



**KARA YAVŞAN (*Artemisia campestris*) BİTKİ KÖKÜNÜN ANTIOKSİDAN
KAPASİTESİNİN BELİRLENMESİ VE ANTIOKSİDAN BİLEŞİKLERİNİN
İZOLASYONU**

SEDAT KARA

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANA BİLİM DALI
Prof. Dr. Mahfuz ELMATAŞ
Temmuz - 2018
Her hakkı saklıdır.**

T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KARA YAVŞAN (*Artemisia campestris*) BİTKİ KÖKÜNÜN ANTIOKSİDAN
KAPASİTESİNİN BELİRLENMESİ VE ANTIOKSİDAN BİLEŞİKLERİNİN
İZOLASYONU

SEDAT KARA

TOKAT
Temmuz - 2018

Her hakkı saklıdır.

Sedat KARA tarafından hazırlanan “Kara Yavşan (*Artemisia campestris*) Bitki Kökünün Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi ve Antioksidan Bileşiklerinin İzolasyonu” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 20 TEMMUZ 2018 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü KİMYA ANA BİLİM DALI 'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman

Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ
Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Üye

Prof. Dr. Ömer İŞILDAK
Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Üye

Dr. Öğretim Üyesi Fatma GEDİKLİ
Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Mahfuz Elmastaş

Ömer İşildak

Fatma Gedikli

ONAY

Prof. Dr. Ebubekir ALTUNTAŞ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

SEDAT KARA

20 Temmuz 2018

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KARA YAVŞAN (*Artemisia campestris*) BİTKİ KÖKÜNÜN ANTIOKSİDAN KAPASİTESİNİN BELİRLENMESİ VE ANTIOKSİDAN BİLEŞİKLERİNİN İZOLASYONU

SEDAT KARA

**TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANA BİLİM DALI**

TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. MAHFUZ ELMASTAŞ

Bitkiler halk ilacı olarak yıllardır kullanılmaktadır. İçerdikleri biyoaktif sekonder metabolitlerden dolayı ilaç endüstrisinin ilgi odağı haline gelmiştir. Bu çalışmada, *Artemisia campestris* kökleri sıvı azot ile parçalanarak toz haline getirildi ve hekzan, etil asetat ve metanol ile ekstraksiyona tabi tutuldu. İlgili ekstraktlar üzerinde yapılan antioksidan aktivite testleri sonucuna göre, metanol ekstraktının en yüksek aktivite gösterdiği belirlendi. Antioksidan testleri için 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil serbest radikal (DPPH[•]) aktivitesi, 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikal aktivitesi, indirgeme gücü yöntemleri kullanıldı. Metanol ekstraktından aktif bileşiklerin izolasyonu için kromatografik yöntemler kullanıldı. İzole edilen bileşiklerin yapıları 1D-, 2D-NMR ile belirlendi. Neoklorojenik asit ve klorojenik asit izole edilerek yapıları belirlendi. Her iki bileşikte yüksek derecede antioksidan aktivite gösterdiği ortaya kondu.

2018, 38 Sayfa

ANAHTAR KELİMELER: *A. campestris* antioksidan aktivite, izolasyon

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF THE ANTIOXIDANT CAPACITY OF THE ROOT OF THE KARA YAVŞAN (*Artemisia campestris*) AND ISOLATION OF ANTIOXIDANT COMPOUNDS

Sedat KARA

GAZIOSMANPASA UNIVERSITY

Graduate School of Natural and applied SCIENCES

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

SUPERVISOR: PROF. DR. MAHFUZ ELMASTAŞ

Plants have been used in folk medicine for years. Due to the including bioactive secondary metabolites, they gained the great interest for pharmaceutical industry. In this work, root of *Artemisia campestris* was powdered with liquid nitrogen then extracted with hexane, ethyl acetate and methanol sequentially. After the removing of the solvent from each extract, hexane, ethyl acetate, methanol extracts were obtained. The antioxidant activity of these extracts was carried out using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radical (DPPH[•]) scavenging, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging, reducing power techniques. Methanol extract displayed the most antioxidant activity Therefore, methanol extract was subjected to chromatography to isolate the compounds whose structures were elucidated by spectroscopic techniques such as 1D-, 2D-NMR. Neochlorogenic acid and Chlorogenic acid were isolated and identified. Both compounds showed the excellent antioxidant activity.

2018, 38 Pages

KEYWORDS: *A. campestris* antioxidant activity, isolation

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim boyunca gerek ders aşamasında gerekse tez aşamasında bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, benim için her zaman yol gösterici olan değerli hocam Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ' a

Tez yazma aşamasında tecrübe ve bilgi birikimini bana aktaran Prof. Dr. Ramazan ERENLER'e;

Çalıştığım bitki hakkında bilgi birikimini benimle paylaşan ve bitkiyi temin etme konusunda yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. İsa TELCİ' ye;

Gerek laboratuvar çalışmalarında gerekse tezimi yazma aşamasında bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen Dr. Öğretim Üyesi Hüseyin AKŞİT' e, Uzman Dr. Nusret GENÇ' e lisans ve yüksek lisans arkadaşlarım Beşir İSNAÇ, Ömer KAYIR ve Bilal MERAL' e

Bölümümüzün her türlü imkânından faydalanmamı sağlayan Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü yöneticilerine ve manevi desteğini esirgemeyen bütün öğretim elemanlarına;

Bütün hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini esirgemeyen ve her zaman yanımda olan canım aileme;

Çok teşekkür ederim.

Sedat KARA

20 Temmuz 2018

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER KAYNAK ÖZETLERİ.....	2
2.1 <i>Artemisia campestris</i> , Bitkisinin Özellikleri	2
2.2. Sistematik	3
2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidan Aktivite	3
2.4. Flavonoidler.....	4
2.5. Kaynak Özetleri	5
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	7
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	7
3.2. Kullanılan Cihazlar	7
3.3. Bitkisel Materyal.....	7
3.4. Bitkinin Ekstraksiyonu.....	8
3.5. Uygulanan Antioksidan Aktivite Testleri	8
3.5.1. Radikal Giderme (DPPH·) Testi	8
3.5.2.İndirgeme Gücü (FRAP) Aktivitesi.....	9
3.5.3.ABTS ⁺ Radikali Giderme Aktivitesi.....	9
3.6. Etkili Bileşiklerin Saflaştırılmasında Kullanılan Teknikler	9
3.6.1. Kolon kromatografisi	9
3.6.2. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK).....	10
3.6.3. Yapı Tayininde Kullanılan Spektroskopik Teknikler	10
3.6.3.1. NMR Spektroskopisi.....	10
3.6.3.1.1. 1D NMR Teknikleri	10

3.6.3.1.2. 2D-NMR Teknikleri.....	11
4. BULGULAR.....	12
4.1. Ekstrelelere Uygulanan Antioksidan Aktive Testlerinin Sonuçları.....	12
4.2. İzolasyon İşlemi.....	12
4.3. <i>Artemisia campestris</i> Bitkisinden İzle Edilen Bileşikler.....	13
4.3.1. Neoklorojenik Asit'in Fiziksel ve Spektral Özellikleri.....	13
4.3.2. Klorojenik Asit'in Fiziksel ve Spektral Özellikleri.....	16
4.4. İzole Edilen Bileşiğe Uygulanan Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	18
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	19
6. KAYNAKLAR	20
7. EKLER	22
7.1. Neoklorojenik Asit ve Klorojenik Asit Moleküllerinin 1D ve 2D-NMR Spektrumları	22

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simge	Açıklama
µg.	Mikrogram
mg.	Miligram
kg.	Kilogram
µL.	Mikrolitre
mL.	Mililitre
L.	Litre
M	Molar
mM.	Milimolar
µM.	Mikromolar
<i>p</i> -	Para konum
β	Beta
α	Alfa
R _f	Yürüme Hızı
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
UV	Ultra Viyole
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
APT	Attached Proton Test
COSY	Correlation Spectroscopy
HETCOR	Heteronuclear Correlation
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
DMSO-d ₆	Dötero Dimetilsülfoksit
ABTS ⁺	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)
FRAP	Demir (III) İyonu İndirgenmesine Dayalı Antioksidan Aktivitesi
DPPH [•]	2,2-difenil-1-pikril hidrazil radikali
BHA	Bütillenmiş Hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş Hidroksitoluen
TROLOKS	6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid
IC ₅₀	Yüzde Aktivitenin Yarısı Kadar Aktivite Gösteren Derişim
TE	Troloksa Eşdeğer
TCA	Trikloro Asetik Asit

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2. 1 <i>Artemisia campestris</i> bitkisi.....	2
Şekil 2. 2 Genel flavon iskeleti	4
Şekil 2. 3 Flavonoidlerin kimyasal yapısı (Manach ve ark., 2004).	5
Şekil 3. 1 <i>Artemisia campestris</i> kök kısmının ekstraksiyon aşamaları	8
Şekil 3. 2 İTK kontrollü birleştirilen bazı fraksiyonlar.	10
Şekil 4. 1 İzole edilen Neoklorojenik Asit'in İTK görünümleri.....	13
Şekil 4. 2 Neoklorojenik Asit'in molekül yapısı	13
Şekil 4. 3 Neoklorojenik asit ¹ H-NMR spektrumu (¹ H-NMR400 MHz DMSO-d ₆)	15
Şekil 4. 4 Klorojenik asit molekülünün kimyasal yapısı	16
Şekil 4. 5 Klorojenik asit'in ¹ H-NMR spektrumu (¹ H-NMR400 MHz DMSO-d ₆)	17

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2. 1. <i>Artemisia campestris</i> bitkisinin özellikleri ve yayılımı.....	2
Çizelge 2.2. Biyolojik Önemi Olan Bazı Serbest Radikaller	3
Çizelge 4. 1 Ekstrelelere uygulanan antioksidan aktivite test sonuçları.....	12
Çizelge 4. 2 Neoklorojenik Asit'in ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR kimyasal kayma değerleri	14
Çizelge 4. 3 Klorojenik Asit'in ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR kimyasal kayma değerleri	16
Çizelge 4. 4 İzole Edilen Bileşiğe Uygulanan DPPH•, FRAP ve ABTS ⁺ Aktivite test sonuçları	18

1. GİRİŞ

İnsanlığın varoluşundan beri hastalıklar, fitoterapi ile tedavi edilmeye çalışılmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) gelişmiş ülkelerin çoğunda ilaçların yaklaşık %25'ini bitkisel kökenli etken maddelerden (vimbilastin, rezepin, kinin, aspirin vb.) oluştuğunu rapor edilmektedir (Farnsworth ve ark., 1985).

İlk çağ kalıntılarındaki bulgulara göre insanlar, beslenme ve sağlık ihtiyaçları için öncelikli olarak bitkileri kullanmışlardır (Kocyigit, 2005).

Sekonder bileşikler, bitkilerden elde edilen, bitkilerin biyolojik etkileri üzerine primer bileşikler gibi etki etmeyen, buna karşılık ilaç sanayii, gıda ve kozmetik sektörlerinde ekonomik olarak önemli ve boşluğu doldurulamayacak kimyasallar olarak nitelendirilmektedir. (Wink, 1999).

Sekonder bileşikler gurubu, geniş gruplar olup, içinde bulunan fenolik bileşiklerin canlılar üzerine etkileri sebebiyle önemlidirler. Fenoliklerin, anti kanserojen ve mikropları etkisiz hale getirmeleri nedeniyle canlılar üzerinde olumlu etkileri belirlenmiştir (Khalil ve ark., 2007).

Bu zamana kadar *Artemisia campestris* bitkisi üzerine yapılan çalışmalar için bitkinin gövde ve yaprak kısmı kullanılmıştır. Bu çalışmalar genellikle antioksidan aktivitesi ve antikanser aktivitesi üzerine yapılmıştır. *Artemisia campestris* bitkinin sekonder metabolitlerinin izolasyonu ve biyolojik aktiviteleriyle ilgili hiçbir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada *Artemisia campestris* bitkisinin kök kısmının sekonder metabolitlerinin izolasyonu, biyolojik aktivitelerinin ortaya konulması ve bileşiklerin yüksek aktivite göstermesi durumunda ise ilaç, gıda ve kozmetik sektörü gibi birçok sektörde hali hazırda kullanılan bitkisel kökenli ürünlerin çeşitliliğine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 *Artemisia campestris*, Bitkisinin Özellikleri

Artemisia campestris, "Yavşan otu" veya "Kara yavşan" olarak bilinen Türkiye'nin belli bölgelerinde yayılım gösteren *Asteraceae* familyasına ait çok yıllık bitkidir.

Artemisia cinsinin dünyada Kuzey iklimi, Güney Afrika ve Güney Amerika'da görülen 400 kadar türü bulunmaktadır. Bunun 57 türü Avrupa'da, 22 türü ise Türkiye'de yetiştiği belirlenmiştir(Davis, 1975; Hickey, 1981). Türkiye'de 22 *Artemisia* türünden geniş yayılıma sahip olan türleri *Artemisia vulgaris*, *Artemisia annua*, *Artemisia absinthium*, *Artemisia campestris*, *Artemisia marchalliana*, *Artemisia scoparia*, *Artemisia santonicum*, *Artemisia spicigera*'dır (Davis, 1975).



Şekil 2. 1 *Artemisia campestris* bitkisi

Çizelge 2. 1. *Artemisia campestris* bitkisinin özellikleri ve yayılımı

Genel Özellikleri Ve Yayılımı	
Ömür	Çok Yıllık
Yapı	Otsu
Çiçeklenme Dönemi	6.-9. ay
Habitat	Tepe yanları, kumluk alanlar
Yükseklik	0-1500
Endemik	Endemik değil
Türkiye Dağılımı	Kuzey Batı Türkiye, Kuzey Anadolu, Orta Anadolu, Doğu
Genel Dağılımı	Avrupa, Kuzey Batı Afrika

2.2. Sistematik

Alem : *Plantae*

Şube : *Tracheobionta*

Bölüm : *Magnoliophyta*

Sınıf : *Magnoliopsida*

Takım : *Asterales*

Alt Takım : *Asteridae***Aile :** *Asteraceae*

Cins : *Artemisia*

Tür : *Artemisia campestris*

2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidan Aktivite

Serbest radikaller hücre içi ve hücre dışı etkenlere bağlı olarak oluşan, bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran, kararsız moleküller olarak tanımlanmaktadır. Canlılarda antioksidan savunama sistemleri ve serbest radikaller arasında doğal bir denge bulunur. (Mercan, 2004). Molekül veya bir grubun tek elektronunu, yani serbest radikal olduğunu belirtmek için sağında bir nokta bulunur.(John, 1988.)

Birçok hastalığın temel nedenleri arasında serbest radikaller ve oksidatif stres rol oynamaktadır (S.S. Ali, 2008). Canlılarda serbest radikaller en çok e⁻ alış verişi sonunda meydana gelir(Hallıwell, 1999).

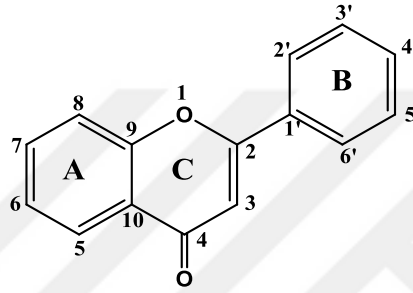
Çizelge 2.2. Biyolojik Önemi Olan Bazı Serbest Radikaller

Radikaller	Non-radikaller
Süperoksit, O ₂ ⁻	Hidrojen peroksit, H ₂ O ₂
Hidroksil, OH ⁻	Hipokloröz asit, HOCl
Peroksil, RO ₂	Ozon, O ₃
Alkoksil, RO	Singlet oksijen, O ⁻
Hidroperoksit, HO ₂	Peroksinitrit, ONOO ⁻
Nitrik oksit, NO	Hidroperoksid, L(R)OOH

Bu nedenle serbest radikalleri ortadan kaldıran ya da etkilerini minimuma indiren ajanlar olarak antioksidan bileşiklerin önemi artmaktadır.

2.4. Flavonoidler

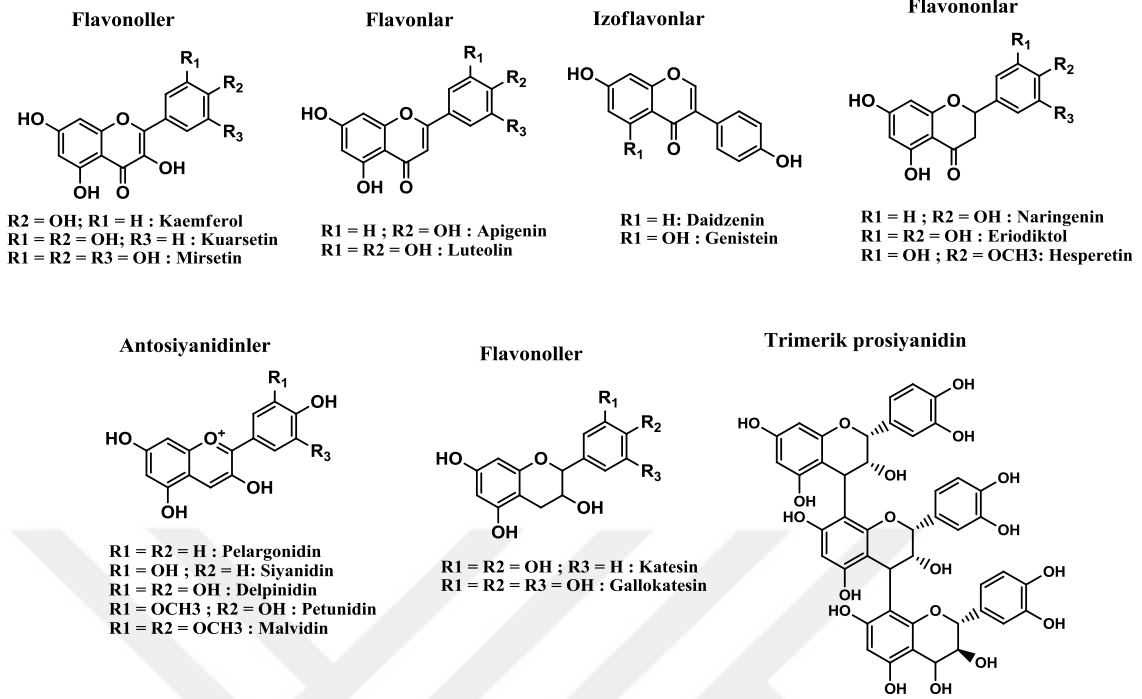
Flavonoidler; önemli ölçüde antioksidan özelliğine sahip olan, molekül ağırlığı düşük ve en yaygın fenolikler sınıfıdır. Altı karbonlu A, B ve C halkalarından oluşan heterosiklik bileşikler, hetero halkanın yükseltgenme derecesine göre farklılaşırlar. Aromatik halkayı oluşturan grup A ve B, hetero halkayı oluşturan grup ise C olarak ifade edilir. Karbon atomları C halkasında olan oksijenden başlanarak, B halkasında bulunan karbon atomları ise üssü (') rakamlarıyla numaralandırılırlar.



Şekil 2. 2 Genel flavon iskeleti

Flavonoidler molekülde bulunan aromatik halkalara bağlanan substituentlerinin sayısı, özelliği, bağlanma pozisyonlarına göre farklı kimyasal yapılara ve fizyolojik etkilere sahiptir. (Makris, 2006).

Bütün bitki metabolizmalarında, sekonder metabolit olarak bulunan ve bitkilerin kendilerini bazı zararlılara karşı korumada rolleri olduğu sanılan çok sayıda farklı nitelik ve miktarlarda çeşitli fenolik bileşikler bulunmaktadır (Saldamlı, 2007).



Şekil 2. 3 Flavonoidlerin kimyasal yapısı (Manach ve ark., 2004).

2.5. Kaynak Özetleri

Artemisia campestris bitkisinin çiçek, yaprak ve gövdesinden elde edilen uçucu yağların bileşenleri GC ve GC-MS ile analiz edilmiş. Uçucu yağın %95,4 ünü oluşturan 19 bileşen çiçeklerde belirlenirken, yapraktan da yağın % 90,3 ünü ihtiva eden 22 bileşen belirlenmiştir. Gövdeden elde edilen yağın %96,7 sini oluşturan 14 bileşen belirlenmiştir. Çiçek, yaprak ve gövdeden elde edilen yağdaki ana bileşenlerin sırasıyla α -pinen (%23,9, %23,0, %29,2), ve sptahulenol (%23.9, %15.8 ve %29.2) olduğu belirlendi. Çiçek yağındaki diğer ana bileşenin bisiklogermacren (%12.0) ve yaprakta da beta-pinen (%12.6) olduğu belirlenmiştir. Çiçek, yaprak ve gövdenin uçucu yağları arasında önemli bir fark gözlenmemiştir (Kazemi ve ark., 2009).

Artemisia campestris sub. *caudata* sulu ekstraktı mikorizal mantar ve fide büyümesi kumul çim köklerinin kolonizasyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Yüksek ekstre konsantrasyonları kolonizasyon yüzdesini azaltmış ve üç çim türlerinin büyümesini inhibe etmiştir. Kolonideki mikorizal mantarları ekstre ile tohumlardan daha hassas büyüme gösterdiğini belirtmişlerdir (Yun ve ark., 2007).

Artemisia campestris sub *caudata* mikorizal mantarların tohum çimlenmesi ve birkaç kumul türlerin fide büyümesi ve kolonizasyonu üzerine allelopatik etkilerini test etmek için sera çalışmaları yapılmıştır. *Artemisia campestris* bitkisinin sulu ekstreleri tohum çimlenmesi, fide büyümesi veya bitkideki kuru ağırlık artışı üzerine daha düşük konsantrasyonlarda (% 10 ve 50) herhangi bir inhibitör etki göstermemişken ekstrenin % 100 konsantrasyonunda test türlerine bağlı olarak inhibisyon derecesi değişen farklılıklar göstermiş olduğu rapor edilmiştir (Yun ve Maun, 1997).

Metanol ham ekstresi ve iki çözücü ekstresindeki (Etil asetat ve su) önemli fenolik bileşiklerin taraması verimli ve hızlı bir şekilde LC-MS TOF ile yapılmıştır. 39 adet molekül belirlenmiştir. Kumarinler, flavonlar, flavonoller, fenolik asitler ve seskiterpenleri içeren onlarcası belirlendi. Bunlardan 24'ü bu türde ilk kez belirlenmiştir. Antioksidan sonuçlarının değerlendirilmesine ilişkin olarak; en düşük hacimlerde metanol ve etil asetat ekstreleri, en yüksek aktiviteyi göstermiştir (DPPH için IC₅₀ değerleri sırasıyla 6 ve 1011 µg/mL). Bunun yanı sıra etil asetat fazı *Bacillus thuringiensis* (inhibition zone (IZ) = 18 mm) ve *Vibra vulnificus* (IZ= 16 mm) e karşı daha güçlü ve kayda değer bir antimikrobiyel aktivite gösterdiği bulunmuştur. Metanol ise *Listeria monocytogenes* (IZ= 13,5 mm) e karşı daha aktif olduğu bulunmuştur. Bu bulgular sonucunda, *A. campestris* in sanayi için gelecek vaat eden bir bitki olduğu ve gıdaları bozulmaya karşı koruduğu ve besin takviyesi olarak kullanılabileceği öngörülmüştür (Megdiche-Ksouri ve ark., 2015).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çözücüler: Metanol (TEKKİM), etilasetat(TEKKİM), hegzan(TEKKİM), kloroform(TEKKİM), asetonitril(J.T. Baker) ve diklorometan(TEKKİM) kullanıldı. Bu çözücüler destilasyon işlemi yapıldıktan sonra kullanıldı. NMR analizlerinde döteryumlu çözümler kullanıldı.

Reaktifler: DPPH', demir(III)klorür ferrozin (sigma), $K_3Fe(CN)_6$, TCA, KH_2PO_4 , Na_2CO_3 , Folin kimyasalı (sigma-aldrich), bütil hidroksi anisol, bütil hidroksi toluen, Vitamin E, gallikasit (merck), Amonyumseryumsülfat(sigma).

Dolgu maddeleri: TLC tabakaları (20 x 20), (merck), silikajel (merck 60 - 230 mesh) ve silikajel G_{F254}

İndikatör: Seriksülfat çözeltisi (12 g amonyumseryum(IV)sülfat alındı üzerine 50 mL derişik sülfürik asit ilave edildi. Karıştırıldıktan sonra hacim 500 mL'ye tamamlanarak hazırlandı).

3.2. Kullanılan Cihazlar

NMR Cihazı: Bruker Avence III 400 MHz 1H ve 100 MHz ^{13}C

UV Spektrofotometre Cihazı: Hitachi U-2900

Döner buharlaştırıcı: Heidolph

Manyetik Karıştırıcı: İKA marka

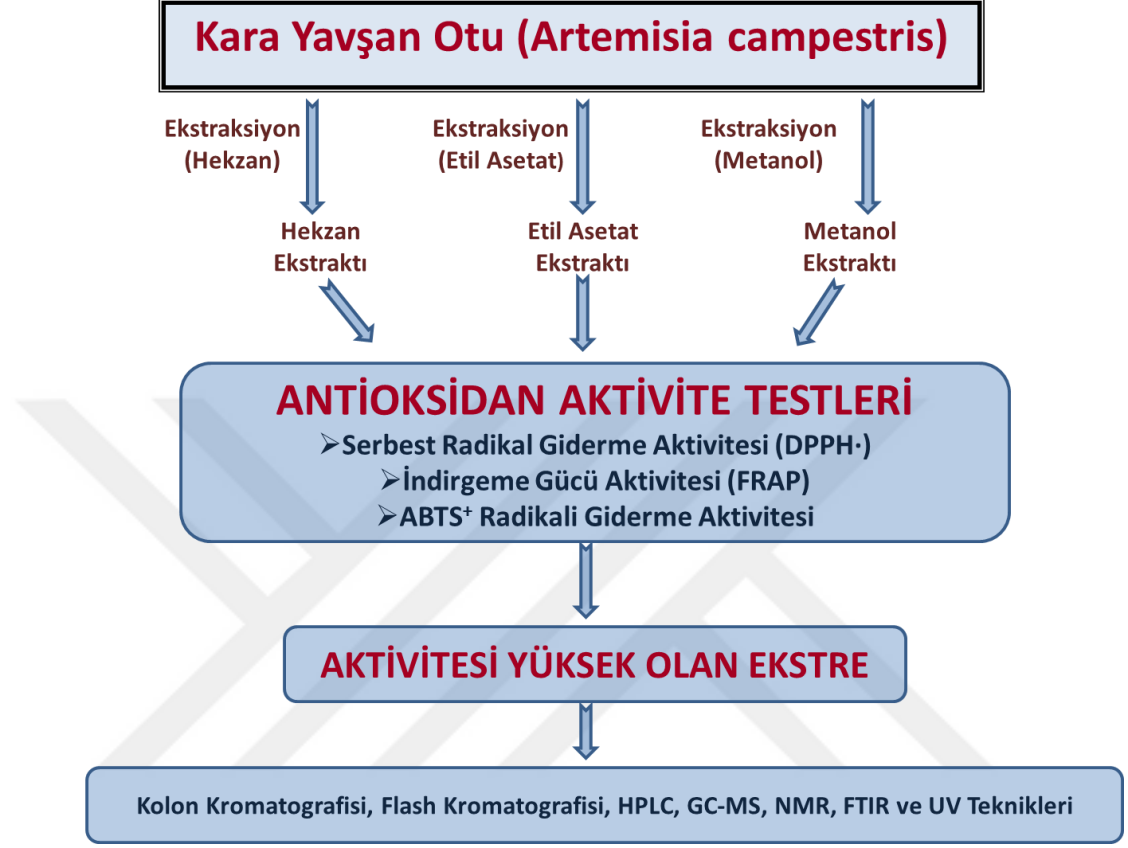
Liyofilizatör: ScanVac marka

3.3. Bitkisel Materyal

Tez çalışması kapsamında kullanılan *Artemisia campestris* bitkisinin kökü Isparta ilinden toplandı. Bitkinin tür teşhisi Mustafa Kemal Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümü öğretim üyesi Prof Dr. Ahmet İLÇİM tarafından yapıldı. Bitki MKUH 1201 herbaryum numarasıyla saklanmıştır.

3.4. Bitkinin Ekstraksiyonu

Bitkinin kök kısmı sıvı azot yardımı ile parçalandı ekstraksiyon işlemi yapıldı.



Şekil 3. 1 *Artemisia campestris* kök kısmının ekstraksiyon aşamaları

3.5. Uygulanan Antioksidan Aktivite Testleri

3.5.1. Radikal Giderme (DPPH·) Testi

Radikal giderme aktivitesi (Blois, 1958)'in yapmış olduğu metotla uygulandı. 0,26 mM DPPH(2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) etil alkol içinde hazırlandı. Örneklerin stok çözeltilerinden belirlenen miktarda (10-200 µg/mL) alınıp üzerine 1 mililitre DPPH (0,26 mM) eklendi ve tüp içindeki örneğin hacmi 4 mL oluncaya kadar üzerine etil alkol eklendi. Vortekslendikten sonra 30 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra her bir numunenin absorbansı 517 nanometrede spektrofotometre ile ölçüm yapıldı. Elde edilen veriler IC₅₀ şeklinde hesaplandı.

3.5.2.İndirgeme Gücü (FRAP) Aktivitesi

Elmastaş ve arkadaşlarının (Elmastas ve ark., 2006) yöntemine göre yapıldı. 100 µL stok çözeltiden alınarak fosfat tamponu (0.2M, pH=6,6) ile hacmi 1,25 mL'ye tamamlandı ve üzerine 1,25 mL potasyum ferrik siyanür [$K_3Fe(CN)_6$] (%1) ilave edildi. Bu karışım 50 °C'de 20 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, bu karışıma TCA (1,25 mL, % 10) ve $FeCl_3$ (0,25 mL, % 0,1) ilave edildi. Elde edilen son karışımın absorbanları 700 nm'de kaydedildi. Sonuçlar troloksa eşdeğer (mmol TE/g ekstre) şeklinde verilmiştir.

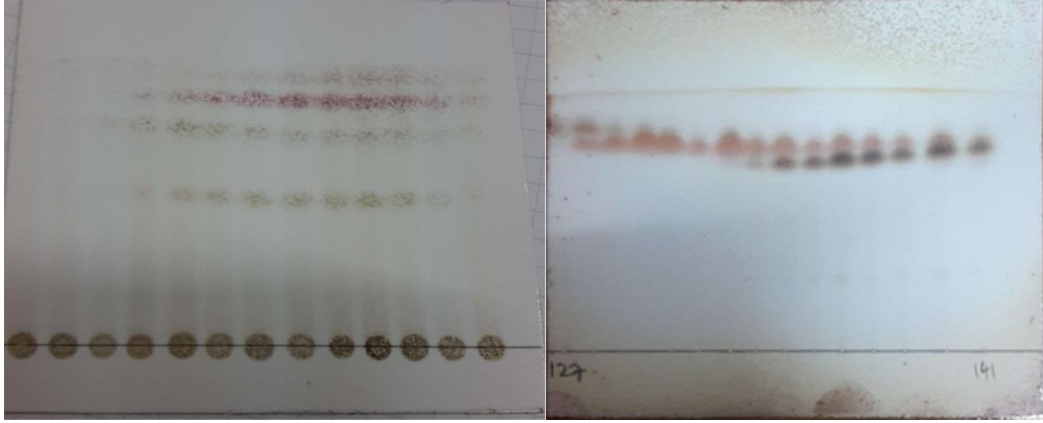
3.5.3.ABTS⁺ Radikali Giderme Aktivitesi

Re ve arkadaşlarının (Re ve ark., 1999) uyguladığı metottan faydalanılarak yapıldı. Yönteme göre, 0,1 M p=H:7,4 PO_4^{3-} tamponu hazırlandı. Sonra fosfat tamponu (0,1 M p=H:7,4 PO_4^{3-}) ile hazırlanmış 2 mM ABTS (2,2'-Azino-bis 3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonicacid) çözeltisi ve yine fosfat tamponuyla (0,1 M p=H:7,4 PO_4^{3-}) hazırlanmış olan 2,45 Milimolar $K_2S_2O_8$ (potasyumpersülfat) çözeltisi 1:2 oranında karıştırılarak, karanlık ortamda 6 saat bekletildi Her bir numune için (mg/mL derişimde) 10, 20, 30 ve 40 µL dört farklı miktarda ve üçer tekrarlı olmak üzere örnekler hazırlandı. Hazırlanan örnekler, hacimleri 3 mL olacak şekilde fosfat tamponu (0,1 M'lık, pH=7,4) eklendi. Daha sonra bütün örnekler ABTS⁺ çözeltisi (1 mL) ilave edildikten sonra 734 nm'de absorbanları ölçüldü. Sonuçlar IC_{50} şeklinde verilmiştir.

3.6. Etkili Bileşiklerin Saflaştırılmasında Kullanılan Teknikler

3.6.1. Kolon kromatografisi

Çalışmada; 5,3 g metanol ekstresi etkili bileşenlerin saflaştırılması için (2,5x80 cm) uzunluğunda cam kolon kullanıldı. Dolgu maddesi olarak 500 g silikajel kullanıldı. Mobil faz, heksandan başlayarak %10'luk artışlar şeklinde etil asetat ve metanol ile kademeli polarite artışı yapılarak 250 mL'lik hacimlerde toplamda 310 adet fraksiyon toplandı. Fraksiyonlar İTK ile kontrollü birleştirildi.



Şekil 3. 2 İTK kontrollü birleştirilen bazı fraksiyonlar.

3.6.2. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar İTK'ye tabi tutuldu. İTK için mobil faz belirlenirken, kolonda kullanılan mobil faz ile aynı polaritede çözücü kullanıldı. Saf ve aynı R_f değerine sahip fraksiyonlar birleştirildi ve çözücüleri uzaklaştırıldıktan sonra NMR'ları alındı. Saf olmayan fraksiyonlar için R_f değerleri aynı olanlar, UV ışığında bakılarak birleştirildi ve kristalleşmeye bırakıldı. UV ışığında görünmeyen spotlar ise serik sülfat belirteci püskürtülerek hafif ısıtıldıktan sonra görünen renkler ve R_f değerlerine bakılarak benzer olan fraksiyonlar birleştirildi.

3.6.3. Yapı Tayininde Kullanılan Spektroskopik Teknikler

3.6.3.1. NMR Spektroskopisi

3.6.3.1.1. 1D NMR Teknikleri

$^1\text{H-NMR}$: Moleküldeki kaç değişik protonun bulunduğu, farklı protonların göreceli sayıları, protonların elektronik çevreleri ve bir protonun komşusundaki protonlarla etkileşmeleri gibi bilgiler net bir şekilde elde edilebilir.

$^{13}\text{C-NMR}$: Molekülde bulunan farklı karbonların sayısı belirlenir. Karbon sinyallerinin kimyasal kayma değerlerinden her bir karbon atomunun elektronik çevresi hakkında bilgi edinilebilir.

DEPT-135: ^{13}C -DEPT90 NMR spektrumunda sadece $-\text{CH}$ ve $-\text{CH}_3$ tipi karbon atomları pozitif pik verirken $-\text{CH}_2$ tipi karbonlar ise negatif olarak pik verir. Kuarterner karbonlar ise bu spektrumlarda gözlenmez.

DEPT-90: ^{13}C -DEPT90 NMR spektrumunda sadece $-\text{CH}$ tipi karbonlar spektrumda pozitif olarak gözlenirken $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}_3$ ve $-\text{C}$ tipi karbonlar gözlenmez.

APT: ^{13}C -APT NMR spektrumunda bütün karbonların gözlenir. $-\text{C}$ ve $-\text{CH}_2$ tipi karbonlar spektrumda pozitif olarak gözlenirken, $-\text{CH}$ ve CH_3 tipi karbonlar negatif olarak gözlenir. Sonuç olarak bu tür NMR teknikleri kullanılmasıyla doğal kaynaklı moleküllerin yapılarının karmaşıklıklarına rağmen aydınlatılmasını kolaylaştırır.

3.6.3.1.2. 2D-NMR Teknikleri

COSY (Correlation Spectroscopy) : 2D-NMR tekniklerinden olan COSY; spin-spin etkileşimlerini belirleyerek moleküldeki bağlanmaları tayin etmeyi sağlar. COSY spektrumlarında her iki ekseninde de proton spektrumu yer alır ve moleküldeki protonların hangi protonlarla etkileştiği açıkça görülür. COSY’de üç bağa kadar etkileşimler görülebilir (proton-protonun bağlı olduğu karbon- bu karbona komşu karbon ve komşuya bağlı proton arasındaki etkileşimler).

HETCOR (Heteronuclear Correlation): Yalnız karbon atomuna doğrudan bağlı olan protonlar arasındaki etkileşimi ortaya koyan bu teknik, moleküldeki protonların hangi karbon atomuna bağlı olduklarını kesin olarak belirlemeye yarar. HETCOR spektrumlarından; proton karbon eşleşmesi yok ise bu karbona bağlı proton yoktur, karbon atomu iki çapraz pik vermişse karbon atomuna iki farklı proton bağlıdır, karbon atomu tek çapraz pik vermişse -karbona bağlı proton sayısı birdir ya da bağlı olan protonlar özdeşdir yorumları yapılabilir.

HMBC (Heteronuclear Multi Bond Correlation): HMBC spektrumları genelde yapıları çok kompleks olan doğal kaynaklı moleküllerin C-C bağlantılarının belirlenmesinde çok sık kullanılmaktadır. HETCOR spektrumlarında sadece karbona bağlı protonların korelasyonu verilirken HMBC spektrumlarında bir bağ üzerinden olan korelasyonların elimine edilirken iki ve üç bağ bazen de dört bağ üzerinden korelasyonlar gözlenir. İki ve üç bağ üzerinden etkileşimlerin verildiği spektrumlar; yapının daha kolay anlaşılmasını sağlamaktadır.

4. BULGULAR

Bitkiden elde edilen hekzan, etil asetat ve metanol ekstrilerine DPPH[•] giderme aktivitesi, FRAP, ABTS^{•+} giderme aktivitesi testleri yapıldı. (Çizelge 4.1.)

4.1. Ekstrelere Uygulanan Antioksidan Aktive Testlerinin Sonuçları

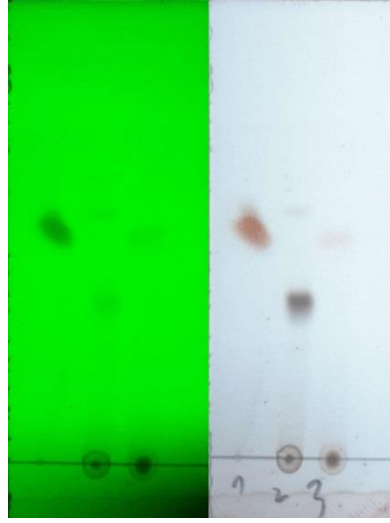
Çizelge 4. 1 Ekstrelere uygulanan antioksidan aktivite test sonuçları.

Numune	DPPH [•] Radikal Giderme [IC ₅₀ (µg/mL)]	FRAP (mmol TE/kg ekstre)	ABTS ^{•+} Radikal Giderme [IC ₅₀ (µg/mL)]
Hekzan	117,92 ± 033	0,92 ± 0,21	63,13 ± 0,73
Etil Asetat	20,18 ± 0,52	9,94 ± 1,44	16,07 ± 0,92
Metanol	15,23 ± 0,74	17,48 ± 0,68	14,08 ± 0,74
BHT	4,02 ± 0,73	7,30 ± 1,08	3,92 ± 0,50
BHA	5,52 ± 0,54	6,62 ± 0,99	5,19 ± 0,80
Trolox	3,73 ± 0,72	Test edilmedi	6,02 ± 0,62

Çizelge 4.1. incelendiğinde elde edilen ham ekstrilerden metanol ekstresinin DPPH[•] radikal giderme (IC₅₀= 15,23µg/mL), indirgeme gücü (17,48 TE mmol/kg ekstre) ve ABTS^{•+}radikal giderme (IC₅₀= 14,08 µg/mL) değerleriyle de diğer ekstrelerle oranla daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, aktiviteden sorumlu olan biyoaktif bileşenlerin saflaştırılması ve karakterizasyonu için metanol ekstresine kromatografik yöntemler uygulandı.

4.2. İzolasyon İşlemi

Bitkiden biyoaktif bileşenlerin saflaştırılmasında 2,5x80 cm uzunluğunda cam kolon kullanıldı. Sabit faz olarak 120 g silikajel kullanıldı. Kolonun şartlanmasında ise; kolondan 1,2 L hekzan normal akış ile (basınçsız ve vakumsuz) geçirildi. Daha sonra 5 g ekstre az miktar çözücü ile çözüp 20 g silikajel ile homojenize hale gelene kadar karıştırıldı ve kolona tatbik edildi. Kontrollü polarite artışı için mobil faz olarak %100 hekzan ile başlandı ve %100 metanol ile sonlandırıldı. Toplamda 155 adet fraksiyon toplandı. Fraksiyonlar 250 mL hacimlerinde toplandı ve toplanan fraksiyonların çözücüsü evaporatörle uzaklaştırıldı. Çözücüsü uzaklaştırılan fraksiyonlar etiketlenmiş tüplere uygun çözücü yardımıyla alındı. Fraksiyonlar İTK yardımıyla benzer olanlar birleştirildi.

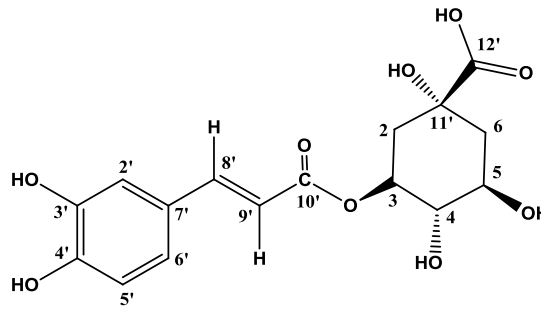


Şekil 4. 1 İzole edilen Neoklorojenik Asit'in İTK görünümleri.

4.3. *Artemisia campestris* Bitkisinden İzle Edilen Bileşikler

Artemisia campestris bitkisinden elde edilen fraksiyonlara uygulanan kromatografik teknikler sonunda Neoklorojenik asit(Şekil 4.2) ve Klorojenik asit(Şekil 4.4) izole edildi ve yapısı aydınlatıldı.

4.3.1. Neoklorojenik Asit'in Fiziksel ve Spektral Özellikleri

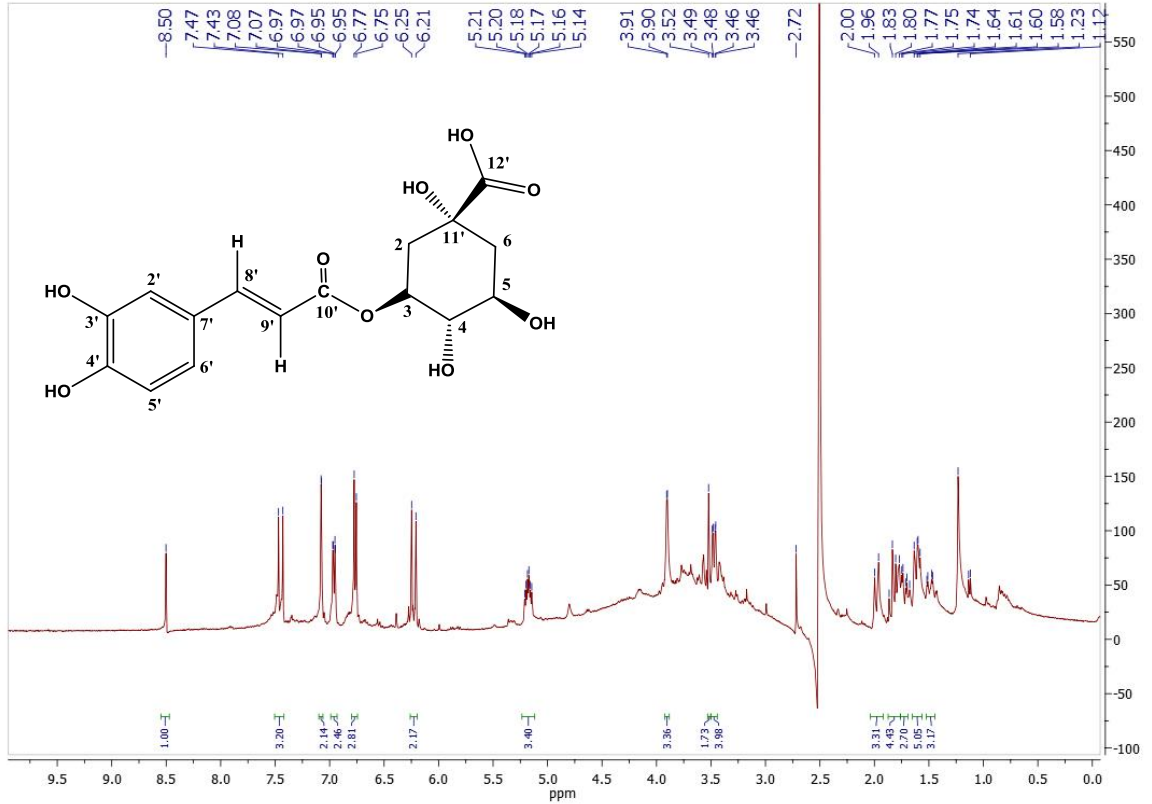


Şekil 4. 2 Neoklorojenik Asit'in molekül yapısı

Neoklorojenik asit bileşiği kolon kromatografisinde % 40 Etil asetat-%60 Hekzan çözücü sisteminden 6 mg olarak izole edildi. Kapalı formülü $C_{16}H_{18}O_9$ olup molekül ağırlığı 354,09 g/mol'dür. Neoklorojenik asit molekülü bilinen bir bileşik olup elde edilen 1H -NMR ve ^{13}C -NMR kimyasal kayma değerleri literatür (Morishita ve ark., 1984; Tatefuji ve ark., 1996) ile uyumludur.

Çizelge 4. 2 Neoklorojenik Asit'in $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ kimyasal kayma değerleri

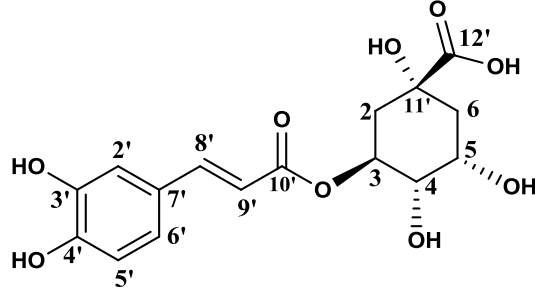
Pozisyon	Neoklorojenik Asit	
	C/H	δ_{C}
2a 2b	40.98	1.49 (dd, $J= 18.1, 3.8$ Hz) 1.73 (dd, $J= 14.0, 4.3$ Hz)
3	72.14	5.21-5.14 (m)
4	73.90	3.90 (d, $J = 2.8$ Hz)
5	72.01	3.47 (dd, $J= 9.9, 2.7$ Hz)
6a 6b	38.64	1.61 (dd, $J= 12.4, 9.5$ Hz) 1.98 (dd, $J= 14.1, 4.3$ Hz)
2'	114.87	6.76 (d, $J = 8.1$ Hz)
3'	146.46	-
4'	149.47	-
5'	115.27	6.96 (dd, $J= 8.2, 1.7$ Hz)
6'	121.65	7.08 (d, $J = 1.7$ Hz)
7'	125.75	-
8'	145.21	7.45 (d, $J = 15.9$ Hz)
9'	116.45	6.23 (d, $J = 15.9$ Hz)
10'	166.91	-
11'	75.73	-
12'	176.95	-



Şekil 4. 3 Neoklorojenik asit ¹H-NMR spektrumu (¹H-NMR400 MHz DMSO-d₆)

Neoklorojenik asitin ¹H-NMR spektrumunda yapıda bulunan 8' ve 9' protonlarından 8' protonu 7.45'de (d, $J=15.9$ Hz) rezonans olurken, 9' protonu 6.23'de (d, $J=15.9$ Hz) rezonans olmaktadır. Fenil halkasındaki ⁻OH grubuna komşu olmayan orto(6') protonu 7.08'de (d, $J=1.7$ Hz), meta(5') protonu 6.96'da (dd, $J=8.2, 1.7$ Hz), 2' protonu ise 6.76'da (d, $J=8.1$ Hz) sinyal vermektedir. Alifatik halkada bulunan ester gurubuna bağlı olan metil protonu(3) 5.21-5.14 'de multiplet (m) olarak rezonans olmaktadır. Metin(4) protonu 3.90'da (d, $J=2.8$ Hz), diğer metin protonu(5) 3.47'de (dd, $J=9.9, 2.7$ Hz) sinyal vermektedir. Alifatik halkadaki CH₂ protonları farklı alanlar gördüğünden farklı yerlerde sinyal verdiği belirlenmiştir. Bu sinyaller 6a ve 6b protonları 1.98 (d, $J=14.1$ Hz) ve 1.72 (dd, $J=14.0, 4.3$ Hz) 'de rezonans olurken, 2a ve 2b protonları 1.60 (dd, $J=12.0, 9.5$ Hz) ve 1.49 (dd, $J=18.1, 3.8$ Hz) 'da rezonans olmaktadır.

4.3.2. Klorojenik Asit'in Fiziksel ve Spektral Özellikleri

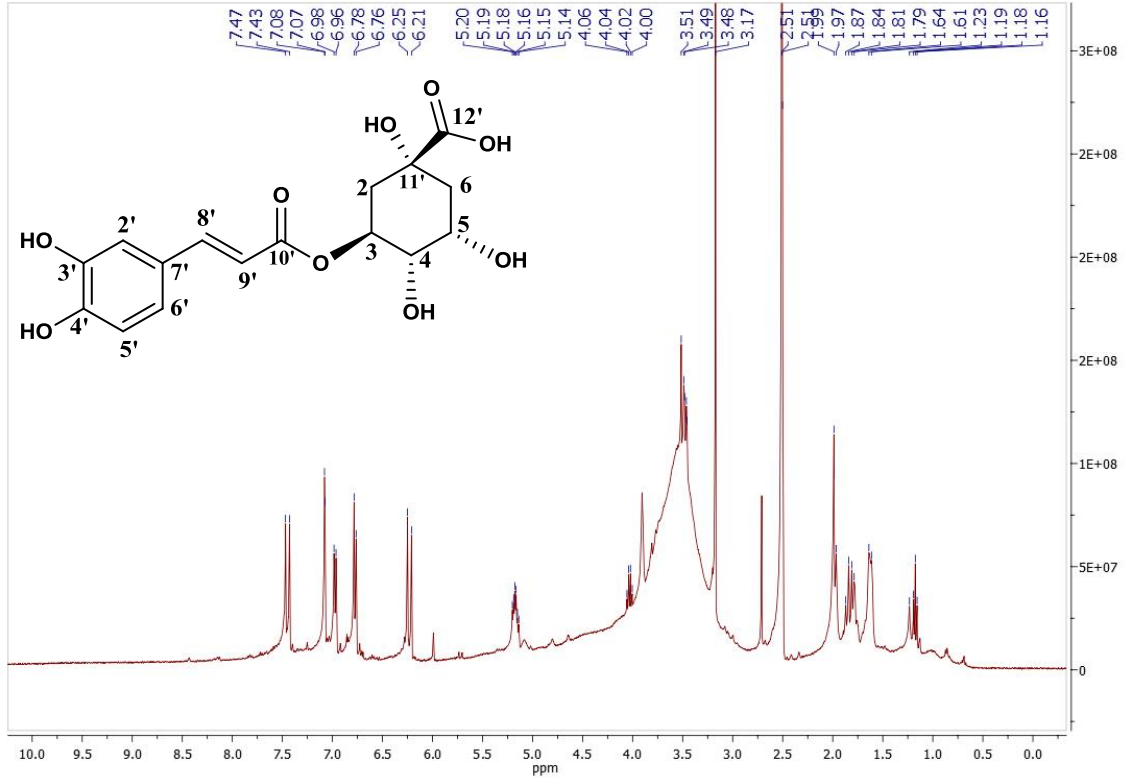


Şekil 4. 4 Klorojenik asit molekülünün kimyasal yapısı

Klorojenik Asit bileşiği kolon kromatografisinde % 50 Etil asetat-%50 Hekzan çözücü sisteminden 8 mg olarak izole edildi. Kapalı formülü $C_{16}H_{18}O_9$ olup molekül ağırlığı 354,09 g/mol'dür. Klorojenik asit molekülü bilinen bir bileşik olup elde edilen 1H -NMR ve ^{13}C -NMR kimyasal kayma değerleri literatür (Pauli ve ark., 1999) ile uyumludur.

Çizelge 4. 3 Klorojenik Asit'in 1H -NMR ve ^{13}C -NMR kimyasal kayma değerleri

Pozisyon	Klorojenik Asit	
C/H	δ_C	δ_H
2a	38.59	1.48-1.51 (m)
2b		1.70-1.74 (m)
3	72.14	5.20-5.14 (m)
4	73.77	3.90 (d, $J = 2.6$ Hz)
5	71.87	3.45-3.49 (m)
6a	36.44	1.61 (dd, $J = 10.4, 9.5$ Hz)
6b		1.98 (dd, $J = 8.9, 4.3$ Hz)
2'	115.09	6.77 (d, $J = 8.2$ Hz)
3'	146.46	-
4'	149.47	-
5'	115.26	6.97 (d, $J = 8.1$ Hz)
6'	121.65	7.08 (d, $J = 1.7$ Hz)
7'	125.75	-
8'	145.11	7.45 (d, $J = 15.9$ Hz)
9'	116.36	6.23 (d, $J = 15.9$ Hz)
10'	166.91	-
11'	75.73	-
12'	176.95	-



Şekil 4. 5 Klorojenik asit'in $^1\text{H-NMR}$ spektrumu ($^1\text{H-NMR}$ 400 MHz DMSO-d_6)

Klorojenik asitin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (Şekil 4.4.) yapıda bulunan 8' ve 9' protonlarından 8' protonu 7.45'de (d, $J=15.9$ Hz) rezonans olurken, 9' protonu 6.23'de (d, $J=15.9$ Hz) rezonans olmaktadır. Fenil halkasındaki OH grubuna komşu olmayan orto(6') protonu 7.08'de (d, $J=1.7$ Hz), meta(5') protonu 6.97'da (d, $J=8.1, 1.7$ Hz), 2' protonu ise 6.77'da (d, $J=8.2$ Hz) sinyal vermektedir. Alifatik halkada bulunan ester grubuna bağlı olan metil protonu(3) 5.20–5.14 'de multiplet (m) olarak rezonans olmaktadır. Metin(4) protonu 3.90'da (d, $J=2.6$ Hz), diğer metin protonu(5) 3.49–3.45'de multiplet (m) olarak sinyal vermektedir. Alifatik halkadaki CH_2 protonları farklı alanlar gördüğünden farklı yerlerde sinyal verdiği belirlenmiştir. Bu sinyaller 6a ve 6b protonları 1.98 (dd, $J=8.9, 4.3$ Hz) ve 1.61 (dd, $J=10.4, 9.5$ Hz) 'de rezonans olurken, 2a ve 2b protonları 1.74-1.70 (m) ve 1.51-1.48 (m) 'da rezonans olmaktadır.

4.4. İzole Edilen Bileşiğe Uygulanan Antioksidan Aktivite Sonuçları

Çizelge 4. 4 İzole Edilen Bileşiğe Uygulanan DPPH•, FRAP ve ABTS^{•+} Aktivite test sonuçları

Bileşik	DPPH• Radikal Giderme [IC₅₀ (µg/mL)]	FRAP (mmol TE/kg ekstre)	ABTS^{•+} Radikal Giderme [IC₅₀ (µg/mL)]
Neoklorojenik Asit	17,50 ± 0,41	11,12 ± 0,35	15,68 ± 0,81
Klorojenik Asit	16,32 ± 0,48	13,01 ± 0,48	17,01 ± 1,99
BHT	4,02 ± 0,73	7,30 ± 1,08	3,92 ± 0,50
BHA	5,52 ± 0,54	6,62 ± 0,99	5,19 ± 0,80
Trolox	3,73 ± 0,72	Test edilmedi	6,02 ± 0,62

Sonuçlar değerlendirildiğinde; DPPH ve FRAP analizlerinde, izole edilen bileşiklerden Klorojenik asidin Neoklorojenik asitten daha yüksek olduğu görülmektedir. Bunun yanı sıra ABTS^{•+} analizinde ise Neoklorojenik asidin Klorojenik asitten daha yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Artemisia campestris bitkisinden elde edilen hekzan, etil asetat ve metanol ekstrelerine uygulanan Serbest Radikal Giderme(DPPH), İndirgeme Gücü(FRAP) ve ABTS⁺ Radikali Giderme antioksidan aktivite test sonuçları (Çizelge 4.1), değerlendirildi ve aktivitesi en yüksek olan metanol ekstresine kromatografik teknikler (kolon kromatografisi, İTK) uygulandı.

Ayırma ve saflaştırma işlemleri sonunda, yapısı bilinen aynı zamanda literatürdeki değerlerle de örtüşen iki adet (Şekil 4.2 ve Şekil 4.4) bileşik saflaştırıldı. Saflaştırılan bu iki bileşiğin yapı aydınlatılması ise spektroskopik teknikler (1D-NMR, 2D-NMR) ile belirlendi. Saflaştırılan bileşiklere de Serbest Radikal Giderme (DPPH), İndirgeme Gücü (FRAP) ve ABTS⁺ Radikali Giderme antioksidan aktivite testleri uygulandı (Çizelge 4.4).

Sonuçlara bakıldığında, izole edilen bileşiklerin her birinin gösterdiği antioksidan aktivite değerleri, metanol ekstresinin gösterdiği aktivite sonuçları ile uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, metanol ekstresinde yüksek aktiviteden sorumlu olan bileşenlerin büyük oranla izole edilen bileşikler olduğunu düşündürmektedir.

Artemisia campestris bitkisinin toprak üstü kısımlarıyla ilgili birçok çalışma mevcut iken; bitkinin kök kısmında daha önceden yapılan bir çalışmanın olmaması, izole edilen bileşiklerin ve bunlara uygulanan test sonuçlarının (Çizelge 4.4) önemini daha çok arttırmaktadır.

Bu güne kadar *Artemisia campestris* bitkisinin kök kısmının herhangi bir çalışmaya konu olmaması, yapılan çalışmanın özgünlüğünü ortaya koymakla beraber, bitkilerin insanlık tarihinde yapılan keşiflerde farklı bir renk olduğunu bir kez daha ortaya koymaktadır.

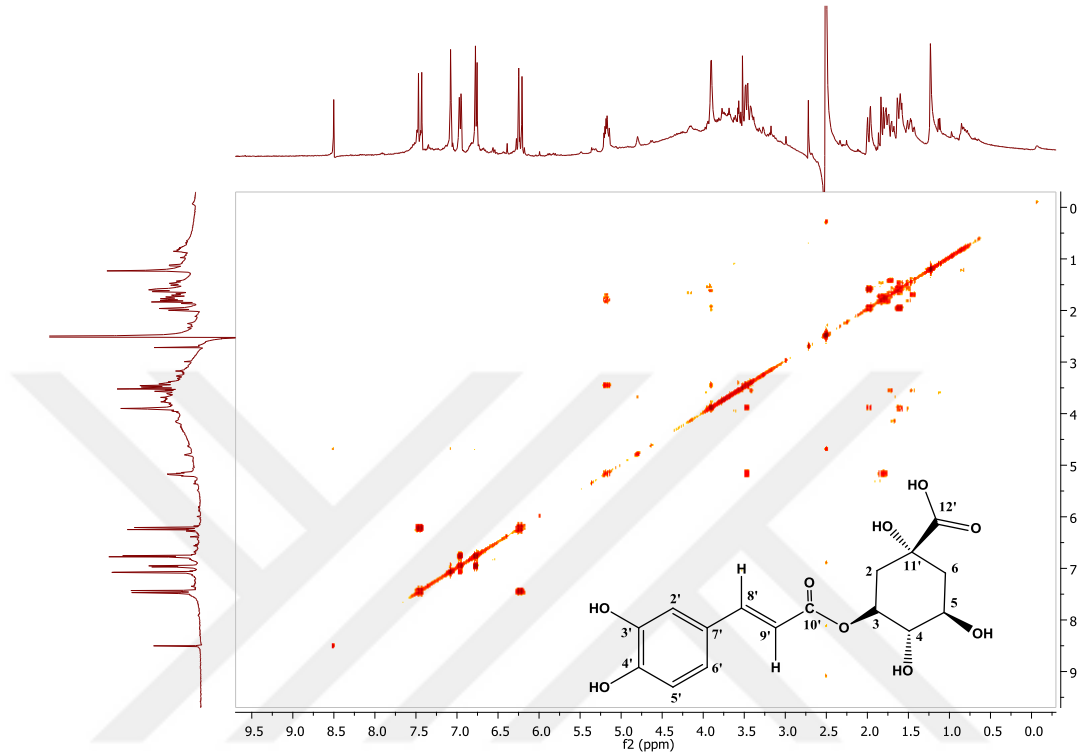
6. KAYNAKLAR

- Blois, M. S. 1958. "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical", *Nature*, 26 1199-1200.
- Davis, P. e. 1975. "Flora of Turkey and the East Aegean Islands. ", Edinburgh, 5.
- Elmastas, M., Gulcin, I., Beydemir, S., Kufrevioglu, O. I., Aboul-Enein, H. Y. 2006. "A study on the in vitro antioxidant activity of juniper (*Juniperus communis* L.) fruit extracts", *Analytical Letters*, 39(1), 47-65.
- Farnsworth, N. R., Akerev, O., Bingel, A. S. 1985. *The Bulletin of WHO*, 63 9865-9871.
- Hallıwell, B. G., J.M.C. 1999. "Free Radicals in Biology and Medicine", Third Edition, Oxford University Pres. Inc., New York 936.
- Hickey, M., King, J.C. 1981. "100 Families of Flowering Plants", Cambridge Univ Press.
- John, M. M. 1988. "Organic Chemistry", Second Edition, California 93950.
- Kazemi, M., Tabatabaei-Anaraki, M., Rustaiyan, A., Motevalizadeh, A., Masoudi, S. 2009. "Chemical Composition of the Essential Oils Obtained From the Flower, Leaf and Stem of *Artemisia campestris* L. From Iran", *Journal of Essential Oil Research*, 21(3), 197-199.
- Khalil, M., Moustafa, A., Naguib, N. 2007. "Growth, phenolic compounds and antioxidant activity of some medicinal plants grown under organic farming condition", *World J Agric Sci*, 3(4), 451-457.
- Kocyigit, M. 2005. "Yalova İlinde Etnobotanik Bir Araştırma", Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Makris, D. P. K., S. Kefalas, P. 2006. "Flavonols İn Grapes, Grape Products And Wines: Burden, Profile and Influential Parameters", *Journal of Food Composition and Analysis* 396-404.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., Jimenez, L. 2004. "Polyphenols: food sources and bioavailability", *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.
- Megdiche-Ksouri, W., Trabelsi, N., Mkadmini, K., Bourgou, S., Noumi, A., Snoussi, M., Barbria, R., Tebourbi, O., Ksouri, R. 2015. "Artemisia campestris phenolic compounds have antioxidant and antimicrobial activity", *Ind Crop Prod*, 63 104-113.
- Mercan, U. 2004. "Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi.", *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Vet. Fak. Derg*, 15(1-2), 91-96.
- Morishita, H., Iwahashi, H., Osaka, N., Kido, R. 1984. "Chromatographic separation and identification of naturally occurring chlorogenic acids by ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy and mass spectrometry", *Journal of chromatography*, 315 253-260.
- Pauli, G. F., U. Kuczkowiak, A., Nahrstedt. 1999. "Solvent effects in the structure dereplication of caffeoyl quinic acids", *Magnetic resonance in chemistry*, 37(11), 827-836.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. 1999. "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay", *Free Radical Bio Med*, 26 1231-1237.

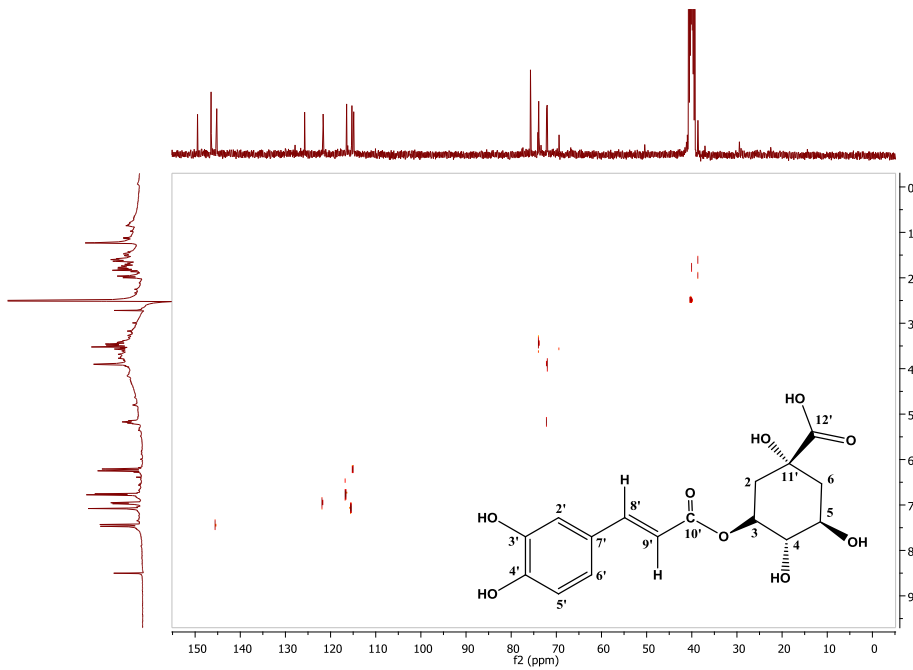
- S.S. Ali, N. K., A. Luthra, . 2008. "Indian medicinal herbs as sources of antioxidants", Food Research International, 41(1), 15.
- Saldamlı, İ. 2007. "Gıda Kimyası", Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara 463-492.
- Tatefuji, T., Izumi, N., Ohta, T., Arai, S., Ikeda, M., Kurimoto, M. 1996. "Isolation and identification of compounds from Brazilian propolis which enhance macrophage spreading and mobility", Biological & pharmaceutical bulletin, 19(7), 966-970.
- Wink, M. 1999. Biochemistry, role and biotechnology of secondary metabolites. In: "Function of plant secondary metabolites and their exploitation in biotechnology. Sheffield Academic Press and CRC Press. **3**: 1-16.
- Yun, K. W., Maun, A., Kim, J. H. 2007. "Effects of the aqueous extract from *Artemisia campestris* ssp *caudata* on mycorrhizal fungi colonization and growth of sand dune grasses", Journal of Plant Biology, 50(3), 358-361.
- Yun, K. W., Maun, M. A. 1997. "Allelopathic potential of *Artemisia campestris* ssp. *caudata* on Lake Huron sand dunes", Canadian Journal of Botany-*Revue Canadienne De Botanique*, 75(11), 1903-1912.

7. EKLER

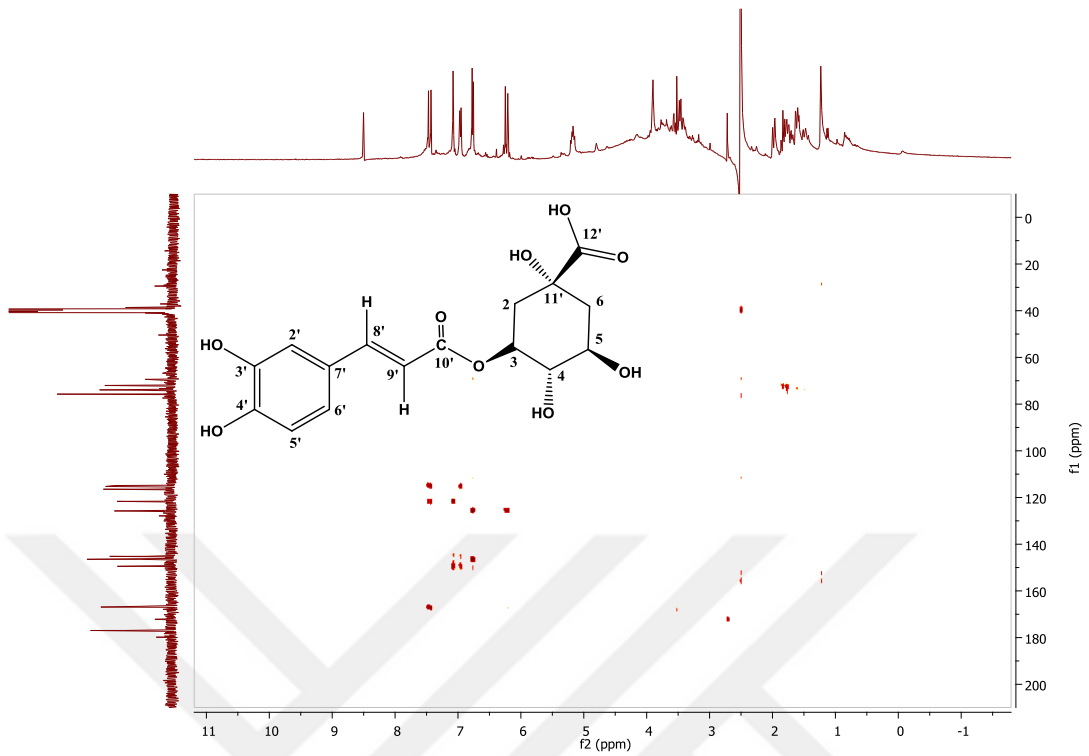
7.1. Neoklorojenik Asit ve Klorojenik Asit Moleküllerinin 1D ve 2D-NMR Spektrumları



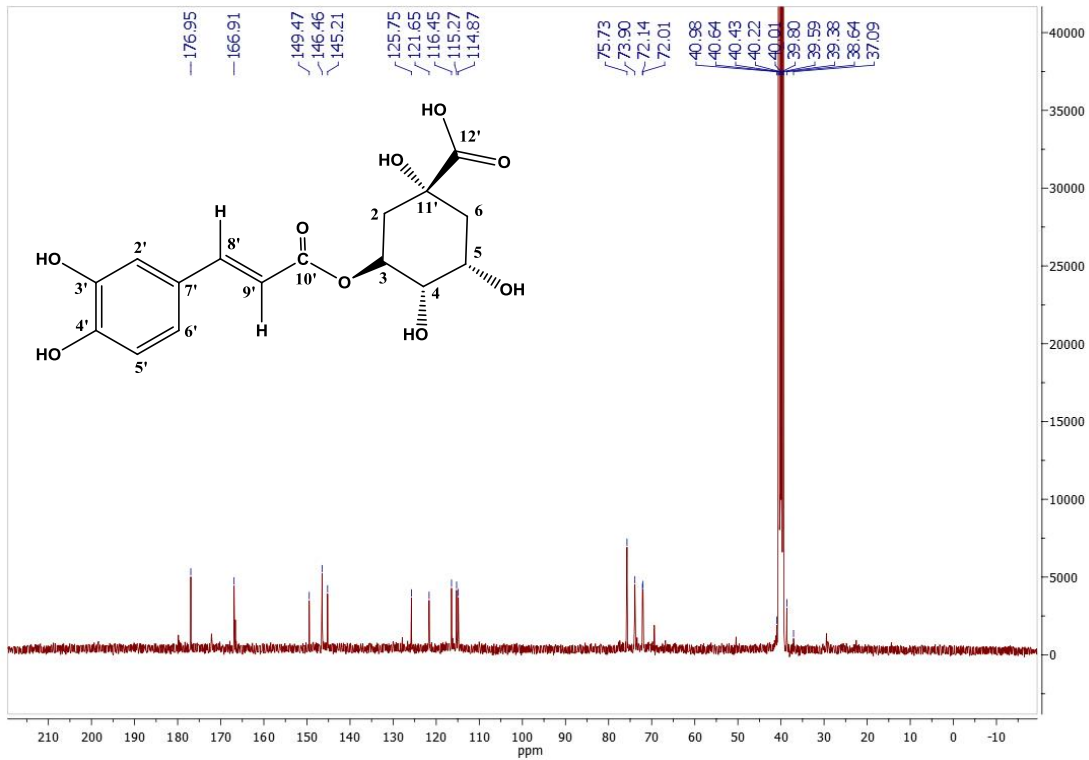
Neoklorojenik asit molekülü COSY spektrumu



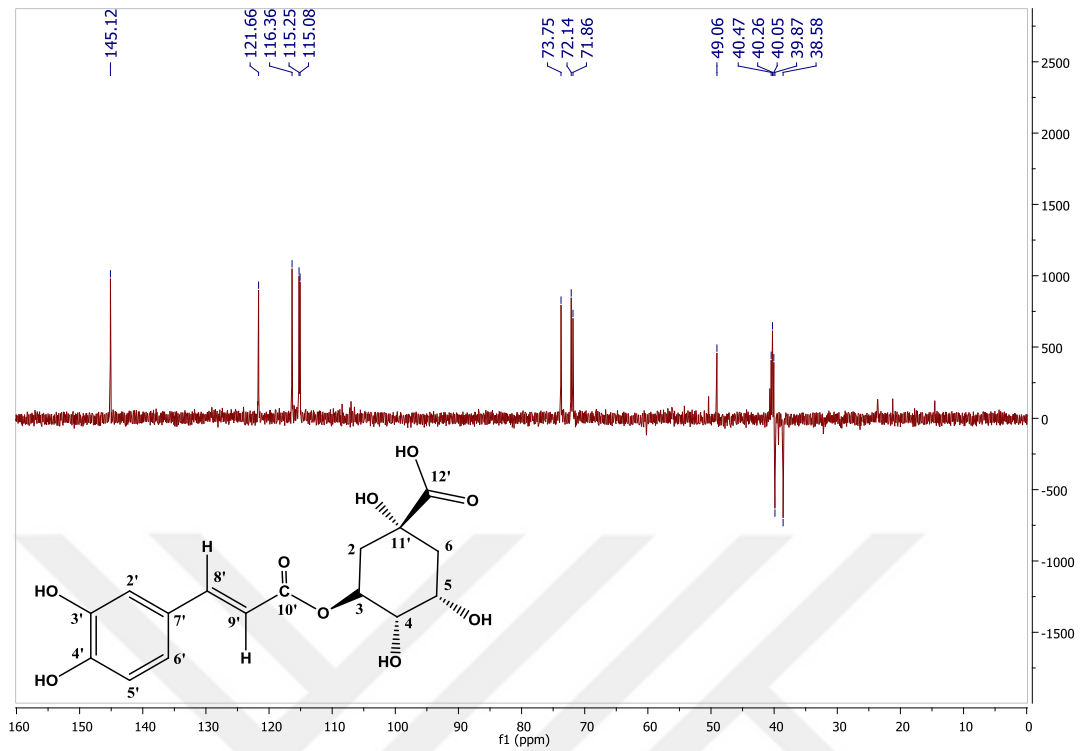
Neoklorojenik asit molekülü HETCOR spektrumu



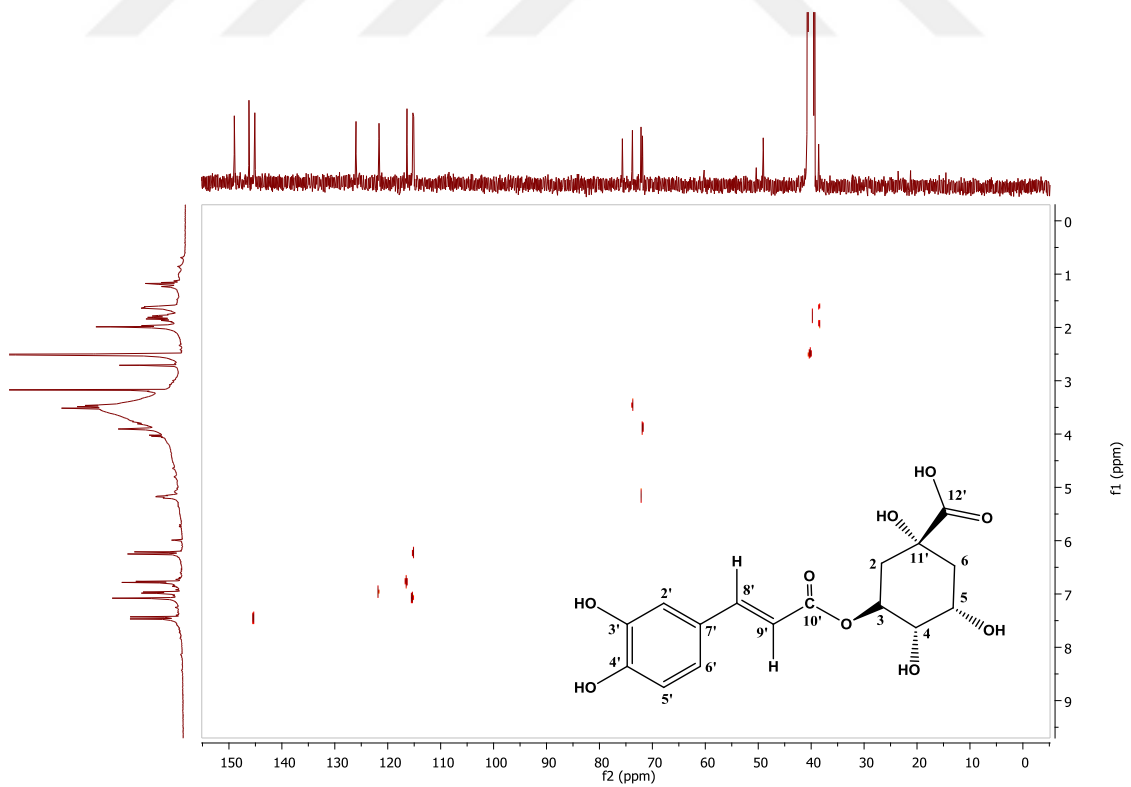
Neoklorojenik asit molekülü HMBC spektrumu



Klorojenik asit'in ^{13}C -NMR spektrumu (100 MHz DMSO- d_6)



Klorojenik asit molekülü ^{13}C -DEPT-135 spektrumu



Klorojenik asit molekülü HETCOR spektrumu

8. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Sedat KARA
Doğum Tarihi ve Yer : 30.08.1991
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce
Telefon : 0539 292 60 41
e-mail : sedatkara.gop@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2018
Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2014
Lise	İzmit İnkılap Lisesi	2008

KURS ve SERTİFİKALAR

- İngilizce Kurs Sertifikası (2013)
- Mikrodalga yöntemiyle katı örneklerin Çözülmesi Kurs ve Sertifikası (2014)

KONGRELER

- V. Ulusal Polimer Bilim ve Teknolojisi Kongresi Tokat Teşekkür Belgesi
- 2015 Uşak Kromatografi Kongresi Katılım Belgesi

YAYINLAR

1. Katar, D., Kacar, O., Kara, N., Aytaç, Z., Göksu, E., **Kara, S.**, Katar, N., Erbaş, S., Telci, İ., Elmastaş, M. 2017. "Ecological variation of yield and aroma components of summer savory (*Satureja hortensis* L.)", Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 7 131-135.

DENEYİMLİ OLUNAN ÇALIŞMA ALANLARI

1. Kromatografik Teknikler

- Yağ Asitleri
- Uçucu Yağlar
- Pestisitler
- Fenolik Bileşikler
- Flavonoidler
- Bitkiler ve Doğal Ürünler
- HPLC/GC-MS/GC-FID/Flash Kromatografisi

2. Antioksidan Aktivite Testleri

BİLGİSAYAR BİLGİSİ

- Chem Office
- Microsoft Office programları
- Endnote