



***Origanum Rotundifolium* Boiss BİTKİSİNDEKİ SEKONDER
METABOLİTLERİN AKTİVİTE KONTROLLÜ İZOLASYONU,
YAPILARININ AYDINLATILMASI VE ANTİOKSİDAN
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

Bilal MERAL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
Prof. Dr. Ramazan ERENLER
Temmuz 2018
Her Hakkı Saklıdır.**

T.C.

TOKAT GAZIOSMANPAŐA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Origanum Rotundifolium Boiss BİTKİSİNDEKİ SEKONDER METABOLİTLERİN
AKTİVİTE KONTROLLÜ İZOLASYONU, YAPILARININ AYDINLATILMASI VE
ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

BİLAL MERAL

TOKAT
Temmuz - 2018

Her hakkı saklıdır.



Bu tez çalışması;

TÜBİTAK tarafından 113 Z 195 nolu proje ile desteklenmiştir.

Bilal MERAL tarafından hazırlanan “*Origanum Rotundifolium* Boiss Bitkisindeki Sekonder Metabolitlerin Aktivite Kontrollü İzolasyonu, Yapılarının Aydınlatılması Ve Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi ” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 20 TEMMUZ 2018 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüriler tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü KIMYA ANA BİLİM DALI 'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Ramazan ERENLER
Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Üye
Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ
Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Üye
Prof. Dr. Ömer İŞILDAK
Gaziosmanpaşa Üniversitesi

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 içerdığı 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.

Bilal MERAL

20 Temmuz 2018

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Origanum rotundifolium* Boiss. BİTKİSİNDEKİ SEKONDER METABOLİTLERİN AKTİVİTE KONTROLLÜ İZOLASYONU, YAPILARININ AYDINLATILMASI VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

BİLAL MERAL

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANA BİLİM DALI

Tez Danışmanı: PROF. DR. RAMAZAN ERENLER

Doğal ürünler, ilaç keşfi ve gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. İlk çağdan beri bunlar halk ilacı olarak kullanılmaktadırlar. Bu çalışmada, *Origanum rotundifolium* Boiss. bitkisinin toprak üstü kısmı, sırasıyla hekzan, etilasetat, ve metanol ile ekstrakte edildi. Çözücü uzaklaştırıldıktan sonra, katı kısım suda kaynatıldı ve etil asetat ile partitasyon yapılarak etil asetat/su ekstraktı elde edildi. Bütün ekstraktlar üzerinde uygulanan antioksidan testleri sonucu, etil asetat/su ekstaktının en yüksek aktiviteye sahip olduğu ve en çok fenolik bileşik içerdiği belirlendi. Antioksidan aktivite için 1,1-difenil-2-pikril-hidrazin Serbest Radikal (DPPH[•]) Giderme, 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) Radikal Giderme, İndirgeme Gücü yöntemleri kullanıldı. Bütillenmiş hidroksianisol (BHA), Bütillenmiş hidroksi tolien (BHT) ve trolox standard olarak uygulandı. EtOAc/Su ekstraktı kromatografik yöntemlere tabi tutularak aktif bileşikler izole edildi. İzole edilen bileşiklerin yapıları 1D-, 2D-NMR ve LC-TOF/MS teknikleri ile belirlendi. Globoidnan A (**6**) (IC₅₀, 22.4 µg/mL), viteksin (**3**) (IC₅₀, 31.4), ve Rosmarinik acid (**5**) (IC₅₀, 47.2) oldukça yüksek DPPH[•] serbest radikal giderme aktivitesi gösterdi. Vitexin (**3**) (IC₅₀ 3.6), Globoidnan A (**6**) (IC₅₀ 4.6), Apigenin (**1**) (IC₅₀ 8.9), ve Ferulik asit (**2**) bileşiklerinin ABTS^{•+} serbest radikal giderme aktivitesi trolox (IC₅₀ 13.8)'dan daha etkili olduğu belirlendi. *Origanum rotundifolium* bitkisi, gıda ve farmasötik endüstrisi için ümit verici bir doğal antioksidan olma potansiyeline sahiptir.

2018, 75 Sayfa

ANAHTAR KELİMELER: *Origanum rotundifolium*, ekstraksiyon, NMR, aktivite

ABSTRACT

MASTER THESIS

ACTIVITY CONTROLLED ISOLATION OF SECONDARY METABOLITES IN *ORIGANUM ROTUNDIFOLIUM* BOISS, INVESTIGATION OF STRUCTURES AND INVESTIGATION OF ANTIOXIDANCE ACTIVITIES

BİLAL MERAL

TOKAT GAZIOSMANPASA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

SUPERVISOR: PROF. DR. RAMAZAN ERENLER

Natural products play an important role in drug discovery and development process. They have been used in traditional medicine from ancient times. In this work, aerial parts of *Origanum rotundifolium* Boiss were extracted with hexane, ethyl acetate, methanol sequentially. After removal of the solvent, the solid part was boiled in water then partitioned with ethyl acetate to yield the water/EtOAc extract. The antioxidant activities of all these extracts were carried out using different antioxidant assays, including 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl free radical (DPPH[•]) scavenging, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging, reducing power. Butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) and trolox were used as standards. Total phenolic contents of extracts were also determined. Water/EtOAc extract exhibited the most antioxidant effect and included the most phenolic compounds among the extracts. Hence, water/EtOAc extract was subjected to chromatography to isolate the active compounds. The structures of isolated compounds were elucidated by 1D, 2D NMR and LC-TOF/MS. Apigenin (**1**), ferulic acid (**2**), vitexin (**3**), caprolactam (**4**), rosmarinic acid (**5**), and globoidnan A (**6**) were isolated and identified. Globoidnan A (**6**), vitexin (**3**), and rosmarinic acid (**5**) revealed the excellent DPPH[•] scavenging effect with the IC₅₀ values of 22.4, 31.4, 47.2 μM respectively. Vitexin (**3**) (IC₅₀ 3.6), globoidnan A (**6**) (IC₅₀ 4.6), apigenin (**1**) (IC₅₀ 8.9), and ferulic acid (**2**) exhibited more ABTS^{•+} activity than standard trolox (IC₅₀ 13.8 μg/mL). The *Origanum rotundifolium* could be a promising natural antioxidant for food and pharmaceutical industries.

2018, 75 Pages

KEYWORDS: *Origanum rotundifolium*, extraction, NMR, activity

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. Ramazan ERENLER'e

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr Mahfuz ELMASTAŞ'a;

Bitki temini konusunda katkılarından dolayı Prof.Dr. Özgür Eminağaoğlu'ya (Artvin Çoruh Üniversitesi)

Gerek laboratuvar çalışmaları gerekse tezimin yazım aşamalarında bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin AKŞİT' e (Erzincan Üniversitesi), Uzman Dr. Nusret GENÇ'e, (Gaziosmanpaşa Üniversitesi) lisans ve yüksek lisans arkadaşlarım Beşir İSNAÇ, Ömer KAYIR, Süleyman M. ÇELİK, ve Sedat KARA'ya ve de tüm Bitki Araştırma Laboratuvarı ekibine;

İzole ettiğim bileşiklerin kütle analizleri için çalışma imkânı sağlayan Çankırı Karatekin Üniversitesi öğretim üyesi Prof. Dr. İbrahim DEMİRTAŞ'a

Bölümümüzün her türlü imkânından faydalanmamı sağlayan 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 aile büyüklerime, canım eşime ve kızım Yağmur Melis'e ve oğlum Yağız Melih'e;

Çok teşekkür ederim.

Bilal MERAL

20/07/2018

İÇİNDEKİLER

Sayfa

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER VE KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1. Kaynak Özetleri	4
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	7
3.1. Kullanılan Kimyasallar	7
3.1.1. Çözücü ve Reaktifler	7
3.1.2. Dolgu maddeleri	7
3.2. Cihazlar.....	7
3.3. Cam Malzemeler	7
3.4. Bitkisel Materyal.....	7
3.5. Bitkinin Ekstraksiyonu.....	8
3.6. Kromatografik Yöntemler	9
3.7. Spektroskopik Yöntemler	9
3.8. Antioksidan Aktivite Analizleri	9
3.8.1. Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi.....	9
3.8.2. Toplam Fenolik Bileşik Belirleme Testi.....	10
3.8.3. Serbest Radikal (DPPH·) Giderme Aktivite Testi.....	10
3.8.4. İndirgeme Gücü Aktivite Testi	10
3.8.5. Radikal Giderme Aktivite Testi.....	10
3.8.6. Metal Şelat Oluşturma Aktivitesi:.....	11
4. BULGULAR.....	12
4.1. Total Fenolik Bileşik Tayini Sonuçları	12
4.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Sonuçları	13
4.3. Total İndirgeme Kapasitesi Tayini Sonuçları	14
4.4. ABTS ^{•+} Giderme Aktivitesi Tayini Sonuçları	15
4.5. Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesi	16
4.6. <i>Origanum rotundifolium</i> Boiss Bitkisi İçin Kolon Kromatografisi.....	16
4.7. <i>O. rotundifolium</i> bitkisinden İzole Edilen Bileşikler	17
4.7.1. <i>O. rotundifolium</i> Bitkisi İçin Fitokimyasal Çalışmalar.....	18

4. 8. <i>O. rotundifolium</i> İzole Edilen Bileşiklerin Fiziksel ve Spektral Özellikleri	20
4. 8.1 1 Nolu Bileşiğin (Apigenin) Fiziksel ve Spektral Özellikleri.....	20
4. 9.2. 2 Nolu Bileşiğin (Ferulik asit) Fiziksel ve Spektral Özellikleri.....	25
4. 10.3. 3 Nolu Bileşiğin (Viteksin) Fiziksel ve Spektral Özellikleri	28
4. 10.4. 4 Nolu Bileşiğin (Kaproilaktam) Fiziksel ve Spektral Özellikleri ..	36
4. 10.5. 5 Nolu Bileşiğin (Rosmarinik asit) Fiziksel ve Spektral Özellikleri	38
4. 10.6. 6 Nolu Bileşiğin Fiziksel ve Spektral Özellikleri	43
4.11. <i>O. rotundifolium</i> bitkisinden İzole Edilen Bileşiklerin Antioksidan Aktivite Sonuçları	48
4.11.1. <i>O. rotundifolium</i> bitkisinden İzole Edilen Bileşiklerin Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Sonuçları.....	48
4.11.2. <i>O. rotundifolium</i> bitkisinden İzole Edilen Bileşiklerin Total İndirgeme Kapasitesi Tayini Sonuçları	50
4.11.3. <i>O. rotundifolium</i> Bitkisinden İzole Edilen Bileşiklerin ABTS⁺ Giderme Aktivitesi Tayini Sonuçları	51
4.11.4. <i>O. rotundifolium</i> bitkisinden İzole Edilen Bileşiklerin Metal Şelatlama Aktivitesi Sonuçları.....	53
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	54
6. KAYNAKLAR	55
7. ÖZGEÇMİŞ	57

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

Açıklama

μg	Mikrogram
mg	Miligram
kg	Kilogram
μL	Mikrolitre
mL	Mililitre
L	Litre
mM	Milimolar
μM	Mikromolar
<i>p</i> -	Para
β	Beta
α	Alfa
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Derece
%	Yüzde
e^{-}	Elektron
R_f	Yürüme Hızı

Kısaltmalar

Açıklama

HPLC	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
P-HPLC	Preperatif Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
LC-TOF-MS	Uçuş zamanlı Sıvı Kromatografisi Kütle Spektroskopisi
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
APT	Attached Proton Test
COSY	Correlation Spectroscopy
HETCOR	Heteronuclear Correlation
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
EtOAc	Etilasetat
MeOH	Metanol
CDCl_3	Dötero kloroform
DMSO-d_6	Dötero Dimetilsülfoksit
IC_{50}	Maksimum aktivitenin yarısını gösteren konsatrasyon
DNA	Deoksiribonükleik Asit
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2. 1. <i>Origanum rotundifolium</i> Boiss Bitkisi	3
Şekil 2. 2. <i>Origanum</i> türlerinde bulunan bazı ortak bileşikler.....	5
Şekil 2. 3. Karvakrol ve trans-sabinen hidrat uçucu yağlarının yapısı.	5
Şekil 2. 4. <i>Origanum rotundifolium</i> bitkisinde bulunan uçucu yağ bileşenleri (Çetin, Çakmakçı et al. 2011)	6
Şekil 3. 1. <i>O. rotundifolium</i> bitkisi için ekstraksiyon şeması	8
Şekil 4. 1. <i>O. rotundifolium</i> bitki ekstraktları ve standartlara ait Total İndirgeme değerleri.	14
Şekil 4. 2. 1 nolu (Apigenin) bileşiğin ¹ H-NMR spektrumu (¹ H-NMR400 MHz DMSO-d ₆)	21
Şekil 4. 3. 1 nolu bileşiğin ¹³ C-NMR spektrumu (400 MHz, DMSO-d ₆).....	22
Şekil 4. 4. 1 nolu bileşiğin HETCOR spektrumu (¹ H-NMR 400 MHz, ¹³ C- NMR 100 MHz DMSO-d ₆).....	23
Şekil 4. 5. 1 nolu bileşiğin COESY spektrumu(¹³ C-NMR100 MHzDMSO-d ₆)24	
Şekil 4. 6. 1 nolu bileşiğin LC-MS-TOF kromatogramı.....	24
Şekil 4. 7. 2 Nolu Bileşik (Ferulik asit)	25
Şekil 4. 8. 2 nolu (Ferulik asit) bileşiğin ¹ H-NMR spektrumu (¹ H-NMR400 MHz DMSO-d ₆).....	27
Şekil 4. 9. 3 nolu bileşik (Viteksin)	28
Şekil 4. 10. 3 nolu (Viteksin) bileşiğin ¹ H-NMR spektrumu (400 MHz, DMSO- d ₆).....	30
Şekil 4. 11. 3 nolu (Viteksin) bileşiğin ¹³ C-NMR spektrumu (100 MHz DMSO- d ₆).....	31
Şekil 4. 12. 3 nolu (Viteksin) bileşiğin APT, DEPT-135, DEPT-90 NMR spektrumu.....	32
Şekil 4. 13.3 nolu (Viteksin) bileşiğin HETCOR spektrumu (¹ H-NMR 400 MHz, ¹³ C-NMR 100 MHz DMSO-d ₆).....	33
Şekil 4. 14. 3 nolu (Viteksin) bileşiğin HMBC spektrumu (¹³ C-NMR100 MHz DMSO-d ₆)	34
Şekil 4. 15.3 nolu (Viteksin) bileşiğin COESY spektrumu (¹³ C-NMR100 MHz DMSO-d ₆)	35
Şekil 4. 16. 3 nolu (Viteksin) bileşiğin LC-MS-TOF kromatogramı	35
Şekil 4. 17. 4 Nolu Bileşik (Kaproilaktam)	36
Şekil 4. 18. 4 nolu (Kaproilaktam) bileşiğin ¹ H-NMR spektrumu(¹ H-NMR400 MHz DMSO-d ₆).....	37
Şekil 4. 19. 4 nolu (Kaproilaktam) bileşiğinin ¹³ C-NMR (100 MHz, DMSO-d ₆) spektrumu.....	37
Şekil 4. 20. 5 Nolu Bileşik (Rosmarinik asit)	38
Şekil 4. 21. 5 Nolu Bileşiğin (Rosmarinik asit) ¹ H-NMR spektrumu (400 MHz, DMSO-d ₆)	40
Şekil 4. 22. 5 nolu (Rosmarinik asit) bileşiğinin ¹³ C-NMR (100 MHz, DMSO- d ₆) spektrumu	41

Şekil 4. 23. 5 nolu (Rosmarinik asit) bileşiğin DEPT-90, DEPT-135, APT NMR spektrumu (¹³ C-NMR100 MHz DMSO-d ₆).....	41
Şekil 4. 24. 5 nolu (Rosmarinik asit) bileşiğin LC-MS-TOF Kromatogramı...	42
Şekil 4. 25. 6 Nolu Bileşik (Globoidnan)	43
Şekil 4. 26. 6 nolu bileşiğin ¹ H-NMR spektrumu (¹ H-NMR400 MHz DMSO-d ₆).....	45
Şekil 4. 27. 6 nolu bileşiğin ¹³ C-NMR spektrumu (400 MHz, DMSO-d ₆).....	46
Şekil 4. 28. 6 nolu bileşiğin DEPT-90, DEPT-135 NMR spektrumu (¹³ C-NMR100 MHz DMSO-d ₆).....	47
Şekil 4. 29. 6 nolu bileşiğin LC-MS-TOF kromatogramı.....	47
Şekil 4. 30. <i>O. rotundifolium</i> bitkisinden bileşiklerin Serbest Radikal Giderme aktiviteleri	49
Şekil 4. 31. <i>O. rotundifolium</i> bitkisinden izole edilen bileşiklerin Total İndirgeme Gücü aktiviteleri	50
Şekil 4. 32. <i>O. rotundifolium</i> bitkisinden izole edilen bileşiklerin ABTS ^{•+} giderme aktiviteleri	52
Şekil 4. 33. <i>O. rotundifolium</i> bitkisinden izole edilen bileşiklerin ve standart EDTA' ya ait Metal Şelatlama Aktiviteleri	53

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2. 1. <i>Origanum rotundifolium</i> Boiss Bitkisi Herbaryumu	3
Çizelge 2. 2 <i>Origanum rotundifolium</i> bitkisinin uçucu yağ içeriği	6
Çizelge 4. 1. <i>O. rotundifolium</i> bitkisinin gallik asit eşdeğeri fenolik bileşik miktarları.....	12
Çizelge 4. 2. <i>O. rotundifolium</i> bitkisi DPPH testi sonuçları.....	13
Çizelge 4. 3. Total indirgeme testi 5, 10, 20 ve 40 µg/mL konsantrasyonları için ölçülen absorbans değerleri.....	14
Çizelge 4. 4. ABTS ^{•+} giderme aktivitesi sonuçları.....	15
Çizelge 4. 5. Metal Şelatlama Aktivitesi sonuçları.....	16
Çizelge 4. 6. <i>O. rotundifolium</i> bitkisinden izole edilen bileşiklerin yapıları....	17
Çizelge 4. 7. <i>O. rotundifolium</i> bitkisinden izole edilen bileşiklerin yapıları....	18
Çizelge 4. 8. Apigenin bileşiğinin ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR değerleri	20
Çizelge 4. 9. 2 nolu (Ferulik asit) bileşiğin ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR kimyasal kayma değerleri.....	26
Çizelge 4. 10. 3 nolu (Viteksin) bileşiğin ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR kimyasal kayma değerleri.....	29
Çizelge 4. 11. 4 nolu (Kaprolaktam) bileşiğin ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR kimyasal kayma değerleri.....	36
Çizelge 4. 12. 5 nolu (Rosmarinik asit) bileşiğin ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR kimyasal kayma değerleri	39
Çizelge 4. 13. 6 nolu Globoidnan A bileşiğin ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR kimyasal kayma değerleri.....	44
Çizelge 4. 14. <i>O. rotundifolium</i> bitkisinden izole edilen bileşiklerin DPPH testi sonuçları	48
Çizelge 4. 15. İzole edilen bileşiklerin total indirgeme testi sonuçları.....	50
Çizelge 4. 16. <i>O. rotundifolium</i> bitkisinden izole edilen bileşiklerin ABTS ^{•+} giderme aktivitesi sonuçları	51
Çizelge 4. 17. Metal Şelatlama Aktivitesi sonuçları.....	53

1. GİRİŞ

Bitkilerin sağlık alanında kullanılması eski çağlardan bu yana devam etmektedir. Çağımızda bilimsel çalışmalardan elde edilen veriler tıbbi ve aromatik bitkilerin insanlığa çok yönlü fayda sağladığı ve bazı rahatsızlıkların giderilmesinde önemli konumda olduğu bilinmektedir. Bir takım bitkilerle iyileşme “fitoterapi” adıyla bilinen bilim kolu haline gelmiştir. Tedavide doğaya dönüş akımı olarak bilinen Yeşil dalga ya da Yeşil ilaç bütün Avrupa’yı ve Amerika’yı etkilemiştir. WHO (Dünya Sağlık Örgütü)’nün yaptığı bir araştırmada, yaklaşık yirmi bir bin tür bitki ilaç sektöründe kullanılmaktadır(Özhatay, Koyuncu et al. 1997). Bitkilerin ilaç sanayinde kullanılmasının en büyük etmenlerinden birisi içerilerinde buldukları sekonder metabolitlerden kaynaklanmaktadır.

Bitkilerde bulunan sekonder metabolitler fitosteroller, terpenler, terpenoidler, alkaloidler, fenolikler ve flavonoidlerdir. Bu maddeler önceleri işe yaramadığı var sayılmakta ve bitkilerin atık ürünleri olarak değerlendirilmekteydi. Sonraları bu maddelerin bitki için savunma mekanizmalarında, hayatını devam ettirme sonraki nesillere bilgi aktarımı gibi birçok faaliyette kullanılan metabolitler olduğu belirlendi. Günümüzde birçok sektörde hammadde olarak kullanılan sekonder metabolitler bitkinin temel yaşamsal işlevleriyle doğrudan ilişkisi olmamasına karşılık en az primer metabolitler kadar önemlidir. Sekonder metabolitler günlük hayatta ilaç, kozmetik, besin katkı maddesi gibi çeşitli alanlarda yer almaktadır (Özcan, Gürel et al. 2002).

Lamiaceae ya da diğer adıyla Labiatae (Ballıbabagiller) familyasına ait bitkiler hemen hemen bütün habitatlarda ve yüksekliklerde yetişmekte, Kutuplar’dan Himalaya’lara, Güney Doğu Asya’dan, Hawaii ve Avusturalya’ya, hatta Afrika ve Amerika’ya kadar geniş bir alanda yayılış göstermektedir(Heywood 1996).

Yaklaşık 224 cins ve 5600 türle Lamiaceae ailesi temsil edilmektedir. en fazla bulunduğu bölge Akdeniz’dir(Hickey and King 1997). Lamiaceae ailesi 45 cins, 565 tür ile önemli gen odaklarından biridir(Güner, Özhatay et al. 2000). Bu aileye ait bitkilerin büyük bir kısmı tıbbi ve aromatik özelliktedir. Çeşitli etkilere sahip olmalarından dolayı halk ilacı olarak, gıda, parfümeri ve kozmetik gibi farklı sanayii dallarında

kullanılmaktadır. Lamiaceae familyasına ait; Kekik (*Origanum rotundifolium*), Adaçayı (*Salvia officinalis*), Nane (*Mentha longifolia*) ve Dağ Çayı (*Sideritis stricta*) türleri bunlardan bazılarıdır (Baytop 1983, Baytop 1997).

Sadece bir ülkenin coğrafi sınırları içinde yetişip başka bir yerde yetişmeyen bitkilere endemik bitkiler denir. Ülkemizde bulunan 10671 tür ve alt türün 3488'i endemik olup endemizin oranı Türkiye için yüksektir (Güner, Özhatay et al. 2000).

Lamiaceae familyası yüksek oranda endemik tür içermektedir. Ticarete yaygın olarak kullanılan bitkilerden olan *Sideritis* ve *Origanum* cinsleri familyada yer alan önemli cinslerdendir.

Origanum'lar ağrı kesici (analjezik), antioksidan, antiseptik, antispazmatik, antiviral, antibakteriyal, gaz giderici, kalbi uyarıcı, terletici, sindirimi kolaylaştırıcı, idrar arttırıcı, adet söktürücü, fungisidal, balgam söktürücü, müshil, sakinleştirici, tonik, mide rahatsızlıklarını ve yaraları iyileştirici etkilere sahiptir (Bernáth 1996, Kitiki 1996, Özcan, Gürel et al. 2002). *Origanum* günlük hayatımızda da önemli bir rol oynamaktadır. Özel tadından dolayı birçok yiyeceklerde yeri doldurulamaz bir baharattır. Tüm dünyada baharat olarak kullanılması yanında *Origanum*'lardan elde edilen kekik suyu da astım ve kronik bronşit gibi hastalıklarda, zayıflamada, yüksek tansiyonda, şeker hastalığında, parazit dökmede ve kan dolaşımını uyarmada kullanılmaktadır.

Tıbbi ve aromatik bitkilerin içeriğinin belirlenmesi bitkinin ticari ve tarımsal değerinin artması ve bilinçli kullanım gibi olguları beraberinde getirecektir. Bitkilerin içerdikleri fenolik bileşikler en geniş biyolojik aktivite yelpazesine sahiptir. Özellikle flavonlar ve organik asitlerin; antimikrobiyal, antikanser, antioksidan, antifungal gibi aktiviteleri yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur. Birçok çalışmada; doz-aktivite ilişkisinin yanında yapı-aktivite ilişkisi de değerlendirilmiştir.

Yapılan çalışmada Artvin'de yetişen *Origanum rotundifolium* Boiss bitkisindeki sekonder metabolitlerin aktivite kontrollü izolasyonu gerçekleştirilmiş olup ve yapıları aydınlatılmıştır. Yapıları aydınlatılan moleküllerin antioksidan aktiviteleri incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

Origanum rotundifolium Boiss. bitkisinin tür teşhisi Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Orman Mühendisliği Bölümü Orman Botaniği Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Özgür Emin AĞAOĞLU tarafından belirlendi.

Çizelge 2. 1. *Origanum rotundifolium* Boiss Bitkisi Herbaryumu

HERBARIUM ARTVIN (ARTH)			
Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Orman Mühendisliği Bölümü Orman Botaniği Anabilim Dalı			
Famila	Lamiaceae		
Nominally	<i>Origanum</i>		
	<i>O. rotundifolium</i> Boiss.		
Location	A9, ARTVİN, ŞAVŞAT, Yaşar köyü, ---		
Habitat	Taşlık yamaç alan	Alt: 1240 m	Date:26/07/2013
Legacy	Özgür Eminağaoğlu	Col.: Ö.Emin. 18608	
Determining	Özgür Eminağaoğlu	Herb No: ARTH 5247	



Şekil 2. 1. *Origanum rotundifolium* Boiss Bitkisi

2.1. Kaynak Özetleri

Yapılan literatür taramasında son yıllarda *Origanum rotundifolium* 'in uçucu yağ içeriği ve biyolojik aktiviteleri üzerine çalışmalar yapılmıştır. (Dadaşoğlu, Aydın et al. 2011) yapmış olduğu çalışmada *Origanum rotundifolium*'un uçucu yağlarında antibakteriyel aktiviteyi incelemiştir. (Çetin, Çakmakçı et al. 2011) yapmış oldukları çalışmada *Origanum rotundifolium*'un uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesini incelemiştir. (Goze, Alim et al. 2009) yapmış oldukları çalışmada *Origanum rotundifolium*'un uçucu yağlarının antioksidan aktivitesini incelemiştir.

Origanum türleri yüksek oranda flavonoid ve fenolik asit içermektedir. Bunlardan bazıları rosmarinik asit, apigenin, luteolin ve skutellarin türevleridir (Zhu, Cui et al. 2013, Leyva-López 2016).

Dünya çapında kekik olarak en çok tanınan ve Yunan kekiği olarak da bilinen *Origanum vulgare*'nin yüksek oranda rosmarinik asit içerdiği belirlenmiştir (Yan, Azizi et al. 2016) .

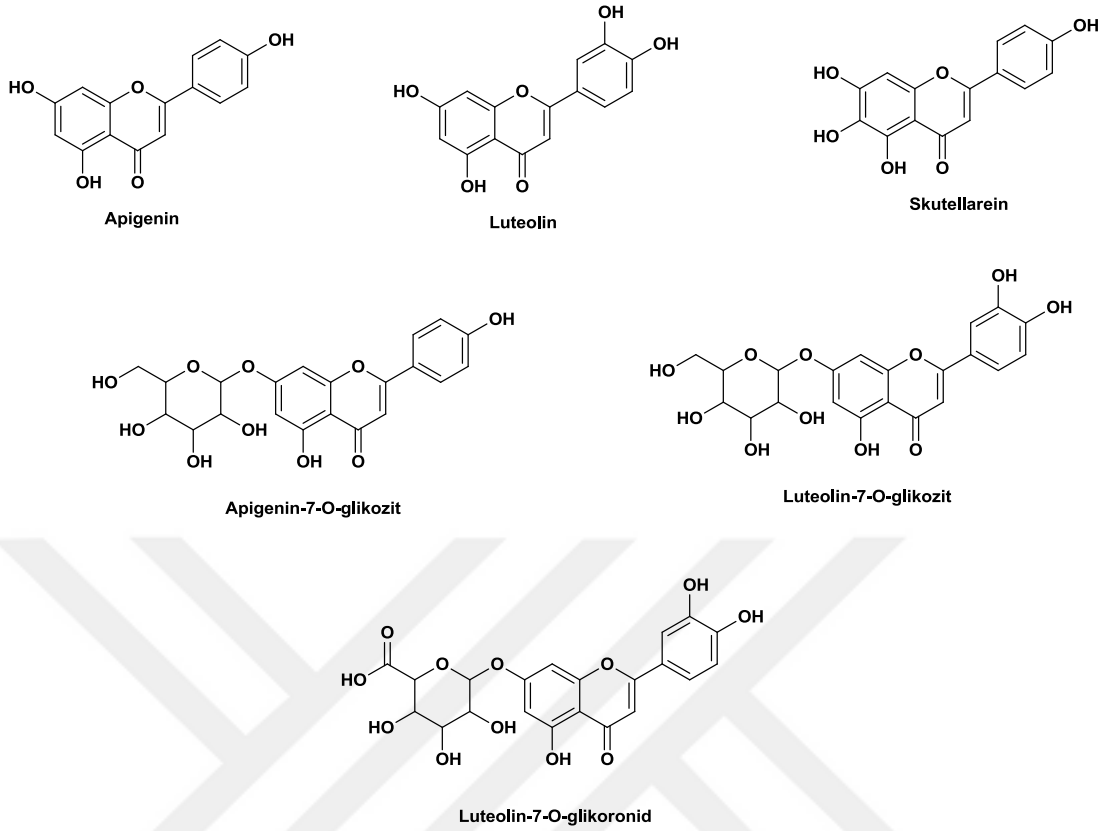
Polonya'da *O. majoram* L. üzerine yapılan bir çalışmada protokateşik asit, p-hidroksibenzoik asit, gentisik asit, klorojenik asit ve siringic asit bileşiklerini izole etmişlerdir (Zgórka and Głowniak 2001).

Origanum majoram L. bitkisinin su ekstresi üzerine yapılan bir çalışmada gallik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, rosmarinik asit, sisorik asit, apigenin-7-glikosid, kuarsetin ve kaemferol bileşiklerini izole edilip ve yapılarının aydınlatıldığı belirtilmiştir (Koldas, Demirtas et al. 2015)

Origanum syriacum türünün uçucu yağı üzerine yapılan bir çalışmada insan meme kanseri hücrelerinin çoğalmasını engellediği belirlenmiştir (Al-Kalaldeh, Abu-Dahab et al. 2010).

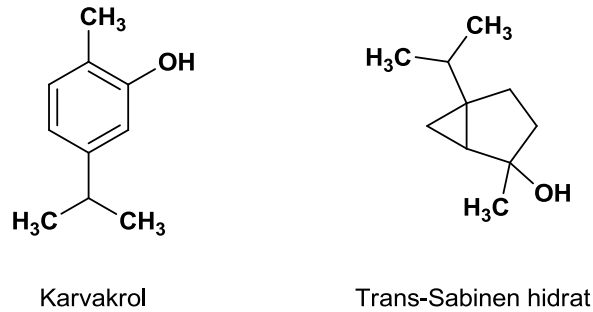
Origanum majorana bitkisinde yapılan bir çalışmada izole edilen bileşiklerin C6 ve HELA hücrelerine karşı yüksek aktivite gösterdiği ortaya konmuştur (Erenler, Sen et al. 2016).

Origanum türlerinde yaygın olarak bulunan ortak flavonların kimyasal yapısı. Şekil 2.2.'de verilmiştir (Rothwell, Perez-Jimenez et al. 2013).



Şekil 2. 2. *Origanum* türlerinde bulunan bazı ortak bileşikler.

Şekil.2.3.'de *O syriacum* ve *O vulgare*'nin uçucu yağlarına yapılan çalışmada *O syriacum*'un uçucu yağ ana bileşeninin karvakrol (%47.10) ve *O vulgare*'nin uçucu yağ ana bileşeninin ise trans-sabinen hidrat (%27.19) olduğu belirlenmiştir (Al-Kalaldeh, Abu-Dahab et al. 2010).

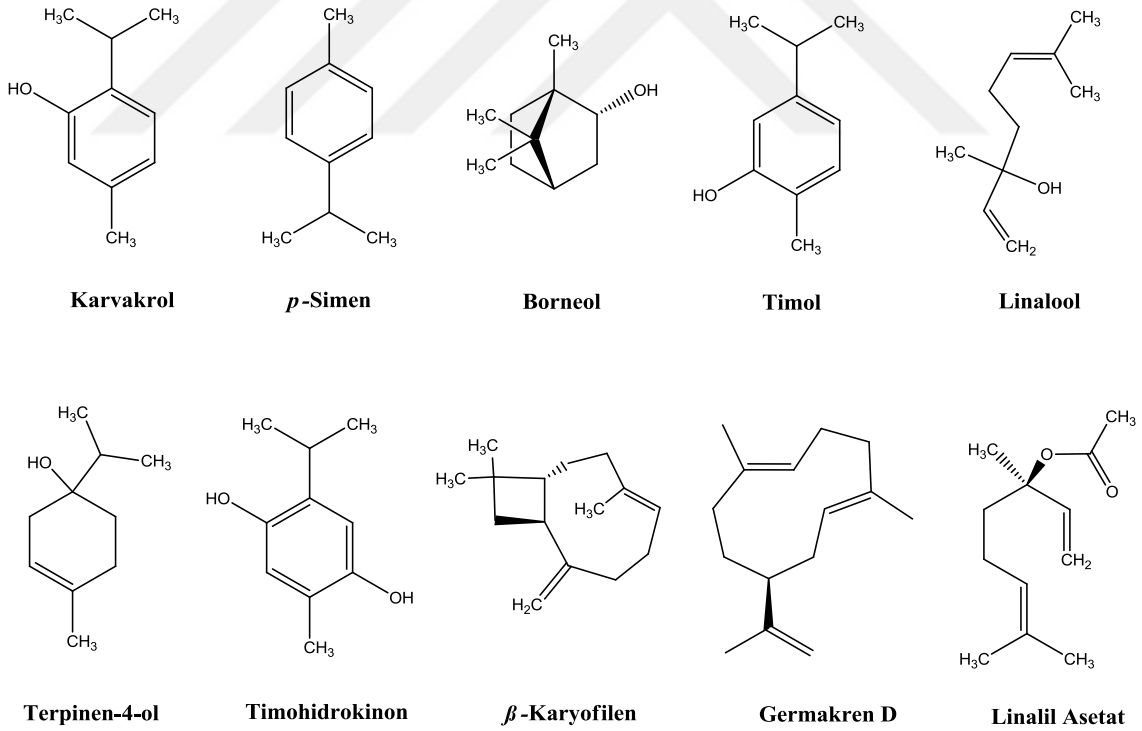


Şekil 2. 3. Karvakrol ve trans-sabinen hidrat uçucu yağlarının yapısı.

Çizelge 2.2.'de *Origanum rotundifolium* bitkisinin uçucu yağında yapılan GC-MS analizi sonunda ana bileşenlerin % 54,56 ile karvakrol ve %12,53 ile *p*-simen olduğu belirlenmiştir. (Çetin, Çakmakçı et al. 2011)

Çizelge 2. 2 *Origanum rotundifolium* bitkisinin uçucu yağ içeriği

<i>Origanum rotundifolium</i>	Bileşenler	% Bileşen
	Karvakrol	54.56
	<i>p</i> -Simen	12.53
	Borneol	5.86
	Thimol	3.52
	Linalool	1.77
	Terpinen-4-ol	1.54
	Timohidrokinon	1.14
	β -Karyofilen	1.09
	Germakren D	1.08
	Linil asetat	1.07



Şekil 2. 4. *Origanum rotundifolium* bitkisinde bulunan uçucu yağ bileşenleri (Çetin, Çakmakçı et al. 2011)

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasallar

3.1.1. Çözücü ve Reaktifler

Metilen klorür(TEKKİM), kloroform(TEKKİM), etilasetat(TEKKİM), metanol(TEKKİM), etanol(TEKKİM), hekzan(TEKKİM), dötero kloroform(Merck), dötero dimetilsülfoksit(Merck), dötero metanol(Merck), silikajel(Merck), TLC plakası(Merck).

3.1.2. Dolgu maddeleri

İnce tabaka kromatografisi tabakaları (20 x 20), silikajel (Merck).

3.2. Cihazlar

UV/VİS Spektrofotometresi, NMR, HPLC, Vakum pompası, Evaporatör, Liyofilizatör, Manyetik Karıştırıcı.

3.3. Cam Malzemeler

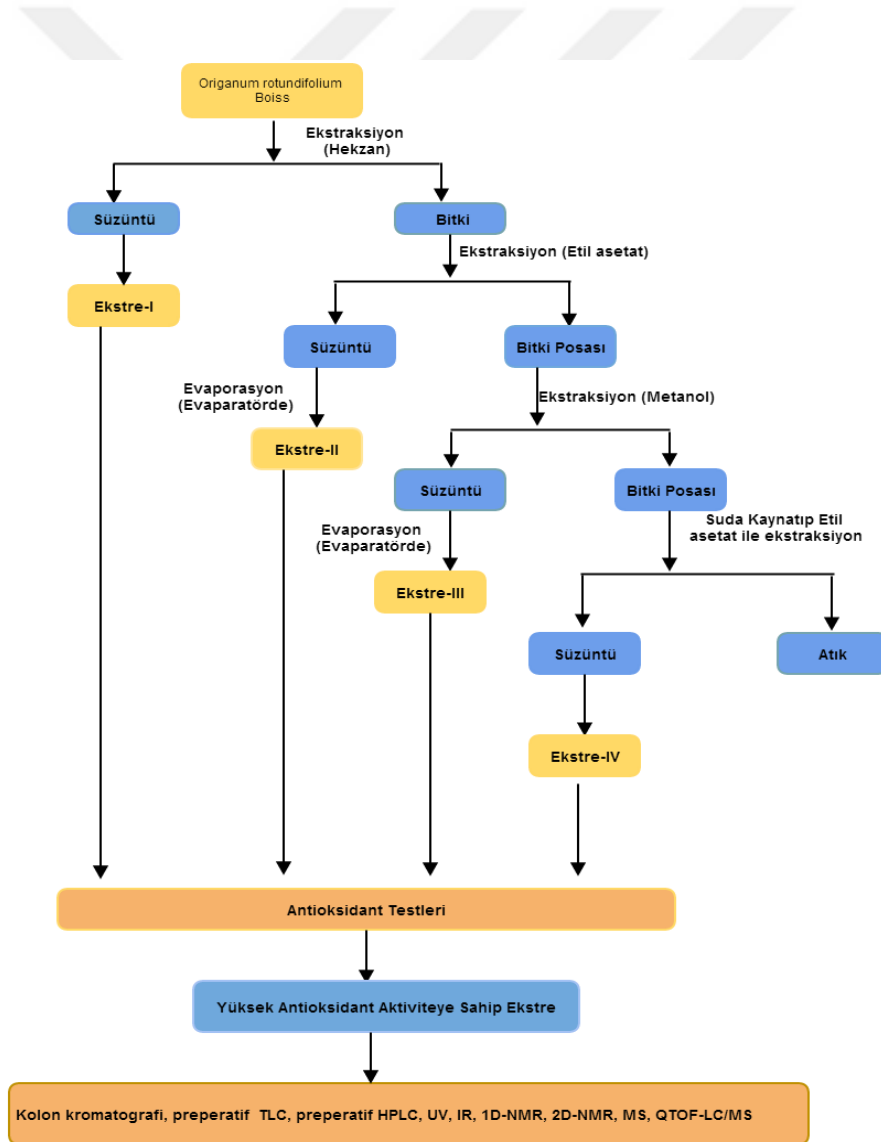
Kristallendirme için balonlar, erlen, beher, huni, kromatografi kolonları, mezür, fraksiyonlandırma için cam tüpler, damlalıklar, numune saklama kabı.

3.4. Bitkisel Materyal

Tez çalışması kapsamında *Origanum rotundifolium* Boiss bitkisi Artvin ilinin Şavşat ilçesinin Yaşar köyünden toplanmış ve Artvin Çoruh Üniversitesi'nde Özgür Eminağaoğlu tarafından ARTH5247 herbaryum kodu verilerek 26.07.2013 tarihinde tür teşhisi yapılmış ve direk olarak güneş ışığı almayan bir yerde kurutuldu.

3.5. Bitkinin Ekstraksiyonu

Origanum rotundifolium bitkisi güneş görmeyen ortamda kurutulduktan sonra bitkiden 1 kg alınarak üzerine hekzan eklenip manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Çözücü ve posa kısmı süzgeç kâğıdı yardımı ile süzülerek ayrıldı ve çözücü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırılarak hekzan ekstraktı elde edildi. Posa kısmının üzerine etil asetat ilave edilip aynı işlemlerle etil asetat ekstraktı ve ardından metanol ekstraktı elde edildi. Metanol ekstraktından sonra kalan posa kısmı kurutulduktan sonra su ile kaynatılıp posa kısmı ayrıldı. Sulu kısım etil asetatla ekstrakte edilerek sudan etil asetat ekstraktı elde edildi (Şekil 3.1.).



Şekil 3. 1. *O. rotundifolium* bitkisi için ekstraksiyon şeması

Elde edilen dört farklı ekstrelerden ayrı ayrı 1000 ppm' lik çözeltiler hazırlanarak Total Fenolik Bileşik Tayini ve İndirgeme Gücü Aktivitesi, Serbest Radikal (DPPH) Giderme Aktivitesi, ABTS⁺ Radikali Giderme Aktivitesi ve Metal Şelat Oluşturma antioksidan aktivite testleri yapıldı.

Yapılan testler sonucunda aktivitesi yüksek olan ekstraktlar için aktiviteden sorumlu bileşiklerin izolasyonu için kolon kromatografisi gerçekleştirilmiştir.

Toplanan, bitki örneklerinin ekstraksiyonu, hazırlanması, elue etme, saflaştırma basamakları, aktivite testleri ve izole edilen bileşiklerin için yapıların karakterizasyonları Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Kimya Bölümü Bitki Araştırma Laboratuvarı'nda yapıldı.

3.6. Kromatografik Yöntemler

Bitkiden elde edilen ve aktivitesi yüksek olan ekstrakt üzerinden sekonder metabolitlerin izolasyonu yapıldı. Kromatografik yöntemlerde kullanılacak kolon ekstraktın içeriğine göre seçildi. Sabit faz olarak silika gel, mobil faz olarak da polariteye göre çözücü oranları kullanıldı.

3.7. Spektroskopik Yöntemler

İzole edilen moleküllerin yapıları kolon kromatografisi, LC-TOF-MS, 1D-NMR ve 2D-NMR tekniklerinden yararlanılarak aydınlatıldı.

3.8. Antioksidan Aktivite Analizleri

3.8.1. Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi

Origanum rotundifolium Boiss bitkisinden elde edilen hekzan, etil asetat, metanol ve sudan etil asetat ekstratlarının antioksidan ve fenolik bileşenler bakımından zengin olanını belirlemek için total fenolik bileşik tayini, İndirgeme Gücü Aktivitesi, Serbest Radikal (DPPH) Giderme Aktivitesi, ABTS⁺ Radikali Giderme Aktivitesi ve Metal Şelat Oluşturma Aktivitesi testlerine tabii tutulacaktır. Antioksidan ve fenolik bileşen bakımından zengin olan ekstre üzerinden izolasyon çalışması yapıldı.

3.8.2. Toplam Fenolik Bileşik Belirleme Testi

Total fenolik bileşik tayininde Folin-Ciocalteu reaktifi kullanıldı (Slinkard and Singleton 1977). 100 µL örneğe 4,5 mL distile su ilave eklendikten sonra 100 µL Folin reaktifi ilave edildi. Üç dakika beklendi, sonra %2'lik 300 µL (Na₂CO₃) ilave eklendi. Vortek işleminden sonra oda koşullarında 2 saat inkübasyona tabii tutuldu. Örnekler oda sıcaklığına soğutulduktan sonra 760 nm'deki absorbansları ölçüldü. Sonuçlar gallik aside eşdeğer olacak şekilde, fenolik bileşik/kg kuru bitki olarak verildi.

3.8.3. Serbest Radikal (DPPH·) Giderme Aktivite Testi

Serbest radikal giderme aktivitesi Blois ve arkadaşlarının metoduna göre yapıldı (Blois 1958). 0,26 mM'lık DPPH· (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) etanol içerisinde hazırlandı. Numunelerin stok çözeltilerinden belirli miktarda (10–200 µg/mL) alındı ve üzerine 1 mL DPPH 0,26 mM çözeltisi ilave edildi, sonra tüpteki çözeltinin hacmi dört mL oluncaya dek üzerine etanol ilave edildi. Daha sonra vortex yapıldı ve 30 dk inkübasyona tabii tutuldu. İnkübasyondan sonra 517 nanometrede absorbansları kaydedildi. Sonuçlar IC₅₀ olarak hesaplandı.

3.8.4. İndirgeme Gücü Aktivite Testi

Oyaizu'nun (Oyaizu 1986) analizde bazı değişiklikler sonrası Elmastaş'ın (Elmastas, Turkecul et al. 2006) analizine göre gerçekleştirildi. 100 µL örnek alındı, fosfat tamponu (0.2 M, pH=6.6) ile hacmi 1,25 mL'ye tamamlandı. Sonra üstüne 1,25 mL%1'lik potasyumferriksiyanür [K₃Fe(CN)₆] eklendi. Elde edilen karışım 50 °C'de 20 dakika inkübasyona bırakıldı. Sonra da bu karışıma trikloroasetik asit (1,25 mL, % 10'luk) ve FeCl₃ (0,25 mL, % 0.1'lik) eklendi. En sonunda ise karışımın 700 nm'de absoransı kaydedildi.

3.8.5. Radikal Giderme Aktivite Testi

Re ve arkadaşlarının yaptığı metottan yararlanılarak (Re, Pellegrini et al. 1999). Bu yönteme göre, 0,1 Molar pH=7,4 fosfat tamponu ayarlandı. Bu tampon ile hazırlanmış

olan 2 milimolar ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic asit) ile yine aynı tamponla hazırlan 2,45 milimolar $K_2S_2O_8$ (potasyumpersulfat) çözeltisi 1/2 oranında karıştırılarak, karanlık ortamda 6 saat bekletildi. Bitki ekstralarının stok çözeltilerinden uygun miktarda alındı ve üzerlerine hacmi 3 mL oluncaya dek fosfat tamponu eklendi. Daha sonra ise üzerine 1 mL $ABTS^+$ çözeltisi eklenerek çözeltinin karıştırılması için vortex yapıldı. Çözelti karışımı oda şartlarında 1 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra spektrofotometrede 734 nm de absorbansı okundu. Sonuçlar IC_{50} değeri hesaplanarak verildi (Baytop 1983).

3.8.6. Metal Şelat Oluşturma Aktivitesi:

Şelat oluşturma aktivitesi için (Dinis, Maderia et al. 1994). Örneklerden 0,2 mL alındı üstüne 0,1 mililitre 2 milimolar Fe_2Cl_3 çözeltisi ve 0,9 mililitre metanol eklendi. Karıştırıldı ve beş dakika beklendi. En son olarak 0,4 mililitre ferrozin eklendi. On dk sonrasında 562 nm'de absorbanslar kaydedildi. Kör olarak ekstarkt eklenmemiş matrix kullanıldı. Sonuçları IC_{50} olarak hesaplandı.

4. BULGULAR

4.1. Total Fenolik Bileşik Tayini Sonuçları

Tüm bitki ekstraktlarındaki çözünebilen fenolik madde miktarları Folin Ciocalteu Reaktifi (FCR) ile belirlendi. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit çözeltilerinin kalibrasyon grafiğinden, örneklerin toplam fenolik madde miktarları (mg GAE/kg bitki) olarak hesaplandı.

Çizelge 4. 1. *O. rotundifolium* bitkisinin gallik asit eşdeğeri fenolik bileşik miktarları

Numune	Gallik asit eşdeğeri fenolik bileşik miktarı (mg fenolik bileşik/Kg Bitki)
Hekzan	21.94 ± 2.05
Etil Asetat	44.86 ± 8.91
Metanol	164.70 ± 19.31
Su	134.58 ± 21.54
Sudan Etil Asetat	620.50 ± 31.44

Gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanan fenolik bileşik miktarları *O. rotundifolium* bitkisi için Sudan Etil asetat > Metanol > Su > Etil asetat > Hekzan sırasında azalmaktadır. (Çizelge 4.1).

4.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Sonuçları

O. rotundifolium bitkisinin çeşitli organlarının serbest radikal giderme aktiviteleri (DPPH) incelenmiştir.

Çizelge 4. 2. *O. rotundifolium* bitkisi DPPH testi sonuçları

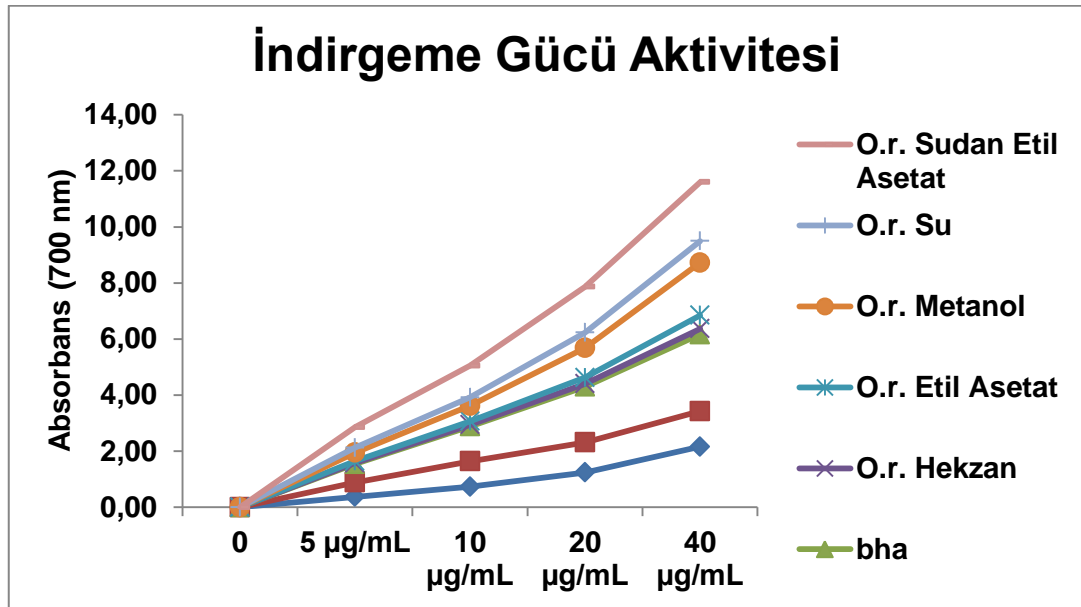
Gruplar	IC ₅₀ µg/mL
Hekzan	366.85 ± 4.92
Etil Asetat	56.20 ± 3.90
Metanol	10.81 ± 0.27
Su	34.85 ± 0.68
Sudan Etil Asetat	2.84 ± 0.57
BHT	15.34 ± 0.86
BHA	4.60 ± 0.06

Analiz sonuçlarına (Çizelge 4.2) Serbest radikal giderme aktiviteleri IC₅₀ değerleri µg/mL için Troloks > Sudan Etil asetat > BHA > Metanol > BHT > Su > Etil asetat > Hekzan sıralaması ile azalmaktadır. Sonuçlar kıyaslandığında Sudan Etil asetat numunesinin BHA ve BHT gibi standartlardan ve diğer numunelerden çok daha fazla radikal giderme kapasitesine sahip olduğu görülmektedir.

4.3. Total İndirgeme Kapasitesi Tayini Sonuçları

Çizelge 4. 3. Total indirgeme testi 5, 10, 20 ve 40 µg/mL konsantrasyonları için ölçülen absorbans değerleri

Gruplar	5µg/mL	10µg/mL	20µg/mL	40µg/mL
Trolox	0.37±0.03	0.73±0.02	1.24±0.09	2.16±0.12
BHT	0.51±0.04	0.91±0.04	1.07±0.12	1.27±0.17
BHA	0.66±0.05	1.25±0.01	1.99±0.21	2.74±0.02
Hekzan	0.04±0.01	0.06±0.00	0.10±0.00	0.20±0.00
Etil Asetat	0.07±0.00	0.12±0.00	0.23±0.01	0.48±0.01
Metanol	0.30±0.00	0.56±0.02	1.06±0.03	1.88±0.02
Su	0.18±0.02	0.30±0.06	0.55±0.06	0.77±0.15
Sudan Etil Asetat	0.74±0.02	1.13±0.10	1.64±0.07	2.10±0.12



Şekil 4. 1. *O. rotundifolium* bitki ekstraktları ve standartlara ait Total İndirgeme değerleri.

Total indirgeme testi için çizilen absorbans-konsantrasyon grafiğinde görüldüğü gibi aktivite, tüm derişimlerde Sudan Etil asetat > Su > Metanol > Etil asetat > Hekzan >BHA > BHT > Trolox sıralamasıyla azalmaktadır. Sudan Etil Asetat ekstresi, tüm ekstreler ve standartlardan daha yüksek total indirgeme kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir.

4.4. ABTS^{•+} Giderme Aktivitesi Tayini Sonuçları

Çizelge 4. 4. ABTS^{•+} giderme aktivitesi sonuçları

Gruplar	IC ₅₀ µg/mL
BHA	1.79 ± 0.11
BHT	1.40 ± 0.08
Trolox	3.05± 0.15
Hekzan	12.67 ± 1.07
Etil Asetat	4.44 ± 0.67
Metanol	1.51 ± 0.18
Su	4.92 ± 0.52
Sudan Etil Asetat	0.75 ± 0.12

ABTS^{•+} giderme aktiviteleri IC₅₀ değerleri µg/mL için Sudan Etilasetat > BHT > Metanol > BHA > Trolox > Etilasetat > Su > Hekzan sırasıyla azalmaktadır (Çizelge 4.4).

4.5. Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesi

Çizelge 4. 5. Metal Şelatlama Aktivitesi sonuçları

Gruplar	IC ₅₀ (µg/mL)
EDTA	15.26 ± 1.43
Hekzan	182.33 ± 1.99
Etil asetat	122.15 ± 3.87
Metanol	101.21 ± 1.23
Su	109.26 ± 2.21
Sudan Etil asetat	147.37 ± 2.25

O. rotundifolium bitkisi ham ekstralarının Metal Şelatlama Aktivite (% Aktivite olarak) değerleri, EDTA > Metanol > Su > Etil asetat > Sudan Etil asetat > Hekzan sıralaması ile azalmaktadır.

Yapılan aktivite test sonuçları değerlendirildiğinde aktivitesinin diğer ekstralara göre daha yüksek olduğu belirlenen sudan etil asetat ekstresi üzerinden kromatografik teknikler yardımıyla izolasyon işlemi yapılmıştır.

4.6. *Origanum rotundifolium* Boiss Bitkisi İçin Kolon Kromatografisi

Elde edilen 14 g sudan etil asetat ham ekstresi kolon dolgu maddesi olarak silika jel kolonuna tatbik edildi. Artan polariteye göre hekzan-etilasetat-metanol çözücü sistemi ile elue edildi. Kolon kromatografisinde TLC kontrollü birleştirilen fraksiyon aralıkları ve izole edilen bileşikler Çizelge 4.6.' de verilmiştir.

Çizelge 4. 6. *O. rotundifolium* bitkisinden izole edilen bileşiklerin yapıları

TLC Kontrollü Birleştirilen Fraksiyon Aralıkları	Bileşik
154-182 (% 10 MeOH / % 90 EtOAc)	Apigenin
183-188 (% 10 MeOH / % 90 EtOAc)	Ferulik asit
230-260 (% 20 MeOH / % 80 EtOAc)	Viteksin
230-260 (% 20 MeOH / % 80 EtOAc)	Kaprolaktam
300-330 (% 30 MeOH / % 70 EtOAc)	Rozmarinik asit
360- 400 (% 40 MeOH / % 60 EtOAc)	Globoidnan A

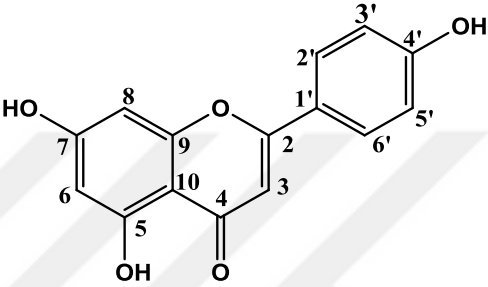
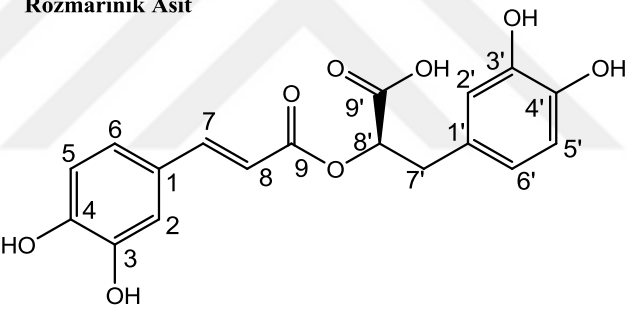
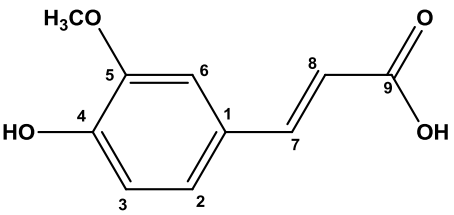
4.7. *O. rotundifolium* bitkisinden İzole Edilen Bileşikler

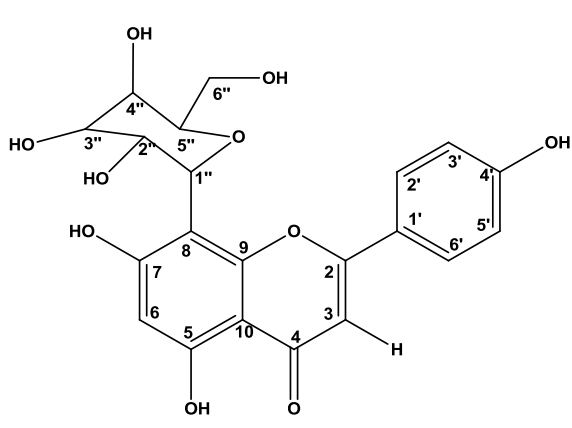
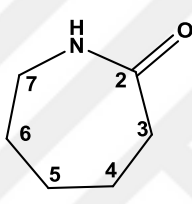
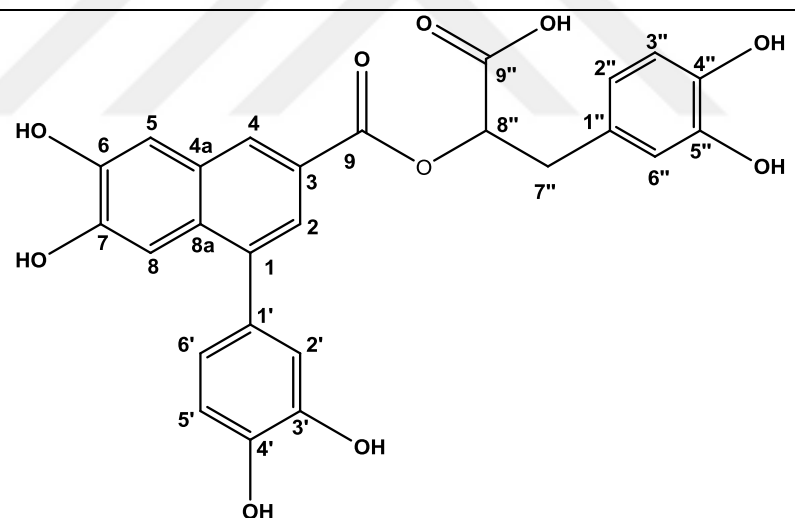
O. rotundifolium bitkisinden toplam 6 bileşik izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapıları 1D NMR teknikleri (^1H , ^{13}C , APT, DEPT90, DEPT135) ve 2D NMR teknikleri (HETCOR, COSY, HMBC, TOCSY) kullanılarak aydınlatıldı.

4.7.1. *O. rotundifolium* Bitkisi İçin Fitokimyasal Çalışmalar

İzole edilen bileşiklerin yapıları Çizelge 4.7.' de verilmiştir.

Çizelge 4. 7. *O. rotundifolium* bitkisinden izole edilen bileşiklerin yapıları

Bileşik	Yapısı
(1)	 <p>The structure shows a coumarin core. The benzene ring of the coumarin has hydroxyl groups at positions 5 and 7. The pyrone ring has a carbonyl group at position 4. A benzene ring is attached at position 2, with a hydroxyl group at position 4'.</p>
(2)	<p>Rozmarinik Asit</p>  <p>The structure shows two hydroquinone units (benzene rings with hydroxyl groups at 3 and 4) connected by a central chain. The chain consists of a double bond (C7=C8) and a central carbon (C9) bonded to two hydroxyl groups (C8' and C9'). The hydroxyl group at C9' is shown with a wedge bond, indicating stereochemistry.</p>
(3)	 <p>The structure shows a benzene ring with a hydroxyl group at position 4 and a methoxy group (H₃CO) at position 5. A propenoic acid side chain is attached at position 1, with the double bond between C7 and C8, and the carboxylic acid group at C9.</p>

(4)	<p style="text-align: center;">Viteksin</p> 
(5)	<p style="text-align: center;">Kaprolaktam</p> 
(6)	

4. 8. *O. rotundifolium* İzole Edilen Bileşiklerin Fiziksel ve Spektral Özellikleri

4. 8.1 1 Nolu Bileşiğin (Apigenin) Fiziksel ve Spektral Özellikleri

1 nolu bileşik, kolon kromatografisinde 154-182 nolu fraksiyonlarından preparatif HPLC kullanılarak izole edildi (10 mg). Beyaz renkli Apigenin molekülü bilinen bir bileşiktir. Belirlenen değerler literatür (Owen, Haubner et al. 2003) ile uyumludur.

Bileşik $C_{15}H_{10}O_5$ kapalı yapıya denk olan molekül pikini [M-H]⁻ LC-MS-TOF kütle analizi sonucunda m/z 269.0505 değerini vermiştir.

UV λ_{max} (nm) CH₃OH: 272, 345

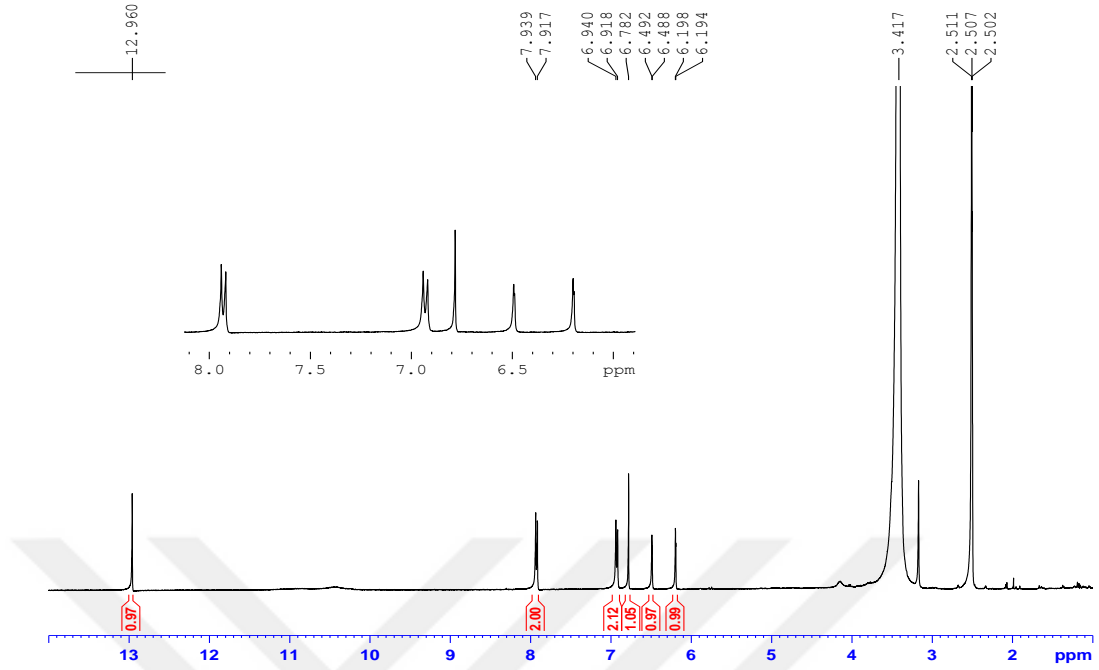
FT-IR ν (cm⁻¹) 3412, 2941, 2830, 1648, 1049, 1011, 837, 758

¹H-NMR (DMSO-d₆ δ ,ppm,400 MHz)

¹³C-NMR (DMSO-d₆ δ ,ppm,100 MHz)

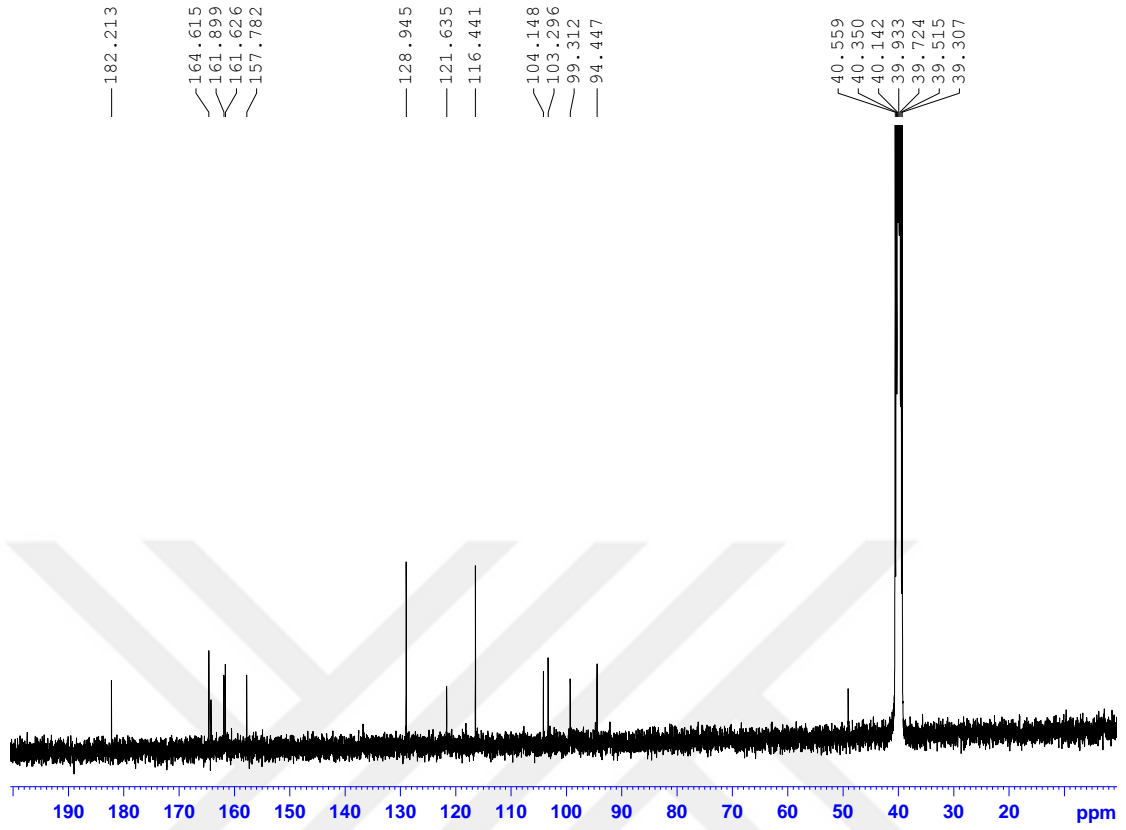
Çizelge 4. 8. Apigenin bileşiğinin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR değerleri

Posizyon	1 nolu	
	δ_H	δ_C
2		164.61
3	6.78 (s)	103.29
4		182.21
5		161.89
6	6.19 (d, $J = 1.8$ Hz)	99.31
7		164.27
8	6.49 (d, $J = 1.8$ Hz)	94.44
9		157.78
10		104.14
1'		121.63
2'	7.92 (d, $J = 8.80$ Hz)	128.94
3'	6.93 (d, $J = 8.80$ Hz)	116.44
4'	-	161.62
5'	6.93 (d, $J = 8.80$ Hz)	116.44
6'	7.96 (d, $J = 8.80$ Hz)	128.94



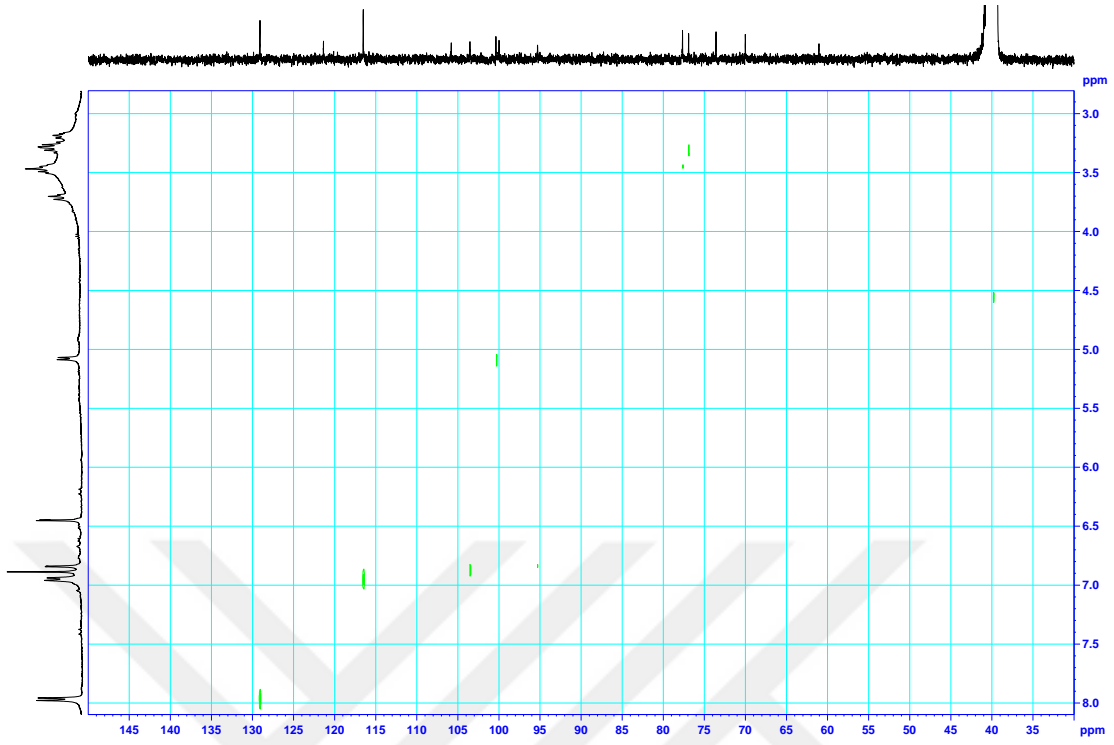
Şekil 4. 2. 1 nolu (Apigenin) bileşiğin ¹H-NMR spektrumu (¹H-NMR400 MHz DMSO-d₆)

1 nolu bileşiğin ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde $\delta_{\text{H}} = 7.92$ (d, $J = 8.80$ Hz) ppm’de görünen sinyaller B halkasının C-2’ ve C-6’ protonlarına, 6.93 (d, $J = 8.80$ Hz) ppm’ de görünen sinyaller B halkasının C-3’ ve C-5’ protonlarına, $\delta_{\text{H}} = 6.19$ ile $\delta_{\text{H}} = 6.49$ (d, $J = 1.8$ Hz) ppm’ de görünen sinyaller ise A halkasının C-6 ve C-8 protonlarına ait olduğu tespit edilmiştir. $\delta_{\text{H}} = 6.78$ ppm’ de singlet olarak görünen bu sinyal molekülümüzün flavon olduğuna işaret eder.



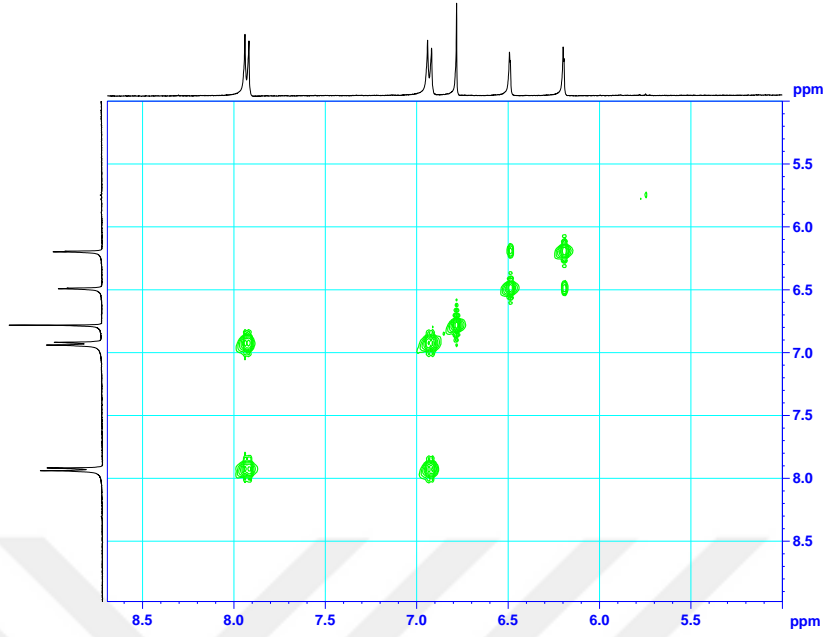
Şekil 4. 3. 1 nolu bileşiğin ^{13}C -NMR spektrumu (400 MHz, DMSO-d_6)

^{13}C -NMR spektrumunda 15 karbon sinyali görülmektedir. $\delta_{\text{C}}= 128.9$ ve $\delta_{\text{C}}= 116.4$ ppm'de görünen sinyallerin sırasıyla, C-2' ve C-6' ile C-3' ve C-5' konumlarına, $\delta_{\text{C}}= 103.4$ ppm' de C-3 konumu, $\delta_{\text{C}}= 99.3$ ve $\delta_{\text{C}}= 94.4$ ve ppm' de C-6 ve C-8 konumlarına ait olduğunu literatürler değerleri de desteklemektedir.



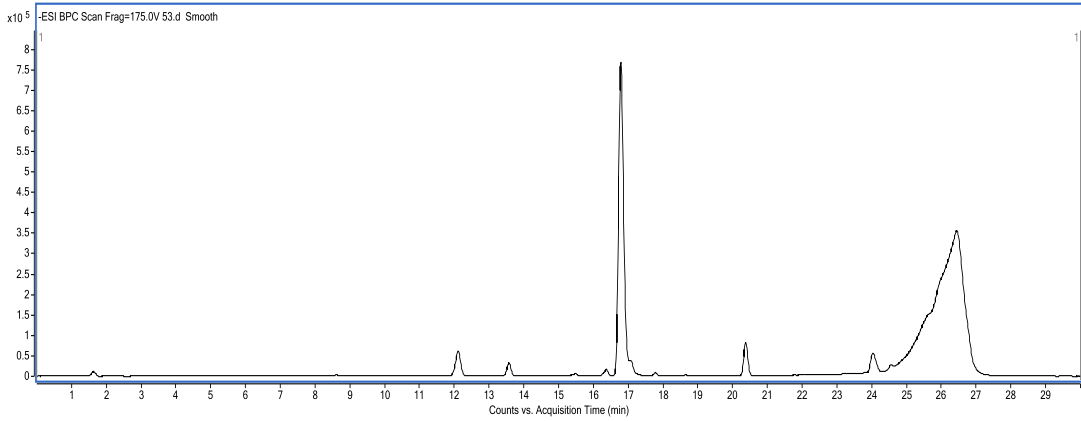
Şekil 4. 4. 1 nolu bileşiğin HETCOR spektrumu ($^1\text{H-NMR}$ 400 MHz, $^{13}\text{C-NMR}$ 100 MHz DMSO- d_6)

1 nolu bileşiğin HETCOR spektrumunda, flavonoid halkasında 103.78 ppm'deki C-3 karbonunun 6.78 ppm'deki protonla etkileştiği, flavonoidin B halkasındaki 128.9 ve 116.4 ppm' deki C-2', C-6' ve C-3', C-5' karbonlarının 7.92 ve 6.93 ppm'deki protonlarla, 99.31 ve 94.44 ppm'deki C-6 ve C-8 karbonlarının 6.19 ve 6.49 ppm' deki protonlarla etkileştiği tespit edilmiştir.



Şekil 4. 5. 1 nolu bileşiğin COESY spektrumu($^{13}\text{C-NMR}$ 100 MHzDMSO- d_6)

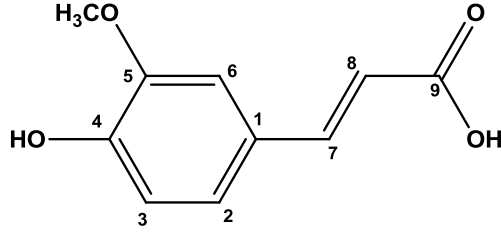
Bileşikteki H-H etkileşimi için COESY spektrumu, bileşiğin $\delta_{\text{H}}=7.92$ ppm' de H-2' ve H-6' protonlarının $\delta_{\text{H}}=6.93$ ppm'de etkileştiği olan H-3' ve H-5' protonlar ve H-6 ile H-8 $\delta_{\text{H}}=6.19$, $\delta_{\text{H}}=6.49$ ppm'de ile etkileşimi gözlenirken ayrıca şeker protonları da birbirleriyle etkileşimleri görülmüştür.



Şekil 4. 6. 1 nolu bileşiğin LC-MS-TOF kromatogramı

1 nolu bileşiğin LC-MS-TOF kromatogramlarından kapalı formülü $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$ olan bileşiğin 17. dakikada moleküler iyon pikinin (-)ESI MS: m/z 269.05 $[\text{M-H}]^-$ olduğu saptandı.

4. 9.2. 2 Nolu Bileşğin (Ferulik asit) Fiziksel ve Spektral Özellikleri



Şekil 4. 7. 2 Nolu Bileşik (Ferulik asit)

Yaygın ismi literatürde Ferulik asit olan 2 nolu bileşik *O. rotundifolium sudan* etil asetat ekstraktından kolon kromatografisi ile 183-188 nolu fraksiyonları izole edildi (30 mg). İzole edilen molekülün fiziksel görünümümü ise kirli beyaz renkli amorf toz şeklindedir. Ferulik asit molekülü bilinen bir bileşik olup elde edilen veriler literatür (Yoshioka, Inokuchi et al. 2004) ile uyum içindedir.

Bileşik $C_{10}H_{10}O_4$ kapalı formülüne karşılık gelen moleküler iyon pikini $[M-H]^-$ LC-MS-TOF kütle spektrumunda m/z 193.042 olarak vermiştir.

UV λ_{max} (nm) CH_3OH : 272, 345

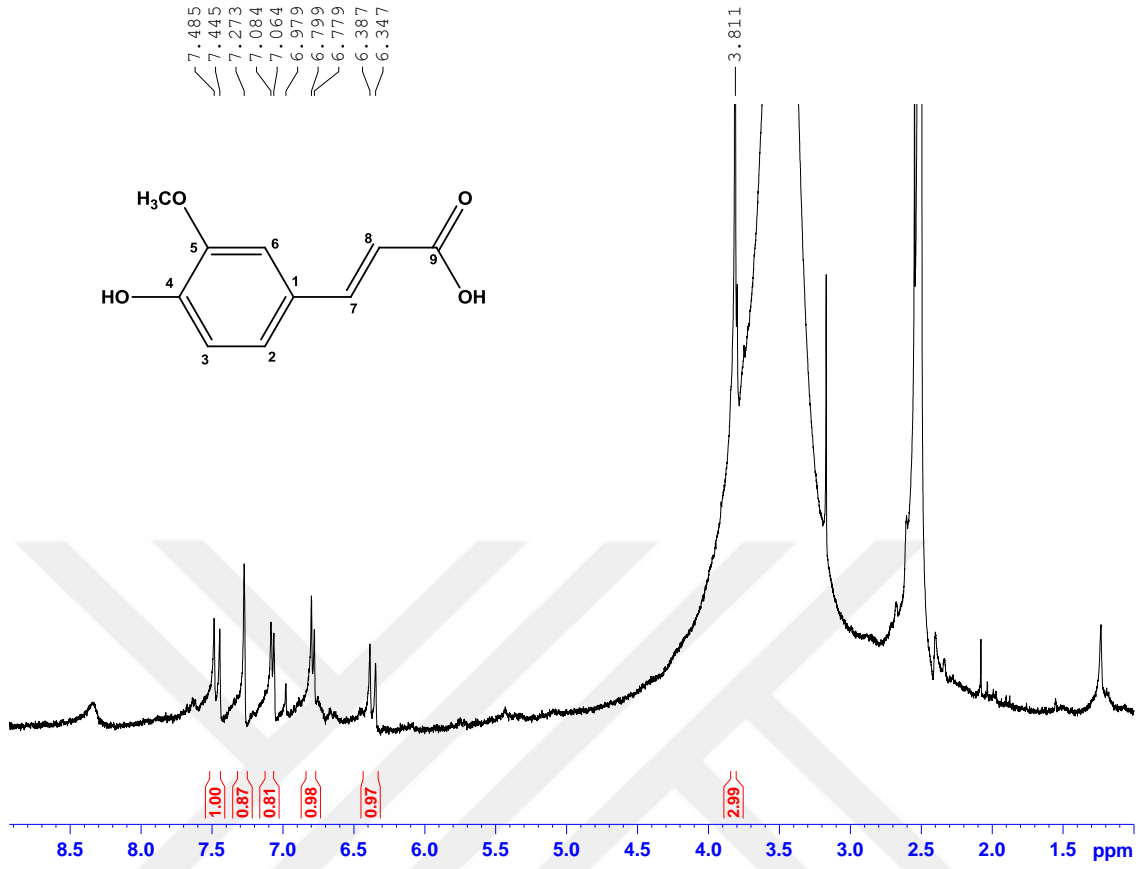
FT-IR $\nu(cm^{-1})$ 3412, 2941, 2830, 1648, 1049, 1011, 837, 758

1H -NMR (DMSO- d_6 δ ,ppm,400 MHz)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 δ ,ppm,100 MHz)

Çizelge 4. 9. 2 nolu (Ferulik asit) bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR kimyasal kayma değerleri

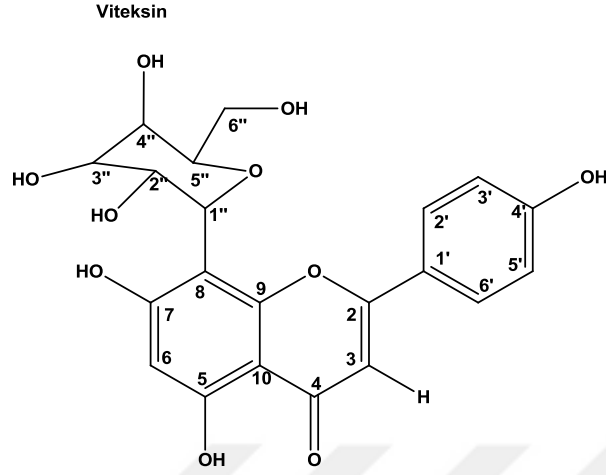
C/H	δ_C ppm	δ_H ppm (Hz)
1	127.6	
2	115.1	7.27 (d, <i>J</i> =2.1)
3	149.6	
4	146.6	
5	116.4	6.78 (d, <i>J</i> =8.20)
6	122.7	7.07 (dd, <i>J</i> =8.20, 2.1)
7	147.8	7.44 (d, <i>J</i> = 15.6)
8	114.8	6.15 (d, <i>J</i> = 15.6)
9	169.6	
3-OMe	56.4	3.81 (s)



Şekil 4. 8. 2 nolu (Ferulik asit) bileşiğin¹H-NMR spektrumu (¹H-NMR400 MHz DMSO-d₆)

¹H-NMR spektrumunda flavon yapısının aromatik halkasına ait proton rezonansları, ABX sistem protonları (sırasıyla H-2, 6, 5 numaralı protonlar) gözlenmiştir. H-2 ve H-5 protonları $\delta_H = 7.27$ ve $\delta_H = 6.78$ ppm' de (d, $J = 2.10$ Hz ve d, $J = 8.20$ Hz) dublet şeklinde, H-6 protonu $\delta_H = 7.07$ ppm' de (dd, $J = 8.20$, $J = 2.20$ Hz) rezonans olmuştur. $\delta_H = 7.44$ (d, $J = 15.6$) ve $\delta_H = 6.15$ (1H, d, $J = 15.6$ Hz) ppm'deki kimyasal kayma değerleri molekülde birbirine göre trans konumda olan olefinik protonları ve $\delta_H = 3.81$ ppm' deki singlet metoksi protonlarının varlığını göstermiştir.

4. 10.3. 3 Nolu Bileşğin (Viteksin) Fiziksel ve Spektral Özellikleri



Şekil 4. 9. 3 nolu bileşik (Viteksin)

3 nolu bileşik (Viteksin) *O. rotundifolium* sudan etil asetat ekstraktından kolon kromatografisi ile silikajel dolgu maddesi kullanılarak ile hekzan: etilasetat (1:4) çözücü sisteminde izole edildi (60 mg). 3 nolu bileşik fiziksel görünümü sarı renkli amorf toz yapıdadır. Bileşğin erime noktası 262-264 °C olarak ölçüldü. Viteksin molekülü bilinen bir bileşik olup elde edilen veriler literatür (Wen, Han et al. 2007) ile uyum içindedir.

Bileşik $C_{19}H_{19}O_{10}$ kapalı formülüne karşılık gelen moleküler iyon pikini $[M-H]^-$ LC-MS-TOF kütle spektrumunda m/z 431.08 olarak vermiştir.

UV λ_{max} (nm) CH_3OH : 272, 345

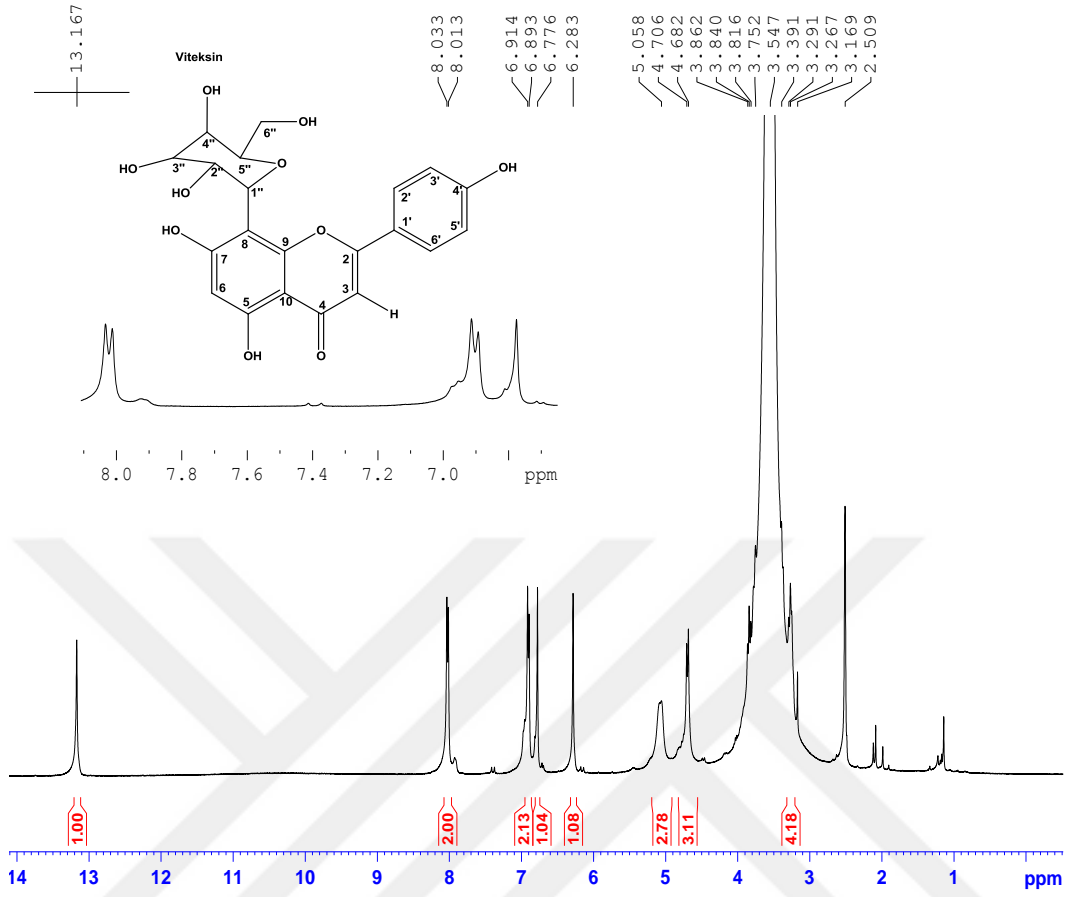
FT-IR $\nu(cm^{-1})$ 3412, 2941, 2830, 1648, 1049, 1011, 837, 758

1H -NMR (DMSO- d_6 δ ,ppm,400 MHz)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 δ ,ppm,100 MHz)

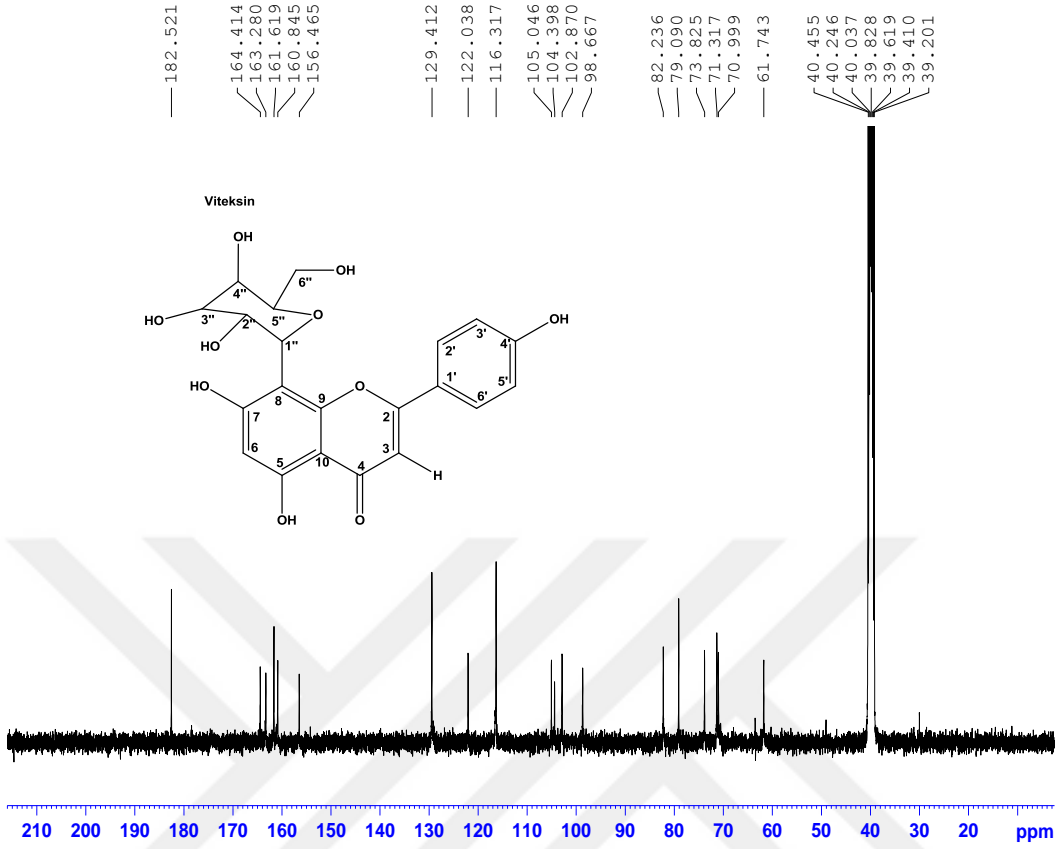
Çizelge 4. 10. 3 nolu (Viteksin) bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR kimyasal kayma değerleri

C/H	Viteksin	
	δ_H	δ_C
2	-	164.39
3	6.78 (s)	102.88
4	-	182.52
5	-	161.64
6	6.27 (s)	98.67
7	-	156.46
8	-	105.07
9	-	163.28
10	-	104.40
1'	-	122.04
2'	8.02 (d, $J=8.02$)	129.42
3'	6.90 (d, $J=8.28$)	116.29
4'	-	160.84
5'	6.90 (d, $J=8.28$)	116.29
6'	8.02 (d, $J=8.02$)	129.42
1''	4.70 (d, $J=9.92$)	73.86
2''	3.79 (m)	71.32
3''	3.27 (m)	79.12
4''	3.41 (m)	71.01
5''	3.24 (m)	82.30
6''a	3.54 (m)	61.76
6''b	3.74 (m)	



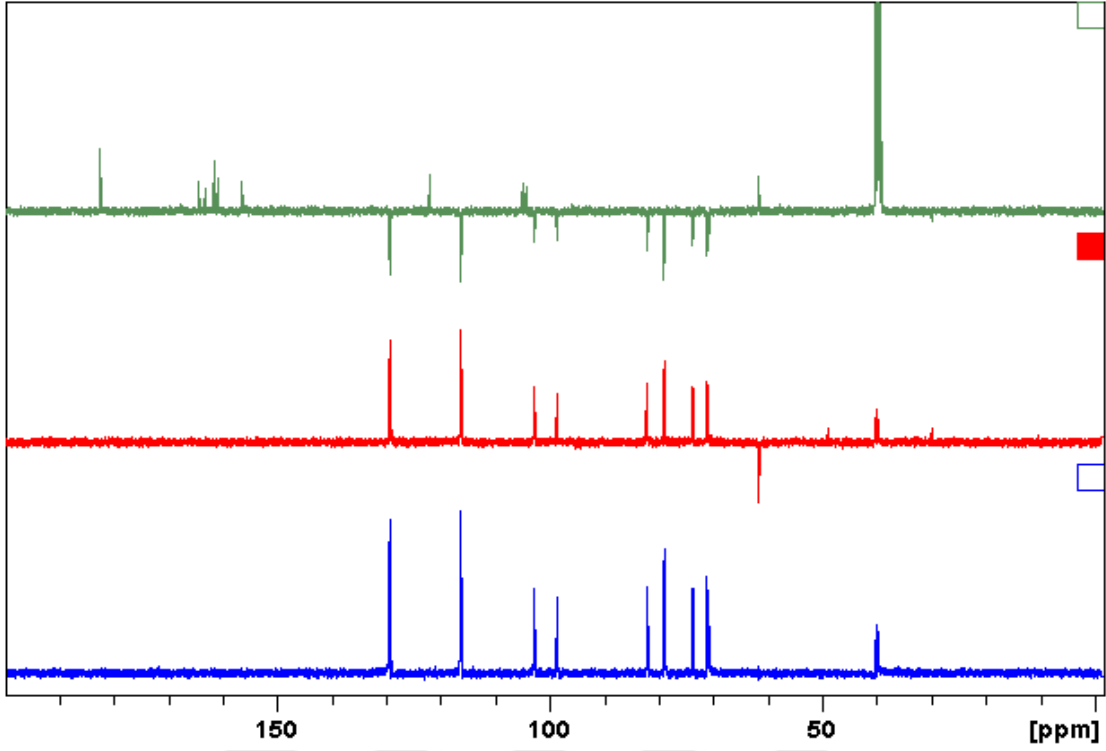
Şekil 4. 10. 3 nolu (Viteksin) bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (400 MHz, DMSO-d_6)

Bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu incelendiğinde $\delta_{\text{H}} = 8.02$ (2H, d, $J = 8.4$ Hz) ppm' de görünen sinyaller B halkasının C-2' ve C-6' protonlarına, 6.90 (2H, d, $J = 8.28$ Hz) ppm'de görünen sinyaller B halkasının C-3' ve C-5' protonlarına ve $\delta_{\text{H}} = 6.28$ (1H s,) ppm'de görünen sinyal ise A halkasının C-6 protonuna ait olduğu tespit edilmiştir. $\delta_{\text{H}} = 6.78$ ppm' de singlet olarak görünen bu sinyal molekülümüzün flavon olduğuna işaret eder. $\delta_{\text{H}} = 4.70$ ppm' de görünen sinyal glikoz molekülünün C-1' protonuna aittir. C-1' protonunun dublete yarıldığı ve etkileşme sabitlerinin $J = 9.92$ Hz olduğu görülmüştür, buradan da glikozun β konfigürasyonda olduğuna karar verilmiştir.



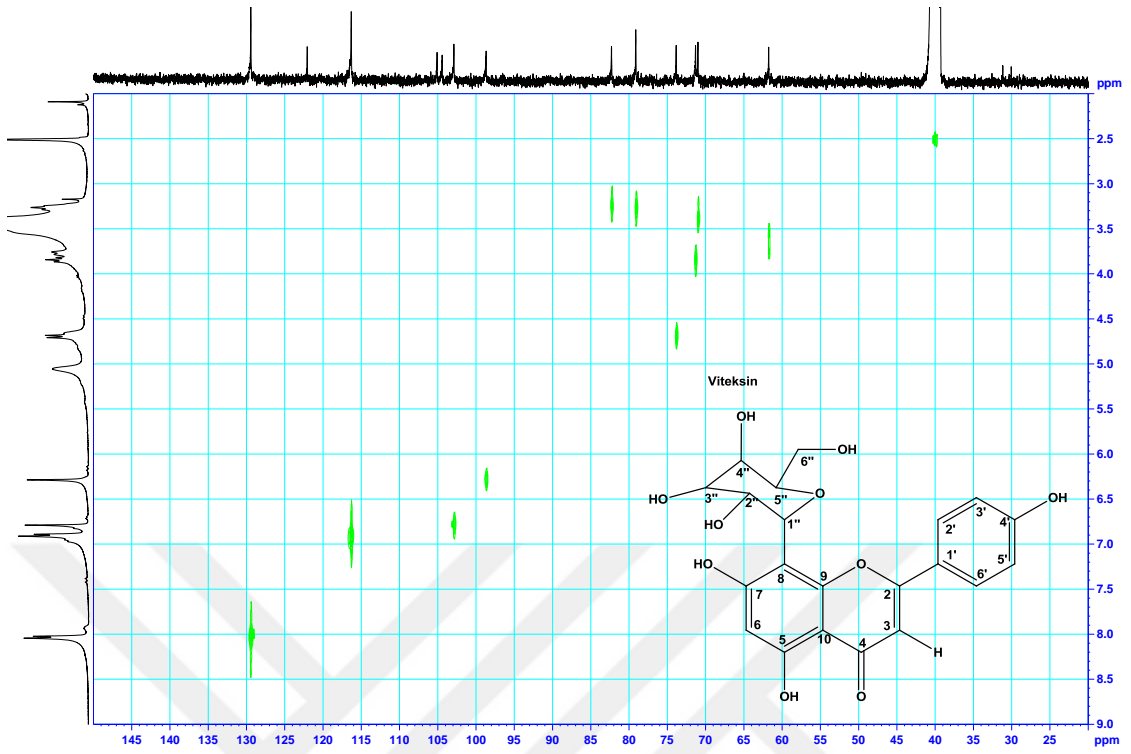
Şekil 4. 11. 3 nolu (Viteksin) bileşiğin ^{13}C -NMR spektrumu (100 MHz DMSO- d_6)

^{13}C -NMR spektrumunda 20 karbon sinyali görülmektedir. $\delta_{\text{C}} = 129.4$ ve $\delta_{\text{C}} = 116.3$ ppm'de görünen sinyallerin sırasıyla, C-2' ve C-6' ile C-3' ve C-5' konumlarına ait olduğunu literatürler değerleri de desteklemektedir. $\delta_{\text{C}} = 60.4-82.5$ ppm' ler arasında görünen sinyaller glikoz molekülüne aittir. $\delta_{\text{C}} = 73.9$ ppm' de görünen sinyalin anomerik karbon atomuna ait olduğu literatür bilgileri ile karşılaştırılarak karar verilmiştir.



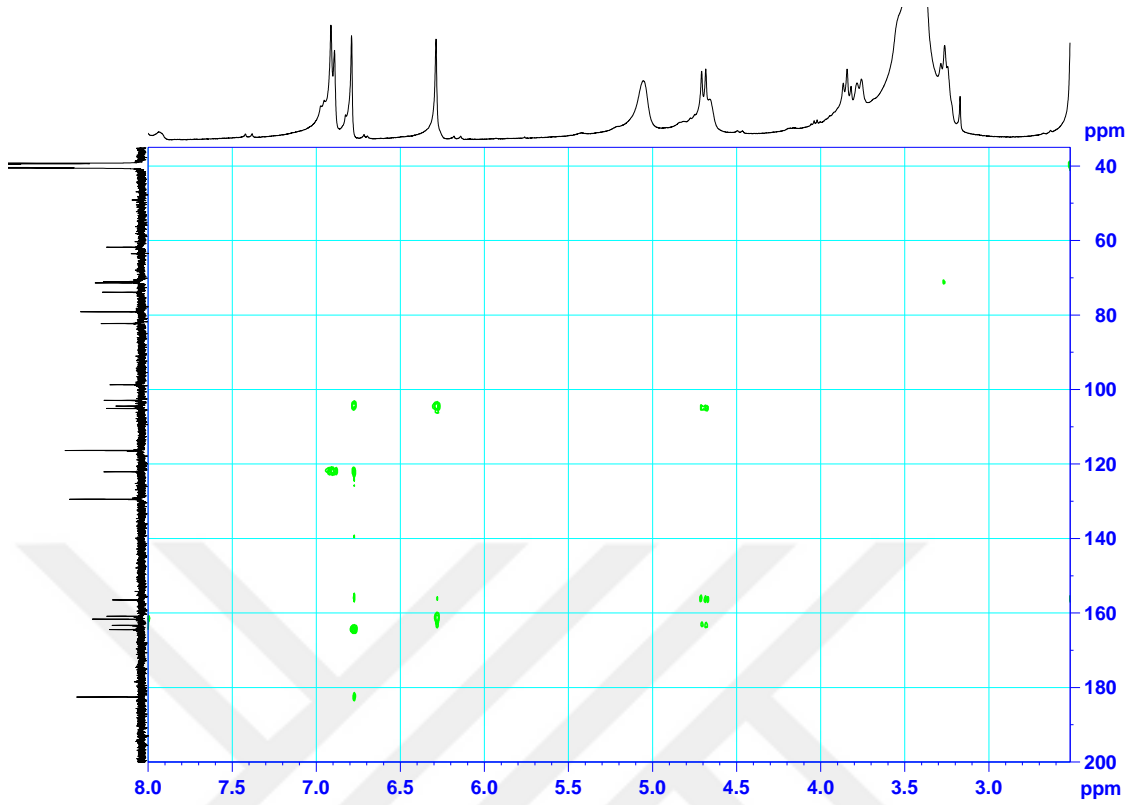
Şekil 4. 12. 3 nolu (Viteksin) bileşiğın APT, DEPT-135, DEPT-90 NMR spektrumu (^{13}C -NMR100 MHz DMSO- d_6)

3 nolu bileşiğine ait APT, DEPT-90 ve DEPT-135 spektrumları incelendiğinde yapıda 20 karbon atomu olduğu görülmektedir. 20 karbondan 9 tanesi kuaterner karbonu (DEPT-90 ve DEPT-135 spektrumlarında sinyal vermeyen kısım), 9 tanesi metin karbonu (DEPT-90 ve DEPT-135 spektrumunda pozitif sinyal), 1 metilen karbonu (DEPT-135 spektrumunda negatif ve APT spektrumundaki pozitif sinyal), içerdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.12.).



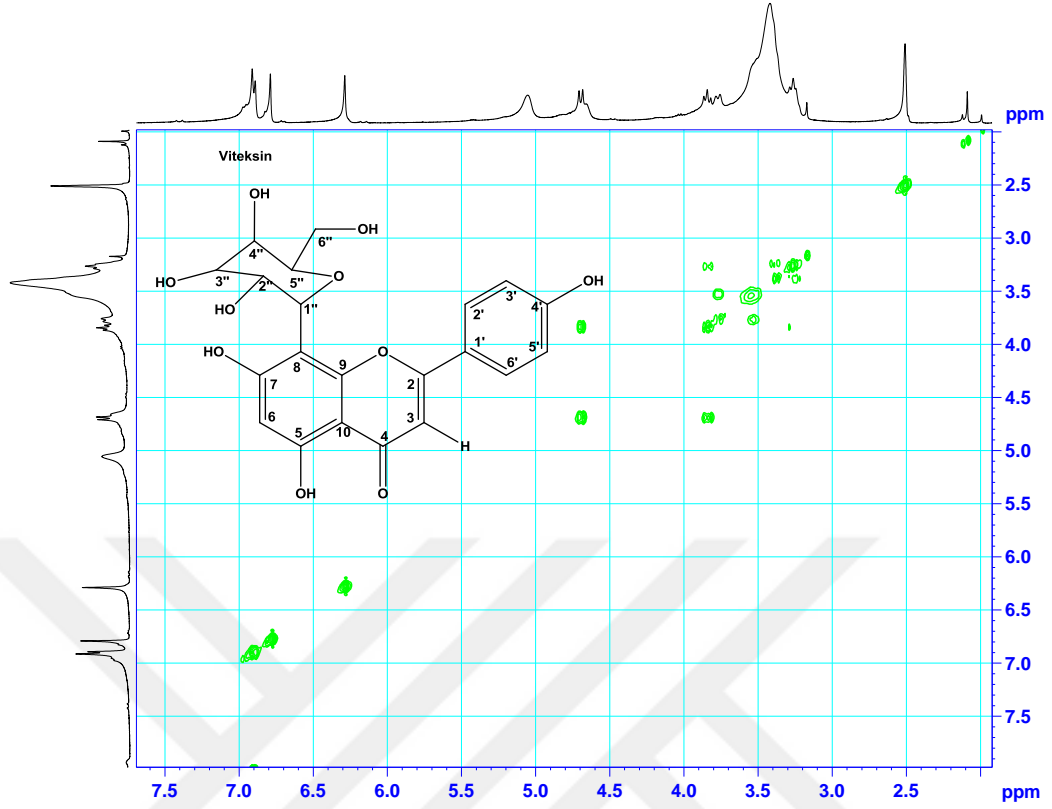
Şekil 4. 13.3 nolu (Viteksin) bileşiğin HETCOR spektrumu ($^1\text{H-NMR}$ 400 MHz, $^{13}\text{C-NMR}$ 100 MHz DMSO- d_6)

3 nolu molekülün HETCOR spektrumu için, flavonoid halkasında 102.19 ppm' deki C-3 karbonunun 6.78 ppm' deki protonla etkileşmektedir. Flavonoid için B halkasında 129.4 ve 116.3 ppm'deki C-2', C-6' ve C-3', C-5' karbonlarının 8.02 ve 6.90 ppm'deki protonlarla, 73.9 ppm'deki glikozun anomerik karbonu olan C-1'' karbonunun 4.70 ppm'deki protonla, etkileştiği tespit edilmiştir.



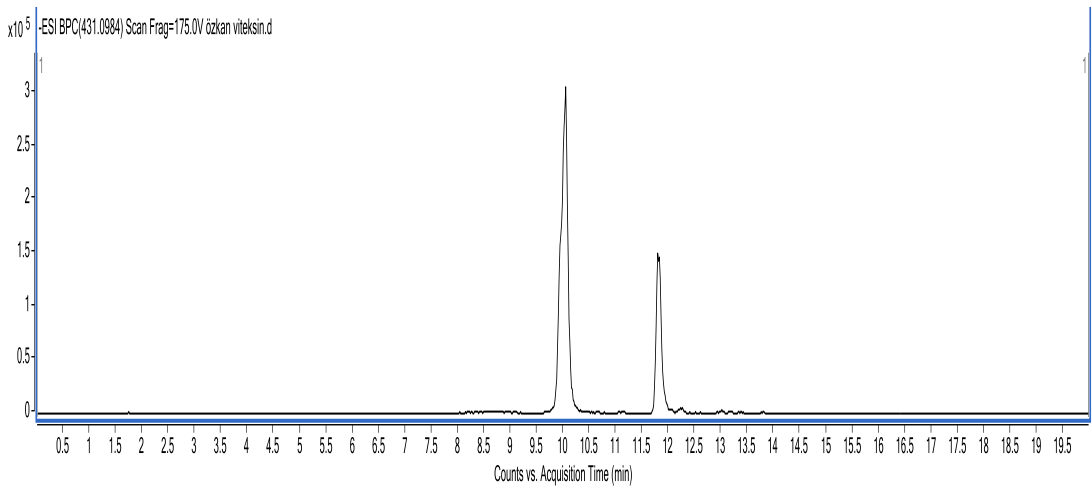
Şekil 4. 14. 3 nolu (Viteksin) bileşiğın HMBC spektrumu (^{13}C -NMR100 MHz DMSO- d_6)

3 nolu bileşiğın HMBC spektrumunda flavanoidin B halkasındaki 8,02 ppm' deki H-2' ve H-6' protonlarının 164.4 ppm'deki C-2 karbonuyla, 6,90 ppm' deki H-3' ve H-5' protonlarının 160.8 ppm' deki C-4' karbonuyla, 122.0 ppm' deki C-1' karbonuyla etkileştiği, 4.70 ppm' deki glikozun anomerik H-1'' protonunun 105.1 ppm' deki C-8 karbonla etkileştiği olduğu görölmektedir ve böylece glikozun flavona 8 konumundan bağlandığını belirlenmiştir (Şekil 4.14.).



Şekil 4. 15.3 nolu (Viteksin) bileşiğin COESY spektrumu ($^{13}\text{C-NMR}$ 100 MHz DMSO- d_6)

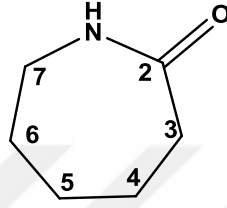
Bileşikteki proton-proton etkileşimlerini gösteren COESY spektrumu 8 nolu bileşiğin $\delta_{\text{H}}=8.02$ ppm' de H-2' ve H-6' protonlarının $\delta_{\text{H}}=6.90$ ppm'de rezonans olan H-3' ve H-5' protonları ile etkileşimi gözlenirken ayrıca şeker protonlarının birbirleriyle etkileşimleri görülmüştür.



Şekil 4. 16. 3 nolu (Viteksin) bileşiğin LC-MS-TOF kromatogramı

3 nolu (Viteksin) bileşiğin LC-MS-TOF kromatogramlarından kapalı formülü $C_{18}H_{16}O_8$ olan bileşiğin 12.5 dakikada moleküler iyon pikinin (-)ESI MS: m/z 431.08 $[M-H]^-$ olduğu saptandı.

4. 10.4. 4 Nolu Bileşiğin (Kaprolaktam) Fiziksel ve Spektral Özellikleri

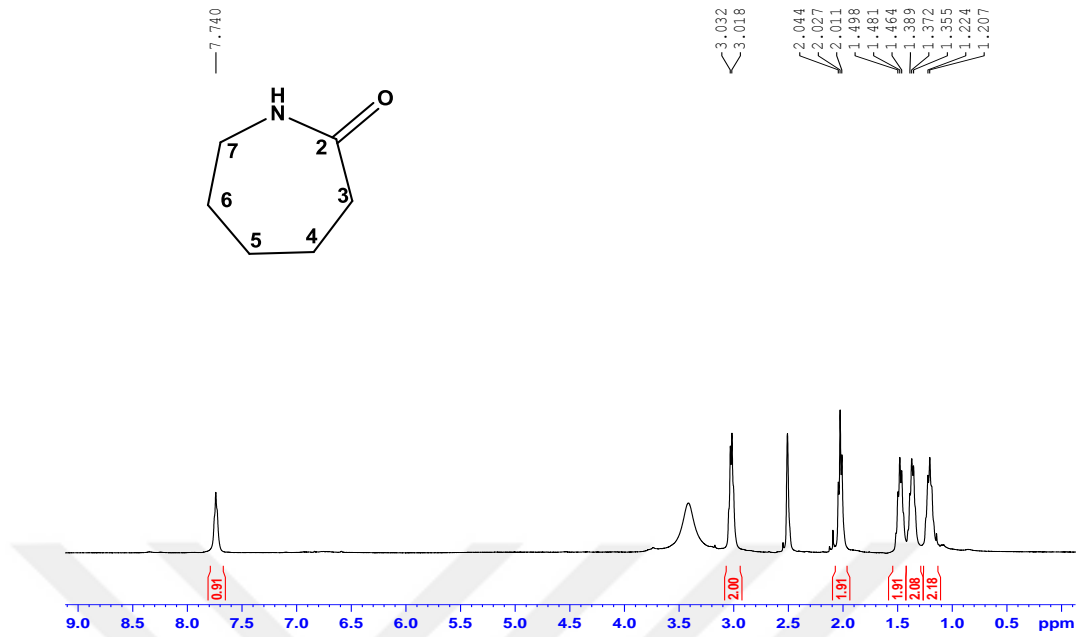


Şekil 4. 17. 4 Nolu Bileşik (Kaprolaktam)

Yaygın ismi literatürde Kaprolaktam olan 4 nolu bileşik *O. rotundifolium* sudan etil asetat ekstraktından kolon izole edildi (50 mg). İzole edilen molekülün fiziksel görünümünü ise sarı renkli amorf toz şeklindedir. Kaprolaktam molekülü bilinen bir bileşik olup elde edilen veriler literatür (Borgen and Rise 1993) ile uyum içindedir.

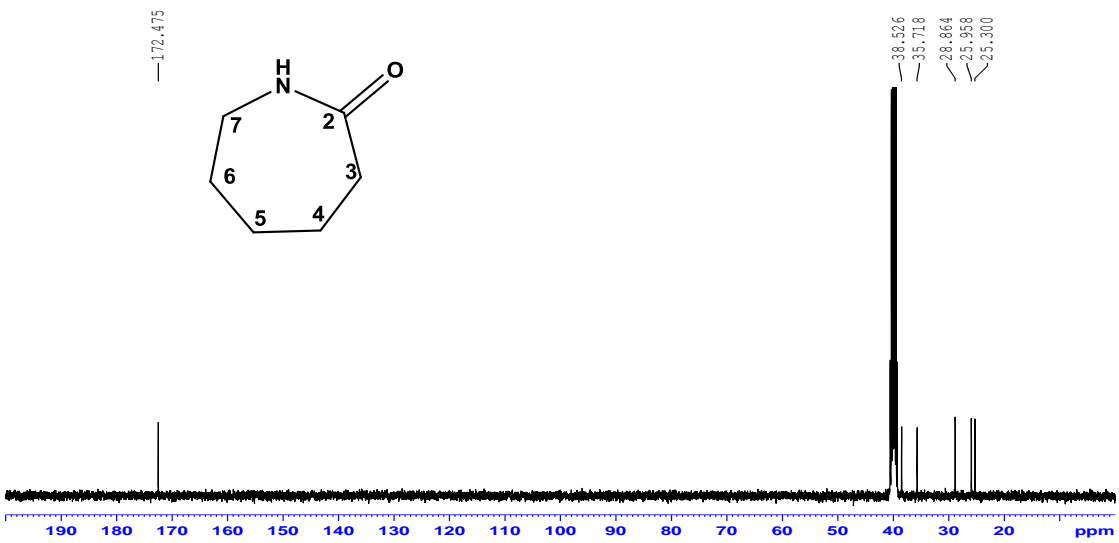
Çizelge 4. 11. 4 nolu (Kaprolaktam) bileşiğin 1H -NMR ve ^{13}C -NMR kimyasal kayma değerleri

C/H	δ_H	δ_C
1	7.73 (s)	
2	-	172.47
3	2.02 (m)	35.71
4	1.19 (m)	25.29
5	1.21 (m)	25.95
6	1.36 (m)	28.86
7	3.02 (m)	38.52



Şekil 4. 18. 4 nolu (Kaprolaktam) bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu ($^1\text{H-NMR}$ 400 MHz DMSO- d_6)

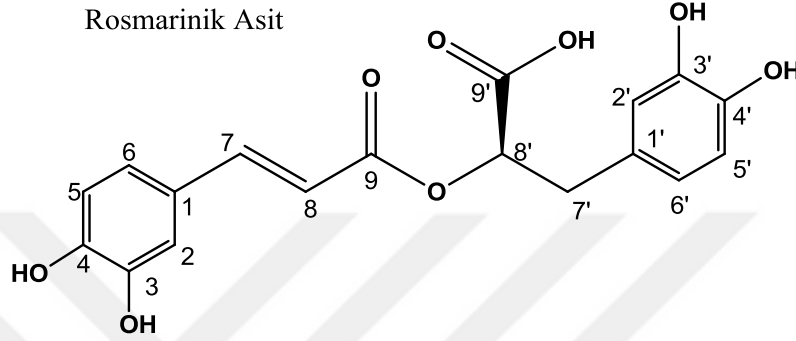
4 nolu bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu incelendiğinde $\delta_{\text{H}} = 2.02, 1.19, 1.21, 1.36$ ve 3.02 (m) ppm'de görünen sinyaller azepan halkasının C-3, C-4, C-5, C-6 ve C-7 protonlarına, 7.74 (s) ppm'de görünen sinyal NH protonuna ait olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4. 19. 4 nolu (Kaprolaktam) bileşiğinin $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) spektrumu

4 nolu bileşiğin ^{13}C -NMR spektrumu incelendiğinde $\delta_{\text{H}}= 172.47, 35.71, 25.29, 25.95, 28.86$ ve 38.52 ppm'de görünen sinyaller azepan halkasının C-2, C-3, C-4, C-5, C-6 ve C-7 karbonlarına ait olduğu tespit edilmiştir.

4. 10.5. 5 Nolu Bileşiğin (Rosmarinik asit) Fiziksel ve Spektral Özellikleri



Şekil 4. 20. 5 Nolu Bileşik (Rosmarinik asit)

Yaygın ismi literatürde Rosmarinik asit olan 5 nolu bileşik *O. rotundifolium* sudan etil asetat ekstraktından kolon izole edildi (100 mg). İzole edilen molekülün fiziksel görünümümü ise sarı renkli amorf toz şeklindedir. Bileşiğin erime noktası $171-175$ °C olarak ölçüldü.

Bileşik $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_8$ kapalı formülüne karşılık gelen moleküler iyon pikini $[\text{M}-\text{H}]^-$ LC-MS-TOF kütle spektrumunda m/z 359.1042 olarak vermiştir.

UV λ_{max} (nm) CH_3OH : 272, 345

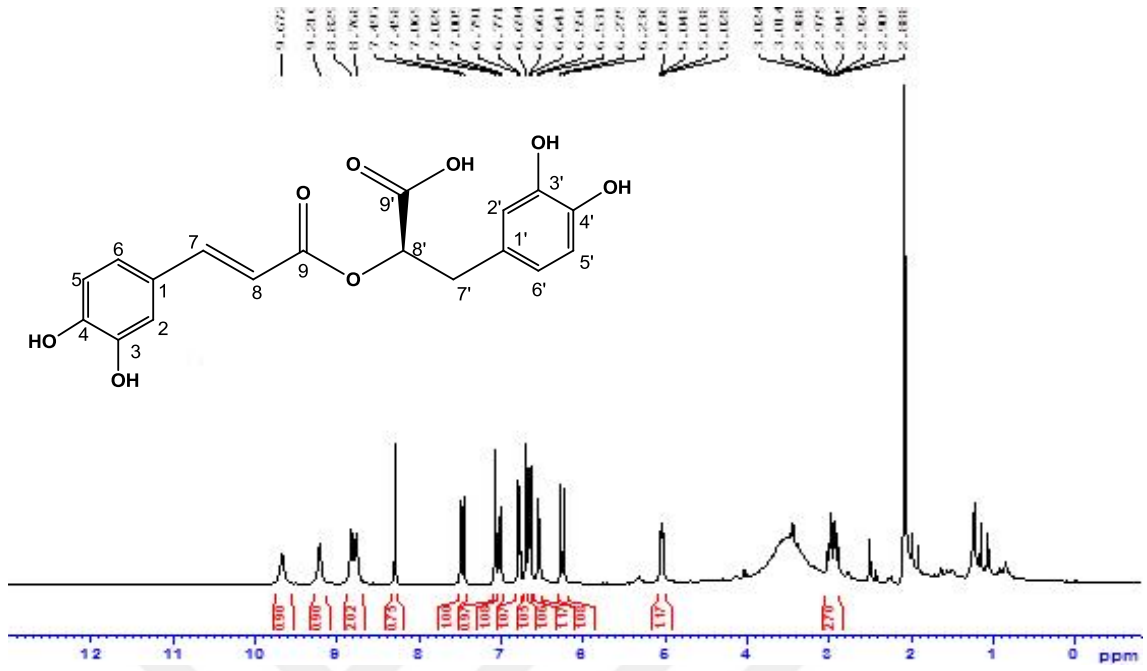
FT-IR $\nu(\text{cm}^{-1})$ 3412, 2941, 2830, 1648, 1049, 1011, 837, 758

^1H -NMR (DMSO- d_6 δ ,ppm,400 MHz)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 δ ,ppm,100 MHz)

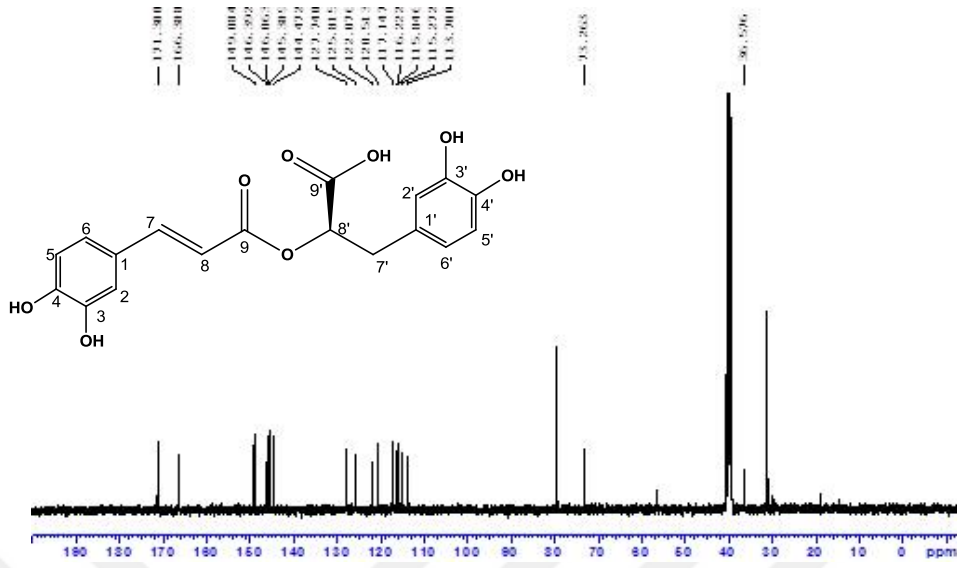
Çizelge 4. 12. 5 nolu (Rosmarinik asit) bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ kimyasal kayma değerleri

C/H	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm (Hz)
1		125.90
2	7.06 (d, $J= 1.4$)	115.28
3		149.10
4		146.07
5	6.79 (d, $J=8.1$)	116.23
6	7.02 (dd, $J= 8.1, 2.0$)	122.02
7	7.46 (d, $J= 15.8$)	146.39
8	6.24 (d, $J = 15.8$)	113.66
9		166.43
1'		127.70
2'	6.69 (d, $J= 1.5$)	117.17
3'		144.50
4'		145.41
5'	6.54 (d, $J= 7.92$)	120.53
6'	6.65 (d, $J= 7.92$)	115.85
7a'	2.93 (dd, $J= 14.1,10.0$)	36.61
7b'	2.94 (dd, $J= 14.1, 3.7$)	
8'	5.08 (dd, $J= 10 , 2.8$)	73.18
9'		176.5



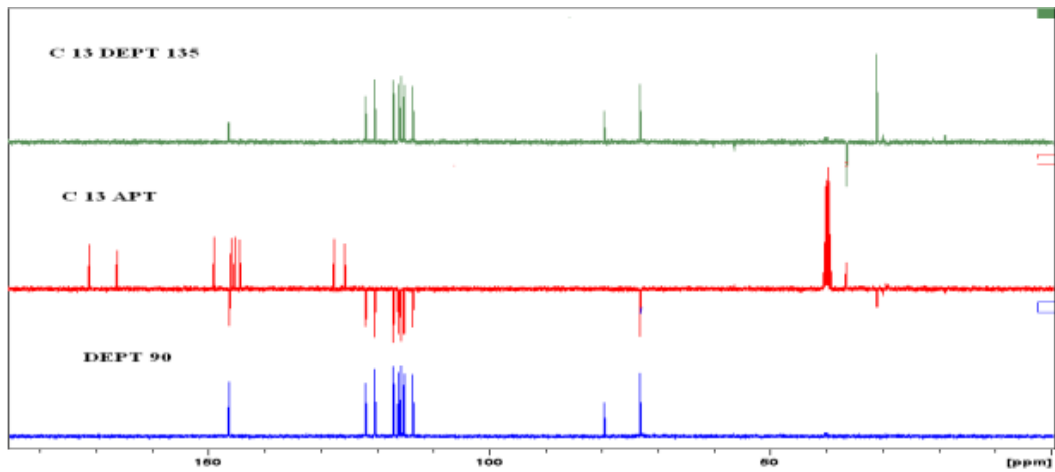
Şekil 4. 21. 5 Nolu Bileşiğin (Rosmarinik asit) ¹H-NMR spektrumu (400 MHz, DMSO-*d*₆)

5 nolu bileşiğin H-NMR spektrumu incelendiğinde, $\delta_{\text{H}}= 7.02$ (1H, d, $J= 2.2$ Hz), $\delta_{\text{H}}= 7.02$ (1H, dd, $J= 8.1$ Hz, $J= 2.0$ Hz), $\delta_{\text{H}}= 6.79$ (1H, d, $J= 8.1$ Hz) ve $\delta_{\text{H}}= 6.74$ (1H, d, $J= 2.2$ Hz), $\delta_{\text{H}}= 6.68$ (1H, d, $J= 8.1$ Hz), $\delta_{\text{H}}= 6.62$ (1H, dd, $J= 8.1$, $J= 2.2$ Hz) ppm' de aromatik ABX sistem protonları (sırasıyla H-2, 6, 5 ve H-2', 5', 6' numaralı protonlar) gözlenmiştir. $\delta_{\text{H}}= 7.46$ (1H, d, $J= 15.8$) ve $\delta_{\text{H}}= 6.24$ (1H, d, $J= 15.8$ Hz) ppm' deki kimyasal kayma değerleri molekülde birbirine göre trans konumda olan olefinik protonların varlığını göstermiştir. $\delta_{\text{H}}= 5.08$ (dd, $J= 10$, $J= 2.8$ Hz) ppm' de gözlenen sinyalin oksijen atomuna komşu olan H-8' protonu olduğu ve $\delta_{\text{H}}= 2.93$ ve (dd, $J= 14.1$, $J= 3.7$ Hz), $\delta_{\text{H}}= 2.94$ (dd, $J= 14.3$, $J= 10.0$ Hz) ppm'de gözlenen sinyallerin C-7' konumundaki metilene ait protonlar olduğu literatürlerle karşılaştırılarak tespit edilmiştir.



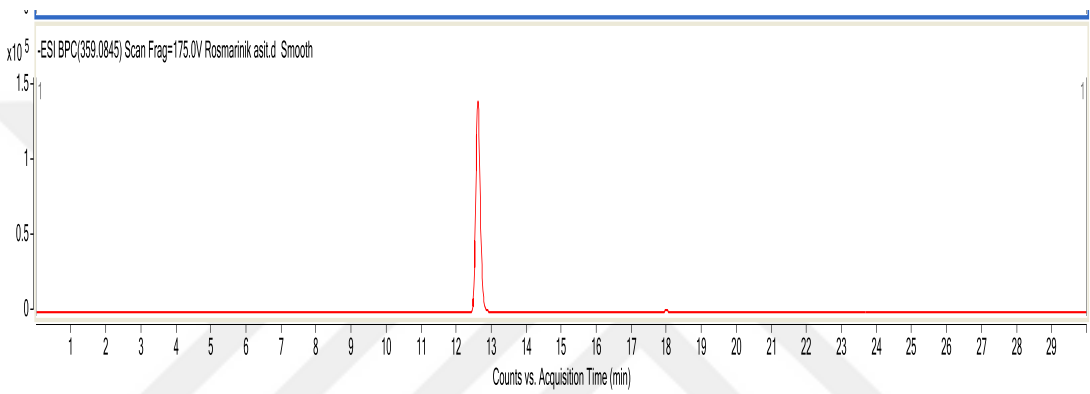
Şekil 4. 22. 5 nolu (Rosmarinik asit) bileşiğinin ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) spektrumu

5 nolu bileşiğin ^{13}C -NMR spektrumu incelendiğinde, ^{13}C -NMR spektrumu incelendiğinde iki fenil halkası üzerinde OH grupları ile sübtitüe olmuş dört tane C atomu bulunmuştur. Bu karbonlar $\delta_{\text{C}}= 148.2$ (C-4), 145.6 (C-3), 144.7 (C-3') ve 143.6 (C-4') ppm'de sinyaller vermiştir. İki tane karbonil karbonu $\delta_{\text{C}}= 176.5$ (C-9'), 167.9 (C-9) ppm'de, olefinik karbonlar $\delta_{\text{C}}= 145.5$ (C-7), 113.9 (C-8) ppm'de, bir tane de estere komşu karbon atomu $\delta_{\text{C}}= 76.4$ (C-8') ppm'de gözlenmiştir. Bulgular, literatürler ile desteklenerek maddenin rosmarinik asit (5 nolu bileşik) olduğu bulunmuştur.



Şekil 4. 23. 5 nolu (Rosmarinik asit) bileşiğin DEPT-90, DEPT-135, APT NMR spektrumu (^{13}C -NMR100 MHz DMSO-*d*₆)

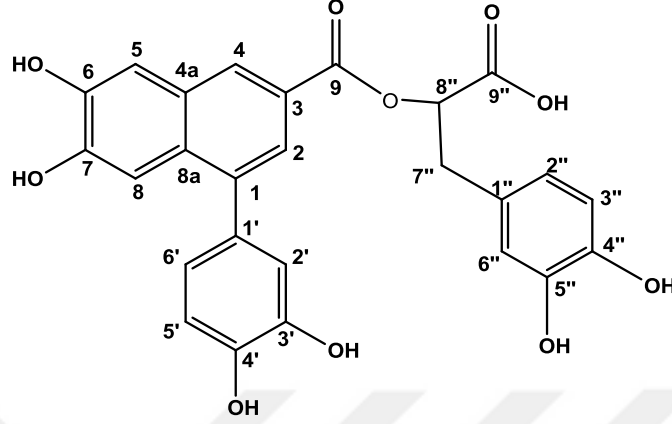
5 nolu bileşimine ait APT, DEPT-90 ve DEPT-135 spektrumları incelendiğinde yapıda 18 karbon atomu olduğu görülmektedir. 18 karbondan 8 tanesi kuaterner karbonu (DEPT-90 ve DEPT-135 spektrumlarında sinyal vermeyen kısım), 9 tanesi metin karbonu (DEPT-90 ve DEPT-135 spektrumunda pozitif sinyal), 1 metilen karbonu (DEPT-135 spektrumunda negatif ve APT spektrumundaki pozitif sinyaller) içerdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.23)



Şekil 4. 24. 5 nolu (Rosmarinik asit) bileşimin LC-MS-TOF Kromatogramı

5 nolu (Rosmarinik asit) bileşimin LC-MS-TOF kromatogramlarından kapalı formülü $C_{18}H_{16}O_8$ olan bileşimin 12.5 dakikada moleküler iyon pikinin (-)-ESI MS: m/z 359.08 $[M-H]^-$ olduğu saptandı.

4. 10.6. 6 Nolu Bileşğin Fiziksel ve Spektral Özellikleri



Şekil 4. 25. 6 Nolu Bileşik (Globoidnan)

Yaygın ismi literatürde Globoidnan A olan 6 nolu bileşik *O. rotundifolium* sudan etil asetat ekstraktından kolon kromatografisi ile sefadeks dolgu maddesi kullanılarak ile metanol çözücü sisteminde 76-86 nolu fraksiyonlardan izole edildi (50 mg). İzole edilen molekülün fiziksel görünümümü ise sarı renkli amorf toz şeklindedir.

Bileşik $C_{26}H_{20}O_{10}$ kapalı formülüne karşılık gelen moleküler iyon pikini $[M-H]^-$ LC-MS-TOF kütle spektrumunda m/z 491.0913 olarak vermiştir.

UV λ_{max} (nm) CH_3OH : 272, 345

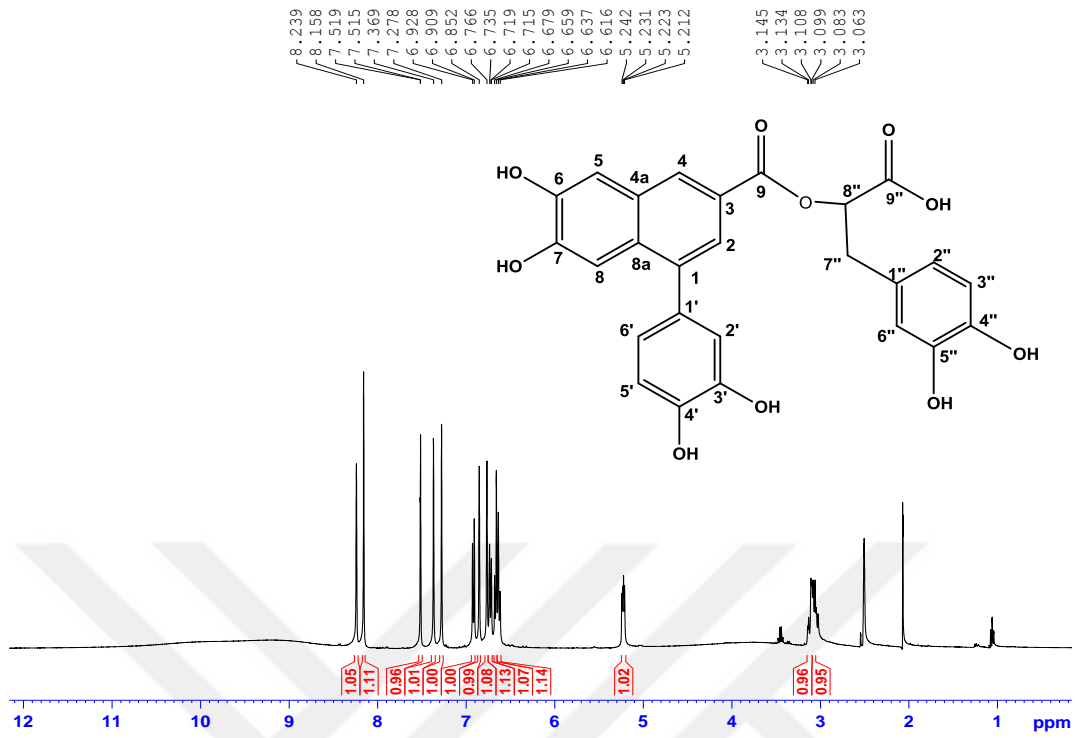
FT-IR $\nu(cm^{-1})$ 3412, 2941, 2830, 1648, 1049, 1011, 837, 758

1H -NMR (DMSO- d_6 δ ,ppm,400 MHz)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 δ ,ppm,100 MHz)

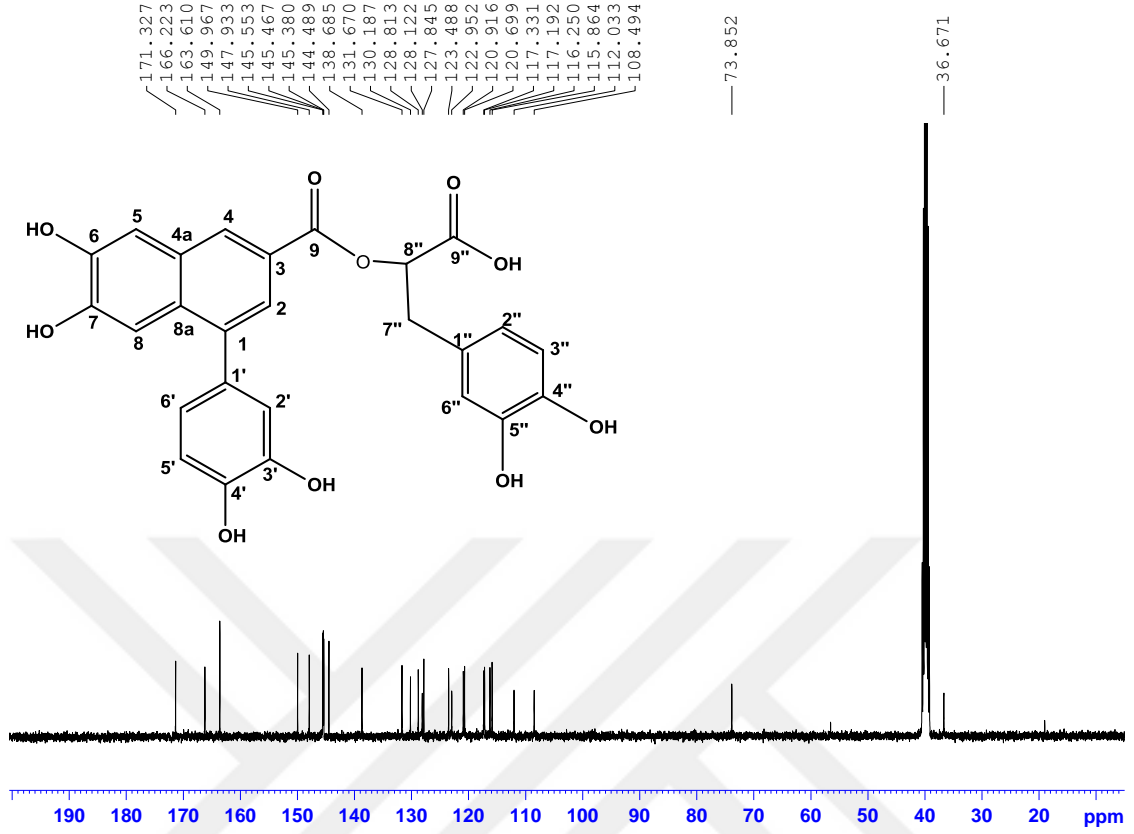
Çizelge 4. 13. 6 nolu Globoidnan A bileşiğın ¹H-NMR ve ¹³C-NMR kimyasal kayma değerleri.

Pozisyon	6 nolu	
	δ_H	δ_C
1	-	128.82
2	7.51 (s)	122.95
3	-	123.49
4	8.23 (s)	128.12
4a	-	130.19
5	7.36 (s)	112.04
6	-	147.94
7	-	149.97
8	7.27 (s)	108.50
8a	-	138.69
9	-	166.23
1'	-	131.67
2'	6.85 (s)	117.32
3'	-	145.38
4'	-	145.47
5'	6.92 (d, $J = 8.00$ Hz)	116.25
6'	6.73 (dd, $J = 1.70, 8.00$ Hz)	120.92
1''		127.85
2''	6.64 brs	120.70
3''	6.77 brs	117.19
4''	-	144.49
5''	-	144.56
6''	6.68 brs	115.87
7''	3.03-3.10(m)	36.67
8''	5.23(dd, $J=4.44, 7.68$ Hz)	73.85
9''	-	171.33



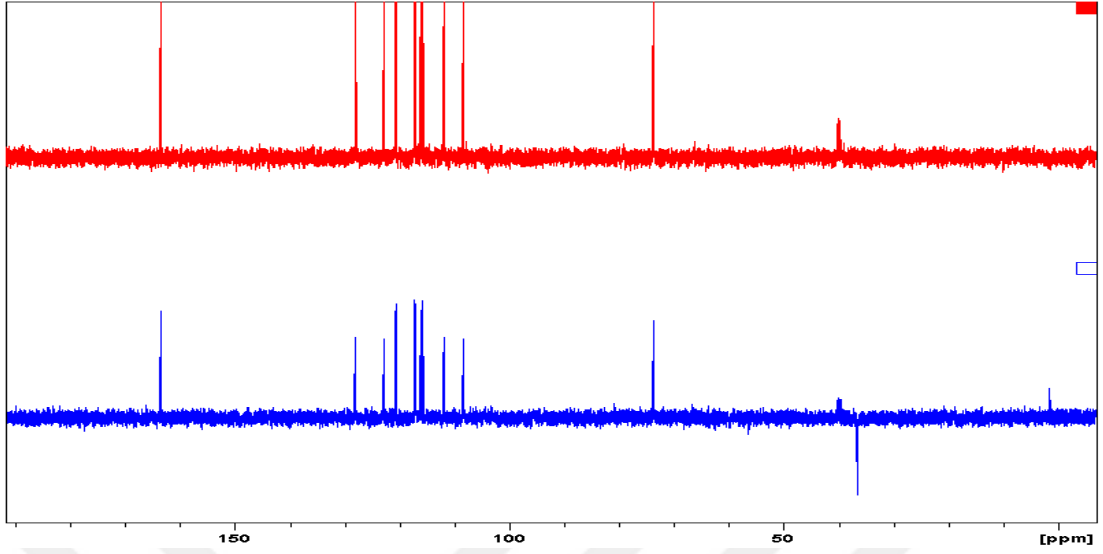
Şekil 4. 26. 6 nolu bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu ($^1\text{H-NMR}$ 400 MHz DMSO- d_6)

6 nolu bileşiğin H-NMR spektrumu incelendiğinde, naftalin halkasında H-2, H-4, H-5, H-8 nolu protonlar sırasıyla $\delta_{\text{H}}= 7.51$ (s), $\delta_{\text{H}}= 8.23$ (s), $\delta_{\text{H}}= 7.36$ (s) ve $\delta_{\text{H}}= 7.27$ (s) ppm' de ve fenil halkasında ABX sistem protonları sırasıyla H-2', 5', 6' ve H-2'', 3'', 6'', 7'', 8'', numaralı protonlar 6.85 (s), 6.92 (d, $J = 8.00$), 6.73 (dd, $J = 1.70, 8.00$) ve 6.68 (s), 6.77 (s), 3.08(m), 5.23 (dd, $J = 4.44, 7.68$) ppm' de literatürlerle karşılaştırılarak tespit edilmiştir.



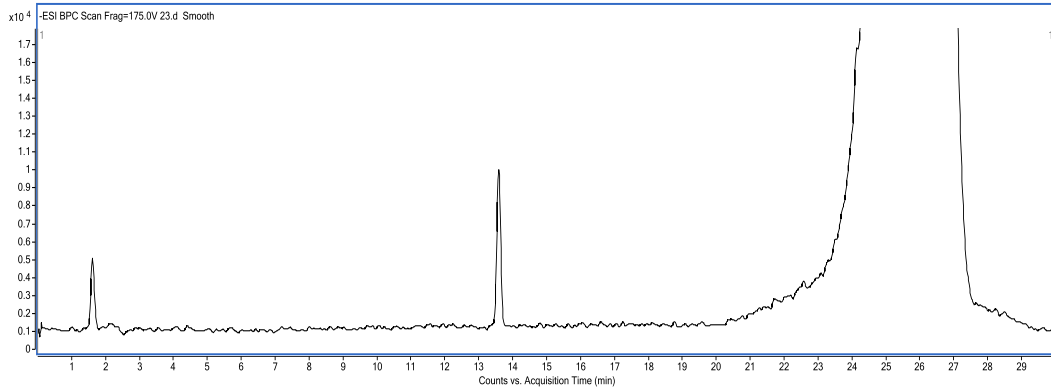
Şekil 4. 27. 6 nolu bileşiğin ^{13}C -NMR spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)

6 nolu bileşiğin ^{13}C -NMR spektrumu incelendiğinde, ^{13}C -NMR spektrumu incelendiğinde bir nafatalin halkası ve fenil halkası üzerinde OH grupları ile süstitüe olmuş altı tane C atomu bulunmuştur. Bu karbonlar $\delta_{\text{C}}= 147.9$ (C-6), 149.7 (C-7), $\delta_{\text{C}}= 145.4$ (C-3'), 145.5 (C-4'), $\delta_{\text{C}}= 144.5$ (C-4''), 144.6 (C-5'') ppm' de halkası üzerinde OH grupları ile süstitüe olmuş iki tane C atomu sırasıyla $\delta_{\text{C}}= 145.3$ (C-3'), 145.6 (C-4'), ppm' de ve sinyaller vermiştir. Nafatalin halkasına komşu karbonil karbonu $\delta_{\text{C}}= 166.3$ (C-9) ppm' de gözlenmiştir. Bulgular, literatürler ile desteklenerek maddenin Globoidnan (6 nolu bileşik) olduğu bulunmuştur.



Şekil 4. 28. 6 nolu bileşiğin DEPT-90, DEPT-135 NMR spektrumu (^{13}C -NMR100 MHz DMSO- d_6)

6 nolu bileşiğine ait APT, DEPT-90 ve DEPT-135 spektrumları incelendiğinde yapıda 26 karbon atomu olduğu görülmektedir. 26 karbondan 12 tanesi kuaterner karbonu (DEPT-90 ve DEPT-135 spektrumlarında sinyal vermeyen kısım), 11 tanesi metin karbonu (DEPT-90 ve DEPT-135 spektrumunda pozitif sinyal) 1 metilen karbonu (DEPT-135 spektrumunda negatif sinyal içerdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.28).



Şekil 4. 29. 6 nolu bileşiğin LC-MS-TOF kromatogramı

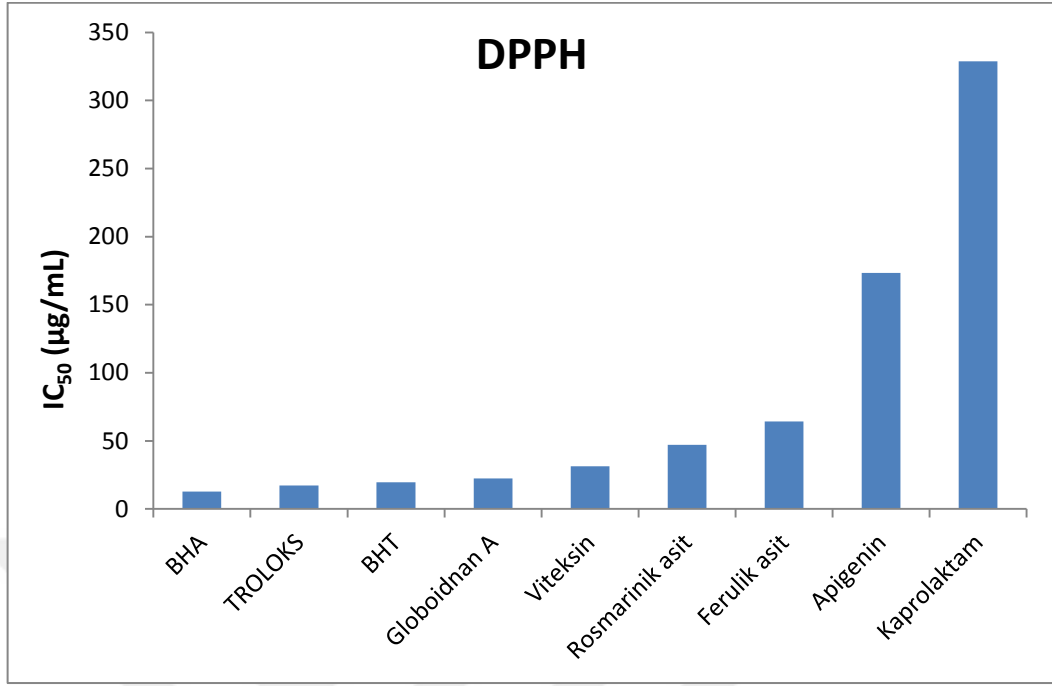
O. rotundifolium sudan etilasetat ekstresi ve izole edilen 6 nolu bileşiğin LC-MS-TOF kromatogramlarından kapalı formülü $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$ olan bileşiğin 13.5 dakikada moleküler iyon pikinin (-)-ESI MS: m/z 491.09 $[\text{M}-\text{H}]^-$ olduğu saptandı.

4.11. *O. rotundifolium* bitkisinden İzole Edilen Bileşiklerin Antioksidan Aktivite Sonuçları

4.11.1. *O. rotundifolium* bitkisinden İzole Edilen Bileşiklerin Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Sonuçları

Çizelge 4. 14. *O. rotundifolium* bitkisinden izole edilen bileşiklerin DPPH testi sonuçları

Gruplar	IC ₅₀ (µg/mL)
BHA	12.88 ± 1.91
Troloks	17.30 ± 0.70
BHT	19.61 ± 2.91
Globoidnan A	22.42 ± 0.20
Viteksin	31.40 ± 0.17
Rosmarinik asit	47.21 ± 1.15
Ferulik asit	64.25 ± 1.53
Apigenin	173.38 ± 2.25
Kaprolaktam	328.79 ± 2.42



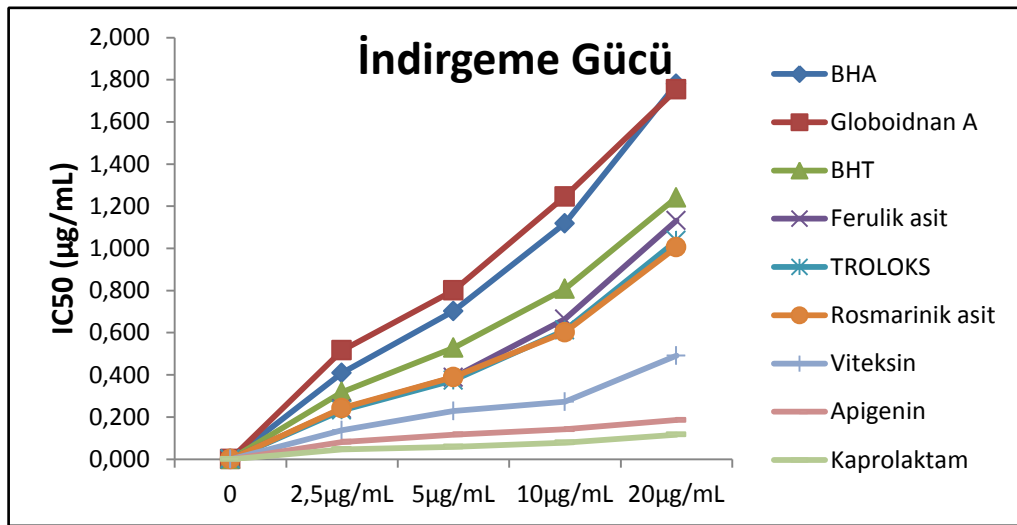
Şekil 4. 30. *O. rotundifolium* bitkisinden bileşiklerin Serbest Radikal Giderme aktiviteleri

İzole edilen Apigenin ve Kaprolaktam bileşiklerinin DPPH radikallerini giderme aktivitesi göstermediği, diğer bileşiklerin DPPH radikallerini giderme aktivitesi gösterdiği, Globoidnan A bileşiğinin serbest radikal giderme aktivitesinin bazı standartlardan daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.30). µg/mL konsantrasyonda serbest radikal giderme aktivitesi IC₅₀ (µg/mL) BHA > Troloks > BHT > Globoidnan A > Vitexsin > Rosmarinik asit > Ferulik asit > Apigenin > Kaprolaktam sıralamasında azalmaktadır.

4.11.2. *O. rotundifolium* bitkisinden İzole Edilen Bileşiklerin Total İndirgeme Kapasitesi Tayini Sonuçları

Çizelge 4. 15. İzole edilen bileşiklerin total indirgeme testi sonuçları

Gruplar	2,5µg/mL	5µg/mL	10µg/mL	20µg/mL
BHA	0.41 ± 0.01	0.70 ± 0.02	1.12 ± 0.03	1.78 ± 0.09
Globoidnan A	0.52 ± 0.04	0.80 ± 0.10	1.25 ± 0.04	1.75 ± 0.03
BHT	0.32 ± 0.02	0.53 ± 0.01	0.81 ± 0.02	1.24 ± 0.01
Ferulik asit	0.24 ± 0.01	0.39 ± 0.01	0.66 ± 0.01	1.13 ± 0.05
Troloks	0.23 ± 0.02	0.37 ± 0.02	0.61 ± 0.01	1.04 ± 0.04
Rosmarinik asit	0.24 ± 0.04	0.39 ± 0.04	0.60 ± 0.00	1.01 ± 0.03
Viteksin	0.14±0.01	0.23±0.01	0.27±0.05	0.49±0.01
Apigenin	0.08 ± 0.01	0.12 ± 0.00	0.14 ± 0.01	0.19 ± 0.01
Kaprolaktam	0.05±0.00	0.06±0.00	0.08±0.00	0.12±0.00



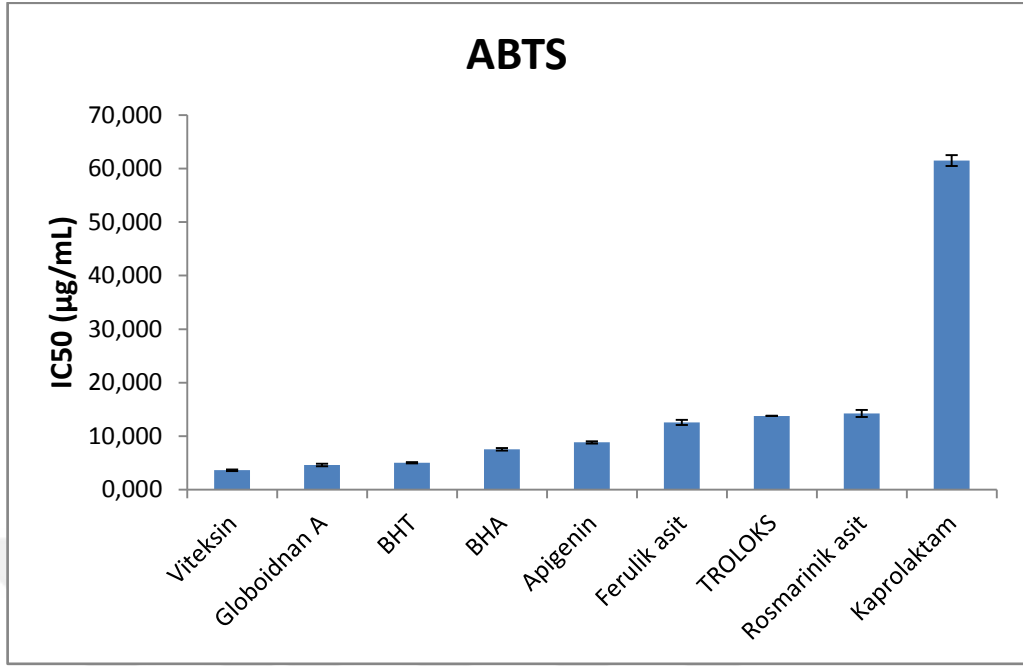
Şekil 4. 31. *O. rotundifolium* bitkisinden izole edilen bileşiklerin Total İndirgeme Gücü aktiviteleri

Şekil 3.31 incelendiğinde Globoidnan A bileşiğinin BHT ve Troloks standartlarından yüksek indirgeme kapasitesine sahip olduğu görülmektedir. Total indirgeme kapasitesi BHA > Globoidnan A > BHT > Ferulik asit > Troloks > Rosmarinik asit > Viteksin > Apigenin > Kaprolaktam sıralamasında azalmaktadır.

4.11.3. *O. rotundifolium* Bitkisinden İzole Edilen Bileşiklerin ABTS^{•+} Giderme Aktivitesi Tayini Sonuçları

Çizelge 4. 16. *O. rotundifolium* bitkisinden izole edilen bileşiklerin ABTS^{•+} giderme aktivitesi sonuçları

Gruplar	IC ₅₀ (µg/mL)
Viteksin	3.66 ± 0.14
Globoidnan A	4.64 ± 0.22
BHT	5.023 ± 0.13
BHA	7.57 ± 0.24
Apigenin	8.85 ± 0.23
Ferulik asit	12.56 ± 0.48
Troloks	13.80 ± 0.02
Rosmarinik asit	14.28 ± 0.66
Kaprolaktam	61.49 ± 1.03



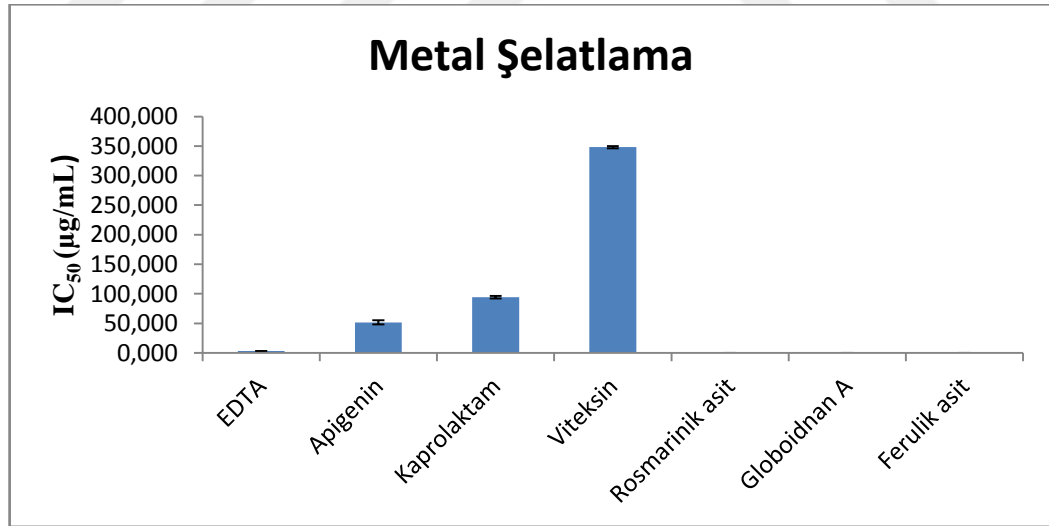
Şekil 4. 32. *O. rotundifolium* bitkisinden izole edilen bileşiklerin ABTS⁺ giderme aktiviteleri

Şekil 4.32. incelendiğinde, Viteksin ve Globoidnan A bileşiklerinin ABTS⁺ radikal giderme aktivitesinin standartlardan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. µg/mL konsantrasyonda ABTS⁺ radikal giderme aktivitesi IC₅₀ (µg/mL) Viteksin > Globoidnan A > BHT > BHA > Apigenin > Ferulik asit > Troloks > Rozmarinikasit > Kaprolaktam sıralamasında azalmaktadır.

4.11.4. *O. rotundifolium* bitkisinden İzole Edilen Bileşiklerin Metal Şelatlama Aktivitesi Sonuçları

Çizelge 4. 17. Metal Şelatlama Aktivitesi sonuçları

Gruplar	IC ₅₀ (µg/mL)
EDTA	3.29 ± 0.13
Apigenin	51.62 ± 3.48
Kaprolaktam	94.32 ± 2.32
Viteksin	348.10 ± 2.01
Rosmarinik asit	0.00 ± 0.000
Globoidnan A	0.00 ± 0.00
Ferulik asit	0.00 ± 0.00



Şekil 4. 33. *O. rotundifolium* bitkisinden izole edilen bileşiklerin ve standart EDTA' ya ait Metal Şelatlama Aktiviteleri

Metal Şelatlama Aktiviteleri IC₅₀ (µg/mL) EDTA > Apigenin > Kaprolaktam > Viteksin sıralamasında azalmaktadır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan çalışmada, *Origanum rotundifolium* bitkisinin diğerlerine göre daha yüksek aktiviteye sahip olan sudan etil asetat ekstresi, kromatografik yöntemlere tabii tutuldu ve altı adet bileşik izole edildi. İzole edilen bileşiklere de ham ekstrelelere olduğu gibi antioksidan testleri yapıldı.

Yapılan testlerde;

DPPH (Serbest Radikal Giderme Aktivitesi) için; BHA > Troloks > BHT > Globoidnan A > Viteksin > Rosmarinik asit > Ferulik asit > Apigenin > Kaprolaktam sıralamasında azalmaktadır.

FRAP (Total İndirgeme Kapasitesi Tayini) için; BHA > Globoidnan A > BHT > Ferulik asit > Troloks > Rosmarinik asit > Viteksin > Apigenin > Kaprolaktam sıralamasında azalmaktadır.

ABTS⁺ Giderme Aktivitesi Tayini için; Viteksin > Globoidnan A > BHT > BHA > Apigenin > Ferulik asit > Troloks > Rozmarinikasit > Kaprolaktam sıralamasında azalmaktadır.

Metal Şelatlama Aktivitesi için; EDTA > Apigenin > Kaprolaktam > Viteksin sıralamasında azalmaktadır.

Tüm sonuçlar göz önüne alındığında, elde edilen değerler gösteriyor ki; yapılan çalışmanın amacına uygun olarak ilerlediği ve amaçlanan aktif bileşenlerin izolasyonu gerçekleşmiştir.

Tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanım alanlarının her geçen gün biraz daha genişlemesi ve ciddi ekonomik değerlere sahip olması da bu bitkilerin kimyasal içeriğinin ortaya konmasını daha da önemli hale getirmektedir.

Literatürde *Origanum rotundifolium* bitkisinin uçucu yağları ile yapılan antioksidan, antibakteriyel ve antimikrobiyal aktivite gibi birçok biyolojik aktivite çalışmaları rapor edilmiştir.

Origanum rotundifolium bitkisinden bileşik saflaştırılması ve yapı belirlenmesiyle ilgili çalışma bulunmadığından dolayı, yapılan bu çalışma bitkinin kimyasal içeriğini ortaya koyması açısından büyük önem arz etmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Al-Kalaldehy, J. Z., et al. (2010). "Volatile oil composition and antiproliferative activity of *Laurus nobilis*, *Origanum syriacum*, *Origanum vulgare*, and *Salvia triloba* against human breast adenocarcinoma cells." *Nutr Res* **30**(4): 271-278.
- Baytop, A. (1983). İstanbul Üniv. Eczacılık Fak. Yayınları **36**: 282-285.
- Baytop, A. (1997). "Türkçe Bitki Adları Sözlüğü." Atatük kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu Türk Dili Kurumu Yayınları, **578**: 975-916.
- Bernáth, J. (1996). "Some scientific and practical aspects of production and utilization of *oregano* in central Europea." Proceedings of the IPGRI International Workshop on *Oregano*: 76-91.
- Blois, M. S. (1958). "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. ." *Nature* **26**: 1199-1200.
- Borgen, G. and F. Rise (1993). "Low-Temperature Nmr of Epsilon-Caprolactam." *Magnetic Resonance in Chemistry* **31**(1): 51-53.
- Çetin, B., et al. (2011). "The investigation of antimicrobial activity of thyme and *oregano* essential oils." *Turk J Agric For*(35): 145-154.
- Dadaşoğlu, F., et al. (2011). Antibacterial activities of extracts and essential oils of three *Origanum* species against plant pathogenic bacteria and their potential use as seed disinfectants.
- Dinis, T. C., et al. (1994). "Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers." *Arch Biochem Biophys* **315**(1): 161-169.
- Elmastas, M., et al. (2006). "Antioxidant activity of two wild edible mushrooms (*Morchella vulgaris* and *Morchella esculanta*) from North Turkey." *Comb Chem High Throughput Screen* **9**(6): 443-448.
- Erenler, R., et al. (2016). "Isolation and identification of chemical constituents from *Origanum majorana* and investigation of antiproliferative and antioxidant activities." *J Sci Food Agric* **96**(3): 822-836.
- Goze, I., et al. (2009). "Screening of the antioxidant activity of essential oil and various extracts of *Origanum rotundifolium* Boiss. from Turkey." *Journal of Medicinal Plants Research* **3**(4): 246-254.
- Güner, A., et al. (2000). "Flora of Turkey and East Aegean Islands." Edinburgh Univ. Press. **11**: 618-619.
- Heywood, V. H. (1996). "Flowering Plants of the World." BT Batsford Ltd. **239**.
- Hickey, M. and C. King (1997). "Common Families of Flowering Plants." Cambridge Univ. Pres. **119-127**: 119-127.
- Kitiki, A. (1996). "Status of Cultivation and Use of *Oregano* in Turkey." *CIHEAM*: 122-132.
- Koldas, S., et al. (2015). "Phytochemical screening, anticancer and antioxidant activities of *Origanum vulgare* L. ssp. *viride* (Boiss.) Hayek, a plant of traditional usage." *J Sci Food Agric* **95**(4): 786-798.
- Leyva-López, N. N., V.; Bang, W.Y.; Cisneros-Zevallos, L.; Heredia, J.B. (2016). "Protective role of terpenes and polyphenols from three species of *oregano* (*Lippia graveolens*, *Lippia palmeri* and *Hedeoma patens*) on the suppression of lipopolysaccharide-induced inflammation in RAW 264.7 macrophage cells." *J. Ethnopharmacol.*(187): 302-312.

- Owen, R. W., et al. (2003). "Isolation, structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoid compounds in brined olive drupes." *Food and Chemical Toxicology* **41**(5): 703-717.
- Oyaizu, M. (1986). "Studies on products of browning reaction-antioxidative activities of products browning reaction prepared from glucosamine." *Japanese Journal of Nutrition* **44**: 307-315.
- Özcan, S., et al. (2002). "Bitki Biyoteknolojisi " Tarım ve Köyisleri Bakanlığı Ege.
- Özhatay, N., et al. (1997). "Türkiye'nin Doğal Tıbbi Bitkilerinin Ticareti Hakkında Bir Çalışma.", *Doğal Hayatı Kotuma Derneği*.
- Re, R., et al. (1999). "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay." *Free Radical Biology and Medicine* **26**: 1231–1237.
- Rothwell, J. A., et al. (2013). "Phenol-Explorer 3.0: a major update of the Phenol-Explorer database to incorporate data on the effects of food processing on polyphenol content." *Database (Oxford)* **2013**: bat070.
- Slinkard, K. and V. L. Singleton (1977). "Total phenol analyses: Automation and Comparison with Manual Methods." *American Journal of Enology and Viticulture*: 49-55.
- Wen, P., et al. (2007). "C-glycosylfavones and aromatic glycosides from *Campylotropis hirtella*." *Asian Journal of Traditional Medicines* **2**: 4.
- Yan, F., et al. (2016). "Antioxidant capacity variation in the oregano (*Origanum vulgare* L.) collection of the German National Genebank." *Industrial Crops and Products* **92**: 19-25.
- Yoshioka, T., et al. (2004). "Phenolic compounds and flavonoids as plant growth regulators from fruit and leaf of *Vitex rotundifolia*." *Zeitschrift Fur Naturforschung C-a Journal of Biosciences* **59**(7-8): 509-514.
- Zgórka, G. and K. Główniak (2001). "Variation of free phenolic acids in medicinal plants belonging to the Lamiaceae family." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **26**(1): 79-87.
- Zhu, M., et al. (2013). "Analysis of the aetiology of diarrhoea in outpatients in 2007, Henan province, China." *Epidemiol Infect* **141**(3): 540-548.

7. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Bilal MERAL

Adres Bilgileri: Türkiye - Tokat - Merkez

Cep Telefonu: 90 (543) 574 16 16

E-Posta: bilalmeral55@gmail.com

Eğitim Durumu: Yüksek Lisans

Medeni Durumu: Evli

Askerlik Durumu: Yapıldı (05.01.2015)

Uyruk: Türkiye

Doğum Tarihi: 01.01.1988

Doğum Yeri: Türkiye - Samsun

Sürücü Belgesi: B (2009)

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi	08.2018
Lisans	Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi	08.2013
Lise	BAFRA LİSESİ(YDA)	06.2006

Yabancı Dil	Okuma	Yazma	Konuşma	Öğrenilen Yer
İngilizce	Temel	Temel	Temel	Okul

İŞ TECRÜBESİ

- ❖ **Laboratuvar Stajyeri:** BAFRA DEVLET HASTANESİ, 07.2011-09.2011 (2 ay) KAN ALMA VE KAN ANALİZİ
- ❖ **Kalite Kontrol Analizcisi:** ALKE SAĞLIK ÜRÜNLERİ SAN. VE TİC. AŞ. 01.2015-03.2017
- ❖ **Kalite Kontrol Laboratuvarı Sorumlusu:** ALKE SAĞLIK ÜRÜNLERİ SAN. VE TİC. AŞ. 03.2017- Devam Ediyor.

YETKİNLİKLER

❖ **Sahip Olunan Nitelikler**

- Labotaruvar Cihaz ve Ekipmanlarının aktif olarak kullanılması,
- MS Office programlarının kullanılması,
- Yaş Kimya ve Enstrümental Analizlere hakim olma,
- Analitik metod validasyonlarına hakim olma,
- İlaç üretiminde GMP ile çalışılması,
- Kalite Kontrol Dokümanlarının GMP kurallarına uygun hazırlanması,
- Standart Operasyon Prosedürlerinin hazırlanması,
- İş takip ve planlamasının yapılması,
- GLP ile çalışılması,
- IQ – OQ dokümanı hazırlanması.

❖ **Bilgisayar Bilgileri**

MEB. Çıraklık ve Yaygın Eğitim Genel Müdürlüğünün Yapmış Olduğu Kursu Katılım ve Kullanım Microsoft Office 2003, 2007 ,2010

SERTİFİKA BİLGİLERİ

❖ **FTIR-Prestige 21 & RF_Affinity 1S**

Alke Sağlık Ürünleri San. Ve Tic. AŞ.

ANT TEKNİK – 16.11.2016 FTIR-Prestige 21 & RF_Affinity 1S cihazının kullanıcı eğitimi

❖ **HPLC / LC-20A ve Labsolution CS Yazılımı**

Alke Sağlık Ürünleri San. Ve Tic. AŞ.

ANT TEKNİK – 4-8 Nisan 2016 HPLC / LC-20A ve Labsolutions CS Yazılımı kullanıcı eğitimi

❖ **GC-2010 PLUS ve AA-6300**

Alke Sağlık Ürünleri San. Ve Tic. AŞ

ANT TEKNİK - 25-26 Mart 2015 GC-2010 PLUS ve AA-6300 Kullanıcı Eğitimi

❖ **IR-Prestige-21_NIR**

Alke Sağlık Ürünleri San. Ve Tic. AŞ

ANT TEKNİK - 07-08 Ekim 2015 IR-Prestige-21_NIR cihazının kullanıcı eğitimi

❖ **HIAC 9703+ Sıvıda Partikül Sayım Cihazları**

Alke Sağlık Ürünleri San. Ve Tic. AŞ

ATOTEST - 30.07.2015 HIAC 9703+ Sıvıda Partikül Sayım Cihazları kullanıcı eğitimi

❖ **Gaz Tesisatı ve Gaz Dedeksiyon Sistemi**

Alke Sağlık Ürünleri San. Ve Tic. AŞ

NOVAGENT - 04.09.2015 Gaz Tesisatı ve Gaz Dedeksiyon Sistemi Kullanımı Eğitimi

❖ **Gc-Ms Eğitimi ve Kullanımı**

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sürekli Eğitim Araştırma ve Uygul. - 05.2013 Kimya Alanında Numune Analizlerinde Kullanılan Gaz Kromatografisi Cihazı

❖ **HPLC kullanımı eğitimi**

ANT TEKNİK - 05.2012 Kimya Alanında Numune Analizlerinde Kullanılan Sıvı Kromatografisi Cihazı

❖ **GC-MS/GC-FID (Gaz Kromatografisi) Kullanımı Eğitimi**

ESRA LAB. MALZ. İnş. ve San. TİC. LTD. ŞTİ. 22.04.2013 GC-MS/GC-FID (Gaz Kromatografisi) Kullanımı Eğitimi

TETRA Teknolojik Sistemler Ltd. Şti./ 19-21 ŞUBAT 2013 GC-MS (Gaz Kromatografisi) Kullanımı Eğitim Sertifikası

❖ **FT-IR (Infra-Red Spektrometresi) Kullanımı Eğitimi**

ESRA LAB. MALZ. İnş. ve San. TİC. LTD. ŞTİ. 22.04.013 FT-IR (Infra-Red Spektrometresi) Kullanımı Eğitimi

❖ **AAS(Atomic Absorption Spektrometresi) Kullanımı Eğitimi**

ESRA LAB. MALZ. İnş. ve San. TİC. LTD. ŞTİ. 22.04.2013 AAS(Atomic Absorption Spektrometresi) Kullanımı Eğitimi

❖ **ICP- MS(Plazma Kütle Spektrometrisi) Kullanımı Eğitimi**

ESRA LAB. MALZ. İnş. ve San. TİC. LTD. ŞTİ. 22.04.2013 ICP- MS(Plazma Kütle Spektrometrisi) Kullanımı Eğitimi

❖ **UV-Vis(Ultra viyole- görünür bölge spektrofotometresi) Kullanımı Eğitimi**

ESRA LAB. MALZ. İnş. ve San. TİC. LTD. ŞTİ. 22.04.2013 UV-Vis(Ultra viyole- görünür bölge spektrofotometresi) Kullanımı Eğitimi

❖ **DSC(Diferansiyel Taramalı Kalorimetri) Kullanımı Eğitimi**

ESRA LAB. MALZ. İnş. ve San. TİC. LTD. ŞTİ. 22.04.2013 DSC(Diferansiyel Taramalı Kalorimetri) Kullanımı Eğitimi

❖ **Flash Kromatografisi Kullanımı Eğitimi**

ESRA LAB. MALZ. İnş. ve San. TİC. LTD.ŞTİ. 22.04.2013 Flash Kromatografisi Kullanımı Eğitimi

❖ **İş Güvenliği Uzmanlığı Eğitim Programı**

BURSLAR/ÖDÜLLER/BAŞARILAR/PROJELER

Bursa 2013 KROMATOĞRAFİ KONGRESİ ‘*Echinophora tenuifolia* L.ssp. *sibthorpiana* (Guss) Hasat Zamanına Göre Uçucu Yağ Bileşenlerindeki Değişiminin İncelenmesi’ Konulu Poster Sunumu

Sakarya 2013 ORGANİK KİMYA KONGRESİ ‘Limon Otu ve Oğul Otu Bitkilerinin Uçucu Yağ Bileşenlerinin Belirlenmesi’ Konulu Poster Sunumu

Tokat 2012 KROMATOĞRAFİ KONGRESİ ‘*Centeurea solstitialis* Subsp. *solstitialis* Bitkisinin Çiçek Kısmı Ekstraktının Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi’ Konulu Poster Sunumu

Tokat 2014 III.ESER ANALİZ ÇALIŞTAYI ‘Mikrodalga Yöntemiyle Katı Örneklerin Çözülmesi’ Kurs Katılımı

Tokat 2014 III. ESER ANALİZ ÇALIŞTAYI Teşekkür Belgesi

Tokat 2014 V. ULUSAL POLİMER BİLİM VE TEKNOLOJİ KONGRESİ Teşekkür Belgesi

TÜBİTAK PROJESİ : *Origanum solymicum* P.H. Davis, *Origanum husnuacan-basari* H. Duman, Z. Aytaç & A. Duran, *Origanum bilgeri* P.H. Davis, *Origanum rotundifolium* Boiss, *Origanum onites* L., *Origanum cyriacum* L. Bitkilerindeki sekonder metabolitlerin aktivite kontrollü izolasyonu, yapılarının aydınlatılması ve antioksidan aktivitelerinin incelenmesi Adlı Projede Yardımcı Çalışan Olarak Görev Aldım.

YAYINLAR

ESER F, TUTAK M, ONAL A, **MERAL B.** 2016."Dyeing of Wool and Cotton Fabrics with Leaves of Apple (*Malus Domestica*) Tree", Journal of Natural Fibers, 2016/05/03;13(3):289-98.

ERENLER Ramazan, **MERAL Bilal**, SEN Ozkan, ELMASTAS Mahfuz, AYDIN Ali, EMİNAĞAOĞLU Özgür, TOPÇU Gulacti, (2017). "Bioassay-Guided İsolation, İdentification Of Compounds From *Origanum Rotundifolium* And İntestigation Of Their Antiproliferative And Antioxidant Activities", Pharmaceutical Biology, (Yayın No: 3513915)