

T.C.  
ŞIRNAK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

***Isatis constricta* P. H. Davis'in (ÇİVİT OTU) VEJETATİF VE ÇİÇEKLİ  
DÖNEMLERDEKİ KÖK VE YAPRAKLARINDA BULUNAN BAZI İNDOL  
ALKALOİDLERİNİN BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

HAZIRLAYAN: Nesim YILDIZ  
DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. Özgür KARAKAŞ

ŞIRNAK-2017



T.C.  
ŞIRNAK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

***Isatis constricta* P. H. Davis'in (ÇİVİT OTU) VEJETATİF VE ÇİÇEKLİ  
DÖNEMLERDEKİ KÖK VE YAPRAKLARINDA BULUNAN BAZI İNDOL  
ALKALOİDLERİNİN BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

HAZIRLAYAN: Nesim YILDIZ

ŞIRNAK-2017



## KABUL VE ONAY SAYFASI

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda **Yrd. Doç. Dr. Özgür KARAKAŞ** danışmanlığında, **Nesim YILDIZ** tarafından sunulan "***Isatis constricta* P. H. Davis'in (Çivit Otu) Vejetatif ve Çiçekli Dönemlerdeki Kök ve Yapraklarında Bulunan Bazı İndol Alkaloidlerinin Belirlenmesi**" isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 28/07/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile başarılı bulunmuş ve yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Yrd. Doç. Dr. Özgür KARAKAŞ

İmza:

Üye: Prof. Dr. Murat ŞEKER

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. Nevzat SEVGİN

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../..... tarih ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

Yrd. Doç. Dr. Nevzat SEVGİN  
Enstitü Müdürü



## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Nesim YILDIZ





## ÖZET

### ***Isatis constricta* P. H. Davis'in (ÇİVİT OTU) VEJETATİF VE ÇİÇEKLİ DÖNEMLERDEKİ KÖK VE YAPRAKLARINDA BULUNAN BAZI İNDOL ALKALOİDLERİNİN BELİRLENMESİ**

YILDIZ, Nesim

Yüksek Lisans Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilimdalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Özgür KARAKAŞ

Temmuz 2017, 32 sayfa

*Isatis* L. geçmişten beri hem boya hem de tıbbi amaçla kullanılan önemli bitkilerdir. *Isatis* cinsine ait olan bitkilerin yaprak ve köklerinden elde edilen triptantrin, indirubin ve izatin indol alkaloidleri çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan, farmakolojik olarak aktif bileşiklerdir. Bu bitkilerde bulunan indikan bileşiği indigonun (mavi renk) öncül maddesidir. Bu çalışmada materyal olarak kullanılan *Isatis constricta* P. H. Davis bitki örneklerinin hem vejetatif hem de çiçekli dönemlerinde yaprak ve kök kısımlarındaki triptantrin, indirubin, izatin ve indikan miktarları incelenmiştir. Analiz işlemleri HPLC (Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi) cihazı ile yapılmıştır. *I. constricta*'nın vejetatif döneminde alınan yaprak örneklerindeki triptantrin ( $0.482 \pm 0.0072 \mu\text{g/g}$ ) ve indirubin miktarlarının ( $0.029 \pm 0.00007 \mu\text{g/g}$ ) en yüksek değere sahip olduğu tespit edilmiştir. Çiçekli dönemde alınan yaprak örneklerinde ise izatin ( $4.358 \pm 0.0985 \mu\text{g/g}$ ) ve indikan miktarının ( $21.330 \pm 0.114$ ) en yüksek değere sahip olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *I. constricta* P. H. Davis, triptantrin, indirubin, izatin, indikan, indol alkaloid



## ABSTRACT

### DETERMINATION OF SOME INDOL ALKALOIDS IN THE ROOTS AND LEAVES OF *Isatis constricta* P. H. Davis (INDIGO) DURING THE VEGETATIVE AND FLOWERING PERIODS

YILDIZ, Nesim

Master Science, Department of Horticulture

Supervizor: Asst. Prof. Özgür KARAKAŞ

July 2017, 32 pages

*Isatis* L. is important plants that have been used for both dye and medicinal purposes since the ancient times. Indole alkaloids such as tryptanthrin, indirubin and isatin obtained from the leaves and roots of plants belong to *Isatis* genus are pharmacologically active compounds used in the treatment of various diseases. Indican compound is the precursor of the indigo (blu dye). In this study, the amounts of tryptanthrin, indirubin, isatin and indican in leaf and root parts of *Isatis constricta* P. H. Davis plant samples were investigated in both vegetative and flowering periods. Analyzes were performed by HPLC (High Hressure Liquid Chromatography) instrument. Tryptanthrin ( $0.482 \pm 0.0072 \mu\text{g} / \text{g}$ ) and indirubin amount ( $0.029 \pm 0.00007 \mu\text{g} / \text{g}$ ) were determined as the highest values in the leaf samples obtained during the vegetative period of *I. constricta*. In the leaf samples obtained during the flowering period, it was determined that the amounts of isatin ( $4.358 \pm 0.0985 \mu\text{g/g}$ ) and indican ( $21.330 \pm 0.114$ ) have the highest value.

**Key Words:** *I. constricta* P. H. Davis, tryptanthrin, indirubin, indican, isatin, indole alkaloids



## ÖN SÖZ

Yüksek lisans tez çalışmamın konusunun belirlenmesi, araştırılması, yürütülmesi ve hazırlanması sırasında bilgi ve becerisinden yararlandığım, saygıdeğer danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Özgür KARAKAŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tez hazırlama süresince değerli bilgilerinden yararlandığım Yrd. Doç. Dr. Nevzat SEVGİN, Yrd. Doç. Dr. Mustafa RÜSTEMOĞLU ve Yrd. Doç. Dr. Ferhat KIZILGEÇİ hocalarıma çok teşekkür ederim.

Bu süreçte benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme de sonsuz teşekkür ederim.



# İÇİNDEKİLER

|   | Sayfa |
|---|-------|
| ÖZET .....  | i     |
| ABSTRACT .....  | iii   |
| ÖN SÖZ.....   | v     |
| İÇİNDEKİLER.....  | vii   |
| ÇİZELGELER LİSTESİ .....  | ix    |
| ŞEKİLLER LİSTESİ.....   | xi    |
| SİMGELER VE KISALTMALAR .....   | xiii  |
| 1. GİRİŞ.....   | 1     |
| 1.1. <i>Isatis</i> L.'de Bulunan Bileşikler .....                                   | 1     |
| 1.2. <i>Isatis</i> L.'de Bulunan Bazı İndol Alkaloidler ve Özellikleri.....         | 2     |
| 1.2.1. İndirubin.....   | 3     |
| 1.2.2. Triptantrin.....   | 3     |
| 1.2.3. İzatin.....  | 4     |
| 1.2.4. İndikan.....   | 5     |
| 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....  | 6     |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM.....  | 13    |
| 3.1. Bitki Materyali ve Toplanması .....  | 13    |
| 3.1.1. Bitkinin toplanması .....  | 13    |
| 3.1.2. <i>Isatis constricta</i> P. H. Davis.....                                    | 13    |
| 3.2. İndirubin, Triptantrin, İndikan ve İzatin Bileşiklerinin HPLC Analizi .....    | 15    |
| 3.2.1. Kullanılan kimyasal maddeler.....  | 15    |
| 3.2.2. İndirubin, triptantrin, indikan ve izatin bileşiklerinin ekstraksiyonu ..... | 15    |
| 3.2.3. İndirubin, triptantrin, indikan ve izatin'in kalibrasyon eğrisi .....        | 15    |
| 3.2.4. İndirubin, triptantrin, indikan ve izatin'in analizi .....                   | 20    |

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 3.2.5. İstatistiksel analiz ..... | 20 |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....      | 21 |
| 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....     | 25 |
| KAYNAKLAR.....                    | 27 |
| ÖZGEÇMİŞ.....                     | 33 |





## ÇİZELGELER LİSTESİ

**Çizelge**

**Sayfa**

Çizelge 1. *I. constricta* P. H. Davis'in yaprak ve kök kısımlarının indol alkaloid içerikleri ( $\mu\text{g/g}$ ).....21





## ŞEKİLLER LİSTESİ

| Şekil   | Sayfa |
|---|-------|
| Şekil 1.1. İndirubin'in kimyasal yapısı.....  | 3     |
| Şekil 1.2. Triptantrin'in kimyasal yapısı.....  | 4     |
| Şekil 1.3. İzatin'in kimyasal yapısı.....   | 5     |
| Şekil 1.4. İndikan'in kimyasal yapısı.....  | 5     |
| Şekil 3.1. <i>Isatis constricta</i> Davis'in (çivit otu) vejetatif dönemdeki görüntüsü..... | 14    |
| Şekil 3.2. <i>Isatis constricta</i> Davis'in (çivit otu) çiçekli dönemdeki görüntüsü.....   | 14    |
| Şekil 3.3. Triptantrin'in kalibrasyon eğrisi .....  | 16    |
| Şekil 3.4. Triptantrin'in HPLC kromatogramı.....  | 16    |
| Şekil 3.5. İndirubin'in kalibrasyon eğrisi .....  | 17    |
| Şekil 3.6. İndirubin'in HPLC kromatogramı.....  | 17    |
| Şekil 3.7. İzatin'in kalibrasyon eğrisi .....   | 18    |
| Şekil 3.8. İzatin'in HPLC kromatogramı.....   | 18    |
| Şekil 3.9. İndikan'in kalibrasyon eğrisi .....  | 19    |
| Şekil 3.10. İndikan'in HPLC kromatogramı.....   | 19    |



## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

| <b>Simgeler</b>       | <b>Açıklama</b>  |
|-----------------------|------------------|
| <b>C</b>              | Karbon           |
| <b>cm</b>             | Santimetre       |
| <b>CO<sub>2</sub></b> | Karbondioksit    |
| <b>da</b>             | Dekar            |
| <b>dk</b>             | Dakika           |
| <b>g</b>              | Gram             |
| <b>Kg</b>             | Kilogram         |
| <b>Kg/da</b>          | Kilogram/dekar   |
| <b>L</b>              | Litre            |
| <b>m</b>              | Metre            |
| <b>mg</b>             | Miligram         |
| <b>ml</b>             | Mililitre        |
| <b>mm</b>             | Milimetre        |
| <b>N</b>              | Azot             |
| <b>sa</b>             | Saat             |
| <b>µg</b>             | Mikro gram       |
| <b>µg/g</b>           | Mikrogram/gram   |
| <b>°C</b>             | Santigrat derece |
| <b>%</b>              | Yüzde            |
| <b>β</b>              | Beta             |

## Kısaltmalar

## Açıklama

|              |                                     |
|--------------|-------------------------------------|
| <b>ark</b>   | Arkadaşları                         |
| <b>BAE</b>   | Ultrason destekli ekstraksiyon      |
| <b>DAD</b>   | Diode Array Dedector                |
| <b>DMF</b>   | Dimetilformamid                     |
| <b>ELSD</b>  | Evaporatif ışık dağıtıcı dedektörü  |
| <b>GC</b>    | Gaz kromatoğrafisi                  |
| <b>HCl</b>   | Hidroklorik asit                    |
| <b>HPLC</b>  | Yüksek basınçlı sıvı kromatoğrafisi |
| <b>IR</b>    | Kızıl ötesi                         |
| <b>IRAE</b>  | Kızıl ötesi destekli ekstraksiyon   |
| <b>L</b>     | Linne                               |
| <b>MAE</b>   | Mikrodalga destekli ekstraksiyon    |
| <b>MS</b>    | Kütle spektrofotometresi            |
| <b>SE</b>    | Soksilet ekstraksiyonu              |
| <b>Spp</b>   | Species (plural)                    |
| <b>subsp</b> | Subspecies (alt tür)                |
| <b>TLC</b>   | İnce tabaka kromatoğrafisi          |
| <b>TFA</b>   | Trifloroasetik asit                 |
| <b>UV</b>    | Ultra viyole                        |
| <b>vb</b>    | ve benzeri                          |

## 1. GİRİŞ

*Isatis* cinsi, Brassicaceae familyasına ait olup Türkiye’de 31 tür ve 15 alttürü bulunmaktadır. Ülkemizde genel olarak çivit otu olarak isimlendirilmektedir. Bunlardan 18 tür ve 3 alttür endemik olarak yetişmektedir (Güner ve ark., 2012). *Isatis* türleri genellikle yüksek dağlık kesimlerde, yol kenarlarında ve boş arazilerde yayılış gösteren iki ya da kısa ömürlü çok yıllık bitkilerdir (Mısırdalı, 1985).

*Isatis* L., hem boya hem de tedavi amaçlı kullanılan önemli bir cinstir. Çin’de bu bitkinin kökleri “Ban-Lan-Gen” ve yaprakları “Da-Qing-Ye” olarak adlandırılmaktadır. *Isatis*’in kök ve yaprak kısımları, en eski boya maddelerinden biri olan indigo (mavi)’nun kaynağıdır. *Isatis* cinsine ait taksonlar hem geleneksel hem de modern tıpta kullanılmaktadır. (Chang ve Ho, 2001). Bu bitkiler özellikle grip, zatüre, kabakulak, faranjit ve hepatit gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Bown, 1995).

*Isatis* cinsine ait taksonlar, Avrupa’nın birçok ülkesinde boyamada, geleneksel tedavide (yaralanmalar, ülser, tümör, basur, yılan sokmaları) ve çeşitli iltihaplanmalarda tedavi edici olarak kullanılmaktadır (Hamburger, 2002). Bitkilerin bu tıbbi özellikleri, yapılarında bulunan sekonder bileşiklerden kaynaklanmaktadır. *Isatis* taksonlarının kimyasal içeriklerine yönelik çok sayıda çalışma yapılmış ve bu çalışmalarda bu bitkilerin kök, yaprak, çiçek ve meyve kısımlarında bulunan fenolik, flavonoid ve alkaloid bileşikleri tespit edilmiştir (Oksay ve Oksay, 2009 ). Bu bileşikler arasında indol alkaloidlerinin tıbbi açıdan önemli avantajları bulunmaktadır. *Isatis* taksonlarında bulunan triptantrin, indirubin, indikan ve izatin indol bileşikleri birçok hastalığın tedavisinde kullanılan önemli bileşiklerdir (Zou ve Koh, 2007).

### 1.1. *Isatis* L.’de Bulunan Bileşikler

Pek çok bitki, ekonomik açıdan önem taşıyan ve sekonder metabolit olarak adlandırılan kimyasal maddeleri (alkaloidler, fenolik bileşikler, terpenoidler vb.) bünyelerinde biriktirirler. Bu sekonder metabolitler tozlaşmada, çevresel koşullara uyumda, mikroorganizma, böcek ve diğer predatörlere karşı kimyasal savunmada ve başka bitkiler ile büyüme sırasında rekabet edebilme rollerine sahiptirler (Vanisree ve

ark. 2004). Sekonder metabolitler bitki bünyesinde az miktarlarda bulunmakta olup bu bileşiklerin miktarı hücre tiplerine, bitkilerin farklı büyüme evrelerine ve bitkilerin organlarına bağlı olarak farklılık göstermektedir (Özgen ve ark. 2005). Bu bileşikler insanlar tarafından tıpta, kozmetikte, gıda endüstrisinde ve ilaç sanayisinde kullanılmaktadır (Kırıcı, 1998). *Isatis* taksonlarının kök ve yaprak kısımlarından indigotin, indirubin, izatin, izatan A, izatan B ve triptantrin gibi indol alkaloidlerinin de dahil olduğu indol yapısına sahip çok sayıda alkaloid izole edilmiştir (Zou ve ark. 2005; Liau ve ark. 2007).

Bitki kökenli doğal bileşikler, günümüzde ilaç, gıda ve kozmetik alanlarında hammadde olarak kullanılmaktadır ve bunların kullanımında devamlı artış gözlemlenmektedir. Bu artışın sonucu olarak; sentetik maddelerin insan sağlığına olan zararları (giyilen kumaşların doğrudan cilde teması sonucunda alerjiye neden olmaları), sentetik maddelerin suda parçalanmaması, bu maddeleri içeren atık suların çevreyi kirletmeleri ve kullanılan maddelerin depolanmasında yaşanan güçlükler gibi sorunlar ortaya çıkmıştır (Kırıcı, 1998).

## **1.2. *Isatis L.*'de Bulunan Bazı İndol Alkaloidler ve Özellikleri**

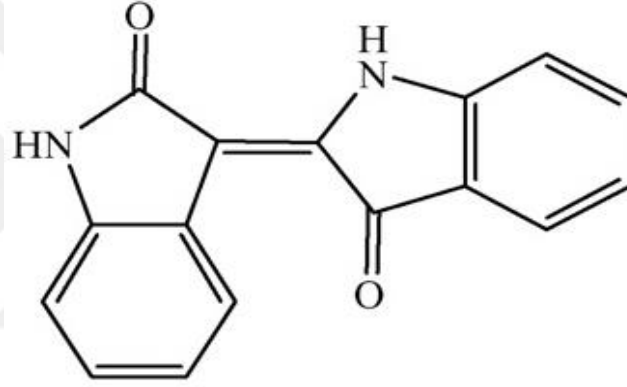
Alkaloid ihtiva eden bitkiler, alkaloid içeriği % 0.01'den fazla olan bitkilerdir. Bu bitkilerin yapısında bulunan alkaloidler özellikle insan vücudundaki fizyolojik etkileriyle ön plana çıkmaktadır. Alkaloidlerin önemli bir sınıfını oluşturan indol alkaloidleri *Isatis* cinsi üyelerinin temel ve aktif sekonder bileşiklerindedir (Ensley ve ark. 1983; Alex ve ark. 2010).

*Isatis* taksonlarının yaprak ve köklerinden elde edilen indol bileşenleri önemli biyolojik aktivitelere sahiptirler. Bu indol bileşenlerinden bazıları triptantrin, indirubin, indikan ve izatindir. Bu bileşenler çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmalarının yanında dünyanın farklı bölgelerinde çeşitli boya hammaddeleri olarak da kullanılmaktadır (Zou ve Koh, 2007).



### 1.2.1. İndirubin

İndirubin, hem boyar madde hem de çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan önemli bir indol bileşiğidir. *Isatis tinctoria* ve *Isatis indigotica* başta olmak üzere *Indigofera tinctoria* ve *Polygonum tinctorium* gibi bitki türlerinde de tespit edilmiştir. Bu bileşikten elde edilen pembemsi renk, çeşitli ürünlerin boyanmasında kullanılabilir. Ayrıca miyelotik lösemi, bazı tümör hastalıkları, yaraların tedavisinde ve bağışıklık sistemini güçlendirme özelliklerinden dolayı önemli bir bileşik olarak değerlendirilmektedir (Hoessel ve ark. 1999; Spink ve ark. 2003).



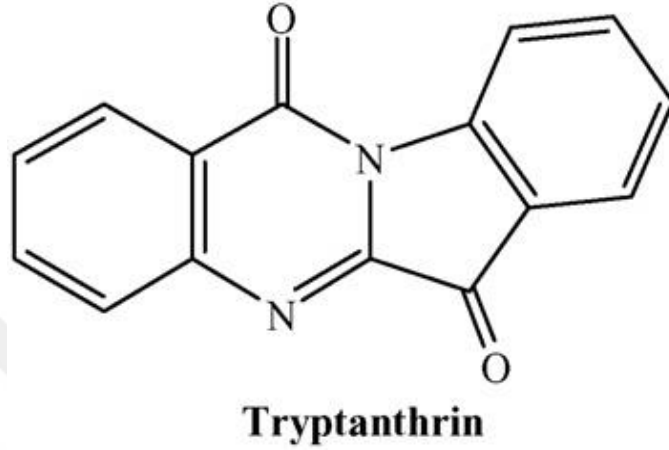
**İndirubin**

Şekil 1.1. İndirubin'in kimyasal yapısı.

### 1.2.2. Triptantrin

Triptantrin, birçok *Isatis* taksonlarından, özellikle *Isatis tinctoria* ve *Isatis indigotica* türlerinden elde edilmektedir. Bu bileşik *Isatis* taksonlarının yanı sıra *Polygonum tinctorium*, *Strobilanthes cusia* ve *Strobilanthes formosanus* türlerinde de elde edilmektedir. Zayıf bir bazik alkaloid olan triptantrin bağışıklık sistemini güçlendirmesinin yanı sıra (Takei ve ark. 2003; Recio ve ark. 2006) çeşitli mikroorganizma ve parazitlere karşı (Honda ve ark. 1980), iltihaplanmalara (Recio ve ark. 2006; Micallef ve ark. 2002), bazı tümörlere, insanlarda görülen lösemi hastalığına ve meme kanserindeki MCF-7 hücreleri üzerindeki etkilerinden dolayı tıp alanında

önemli bir bileşik olarak kullanılmaktadır (Kimoto ve ark. 2001; Yu ve ark. 2009). Ayrıca triptantrinin sarı renkli boya özelliğinden dolayı önemli bir boya maddesi olarak kullanılmaktadır (O'Neill, 1892).



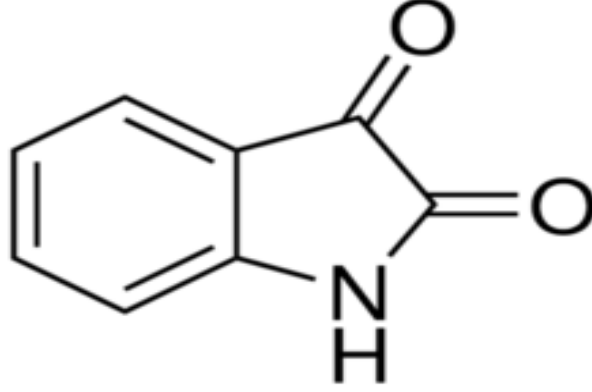
Şekil 1. 2. Triptantrin'in kimyasal yapısı.

### 1.2.3. İzatin

İzatin, *Isatis* taksonlarda bulunan bir çeşit bileşiktir. İzatin ayrıca kurbağaların kulak altı salgı bezlerinden, insanların adrenalin anındaki salgıladıkları çeşitli metabolik atıklarda ve kömür katranlarında bulunmaktadır (Ratnamala ve ark. 2013). İzatin, 1841 yılında Erdman ve Laurent tarafından indigonun nitrik ve kromik asit ile oksidasyonunun bir ürünü olarak ilk defa araştırılmıştır (Bhriku ve ark. 2010; Da Silva ve ark. 2001).

İzatin, geniş bir davranışsal ve metabolik etkiye sahip oksitlenmiş bir indoldür. İzatin beyin içerisindeki periferik dokularda, vücut sıvılarında ve izatin bağlama alanlarında yaygın, ancak ayrı ve kesikli bir dağılıma sahiptir. İzatinin salınımı genelde stres esnasında artmaktadır. Ayrıca izatin ve türevleri tıp alanında önemli ölçüde kullanılmaktadır (Medvedev ve ark. 2007). Bu kullanım alanları daha çok antitümör, antimikrobiyal, anti-inflamatuar, analjezik, antikonvülsan (pıhtılaşmayı önleyen), antiviral, antioksidan, CNS depresan aktiviteleri gibi sayısız biyolojik rahatsızlıklardır (Medvedev ve ark. 2007). İzatin, ayrıca kırmızı rengin öncül maddelerinden biri

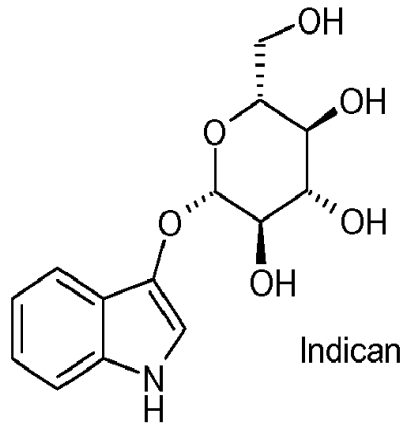
olmasının yanı sıra, sülfürik asit ve saf benzen ile karıştırıldığında mavi renkli bir boya olan indofeni de oluşturur (Anonim, 2016a). Victor Meyer, bu reaksiyondan sorumlu maddeyi saf benzenden ayırmayı başardı. Bu yeni heterosiklik bileşik tiyofen olarak bildirildi (Sumpter, 1944).



Şekil 1. 3. İzatin'in kimyasal yapısı.

#### 1.2.4. İndikan

*Isatis* taksonlarında bulunan indikan bileşiği, doğal boyar madde olarak kullanılan ve mavi rengi veren indigo'nun sentezinde öncül madde olarak kullanılmaktadır. Bu bileşik renksiz organik bir bileşik olup ancak suyla temas ettiğinde çözünmektedir (Anonim, 2016b).



Şekil 1.4. İndikan'ın kimyasal yapısı.



## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Mohn ve ark. (2007), *Isatis tinctoria*'nın yaprak özütlerinde bulunan triptantrin, indolinon, indirubin, linolenik asit ve indigo bileşiklerinin analizini yapmışlardır. Yaptıkları bu çalışmada, kromatografik ayrışımı C-18 kolonunu kullanmış ve % 0.1 formik asit içeren asetonitril-su mobil fazı ile gerçekleştirmişlerdir. Farklı ekstraksiyon metotları kullanarak bu çalışmayı yapmış ve en yüksek linolenik asit içeriğini süperkritik CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile elde ederken; triptantrin, indolinon, indirubin ve indigo bileşiklerinin en yüksek içeriğini, diklorometan ekstraksiyon yöntemi ile elde etmişlerdir.

Zou ve Koh (2007) *I. indogotica* kök ve yapraklarında bulunan indikan, isatin, indigotin ve indirubin'i belirlemek için LC/ESI-MS/MS metodunu geliştirmişler.

Chen ve ark. (2012), *Isatis indigotica*'nın yapraklarında bulunan indigo ve indirubin miktarını belirlemek için farklı ekstraksiyon yöntemlerini denemişler. Bu amaçla daha önceden aktif bileşikleri ayırmak için kullanılan kızılötesi (IR) radyasyon yöntemini geliştirerek kızılötesi destekli ekstraksiyon (IRAE) yöntemini denemişlerdir. Yeni geliştirdikleri ve optimize ettikleri IRAE yöntemini, mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE), soksilet ekstraksiyonu (SE) ve ultrasound destekli (BAE) ekstraksiyon ile karşılaştırmışlardır. Optimum koşullar altındaki ekstraksiyon süresi, IRAE, MAE, SE ve BAE için sırasıyla 20 dakika, 7 dakika, 12 saat, 90 dakika olmuştur. İndigo için, bu dört ekstraksiyon işlemleri ile elde edilen miktar: IRAE> MAE> SE> BAE; indirubin için, elde edilen miktarlar: SE> IRAE> MAE> BAE olarak tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmanın sunucunda; zaman, yüksek ekstraksiyon verimi, düşük maliyet ve güvenilirlik nedeniyle, IRAE'nın bitkilerde bulunan aktif bileşenlerinin açığa çıkarılması için alternatif bir yöntem olarak oldukça büyük bir potansiyele sahip olduğu saptanmıştır.

Campeol ve ark. (2006), İtalya'da yaptıkları çalışmada indigo üretimi için *I. tinctoria* ve *P. tinctorium*'un indigo öncüllerinin mevsimsel değişimini araştırmışlardır. Araştırmada iyi sulanmış koşullarda yetiştirilen bitkilerin yapraklarından elde edilen isatan B ve indikan öncüllerinin, HPLC cihazını kullanarak analizlerini yapmış ve analiz sonucunda sitokiyometrik hesaplama ile indigo miktarını hesaplamışlar. Yapılan

çalışmanın sonucunda bitki ve yaprak başına düşen indigo miktarını *I. tinctoria*'da, *P. tinctorium*'dan daha düşük bulmuşlardır. Ancak su stresi koşullarında *I. tinctoria*'nın daha dayanıklı olduğunu görmüşlerdir. Su stresi koşullarında *P. tinctorium*'un yaprak verimi % 50 düşerken, *I. tinctoria*'nın % 20 oranında düştüğünü ortaya koymuşlar. Fakat uygun miktarda su sağlandığı taktirde *P. tinctorium*'un daha verimli olduğunu bildirilmişlerdir.

Oberthür ve Hamburger (2004), *I. tinctoria* yapraklarında bulunan ve bir indigo izomeri olan triptantrin içeriğini araştırmışlardır. Araştırmada, *I. tinctoria*'nın hasat döneminde ve ileri hasat zamanlarında triptantrin içeriğini analiz etmişlerdir. Analiz sonucunda çalışmada dondurularak kurutulmuş yaprak örneklerinde triptantrin konsantrasyonunu ve fermente edilmiş yaprakların triptantrin içeriklerinin çok düşük olduğunu belirlemişlerdir. Buna karşın oda sıcaklığında kurumaya bıraktıkları yapraklarda triptantrin konsantrasyonu önemli miktarda arttığını, ancak en yüksek konsantrasyonu ise yapraklar 40 °C'de kurutulduğunda elde etmişlerdir.

Ling ve ark. (2009), bazı fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada triptantrinin lösemi hücreleri üzerinde, doz ve zamana bağlı olarak, tedavinin 48 saat içinde tahmini % 50 inhibe edici güçlü bir etkisini tespit etmişlerdir. Benzer anti-proliferatif etki, diğer insan ve murin miyeloid lösemi hücre dizileri üzerinde de etkisini göstermiştir.

Li ve ark. (2011) yaptıkları çalışmalarında erkek ve dişi farelerde 3, 6 ve 9 saatlik triptantrin uygulamasından sonra tespit edilen zaman noktaları incelenmiştir. Yapılan incelemede triptantrin'in beyin, yağ ve kas içinde bulunamayacağını ve bunun da triptantrin'in kan-beyin bariyerini geçmekte güçlük çektiğini ve triptantrin'in yağ solventi içindeki zayıf çözünürlüğünü ortaya koymuştur. Çalışma sonucunda triptantrin konsantrasyonu karaciğer, dalak, akciğer, böbrek, kalın bağırsak, ince bağırsak ve mide gibi çeşitli sıçan dokularında belirlenmiştir. Ayrıca yapılan incelemeler sonucunda uygulamadan 3 saat sonra dokuların çoğunda triptantrin saptanabilmiştir.

Oberthür ve ark. (2004), isatan A, isatan B ve indikanın densitometrik analizi üzerine çalışmışlardır. Seyreltik asit ve bazlar ile muameleden sonra oluşan indigoid pigmentleri silikajel üzerinde HPLC ile ayırtmışlardır. Ayrıca *I. tinctoria* ve *I. indigotica*'nın yapraklarında indoksil glükozitlerinin mevsime bağlı değişimini araştırmışlardır. İsatın A miktarının *I. tinctoria*'nın kuru ağırlığının % 7,6'sını, *I. indigotica*'nın ise % 21.8'ini oluşturduğunu ortaya koymuşlardır. Yapılan çalışmada

hasat sonrası çeşitli muamelelerin etkisi araştırılmış ve araştırmada bitkinin dondurularak kurutulmuş yapraklarında isatan A ve B konsantrasyonun yüksek, indikan konsantrasyonunun ise düşük olduğu tespit edilmiştir.

Medvedev ve ark. (2007), yaptıkları çalışmalarında izatin ve analoglarının çok sayıda biyolojik ve farmakolojik etkilerinin olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu bileşiklerin monoamin oksidaz inhibitörleri ve/veya nöroprotektif ilaçlar gibi özel biyolojik hedefler üzerindeki etkileri hafifletebileceğine dair bazı kanıtların olduğunu da belirtmiştir.

Maier ve ark. (1990), *Isatis tinctoria* ve *Polygonum tinctorium*'un genç yapraklarına L- [5-3H] triptofan verildiğini ve her iki bitki türünün gövde ve köklerinden indoksil öncüllerinin izole edildiğini belirtmişlerdir. Ayrıca *I. tinctoria* gövdesinde indikan ile izatan B ve köklerinde indoksil türevlerinin sentezlendiğini belirtmişlerdir.

Geleneksel Çin tıbbında kullanılan *Isatis indigotica* ve *Strobilanthes cusia*'nın yaprak ve köklerindeki triptantrin, indigo ve indirubin oranlarının hangisinde yüksek olduğunu tespit etmek amacıyla Liau ve ark. (2007) daha hızlı, seçici ve hassas olan LC-APCI-MS yöntemini geliştirmişler. Bu araştırmacılar bu yöntemle *Isatis L.* cinsine ait 21 farklı bitkinin köklerindeki triptantrin, indigo ve indirubin içeriğini incelemişler ve LC-APCI-MS yönteminin geleneksel TLC ve HPLC-UV yöntemleri ile karşılaştırıldığında daha hassas olduğunu bildirmişlerdir.

Chang ve ark. (2005), *I. tinctoria*'yı da içeren 8 geleneksel tıbbi bitki ile 4 antibiyotiğin etkilerini *Staphylococcus aureus*'un direnci üzerinde in vitro olarak denemiş ve deneme sonucunda *I. tinctoria*, *Scutella baicalensis* ve *Rheum palmotum*'un etanol ekstraktlarının, test edilen 4 antibiyotiğin etkisini arttırdığı sonucuna varmışlardır.

Brattström ve ark. (2010), süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu ile hazırlanan *I. tinctoria* yapraklarından elde edilen ekstraktın akciğerdeki inflamatuvar ve immün parametrelerini analiz etmiş ve bunun astım üzerine etkisini araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda *I. tinctoria* ekstraktının alerjik duruma cevap olarak, antijen mücadelesini inhibe ettiği sonucuna varmışlardır.

Concurso ve ark. (2006), *I. tinctoria*'nın yapraklarında uçucu olan bileşenleri katı-faz mikro-ekstraksiyon yöntemi ve gaz kromatografisi-kütle spektrofotometresi

(GC-MS) kullanarak analiz etmişler ve alifatik hidrokarbonlar, asitler, alkoller, aldehit, esterler, aromatik aldehitler, ester, eterler, furanlar, isotiyosiyanat, tiyosiyanatlar, sülfürlü bileşikler, nitriller, terpen ve sesquiterpenler olmak üzere 17 bileşen tanımlamışlardır. Bu çalışma sonucunda isotiyosiyanat miktarının (yaprak uçucu bileşenlerinin % 40'ı) en yüksek miktardaki madde olduğunu tespit etmişler. İsoiyosiyanatlar'ın da Brassicaceae familyasının önemli ve karakteristik bir aroma bileşeni olduğunu ve bu bileşenin kansere karşı koruma ihtimalinin olduğunu ve bu özelliğinden dolayı bu bitkilere olan ilgiyi arttırdığını belirtmişlerdir.

Duru (2003), yaptığı çalışmasında elde edilen haslık değerleri ile *Isatis L.*'nin direkt olarak boyamalarda kullanılabilceğini tespit etmiştir. Duru (2003)'nun yaptığı bu çalışmadaki önerileri dikkate alındığında gelecekte daha kapsamlı renk tonlarında artışlar sağlanabilecek ve haslık değerlerinin yükseltilmesi ile daha iyi sonuçlara varılabileceği düşünülmektedir.

Puchalska ve ark. (2004), yaptıkları çalışma sonucunda tekstil ve boyamanın önemli bileşiklerinin pigmentler olduğunu ve renk karakterinde doğallık sağladığını belirtmişlerdir. Yine aynı çalışmayla bu maddelerin organik ve inorganik olmak üzere 2 gruba ayrıldığını belirtmişlerdir. Ayırıcı faz sıvı kromatografisi ile elektro sprey iyonizasyon mass spektrometresi (ESI-MS) ve UV-Visible spektrometrik metotların doğal boyarmaddelerin indigoid renk bileşikleri (indigo, indirubin, isoindigo, isoindirubin) ve doğal boyar maddelerin doğal ya da sentetik öncülleri (indikan, isatin, 2-indolinon) tanımlamaları için özenle hazırlandığını belirtmiştir. ESI-MS'de renk maddeleri için 0.03 - 5.00 ml aralığındaki tespit limitlerini çalışmışlardır. Metotla; çivit otu ve Tiran morundan gerçek Hindistan indigosu, indigodaki izomerleri ve indigo tanımlamalarının yapılabilmesi için geliştirildiğini bildirmişlerdir. Bu metotla 19. yüzyılda Japon duvarlarındaki fibriller üzerindeki doğal boyaların tanımlanması için uyguladıklarını açıklamışlardır ve yaptıkları bu çalışma ile tekstilde boyaların ekstraksiyonu için bir örneğin dondurulması ya da öğütülmesine dayanan bir işlem geliştirmişlerdir ve ekstraktlardaki bileşikleri, indigotin ve metilen mavisi olarak asidik hidrolizde tanımlamışlardır.

Roche (1992), boya eldesi için *Isatis tinctoria*'yı kullandığını ve bu bitkinin tanımlaması, biyolojisi, ekolojisi, üremesi, tohum dağılımı, çimlenmesi ve yayılışı üzerinde çalışmıştır.



Kızıl (2000), *I. tinctoria* ve *I. constricta* türlerinin yetiştirilmesinde uygun ekim sıklığını araştırmıştır. Araştırmada bu bitkilerin boyar madde miktarı ve boyama sonucunda elde edilen renklerin ışık, sürtünme, su damlası ve yıkama haslıklarını belirlemiştir. Araştırma sonucunda türler arasında; yaş yaprak verimlerini birinci yılda 588.19 - 659.76 kg/da, ikinci yılda 466.39 - 482.49 kg/da, kuru yaprak verimlerini birinci yılda 105.09 - 134.41 kg/da, ikinci yılda 81.49 - 88.50 kg/da, meyve verimlerini ise 244.19 - 299.83 kg/da arasında değiştiğini vurgulamıştır. Doğal alanlarda kendiliğinden yetişen *I. constricta*'da indikan varlığını tespit etmiştir.

Bebekli ve Serin (1999) doğal boyar maddeleri, doğada var olan mevcut bitkilerin kök, gövde, yaprak, meyve ve meyve kabuklarının yapısının yanı sıra hayvanların; kabuklu deniz böcekleri, salyangoz ve koşnil yapısında mevcut doğal boyar maddeler olduğunu belirtmişlerdir.

Çömlekçioğlu (2011), iki farklı yetiştirme döneminde Kahramanmaraş ekolojisi koşullarında yaptığı çalışmasında, dört *Isatis* (*Isatis tinctoria*, *Isatis candoleana*, *Isatis tinctoria* subsp. *corymbosa* ve *Isatis buschiana*) taksonun farklı ekim zamanlarının verim ve kaliteleri üzerine etkisinin yanı sıra boyarmadde miktarlarının ve boyama sonucu elde edilen renklerin haslık değerlerini incelemiştir. Çalışma sonucunda *I. tinctoria*'nın yaprak verimi açısından en uygun ekim zamanını ilkbahar, diğer türlerde ise sonbahar; tohum verimi için *I. tinctoria* ve *I. buschiana*'nın her ikisi için de sonbaharda yapılan ekimler olduğunu belirtmiştir. Ayrıca yine çalışmasında HPLC'de yapılan indikan analizleri sonucunda en yüksek indikan miktarı 3.01 mg/g ile *I. buschiana*'da, *I. tinctoria* subsp. *corymbosa*'da 1.28 mg/g, *I. tinctoria*'da 1.25 mg/g ve en az miktarda da ise *I. candoleana*'da 0.96 mg/g olarak tespit etmiştir. Spektrofotometrede yapılan indigo analizleri sonucunda ise indigo miktarını, *I. tinctoria*'da 2.04 mg/g, *I. candoleana*'da 1.55 mg/g, *I. tinctoria* subsp. *corymbosa*'da 0.44 mg/g ve *I. buschiana*'da 0.006 mg/g tespit etmiştir.

Akar (2006), çalışmasında Kahramanmaraş'ta farklı bölgelerde, doğal olarak yetişen *Isatis glauca* subsp. *glauca* Boiss ve *Isatis candolleana* Boiss ile Çukurova Üniversitesinden temin edilen *Isatis tinctoria* L. bitkisinin tohumlarını KSÜ Avşar Kampüsü'nde bulunan deneme bahçesinde yetiştirmiştir. Bu dönemde bitkilerin hem morfolojik özelliklerini hem boyama özellikleri hem de taze yapraklardaki indikan içeriği araştırmıştır. Araştırmada *Isatis* taksonlarını kültüre almış ve bitkilere ait

morfolojik veriler incelediğinde bitki boyu bakımından, *I. tinctoria* (86,9 cm)'nin diğerlerinden daha üstün olduğunu; dallanma sayısı bakımından *I. glauca* subs. *glauca* (6,60 adet)'nin diğerlerinden üstün olduğunu, gövde ağırlığı bakımından ise *I. candolleana* (37,9 g)'nin üstün olduğunu saptamıştır. Ayrıca yaprak boyu ve yaprak eni değerleri karşılaştırıldığında *I. candolleana* (sırasıyla 16,3 cm ve 6,96 cm) *I. tinctoria* (sırasıyla 15,7 cm ve 5,23 cm) ve *I. glauca* subs. *glauca* (sırasıyla 11,4 cm ve 4,53 cm)'dan daha yüksek değerlere sahip olduğunu gözlemiştir. Farklı boyama yöntemleri kullanılarak yapılan boyama denemelerinde *I. tinctoria* türünde buz mavisi renk elde edilirken, *I. candolleana* türünde morumsu lila ve *I. glauca* subsp. *glauca* taksonlarında sarı tonlarda renkler elde etmiştir. HPLC ile yaptığı analizlerde indikan miktarını *I. tinctoria*'da (11,34 mg/ml) *I. candolleana* (4,12 mg/ml) ve *I. glauca* subsp. *glauca*'dan (0,636 mg/ml) daha yüksek olduğu sonucuna varmıştır.

Özgökçe ve Yılmaz (2003), Doğu Anadolu Bölgesi'nde halkın yaygın olarak yün boyamada kullandığı boya bitkileri üzerinde araştırma yapmışlardır. Araştırılan bu bitkilerin yöresel isimleri, boya elde edilen bitki kısmı ve elde edilen renk, renklerin elde edilme şeklini ve boyar maddeleri araştırmışlardır. Bölgede boya eldesinde kullanılan 26 familyaya ait 38 cins ve bu cinslere ait 50 takson tespit etmişlerdir. Bu taksonlardan farklı mordanlar kullanılması ile 15 ayrı renk ve tonlarının elde edildiğini bildirmişlerdir. Bu renkler sarı renk ve tonları, yeşil ve tonları, kahverengi ve tonları, kırmızı ve tonları, gri ve tonları, bej ve tonları, mavi ve tonları, zeytin yeşili, turuncu, haki ve hardal renkleri, siyah, mor, lacivert ve füme renkleri olarak tanımlanmıştır.

Bağcı ve Özçelik (2009), GC ve HPLC sistemleri ile *I. cappodica* subsp. *steveniana*, *I. kotschyana*, *I. candolleana*, *I. spectabilis*, *I. glauca* subsp. *glauca* ve *I. Kozlowsky* taksonlarına ait tohumların yağ asidi bileşenlerini ve tokoferol içeriklerini araştırmışlardır. Bu araştırma sonucunda; bütün *Isatis* taksonlarını aynı yağ asidi profilini gösterdiğini ve linolenik ve erusik asiti en fazla miktardaki bileşikler olduğunu bulmuşlardır. Ancak tohum yağlarının tokokromanol türevlerinin *Isatis* taksonları arasında daha çok farklılık göstermiştir ve *Isatis* taksonlarının toplam tokoferol içerikleri toplam tokotrienollerden yüksek bulunmuştur. Ayrıca *Isatis* cinsinin çoklu doymamış yağ asidi konsantrasyonunun yüksek bitki gruplarındaki birçok familya ve cinsten daha fazla olduğunu da belirtmiştir.

Mohn ve ark. (2009), *I. tinctoria* yapraklarının farmakolojik etkilerini incelemek amacıyla diklorometan ekstraktları üzerinde bir araştırma yapmışlardır. Araştırmada DAD ve ELSD gibi dedektörler kullanılmış ve bitkinin farklı analitik özelliklerdeki, sekonder metabolitleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda alkaloidler, flavonoidler, yağ asitleri, porifirinler, lignanlar, karetenoidler, glukosinolatlar ve siklohekzenonlar gibi çeşitli yapısal sınıflarda 65'den fazla bileşik tespit edilmiştir. Ayrıca *Isatis* cinsindeki pek çok bileşeni *Isatis* cinsi için ilk defa tanımladıklarını ve indolik alkaloidi keşfettiklerini belirtmişlerdir.

Monaco ve ark. (2005), *I. tinctoria* 'yı yüksek ve düşük düzeydeki ışıklar altında, toprak suyu ve toprak azotu koşullarında, hem yaz hem de kış aylarında 63 gün boyunca serada yetiştirmişlerdir. Yapılan bu deney sonucunda, toprak azotunun zenginleştirilmesinin büyüme ve fizyolojik özelliklere etkisi olmadığını, ayrıca *I. tinctoria* 'nın azotun az olduğu koşullara daha iyi dayanabildiğini ortaya koymuştur. Ancak düşük ışık altında bitkilerin daha fazla ışık yakalayabilmek için yaprak yüzeylerini genişlettiklerini ifade etmişlerdir.

Tansı (1998), yaptığı çalışmasında çivit otunun Çukurova koşullarındaki performansının çok iyi olduğunu gözlemlemiştir. Ancak bu bölgenin sıcak ve nemli olmasından dolayı sulama suyu ile yayılan kök çürüklüğüne karşı, çivit otunun hassas olması özellikle salma sulama yerine damlama veya yağmurlama sulama yapılmasını veya salma sulama yapılacaksa drenajı iyi alanlarda, sırta dikimin tercih edilmesi gerektiğini belirtmiştir.



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Bitki Materyali ve Toplanması

##### 3.1.1. Bitkinin toplanması

Çalışmada materyal olarak kullanılan *I. constricta* P. H. Davis türüne ait örnekler 2015 yılı temmuz ayında, Elazığ-Maden ilçesi 1200 m yükseklikteki dağlık alandan toplanmıştır. Hem vejetatif hem de çiçekli dönemde bitkilerin yaprak ve kök kısımlarından alınan örnekler laboratuvar ortamında kurutulduktan sonra ekstraksiyon (özütleme) ve analiz işlemine kadar buzdolabında (+4<sup>0</sup>C'de) bekletilmiştir. Çalışmamızda kullanılan bitkiler, Dicle Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Botanik Anabilim Dalı'ndan Prof.Dr. Ömer SAYA tarafından teşhis edilmiştir.

Çalışmada kullanılan bitkilere ait örnekler, Şırnak Üniversitesi Ziraat Fakültesi biyoteknoloji laboratuvarında muhafaza edilmektedir.

##### 3.1.2. *Isatis constricta* P. H. Davis

*I. constricta* P. H. Davis (Şekil 3.1, Şekil 3.2), iki ya da kısa ömürlü çok yıllık otsu bir bitkidir. Sap uzunluğu 30 - 50 cm olup tüsüzdür. Sapın alt kısmında bulunan yaprakları, uzun, mat yeşil, tüsüz, oldukça sert ve zarlı yapıya sahiptir. Ayrıca alt yaprakları tırtıllı yapıya sahip olup uç kısımları genellikle yukarıya bakmaktadır. Sapın üst kısmında bulunan yapraklar ise uzun ve kulakçıklı yapıya sahiptirler. Çiçekleri 3 mm büyüklüğünde olup sepalleri tüsüzdür. Meyvelerinin büyüklüğü 14x18 - 3x4 mm olup, sert ve uzun bir yapıya sahiptir. Meyvenin uç noktası kesikli yapıdadır. Genellikle volkanik yamaçlarda yetişen bitki 1200 - 1300 metrelik rakımlarda yayılış göstermektedir. Ayrıca endemik bir bitki olan *I. constricta*, Türkiye'de Doğu Anadolu ve Akdeniz Bölgesi'nde yayılış göstermektedir (Davis, 1965-1985).



Şekil 3.1. *Isatis constricta* Davis (çivit otu)'in vejetatif dönemdeki görüntüsü.



Şekil 3.2. *Isatis constricta* Davis (çivit otu)'in çiçekli dönemdeki görüntüsü.

## 3.2. İndirubin, Triptantrin, İndikan ve İzatin Bileşiklerinin HPLC Analizi

### 3.2.1. Kullanılan kimyasal maddeler

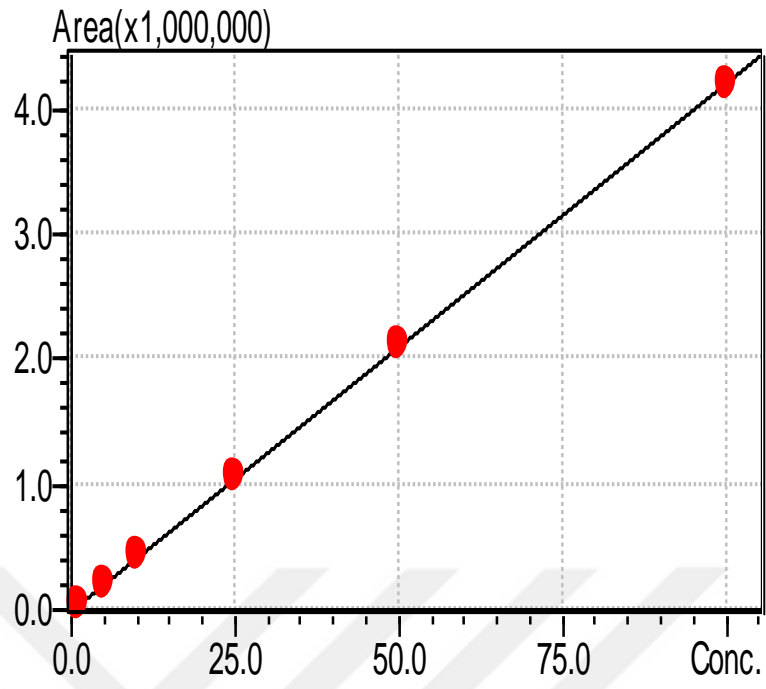
İndirubin ( $\geq 98\%$ ), triptantrin ( $\geq 99\%$ ) indikan (indoksil  $\beta$ -d-glukozid,  $\geq 97\%$ ), izatin ( $\geq 99\%$ ), asetonitril ( $\geq 99.9\%$ ), metanol ( $\geq 99.9\%$ ), N,N-Dimetilformamid (DMF) ( $\geq 99.9\%$ ) ve trifloroasetik asit (TFA) ( $\geq 99.9\%$ ) Merck firması (Almanya)'ndan temin edildi.

### 3.2.2. İndirubin, triptantrin, indikan ve izatin bileşiklerinin ekstraksiyonu

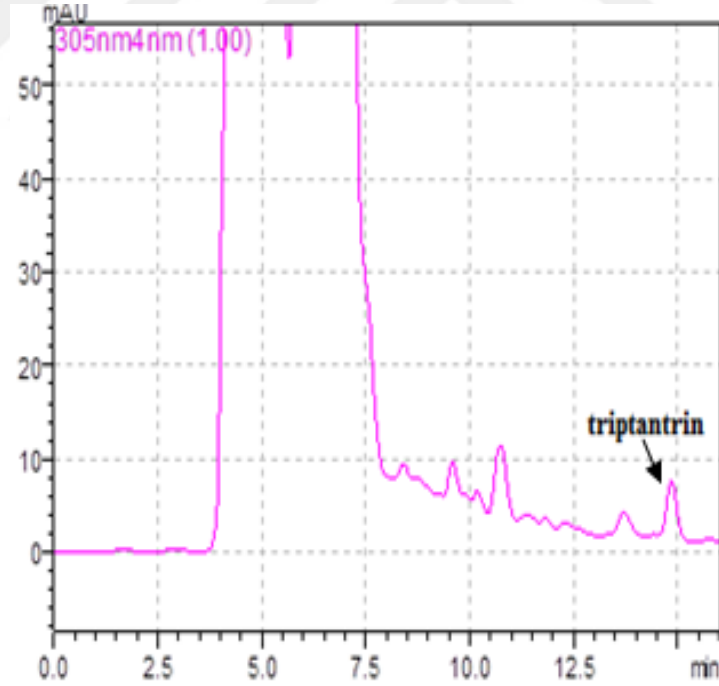
*I. constricta* bitkisinin farklı dönemlerde toplanan kök ve yaprak kısımları ayrıldıktan sonra oda sıcaklığında kurutma kağıtları üzerinde kurutulmuştur. Kurutulan materyaller, öğütme makinesinde toz haline getirilmiştir. Her bir bitki kısmına ait toz halindeki örneklerden yaklaşık 200 mg alınıp üzerine 10 ml metanol eklendi ve daha sonra örnekler 10 dakika boyunca ultrasonikatör (Jeiotech, US-05, Korea)'de ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen çözelti vakumda süzölmüştür. Bu işlemler 3 kez tekrarlanmıştır. Üç işlem sonunda elde edilen metanol kısımları 50 ml'lik cam balonlarda toplanmıştır. Çözeltideki metanol evaporatör (Labtech EV311, Evaporator) yardımıyla uzaklaştırıldıktan sonra kabın içinde indol bileşiklerini içeren tortu oluştu. Bu tortu 40 ml methanol içerisinde seyreltilmiş ve analiz işleminden önce 0.45 mm naylon filtrelerden geçirilmiştir.

### 3.2.3. İndirubin, triptantrin, indikan ve izatin'in kalibrasyon eğrisi

Triptantrin, indirubin ve indikan bileşikleri DMF içerisinde, izatin ise methanol içerisinde çözdürülmüştür. Standartların bütün stok solisyonları 1 mg/mL olarak ayarlanmıştır. Bu solüsyonlar uygun çözücüler ile 1; 5; 10; 25; 50; 100  $\mu\text{g/mL}$  olmak üzere 6 farklı konsantrasyonda seyreltilerek hazırlanmıştır. Triptantrin, indirubin, izatin ve indikan bileşiklerinin piklerinin tespit edildiği süreler sırasıyla; 14.9, 13.6, 12.2 ve 7.9 dk'dır (Şekil 3.4, 3.6, 3.8, 3.10). Kalibrasyon eğrisini oluşturmak için her standart üç defa tekrarlanmıştır (Şekil 3.3, 3.5, 3.7, 3.9).

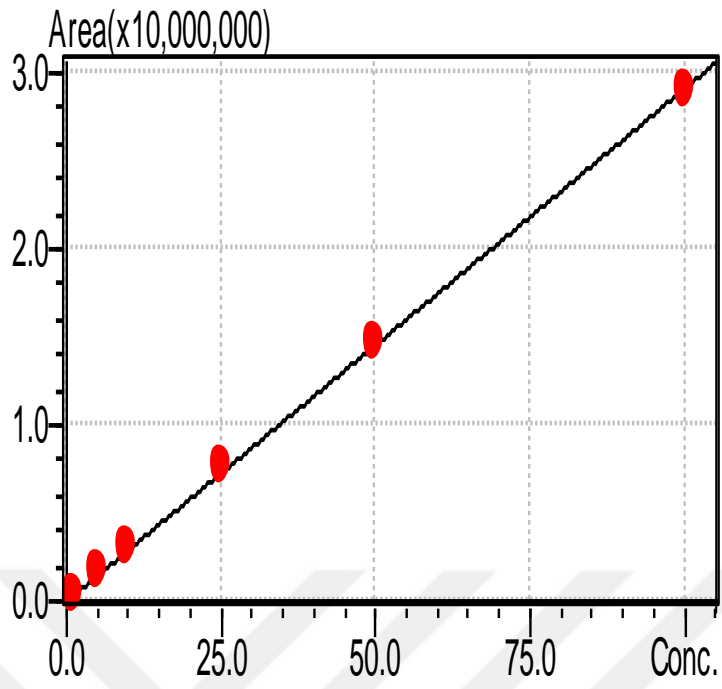


Şekil 3.3. Triptantrin'in kalibrasyon eğrisi.

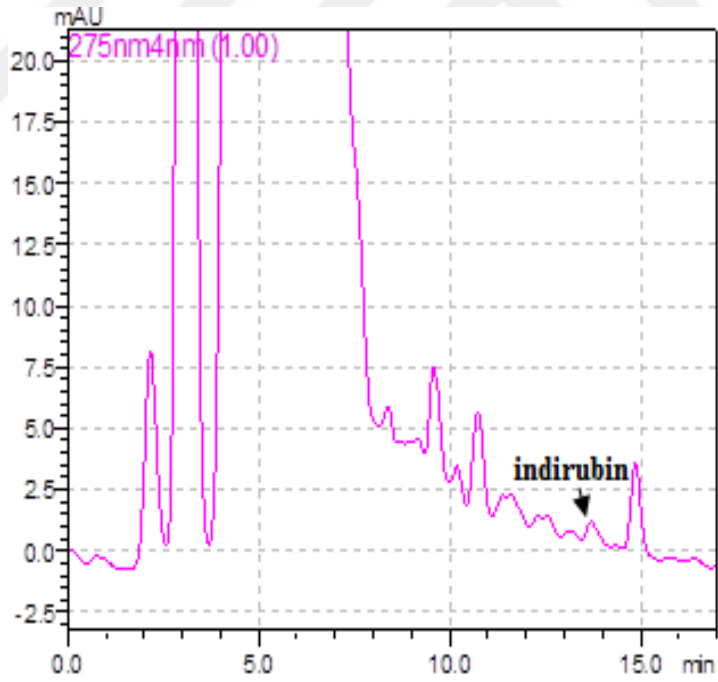


Şekil 3.4. Triptantrin'in HPLC kromatogramı.

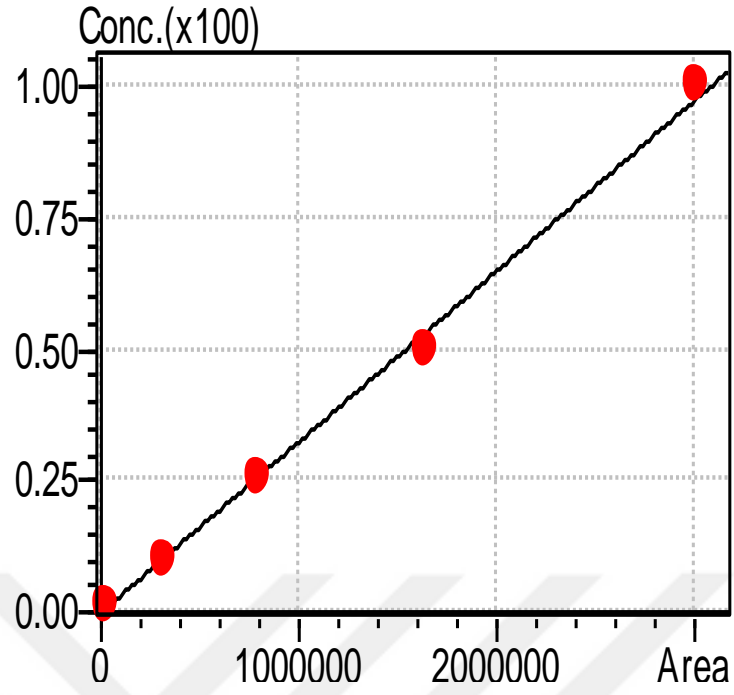




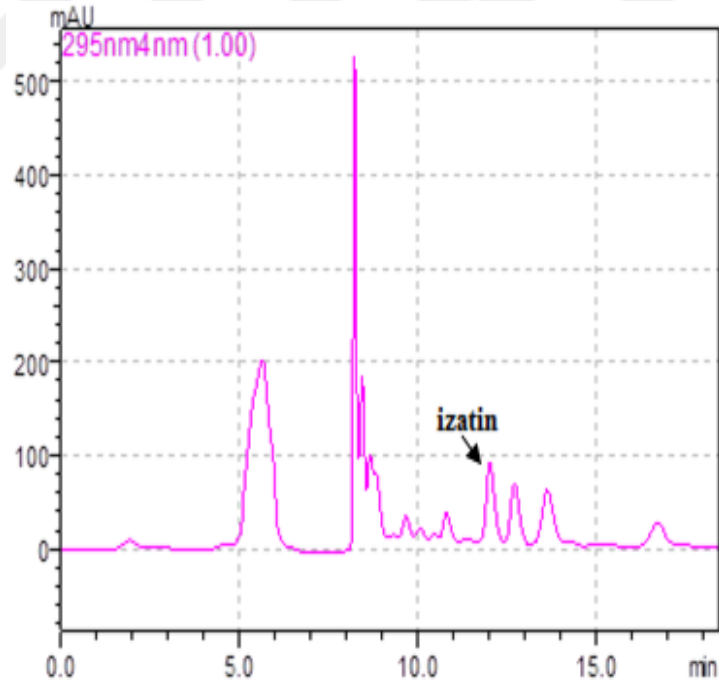
Şekil 3.5. İndirubin'in kalibrasyon eğrisi.



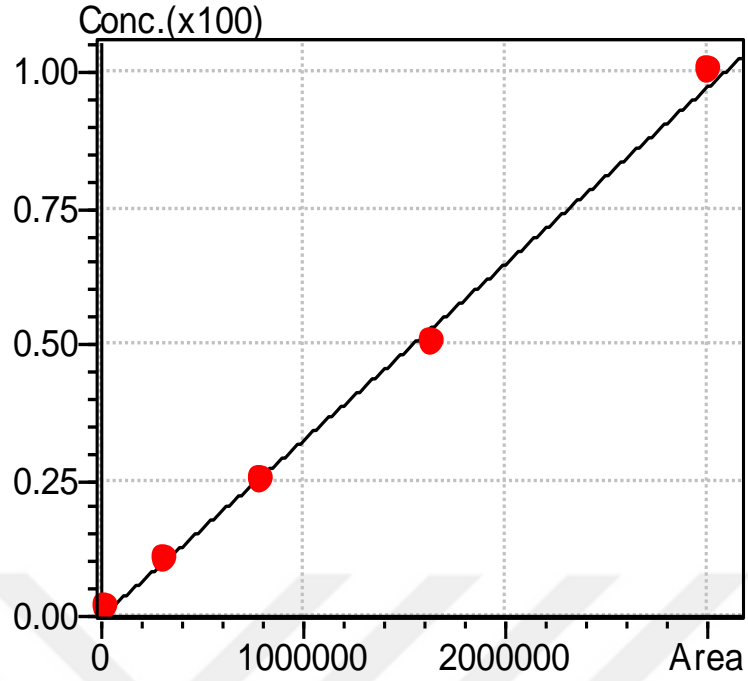
Şekil 3.6. İndirubin'in HPLC kromatogramı.



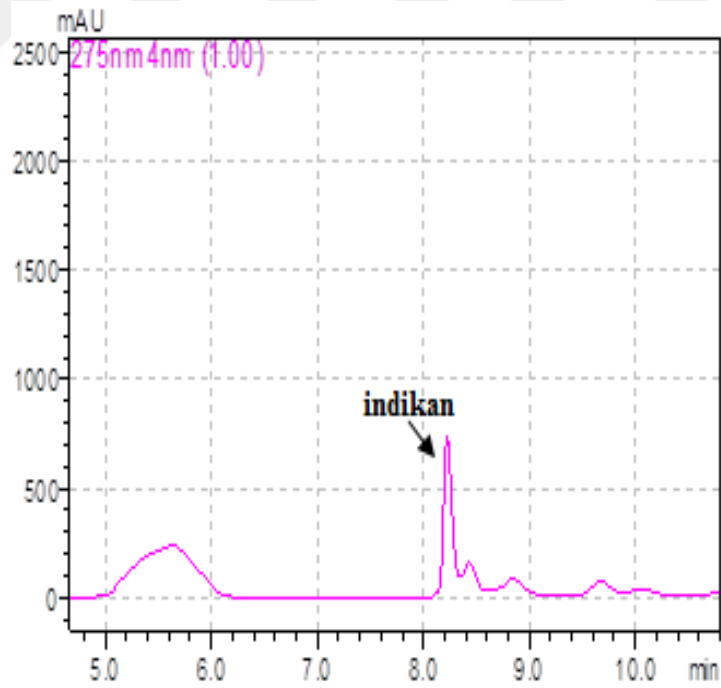
Şekil 3.7. İzatin'in kalibrasyon eğrisi.



Şekil 3.8. İzatin'in HPLC kromatogramı.



Şekil 3.9. İndikan'ın kalibrasyon eğrisi.



Şekil 3.10. İndikan'ın HPLC kromatogramı.

### 3.2.4. İndirubin, triptantrin, indikan ve izatin'in analizi

Analiz işleminde Shimadzu Prominence HPLC cihazı kullanılmıştır. HPLC cihazında, LC-20AT pompa, SIL 20A-HT otomatik örnekleyci, DGU 20A5R degazer, SPD M-20A dedektör ve Inertsil ODS-4 C18 kolon (5µm x 4.6 mm x 250 mm) kullanılmıştır. Triptantrin için analiz şartları; mobil faz olarak, 60/40 oranında su/asetonitril ve % 0.1 oranında TFA olacak şekilde 305 nm dalga boyu ve izokratik elüsyon profili kullanılmıştır. Akış oranı, 0,5 ml/dak, kolon sıcaklığı 30 °C ve analiz ortamı olarak oda şartları tercih edilmiştir. İndirubin için analiz şartları triptantrin analizi ile aynı şartlardaydı ancak dalga boyu 275 nm olarak kullanılmıştır.

İzatin için analiz şartları; mobil faz olarak, 65/35 oranında su/asetonitril ve % 0.1 oranında TFA olacak şekilde 295 nm dalga boyu ve izokratik elüsyon profili kullanılmıştır. Akış oranı, 0,5 ml/dak, kolon sıcaklığı 30 °C ve analiz ortamı olarak oda şartları tercih edilmiştir. İndikan için analiz şartları izatin ile aynı ancak dalga boyu 275 nm dalga boyu kullanılmıştır. Hem mobil faz hem de bileşikleri içeren metanol ekstraktları analiz işleminden önce 0.45 mm por çapındaki filtre ile süzölmüş ve çözeltilerdeki hava kabarcıklarını uzaklaştırmak için 7 dk süreyle ultrasonikasyona tabi tutulmuştur.

### 3.2.5. İstatiksel analiz

Verilere ait istatistiksel analizler SPSS (versiyon 16.0) Multi-Way Anova Range Testi ile yapılmıştır. Elde edilen değerler istatistik analizleri için standart hata (S.E.) olarak kullanılmıştır ve P değerinin 0.05'den daha küçük olması istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir.

#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Yapılan çalışma sonucunda elde edilen veriler çizelge 1’de verilmiştir. Çizelge 1 incelendiğinde, *I. constricta*’nın yapraklarında bulunan triptantrin, izatin ve indikan alkaloidlerinin miktarı, köklerine oranla daha yüksek olduğu görülmektedir. *I. constricta*’daki indirubin miktarı, bitkinin vejetatif dönemdeki yapraklarda en yüksek oranda bulunduğu görülmektedir (Çizelge 1).

Çizelge 1. *I. constricta*’nın yaprak ve kök kısımlarının indol alkaloid içerikleri ( $\mu\text{g/g}$ )

| Örnekler         | Triptantrin         | İndirubin             | İzatin              | İndikan             |
|------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|
| Vejetatif yaprak | $0.482 \pm 0.0072a$ | $0.0290 \pm 0.00007c$ | $4.243 \pm 0.1683a$ | $15.348 \pm 0.092b$ |
| Çiçekli yaprak   | $0.345 \pm 0.0038b$ | $0.0027 \pm 0.00016c$ | $4.358 \pm 0.0985a$ | $21.330 \pm 0.114a$ |
| Çiçekli kök      | $0.063 \pm 0.0031c$ | $0.0085 \pm 0.00024b$ | $0.166 \pm 0.0104b$ | $1.580 \pm 0.103c$  |
| Vejetatif kök    | $0.050 \pm 0.0013c$ | $0.0105 \pm 0.00029a$ | $0.156 \pm 0.0153b$ | $1.856 \pm 0.015c$  |

Çizelgedeki değerler 3 tekrarın ortalamasını ifade etmektedir. P değerinin 0.05’ten küçük olması Anova-Multi-way Range Test’e göre veriler arasındaki farklılıklar açısından önemli görülmektedir. Çiçekli kök; çiçekli dönemde toplanan bitkilerin kök kısımları, Çiçekli yaprak; çiçekli dönemde toplanan bitkilerin yaprak kısımları

Yapılan çalışmalar sonucunda *I. constricta*’nın vejetatif döneminde alınan yaprak örneklerinde bulunan triptantrin miktarının ( $0.482 \pm 0.0072 \mu\text{g/g}$ ) en yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bitkinin vejetatif ( $0.050 \pm 0.0013 \mu\text{g/g}$ ) ve çiçekli ( $0.063 \pm 0.0031 \mu\text{g/g}$ ) dönemlerinde alınan kök örneklerinde tespit edilen triptantrin miktarlarının ise oldukça düşük, aralarındaki farkın da yapılan istatistiksel hesaplama göre önemsiz bulunmuştur (Çizelge 1).

Oberthür ve Hamburger (2004) 2001 ve 2002 yılının haziran, temmuz ve ağustos aylarında doğal ortamdan topladıkları ve dondurarak kuruttukları *I. tinctoria*’nın yaprak eksplantlarındaki triptantrin oranlarını  $0.08 - 0.17 \mu\text{g/g}$ , 2001 yılının temmuz ve ağustos aylarında topladıkları bitkilerin yapraklarındaki triptantrin oranını  $0.34 - 0.55 \mu\text{g/g}$  olarak tespit etmişlerdir. Bu sonuçlara bakıldığında, *I. constricta*’nın çiçekli ve vejetatif dönemlerde tespit ettiğimiz ( $0.345 \pm 0.0038 - 0.482 \pm 0.0072 \mu\text{g/g}$ ) triptantrin oranının, önceki çalışmada elde edilen triptantrin oranlarındaki en yüksek değere yakın olduğu görülmektedir. Aynı çalışmada oda koşullarında kurutulan yaprak örneklerindeki

triptantrin oranının ise 0.6 - 2.0 µg/g olduğu ve bu oranların çalışmamızdaki sonuçlara göre yüksek olduğu görülmektedir.

Liau ve ark. (2007) Çin'in bazı bölgelerinden topladıkları *I. indigotica* bitkisinin 12 örneğinden 6 kurutulmuş yaprak ve 6 kurutulmuş kök örneğini incelemiş ve bu ekstraktlarda bulunan triptantrin miktarları yaprak kısımlarında 34.2 - 109.7 µg/g, kök örneklerinin triptantrin içeriğini ise 0.110 - 0.614 µg/g aralığında bulmuşlardır. Liau ve arkadaşlarının sonuçları, bizim çalışmamızdaki çiçekli ve vejetatif dönemlerdeki yaprak ( $0.345 \pm 0.0038$  -  $0.482 \pm 0.0072$  µg/g) ile vejetatif ve çiçekli dönemlerdeki kök ( $0.050 \pm 0.0013$  -  $0.063 \pm 0.0031$  µg/g) eksplantlarından elde ettiğimiz sonuçlardan oldukça yüksek olduğu görülmektedir.

Yaptığımız çalışmada *I. constricta*'nın vejetatif dönemde toplanan kök kısımlarındaki indirubin miktarının ( $0.0105 \pm 0.00029$  µg/g) bitkinin vejetatif dönemdeki yapraklarında bulunan indirubin miktarına ( $0.029 \pm 0.00007$  µg/g) göre daha az olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca çalışma sonucunda *I. constricta*'nın vejetatif ve çiçekli dönemdeki yaprak örneklerinin indirubin içerikleri arasında önemli bir fark olmadığı anlaşılmıştır. Ancak çizelge 1 incelendiğinde *I. constricta*'nın vejetatif dönemde alınan köklerdeki indirubin değerinin ( $0.0105 \pm 0.00029$  µg/g) çiçekli dönemde alınan kökteki indirubin değerine oranla ( $0.0085 \pm 0.00024$  µg/g) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu farkın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir (Bkz. Çizelge 1).

Zou ve Koh (2007)'un yaptıkları çalışmada, Çin'in farklı bölgelerinde topladıkları *I. indigotica* türlerinin köklerinde tespit ettikleri indirubin değerlerini 1.01 - 34.4 µg/g olarak tespit etmişlerdir. Liau ve ark. (2007)'nin yaptıkları çalışmada Çin'in farklı bölgelerinden toplanan 6 *I. indigotica* bitki örneğinin kurutulmuş kök ekstraktlarındaki indirubin miktarlarını 2.384 - 0.224 µg/g olarak bulmuşlardır.

Bu çalışmalarla karşılaştırıldığında, *I. constricta*'nın vejetatif ve çiçekli dönemlerinde topladığımız kök ve yaprak örneklerinde bulunan indirubin miktarlarının oldukça düşük olduğu görülmektedir.

Yaptığımız çalışmada *I. constricta*'nın sırasıyla vejetatif ve çiçekli dönemlerde alınan yaprak örneklerinde tespit ettiğimiz izatin miktarının ( $4.243 \pm 0.1683$  -  $4.358 \pm 0.0985$  µg/g) bitkinin kök kısmında ( $0.156 \pm 0.0153$  -  $0.166 \pm 0.0104$  µg/g) tespit ettiğimiz izatin miktarından oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çizelge 1

incelendiğinde bitkinin hem çiçekli hem de vejetatif dönemlerde toplanan kök ve yapraklarının örneklerinde bulunan izatin miktarları arasındaki farkın önemli olmadığı görülmektedir.

Zou ve Koh (2007) yaptıkları çalışmada, Çin'in farklı bölgelerinde topladıkları *I. indigotica*'nın yapraklarındaki izatin miktarını 18.4 - 98.9 µg/g aralığında tespit etmişlerdir. Bir diğer çalışmada Guo ve Chen (1986) *I. indigotica*'nın yaprakları üzerine yaptıkları çalışmada izatin miktarını 1.07 - 1.13 µg/g aralığında bulmuşlardır. Bu değerlerle karşılaştırıldığında, çalışmamızda kullandığımız *I. constricta*'nın vejetatif ve çiçekli dönemlerdeki yaprak kısımlarında bulunan izatin miktarlarının ( $4.243 \pm 0.1683$  -  $4.358 \pm 0.0985$  µg/g) Zou ve Koh (2007)'un verilerine göre oldukça düşük ancak Guo ve Chen (1986)'in çalışmalarından elde ettikleri verilere göre daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır.

Zou ve Koh (2007)'un, Çin'in farklı bölgelerinden topladıkları *I. indigotica*'nın kökleri üzerine yaptıkları çalışma sonucunda izatin miktarını 0.30 - 3.45 µg/g aralığında tespit etmişlerdir. Bu değer, çalışmamızda kullandığımız *I. constricta*'nın vejetatif ve çiçekli dönemlerde toplanan kök kısmındaki izatin miktarından ( $0.156 \pm 0.0153$  -  $0.166 \pm 0.0104$  µg/g) daha yüksek bulunmuştur (Bkz. Çizelge 1).

Yaptığımız çalışma sonucunda *I. constricta*'nın sırasıyla çiçekli ve vejetatif dönemlerinde toplanan yaprak örneklerinde bulunan indikan değerinin ( $15.348 \pm 0.092$  -  $21.330 \pm 0.114$  µg/g) kök örneklerinde bulunan indikan değerinden ( $1.580 \pm 0.103$  -  $1.856 \pm 0.015$  µg/g) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. *I. constricta*'nın vejetatif ve çiçekli dönemlerinde toplanan yaprak örneklerinde bulunan indikan değerleri arasındaki fark önemli bulunurken, kök örneklerinde bulunan indikan miktarları arasında fark önemli bulunmamıştır ( Bkz. Çizelge 1).

Zou ve Koh (2007) yaptıkları çalışmada, Çin'in farklı bölgelerinden topladıkları *I. indigotica*'nın yapraklarında bulunan indikan miktarını 12.80 - 29.40 µg/g aralığında bulmuşlardır. Bu değerlerle karşılaştırıldığında, *I. constricta*'nın çiçekli ( $21.330 \pm 0.114$  µg/g) ve vejetatif dönemlerde ( $15.348 \pm 0.092$  µg/g) alınan yaprak örneklerinde tespit ettiğimiz indikan miktarı, Zou ve Koh (2007)'un çalışma sonuçlarına paralellik göstermektedir.

Zhang ve ark. (2000) yaptıkları çalışmada *I. indigotica*'nın yapraklarında bulunan indikan miktarını 305.2 µg/g olarak bulmuşlar. Bu değerler, *I. constricta*'nın

çiçekli ve vejetatif dönemlerinde alınan yaprak örneklerinde tespit ettiğimiz indikan miktarlarından ( $15.348 \pm 0.092$  -  $21.330 \pm 0.114$   $\mu\text{g/g}$ ) oldukça yüksek olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda, *I. constricta*'nın çiçekli ve vejetatif dönemlerinde toplanan kök örneklerinde tespit ettiğimiz indikan değerleri ( $1.580 \pm 0.103$  -  $1.856 \pm 0.015$   $\mu\text{g/g}$ ), Zou ve Koh (2007)'un *I. indigotica*'nın köklerinde buldukları indikan değerleri (1.16 - 43.6  $\mu\text{g/g}$ ) aralığında olduğu görülmektedir (Bkz. Çizelge 1).

.





## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sentetik ilaç ve boyar hammaddelerin kullanımının canlılar üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı, son zamanlarda doğal hammaddelere olan ilgi önemli ölçüde artış göstermiştir. İnsanlar bu doğal hammaddeleri, bunların birincil kaynağı olan bitkilerden elde etme yoluna gitmişlerdir. Ancak bitkilerin ticari amaçlı olarak bilinçsiz bir şekilde doğadan toplanması bazı bitki türlerinin yok olmasına sebep olabilmektedir.

Bitkilerde bulunan doğal hammaddelerin içeriklerine yönelik yapılacak çalışmalarla, hammadde kaynağı olarak kullanılacak bitkiler tespit edilip daha bilinçli bir kullanım olanağı sağlanacaktır.

*Isatis* cinsine ait bitkilerde bulunan indol alkaloidleri hem tıbbi açıdan hem de tekstil sanayisindeki boya özelliklerinden dolayı önemli bileşikler olarak değerlendirilmektedir. Bunlar arasında triptantrin, indirubin, izatin ve indikan *Isatis* türlerinde bulunan önemli bileşiklerdir. Bu çalışmada, *I. constricta*'nın farklı dönemlerdeki (vejetatif ve çiçekli dönemler) kök ve yaprak kısımlarının triptantrin, indirubin, izatin ve indikan indol bileşik içeriği araştırıldı. Bu çalışmada sonucunda, *I. constricta*'nın vejetatif ve çiçekli dönemlerindeki kök ve yaprak kısımlarının triptantrin, indirubin, izatin ve indikan miktarları tespit edilerek elde edilen değerler Çizelge 1'de gösterilmiştir. Yapılan literatür araştırmalarında *I. constricta*'nın indol içeriklerine yönelik herhangi bir çalışmaya rastlanmamış ve dolayısıyla bu çalışma ileride yapılacak benzer çalışmalar için kaynak niteliği taşımaktadır.

Yaptığımız çalışma sonucunda elde ettiğimiz değerler göz önüne alındığında;

1. Triptantrin miktarı, vejetatif dönemde toplanan *I. constricta* bitkisinin yaprak kısımlarında ( $0.482 \pm 0.0072$  µg/g) en fazla düzeyde tespit edildiği için triptantrin bileşiklerinin eldesi için, vejetatif dönemdeki yaprakların kullanımı önerilmektedir.

2. İndirubin miktarının en yüksek olduğu bitki kısmı yaprak ve en yüksek olduğu dönem vejetatif dönem ( $0.029 \pm 0.00007$  µg/g) olduğu için indirubin eldesi için bitkinin vejetatif dönemindeki yaprak kısmı tercih edilebilir.

3. İzatin miktarı, bitkinin çiçekli dönemde toplanan yaprak örneklerinde ( $4.358 \pm 0.0985$ ) en yüksek düzeyde tespit edilmiştir. Bu yüzden izatin eldesi için bitkinin çiçekli dönemindeki yaprakların kullanılması önerilebilir.

4. Yaptığımız çalışmada *I. constricta*'da bulunan indikan miktarı, bitkinin çiçekli döneminde toplanan yaprak örneklerinde en yüksek düzeyde tespit edilmiştir. Bu yüzden, indikan eldesi için kullanılacak bitki kısmı bitkinin çiçekli dönemindeki yaprak örnekleri önerilmektedir.

5. *I. constricta*, zengin kimyasal bileşimi dışında gösterişli çiçekleri ve dayanıklı bitki yapısı nedeniyle peyzaj tasarımı ve süs bitkisi olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle türün kullanım alanlarının yaygınlaştırılmasının faydalı olacağı tahmin edilmektedir.

*Isatis* cinsinin indol bileşik içerikleri, bitkinin kurutulma şartları, bitki türü, bitkinin toplanma zamanı ve bitkinin organına bağlı olarak önemli ölçüde değişiklik gösterdiği önceki çalışmalarda da görülmüştür.

## KAYNAKLAR

- Akar, D., 2006. *Doğu Akdeniz Bölgesinde Yayılış Gösteren Bazı Isatis (Çivitotu) Türlerinin Boyama Özelliklerinin ve Boyarmadde İçeriklerinin İncelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, K.S.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş.
- Alex, D., Lam, I. K., Lin, Z. X., Lee, S. M. Y., 2010. Indirubin Shows Anti-Angiogenic Activity in an In Vivo Zebrafish Model and an In Vitro HUVEC Model. *Journal of Ethnopharmacology*, **131**: 242–247.
- Anonim, 2016a. <https://en.wikipedia.org/wiki/Indican>. Şırnak. Erişim tarihi: 27.11.2016.
- Anonim, 2016b. <https://en.wikipedia.org/wiki/Isatin>. Şırnak. Erişim tarihi: 27.11.2016.
- Bağcı, E., Özçelik, H., 2009. Fattyacid and Tocochromanol Patterns of Some *Isatis* L. (Brassicaceae) Species from Turkey. *Pakistan Journal of Botany*, **41**: 639-646.
- Bebekli, M., Serin, S., 1999. Doğal Kaynaklardan Boyarmadde İzolesi ve Pratikte Kullanılabilirliğinin İncelenmesi. *Çukurova Üniversitesi, Tekstil Mühendisliği Bölümü, Adana/Türkiye. Ulusal Tekstil Kongresi*, 160-164.
- Bhrigu, B., Pathak, D., Siddiqui, N., Alam, M. S., Ahsan, W., 2010. Search for Biological Active Isatins. *A Short Review, International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, **2**: 229-235.
- Bown, D., 1995. Encyclopaedia of Herbs and Their Uses. London: *Dorling Kindersley*, 361-365
- Brattström, A., Schapowal, A., Kamal, M. A., Maillet, I., Ryffel, B., Moserr, R., 2010. The Plant Extract *Isatis tinctoria* L. Extract (ITE) Inhibit Saller Geninduce Dairway Inflammation and Hyperreactivity in Mice. *Phytomedicine*, **17**: 551-556.
- Campeol, E., Angelini, L. G., Tozzi, S., Bertolacci, M., 2006. Seasonal Variation of Indigo Precursors in *Isatis tinctoria* L. and *Polygonum Tinctorium* Ait. As Affected By Water Deficit. *Environmental and Experimental Botany*, **58**: 223-233.
- Chang, Y. S., Ho, Y. L., 2001. Studies on the Homonymic Chinese Crude Drug Species in Taiwan. Evaluation of the Quality of DA-Ching-Yeh and Ching-Dai. *Analytical Sciences*, **17**: 423-426.

- Chang, Y. Z., Chu, W. B., Sheng, Y. X., Qiang, W., Liang, R., 2005. The Synergistic Activity of Antibiotics Combined with Eight Traditional Chinese Medicines Against to Different Strains of Staphylococcus Aureus. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **41**: 79-81.
- Chen, Y., Zhu, X., Yu, Y., Cai, Y., Li, Y., Duan, G., 2012. Comparison of Infrared-Assisted Extraction and Other Techniques for Analysis of Indigo and Indirubin in Leaves of *Isatis indigotica* Fort. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, **35**: 362-374.
- Condurso, C., Verzera, A., Romeo, V., Zino, M., Trozzi, A., ve Ragusa, S., 2006. The Leaf Volatile Constituents of *Isatis tinctoria* by Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Planta Medica*, **72**: 924-928.
- Çömlekçiöglu, N., 2011. *Kahramanmaraş'ta Yayılış Gösteren Bazı Isatis spp. (Çivitotu) Türlerinde Farklı Ekim Zamanlarının Verim Unsurlarına Etkisi ile Boyama Özelliklerinin ve Boyarmadde Miktarının Saptanması*. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi.
- Da Silva, J. F. M., Garden, S. J., Pinto, A. C., 2001. The Chemistry of Isatins: A Review from 1975 to 1999. *Journal of Brazilian Chemical Society*, **12**: 273-324.
- Davis, P. H., 1965-1985. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edinburg University Press, Edinburg, 1-9.
- Duru, H., 2003. *Doğu Akdeniz Bölgesinde Yayılış Gösteren Isatis tinctoria subsp. tomentella ve Isatis cappadocica subsp. Stevenia Türllerinin Morfolojik Özelliklerinin ve Boya Kalitesinin İncelenmesi*. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Ensley, B. D., Ratzkin B. J., Osslund T. D., Simon M. J., Wackett L. P., Gibson D. T., 1983. Expression of Naphthalene Oxidation Genes in Escherichia Coli Results in the Biosynthesis of Indigo. *Science*, **222**: 167-169.
- Guo, Y., Chen, F., 1986. TLC-UV-Spectrophotometric and TLC-Scanning Determination of Isatin TLC-UV-Spectrophotometric and TLC-Scanning Determination of Isatin in Leaf of *Isatis L.*, *Zhongcaoyao*, **17**: 8-11.

- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M. T., (edlr.). **Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bktiler )**, Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları Flora Dizisi, İstanbul, 1.
- Hamburger, M., 2002. *Isatis tinctoria* from the Rediscovery of an Ancient Medicinal Plant Towards a Novel Anti-Inflammatory Phytopharmaceutical. **Phytochemistry Reviews**, **1**: 333-344.
- Hoessel, R., Leclerc, S., Endicott, J. A., Nobel M.E.M., Laurie, A., Tunnah, P., Loest, M., Damiens, E., Marie, D., Marko, D., Niederberger, E., Tang, W., Eisenbrand, G., Meijer, L., 1999. Indirubin, the Active Constituent of a Chinese Antileukemia Medicine, Inhibits Cyclin-Dependent Kinases. **Nature Cell Biology**, **1**: 60–67.
- Honda, G., Tosirisuk, V., Tabata, M., 1980. Isolation of an Antidermatophytic, Tryptanthrin, from Indigo Plants, *Polygonum tinctorium* and *Isatis tinctoria*. **Planta Medica**, **38**: 275-276.
- KıRıCı, S., 1998. Doğal Kaynaklardan Elde Edilen Boyarmaddeler. **Ç.Ü.Z.F. Dergisi**, 9-11.
- Kızıl, S., 2000. **Bazı Çivit Otu (Isatis tinctoria L. ve Isatis constricta Davis) Türlerinde Uygun Ekim Sıklığı ve Boyama Özelliklerinin Saptanması Üzerine Araştırmalar**. Ankara Üniversitesi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara.
- Kimoto, T., Hino, K., Koya-Miyata, S., Yamamoto, Y., et al., 2001. Cell Differentiation and Apoptosis of Monocytic and Promyelocytic Leukemia Cells (U-937 and HL-60) By Tryptanthrin, an Active Ingredient of *Polygonum Tinctorium* Lour. **Pathology International**, **51**: 315-325.
- Li, J., Miao, S., Xie, Y., Wang, J., Wei, C., Bi, L., Wang, S. 2011. **Pharmacokinetics and Tissue Distribution Study of Tryptanthrin in Rats by RP-HPLC with DAD Detector**, **75**: 1415-1420.
- Liau, B. C., Jong, T. T., Lee, M. R., Chen, S. S., 2007. Short Communication LC-APCI-MS Method for Detection and Analysis of Tryptanthrin, Indigo, and Indirubin in Daqingye and Banlangen. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, **43**: 346-351.
- Ling, C. H., Yan, Y. H., Ki, N., Nam, L. K., 2009. Modulatory Effects and Action Mechanisms of Tryptanthrin on Murine Myeloid Leukemia Cells. **Cellular & Molecular Immunology**, **6**: 335-342.

- Maier, W., Schumann, B., Groger, D., 1990. Biosynthesis of Indoxyl Derivatives in *Isatis tinctoria* and *Polygonum tinctorium*. ***Phytochemistry*, 29:** 817-819.
- Medvedev, A., Buneeva, A., Glover, V., 2007. Biological Targets for Isatin and Its Analogues, Implications for Therapy, Biologics. ***Targets & Therapy*, 1.**
- Mısırdalı, H., 1985. ***Doğu, Güneydoğu Anadolu ve Akdeniz Bölgelerinin Isatis L. Türleri Üzerinde Morfolojik ve Sitolojik Araştırmalar***. TÜBİTAK Bilimsel Araştırma Grubu, Proje No: TBAG-535, Eskişehir, 139.
- Micallef, M. J., Iwaki, K., Ishihara, T., Ushio, S., Aga, M., Kunikata, T., Koya-Miyata, S., Kimoto, T., Ikeda, M., Kurimoto, M., 2002. The Natural Plant Product Tryptanthrin Ameliorates Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis in Mice. ***International Immunopharmacology*, 2:** 565-578.
- Mohn, T., Potterat, O., Hamburger, M., 2007. Quantification of Active Principles and Pigments in Leaf Extracts of *Isatis tinctoria* by HPLC/UV/MS. ***Planta Medica*, 73:** 151-156.
- Mohn, T., Plitzko, I., Hamburger, M., 2009. A Comprehensive Metabolite Profiling of *Isatis tinctoria* Leaf Extracts. ***Phytochemistry*, 70:** 924-934.
- Monaco, T. A., Johnson, D., Creech, J., 2005. Morphological and Physiological Responses of the Invasive Weed *Isatis tinctoria* to Contrasting Light, Soilnitrogen and Water. ***Weed Research*, 45:** 460-466.
- Oberthür, C., Hamburger, M., 2004. Triptantrin Content in *Isatis tinctoria* Leaves-A Comparative Study of Selected Strains and Post-Harvest Treatments. ***Planta Medica*, 70:** 642-645.
- Oberthür, C., Schneider, B., Graf, H., Hamburger, M., 2004. The Elusive Indigo Precursors in Woad (*I. tinctoria* L.) Identification of the Major Indigo Precursor, Isatan A, and A Structure Revision of Isatan B. ***Chemistry & Biodiversity*, 1:** 174-182.
- Oksay, D., Oksay, M., 2009. Bitki Sekonder Metabolitlerinin Biyoteknolojik Önemi, ***e-Journal of New World Sciences Academy Ecological Life Sciences*, 4:** 31-41.
- O'Neill, C., 1892. Products from Indigo-Blue. ***Chemistry News*, 65:** 124.
- Özgen, M., Ertunç, F., Kınacı, G., Yıldız, M., Birsin, M., Ulukan, H., Emiroğlu, H., Koyuncu, N., Sancak, C., 2005. Tarım Teknolojilerinde Yeni Yaklaşımlar ve

- Uygulamalar, Bitki Biyoteknolojisi. *Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi*, Ankara, Cilt 1, 315–346.
- Özgökçe, F., Yılmaz, İ., 2003. Dye Plants of Eastern Anatolia Region (Turkey). *Economic Botany*, **57**: 454-460.
- Puchalska, M., Polec-Pawlak-Irmina, K., Zadrozna, H., Jarosz, M., 2004. Warsaw University of Technology, Faculty of Chemistry, Department of Analytical Chemistry, Noakowskiego 3, 00-664 Warsaw, Poland. *International Science*, **41**: 613-622.
- Ratnamala, P., Sonawane, R.P., Rahul, R., Tripathi, R.R., 2013. The Chemistry and Synthesis of 1H-Indole-2,3-Dione (Isatin) and Its Derivatives, International Letters of Chemistry. *Physics and Astronomy*, **7**: 30-36.
- Recio, M. C., Cerdá-Nicolás, M., Potterat, O., Hamburger, M., Ríos, J. L., 2006. Anti-Inflammatory and Antiallergic Activity in Vivo of Lipophilic *Isatis tinctoria* Extracts and Tryptanthrin. *Planta Medica*, **72**: 539-546.
- Roche, C., 1992. Dyers woad (*Isatis tinctoria* L.). *Pacific Northwest Cooperative Extension Publication (PNW384)*, 2.
- Spink, B. C., Hussain, M. M., Katz, B. H., Eisele, L., Spink, D. C. 2003. *Biochemical Pharmacology*, **66**: 2313–2321.
- Sumpter, W. C., 1944. The Chemistry of Isatin. *Chemical Reviews*, **34**: 393–434.
- Takei, Y., Kunikata, T., Aga, M., Ushio, S., Iwaki, K., Ikeda, M., Kurimoto, M., 2003. Tryptanthrin Inhibits Interferon-Gamma Production by Peyer's Patch Lymphocytes Derived from Mice That Had Been Orally Administered Staphylococcal Enterotoxin. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **3**: 365-367.
- Tansı, S., 1998. Çukurova Koşullarında Çivit Otu (*Isatis tinctoria*)'nun Performansının Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 1.
- Vanisree, M., Lee, C.Y., Lo, S.F., Nalawade, S. B., Lin, C. Y., Tsay, H. S., 2004. Studies on the Production of Some Important Secondary Metabolites from Medicinal Plants by Plant Tissue Cultures. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, **45**: 1-22.
- Yu, S. T., Chen, T. M., Chern, J. W., Tseng, S. Y., Chen, Y. H., 2009. Downregulation of Gstpi Expression by Tryptanthrin Contributing to Sensitization of Doxorubicin-

Resistant MCF-7 Cells Through C-Jun NH2-Terminal Kinase-Mediated Apoptosis. *Anticancer Drugs*, **20**: 382-388.

Zhang, W., Tian, J., Ying, R., 2000. Determination of Indican in the Radix Isatidis, Folium Isatidis and Granules of Banlangen by Thin-Layer Chromatography. *Yaowu Fenxi Zazhi*, **20**: 322-223.

Zou, P., Hong, Y., Koh, H. L., 2005. Chemical Fingerprinting of *Isatis indigotica* Root by RP-HPLC and Hierarchical Clustering Analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **3**: 514-520.

Zou, P., Koh, H. L., 2007. Determination of Indican, Isatin, Indirubin and Indigotin in *Isatis indigotica* by Liquidchromatography/Electrosprayionization Tandem Mass Spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **21**: 1239-1246.



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Nesim YILDIZ  
Uyruğu : T.C.  
Doğum tarihi ve yeri : 04.04.1988 / İdil  
Telefon : 0 541 486 23 92  
e-posta : nesimyildiz1988@gmail.com

### Eğitim

| Derece | Kurum                                    | Mezuniyet tarihi |
|--------|--|------------------|
| Lisans | Ege Üniv. / Ziraat Fak. Tarla Bitk. Böl. | 2013             |
| Lise   | Midyat İMKB lisesi                       | 2006             |

### İş Deneyimi

| Yıl       | Kurum                    | Görev                    |
|-----------|--------------------------|--------------------------|
| 2013-2014 | Kırca Orta Okulu         | Fen Bilgisi Öğretmenliği |
| 2014-2015 | İdil Ziraat Odası        | Tarım Danışmanı          |
| 2016-2017 | Uçarlı Orta Okulu        | Matematik Öğretmenliği   |
| 2017-     | Tarım Sigortaları Havuzu | Eksper                   |

### Yabancı Dil

İngilizce: 56,25 (YDS), 73,75 (YÖKDİL)