feeding value of urea treated corncobs ensiled with or without enzose (corn dextrose) for lactating crossbred cows, *Asian-Australas J Anim Sci*, 17 (8): 1093-1097.
- Kamle, M., Bar, E., Lewinsohn, D., Shavit, E., Roth-Bejerano, N., Kagan-Zur, V., Barak. Z., Guy, O., Zaady, E., Lewinsohn, E. ve Sitrit, Y. (2017) Characterization of Morphology, Volatile Profiles, and Molecular Markers in Edible Desert Truffles from the Negev Desert, *J Agric Food Chem*, 65 (14): 2977–2983.
- Kanagasabapathy, G., Malek, S.N.A., Kuppusamy, U.R. ve Vikineswary, S. (2011) Chemical composition and antioxidant properties of extracts of fresh fruiting bodies of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer, *J Agr Food Chem*, 59: 2618–2626.
- Kanchiswamy, C.N., Malnoy, M. ve Maffei, M.E. (2015), Chemical diversity of microbial volatiles and their potential for plant growth and productivity, *Front Plant Sci*, 6:151
- Kaneko, A., Tsukada, M., Fukai, M., Suzuki, T., Nishio, K., Miki, K., Kinoshita, K., Takahashi, K. ve Koyama, K. (2010) KDR kinase inhibitor isolated from the mushroom *Boletopsis leucomelas*, *J Nat Prod*, 73: 1002–1004.
- Kaplaner E., (2017), *Tricholoma imbricatum* (Fr.) p.kumm. ve *tricholoma anatolicum* H.H. Doğan & initi türlerinin antioksidan ve sitotoksik aktivite gösteren bileşiklerinin HPLC ile izolasyonu ve yapılarının aydınlatılması, Doktora tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, 251.

- Kaur, R., Singh, J., Singh, G. ve Kaur, H. (2011) Anticancer plants: A review, *J Nat Prod Plant Res*, 1:131–136.
- Kovács, B., Béni, Z., Dékány, M., Orbán-Gyapai, O., Sinka, I., Zupkó, I., Hohmann, J. ve Ványolós, A. (2017) Chemical analysis of the edible mushroom *Tricholoma populinum*: steroids and sulfinyladenosine compounds, *Nat Prod Commun*, 12: 10 1583-1584.
- Kawagishi, H., Ando, M. ve Mizuno, T. (1990) Hericenone A and B as cytotoxic principles from the mushroom *Heridium erinaceus*, *Tetrahedron lett*, 31: 373-386.
- Kırbağ, S., Bircan, B. ve Akyüz, M. (2015) Medical Characteristics of Arid-Semi Arid Truffle (*Terfezia* and *Picoa*) in the Elazığ-Malatya region of Turkey, *Hacettepe J Bio Chem*, 4 (43): 301–301.
- Kıvrak, İ. (2015) Analytical methods applied to assess chemical composition, nutritional value and in vitro bioactivities of *Terfezia olbiensis* and *Terfezia clavaryi* from Turkey, *Food Anal Methods*, 8 (5): 1279-1293.
- Kim, G., Choi, G., Lee, S. ve Park, Y. (2004) Acidic polysaccharide isolated from *Phellinus linteus* enhances through the up-regulation of nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha from peritoneal macrophages, *J Ethnopharmacol*, 95: 69-76.
- Kim, G.H., Kim, J.H., Rhie, S.J. ve Yoon, S. (2015) The role of oxidative stress in neurodegenerative diseases, *Exp. Neurobiol*, 24 (4): 325-340.
- Kokko, J.P., Mandell, L. ve Goldstein, J.H. (1962) An NMR Investigation of Proton Mobility in Substituted Uracils, *J Am Chem Soc*, 84 (6): 1042–1047.
- Kouni, M. H., Naguib, F. N., Panzica, R. P., Otter, B. A., Chu, S. H., Gosselin, G., Chung K. C., Raymond F.S., Goudgaon, N., Ozerow, A.A., Ueda, T. ve Iltzsch, M.H. (1996). Effects of modifications in the pentose moiety and conformational changes on the binding of nucleoside ligands to uridine phosphorylase from *Toxoplasma gondii*. *Biochem pharm*, 51:12 1687-1700.
- Kozarski, M., Klaus, A., Nikšić, M., Vrvic, M.M., Todorović, N., Jakovljević, D. ve Griensven, L.J.L.D.V. (2012) Antioxidative activities and chemical characterization of polysaccharide extracts from the widely used mushrooms

*Ganoderma applanatum*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes* and *Trametes versicolor*, *J Food Compost Anal*, 26: 144-153.

Kumar, S. (2014) The importance of antioxidant and their role in pharmaceutical science e a review, *Asian J Med Chem Pharm Sci*, 1:27-44.

Kuo, Y.H., Chang, C.I., Li, S.Y., Chou, C.J, Chen, C.F., Kuo, Y.H. ve Lee, K.H. (1997) Cytotoxic constituents from the stems of *Diospyros maritime*, *Planta Med*, 63:363–365.

Küçükaydın S. (2017) *Inonotus dryadeus* ve *Bjerkandera adusta*'nın antioksidan ve antikanser aktivite gösteren bileşiklerin izolasyonu ve yapılarının aydınlatılması, Doktora Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, 306.

Lanzotti, V. ve Iorizzi, M. (2000) Chemical Constituents of Tubers The Case of *Tuber borchii* Vitt. (37-44) Lanzotti, Tagliabate Scafati, O. (Editörler) Flavour ad Fragrance Chemistry, Kluwe academic, Dordrecht, Boston, London, England, 256.

Le Roux, C., Tournier, E., Lies, A., Sanguin, H., Chevalier, G., Duponnois, R., Mousain, D. ve Prin, Y. (2016) Bacteria of the genus *Rhodopseudomonas* (Bradyrhizobiaceae): obligate symbionts in mycelial cultures of the black truffles *Tuber melanosporum* and *Tuber brumale*, *Springerplus*, 5:(1), 1085.

Lee, M.K., Hung, T.M., Cuong, T.D., Na, M.K., Kim, J.C., Kim, E.J., Park, H.S., Choi, J.S., Lee, I.S., Bae, K.H., (2011.) Ergosta-7,22-diene-2b,3a,9a-triol from the fruit bodies of *Ganoderma lucidum* induces apoptosis in human myelocytic HL-60 cells. *Phytother Res*. 25(11):1579–1585.

Lee, S. R., Lee, D., Lee, H. J., Noh, H. J., Jung, K., Kang, K. S., ve Kim, K. H. (2017) Renoprotective chemical constituents from an edible mushroom, *Pleurotus cornucopiae* in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Bioorg Chem*, 71: 67-73.

Levi, S., Haddad, G., Ghosh, P., Beardshall, K., Playford, R., ve Calam, J.. (1989) *Campylobacter pylori* and duodenal ulcers: The Gastin link, *The Lancet*, 1:1167-1168.

Li, X.D., Miao, F.P. ve Ji, N.Y. (2015a) Two new epoxysteroids from *Helianthus tuberosus*, *Molecules*, 16, 8646–8653.

- Li, X., Wu, Q., Xie, Y., Ding, Y., Du, W.W., Sdiri, M. ve Yang B.B. (2015b) Ergosterol purified from medicinal mushroom *Amauroderma rude* inhibits cancer growth in vitro and in vivo by up-regulating multiple tumor suppressors, *Oncotarget*, 6 (19): 17832–17846.
- Li, X., Zhang, B., Li, J., Zhou, J., He, X., Ye, L., Zou, Jie, Wu, C., Zhang, X. ve Peng, W. (2017) Purification, characterization, and complement fixation activity of acidic polysaccharides from *Tuber sinoaestivum*, *LWT-Food Sci Technol*, 85, 82-88.
- Li, J.M., Liang, H.Q., Qiao, P., Su, K.M., Liu, P.G., Guo, S.X. ve Chen, J. (2019) Antioxidant, anticancer Activity of *Tuber indicum* from Different Geographical Regions of China, *Chem Biodivers*, 16 (3): 1–12.
- Lindequist, U., Niedermeyer, T.H. ve Jülich, W.D. (2005) The pharmacological potential of mushrooms, *Evid Based Complement Alternat Med*, 2 (3): 285-299.
- Liu, C., Xie, H., Su, B., Han, J. ve Liu, Y. (2003) Anti-thrombus effect on the fermented products of mycelium from *Tremella aurantialba*, *Nat Prod Res Dev*, 3: 35-37.
- Liu, P., Li, Y. Y., Li, H. M., Wan, D. J. ve Tang, Y. J. (2011) Determination of the nucleosides and nucleobases in Tuber samples by dispersive solid-phase extraction combined with liquid chromatography–mass spectrometry, *Anal Chim Acta*, 687: (2) 159-167.
- Liu, R.S., Jin, G.H., Xiao, D.R., Li, H.M., Bai, F.W. ve Tang, Y.J. (2015) Screening of the key volatile organic compounds of Tuber melanosporum fermentation by aroma sensory evaluation combination with principle component analysis, *Sci Rep*, 5 (1): 1-11.
- Liu, T., Feng, T. ve Chen, W. (2017) Identification of volatile flavour components of tuber melanosporum using simultaneous distillation-extraction, *Czech J Food*, 35 (6), 483–487.
- Luo, Q., Yan, L., Wu, L., Zhang, J., Yang, Z. ve Sun, Q. (2010) Monosaccharide compositions and antioxidant activity of water-soluble polysaccharide isolated from *Tuber indicum* (in Chinese), *Food Sci*, 31: 52-56.



- Luo, Q., Zhang, J., Yan, L., Tang, Y., Ding, X., Yang, Z. ve Sun, Q. (2011) Composition and antioxidant activity of water-soluble polysaccharides from *Tuber indicum*, *J Med Food*, 14 (12): 1609-1616.
- Ma, Q.Y., Luo, Y., Huang, S.Z., Guo, Z.K., Dai, H.F. ve Zhao, Y.X. (2013) Lanostane triterpenoids with cytotoxic activities from the fruiting bodies of *Ganoderma hainanense*, *J Asian Nat Prod Res*, 15: 1214–1219.
- Maire, R. (1906) Notes mycologiques, *Ann Mycol* 4:329–399. <http://www.speciesfungorum.org/Names/SynSpecies.asp?RecordID=456009> 24.08.2019.
- Mandeel, Q.A. ve Al-Laith, A.A.A. (2007) Ethnomycological aspects of the desert truffle among native Bahraini and non-Bahraini peoples of the Kingdom of Bahrain, *J Ethnopharmacol*, 110: 118–129.
- Mauriello, G., Marino, R., D’Auria, M., Cerone, G. ve Rana, G.L. (2004) Determination of Volatile Organic Compounds from Truffles via SPME-GC-MS, *J Chromatogr Sci*, 42 (6): 299–305.
- Miller, H.M. (1971) A simplified method for the evaluation of antioxidants, *J Am Oil Chem Soc*, 48: 91–105.
- Miniati, E. (2007) Assessment of phenolic compounds in biological samples, *Ann Ist Super, Sanità*, 43: 362–368.
- Mizuno, T. (1999) The extraction and development of antitumor-active polysaccharides from medicinal mushrooms in Japan, *Int J Med Mushroom* 1, 9–30.
- Moghtader, F., Salouti, M., Türk, M. ve Pişkin, E. (2014) Nanoemulsions and nonwoven fabrics carrying AgNPs: Antibacterial but may be cytotoxic, *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 42 (6): 392-399.
- Moradali, M.F., Mostafavi, H., Ghods, S. ve Hedjaroude, G.A. (2007) Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi), *Int Immunopharmacol*, 7:701–724.
- Moreno, G., Diez, J. ve Manjon, J.L., (2000) *Picoa lefebvrei* and *Tirmania nivea*, two rare hypogeous fungi from Spain, *Mycol Res*, 104 (3): 378–381.

- Morte, A., Honrubia, M. ve Gutiérrez, A. (2008) Biotechnology and cultivation of desert truffles, In: *Mycorrhiza* (Springer Berlin Heidelberg) 467-483.
- Morte, A., Zamora, M., Gutiérrez, A. ve Honrubia, M. (2009) Desert truffle cultivation in semiarid mediterranean areas, 221–233, Azcon-Aguilar C., Barea J., Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V. (Editörler) *Mycorrhizas- Functional Processes and Ecological Impact*, Springer, Berlin Heidelberg.
- Motta, A., Romano, I. ve Gambacorta, A. (2004) Rapid and sensitive NMR method for osmolyte determination, *J Microbiol Methods*, 58 (2):289–294.
- Murcia, M.A., Martínez-Tomé, M., Jiménez, A.M., Vera, A.M., Honrubia, M. ve Parras, P. (2002) Antioxidant activity of edible fungi (truffles and mushrooms): Losses during industrial processing, *J Food Prot*, 65 (10): 1614–1622.
- Murcia, M.A., Martínez-Tomé, M., Vera, A., Morte, A., Gutierrez, A., Honrubia, M. ve Jiménez, A.M. (2003) Effect of industrial processing on desert truffles *Terfezia clavaryi* Chatin and *Picoa juniperi* Vittadini: Proximate composition and fatty acids, *J Sci Food Agric*, 83 (6): 535–54.
- Nadim, M., Deshaware, S., Saidi, N., Abd-Elhakeem, M.A., Ojamo, H. ve Shamekh, S. (2015) Extracellular Enzymatic Activity of *Tuber maculatum* and *Tuber aestivum* Mycelia, *Adv Microbiol*, 5 (07):523–530.
- Neha, K., Haider, M.D.R, Pathak A. ve Yar, M.S. (2019) Medicinal prospects of antioxidants: A review, *Eur J Med Chem*, 178: 687-704.
- Nelson, R., Sawaya, M.R., Balbirnie, M., Madsen, A.Ø., Rieke, I. C., Grothe, R. ve Eisenberg, D. (2005) Structure of the cross- $\beta$  spine of amyloid-like fibrils, nature international journal of science, *Nature*, 435:773–778.
- Neubauer, A, Thiede, C. ve Morgner, A. (1997) Cure of Helicobacter pylori infection and duration of remission of low grade gastric mucosa associated lymphoid tissue lymphoma, *J Nat Cancer Inst*, 89:1350-1355.
- Noh, H.J., Yang, H.H., Kim, G.S., Lee, S.E., Lee, D.Y., Choi, J.H., Kim, S.Y., Lee, E.S., Ji, S.H., Kang, K.S. ve Park, H.J. (2015) Chemical Constituents of *Herichium Erinaceum* Associated with the Inhibitory Activity against Cellular Senescence in Human Umbilical Vascular Endothelial Cells, *J Enzyme Inhib Med Chem*, 30 (6): 934-940.

- Nordberg, A. ve Svensson, A.L. (1998) Cholinesterase inhibitors in the treatment of Alzheimer's disease, *Drug Saf*, 19 (6):465-80.
- Ohkawa, Y, Miki, K, Suzuki, T, Nishio, K, Sugita, T, Kinoshita, K, Takahashi, K. ve Koyama, K. (2010) Antiangiogenic metabolites from a marine-derived fungus, *Hypocrea vinosa*, *J Nat Prod*, 73:579–582.
- Orhan, I., Kartal, M., Naz, Q., Ejaz, A., Yilmaz, G., Kan, Y., Konuklugil B., Şener, B. ve Choudhary, M.I. (2007) Antioxidant and anticholinesterase evaluation of selected Turkish *Salvia* species, *Food Chem*, 103 (4): 1247-1254.
- Ömer, E.A., Smith, D.L., Wood, K.V. ve El-Menshawi, B.S. (1994) The volatiles of desert truffle: *Tirmania Nivea*, *Plant Foods Hum Nutr*, 45 (3): 247–249.
- Özer, B., Serin, E., Coşar, A., Kayaselçuk, F., Gür, G., Yılmaz, U. ve Boyacıoğlu, S. (2004) *Helicobacter pylori* eradikasyon tedavisinde lansoprazol, klaritromisin ve amoksilin ile ranitidin bizmut sitrat, lansoprazol, klaritromisin ve amoksilin rejimlerinin etkinliğinin karşılaştırılması, *Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, 3: 125-128.
- Öztürk, M., Tel-Cayan, G., Muhammad, A., Terzioglu, P. ve Duru, M.E. (2015) Mushrooms: a source of exciting bioactive compounds, 363–456, F.R.S. Attaur-Rahman (editör) In *Studies in Natural Product Chemistry*, 45, Elsevier, Amsterdam.
- Pacioni, G., Cerretani, L., Procida, G. ve Cichelli, A. (2014) Composition of commercial truffle flavored oils with GC-MS analysis and discrimination with an electronic nose, *Food Chem*, 146: 30-35.
- Patel, P.R., Raval, B.P., Karanth, H.A. ve Patel, V.R. (2010) Potent antitumor activity of *Rubia cordifolia*, *Phytomedicine*, 2: 44-46.
- Patel, S. ve Goyal, A. (2012) Recent developments in mushrooms as anti-cancer therapeutics: a review, *3 Biotech*, 2 (1): 1-15.
- Patel, S., Rauf, A., Khan, H., Khalid, S. ve Mubarak, M.S. (2017) Potential health benefits of natural products derived from truffles: A review, *Trends Food Sci Technol*, 70, 1–8.

- Pattanayak, M., Samanta, S., Maity, P., Manna, D.K., Sen, I.K. ve Nandi, A.K. (2017) Polysaccharide of an edible truffle *Tuber rufum*: Structural studies and effects on human lymphocytes, *Int J Biol Macromol*, 95: 103-1048.
- Pelusio, F., Nilsson, T., Montanarella, L., Tilio, R., Larsen, B., Facchetti, S. ve Madsen, J. (1995) Headspace solid-phase microextraction analysis of volatile organic sulfur compounds in black and white truffle aroma, *J Agric Food Chem*, 43 (8): 2138–2143.
- Plat J. ve Mensink R.P. (2005) Plant stanol and sterol esters in the control of blood cholesterol levels: mechanism and safety aspects, *Am J Cardiol*, 96:15–22.
- Ponti, A., Anttila, A., Ronco, G., Senore, C., Basu, P., Segnan, N., Tomatis, M., Zakelj M.P., Dillner, J., Fernan, M., Elfström, K.M., Lönnberg, S., Soerjomataram, I., Sankaranaryanan, R. ve Vale, D. (2017) *Against Cancer: Cancer Screening in the European Union*, IARC [https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/major\\_chronic\\_diseases/docs/2017\\_cancerscreening\\_2ndreportimplementation\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/major_chronic_diseases/docs/2017_cancerscreening_2ndreportimplementation_en.pdf) (5 Ocak 2020)
- Quang, D.N. ve Bach, D.D. (2008) Ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one from Vietnamese *Xylaria* sp. possessing inhibitory activity of nitric oxide production, *Nat Prod Res*, 22: 901–906
- Rana, V., Kumar, V. ve Sonu, P.L. (2009) Structure of the oligosaccharides isolated from *Dalbergia sissoo* Roxb. leaf polysaccharide, *Carbohydr Polym*, 78:520-525.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Bio Med*, 26: 1231–1237.
- Regina, M.M.G., Elisabeth, W., Jamile, R.R., Jorge, L.N. ve Sandra, A.F. (2008) Alternative medium for production of *P. ostreatus* biomass and potential antitumor polysaccharides, *Bioresour Technol*, 99, 76-82.
- Rivera, A., Benavides, O.L. ve Rios-Motta, J. (2009) (22E)-Ergosta-6,22-diene-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -triol: a new polyhydroxysterol isolated from *Lentinus edodes* (Shiitake), *Nat Prod Res*, 23:293–300.
- Roberts, J.S. (1972) *Chemistry of Terpenes and Terpenoids*, Newmann A.A. (Editör) Academic Press, London, 450.

- Rout, inhibition properties of a polysaccharide fraction isolated from the rind from *Punica granatum*, *Bioresour Technol*, 98, 3159-3163.S. ve Banerjee, R. (2007) Free radical scavenging, antiglycation and tyrosinase.
- Ruiz, B., Correa, P., Foniham, E.T. ve Ramaknshnan, T. (1996) Antral atrophy, Helicobacter Pylon, colonization and gastric pH, *Am J Clin Pathol*, 105 (1): 96-101.
- Saddiq, A.A., Yousef, J.M. ve Mohamed, A.M. (2016) The Potential Antibacterial Role of *Terfezia Claveryi* Extract Against Immune-Inflammatory Disorder and Oxidative Damage Induced by Pseudomonas Aeruginosa in Rat Corneas, *Rom Biotechnol Lett*, 21 (4): 11781.
- Saltarelli, R., Ceccaroli, P., Cesari, P., Barbieri, E. ve Stocchi, V. (2008) Effect of storage on biochemical and microbiological parameters of edible truffle species, *Food Chem*, 109: 8–16.
- Sangsopha, W., Kanokmedhakul, K., Lekphrom, R. ve Kanokmedhakul, S. (2018) Chemical constituents and biological activities from branches of *Colubrina asiatica*, *Nat Prod Res*, 32 (10): 1176-1179.
- Sarıca, F.B., (2019) *Liquidambar orientalis* Mill. Reçinesinin Sekonder Metabolitlerinin İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Enzim İnhibisyon Aktivitelerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi,86.
- Savini, S., Loizzo, M.N., Scampicchio, Tundis, R., Mozzn, M., Foligni, R., Longo, E., Morozova, K., Scampicchio, M., Martin-Vertedor, D., Boselli, E., (2017) Fresh refrigerated *Tuber melanosporum* truffle: effect of the storage conditions on the antioxidant profile, antioxidant activity and volatile profile, *Eur Food Res Technol*, 243: 2255-2263.
- Sawaya, W.N., Al-Shalhat, A., Al-Sogair, A. ve Mohammad, M. (1985) Chemical composition and nutritive value of truffles of Saudi Arabia, *J Food Sci*, 50: 450–453.
- Sbissi, I., Neffati, M., Boudabous, A., Murat, C. ve Gtari, M. (2010) Phylogenetic affiliation of the desert truffles *Picoa juniperi* and *Picoa lefebvrei*, *Antonie van Leeuwenhoek*, 98: 429-436.

- Schaefer, J. ve Stejskal, E.O. (1974) Carbon<sup>13</sup> nuclear magnetic resonance measurement of oil composition in single viable soybeans, *J Am Oil Chem Soc*, 51 (5): 210-213.
- Schillaci, D., Cusimano, M.G., Cascioferro, S.M., Di Stefano, V., Arizza, V., Chiaramonte, M. ve Venturella, G. (2017) Antibacterial activity of desert truffles from Saudi Arabia against staphylococcus aureus and pseudomonas aeruginosa, *Int J Med Mushrooms*, 19 (2): 121–125.
- Scholz, B., Menzel, N., Lander, V. ve Engel, K.H. (2016) Heating two types of enriched margarine: complementary analysis of phytosteryl/phytostanyl fatty acid esters and phytosterol/phytostanol oxidation products, *J Agric Food Chem*, 64 (13):2699-2708.
- Seo, H.W., Hung, T.M., Na, M., Jung, H.J., Kim, J.C., Choi, J.S., Kim, J.H., Lee, H.K., Lee, I., Bae, K., Hattori, M. ve Min, B.S. (2009) Steroids and triterpenes from the fruit bodies of *Ganoderma lucidum* and their anti-complement activity, *Arch Pharm Res*, 32: 1573–1579.
- Sethi, A., Prakash, R., Srivastava, S., Amandeep, Bishnoi, A. ve Singh, R.P. (2014) Isolation of brassicasterol, its synthetic prodrug-crystal structure, stereochemistry and theoretical studies, *J Mol Struct*, 1070, 28–37.
- Shaker, E.S. (2005) Biological studies and antioxidative activity for white truffle fungus (*Tuber borchii*), *Spec, Publ- R Soc Chem*, 300, 312–322.
- Shavit, E. Truffles roasting in the evening fires, *Fungi Mag*, (2008), 1, 18–23.
- Shavit, E. ve Shavit, E. (2014) Truffles Roasting in the Evening Fires The medicinal value of desert truffles, (323-340) Kagan-Zur, V., Roth-Bejerano, N., Sitrit, Y., Morte, A. (Editörler), *Desert truffles*, Springer, Berlin, Heidelberg.
- Shavit, E. (2014) The history of desert truffle use, (217–241), *Desert truffles*, Springer, Berlin Heidelberg.
- Shiozaki, T., Fukai, M., Hermawati, E., Juliawaty, L.D., Syah, Y.M., Hakim, E.H., Puthongking, P., Suzuki, T., Kinoshita, K., Takahashi, K. ve Koyama, K. (2013) Anti-angiogenic effect of a-mangostin, *J Nat Med*, 67:202–206.

- Siegel, R.L., Miller, K.D. ve Jemal, A. (2019) Cancer statistics, *CA Cancer J Clin*, 69 (1), 7–34.
- Sies, H. ve Stahl, W. (1995) Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants, *Am J Clin Nutr*, 62:1315-1321.
- Singer, R. (1961) *Mushrooms and truffles*, Aberdeen, London: Leonard Hill Ltd.
- Sinha, M., Gautam, L., Shukla, P.K., Kaur, P., Sharma, S. ve Singh, T.P. (2013) Current perspectives in NSAID-induced gastropathy, *Mediat Inflamm*, 258-209.
- Slama, A., Neffati, M. ve Boudabous, A. (2010) Biochemical composition of desert truffle *Terfezia boudieri* chatin, *Acta Hortic*, 853: 285–290.
- Small, D.H. ve Cappai, R. (2006) Alois Alzheimer and Alzheimer's disease: a centennial perspective, *J Neurochem*, 99 (3): 708–710.
- Smalley, W.E., Ray, W.A., Daugherty J.R. ve Griffin, M.R. (1995) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the incidence of hospitalizations for peptic ulcer disease in elderly persons, *Am J Epidemiol*, 141 (6): 539–545.
- Smith, S.E. ve Read, D.J. (2008) *Mycorrhizal Symbiosis*, Academic: London, UK.
- Splivallo, R., Bossi, S., Maffei, M. ve Bonfante, P. (2007) Discrimination of truffle-fruited body versus mycelial aromas by stir bar sorptive extraction, *Phytochemistry*, 68: 2584–2598.
- Splivallo, R., Ottonello, S., Mello, A. ve Karlovsky, P. (2011) Truffle volatiles: From chemical ecology to aroma biosynthesis, *New Phytol*, 189 (3): 688–699.
- Splivallo, R., Deveau, A., Valdez, N., Kirchhoff, N., Frey-Klett, P. ve Karlovsky, P. (2015) Bacteria associated with truffle-fruited bodies contribute to truffle aroma Environmental, *Microbiology*, 17 (8): 2647–2660.
- Stanikunaite, R., Khan, S.I., Trappe, J.M. ve Ross, S.A. (2009) Cyclooxygenase-2 inhibitory and antioxidant compounds from the truffle *Elaphomyces granulatus*, *Phytother Res*, 23 (4): 575-578.

- Stojković, D., Reis, F.S., Ferreira, I.C.F.R., Barros, L., Glamočlija, J., Ćirić, A., Nolic, M., Stavic T., Giveli, A. ve Soković, M. (2013) *Tirmania pinoyi*: Chemical composition, in vitro antioxidant and antibacterial activities and in situ control of *Staphylococcus aureus* in chicken soup, *Food Res Int*, 53 (1): 56–62.
- Şahin, A. (2012) Konya yöresinde yetişen *Terfezia* türleri ve etnomikolojik özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Konya.
- Taiz, L. ve Zeiger, E. (2005) *Bitki fizyolojisi ve gelişimi*, Sinauer Associates; (Aug 30 2002).
- Takashima, M., Horie, M., Shichiri, M., Hagihara, Y., Yoshida, Y. ve Niki, E. (2012) Assessment of antioxidant capacity for scavenging free radicals in vitro: a rational basis and practical applicatio, *Free Radic Biol Med*, 52: 1242-1252.
- Tanaka, R., Toyoshima, M. ve Yamada, T. (2011) New lanostane-type triterpenoids, inonotsutriols D and E, from *Inonotus obliquus*, *Phytochem Lett*, 4: 328-332.
- Tang, Y., Li, Y.Y., Li, H.M., Wan, D.J. ve Tang, Y.J. (2011) Comparison of lipid content and fatty acid composition between *Tuber* fermentation mycelia and natural fruiting bodies, *J Agric Food Chem*, 59 (9): 4736–4742.
- Taş, M. (2017), *Hysterangium inflatum* Mantarının Antioksidan, Antikanser ve Enzim İnhibisyon Aktivitelerinden Sorumlu Bileşiklerin İzolasyonları ve Yapılarının Aydınlatılması, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi,166.
- Taşan, M. (2008) Fitosterollerin insan Beslenmesindeki Yeri ve Sağlığa Etkileri, *Türkiye 10. Gıda Kongresi*, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.
- Taşkın, T., Devecioğlu, T.Y. ve Şenkardeş, İ. (2018) Antioxidant, Anti-urease Activities and Genotoxic Effects of *Terfezia claveryi* Methanol Extracts on Human Lymphocytes, *Clin Exp Neurol*, 8 (3):190-195.
- Tel, G., Apaydın, M., Duru, M.E. ve Öztürk, M. (2012) Antioxidant and cholinesterase inhibition activities of three *Tricholoma* species with total phenolic and flavonoid contents: the edible mushrooms from Anatolia, *Food Anal Method*, 5: 495–504.



- Tel-Çayan G., Öztürk M., Duru M.E., Rehman, M., Adhikari, A., Türkoglu A. ve Choudhary, M.I. (2015) Phytochemical investigation, antioxidant and anticholinesterase activities of *Ganoderma adspersum*, *Ind Crops Prod.* 76:749–775.
- Tel-Çayan, G, (2016) *Rhizopogon luteolus ve Ganoderma adspersum Mantar Türlerinden Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktivite Gösteren Bileşiklerin İzolasyonları ve Yapılarının Aydınlatılması*, Doktora tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.
- Tel-Cayan, G., Deveci, E., Çayan, F. ve Duru, M.E. (2017) Comparative assessment of phytochemical composition, antioxidant and anticholinesterase activities of two Basidiomycota Truffle Fungi from Turkey, *Marmara Pharm J*, 22: 59–65.
- Tel-Çayan, G., Deveci, E., Çayan, F. ve Duru, M.E. (2018) Comparative assessment of phytochemical composition, antioxidant and anticholinesterase activities of two basidiomycota truffle fungi from Turkey, *Marmara Pharm J*, 22 (1): 59–65.
- Tesso, H. (2005) *Isolation and Structure Elucidation of Natural Products from Plants*, Doktora tezi, University of Hamburg Institute of Organic Chemistry Hamburg, 9-27.
- Tian, M.Q., Wu, Q.L., Wang, X., Zhang, K.Q. ve Li, G.H. (2017) A new compound from *Stereum insignis* CGMCC5. 57, *Nat Prod Res*, 31 (8): 932-937.
- Tirillini, B., Verdelli, G., Paolocci, F., Ciccioli, P. ve Frattoni, M. (2000) The volatile organic compounds from the mycelium of *Tuber borchii* vitt. *Phytochemistry*, 55 (8): 983–985.
- Tokul-Olmez, O., Kaplaner, E., Ozturk, M., Ullah, Z. ve Duru, M.E. (2018) Fatty acid profile of four *Ganoderma* species collected from various host trees with chemometric approach, *Biochem Syst Ecol*, 78: 91–97.
- Tong, H., Xia, N., Feng, K., Sun, G., Gao, X., Sun, L., Jiang, R., Tian, D. ve Sun, X. (2009) Structural characterization and in vitro antitumor activity of a novel polysaccharide isolated from the fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus*, *Bioresour Technol Rep*, 100: 1682-1686.
- Trappe, J.M., Claridge, A.W., Arora, D. ve Smit, W.A. (2008) Desert truffles of the African Kalahari: ecology, ethnomycolgy, and taxonomy, *Econ Bot*, 62: 521–529.

- Tsukada, M, Fukai, M, Miki, K, Shiraishi, T, Suzuki, T, Nishio, K, Sugita, T, Ishino, M, Kinoshita, K, Takahashi, K, Shiro, M. ve Koyama, K. (2011) Chemical constituents of a marine fungus, *Arthrimum sacchari*, *J Nat Prod*, 74:1645–1649.
- Türkoğlu, A., Duru, M.E., Mercan N, Kıvrak, İ. ve Gezer, K. (2007) Antioxidant and antimicrobial activity of *Laetiporus sulphureus* (Bull. Fr.) Murr, *Food Chem*, 101: 267–273.
- Türkoğlu, A. ve Castellano, M.A. (2014) New records of some ascomycete truffle fungi from Turkey, *Turk J Botany*, 38: 406–416.
- Türkoğlu, A., Castellano, MA., Trappe, J.M. ve Yaratankul, Güngör, M.Y. (2015a) Turkish truffles I: 18 new records for Turkey, *Turk J Botany*, 39, 359–376.
- Ullah Z.,(2017) *Sarcosphaera crassa* (Santi) pouzar türünden sekonder bileşiklerinin eldesi, yapılarının aydınlatılması ve sitotoksik aktivitelerinin belirlenmesi, Doktora tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla, 347.
- Türkoğlu, A. (2015b) Yeraltındaki Gizli Hazine: Trüf Mantarları. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü Yayını.
- Vahdatzadeh, M. ve Splivallo, R. (2018) Improving truffle mycelium flavour through strain selection targeting volatiles of the Ehrlich pathway, *Sci Rep*, 8 (1): 1–12.
- Vahdatzadeh, M., Deveau, A. ve Splivallo, R. (2019) Are bacteria responsible for aroma deterioration upon storage of the black truffle *Tuber aestivum*: A microbiome and volatilome study, *Food Microbiol*, 84.
- Vendittia, A., Frezzab, C., Sciubba, F., Serafinib, M. ve Bianco, A. (2017) Primary and secondary metabolites of an European edible mushroom and its nutraceutical value: *Suillus bellinii* (Inzenga) Kuntze, *Nat Prod Res*, 31(16):1910–1919.
- Vieth, R, Cole, D.E., Hawker, G.A., Trang, H.M. ve Rubin, L.A. (2001) Wintertime vitamin D insufficiency is common in young Canadian women, and their vitamin D intakes do not prevent it, *Eur J Clin Nutr*, 55: 1091–1097.
- Vil, V.A., Terent'ev, A.O., Savidov, N., Gloriovova, T.A., Poroikov, V.V., Pounina, T.A. ve Dembitsky, V.M. (2019) Hydroperoxy steroids and triterpenoids derived

from plant and fungi: Origin, structures and biological activities, *J Steroid Biochem Mol Biol*, 190: 76-87

Villares, A., García-Lafuente, A., Guillamón, E. ve Ramos, Á. (2012) Identification and quantification of ergosterol and phenolic compounds occurring in *Tuber* spp. Truffles, *J Food Compost Anal*, 26:(1–2): 177–182.

Vita, F., Taiti, C., Pompeiano, A., Bazihizina, N., Lucarotti, V., Mancuso, S. ve Alpi, A. (2015) Volatile organic compounds in truffle (*Tuber magnatum* Pico): comparison of samples from different regions of Italy and from different seasons, *Sci Rep*, 5(July), 12629.

Vittadini, C. (1831) *Monographia tuberacearum, Felicis rusconi. Monographia tuberacearum Felicis rusconi,* (Milano)  
<http://www.speciesfungorum.org/Names/SynSpecies.asp?RecordID=456009>  
24.08.2019.

Wahiba, B., Wafaa, T., Asmaa, K., Bouziane, A. ve Mohammed, B. (2016) Nutritional and antioxidant profile of red truffles (*Terfezia claveryi*) and White truffle (*Tirmania nivea*) from southwestern of Algeria, *Pharm Lett*, 8 (17): 134-141.

Wang, S. ve Marcone, M.F. (2011) The biochemistry and biological properties of the world's most expensive underground edible mushroom: Truffles, *Food Res Int*, 44 (9): 2567–2581.

Wasser, S.P., Weis, A.L. ve Nevo, E. (1997) Medicinal Mushrooms: *Ganoderma lucidum* (Curtis: Fr.) P. Karst. Reishi Mushroom, *Haifa, Israel: Pedelfus Publishing House*.

Weatherburn, M.W. (1967) Phenol–hypochlorite reaction for determination of ammonia, *Anal Chem*, 39: 971–974.

Wernig, F., Buegger, F., Pritsch, K. ve Splivallo, R. (2018) Composition and authentication of commercial and home-made white truffle-flavored oils, *Food Control*, 87:9–16.

West, C.A. (1981) Biosynthesis of Isoprenoid Compounds, Porter, J.W., Sandra, L.S. (Editörler), Wiley, New York, 1: 375.

- Willett, W.C., Stampfer, M.J., Manson, J.E., Colditz, G.A., Speizer, F.E. ve Rosner, B.A. (1993) Intake of trans fatty acids and risk of coronary heart disease among women, *Lancet*, 341: 581-585.
- Xu, R., Fazio, G.C. ve Matsuda, S.P. (2004) On the origins of triterpenoid skeletons, *Phytochemistry*, 65 (3): 261-91.
- Yan, L., Prentice, A., Zhang, H., Wang, X., Stirling, D.M. ve Golden, M.M. (2000) Vitamin D status and parathyroid hormone concentrations in Chinese women and men from north-east of the People's Republic of China, *Eur J Clin Nutr*, 54: 68–72.
- Yan, X., Wang, Y., Sang, X. ve Fan, L. (2017) Nutritional value, chemical composition and antioxidant activity of three Tuber species from China, *AMB Express*, 1: 1-8.
- Yang, L., Wang, R., Liu, J., Tong, H., Deng, Y. ve Li, Q. (2004) The effect of polyporus umbellatus polysaccharide on the immunosuppression property of culture supernatant of S180 cells, *Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 20: 234-237.
- Yaoita, Y., Amemiya, K. ve Ohnuma, H. (1998) Studies on the constituents of mushrooms, Part III. Sterol Constituents from Five Edible Mushrooms, *Chem Pharm Bull*, 46(6), 944-950.
- Yu, F.X., Li, Z., Chen, Y., Yang, Y.H., Li, G.H. ve Zhao, P.J. (2017) Four new steroids from the endophytic fungus *Chaetomium* sp. M453 derived of Chinese herbal medicine *Huperzia serrata*, *Fitoterapia*, 117: 41-46.
- Yuan, W.H., Teng, M.T., Sun, S.S., Ma, L., Yuan, B., Ren, Q. ve Zhang, P. (2018) Active metabolites from endolichenic fungus *Talaromyces* sp, *Chem Biodivers*, 15: (11).
- Zeppa, S., Gioacchini, A.M., Guidi, C., Guescini, M., Pierleoni, R., Zambonelli, A. ve Stacchi, V. (2004) Determination of specific volatile organic compounds synthesised during *Tuber borchii* fruit body development by solid-phase microextraction and gas chromatography/ mass spectrometry, *Rapid Commun, Mass Spectrom*, 18, 199–205.

- Zhang, M., Cheung, P.C.K. ve Zhang, L., (2001) Evaluation of mushroom dietary fiber (nonstarch polysaccharides) from sclerotia of *Pleurotus tuber-regium* (Fries) Singer as a potential antitumor agent, *J Agr Food Chem*, 49: 5059-5062.
- Zhang, M., Chiu, L.C.M., Cheung, P.C.K. ve Ooi, V.E.C. (2006) Growth-inhibitory effects of a  $\beta$ -glucan from the mycelium of *Poria cocos* on human breast carcinoma MCF-7 cells: cell cycle arrest and apoptosis induction, *Oncol Rep*, 15: 637-643.
- Zhang, Y., Li, X.M., Proksch, P. ve Wang, B.G. (2007) Ergosterimide, a new natural Diels-Alder adduct of a steroid and maleimide in the fungus *Aspergillus niger*, *Steroids*, 72: 723–727.
- Zhang, Y., Kong, H., Fang, Y., Nishinari, K. ve Phillips, G.O. (2013) Schizophyllan: A review on its structure, properties, bioactivities and recent developments, *Bioact Carbohydr Diet Fibre*, 1 (1): 53-71.
- Zhang, T., Jayachandran, M., Ganesan, K. ve Xu, B. (2018) Black truffle aqueous extract attenuates oxidative stress and inflammation in STZ-induced hyperglycemic rats via Nrf2 and NF- $\kappa$ B pathways, *Front Pharmacol*, 9:1257.
- Zhang, X., Zhang, S., Yang, Y., Wang, D. ve Gao, H. (2019) Natural barrigenol-like triterpenoids: A comprehensive review of their contributions to medicinal chemistry, *Phytochemistry*, 161: 41-74.
- Zhao, L., Wang, K., Yang, R., Wang, X., Chen, D. ve Shi, F. (2012) Antioxidant activity of the water-soluble and alkali-soluble polysaccharides from Chinese truffle *Tuber sinense*, *J Anim Vet Adv*, 11 (10): 1753-1756.
- Zhao, W., Wang, X.H., Li, H.M., Wang, S.H., Chen, T., Yuan, Z.P. ve Tang, Y.J. (2014) Isolation and characterization of polysaccharides with the antitumor activity from *Tuber* fruiting bodies and fermentation system, *Appl Microbiol Biotechnol*, 98 (5): 1991-2002.
- Zitouni-Haouar, F.E.H., Fortas, Z. ve Chevalier, G. (2014) Morphological characterization of mycorrhizae formed between three *Terfezia* species (desert truffles) and several *Cistaceae* and Aleppo pine, *Mycorrhiza*, 24 (5): 397–403.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı :Çiğdem KUŞ  
Uyruk :TC  
Doğum Yeri :Tekirdağ/Süleymanpaşa 05.04.1986  
Cep Telefonu :0 553 396 75 79  
E-posta :cigdem\_kus@hotmail.com

### Eğitim

Alınan Derece	Aldığı Kurum/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lise	Namık Kemal Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı)	2004
Lisans	Pamukkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi,	2009
Yüksek Lisans	Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,	2014
Doktora	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü	2015
Sınavlar	Puan	Kurum
İngilizce	70,00	Yök dil
Ales	74,5	ALES

### TEZLER

**Yüksek Lisans Tezi:** Bazı Numunelerde Klorür ve Nitrat'ın Eş Zamanlı Olarak, İyon Seçici Elektrot ile Tayini. Danışman Prof. Dr. Mustafa TAŞTEKİN, Ankara/2015

### İŞ TECRÜBESİ

---

EGET Vakfı (Eğitim, Geriatri, Ekolojik Tarım Turizm Vakfı), Mütavelli Heyeti Üyesi	
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma (TUBİTAK projesi), bursiyer:	15.02.2019- devam ediyor 06.2016-02.2017
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Rektörlüğü: Gıda Analizleri Uygulama ve Araştırma Merkezi, laboratuvar çalışanı,	02.11.2015-30.04.2016
Muğla Ortak Sağlık İş Güvenliği Biriminde, İş Sağlığı ve Güvenliği Uzmanı (C sınıfı):	10.10.2017-29.01.2019

---

	12.01.2016-02.05.2016
	29.12.2015-31.12.2015
Ankara Üniversitesi Sağlık Kültür ve Spor Daire Başkanlığı, laboratuvar çalışanı:	21.10.2013-26.02.2014
Tekirdağ Kumbağ İlköğretim okulu: Sınıf Öğretmeni	14.02.2010-18.06.2010
Tekirdağ Ticaret Borsası: Kimyager	01.10.2009-15.01.2010
Tekirdağ Devlet Hastanesi: Kimyager	01.08.2009-01.09.2009 (Gönüllü)
Trakya Birlik Entegre Tesisleri: Kimyager	01.07.2008-01.08.2008 (Staj)

## **BİLİMSEL ÇALIŞMALAR**

### **Bilimsel Yayınları**

#### **SCI indeksli dergilerde yayınlanan makaleler:**

**1-Kuş Ç**, Taş M, Küçükaydın S, Tel-Çayan G, Duru ME. Chemical analysis and in vitro antioxidant and anticholinesterase activities of essential oils and extracts from different parts of Erica manipuliflora, J Res Pharm. 2019; 23(6): 1098-1105

**2- Terzioğlu P**, Yücel S, **Kuş Ç**. Review on a novel biosilica source for production of advanced silica-based materials: Wheat husk. Asia-Pac J Chem Eng. 2019;14(1), pp.1-14

#### **Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:**

1- **Çiğdem Kuş**, Mehmet Emin Duru, Meltem Taş, Selçuk Küçükaydın, (2018), Anticholinesterase activities from aqueous extract of different plant parts of Erica manipuliflora, International Journal of Secondary Metabolite (IJSM), 4 (3-2). <https://doi.org/10.35333/jrp.2019.74>

#### **Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler:**

1. **Çiğdem Kuş**, Mustafa Taştekin, Adnan Kenar (2016) “Simultaneous Determination of Chloride and Nitrate Some Samples Using İon Selective Electrode.” 3’rd International Conference on new Trends in Chemometrics and Applications. May 25-28, 2016, Side, Antalya, Turkey. (Poster Sunum)
2. Mehmet Emin Duru, Selçuk Küçükaydın, Meltem Taş, Mustafa Türk, **Çiğdem Kuş**, Aziz Türkoğlu (2016). “Antioxidant and Anticancer Activity of Various Extracts from two truffle: Picoa Juniperi and picoa lefebrei., 29th International Symposium on the Chemistry of Natural Products and the 9th International

Conference on Biodiversity (ISCNP-29 & ICOB-9), September 24-27, 2016, Izmir, TURKEY, Poster Presentation No: PP-43, p. 111.(Poster Sunumu)

3. Gülsen Tel Çayan, Selçuk Küçükaydın, Meltem Taş, Fatih Çayan, **Çiğdem Kuş**, Mehmet Emin Duru (2016) “Comparison of Phenolic Compounds and Activities of Various Honeydew Honey Produced in Turkey”. 5th International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress. 1-5 November 2016. Fethiye-Turkey.
4. **Çiğdem Kuş**, Mehmet Emin Duru, Meltem Taş, Selçuk Küçükaydın (2017) “Antioxidant and Tyrosinase Enzyme Activities of Heather Honey in Different Region of Southwestern Anatolia”. 45’th Apimondia International Apicultural Congress September 29- October 4 2017. İstanbul, Turkey. (Çiğdem Kuş-Sözlü Sunum)
5. Mehmet Emin Duru, Selçuk Küçükaydın, Meltem Taş, **Çiğdem Kuş**, Hüseyin Türkoğlu (2017) “Nonpolar Organic Compounds of *Lavandula stoechas* Honey”45’th Apimondia International Apicultural Congress September 29-October 4 2017. İstanbul, Turkey. (Poster Sunum).
6. Meltem Taş, Selçuk Küçükaydın, **Çiğdem Kuş**, Ayşe Sena Aydın, M. Emin Duru (2017) “Comparison of the Enzyme Inhibition Activities of *Origanum minutiflorum* and *Origanum sipyleum*” International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOF). 15-17 May 2017. Cappadocia-Turkey. (Meltem Taş-Sözlü Sunum)
7. Mehmet Emin Duru, **Çiğdem Kuş**, Meltem Taş, Mehmet Öztürk, Mohamed Neffati (2017) “Antioxidant Activity And Polysaccharides Of The Desert Truffle *Picoa Juniperi* And *Picoa Lefebvrei*” International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOF). 15-17 May 2017. Cappadocia-Turkey. (Mehmet Emin Duru-Sözlü Sunum)
8. Meltem Taş, Selçuk Küçükaydın, **Çiğdem Kuş**, Mehmet Emin Duru, Mehmet Öztürk, Mohamed Neffati (2017) “Antioxidant Activity of Polysaccharide Extracts From Two Truffles: *Terfezia olbiensis* and *Terfezia leptoderma*” International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOF). 15-17 May 2017. Cappadocia-Turkey (Meltem Taş-Sözlü Sunum).
9. **Çiğdem Kuş**, Mehmet Emin Duru, Meltem Taş, Selçuk Küçükaydın (2017) “Anticholinesterase Activities From Aqueous Extract of Different Plant Parts of *Erica manipuliflora*” 1st International Congress on Medicinal and Aromatic Plants (TABKON). 9-12 May 2017. (Çiğdem Kuş-Sözlü Sunum)
10. Meltem Taş, Selçuk Küçükaydın, **Çiğdem Kuş**, Mehmet Emin Duru, Hasan Yıldırım (2017) “Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Origanum sipyleum*” 1st International Congress on Medicinal and Aromatic Plants (TABKON). 9-12 May 2017. (Poster Sunum).
11. **Çiğdem Kuş**, Mehmet Emin Duru, Meltem Taş (2018) “The Effect of Geographical Differences on the Chemical Components of *Erica manipuliflora* Essential Oil, Anticholinesterase Enzyme Activity and GC-MS Analysis”4’th



International Symposium of Medicinal and Aromatic Plants 2-4 October 2018 (Poster Sunum).

12. **Çiğdem Kuş**, Mehmet Emin Duru, Selçuk Küçükaydın (2018) “The Chemical Composition of Essential Oil of *Sideritis montana* ssp. *remota*” 4’th International Symposium of Medicinal and Aromatic Plants”2-4 October 2018. (Poster Sunum).
13. **Çiğdem Kuş**, Meltem Taş, Selçuk Küçükaydın, M. Emin Duru, Mehmet Öztürk, Mustafa Türk (2018) “In vitro Cytotoxic Activities of Compounds Isolated from *Picoa Juniperi*”1’st International Balkan Chemistry Congress (IBBC). 17-20 September 2018.(Çiğdem Kuş-Sözlü Sunum).
14. **Çiğdem Kuş**, Selçuk Küçükaydın, Mehmet Emin Duru, Mohamed Neffati (2018) “Phenolic Components of *Picoa* Species Wild-Grown in Turkey and Tunisia” 1’st International Balkan Chemistry Congress (IBBC). 17-20 September 2018.(Poster Sunum).
15. **Çiğdem Kuş**, Mehmet Emin Duru, Meltem Taş, Selçuk Küçükaydın, Şükrü Karataş, Süleyman Kurnaz “Comparison of Antioxidant Activities of Pine and Heather Honey of Muğla Produced in the Same Period” 6’th International Muğla Beekeeping & Pine Honey Congress. 15-19 October 2018, Fethiye/Muğla – TURKEY (Poster Sunum).
16. **Çiğdem Kuş**, Mehmet Emin Duru, Meltem Taş, Selçuk Küçükaydın, Şükrü Karataş, Süleyman Kurnaz (2018) “Characteristic Organic Compounds of Heather Honey” 6’th International Muğla Beekeeping & Pine Honey Congress. 15-19 October 2018, Fethiye/Muğla – TURKEY. (Çiğdem Kuş-Sözlü Sunum)
17. Selçuk Küçükaydın, **Çiğdem Kuş**, Fatih Çayan, Özge Taş, Mehmet Emin Duru (2018) “Aroma Composition of Heather Honeys and Their Mixtures6’th International Muğla Beekeeping & Pine Honey Congress. 15-19 October 2018, Fethiye/Muğla – TURKEY. (Selçuk Küçükaydın-Sözlü Sunum)
18. **Çiğdem Kuş**, Meltem Taş, Selçuk Küçükaydın, M. Emin Duru, Mehmet Öztürk (2019)” Some steroid compounds of *Picoa* species “2’nd International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2019) 28-29 June 2019, Ankara, Turkey. (Çiğdem Kuş-Sözlü Sunum)
19. **Çiğdem Kuş**, Meltem Taş, Şükrü Karataş, M. Emin Duru (2019) “Aroma composition of Lavender honey produced in southwestern” Anatolia 2’nd International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2019) 28-29 June 2019, Ankara, Turkey. (Çiğdem Kuş-Poster Sunum).

**Proje Faaliyetleri:**

<b>Görevi</b>	<b>Proje adı</b>	<b>Tarih</b>
<b>Bursiyer</b>	<b>Uluslararası-TÜBİTAK-114Z644</b> Türkiye ve Tunus'ta Yaygın Olarak Yetişen Bazı Trüf Mantarlarının Antioksidan ve Antikanser Aktiviteden Sorumlu Bileşiklerin İzolasyonları ve Yapılarının Aydınlatılması	02.05.2016- 01.09.2017
<b>Bursiyer</b>	<b>1001-Araştırma -TÜBİTAK-118Z417</b> <i>Liquidambar orientalis</i> Var. <i>orientalis</i> , <i>L. orientalis</i> Var. <i>integriloba</i> reçine, meyve ve yapraklarının biyoaktif bileşiklerinin izolasyonu ve yapılarının aydınlatılması	15.02.2019 –2020