

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

Chaerophyllum bulbosum’dan ANTİOKSİDAN VE
ANTİKOLİNESTERAZ AKTİVİTELİ BİLEŞİKLERİN
İZOLASYONLARI VE YAPILARININ
AYDINLATILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ZEYNEP MOLO

MAYIS 2021
MUĞLA

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

Chaerophyllum bulbosum'dan ANTİOKSİDAN VE
ANTİKOLİNESTERAZ AKTİVİTELİ BİLEŞİKLERİN
İZOLASYONLARI VE YAPILARININ
AYDINLATILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ZEYNEP MOLO

MAYIS 2021

MUĞLA

MUGLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

TEZ ONAYI

ZEYNEP MOLO tarafından hazırlanan ***CHAEROPHYLLUM BULBOSUM***'DAN **ANTİOKSİDAN VE ANTİKOLİNESTERAZ AKTİVİTELİ BİLEŞİKLERİN İZOLASYONLARI VE YAPILARININ AYDINLATILMASI** başlıklı tezinin, 20/05/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği ile kabul edilmiştir.

TEZ SINAV JURİSİ

Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK (**Jüri Başkanı**)

İmza:

Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Prof. Dr. Mehmet Emin DURU (**Danışman**)

İmza:

Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Dr. Öğr. Üyesi Pınar TERZİOĞLU (**Üye**)

İmza:

Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi,
Bursa Teknik Üniversitesi, Bursa

ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI

Prof. Dr. Ülkü ANIK

İmza:

Kimya Ana Bilim Dalı Başkanı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Prof. Dr. Mehmet Emin DURU

İmza:

Danışman, Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Doç. Dr. Gülsen TEL ÇAYAN

İmza:

İkinci Danışman, Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Savunma Tarihi: 20/05/2021

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

Zeynep MOLO

20/05/2021

ÖZET

***Chaerophyllum bulbosum*'dan ANTİOKSİDAN VE ANTİKOLİNESTERAZ AKTİVİTELİ BİLEŞİKLERİN İZOLASYONLARI VE YAPILARININ AYDINLATILMASI**

Zeynep MOLO

Yüksek Lisans Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet Emin DURU

İkinci (Ortak) Danışman: Doç. Dr. Gülsen TEL ÇAYAN

Mayıs 2021, 199 sayfa

Bu yüksek lisans tez çalışmasında Doğu Anadolu bölgesinde doğal olarak yetişen, halk arasında iştahsızlık, kolesterol ve diyabette kullanılan ve bugüne kadar biyoaktif bileşiklerin izolasyonları ve çeşitli aktivitelerinin araştırılması üzerine bilimsel çalışma bulunmayan *Chaerophyllum bulbosum* bitkisinden kromatografik yöntemlerle biyoaktif bileşiklerin izolasyonunun incelenmesi amaçlanmıştır.

C. bulbosum oda şartlarında *n*-hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su olmak üzere artan polaritelerdeki çözücüler ile yapılan ekstraksiyonlarla toplam 5 farklı ekstre elde edildi. Her bir ekstrenin antioksidan aktiviteleri ve antikolinesteraz aktiviteleri belirlendi. *Chaerophyllum bulbosum* bitkisinin antioksidan aktiviteleri beş farklı yöntem (β -karoten renk açılımı, DPPH serbest radikali giderimi, ABTS katyon radikali giderimi, CUPRAC indirgeme gücü ve metal bağlama) kullanılarak belirlendi. Bunun yanı sıra bitki ekstralarının antikolinesteraz aktivitesinde Ellman metoduna göre araştırıldı. Elde edilen veriler ışığında antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri yüksek çıkan *C. bulbosum* bitkisinin ekstraları uygun kromatografik yöntemlerle antioksidan aktivite kontrollü olarak izole edildi. Aktiviteleri yüksek çıkan fraksiyonlardan madde saflaştırılması için Kolon Kromatografisi, İnce Tabaka Kromatografisi tekniklerinin yanı sıra Geri dönüşümlü preparatif HPLC gibi cihazlar kullanılarak dokuz madde saflaştırıldı. Saflaştırılan maddelerin yapıları başlıca, IR, NMR [^1H -NMR, ^{13}C -NMR, 2D-NMR (COSY HSQC ve HMBC)] gibi spektral analizlerle ve kütle spektrometresi yöntemleriyle (EI-MS ve HRMS) aydınlatıldı. Yapısı aydınlatılan saf bileşiklerin de antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri ayrı ayrı yukarıda kullanılan yöntemler ile belirlendi. Böylece saflaştırılan biyoaktif bileşiklerin gösterdiği aktivite ile yapıları arasındaki ilişkiler de kuruldu.

Bu tez çalışması ile *C. bulbosum*'un aktif ekstralarından elde edilen biyoaktif bileşiklerin yapılarının aydınlatılması ilk kez yapıldı. Türkiye'de yetişen, yenilebilir bir tür olan *C. bulbosum* türünün ekstralarının ve elde edilen saf bileşiklerin

antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleride detaylı olarak ilk defa bu tez çalışmasıyla gerçekleştirildi.

Anahtar Kelimeler: *Chaerophyllum bulbosum*, Biyoaktivite Kontrollü İzolasyon, Antioksidan Aktivite, Antikolinesteraz Aktivite, Yapı Aydınlatma.



ABSTRACT
ISOLATION AND STRUCTURE ELUCIDATION OF COMPOUNDS
HAVING ANTIOXIDANT AND ANTICHOLINESTERASE ACTIVITIES
FROM *Chaerophyllum bulbosum*

Zeynep MOLO

Master Thesis

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet Emin DURU

Second Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Gülsen TEL ÇAYAN

May 2021, 199 pages

In this master's thesis study, it is used in anorexia, cholesterol, and diabetes by local people that grows naturally in the Eastern Anatolia region, and until today hasn't been the isolation of bioactive compounds and various activity studies, it is aimed to determine the isolation of bioactive compounds with such chromatographic methods.

C. bulbosum was extracted under room conditions with solvents of increasing polarity, including *n*-hexane, chloroform, acetone, methanol, and water, and a total of 5 different extracts were obtained. The antioxidant activities and anticholinesterase activities of each extract were determined. The antioxidant activities of the *Chaerophyllum bulbosum* were determined using five different methods (β -carotene-linoleic acid, DPPH free radical scavenging, ABTS cation radical scavenging, CUPRAC reducing power capacity, and metal chelating). In addition, the anticholinesterase activity of the plant extracts was investigated according to the Ellman method. In the light of the data obtained, extracts of *C. bulbosum* plant, which had high antioxidant and anticholinesterase activities, were isolated by appropriate chromatographic methods in an antioxidant activity controlled manner. From the fractions with high activity, nine compounds were purified using the methods such as Column Chromatography, Thin Layer Chromatography as well as Recycling HPLC. The structures of the purified compounds were analyzed by spectrophotometric methods such as IR, UV, NMR [^1H -NMR, ^{13}C -NMR, and 2D-NMR (COSY, HMQC, and HMBC)], mass spectrometry methods (EI-MS, and HRMS). The antioxidant and anticholinesterase activities of the pure compounds whose structures were illuminated were determined separately by the methods used above. Thus, the relationships between the activity of the purified bioactive compounds and their structures were established.

With this thesis study, the structure of bioactive compounds obtained from active extracts of *C. bulbosum* was elucidated for the first time. The antioxidant and

anticholinesterase activities of the extracts of *C. bulbosum*, an edible species grown in Turkey, and the pure compounds obtained were carried out in detail for the first time with this thesis study.

Keywords: *Chaerophyllum bulbosum*, Bioassay-guided isolation, Antioxidant activity, Anticholinesterase activity, Structure elucidation.



Sevgili Annem'e ve Babam'a



ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca büyük bir özveri ile ilgilenen, değerli zamanını ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleriyle sabırla daima bana yol gösteren, yürüdüğüm bu yolda bana ışık tutan, çalışkanlığı, azmi, saygı ve sevgisiyle örnek aldığım öğrencisi olmaktan gurur ve mutluluk duyduğum değerli tez danışman hocam Prof. Dr. Mehmet Emin DURU'ya

Tez çalışmam boyunca beni yalnız bırakmayan, büyük bir özveri ile ilgilenen emeğini, değerli zamanını ve desteğini esirgemeyen, bu yolda ilerlerken sabırla her zaman her konuda bilgi ve tecrübeleriyle yardımcı olan, başarıyı arttırmak için sevgiyle uğraşan, öğrencisi olmaktan gurur ve mutluluk duyduğum ikinci tez danışman hocam Doç. Dr. Gülsen TEL ÇAYAN'a,

Tez çalışmama değerli eleştiri ve önerileri ile katkıda bulunan, bilgi ve tecrübesinden yararlandığım sevgili hocam Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK'e,

Tez çalışmam sırasında her konuda yardım ve desteğini esirgemeyen bilgi ve tecrübesinden yararlandığım sevgili hocam Dr. Ebru DEVECİ'ye

Tez çalışmam boyunca öneri ve yardımları ile katkıda bulunan tüm çalışma arkadaşlarıma,

Her zaman yanımda olan ve bana güvenen, bugünlere kadar gelmemde bana en büyük desteği veren çok sevgili ailem, babam Osman MOLO, annem Arzu MOLO, kardeşlerim Tuğba MOLO ve Rümeysa MOLO'ya,

Bu tez çalışması 118Z610 numaralı TÜBİTAK projesi ile finanse edilmiş olup, bu desteğinden dolayı TÜBİTAK Kimya Biyoloji Araştırma Grup Başkanlığına,

Ve emeği geçen herkese çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xx
1. GİRİŞ	1
1.1. Amaç ve Kapsam.....	1
1.2. Genel Bilgiler ve Kaynak Özetleri	4
1.2.1. Apiaceae Familyası	4
1.2.2. <i>Chaerophyllum</i> Cinsi	4
1.2.3. <i>Chaerophyllum bulbosum</i> L.....	5
1.2.3.1. <i>Chaerophyllum</i> türlerinin halk arasında kullanımı	5
1.2.3.2. <i>Chaerophyllum</i> türleri ile ilgili literatür araştırmaları.....	6
1.2.3.3. <i>Chaerophyllum</i> türleri ile ilgili izolasyon çalışmaları	37
1.2.3.4. <i>Chaerophyllum bulbosum</i> Türü Üzerine Yapılan Bilimsel Çalışmalar	43
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	44
2.1. Bitki Materyalleri	44
2.2. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler	44
2.2.1. Kimyasal maddeler ve çözücüler	44
2.2.2. Çözeltilerin hazırlanması	45
2.2.2.1. β -karoten-linoleik asit yönteminde kullanılan çözeltiler	45
2.2.2.2. DPPH serbest radikal giderim yönteminde kullanılan çözeltiler.....	45
2.2.2.3. ABTS katyon radikal giderim yönteminde kullanılan çözeltiler	45
2.2.2.4. CUPRAC yönteminde (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) kullanılan çözeltiler	45
2.2.2.5. Metal bağlama aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler	46
2.2.2.6. Antikolinesteraz aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler	46
2.2.2.7. İnce tabaka kromatografisinde kullanılan belirteçler	47
2.2.3. Aletler ve diğer gereçler.....	47
2.2.4. Ekstrelerin hazırlanması.....	48

2.2.5. Antioksidan aktivite tayin yöntemleri	49
2.2.5.1. <i>Toplam antioksidan aktivite: β-karoten renk açılım yöntemi</i>	49
2.2.5.2. <i>DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi</i>	49
2.2.5.3. <i>ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi</i>	50
2.2.5.4. <i>Cu (II) indirgeme aktivitesi (CUPRAC) yöntemi</i>	50
2.2.5.5. <i>Metal bağlama aktivitesi yöntemi</i>	50
2.2.6. Enzim İnhibisyon Aktivite Belirleme Yöntemleri	51
2.2.6.1. <i>Asetilkolinesteraz İnhibisyon Aktivitesi Yöntemi</i>	51
2.2.6.2. <i>Bütirilkolinesteraz İnhibisyon Aktivitesi Yöntemi</i>	51
2.2.7. Kromatografik yöntemler	52
2.2.7.1. <i>Kolon kromatografisi</i>	52
2.2.7.2. <i>İnce tabaka kromatografisi</i>	52
2.2.8. Spektroskopik yöntemler	53
2.2.8.1. <i>NMR spektroskopisi</i>	53
2.2.8.2. <i>Kütle spektroskopisi</i>	53
2.2.9. İstatistik hesaplamalar	53
2.2.10. IC_{50} ve $A_{0,5}$ değerlerin hesaplanması	53
3. BULGULAR VE İRDELEME	54
3.1. <i>C. bulbosum</i> Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin Miktarları	54
3.2. <i>Chaerophyllum bulbosum</i> Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerinin Antioksidan Aktivite Sonuçları	54
3.2.1. β -Karoten renk açılım yöntemi sonuçları (lipit peroksidasyon inhibisyon aktivitesi)	54
3.2.3. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi sonuçları	55
3.2.4. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi sonuçları	57
3.2.5. Cu (II) indirgeme aktivitesi (CUPRAC) yöntemi sonuçları	58
3.2.6. Metal bağlama aktivitesi yöntemi sonuçları	59
3.3. <i>C. bulbosum</i> Bitkisinin Elde Edilen Ekstrelerin Enzim İnhibisyon Aktivite Sonuçları	60
3.3.1. Asetilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları	60
3.3.2. Bütirilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları	61
3.4. <i>C. bulbosum</i> Bitkisinin Biyoaktivite Kontrollü Fraksiyonlandırma Çalışmaları Sonuçları	63

3.4.1. <i>C. bulbosum</i> Hekzan Ekstresinin Biyoaktivite Kontrollü Fraksiyonlandırma Çalışmaları Sonuçları.....	63
3.4.2. <i>C. bulbosum</i> Bitkisinin Kloroform Ekstresinin Biyoaktivite Kontrollü Fraksiyonlandırma Çalışmaları Sonuçları.....	66
3.4.3. <i>C. bulbosum</i> Bitkisinin Aseton Ekstresinin Biyoaktivite Kontrollü Fraksiyonlandırma Çalışmaları Sonuçları.....	70
3.4.4. <i>C. bulbosum</i> Bitkisinin Metanol Ekstresinin Biyoaktivite Kontrollü Fraksiyonlandırma Çalışmaları Sonuçları.....	74
3.4.5. <i>C. bulbosum</i> Bitkisinden İzole Edilen Saf Bileşikler.....	79
3.4.5.1. <i>n</i> -Oktakosen (1)	86
3.4.5.2. <i>n</i> -Heptadekanil eikosanoat (2)	92
3.4.5.3. Stigmasterol (3)	103
3.4.5.4. β -sitosterol-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glikopiranozit (4).....	112
3.4.5.5. Kersetin-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glikopiranozit (5)	121
3.4.5.6. Apigenin-7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glikopiranozit (6)	130
3.4.5.7. Luteolin-7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glikopiranozit (7)	139
3.4.5.8. Sakkaroz (8)	147
3.4.5.9. Luteolin-7- <i>O</i> - α - <i>D</i> -glikopiranozit-4''- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glikopiranozit (9).....	156
3.5. <i>C. bulbosum</i> Bitkisinden Elde Edilen Saf Bileşiklerin Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	166
3.6. <i>C. bulbosum</i> Bitkisinden Elde Edilen Saf Bileşiklerin Enzim İnhibisyon Aktivite Sonuçları.....	170
3.6.1. Asetilkolinesteraz ve Bütirikolinesteraz Enzimleri İnhibisyon Aktivite Sonuçları.....	170
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	173
KAYNAKLAR	176
EKLER.....	196
ÖZGEÇMİŞ.....	197

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. <i>Chaerophyllum</i> türlerinin major uçucu yağ bileşimleri	7
Çizelge 1.2. <i>Chaerophyllum</i> türlerinin biyolojik aktiviteleri	21
Çizelge 3.1. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden elde edilen ekstrelerin miktarları	54
Çizelge 3.2. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden elde edilen ekstrelerin β -karoten renk açılımı yöntemiyle lipit peroksidasyonu inhibisyon aktivitesi.....	55
Çizelge 3.3. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden elde edilen ekstrelerin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi.....	56
Çizelge 3.4. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden elde edilen ekstrelerin ABTS katyon radikali giderim aktivitesi.....	57
Çizelge 3.5. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden elde edilen ekstrelerin CUPRAC yöntemiyle Cu^{2+} indirgeme gücü aktivitesi.....	58
Çizelge 3.6. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden elde edilen ekstrelerin Fe^{2+} -Ferrin yöntemiyle metal bağlama aktivitesi.....	59
Çizelge 3.7. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden elde edilen ekstrelerin AChE inhibisyon aktivitesi	61
Çizelge 3.8. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden elde edilen ekstrelerin BChE inhibisyon aktivitesi	62
Çizelge 3.9. <i>C. bulbosum</i> hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonların miktarları	62
Çizelge 3.10. <i>C. bulbosum</i> 'un hekzan fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.....	64
Çizelge 3.11. <i>C. bulbosum</i> 'un hekzan fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri	65
Çizelge 3.12. <i>C. bulbosum</i> 'un hekzan fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların CUPRAC yöntemiyle Cu^{2+} indirgeme gücü aktivitesi.....	65
Çizelge 3.13. <i>C. bulbosum</i> 'un hekzan fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların AChE inhibisyon aktivitesi	66
Çizelge 3.14. <i>C. bulbosum</i> 'un hekzan fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların BChE inhibisyon aktivitesi	66
Çizelge 3.15. <i>C. bulbosum</i> 'un kloroform ekstresinden elde edilen fraksiyonların miktarları	67
Çizelge 3.16. <i>C. bulbosum</i> 'un kloroform fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri	68
Çizelge 3.17. <i>C. bulbosum</i> 'un kloroform fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri	68

Çizelge 3.18. <i>C. bulbosum</i> 'un kloroform fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların CUPRAC yöntemiyle Cu^{2+} indirgeme gücü aktivitesi	69
Çizelge 3.19. <i>C. bulbosum</i> 'un kloroform fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların AChE inhibisyon aktivitesi.....	70
Çizelge 3.20. <i>C. bulbosum</i> 'un kloroform fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların BChE inhibisyon aktivitesi	70
Çizelge 3.21. <i>C. bulbosum</i> 'un aseton ekstresinden elde edilen fraksiyonların miktarları	71
Çizelge 3.22. <i>C. bulbosum</i> 'un aseton fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.....	72
Çizelge 3.23. <i>C. bulbosum</i> 'un aseton fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri	72
Çizelge 3.24. <i>C. bulbosum</i> 'un aseton fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların CUPRAC yöntemiyle Cu^{2+} indirgeme gücü aktiviteleri	73
Çizelge 3.25. <i>C. bulbosum</i> 'un aseton fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların AChE inhibisyon aktiviteleri.....	73
Çizelge 3.26. <i>C. bulbosum</i> 'un aseton fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların BChE inhibisyon aktiviteleri	74
Çizelge 3.27. <i>C. bulbosum</i> 'un metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonların miktarları	75
Çizelge 3.28. <i>C. bulbosum</i> 'un metanol fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.....	76
Çizelge 3.29. <i>C. bulbosum</i> 'un metanol fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri	77
Çizelge 3.30. <i>C. bulbosum</i> 'un metanol fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların CUPRAC yöntemiyle Cu^{2+} indirgeme gücü aktiviteleri.....	77
Çizelge 3.31. <i>C. bulbosum</i> 'un metanol fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların AChE inhibisyon aktiviteleri	78
Çizelge 3.32. <i>C. bulbosum</i> 'un metanol fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların BChE inhibisyon aktiviteleri	79
Çizelge 3.33. <i>n</i> -oktakosen (1) ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri.....	87
Çizelge 3.34. <i>n</i> -Heptadekanil eikosanoat (2) ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri.....	93
Çizelge 3.35. Stigmasterol (3) ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri	104
Çizelge 3.36. β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit (4) ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri	114
Çizelge 3.37. Kersetin-3-O- β -D-glikopiranozit (5) ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri	122

Çizelge 3.38. Apigenin-7-O-β-D-glikopiranozit (6) ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR değerleri	131
Çizelge 3.39. Luteolin-7-O-β-D-glikopiranozit (7) ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR değerleri	140
Çizelge 3.40. Sakkaroz (8) ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR değerleri.....	148
Çizelge 3.41. Luteolin-7-O-α-D-glikopiranozit-4"-O-β-D-glikopiranozit (9) ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR değerleri	158
Çizelge 3.42. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden izole edilen saf bileşiklerin β-karoten renk açılımı yöntemiyle lipit peroksidasyonu inhibisyon aktiviteleri	166
Çizelge 3.43. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden izole edilen saf bileşiklerin DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri	167
Çizelge 3.44. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden izole edilen saf bileşiklerin ABTS kation radikali giderim aktiviteleri	168
Çizelge 3.45. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden izole edilen saf bileşiklerin CUPRAC yöntemiyle Cu ²⁺ indirgeme gücü aktiviteleri	168
Çizelge 3.46. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden izole edilen saf bileşiklerin Fe ²⁺ -Ferrin yöntemiyle metal bağlama aktiviteleri	169
Çizelge 3.47. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden izole edilen saf bileşiklerin AChE inhibisyon aktiviteleri.....	171
Çizelge 3.48. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden izole edilen saf bileşiklerin BChE inhibisyon aktiviteleri.....	171

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>Chaerophyllum</i> türlerinden izole edilen bileşikler.....	39
Şekil 2.1. <i>Chaerophyllum bulbosum</i> 'un ekstraksiyon akış şeması	48
Şekil 3.1. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden elde edilen ekstrelerin görüntüleri	54
Şekil 3.2. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden elde edilen ekstrelerin β -karoten renk açılımı yöntemiyle lipit peroksidasyonu inhibisyonu aktivitesi	55
Şekil 3.3. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden elde edilen ekstrelerin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi... ..	56
Şekil 3.4. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden elde edilen ekstrelerin ABTS katyon radikali giderim aktivitesi	57
Şekil 3.5. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden elde edilen ekstrelerin CUPRAC yöntemiyle Cu^{2+} indirgeme gücü aktivitesi.....	58
Şekil 3.6. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden elde edilen ekstrelerin Fe^{2+} -Ferrin yöntemiyle metal bağlama aktivitesi	59
Şekil 3.7. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden elde edilen ekstrelerin AChE inhibisyon aktivitesi	60
Şekil 3.8. <i>C. bulbosum</i> bitkisinden elde edilen ekstrelerin BChE inhibisyon aktivitesi	62
Şekil 3.9. <i>C. bulbosum</i> hekzan ekstresi ana kolon görüntüsü	63
Şekil 3.10. <i>C. bulbosum</i> hekzan ekstresi fraksiyonları ince tabaka kromatografi görüntüleri	63
Şekil 3.11. <i>C. bulbosum</i> kloroform ekstresi ana kolon görüntüsü	67
Şekil 3.12. <i>C. bulbosum</i> kloroform ekstresi fraksiyonları ince tabaka kromatografi görüntüleri	67
Şekil 3.13. <i>C. bulbosum</i> aseton ekstresi ana kolon görüntüsü	71
Şekil 3.14. <i>C. bulbosum</i> aseton ekstresi fraksiyonları ince tabaka kromatografi görüntüleri	71
Şekil 3.15. <i>C. bulbosum</i> metanol ekstresi ana kolon görüntüsü.....	75
Şekil 3.16. <i>C. bulbosum</i> metanol ekstresi fraksiyonları ince tabaka kromatografi görüntüleri	75
Şekil 3.17. <i>C. bulbosum</i> hekzan ekstresinin fraksiyonlandırılmasıyla elde edilen saf bileşikler	80
Şekil 3.18. <i>C. bulbosum</i> kloroform ekstresinin fraksiyonlandırılmasıyla elde edilen saf bileşikler.....	81

Şekil 3.19. <i>C. bulbosum</i> aseton ekstresinin fraksiyonlandırılmasıyla elde edilen saf bileşikler	82
Şekil 3.20. <i>C. bulbosum</i> metanol ekstresinin fraksiyonlandırılmasıyla elde edilen 5,6 ve 7 kodlu saf bileşikler	83
Şekil 3.21. <i>C. bulbosum</i> metanol ekstresinin fraksiyonlandırılmasıyla elde edilen 8 ve 9 kodlu saf bileşikler	85
Şekil 3.22. <i>n</i> -oktakosen (1)	86
Şekil 3.23. <i>n</i> -oktakosen'in FT-IR spektrumu	88
Şekil 3.24. <i>n</i> -oktakosen'in ¹ H-NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	89
Şekil 3.25. <i>n</i> -oktakosen'in APT spektrumu (CDCl ₃ , 125 MHz)	90
Şekil 3.26. <i>n</i> -oktakosen'in GC-MS kromatogramı ve MS spektrumu	91
Şekil 3.27. <i>n</i> -Heptadekanil eikosanoat (2)	92
Şekil 3.28. <i>n</i> -Heptadekanil eikosanoat (2) İTK görüntüsü	93
Şekil 3.29. <i>n</i> -Heptadekanil eikosanoat'ın GC-MS kromatogramı	95
Şekil 3.30. <i>n</i> -Heptadekanil eikosanoat'ın FT-IR spektrumu	96
Şekil 3.31. <i>n</i> -Heptadekanil eikosanoat'ın ¹ H-NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz) ..	97
Şekil 3.32. <i>n</i> -Heptadekanil eikosanoat'ın APT spektrumu (CDCl ₃ , 125 MHz)	98
Şekil 3.33. <i>n</i> -Heptadekanil eikosanoat'ın HSQC spektrumu	99
Şekil 3.34. <i>n</i> -Heptadekanil eikosanoat'ın HMBC spektrumu	100
Şekil 3.35. <i>n</i> -Heptadekanil eikosanoat'ın COSY spektrumu	101
Şekil 3.36. <i>n</i> -Heptadekanil eikosanoat'ın HR-MS spektrumu	102
Şekil 3.37. Stigmasterol (3)	103
Şekil 3.38. Stigmasterol (3) İTK görüntüsü	104
Şekil 3.39. Stigmasterol'ın FT-IR spektrumu	106
Şekil 3.40. Stigmasterol'ın ¹ H-NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	107
Şekil 3.41. Stigmasterol'ın APT spektrumu (CDCl ₃ , 125 MHz)	108
Şekil 3.42. Stigmasterol'ın HSQC spektrumu	109
Şekil 3.43. Stigmasterol'ın HMBC spektrumu	110
Şekil 3.44. Stigmasterol'ın COSY spektrumu	111
Şekil 3.45. β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit (4)	112
Şekil 3.46. β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit (4) İTK görüntüsü	113
Şekil 3.47. β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit'ın FT-IR spektrumu	115

Şekil 3.48. β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit'in ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz).....	116
Şekil 3.49. β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit'in APT spektrumu (CDCl_3 , 125 MHz).....	117
Şekil 3.50. β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit'in HSQC spektrumu.....	118
Şekil 3.51. β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit'in HMBC spektrumu	119
Şekil 3.52. β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit'in COSY spektrumu.....	120
Şekil 3.53. Kersetin-3-O- β -D-glikopiranozit (5)	121
Şekil 3.54. Kersetin-3-O- β -D-glikopiranozit (5) İTK görüntüsü.....	122
Şekil 3.55. Kersetin-3-O- β -D-glikopiranozit'in FT-IR spektrumu.....	124
Şekil 3.56. Kersetin-3-O- β -D-glikopiranozit'in ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 600 MHz).....	125
Şekil 3.57. Kersetin-3-O- β -D-glikopiranozit'in APT spektrumu (CD_3OD , 125 MHz)	126
Şekil 3.58. Kersetin-3-O- β -D-glikopiranozit'in HSQC spektrumu	127
Şekil 3.59. Kersetin-3-O- β -D-glikopiranozit'in HMBC spektrumu.....	128
Şekil 3.60. Kersetin-3-O- β -D-glikopiranozit'in COSY spektrumu.....	129
Şekil 3.61. Apigenin-7-O- β -D-glikopiranozit (6)	130
Şekil 3.62. Apigenin-7-O- β -D-glikopiranozit (6) İTK görüntüsü	131
Şekil 3.63. Apigenin-7-O- β -D-glikopiranozit'in FT-IR spektrumu.....	133
Şekil 3.64. Apigenin-7-O- β -D-glikopiranozit'in ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 600 MHz).....	134
Şekil 3.65. Apigenin-7-O- β -D-glikopiranozit'in APT spektrumu (CD_3OD , 125 MHz)	135
Şekil 3.66. Apigenin-7-O- β -D-glikopiranozit'in HSQC spektrumu.....	136
Şekil 3.67. Apigenin-7-O- β -D-glikopiranozit'in HMBC spektrumu.....	137
Şekil 3.68. Apigenin-7-O- β -D-glikopiranozit'in COSY spektrumu.....	138
Şekil 3.69. Luteolin-7-O- β -D-glikopiranozit (7)	139
Şekil 3.70. Luteolin-7-O- β -D-glikopiranozit (7) İTK görüntüsü.....	140
Şekil 3.71. Luteolin-7-O- β -D-glikopiranozit'in FT-IR spektrumu.....	141
Şekil 3.72. Luteolin-7-O- β -D-glikopiranozit 'in ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 600 MHz).....	142
Şekil 3.73. Luteolin-7-O- β -D-glikopiranozit'in APT spektrumu (CD_3OD , 125 MHz)	143
Şekil 3.74. Luteolin-7-O- β -D-glikopiranozit'in HSQC spektrumu	144

Şekil 3.75. Luteolin-7-O- β -D-glikopiranozit'in HMBC spektrumu	145
Şekil 3.76. Luteolin-7-O- β -D-glikopiranozit'in COSY spektrumu	146
Şekil 3.77. Sakkaroz (6)	147
Şekil 3.78. Sakkaroz (6) İTK görüntüsü	148
Şekil 3.79. Sakkaroz'un FT-IR spektrumu	149
Şekil 3.80. Sakkaroz'un ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 600 MHz)	150
Şekil 3.81. Sakkaroz'un APT spektrumu (CD_3OD , 125 MHz)	151
Şekil 3.82. Sakkaroz'un HSQC spektrumu.....	152
Şekil 3.83. Sakkaroz'un HMBC spektrumu.....	153
Şekil 3.84. Sakkaroz'un COSY spektrumu.....	154
Şekil 3.85. Sakkaroz'un EI-MS spektrumu.....	155
Şekil 3.86. Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4"-O- β -D-glikopiranozit (9).....	156
Şekil 3.87. Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4"-O- β -D-glikopiranozit (9) İTK görüntüsü	157
Şekil 3.88. Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4"-O- β -D-glikopiranozit'in FT-IR spektrumu	159
Şekil 3.89. Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4"-O- β -D-glikopiranozit'in ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 600 MHz).....	160
Şekil 3.90. Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4"-O- β -D-glikopiranozit'in APT spektrumu (CD_3OD , 125 MHz).....	161
Şekil 3.91. Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4"-O- β -D-glikopiranozit'in HSQC spektrumu	162
Şekil 3.92. Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4"-O- β -D-glikopiranozit'in HBMC spektrumu	163
Şekil 3.93. Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4"-O- β -D-glikopiranozit'in COSY spektrumu	164
Şekil 3.94. Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4"-O- β -D-glikopiranozit'in HR-MS spektrumu	165

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	2,2'-Azinobis (3-etilbenzotrazolin-6-sülfonat)
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
AcI	Asetilkolin iyodür
BuI	Bütirilkolin iyodür
BChE	Bütirilkolinesteraz
BHA	Bütillenmiş hidroksi anisol
C.	<i>Chaerophyllum</i>
CBTH	<i>Chaerophyllum bulbosum</i> hekzan ekstresi
CBTK	<i>Chaerophyllum bulbosum</i> kloroform ekstresi
CBTA	<i>Chaerophyllum bulbosum</i> aseton ekstresi
CBTM	<i>Chaerophyllum bulbosum</i> metanol ekstresi
CBTS	<i>Chaerophyllum bulbosum</i> su ekstresi
COSY	Correlation Spectroscopy
CUPRAC	Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi
DTNB	5,5'-dithiobis(2-nitro-benzoik asit)
DCM	Diklormetan
DMSO	Dimetilsülfoksit
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
EI-MS	Elektron impakt kütle spektroskopisi
ESI-MS	Elektrosprey iyonizasyon kütle spektroskopisi
FID	Alev İyonizasyon Dedektörü
FTIR	Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
GC	Gaz Kromatografisi
GC/MS	Gaz Kromatografisi kütle spektroskopisi
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Coherence
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

HR-MS	Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi
HSQC	Heteronuclear single quantum coherence spectroscopy
IC ₅₀	The half maximal inhibitory concentration
İTK	İnce tabaka Kromatografisi
MeOH	Metanol
MIC	Minimal inhibisyon konsantrasyonu
NMR	Nükleer magnetik rezonans
QEs	Kersetin Eşdeğer
UV	Ultraviyole spektroskopisi



1. GİRİŞ

1.1. Amaç ve Kapsam

Çok eski zamanlardan bu yana, ilaç olarak kullanılan doğal maddelerin çoğu bitkisel kökenli kaynaklardan elde edilmektedir. Kimya biliminin 18. yüzyıldan sonra gelişmesi bitkilerle tedavi yöntemleri yerine saf, sentetik veya yarı sentetik ilaç hammaddelerinin kullanımını ön plana çıkarmıştır. Modern ilaçların istenmeyen yan etkilere sahip olması son yıllarda doğal kaynaklardan elde edilen ilaçların tercih edilmesine sebep olmuştur (Baytop, 1984). Günümüzde de yine dünya nüfusunun çoğunluğu için bitkiler, ilaç hammaddesi olarak kullanılmaktadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde nüfusun %80'i sağlık gereksinimlerini ilk etapta geleneksel tıbbi bitkilerden sağlamaktadır. Dünya nüfusunun %80'inin gelişmekte olan ülkelerde yaşadığı düşünülürse toplam dünya nüfusunun %64'ü bitkileri tedavi amaçlı kullanmaktadır (Farnsworth, 1990). Dünya üzerinde 500.000 civarında bitki türünün olduğu tahmin edilmektedir. Bunların oldukça küçük bir yüzdesi (%10 civarında) hem insanlar hem de hayvanlar tarafından yiyecek olarak kullanılmaktadır. Tıbbi amaçlar için ise bundan daha fazlasının kullanılması mümkündür (Moerman, 1996).

Türkiye, bitki çeşitliliği açısından dünyanın en zengin ülkelerinden biridir. Bugüne kadar sınırları içerisinde yaklaşık 11.000 bitki türü tespit edilmiş olup bunların %30'u endemiktir (Davis, 1965-1985; Güner vd., 2000). Endemizm, bir alanın çevresel değerini değerlendiren en önemli göstergelerden biridir. Türkiye'de, diğer Avrupa ülkelerine kıyasla bitki türlerinde endemizm oranı oldukça yüksek (Ugulu vd., 2008) ve bu bitkilerin 1000'den fazlası ilaç hammaddesi ve baharat bitkileridir (Baytop, 1999).

Değişken iklimi ve çok sayıda ekolojik alan nedeniyle Doğu Anadolu'nun zengin bir bitki örtüsü vardır. Bitki örtüsündeki bu çeşitlilik, uzun zamandan beri Anadolu kültürleri tarafından kullanılan tıbbi bitkilerden zengin bir kaynak sağlamakta ve dolayısıyla bölgedeki dikkat çekici tıbbi bilgi birikimi oluşturmaktadır (Özgökçe ve Özçelik, 2004). Kırsal alanda yaşayan Türklerin çoğunluğu geleneksel olarak bitkileri

genellikle beslenme ve tıbbi amaçlı olmak üzere çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır. Son yıllarda, geleneksel tıbbi amaçlı bitki kullanımı, ülkemizdeki araştırmacıların dikkatini çekmiştir (Polat vd., 2013).

Otlu peynir, Türkiye'de çok ünlü bir tüysüz peynirdir ve özellikle Van ili çevresinde doğudaki şehirlerde geleneksel olarak (200 yıldan fazla) üretilmektedir. *Allium*, *Thymus*, *Chaerophyllum*, *Silene* ve *Ferula* türleri dahil olmak üzere, en popüler olan yirmi beş bitki türü ayrı ayrı veya uygun karışımlar olarak kullanılır. Bu bitkiler peynire, karakteristik görünüm ve özel aroma ile antimikrobiyal koruma sağlamak için eklenir (Dağdelen vd., 2014).

İnsanlar, sadece besin kaynağı olarak değil, aynı zamanda yakıt, ilaç, giyim ve kimyasal üretim için de kendi yerli bitkilerinden faydalanmıştır. Geleneksel bitki bilgisi ve özellikleri, nesilden nesile, günlük hayatın doğal seyri boyunca her zaman aktarılmıştır (Kargıoğlu vd.,2008). Türkiye çok zengin bir flora ve folklorik ilaçlarla ilgili büyük bir bilgi birikimine sahiptir ve dolayısıyla bu tür çalışmalar için potansiyel bir kaynaktır (Hudson vd., 2000).

Apiaceae ailesi yaklaşık 434 cins ve 3780 türü ile dünyanın en büyük ailelerinden biridir (Stevens, 2001). Morfolojik ve moleküler veriler temel alınarak, Mackinlayoideae, Azorelloideae, Saniculoideae ve Apioideae isimli dört alt familyaya ayrılır (Plunkett ve Lowry II, 2001). Ayrıca Apiaceae, maydanoz ailesinin dünyadaki başlıca ılıman bölgelerde olmak üzere geniş bir yelpazede habitatlara ayrılan 300-400 cinsten bitki örtüsünü içermektedir. Apiaceae ailesinin sebzeler (havuç, parsnip), çeşniler (anason, rezene, kişniş), süs bitkileri, ilaçlar vb. gibi pek çok sebze temsilcisidir. Bu aile ikincil metabolitler ve uçucu yağlar bakımından zengindir ve yüksek ekonomik ve tıbbi değere sahip çok sayıda cinsi temsil eder. Apiaceae familyasının farklı bitki taksonu, bu ekin bitkilerinin yanı sıra yabani yenilebilir bitkiler olarak da kullanılmaktadır. Türkiye'de bugüne kadar Apiaceae ailesi altında 451 tür de dahil olmak üzere yaklaşık 101 cinse rastlanmıştır (Özhatay vd., 2009). Apiaceae ailesinin bitkileri, dünya çapındaki farklı bölgelerde çeşitli amaçlarla kullanılmıştır. Örneğin, Doğu Anadolu'da, Van otlı peyniri, bu ailenin çeşitli bitki türlerini içeren ünlü bir süt ürünüdür. Van otundan peynir üretiminde kullanılan bitki taksonu, yerel topluluklarda yaşayanların tercihin ve bölgelere göre değişiklik göstermektedir.

Apiaceae ailesinin en geniş türlerinden biri olan *Chaerophyllum*, Asya, Afrika ve Avrupa'nın sıcak ve ılıman bölgelerinde yaygın olarak bulunmaktadır.

Chaerophyllum cinsi yaklaşık 110 türden oluşan ve iki yılda bir, çiçek açan türlerdir. Ülkemizde 16 türle temsil edilmektedir. Bu türlerden 5 tanesi endemiktir. Bu bitki türleri sulak alanlar ve çayırarda yetişir ve periyodik aralıklarla sular altında kalırlar. Boyları, göbekleri ve çiçek sayıları bakımından farklılık göstermektedirler. *Chaerophyllum* türleri Avrupa, İran, Kafkaslar ve Orta Asya'da yaygın olarak bulunurken *C. macropodum* İran ve Türkiye'de bilinen tek yabancı türdür. Çiçeklenme esnasında iyi bir nektar kaynağı olduğu bilinmektedir. Bitki, bu ülkelerin çoğunda geleneksel şifa uygulamalarında da kullanılır. Kurumuş yapraklardan ve köklerden elde edilen çay, öksürük, alerjik rahatsızlıklar ve boğaz ağrısı gibi bitkisel ilaçlar olarak kullanılırken, taze sapsar ve yapraklar bazen salatalara eklenir (Shafaghat, 2010). *Chaerophyllum* cinsindeki çeşitli türlerin ishale ve uyumsuzluğa neden olan toksin chaerophyllin maddesi bulundurduğuna inanılmakla birlikte, bunlar da antimikrobiyal, antioksidan, uyarıcı ve balgam söktürücü olarak kullanılmıştır (Joshi ve Mathela, 2013). *Chaerophyllum* türlerinden bazıları yiyecek ve/veya gıda tatlandırıcı katkıları olarak kullanılır (Baytop, 1994). *Chaerophyllum* türlerinin tohumları, yaprakları ve kökleri havuç-maydanoz aromasına sahiptir ve bazen İran, Türkiye, Kafkasya ve Doğu Avrupa'da lezzet verici ajan olarak kullanılırlar (Razavi ve Ebrahimi, 2010).

Bu tez çalışmasında çiçeklenme döneminde Ardahan'dan temin ettiğimiz *C. bulbosum* türünün *in vitro* antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri incelenmiştir. *C. bulbosum*'un toprak üstü kısmı ile ayrı ayrı *n*-hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su olmak üzere artan polaritelerdeki çözücülerle yapılan ekstraksiyonlarla, 5 farklı ekstre elde edilmiş ve her bir ekstrenin antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri belirlenmiştir. Elde edilen veriler ışığında antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri yüksek çıkan *C. bulbosum* bitkisinin ekstreleri uygun kromatografik yöntemlerle antioksidan ve antikolinesteraz aktivite kontrollü olarak izole edilmiştir. Aktiviteleri yüksek çıkan fraksiyonlardan madde saflaştırılması için Kolon Kromatografisi, İnce Tabaka Kromatografisi, tekniklerinin yanı sıra Geri dönüşümlü preparatif HPLC gibi cihazlar kullanılmış ve saflaştırılan maddelerin yapıları başlıca, IR, NMR [¹H-NMR, ¹³C-NMR, 2D-NMR (COSY HMQC ve HMBC)] gibi spektral analizlerle ve kütle spektrometresi yöntemleriyle (HRMS) belirlenmiştir. Yapısı aydınlatılan saf

bileşiklerin de antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri ayrı ayrı belirlenmesi amaçlanmıştır.

1.2. Genel Bilgiler ve Kaynak Özetleri

1.2.1. Apiaceae Familyası

Apiaceae ailesi yaklaşık 434 cins ve 3780 türü ile dünyanın en büyük ailelerinden biridir (Stevens, 2001). Morfolojik ve moleküler veriler temel alınarak, Mackinlayoideae, Azorelloideae, Saniculoideae ve Apioideae isimli dört alt familyaya ayrılır (Plunkett ve Lowry II, 2001).

Ayrıca Apiaceae, maydanoz ailesinin dünyadaki başlıca ılıman bölgelerde olmak üzere geniş bir yelpazede habitatlara ayrılan 300-400 cinsten bitki örtüsünü içermektedir. Apiaceae ailesinin sebzeler (havuç, parsnip), çeşniler (anason, rezene, kişniş), süs bitkileri, ilaçlar vb. gibi pek çok sebze temsilcisidir.

Bu aile ikincil metabolitler ve uçucu yağlar bakımından zengindir ve yüksek ekonomik ve tıbbi değere sahip çok sayıda cinsi temsil eder. Apiaceae familyasının farklı bitki taksonu, bu ekin bitkilerinin yanı sıra yabani yenilebilir bitkiler olarak da kullanılmaktadır.

Türkiye'de bugüne kadar Apiaceae ailesi altında 451 tür de dahil olmak üzere yaklaşık 101 cinse rastlanmıştır (Özhatay vd., 2009). Apiaceae ailesinin bitkileri, dünya çapındaki farklı bölgelerde çeşitli amaçlarla kullanılmıştır. Örneğin; Doğu Anadolu'da, Van otlu peyniri, bu ailenin çeşitli bitki türlerini içeren ünlü bir süt ürünüdür. Van otundan peynir üretiminde kullanılan bitki taksonu, yerel topluluklarda yaşayanların tercihi ve bölgelere göre değişiklik göstermektedir.

1.2.2. *Chaerophyllum* Cinsi

Apiaceae ailesinin en geniş türlerinden biri olan *Chaerophyllum*, Asya, Afrika ve Avrupa'nın sıcak ve ılıman bölgelerinde yaygın olarak bulunmaktadır.

Chaerophyllum cinsi yaklaşık 110 türden oluşan ve iki yılda bir, çiçek açan türlerdir. Ülkemizde 16 türle temsil edilmektedir. Bu türlerden 5 tanesi endemiktir.

Bu bitki türleri sulak alanlar ve çayırarda yetişir ve periyodik aralıklarla sular altında kalırlar. Boyları, göbekleri ve çiçek sayıları bakımından farklılık göstermektedirler.

1.2.3. *Chaerophyllum bulbosum* L.

80 cm ile 1 m ve daha fazla yüksekliğe sahip, iki yıllık, beyaz çiçekli ve otsu bir bitkidir. Maydanozgiller ailesine ait olan *C.bulbosum* L., yumru köklere sahip yenilebilen bir türdür. *C.bulbosum* 'un kökü genellikle şekil olarak havuç tipine benzer fakat çok açık renklidir. Yaprakları kokulu, eğrelti ve açık yeşil renktedir. Ülkemizde Doğu Anadolu bölgesinde yetişir.

Hasat Zamanı	: Temmuz
Yetiştirme Ortamı	: Sulak alanlar ve çayırar
Yayılışı	: Doğu Anadolu Bölgesi'nde endemiktir.
Yükseklik	: 80 cm ile 1 m ve daha fazla yükseklikte

1.2.3.1. *Chaerophyllum* türlerinin halk arasında kullanımı

Chaerophyllum cinsindeki çeşitli türlerin ishale ve uyumsuzluğa neden olan toksin chaerophyllin maddesi bulundurduğuna inanılmakla birlikte, bunlar da antimikrobiyal, antioksidan, uyarıcı ve balgam söktürücü olarak kullanılmıştır (Joshi ve Mathela, 2013)

Chaerophyllum bulbosum L. türü Doğu Anadolu da doğal olarak yetişmekte olup halk arasında “Kımi” yaygın adıyla bilinmektedir. Yöre insanları tarafından diyabet rahatsızlığının tedavisinde ve kolesterol düşürmek için kullanılmaktadır (Polat vd. 2013).

Chaerophyllum macropodum Boiss türü “Mendi” adıyla bilinmektedir. Kurumuş yapraklardan ve köklerden elde edilen çay, öksürük, alerjik rahatsızlıklar ve boğaz ağrısı gibi bitkisel ilaçlar olarak kullanılırken, taze saplar ve yapraklar bazen salatalara eklenir (Shafaghat, 2010).

Chaerophyllum aromaticum L., Türkiye'de yabani olarak yetişen *Chaerophyllum* (Apiaceae) türünden biridir. Giresun ilinde “Mendek” olarak bilinmektedir.

Yaprakları çorba yapımında aroma verici olarak kullanılmaktadır (Kurkcuoglu vd., 2018).

Chaerophyllum temulum L., Trabzon ilinde tüketilen bir bitki türüdür. Türkçe adı “Mandak” olarak bilinmektedir. Yöre halkı tarafından yaprakları çorba yapımında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun dışında gövdesi küçük parçalar halinde kesilerek turşulara katılmaktadır (Kural, 2012).

Chaerophyllum byzantinum Boiss, Karadeniz Bölgesi’nde çok tüketilen bir bitki çeşididir. Yöre halkı tarafından ilkbaharda toplanan bitki yaprakları çorba yapımında kullanılmaktadır. Halk tarafından sebze ve baharat olarak tüketilen bu yabancı bitkinin yüksek bir oranda antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (Koca vd., 2018).

Chaerophyllum prescottii DC. ekstresinin sedef hastalığı ve egzema için kullanılan yerel cilt bakım ürünlerinin formülasyonuna eklendiği bilinmektedir (Letchamo vd., 2005).

Chaerophyllum türleri, yetiştiği ülkelerin çoğunda geleneksel tedavi uygulamalarında kullanılmaktadır. Kurumuş yapraklardan ve köklerden elde edilen çay, öksürük, alerjik rahatsızlıklar ve boğaz ağrısı gibi bitkisel ilaçlar olarak kullanılırken, taze sapsar ve yapraklar bazen salatalara ve peynirlere katılarak gıda olarak kullanılmaktadır.

Ayrıca *Chaerophyllum* türlerinin uçucu yağının antimikrobiyal, antioksidan ve böcek öldürücü aktiviteleri olduğu bilinmektedir (Bineshian vd., 2016).

1.2.3.2. *Chaerophyllum* türleri ile ilgili literatür araştırmaları

Bugüne kadar Ülkemizde yetişen *Chaerophyllum* türlerinin kimyasal içerikleri ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi üzerine fitokimyasal içerikli kapsamlı olarak yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Ülkemizde sadece *C. macropodum* ve *C. byzantinum* Boiss. türleri üzerinde yapılmış çalışmalar bulunmaktadır (Kürkçüoğlu vd., 2006; Başer vd., 2006; Dağdelen vd., 2014). Bunlarda genellikle uçucu yağın kimyasal içeriğini GC ve GC/MS ile belirleme üzerinedir. Çizelge 1.1.’de literatürde daha önce çalışılmış *Chaerophyllum* türlerinin majör uçucu yağ bileşenleri görülmektedir.

Çizelge 1.1. *Chaerophyllum* türlerinin major uçucu yağ bileşimleri

<i>Chaerophyllum</i> türleri	Toplandığı yer	Yöntem	Major Uçucu yağ Bileşenleri	Referans
<i>C. hirsutum</i>	Almanya	GC/GC-MS	Monoterpenoidler (%94) ve seskiterpenoidler	Kubeczka vd. (1989)
<i>C. bulbosum</i>	Yunanistan	GC-MS	Apiol, trimetil-3,7,11-dodekatrien-1,6,10-ol-3, linalool, miristin, eugenol	Stephanou ve Kokkalou (1990)
<i>C. bulbosum</i>	İran	GLC	α -pinen, β -pinen (%18,32), linalool (7,8), sineol, terpinol (%0,68)	Mamedova ve Akhmedova (1991)
<i>C. macrospermum</i>	Azerbeycan	GLC	Santen, α -pinen, kamfen, sineol, linalool, metilklavikol, kafur, β -pinen, <i>p</i> -simen, fenchone, mentol, linalil asetat, karen, limonen, karvon, geranil asetat, α -terpineol, izoöjenol, öjenol ve farnesol	Mamedova (1994)
<i>C. azoricum</i>	Portekiz	GC/GC-MS	Terpinolen (%44±62), γ -terpinen (%9±31) ve zingiberen	Pedro vd. (1999)
<i>C. aksekiense</i>	Türkiye	GC-MS	Heptakosan (%10,1), humulen epoksit II (%7,8), (<i>E</i>)- β -farnesen (%6,2), karyofilen oksit (%6,0), α -humulen (%5,5), terpinolen (%5,5), nonakozan (%5,3) ve terpinen-4-ol (%4,6)	Başer vd. (2000)
<i>C. macrospermum</i>	İran	GC/GC-MS	(<i>E</i>)- β -okimin (%40,0), trisiklen (%19,4), δ -3-karen (%18,3) ve mikren (%10,1)	Rustaiyan vd. (2002)
<i>C. prescottii</i>	Sibirya	GC/GC-MS	(<i>E</i>)- β -okimin (%35,6), (<i>Z</i>)- β -okimin (%19,4), γ -terpinen (%18,8), mirsen (%10,6) ve terpinolen (%4,6)	Letchamo vd. (2005)
<i>C. macropodum</i> ve <i>C. crinitum</i>	İran	GC/GC-MS	α -pinen (%23,0), β -pinen (%17,3), fenil asetat ve (<i>E</i>)- β -okimen (%50,5)	Nematollahi vd. (2005)

Çizelge 1.1.^{devamı}

<i>Chaerophyllum</i> türleri	Toplandığı yer	Yöntem	Major Uçucu yağ Bileşenleri	Referans
<i>C. macrospermum</i>	İran	GC/GC-MS	(<i>E</i>)- β -okimen (%55,9), terpinolen (%9,8), α -pinen (%7,5), β -fellandren (%4,3) ve β -pinen (%4,2)	Sefidkon ve Abdoli (2005)
<i>C. macropodum</i>	Türkiye	GC/GC-MS	<i>p</i> -simen (%39,3), spathulenol (%7,3), <i>p</i> -simen-8-ol (%5,9), oktanal (%5,2), (<i>E</i>)- β -okimen (%4,5), (<i>E</i>)-2-dekenal (%3,2) ve (<i>Z</i>)- β -farnesen (%3,1)	Başer vd. (2006)
<i>C. byzantinum</i>	Türkiye	GC/GC-MS	Sabinen (%30,0), <i>p</i> -simen-8-ol (%16,0) ve terpinolen (%11,5)	Kürkçüoğlu vd. (2006)
<i>C. libanoticum</i>	Türkiye	GC/GC-MS	β -fellandren (%17,6), limonen (%15,9), β -pinen (%8,8) ve sabinen (%8,5)	Demirci vd. (2007)
<i>C. aeurum</i> , <i>C. hirsutum</i> <i>C. temulum</i>	Balkan Yarımadası	GC/GC-MS	Monoterpen ve seskiterpen hidrokarbonlar, endo-fenchol (%7,1), (-)-sabinen (%3,1) ve <i>o</i> -simen (%4,7)	Kapetanios vd. (2008)
<i>C. aromaticum</i>	Avustralya	SPME/GC-MS	γ -terpinen, β -fellandren, β -pinen, α -pinen, 2,6-dimetil-1,3,5,7-oktatetraen, <i>p</i> -simeen, <i>p</i> -simen ve germacrene D	Chizzola (2009)
<i>C. macropodum</i>	İran	GC/GC-MS	Miristin(%39,2), terpinolen(%23,1), trans- β -okimin(%21,9) ve γ -terpinen(%5,4)	Shafaghat (2009)
<i>C. aureum</i>	Sırbistan	GC/GC-MS	Sabinen (%18,5-31,6), <i>p</i> -simen (%7,9-25,4) ve limonen (%1,9-10,9)	Lakusic vd. (2009)
<i>C. macropodum</i>	İran	GC/GC-MS	(<i>E</i>)- β -okimen (24,9), miristisin (%15,7), terpinolen (%14,5) ve α -fenil asetat (%13,9)	Shafaghat (2010)
<i>C. macropodum</i>	İran	GC ve GC/MS	trans- β -farnesen, trans- β -osimen, β -pinen, limonen, spathulenol ve mirsen yağı (%49,6-73)	Ebrahimabadi vd. (2010)

Çizelge 1.1.^{devamı}

<i>Chaerophyllum</i> türleri	Toplandığı yer	Yöntem	Major Uçucu yağ Bileşenleri	Referans
<i>C. macropodum</i>	İran	GC-FID ve GC-MS	trans-osimen (%49,2), cis-osimen (%23,6), γ -terpinen (%7,7), β -mirsene (%4,4), o-simen (%2,8), p-simen (%2,7), ve fenil asetat (%2,7)	Haghi vd. (2010)
<i>C. macrospermum</i>	İran	GC ve GC-MS	<i>E</i> - β -farnesen (%27,1), <i>Z</i> - β -okimen (%18,8), <i>p</i> -simen (%14,3), α -fenil asetat (%12,7) ve spathulenol (%8,8)	Razavi ve Ebrahimi (2010)
<i>C. crinitum</i>	İran	GC-FID ve GC-MS	linoleik asit (%23,2), eikosan (%18,1)	Shafaghat (2011)
<i>C. macropodum</i>	İran	GC ve GC-MS	trans- β -okimen (%34,5), trans- β -farnesen (%11,8), cis- β -okimen (%10,4), <i>p</i> -simen (%7,3) ve spathulenol (%6,5)	Ghannadi vd. (2011)
<i>C. bulbosum</i>	İran	GC ve GC-MS	(<i>E</i>)- β -Farnesen (% 22,3), (<i>Z</i>)- β -Osimen (%18,8) ve Miristin (%17,1)	Masaudi vd. (2011)
<i>C. sativum</i>	İran	GC ve GC-MS	Linalool (%49,8), limonen (%7,8), bisiklogermakren (%4,9) ve α -santalol (%4, 6)	Pourshamsian vd. (2012)
<i>C. aromaticum</i>	Yunanistan	GC ve GC-MS	cis-Osime (%23,98) ve α -terpinolen (%12,18)	Evergetis vd. (2013)
<i>C. villosum</i>	Hindistan	GC ve GC-MS	γ -terpinen (%74,93)	Joshi ve Mathela (2013)
<i>C. macropodum</i>	İran	GC ve GC-MS	Linoleik asit, 6-oktadekanoik asit, 9,12-oktadekadienoik asit ve <i>E</i> - β -farnesen	Shafaghat (2013)
<i>C. macropodum</i>	Türkiye	SPME-GC-MS	β -cis-okimen, annulen ve β -felandren	Dağdelen vd. (2014)

Çizelge 1.1.^{devamı}

<i>Chaerophyllum</i> türleri	Toplandığı yer	Yöntem	Major Uçucu yağ Bileşenleri	Referans
<i>C. temulum</i>	Sırbistan	GC-FID ve GC-MS	(Z)-falkarinol (%61,7-%62,3), (Z,E)- α -farnesen (%23,4), (E)- β -farnesen (%9,0), germakren D-4-ol (%9), germakren D-4-ol (%27,6), (Z,E)- α -farnesen (%13,4), germakren D (%38,4-%32,5)	Stamenkovic vd. (2015)
<i>C. crinitum</i>	Türkiye	GC ve GC-MS	α -terpinolen (%20,3), β -kubeben (%9,3), α -terpineol (%7,2) ve limonen (%5,8)	Hayta ve Çelikezen (2016)
<i>C. aureum</i>	Sırbistan	GC ve GC-MS	Sabinen ve terpinolen	Stamenkovic vd. (2016)
<i>C. aromaticum</i>	Sırbistan	GC-FID ve GC-MS	Seskiterpenoidler	Petrovic (2017)
<i>C. crinitum</i>	Türkiye-Erzurum	GC ve GC-MS	cis-Osimen (%23,98) ve α -terpinolen (%12,18)	Tel-Çayan vd. (2017)
<i>C. macropodum</i>	İran	GC ve GC-MS	trans- β -okimin (%22,8-21,2), cis- β -okimin (%10-8,5) ve spathulenol (%4,4-6)	Shafaghat (2017)
<i>C. aromaticum</i>	Türkiye	GC ve GC-MS	Sabinen (%28,1), terpinolen (%16,7) ve γ -terpinen	Kürkçüoğlu vd. (2018)

Chaerophyllum hirsutum Orta ve Güney Avrupa'nın genellikle dağlık bölgelerindeki ıslak çayır, bataklık ve dere boylarında yetişen çok yıllık bir bitki türüdür. *Chaerophyllum hirsutum*'un uçucu bileşenlerinin kemotaksonomik değere sahip olması araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Kubeczka ve arkadaşları (1989) tarafından yapılan bir çalışmada Almanya'dan toplanan *Chaerophyllum hirsutum*'un kök, yaprak, sap ve meyve kısımlarının uçucu yağları çalışılmıştır. Analiz sonuçlarına göre monoterpenoidler ve seskiterpenoidler içeren birleşikler baskın olarak bulunmuştur. Meyve, yaprak, sap ve kök kısımlarından elde edilen uçucu yağın yaygın olarak monoterpen hidrokarbonlar açısından sırasıyla %66, %38, %88 ve %94 oranlarında baskın olduğu tespit edilmiştir. Uçucu yağlarda benzer bileşenlerin yanı sıra farklılık oluşturan bileşenlerde bulunmuştur. Meyvenin uçucu yağında majör olarak β -pinen (%25) bulunurken bunun yanı sıra γ -terpinen (%20), mirsen (%6,8-8,7), α -pinen (%7) ve sabinen (%3,3-5,1) meyvenin uçucu yağındaki diğer monoterpenlerdir. Yaprak ve sap kısımlarındaki uçucu yağında ise sabinen yapraklarda; %25,9, kök kısmında ise; %58,5 oranında baskın olarak tespit edilmiştir. Kök kısmındaki uçucu yağında da β -pinen (%25,2), α -fellandren (%17,6) ve α -pinen (13,2) majör bileşenler olarak bulunmuştur. Ayrıca toprak üstü kısımlarındaki uçucu yağında bazı oksijenli terpenoidler ortaya çıkmıştır. Çalışılan bitki türünün tüm kısımlarından elde edilen uçucu yağında bunların yanı sıra karyofilen, humulen, germakeren-D ve bisiklogermakren gibi daha az miktarlarda seskiterpen hidrokarbonlar ortaya çıkmıştır. Stephanou ve Kokkalou (1990) tarafından Yunanistan'dan toplanan *C. bulbosum*'un uçucu yağının majör bileşenleri Apiol; trimetil-3,7,11-dodekatrien-1,6,10-ol-3; linalool; miristin; eugenol olarak tespit edilmiştir.

Mamedova ve Akhmedova (1991) tarafından İran'dan toplanan *C. bulbosum*'un kök kısmının uçucu yağı incelenmiştir. Kökteki uçucu yağ, hafif yakıcı tadı ve taze bitkinin hoş kokusu ile berrak sarı, hafif viskoz bir sıvı oluşturur. Uçucu yağın bileşimi GLC yöntemi ile belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda uçucu yağın majör bileşenleri α -pinen, β -pinen (%18,32), linalool (%7,8), sineol ve terpinol (%0,68) olarak bulunmuştur.

Azerbeycan'dan toplanan çok yıllık bir bitki türü olan *Chaerophyllum macrospermum*'un uçucu yağı Mamedova tarafından (1994) çalışılmıştır. Su buharı damıtma yöntemi ile elde edilen uçucu yağ; güzel bir kokuya sahip ve hafif yanma tadı olan berrak, kaygan, viskoz sarı bir sıvıdan oluşmaktadır. Elde edilen uçucu yağındaki

verim; çiçek salkımlarında %1,4-1,8, sap kısmında %0,10 ve yaprak kısımlarında ise %0,35 olarak bulunmuştur. GLC yöntemi ile çalışılan uçucu yağında toplamda 33 bileşen elde edilirken santen, α -pinen, kamfen, sineol, linalool, metilklavikol, kafur, β -pinen, *p*-simen, fenchone, mentol, linalil asetat, karen, limonen, karvon, geranil asetat, α -terpineol, izoöjenol, öjenol ve farnesol majör bileşenler olarak rapor edilmiştir.

Pedro ve arkadaşları (1999) tarafından yapılan bir çalışmada *C. azoricum*'un sap ve yaprak kısımları nisan ayında bitkinin vejetatif döneminde, temmuz ayında çiçeklenme döneminde ve meyve kısımlarında eylül ayında meyve verme döneminde toplanarak uçucu yağı GC ve GC-MS yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonucunda *C. azoricum*'un sap, yaprak ve meyve kısımlarından elde edilen uçucu yağların monoterpen fraksiyonlarının baskın olduğu görülmüştür. Terpinolen (%44±62) ve γ -terpinen (%9±31) majör bileşenler olarak tespit edilmiştir. Seskiterpen fraksiyonu olarak zingiberen %3 ile %8 arasında bir konsantrasyonda majör bileşen olarak meydana gelmiştir. Ayrıca sap, yaprak ve meyve kısımlarından elde edilen uçucu yağında monoterpenler ve seskiterpenlere ek olarak uçucu yağlar önemli miktarda da miristin içermektedir.

Antalya, Pınarbaşı köyünden toplanan *Chaerophyllum aksekiense*'nin meyve kısmından çıkarılan uçucu yağ Başer ve arkadaşları (2000) tarafından çalışılmıştır. Bitkinin meyve kısmından %1,1 oranında uçucu yağ verimi elde edebilmek için clavenger tipi bir aparat kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda uçucu yağın %82'sini temsil eden altmış yedi bileşen karakterize edilmiş ve heptakosan (%10,1), humulen epoksit II (%7,8), (E)- β -farnesen (%6,2), karyofilen oksit (%6,0), α -humulen (%5,5), terpinolen (%5,5), nonakozan (%5,3) ve terpinen-4-ol (%4,6) majör bileşenler olarak belirlenmiştir.

İran'dan toplanan *Chaerophyllum macrospermum*'un toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağ GC ve GC/MS yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonucunda uçucu yağın %99,6'sını oluşturan on altı tane bileşen tanımlanmıştır. Sonuçlara göre uçucu yağ yüksek miktarda monoterpen hidrokarbon (97,1) az bir miktarda seskiterpen (2,2) içermektedir ve (E)- β -okimin (%40,0), trisiklen (%19,4), δ -3-kearen (%18,3) ve mikren (%10,1) majör bileşenler olarak tespit edilmiştir (Rustaiyan, 2002).

Genellikle Avrupa, Kafkasya ve Orta Asya'da yaygın olarak dağılım gösteren *Chaerophyllum* cinsinden yaklaşık 110 tür bulunmaktadır. Bu türlerin içinde *Chaerophyllum prescottii* Sibirya'da bilinen tek yabancı türdür. Çok yıllık, polikarpik, otsu bir bitki türüdür. Çiçeklenme döneminde iyi bir bal kaynağı olduğu bilinmekle beraber geleneksel tıp tedavilerinde de kullanılmaktadır. Letchomo ve arkadaşları (2005) tarafından Sibirya'nın Altay bölgesinden toplanan *Chaerophyllum prescottii*'nin taze çiçekli üst kısımlarının uçucu yağı incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda *Chaerophyllum prescottii*'nin uçucu yağının %89,0'ını temsil eden toplam 18 madde bulunmuştur ve (*E*)- β -okimin (%35,6), (*Z*)- β -okimin (%19,4), γ -terpinen (%18,8), mirsen (%10,6) ve terpinolen (%4,6) majör bileşenler olarak belirlenmiştir. Uçucu yağın %11,0'ında diğer küçük bileşenler temsil etmektedir.

Chaerophyllum macropodum ve *Chaerophyllum critinum*'un toprak üstü kısımlarının uçucu yağı Nemaltollahi ve arkadaşları (2005) tarafından çalışılmıştır. Bitki örnekleri İran'ın Tahran bölgesinden çiçeklenme döneminde toplanmıştır. Her iki bitki örneğinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağlar GC ve GC/MS yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz çalışmasının sonucunda; *Chaerophyllum macropodum* uçucu yağının yaklaşık %98,5'i ve *Chaerophyllum crinitum* uçucu yağında %84,3'ü tanımlanmıştır. Majör bileşenler, *Chaerophyllum macropodum* için, α -pinen (%23,0), β -pinen (%17,3) ve fenil asetat, *Chaerophyllum critinum* için ise (*E*)- β -okimen (%50,5) olarak tespit edilmiştir.

Sefidkon ve Abdoli (2005) tarafından İran'dan çiçeklenme döneminde toplanan *Chaerophyllum macrospermum*'un uçucu yağı GC ve GC/MS yöntemleri kullanılarak çalışılmıştır. Çalışmanın sonucunda *Chaerophyllum macrospermum*'un uçucu yağında tanımlanan toplam 27 bileşenden (*E*)- β -okimen (%55,9), terpinolen (%9,8), α -pinen (%7,5), β -felandren (%4,3) ve β -pinen (%4,2) majör bileşenler olarak tanımlanmıştır.

Türkiye, Bitlis'den 1200 metre yükseklikte toplanan *Chaerophyllum macropodum* Boiss'in mikrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağı GC ve GC-MS yöntemleri kullanılarak çalışılmıştır. *Chaerophyllum macropodum* Boiss'in uçucu yağından toplam 41 bileşen tanımlanmıştır. Tanımlanan bileşenler arasında *p*-simen (%39,3), spathulenol (%7,3), *p*-simen-8-ol (%5,9), oktanal (%5,2), (*E*)- β -okimen (%4,5), (*E*)-2-dekenal (%3,2) ve (*Z*)- β -farnesen (%3,1) majör bileşenler olarak tanımlanmıştır. Uçucu yağ monoterpen ve seskiterpenler açısından oldukça zengin bir yapıya sahiptir.

Chaerophyllum macropodium uçucu yağında bulunan oksijenli monoterpenlerin miktarı, monoterpen hidrokarbonlara göre oldukça az olmasına rağmen seskiterpenleri ise oksijenlenmiş hidrokarbonlar oluşturmaktadır ve sekiterpenler için spatulenol majör bileşendir. Mono ve sekiterpenlere ek olarak uçucu yağında terpenoid olmayan bileşiklerde bulunmaktadır ve bu bileşiklerden oktanal (%5,2) ve (*E*)-2-dekenal (%3,2) majör bileşen olarak tespit edilmiştir (Başer vd., 2006).

Bursa, Uludağ, Alaçam köyünden toplanan *Chaerophyllum byzantinum* Boiss'in toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağı Kürkçüoğlu ve arkadaşları (2006) tarafından çalışılmıştır. Çalışılan uçucu yağın %94,6'sını temsil eden toplam altmış bileşik tanımlanmıştır. Tanımlanan bileşiklerden sabinen (%30,0), *p*-simen-8-ol (%16,0) ve terpinolen (%11,5) majör bileşenler olarak rapor edilmiştir.

Türkiye'de gıda malzemesi olarak tüketilen *Chaerophyllum libanoticum* Boiss'in meyve kısmından hidrodistilleme yöntemi ile elde edilen uçucu yağı Demirci ve arkadaşları (2007) tarafından incelenmiştir. Türkiye, Osmaniye'den toplanan *Chaerophyllum libanoticum*'un ezilmiş meyve kısmından toplam %1,5 oranında uçucu yağ elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağın %98,3'ünü temsil eden toplam yetmiş üç bileşik tanımlanmıştır. Tanımlanan bileşiklere göre; *Chaerophyllum libanoticum*'un uçucu yağı %71,8 oranında yüksek bir miktarda monoterpen hidrokarbon, %21,8 oranında seskiterpen ve düşük miktarlarda da oksijenli seskiterpenler (%3) ve oksijenli monoterpenler (%1) içermektedir. *Chaerophyllum libanoticum*'un uçucu yağında majör bileşenler olarak da β -fellandren (%17,6), limonen (%15,9), β -pinen (%8,8) ve sabinen (%8,5) tespit edilmiştir.

Kapetonos ve arkadaşları (2008) tarafından yapılan bir çalışmada *Chaerophyllum aeurum* L., *Chaerophyllum hirsutum* ve *Chaerophyllum temulum* dahil olmak üzere Apioideae alt familyasına ait yirmi üç taksonun uçucu yağ bileşenleri incelenmiştir. İnceleme sonuçlarına göre genel olarak bitki örneklerinin yapısında majör olarak monoterpen hidrokarbonlar ve seskiterpen hidrokarbonların varlığı görülmüştür. Sonuçlar değerlendirildiğinde; bitki örnekleri arasından, *Chaerophyllum aureum* uçucu yağında endo-fenkol (%7,1), *Chaerophyllum hirsutum*'un uçucu yağında ise (-)-sabinen (%3,1) ve *o*-simen (%4,7) tespit edilmiştir.

Chizzola (2009) tarafından yapılan bir çalışmada iki yıl üst üste aynı bölgeden toplanan *Chaerophyllum aromaticum*'un yaprak ve meyvelerinden elde edilen uçucu

yağlarının kimyasal bileşenleri incelenmiştir. Bitki örneği Avustralya'dan Ağustos ayında toplanmıştır. Toplanan bitki örneğinden elde edilen uçucu yağ oranları meyve için %1,5 ila %2,0, yapraklar için ise %0,4 ila %0,7 arasındadır. *Chaerophyllum aromaticum*'un meyve ve yapraklarından elde edilen uçucu yağında ortak bileşen olarak γ -terpinen (%21-51) bulunmasının yanı sıra uçucu yağların farklı bileşenlerde içerdiği gözlemlenmiştir. Meyvenin uçucu yağında γ -terpinen, β -phellandren, β -pinen, α -pinen ve 2,6-dimetil-1,3,5,7-oktatetraen majör bileşenler olarak tespit edilirken yaprağın uçucu yağında ise, γ -terpinen, *p*-simenen, *p*-simen ve germakren D majör bileşenlerdir.

İran'dan toplanan *Chaerophyllum macropodum*'un kök kısmından Clevenger tipi bir aparat kullanılarak hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağı Shafaghat (2009) tarafından yapılan bir çalışmada incelenmiştir. İnceleme sonucunda *Chaerophyllum macropodum*'un kök kısmının uçucu yağından %96,3 ünü temsil eden on bileşik tespit edilmiştir. Tespit edilen bileşenler arasından miristin, terpinolen, trans- β -okimin ve γ -terpinen majör bileşendir.

Lakusic ve arkadaşları (2009) tarafından yapılan bir çalışmada sırasıyla Haziran ve Ağustos aylarında Sırbistan'da iki farklı dağdan toplanan *Chaerophyllum aureum*'un meyve ve toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağları çalışmıştır. Çalışma için üç ayrı örnek toplanmıştır. Birinci örnek 800 metre yükseklikte Suva Dağı'ndan *Chaerophyllum aureum*'un toprak üstü kısımları, ikinci örnek olarak 1450 metre yükseklikte Kopaonik Dağı'ndan tekrar *Chaerophyllum aureum*'un toprak üstü kısımları ve üçüncü örnek olarak da meyveleri toplanmıştır. Toplanan üç örnek GC ve GC/MS yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonucunda toplam uçucu yağın birinci örnek %97,7'sini, ikinci örnek %97'sini ve üçüncü örneğin ise %98,5'ini temsil ettiği elli üç bileşik tespit edilmiştir. Üç örnekten de elde edilen uçucu yağların kalitatif özellikleri oldukça benzerken kantitatif özelliklerinde bazı farklılıklar görülmüştür. Elde edilen uçucu yağlarda monoterpen hidrokarbonların baskın olduğu tespit edilirken, sabinen (%18,5-31,6), *p*-simen (%7,9-25,4) ve limonen (%1,9-10,9) majör bileşenler olarak tanımlanmıştır.

1900 metre yükseklikten toplanan *Chaerophyllum macropodum*'un yaprak kısımlarından elde edilen uçucu yağı Shafaghat (2010) tarafından GC ve GC/MS yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre uçucu yağın %99,3'ünü temsil eden 18 bileşen tanımlanmıştır. Uçucu yağın temel olarak beş

seskiterpen, on bir monoterpen ve bir terpenoik olmayan bileşikten meydana geldiği görülmüştür. Tanımlanan bileşikler arasından (*E*)- β -okimen, miristisin, terpinolen ve α -fenil asetat majör bileşen olarak tespit edilmiştir.

Ebrahimabadi ve arkadaşları (2010) tarafından *C. macropodum* Boiss'in yaprak ve çiçeklerinin uçucu yağları, GC ve GC/MS yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonucunda trans- β -farnesen, trans- β -osimen, β -pinen, limonen, spathulenol ve mirsen yağın %49,6-73,1'lik kısmı ile majör bileşikler olarak tespit edilmiştir.

C. macropodum Boiss bitkisinin uçucu yağının analizi Haghi ve arkadaşlarının (2010) yapmış oldukları bir çalışmada değerlendirilmiştir. Uçucu yağda trans-osimen (%49,2), cis-osimen (%23,6), γ -terpinen (%7,7), β -mirsen (%4,4), o-simen (%2,8), p-simen (%2,7), ve fenil asetat (%2,7) majör bileşikler olarak belirlenmiştir.

İran'dan toplanan *Chaerophyllum macrospermum*'un tohum kısmından elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşenleri Ravazi ve Ebrahimi (2010) tarafından GC ve GC/MS yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. Uçucu yağın %94,6 temsil eden on beş tane bileşik tanımlanmıştır. Tanımlanan bileşikler arasından; *E*- β -farnesen, *Z*- β -okimen, *p*-simen, α -fenil asetat ve spathulenol majör bileşenler olarak tespit edilmiştir.

Kuzeybatı İran'dan toplanan *C. crinitum* bitkisinin kök ve tohum kısımları soxhlet cihazı kullanılarak hekzan ile ekstraksiyon işlemi yapılmış ve ekstrenin yağ asit bileşimi incelenmiştir. Kök ve tohum kısımlarından elde edilen hekzan ekstraktlarının yüksek miktarda yağ asitleri ve sekiterponoid birleşikleri içerdiği bildirilmiştir. Hekzan ekstrelerinden elde edilen verim yüzdesinin köke (%1,9) oranla tohum (%3,6) kısmında daha fazla olduğu görülmüştür. Sonuç olarak *C. crinitum* Boiss'in kök ve tohum kısımlarının hekzan ile ekstraksiyonu ile elde edilen, tohumda linoleik asit (%23,2), kökünde ise eikosan (%18,1) majör yağ asidi olarak bulunmuştur (Shafaghat, 2010).

İran'dan Haziran ayında dağlık bölgeden toplanan *Chaerophyllum macropodum*'un toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon yöntemi kullanılarak elde edilen uçucu yağı incelenmiştir. Yabani olarak yetişen *Chaerophyllum macropodum*'un toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağ; keskin bir kokuya sahiptir ve %0,2 verim ile elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağın %98,7'sini oluşturan yirmi dokuz bileşik tanımlanmıştır ve uçucu yağın monoterpen bileşikler (%70) açısından oldukça zengin olduğu görülmüştür. *Chaerophyllum macropodum*'un uçucu yağında; trans- β -

osimen, trans- β -farnesen, cis- β -osimen, *p*-simen ve spatulenol majör bileşenlerdir. Sonuçlara göre; *Chaerophyllum macropodium*'un uçucu yağının, iyi ve değerli bir trans- β -okimen kaynağı olduğu ve bu doğal bileşiklerin parfüm endüstrisinde kullanılabileceği tespit edilmiştir (Ghannadi vd., 2011).

Masaudi ve arkadaşlarının (2011) yapmış oldukları çalışmada İran'dan toplanan *C. bulbosum*'un hidrodestilasyon ile uçucu yağı çıkarılmış ve GC, GC/MS kullanılarak analiz edilmiş. Çalışmanın sonucunda (E)- β -farnesen (%22,3), (Z)- β -osimen (%18,8) ve miristin (%17,1) maddelerini ana bileşenler olarak içerdiği belirtilmiştir.

İran'ın Ramsar şehrinden toplanan *Chaerophyllum sativum*'un toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağı Pourshamsian ve arkadaşları (2012) tarafından yapılan bir çalışmada GC ve GC/MS yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre yağın %95,9'unu oluşturan 42 bileşik tanımlanmıştır. Tanımlanan bileşikler arasından linalool (%49,8), limonen (%7,8), bisiklogermakren (%4,9) ve α -santalol (%4,6) majör bileşenler olarak rapor edilmiştir.

C. aromaticum ve bazı Apiacea familyasına ait bitkilerin uçucu yağı ve uçucu yağların insektisidal aktiviteleri Evergetis ve arkadaşları (2013) tarafından çalışılmıştır. Bitki örneği Yunanistan'da doğal olarak yetişmektedir ve dağlık bölgeden haziran ayında toplanmıştır. Uçucu yağın cis-osimen (%23,98) ve α -terpinolen (%12,18) majör bileşikleri içerdiği rapor edilmiştir. Daha önce bu tür için uçucu yağ bileşimi çalışılmıştır ancak bu çalışmada dikkat çeken ayrıntı ilk kez β -seskifellandren bileşiğinin *Chaerophyllum* uçucu yağının ana bileşeni olarak tanımlanmasıdır.

Joshi ve Mathela (2013) tarafından yapılan bir çalışmada Hindistan'dan toplanan *Chaerophyllum villosum*'un yaprak kısımlarından elde edilen uçucu yağının kimyasal bileşimi GC ve GC/MS yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir. *Chaerophyllum villosum*'un yaprak kısmından uçucu yağ %0,40 verimle elde edilmiştir ve yağın %98,5'ini temsil eden 31 bileşik tanımlanmıştır. Analiz sonuçlarına göre; *Chaerophyllum villosum*'un uçucu yağında monoterpen hidrokarbonların (%91,34) baskın olduğu görülmüştür ve γ -terpinen tek majör bileşen olarak tespit edilmiştir.

Kuzeybatı İran'dan temmuz ayında iki farklı habitattan toplanan *C. macropodium* bitkisinin soxhlet aparatı ile elde edilen hekzan ekstratlarının kimyasal içeriği çalışılmıştır. Her iki bitki örneği için hekzan ekstratları GC/FID ve GC/MS yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonucunda her iki örneğin bileşiminde yağ

asitleri ve terponoidlerin varlığı tespit edilmiştir. Toplamda Givi örneğinden 17 bileşen, Neor örneğinden ise 16 bileşen tanımlanmıştır. Majör olarak Linoleik asit, 6-oktadekanoik asit, 9,12-oktadekadienoik asit ve E- β -farnesen bileşikleri yüksek miktarda tespit edilmiştir (Shafaghat, 2013).

Türkiye’de Van bölgesinde gıda olarak tüketilen otlu peynirin üretiminde kullanılan bitkilerin aromatik özellikleri Dağdelen ve arkadaşları (2013) tarafından yapılan bir çalışmada incelenmiştir. Bitki örnekleri köylü halk tarafından dağlık bölgelerden toplanarak yerel pazarda satılmaktadır. Yapılan çalışmada *Chaerophyllum macropodum*’da dahil olmak üzere çalışılan bitki örnekleri yerel pazardan temin edilmiştir. Bitki örneklerinden elde edilen uçucu yağlar SPME-GC-MS yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre; halk arasında ‘Mendi’ olarak bilinen *Chaerophyllum macropodum*’un uçucu yağında terpen bileşiklerinin oldukça fazla olduğu görülmüştür ve β -cis-osimen, annulen ve β -felandren majör bileşenler olarak tespit edilmiştir.

Stamenkovic ve arkadaşları (2015) tarafından yapılan bir araştırmada *Chaerophyllum temulum* bitkisinin kök, gövde, çiçek ve meyve kısımlarından elde edilen uçucu yağ bileşenleri incelenmiştir. Çalışmada kullanılan bitki örneği Sırbistan’ın Nis bölgesinden Mayıs ayı çiçeklenme ve Haziran ayı meyve verme dönemlerinde olmak üzere iki farklı aşamada toplanmıştır. Sonuçlara göre kök kısmından elde edilen uçucu yağın bileşenleri hariç diğer uçucu yağlarda en fazla seskiterpen hidrokarbonların varlığı görülmüştür. Tüm uçucu yağlarda bulunan majör bileşenler kök kısmı için; (Z)-falkarinol çiçeklenme döneminde %61,7, meyve verme döneminde ise %62,3, çiçek kısmından elde edilen uçucu yağında (Z,E)- α -farnesen (%23,4), (E)- β -farnesen (%9,0) ve germakren D-4-ol (%9), meyve kısmından elde edilen uçucu yağında germakren D-4-ol (%27,6) ve (Z,E)- α -farnesen (%13,4) ve gövde kısmından elde edilen uçucu yağında ise germakren D çiçeklenme döneminde %38,4, meyve verme döneminde %32,5 olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, aynı tür bitkinin farklı kısımlarından elde edilen uçucu yağında farklılıklar olduğu görülmektedir ve kök kısmından elde edilen uçucu yağ burada en belirgin ve farklı kısımdır.

Hayta ve Çelikezen (2016) tarafından yapılan bir çalışmada Türkiye’de Bitlis bölgesinden toplanan *Chaerophyllum crinitum* Boiss’in toprak üstü kısımların elde edilen uçucu yağı GC ve GC/MS yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz

sonucunda α -terpinolen, β -kubeben, α -terpineol ve limonen majör bileşenler olarak tespit edilmiştir.

Stamenkovic ve arkadaşları (2016) tarafından *C. aureum* L. bitkisinin toprak üstü kısımları, kök ve yaprak kısımlarının uçucu bileşenlerinin içeriği belirlenmiştir. Sabinen ve terpinolen majör bileşikler olarak bulunmuştur.

İranın iki farklı rakımlı bölgesinden toplanan *C. macropodum*'un hidrodestilasyon ile elde edilen uçucu yağı ve soxhlet aparatı ile elde edilen hekzan ekstresinin kimyasal içeriği GC ve GC/MS yöntemleri kullanılarak çalışılmış ve sonuçlar karşılaştırılmıştır. Her iki bölgeden toplanan bitki örnekleri için kimyasal bileşenler tanımlanmıştır. 1450 metre yükseklikten toplanan Givi örneğinin uçucu yağının bileşiminde *p*-simen (%10,3), γ -terpinen (%9,2), trans-*p*-farnesen (%8,2) ve fenil asetat bileşikler tespit edilirken, 2450 metre yükseklikten toplanan Neor örneğinin uçucu yağında karyofilen oksit (%9,0), α -pinen (%7,1), β -karyofilen (%6,6), miristisin (%5,1) ve sabinen (%5,0) bileşiklerinin baskın olduğu tespit edilmiştir. Toplam uçucu yağ %99,3 Givi örneğinden, %98,2 ise Neor örneğinden tanımlanmıştır. Sunulan sonuçlara göre *C. macropodum*'un uçuğu yağında trans- β -osimin (%22,8-21,2), cis- β -osimin (%10-8,5) ve spathulenol (%4,4-6) majör olarak bulunduğu rapor edilmiştir (Shafaghat, 2017).

C. aromaticum L., toprak üstü ve toprak altı kısımlarının uçucu yağının kimyasal içeriğinin belirlemesi üzerine Petrovic ve arkadaşları (2017) tarafından yapılan bir çalışma da uçucu yağın çoğunlukla seskiterpen içerdiği bulunmuştur. Çalışılan bitki örneği Sırbistan'dan toplanmıştır. Yapılan çalışmada kök kısmındaki (%0,04) uçucu yağ konsantrasyonu toprak üstü kısmı (%0,01) ile karşılaştırıldığında uçucu yağ oranının kök kısmında daha yüksek olduğu kanıtlanmıştır. Çalışmanın sonucunda uçucu yağın başlıca kök kısmının %73,4'ünü ve toprak üstü kısmının %63,4'ünü temsil eden seskiterpenoidlerden meydana geldiği bildirmiştir.

Türkiye, İstanbul, Riva, Çayagiz deresinden toplanan *Chaerophyllum aromaticum* 'un toprak üstü kısmından elde edilen uçucu yağı Kürkçüoğlu ve arkadaşları (2018) tarafından GC ve GC/MS yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir. *Chaerophyllum aromaticum*'un toprak üstü kısmından açık sarı bir renge sahip, %1,1 oranında uçucu yağ verimi elde edilmiştir. Uçucu yağın %99,2'sini oluşturan on sekiz bileşik tanımlanmıştır. Tanımlanan bileşikler arasından sabinen (%28,1), terpinolen (%16,7) ve γ -terpinen majör bileşenler olarak tespit edilmiştir.

Türkiye de birçok bitki türü doğal yaşam alanlarından yerli halk tarafından toplanır ve geleneksel olarak gıda, çay, bitkisel ilaç ve hayvan yemi gibi çeşitli amaçlar için kullanılır (Ozhatay ve ark.1997). Genetik bitki kaynakları arasında, yabani yenilebilir bitkiler, eski zamanlardan beri insanlar tarafından yaygın şekilde gıda kaynakları olarak kullanılmaktadır. Ayrıca insanlar tarafından sebze olarak tüketilen bu yabani bitkilerin antioksidan, antikolinesteraz, anti-inflamatuar, antifungal, antimikrobiyal, antibakteriyel ve sitotoksik aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Bu zamana kadar yapılan çalışmalarda, *Chaerophyllum* türlerinin Çizelge 1.2.'de biyoaktif özellikleri verilmektedir.



Çizelge 1.2. *Chaerophyllum* türlerinin biyolojik aktiviteleri

Bitki türleri	Toplandığı yeri	Örnek	Biyolojik Aktivite	Referans
<i>C. hirsutum</i>	İtalya	Metanol	DPPH antioksidan aktivitesi Toprak üstü ekstraktı; EC ₅₀ : 114,7±8,0 µg/mL Kök ekstraktı; EC ₅₀ : 220,2±4,6 µg/mL	Dall'Acqua vd. (2004)
<i>C. hirsutum</i>	İtalya	Kloroform	Antiproliferatif aktivitesi IC ₅₀ : 57 µg/mL	Dall'Acqua vd. (2004)
<i>C. byzantinum</i>	Türkiye	Uçucu Yağ	Antikandidal aktivitesi	Kürkçüoğlu vd. (2006)
<i>C. macropodum</i>	Türkiye	<i>n</i> -Hekzan	Antibakteriyel aktivitesi MI: 15 mm	Durmaz vd. (2006)
		Etanol	Antibakteriyel aktivitesi MI: 17 mm	
		Metanol	Antibakteriyel aktivitesi MI: 18 mm	
<i>C. libanoticum</i>	Türkiye	Uçucu yağ	DPPH antioksidan aktivitesi IC ₅₀ : >30 mg/mL β-karoten linoleik asit antioksidan aktivitesi %16,73 Antimikrobiyal aktivitesi 0,25-0,5 mg/mL	Demirci vd. (2007)
<i>C. macropodum</i>	Türkiye	Metanol	DPPH antioksidan aktivitesi IC ₅₀ : 0,623 mg/mL LP-Lipit peroksit inhibisyon aktivitesi IC ₅₀ : 0,852 mg/mL GST inhibisyon aktivitesi IC ₅₀ : 350,70 µg/mL	Çoruh (2007)
<i>C. macropodum</i>	Türkiye	Metanol	CUPRAC antioksidan aktivitesi 0,51±0,073 mmol TR/g ABTS antioksidan aktivitesi 0,13±0,055 mmol TR/g	Çelik (2008)

Çizelge 1.2.^{devamı}

Bitki türleri	Toplandığı yeri	Örnek	Biyolojik Aktivite	Referans
<i>C. macropodum</i>	Türkiye	Metanol	FRAP 0,29±0,036 mmol TR/g FOLIN 0,83±0,045 mmol TR/g	Çelik (2008)
<i>C. aureum</i>	Sırbistan	Uçucu yağ	Antimikrobiyal aktivitesi ATCC10240: toprak üstü kısmı, 22,3 mm ATCC10240: meyve kısmı, 16,5 mm	Lakusic vd. (2009)
<i>C. khorassanicum</i>	İran	Metanol	Kolinesteraz aktivitesi İnhibisyon: %0	Gholamhoseinion (2009)
<i>C. macropodum</i>	İran	Metanol	DPPH antioksidan aktivitesi Yaprak kısmı; IC ₅₀ : 196,8 µg/mL Çiçek kısmı; IC ₅₀ : 167,1 µg/mL β-karoten linoleik asit antioksidan aktivitesi Yaprak kısmı: %69,9 Çiçek kısmı: %62,7	Ebrahimabadi vd. (2010)
<i>C. macropodum</i>	İran	Uçucu yağ	Antimikrobiyal aktivitesi DPPH antioksidan aktivitesi IC ₅₀ : %2 β-karoten linoleik asit antioksidan aktivitesi %73,1	Haghi vd. (2010)
<i>C. bulbosum</i>	İran	Uçucu yağ	Antimikrobiyal aktivitesi PTCC 1885 MIC: 25 mg/mL PTCC 1036 MIC: 1,56 mg/mL	Masaudi vd. (2011)
<i>C. crinitum</i>	İran	Hekzan	DDM-Antimikrobiyal aktivitesi Kök kısmı: 17,3 mm Tohum kısmı: 18,2 mm	Shafaghat (2011)
<i>C. macropodum</i>	İran	Metanol	DPPH antioksidan aktivitesi IC ₅₀ : 65 µg/mL	Shafaghat (2012)
		Su	DPPH antioksidan aktivitesi IC ₅₀ : 115 µg/mL	

Çizelge 1.2.^{devamı}

Bitki türleri	Toplandığı yeri	Örnek	Biyolojik Aktivite	Referans
<i>C. sativum</i>	İran	Uçucu yağ	Antimikrobiyal aktivitesi MIC: 1-4 mg/mL MIC: 0,5-1 mg/mL	Pourshamsian vd. (2012)
<i>C. macropodum</i>	İran	Hekzan	DDM-Antimikrobiyal aktivitesi Givi örneği: 11,9 mm Neor örneği: 11,1 mm	Shafaghat (2013)
<i>C. macropodum</i>	Türkiye	Etil asetat	DPPH Antioksidan aktivitesi 0,6±0,0 ABTS Antioksidan aktivitesi 3,0±0,0	Dağdelen vd. (2014)
		Etanol	DPPH Antioksidan aktivitesi 2,3±0,0 ABTS Antioksidan aktivitesi 4,6±0,0	
		Metanol	DPPH Antioksidan aktivitesi 10,9±0,3 ABTS Antioksidan aktivitesi 18,2±0,1	
		Su	DPPH Antioksidan aktivitesi 8,1±0,2 ABTS Antioksidan aktivitesi 15,0±0,4	
		Metanol:Su	Antimikrobiyal aktivitesi MIC: 125 µg/mL	
			DPPH Antioksidan aktivitesi 0,017025 µg TE/mg ABTS Antioksidan aktivitesi 1,385 µg TE/mg	
<i>C. aureum</i>	Sırbistan	Uçucu yağ		Stamenkovic vd. (2016)

Çizelge 1.2.^{devamı}

Bitki türleri	Toplandığı yeri	Örnek	Biyolojik Aktivite	Referans
<i>C. aureum</i>	Sırbistan	Uçucu yağ	Antimikrobiyal aktivitesi	Stamenkovic vd. (2016)
<i>C. macropodum</i>	İran	Uçucu yağ	Antimikrobiyal aktivitesi IZ: 15,3±0,48 mm MIC: 2,01 µL/mL MBC: 3,2 µL/mL	Mahboubi ve Feizabadi (2016)
<i>C. macropodum</i>	İran	Uçucu yağ Hekzan	DDM-Antimikrobiyal aktivitesi 17,1-18,1 mm DDM-Antimikrobiyal aktivitesi 12,6-13,6 mm	Shafaghat (2017)
<i>C. aromaticum</i>	Sırbistan	Uçucu yağ Metanol	Antikolinesteraz aktivite %47,65-%50,88 İnhibisyon: %8,40	Petrovic (2017)
<i>Chaerophyllum</i>	İran	Etanolik	Anti-Promastigote aktivitesi IC ₅₀ : 80,62 µg/mL	Ebrahimisadr vd. (2017)
<i>C. macropodum</i>	İran	Uçucu yağ	DPPH Antioksidan aktivitesi HD IC ₅₀ : 0,430 mg/mL MAHD IC ₅₀ : 0,431 mg/mL Antifungal aktivitesi HD: %54,4 MAHD: %52,8 MIC: 625 µg/mL	Khajehie vd. (2017)
<i>C. aromaticum</i>	Türkiye	Uçucu yağ	DPPH Antioksidan aktivitesi %2,06 Anti-enflamatuvar aktivitesi IC ₅₀ : 63,62±1,26 µg/mL Antimikrobiyal aktivitesi ATCC 29213 MIC: 156 µg/mL ATCC 12228 MIC: 625 µg/mL	Kürkçüoğlu vd. (2018)
<i>C. byzantium</i>	Türkiye	Metanol	DPPH Antioksidan aktivitesi EC ₅₀ : 1,00±0,61 mg/mL	Koca vd. (2018)

Çizelge 1.2.^{devamı}

Bitki türleri	Toplandığı yeri	Örnek	Biyolojik Aktivite	Referans
<i>C. byzantium</i>	Türkiye	Metanol	FRAP Antioksidan aktivitesi 7406,68±4728,03 µmol/g	Koca vd. (2018)
<i>C. macropodum</i>	İran	Hidroalkolik	DPPH Antioksidan aktivitesi IC ₅₀ : 27,63 β-karoten Antioksidan aktivitesi %RAA: 37,61±0,92 İndirgeme gücü aktivitesi (%): 94,48±3,75 Antimikrobiyal aktivitesi MIC: 300-400 µg/mL	Bineshian vd. (2018)
<i>C. villosum</i>	Pakistan	Kloroform	Antimikrobiyal aktivitesi ZI: 26 mm MIC: 19 mm	Adil vd. (2020)
		Metanol	Antimikrobiyal aktivitesi ZI: 28 mm MIC: 16 mm	

Chaerophyllum hirsutum L., İtalya'nın kuzeyinde yaygın olarak bulunan çok yıllık bir bitkidir. Monte Bondone'den toplanan *C. hirsutum*'un hem toprak üstü hem de kök kısımları ile ligroin, kloroform ve metanol kullanılarak ekstratlar elde edilmiştir. Elde edilen ekstratların antioksidan aktiviteleri DPPH yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Antioksidan aktivite testi sonucunda *C. hirsutum*'un toprak üstü ve kök kısımlarının diğer ekstratlara göre metanol ekstresinin en yüksek aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Dall'Acqua vd., 2004).

Chaerophyllum byzantinum Boiss. türü Türkiye'nin daha çok kuzey ve kuzeybatı bölgelerinde dağılmıştır. Bunun yanı sıra *C. byzantinum* Boiss. türünün Türk göçmenler tarafından sebze olarak taze tüketilmek üzere Almanya'nın Bonn kentindeki bahçelerde yetiştirildiği bildiriliyor. Türkiye'de Bursa Uludağ'dan toplanan *Chaerophyllum byzantinum* Boiss'in uçucu yağının antikandidal aktivitesi Kürkçüoğlu ve arkadaşları tarafından (2006) çalışılmıştır. Uçucu yağ; *C. zeylanoides*, *C. parapsilosis*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata* ve *C. tropicalis* olmak üzere beş *Candida* türü ve iki *Candida albicans* mantar türü üzerine test edilerek iyi ila orta derecede aktivite göstermiştir. Ayrıca uçucu yağın *C. glabrata*'ya karşı gösterdiği aktivite ketokonazolinkinden iki kat daha iyi olduğu rapor edilmiştir.

Türkiye'de yüzyıllardır peynir üretiminde *Allium vineale* L., *Chaerophyllum macropodium* Boiss. ve *Prangos ferulacea* L. kullanılmaktadır ve yerel halk tarafından bu bitkilerin antibakteriyel aktiviteye sahip olduğuna inanılmaktadır. Durmaz ve arkadaşları (2006) tarafından yapılan çalışmada Türkiye'de peynir üretiminde kullanılan *Chaerophyllum macropodium*'un antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. Çalışmada kullanılan bitki örneği köy halkında bilgilerinden yararlanılarak Bitlis'de Alacabük Dağı'ndan toplanmıştır. Toplanan bitki örneği sırasıyla *n*-hekzan, etanol, metanol ve su ile ekstraksiyon işlemi yapıldıktan sonra elde edilen dört ekstrenin antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. *Chaerophyllum macropodium*'un *n*-hekzan, etanol ve metanol ekstratları *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* ve *Staphylococcus aureus* gram pozitif bakterilerine karşı inhibisyon etki gösterirken, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enteritidis* ve *Salmonella typhimurium* gram negatif bakterilerine karşı inhibisyon etki göstermemiştir. *Chaerophyllum macropodium*'un diğer ekstratlara göre metanol ekstresi en yüksek antibakteriyel aktivite gösterirken, su ekstresi ise antibakteriyel

aktivite göstermemiştir. Sonuç olarak, *Chaerophyllum macropodium*'un organik çözücü ekstreleri (özellikle metanol ve etanol ekstreleri), peynir ve çeşitli gıda ürünlerine katılmak için doğal antibakteriyel katkı maddeleri olarak kullanılabiliceği bulunmuştur.

Chaerophyllum libanoticum Boiss., Türkiye'de bir gıda bitkisi olarak toplanmakta ve kullanılmaktadır. Türkiye Osmaniye'den toplanan *C. libanoticum*'un ezilmiş meyvelerinden hidrodistilleme yöntemi kullanılarak uçucu yağ çıkarılmıştır. Elde edilen uçucu yağ, bir et suyu mikrodilüsyon deneyi kullanılarak in vitro antimikrobiyal aktivitesi, DPPH ve β -karoten linoleik asit yöntemleri kullanılarak da antioksidan aktivitesi açısından test edilmiştir. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve maya *C. albicans* dahil olmak üzere yaygın gram (+) ve gram (-) insan patojenik bakterileri, karşılaştırma için antimikrobiyal standart ajanlarla esans yağına karşı test edilmiştir. Test sonuçlarına göre, minimum inhibitör konsantrasyonları, orta derecede bir antimikrobiyal aktivite aralığında olan 0,25 ve 0,5 mg/mL arasında değişmiştir. Ayrıca Uçucu yağ, DPPH aktivite testinde herhangi bir aktivite göstermezken, β -karoten linoleik asit aktivite testinde az aktivite göstermiştir. Genel olarak uçucu yağlar ve bileşenleri gıdalarda ve çeşitli hastalıklarda koruyucu ajanlar olarak yararlı olan güçlü antimikrobiyal ve antioksidan özellikler sergilemektedirler (Demirci vd., 2007).

Birçok tıbbi bitki ve sebzenin hastalıklara karşı tedavi edici etkisi olduğu insanlar tarafından bilinmektedir. Potansiyel doğal Glutasyon-S-transferaz inhibitörleri, son 10 yılda özellikle kemoterapiye direnç geliştirmedeki rolü nedeniyle büyük önem kazanmıştır. Çoruh ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada Doğu Anadolu'da gıda olarak kullanılan ve Van bölgesinden toplanan *Chaerophyllum macropodium* Boiss. bitkisinin metanol ekstresinin DPPH radikal giderim, lipid peroksidasyon inhibisyonu yöntemleri kullanılarak antioksidan özellikleri, toplam fenolik içeriği ve Glutasyon-S-transferaz enzim inhibisyon aktivitesi belirlenmiş, iyi antioksidan ve Glutasyon-S-transferaz enzim inhibisyon aktivitesi hesaplanmıştır (Çoruh vd., 2007).

Geleneksel Van otlu peyniri, antimikrobiyal ve aroma yardımcı maddeleri olarak çoğunlukla *Allium* türlerinden oluşan bitkiler içerirler. Van-Türkiye'de Otluk peynir üretiminde kullanılan *C. macropodium* Boiss (Mendi) bitkisi de dahil birçok bitkinin antioksidan kapasiteleri Çelik ve arkadaşları (2008) tarafından araştırılmıştır. Yapılan

çalışmada Van otlı peynirinde kullanılan temel bitkiler farklı dönemlerde toplanıp presleme tekniklerine göre kurutularak bitki örneklerinin antioksidan kapasiteleri kuru madde içeriğine göre bildirilmiştir. Van Alacabük Dağı'ndan farklı dönemlerde toplanan *C. macropodium* bitkisinin toplam antioksidan kapasiteleri ilk kez CUPRAC, ABTS/Persülfat, FRAP ve FOLİN yöntemleri ile analiz edilerek en yüksek sonuç redoks potansiyeline sahip FOLİN yöntemi ile elde edilmiştir (Çelik vd., 2008).

Asetilkolinesteraz, asetilkolin yıkımını inhibe eden enzimdir. Günümüzde asetilkolinesteraz enzim inhibitörleri, Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu inhibitörler beyin sinapslarındaki asetilkolinin parçalanmasını azaltarak bilişsel bozuklukları iyileştirmek için merkezi kolinerjik sistem fonksiyonu ile etkileşime girebilir. Bitkisel ilaçlar bu enzimin yeni bir inhibitör kaynağı olabilir. İran'ın Kerman şehrindeki tıbbi bitkisel pazardan alınan *C. khorassanicum* dahil birçok bitki türünün metanol ekstresinin asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi test edilmiş ve asetilkolinesteraz enzimine karşı aktivite göstermediği tespit edilmiştir (Gholamhoseinian vd., 2009).

Chaerophyllum aureum L., orta ve güney Avrupa'nın dağlık bölgelerinde yetişen 150 cm yüksekliğe kadar dayanıklı, çok yıllık bir bitkidir. Bu türün bitkileri, vejetatif ve üreme organlarındaki salgı kanallarında uçucu yağ içermektedirler. Lakusic ve arkadaşları tarafından (2009) yapılan çalışmada Sırbistan'da iki farklı dağlık bölgeden toplanan *Chaerophyllum aureum*'un antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Çalışmada ilk bitki örneğinin toprak üstü kısımları haziran ayında 800 metre yükseklikteki Suva Dağı'ndan (örnek A), ikinci örnekte ise iki farklı kısım olmak üzere hem toprak üstü kısımları hem de meyve kısımları ağustos ayında 1450 metre yükseklikten Kopaonik Dağı'ndan (örnek B ve örnek C) toplanmıştır. Yarı ezilmiş ve havayla kurutulan bitki materyalinin , Clevenger tipi bir aparat ile hidrodistilleme yöntemi kullanılarak uçucu yağı çıkarılmıştır. Meyve ve toprak üstü kısımlardan elde edilen uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesi gram (+) ve gram (-) bakterileri olan *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Micrococcus luteus* (ATCC 10240), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (NCIMB 9111) ve bir maya türü olan *Candida albicans*'a (ATCC 10259) karşı test edilmiştir. Testin sonucunda *Chaerophyllum aureum*'un uçucu yağları; dirençli olan *Pseudomonas aeruginosa*

gram (-) bakterisi hariç, test edilen diğer bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *P.aeruginosa*'nın, dış zar bariyeri nedeniyle hemen hemen bilinen tüm antimikrobiyallere ve antibiyotiklere karşı yüksek düzeyde iç dirence sahip olduğu bilinmektedir. Sonuç olarak; en yüksek antimikrobiyal aktivite, gram (+) bakterileri olan *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Micrococcus luteus*'a (ATCC 10240) karşı gözlenirken, gram (-) bakterileri arasında en iyi aktivite gösteren ise *Escherichia coli* (ATCC 25922) olmuştur.

Ebrahimabadi ve arkadaşları (2010) tarafından *C. macropodum* Boiss'in yaprak ve çiçeklerinin uçucu yağları, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri çalışılmıştır. Bitkiden elde edilen metanol ekstresinin ve uçucu yağın DPPH ve β -karoten linoleik asit yöntemiyle antioksidan aktivitesi belirlenmiş, metanol ekstresi iki aktivite yöntemine göre ılıman bir aktivite gösterirken, uçucu yağın inaktif olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra sadece uçucu yağın test edilen mikroorganizmaların çoğuna karşı önemli bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği rapor edilmiştir.

Haghi ve arkadaşlarının (2010) yılında yapmış oldukları bir çalışmada *C. macropodum* Boiss bitkisinin uçucu yağının analizi ve antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir. Antioksidan aktivite testi için DPPH ve β -karoten yöntemleri kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre *C. macropodum* Boiss bitkisinin zayıf bir aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Masaudi ve arkadaşlarının (2011) yapmış oldukları çalışmada İran'dan toplanan *C. bulbosum*'un hidrodestilasyon ile uçucu yağı çıkarılmış ve *C. bulbosum*'un uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesi çalışılmış özellikle *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus anthracis* olmak üzere tüm gram (+) bakterilere karşı önemli ölçüde aktivite, *Escherichia coli*'ye karşı ılıman inhibitör aktivitesi, *Klebsiella pneumonia* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine karşı ise aktivite göstermediği rapor edilmiştir.

Kuzeybatı İran'dan toplanan *C. crinitum* Boiss'in kök ve tohum kısımları soxhlet cihazı kullanılarak hekzan ile ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. Elde edilen ekstrenin yağ asit bileşimi ve antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon metodu (DDM) kullanılarak çalışılmıştır. Çalışmanın sonucunda tohumda linoleik asit (%23,2), kökünde ise eikosan (%18,1) majör yağ asidi olarak bulunmuştur. Ayrıca hekzan ekstresi tüm test edilen bakterilere karşı iyi antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Shafaghat, 2011).

Shafaghat ve arkadaşları (2012) tarafından *C. macropodum* (Boiss) bitkisinin soxhlet cihazı yardımıyla elde edilen metanol ve su ekstraktlarının DPPH yöntemiyle antioksidan aktivitesi, yedi gram (+) ve gram (-) (*Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae*) bakterilere bunun yanı sıra 3 mantara (*Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Aspergillus niger*) karşı antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Ayrıca bu mantarın metanol ekstresinden 4',5-O-dirhamnosid-3'-butanoat-7-hidroksiflavon isimli bir diglikozidik flavonoid türevi bileşiği ve ftalik asit esteri izole edilmiştir. Ayrıca bu bitkinin metanol ekstresinin su ekstresine göre daha önemli antioksidan aktivite de gösterdiği rapor edilmiştir.

İran'ın Ramsar şehrinden toplanan *Chaerophyllum sativum*'un toprak üstü kısımlarının hidrodistilasyon ile çıkarılan uçucu yağının disk difüzyon yöntemi kullanılarak *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans* gram pozitif ve gram negatif bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivitesi çalışılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre *Chaerophyllum sativum*'un toprak üstü kısmının gram pozitif ve gram negatif bakterilerine karşı orta ila yüksek derecede (*Staphylococcus aureus*: 4,0 mg/mL, *Bacillus cereus*: 4,0 mg/mL, *Bacillus subtilis*:1 mg/mL, *Escherichia coli*:1,0 mg/mL, *Candida albicans*:0,5 mg/mL) antibakteriyal aktivite gösterdiği bulunmuştur (Pourshamsian vd., 2012).

İki farklı habitattan toplanan *C. macropodum* bitkisinin soxhlet aparatı ile elde edilen hekzan ekstraktlarının kimyasal içeriği ve agar difüzyon kabı metodu kullanılarak antimikrobiyal aktivitesi çalışılmıştır. Bitki örnekleri İran'ın kuzeybatısından temmuz ayında 1450 m (Givi) ve 2450 m (Neor) yükseklikten toplanmıştır. Hekzan ekstraktlarının yedi gram (+) ve gram (-) (*Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae*) bakterilere bunun yanı sıra 3 mantara (*Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Aspergillus niger*) karşı antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Sunulan sonuçlara göre her iki örnek için hekzan ekstraktlarının *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* bakterileri hariç test edilen bütün bakterilere ve mantarlara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Bunun yanı sıra *Aspergillus niger*, Givi hekzan ekstresine karşı aktivite

göstermezken, Neor hekzan ekstresine karşı aktivite göstermektedir (Shafaghat, 2013).

Yunanistan'ın dağlık bölgesinde doğal olarak yetişen *C. aromaticum* ve bazı apiacea familyasına ait bitkilerin uçucu yağı ve uçucu yağların insektisidal aktiviteleri Evergetis ve arkadaşları (2013) tarafından çalışılmış ve yüksek insektisidal aktivite gösterdiği rapor edilmiştir.

Geleneksel olarak bazı bitki türleri Türkiye'de özellikle Doğu Anadolu Bölgesi'nde peynirlerin aromatik özelliklerini arttırmak için kullanılmaktadır. Dağdelen ve arkadaşları (2014) yaptıkları bir çalışmada Van otlu peynirinde kullanılan *C. macropodum* da dahil olmak üzere birkaç çeşit bitki türünün antioksidatif, antimikrobiyal ve aroma özelliklerini incelemişlerdir. Köylüler bitkileri deneyimlerine dayanarak dağdan toplarlar ve taze bitkiler pazarda satılır. Yapılan çalışmada bitki örneği Mayıs ayında Van ilindeki yerel pazardan temin edilmiştir. Temin edilen bitki örneğinin etilasetat, etanol, metanol ve su olmak üzere 4 farklı çözücü ile ekstraksiyon işlemi yapıldıktan sonra elde edilen ekstraktların DPPH ve ABTS yöntemleri kullanılarak antioksidan aktivite testleri yapılmıştır. *C. macropodum*'un aktivite testleri sonucunda metanol ekstresi en yüksek aktiviteyi gösterirken etilasetat ekstresi en düşük aktivite değerini göstermiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde polar çözücülerin daha yüksek aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu nedenle, antimikrobiyal aktivite için polar solvent karışımı (metanol: su) ekstraksiyon solventi olarak seçilmiştir. *C. macropodum*, özellikle *Staphylococcus aureus* olmak üzere gram pozitif bakterileri üzerinde orta derecede aktivite gösterse de, *Enterobacter* (zayıf aktivite) hariç diğer gram negatif bakterilerine karşı aktivite göstermemiştir.

Stamenkovic ve arkadaşları (2016) tarafından *C. aureum* L. bitkisinin toprak üstü kısımları, kök ve yaprak kısımlarının uçucu yağlarının antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi çalışılmıştır. Sonuç olarak antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri inaktif olarak belirlenmiştir.

Günümüzde, yan etkileri olmadığı için uçucu yağlara veya ekstraktlara, alternatif bir tedavi yöntemi olarak ilgi oldukça artmaktadır. Gram negatif bakteri türü olan *Acinetobacter sp.*, hastanelerde sorun oluşturan bakteri türlerinden biridir. *Acinetobacter sp.*'nin çoklu ilaç dirençli izolatlarının ortaya çıkması, bilim insanlarını yan etkisi daha az olan yeni antimikrobiyal ajanı bulmaya teşvik etmektedir. Mahboubi

ve Feizabadi (2016) yaptıkları bir çalışmada *Acinetobacter sp.*'nin klinik çalışmalarına karşı İran'da Barij Essence İlaç Firması tarafından hazırlanan *C. macropodum* da dahil olmak üzere on esansiyel yağın antibakteriyel aktivitesini incelemişlerdir. Yapılan çalışmada uçucu yağların ve amikasinin (AMI) sinerjistik etkisi belirlenmiştir. Uçucu yağların aktivite testleri yapılırken 0,5, 1 ve 2 mililitre olmak üzere üç farklı miktarda çalışılmıştır. Uçucu yağların minimal inhibitör konsantrasyon (MIC) ve minimal bakterisidal konsantrasyon (MBC) değerleri, et suyu mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda *C. macropodum*'un uçucu yağının iyi bir antibakteriyel aktivite sahip olduğu rapor edilmiştir. Test sonuçlarına göre; çalışılan uçucu yağ miktarı arttıkça inhibisyon bölge çapında da doğru orantılı olarak artış olduğu gözlemlenmiştir (0,5 mL; 8,4±0,3, 1 mL; 10,8±0,36, 2 mL; 15,3±0,48). Amikasin (AMI), tüm uçucu yağlarla sinerjistik etki göstermiştir. Bu nedenle, *C. macropodum* ve diğer uçucu yağların amikasinin (AMI) dozunu düşürmek için alternatif bir tedavi olabileceği sonucuna varılmıştır.

Shafaghat (2017) tarafından İranın iki farklı rakımlı bölgesinden toplanan *C. macropodum*'un hidrodestilasyon ile elde edilen uçucu yağı ve soxhlet aparatı ile elde edilen hekzan ekstresinin kimyasal içeriği çalışılmış ve sonuçlar karşılaştırılmıştır. Ayrıca agar difüzyon metoduna göre uçucu yağların ve hekzan ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitesi test edilmiştir. Uçucu yağlar gram (+) ve gram (-) bakterilere karşı iyi etki gösterirken, hekzan ekstreleri ılıman bir etki göstermiştir.

Sırbistan'dan toplanan *C. aromaticum* L., toprak üstü ve toprak altı kısımlarının uçucu yağının kimyasal içeriği, uçucu yağların ve metanol ekstresinin, antimikrobiyal, antioksidan ve kolinesteraz inhibisyon aktivitesi Petrovic ve arkadaşları (2017) tarafından yapılan bir çalışma da incelenmiştir. Çalışma da toprak üstü ve toprak altı kısımlarının uçucu yağının ve metanol ekstresinin antibakteriyel aktivite göstermediği tespit edilmiştir. Test edilen uçucu yağların her ikisi de antikolinesteraz aktivitesi gösterirken; Toprak altı MeOH ekstresi sadece %8,40 oranında inhibisyon göstermiş, toprak üstü metanol ekstresi ise kolinesteraz aktivatörü olarak kullanılmıştır. Ayrıca antioksidan aktivitesi ile ilgili olarak, ekstrelerin uçucu yağlardan daha etkili olduğu bulunmuştur.

Dünyanın en önemli bulaşıcı hastalıklarından biri olan *leishmaniasis*, çeşitli klinik belirtilere sahiptir. *Kutanöz Leishmaniasis (KL)*, dünyadaki endemik bölgeler için

ikincil enfeksiyonlar, kalıcı yara izleri gibi bazı komplikasyonlara yol açabilecek ciddi bir tehdittir. *Kutanöz leishmaniasis (KL)*, visseral hastalık türü çoğunlukla ölümcül olarak seyreden bir protozoal hastalıktır. *Kutanöz Leishmaniasis (KL)* hastalığının tedavi alanında bazı boşluklar bulunmaktadır. Bunun sebebi tedavide kullanılan ilaçların maliyetinin fazla olması ve yan etkilerinin bulunmasıdır. Ayrıca parazitlerde “ilaç direnci” olarak ciddi bir sorun da gelişebilir. Bu nedenle, *Kutanöz Leishmaniasis'e (KL)* karşı yeni bileşikler keşfetmek için cazip bir çalışma alanı vardır. *Chaerophyllum macropodum*'un toprak üstü kısımları İran'ın 65 km kuzeyinde bulunan Roudbarak'dan toplanmıştır. Toplanan bitki örneği ile etanolik çözücü sistemi (etil asetat: metanol: damıtılmış su (6:3:1)) ve soxhlet cihazı kullanılarak ekstraktlar elde edilmiştir. Elde edilen *Chaerophyllum* ekstraktlarında *Leishmania* major promastigotları üzerindeki leishmanisidal etkileri in vitro olarak incelenmiştir. Bunun yanı sıra promastigotların ve J774 makrofajların sitotoksikite yüzdesi Mikrokültür Tetrazolium Test (MTT) yöntemi ile değerlendirilmiştir. Anti-promastigote testinde promastigotların inhibisyonu için farklı konsantrasyonlarda hazırlanan *Chaerophyllum* ekstraktlarının 24, 48 ve 72 saat boyunca aktiviteleri test edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre *Chaerophyllum* ekstraktının IC₅₀ değeri 24 saat sonra 80,62 µg/mL değeri ile en yüksek aktivite değerini göstermiştir. MTT tarafından promastigote canlılık testinde ise *Chaerophyllum* ekstraktı *Leishmania* major ve J774 makrofajlarının promastigotları üzerindeki sitotoksik etkisi 24 saat boyunca altı konsantrasyonda (6,25, 12,5, 25, 50, 100 ve 200 µg/mL) incelenmiştir ve 200 µg/mL konsantrasyonda *Chaerophyllum* ekstraktının %90 sitotoksikiteye sahip olduğu bulunmuştur (Ebrahimsadr vd., 2017).

Khajehie ve arkadaşları tarafından (2017) yapılan bir çalışmada *Chaerophyllum macropodum* uçucu yağının DPPH yöntemi kullanılarak radikal süpürme aktivitesi ve antifungal aktivitesi üzerinde çalışılmıştır. İran'ın dağlık bölgesinden toplanan *Chaerophyllum macropodum*'un toprak üstü kısımları hidrodistilleme (HD) ve mikrodalga destekli hidrodistilleme (MAHD) ile iki farklı şekilde ekstrakte edilmiştir. Elde edilen uçucu yağların verimleri, sırasıyla %1,72 (HD) ve %1,67 (MAHD) olarak verilmiştir. Uçucu yağlar üzerinde yapılan aktivite test sonuçlarına göre IC₅₀ değerleri hidrodistilleme (HD) ile elde edilen uçucu yağ için; 0,430 mg/mL, mikrodalga destekli hidrodistilasyon (MAHD) ile elde edilen uçucu yağ için ise; 0,431 mg/mL olarak

bulunmuştur. Antifungal aktivite test sonuçlarına göre de; *Chaerophyllum macropodium* 'un elde edilen uçucu yağları *Trichoderma harzianum*, *Byssoschlamys spectabilis*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger* olmak üzere altı mantara karşı beş günlük inkübasyon süresinden sonra düşük antifungal aktivite göstermiştir. Değerlendirilen sonuçlardan yola çıkılarak *C.macropodium* uçucu yağının, *Trichoderma harzianum* 'a karşı en yüksek aktivite değerlerini gösterdiği bulunmuştur (HD için: %54,4, MAHD için: %52,8 ve görünür bir büyümenin gözlenmediği minimum konsantrasyon (MIC) değeri için ise hem HD hem de MAHD değerleri 625 µg/mL'dir).

Chaerophyllum aromaticum L.'nin toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağının lipooksijenaz inhibisyon deneyi ile anti-enflamatuvar aktivitesi, DPPH yöntemi kullanılarak antioksidan aktivitesi ve mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak da *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus mirabilis* ATCC 14153 ve *Candida albicans* ATCC 10231 olmak üzere yedi bakteri ve bir mantara karşı antimikrobiyal aktivitesi çalışılmıştır. Çalışılan bitki örneği İstanbul'da Riva Çayagiz deresinde toplanmıştır. Yapılan anti-enflamatuvar aktivite test sonuçlarına göre uçucu yağın yüksek bir anti-enflamatuvar aktivite ($63,62 \pm 1,26$ µg/mL) gösterdiği bulunmuştur. DPPH aktivite test sonuçlarına göre ise; 20 mg/mL konsantrasyondaki uçucu yağ, %2,06 oranında radikali inhibe etmiştir. Son olarak yapılan antimikrobiyal aktivite test sonuçlarına göre de uçucu yağ, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 bakterilerine karşı orta derecede antibakteriyel aktivite gösterdiği bulunmuştur. Sonuç olarak monoterpen bileşikleri ile zengin olan *Chaerophyllum aromaticum* uçucu yağının *Staphylococcus* bakterilerine karşı orta derecede antibakteriyel aktivite gösterdiği ve bunun yanı sıra önemli derecede anti-enflamatuvar aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (Kurkcuoğlu vd., 2018).

Chaerophyllum byzantinum Boiss., Türkiye de Karadeniz bölgesinde popüler olarak tüketilen bir bitki türüdür. Yöre halkı tarafından ilkbahar mevsiminde toplanan bitkinin yaprakları esas olarak çorba yapımında kullanılmaktadır. Koca ve arkadaşlarının (2018) yaptıkları bir çalışmada Samsun'un sekiz farklı bölgesinden

toplanan *Chaerophyllum byzantium*'un yaprak kısımları %80 oranında metil alkol ile ekstraksiyon işlemi yapılarak antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir. Elde edilen test sonuçlarına göre *Chaerophyllum byzantium*'un yaprak ekstraktının yüksek fenolik bileşiklere ve antioksidan aktiviteye sahip iyi bir diyet lifi ve mineral kaynağı olduğu gözlemlenmiştir.

Vahşi bir tür olan *Chaerophyllum macropodium* Türkiye ve İran için endemik bir bitki türüdür. Bu bitkinin yaprakları tıp alanında olduğu gibi gıda endüstrisinde de kullanılmaktadır. Son zamanlarda, şifalı bitkilerin yaygın kullanımı araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Bineshian ve arkadaşları (2018) tarafından yapılan bir çalışmada İran'dan toplanan *Chaerophyllum macropodium*'un yaprak kısımlarının antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri çalışılmıştır. Çalışılan bitki türünün yaprak kısımlarından 6:3:1 oranlarında etil asetat:metanol:damıtılmış su içerisinde gece boyunca bekletilerek soxhlet aparatı yardımıyla hidroalkolik ekstraktlar elde edilmiştir. Elde edilen ekstraktların antioksidan test sonuçlarına göre *Chaerophyllum macropodium* %6,38 inhibisyon etkisi ile orta derecede bir antiradikal aktivite göstermiştir. Antimikrobiyal test sonuçlarına göre ise minimum inhibitör konsantrasyonları *Candida albicans* ve *Candida glabrata* için kırksekiz satte sırasıyla 300 ve 400 µg/mL olarak rapor edilmiştir.

Pakistan'dan toplanan *Chaerophyllum villosum*'un kloroform ve metanol ekstrelerinin agar difüzyon metodu kullanılarak *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Salmonella typhi* ve *Shigella flexneri* gram pozitif ve gram negatif bakterilerine karşı antibakteriyal aktivitesi ve agar dilüsyon yöntemi kullanılarak da *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium solani*, *Aspergillus niger* ve *Penicillium notatum* mantar türlerine karşı antifungal aktivitesi çalışılmıştır. Antibakteriyal test sonuçlarına göre *Chaerophyllum villosum*'un kloroform ekstresi *Salmonella typhi* gram negatif bakterisine karşı en yüksek inhisyon bölgesi, *Escherichia coli* gram negatif bakterisine karşı ise en düşük inhibisyon bölgesi gösterirken metanol ekstresi ise *Staphylococcus epidermidis* gram pozitif bakterisine karşı en yüksek inhibisyon etkisi, *Klebsiella pneumonia* gram negatif bakterisine karşı da en düşük inhisyon bölgesi göstermiştir. Antifungal aktive test sonuçlarına göre de; *Chaerophyllum villosum*'un kloroform ekstresi *Aspergillus flavus*, metanol eksteresi ise *Penicillium notatum* mantar türüne

karşı maksimum büyüme inhisyonu gösterirken her iki ekstrede *Aspergillus niger* mantar türüne karşı düşük inhibisyon etkisi göstermiştir (Adıl vd., 2020).

Sibul ve arkadaşlarının (2016) yapmış oldukları çalışmada, *Chaerophyllum bulbosum*'un da olduğu çok çeşitli bitki türlerinden fenolik ve flavanoid profillerini belirlemek ve ekstraksiyon yöntemlerinde kullanılan çözücülerin, sıcaklık, karıştırma ve zaman koşullarının ekstraksiyona etkisi ve fenolik bileşiklerin kazanımlarına katkısı kinetik olarak araştırılmıştır. Ayrıca söz konusu çalışmada fenolik profilde tespit edilen bazı fenolik maddelerin immunomodulator, antikanser ve hepatoprotektif etkilerinin literatür araştırmasına dayalı olarak yazarların yaptığı yorum makalede rapor edilmiştir. Buna karşılık, *C. bulbosum*'dan elde edilen ekstraktlar üzerine yapılan herhangi bir aktivite çalışması yoktur. İlgili çalışmada izolasyon çalışması olmadığı gibi, bu projeye yapmayı hedeflediğimiz araştırma ile söz konusu makalede yapılan çalışma arasında benzerlik yoktur.

Son zamanlarda çıkmış bir derlemede Solhan (Bingöl-Türkiye)'daki tıbbi bitkiler arasından *C. bulbosum*'un yerel halk tarafından iştah, kolesterol ve diyabet rahatsızlıkları için kullanıldığı ifade edilmiştir (Polat vd. 2013).

Uçucu yağ çalışmalarının yanı sıra toprakta oluşan kirlilikte bitkisel arıtım incelenmiştir. Kirletilmiş topraklardaki iyileştirme metotları ekonomik aynı zamanda teknik bir mücadeledir. Kirli toprakları metal toplayıcı bitkiler kullanarak iyileştirme metotları fitoremediasyon olarak adlandırılmaktadır. Bitki kullanılarak, kirletilmiş alanların temizlenmesi; ucuz, doğaya uygun, halk tarafından benimsenebilir bir tekniktir (Yurdakul, 2015). Maden atıkları ile kirlenmiş toprakta yapılan bir çalışmada diğer bitkilere oranla *Chaerophyllum* türünün Hg ile kirlenmiş toprakta fitoremediasyona uygun olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmada toprak kirliliği olan bölgelerde *C. hirsutum* bitkisinin fitotoksitesite seviyesi incelenmiş ve civa ile kirlenen toprakta *C. hirsutum*'un civayı kök kısmında tutuklayarak yüksek seviyede (10 mg/kg) fitotoksitite gösterdiği görülmüştür (Washa vd., 2019).

Tunçtürk ve Özgökçe (2015) tarafından yapılan bir çalışmada Doğu Anadolu Bölgesi'nde yaygın olarak kullanılan bazı Apiacea bitki ailesinin mineral bileşimi ve besin değerleri incelenmiştir. İncelemenin sonucunda bitkilerin makro ve mikro element içerikleri ve besin değerlerinin daha önceki çalışmalarda bildirilen verilerle benzer ve uyumlu olduğu görülmüştür. Doğu Anadolu Bölgesi'nde yabancı yenilebilir

bitkilerin en büyük kullanım alanı Van otlu peyniridir. Daha önce yapılan çalışmalarda Van otlu peynirinin üretiminde kullanılan yabani yenilebilir bitkilerin mineral bileşimleri ayrı ayrı incelenmiştir. Bu çalışmada, bitkiler, bitki aileleri tarafından gruplandırılarak mineral bileşimleri belirlenmiş ve aynı aileye ait bitkiler arasındaki minerallerin varyasyonları ve ilişkileri değerlendirilmiştir. Bunlara ek olarak; bazı gıda kalitesi; kuru madde, toplam kül içeriği, ham protein içeriği, pH ve ham lif içeriği vb. gibi yönlerdende bitki örnekleri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, analiz edilen bitki örnekleri, *Chaerophyllum macropodium* da dahil olmak üzere mineral bileşimleri ve diğer özellikleri açısından değerlendirildiğinde etkileyici bir çeşitliliğe sahip oldukları görülmüştür. Aynı aileye ait bitkiler arasındaki çeşitliliğin olması bireysel genetik yapı, farklı büyüme koşulları ve bitki kısımlarından kaynaklandığı sonucuna varılabileceği rapor edilmiştir.

1.2.3.3. *Chaerophyllum* türleri ile ilgili izolasyon çalışmaları

Chaerophyllum türlerinin biyolojik aktivitelerinden sorumlu olan biyoaktif bileşiklerin tanımlanması konusunda bugüne kadar, sınırlı sayıda araştırma yapılmıştır. Son zamanlarda aktivite gösteren bileşiklerin izolasyonu ve yapılarının aydınlatılması üzerine yapılan araştırmalara bilim insanlarının ilgisi artmıştır.

Chaerophyllum türleri üzerine yapılan daha önceki fitokimyasal araştırmalar, bu bitkide lignanlar, fenilpropanoidler, poliasetilenler (Mikaya vd., 1981; Rollinger vd., 2003), fenolik asitler, (Dall'Acqua vd., 2004), flavonoid glikozitler (Gonnet, 1983, 1986) ve karbonhidratlar (Ayala Garay vd., 2003) gibi bileşiklerin varlığını göstermiştir. *Chaerophyllum* türlerinden izole edilen bileşiklerin yapıları Şekil 1.1.'de verilmiştir.

Mikaya ve arkadaşları (1981) tarafından yapılan bir çalışmada *Chaerophyllum maculatum*'un kök kısmının metanol ekstraktından; kaerophyllin (**1,2**) (α -(trans-3,4-dimetoksibenziliden)- β -(3,4-metilendioksilbenzil)- γ -butirolakton) adı verilen yeni bir lignan türevi izole edilmiştir. İzole edilen bileşiğin yapısı UV, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve kütle spektrumları kullanılarak karakterize edilmiştir.

Avrupa'nın dağlık bölgelerinde çok yıllık bir bitki türü olarak yetişen *Chaerophyllum aureum* L.'nin toprak altı kısımlarından; iki poliasetilen; falcarinol (**3**), falcarindiol

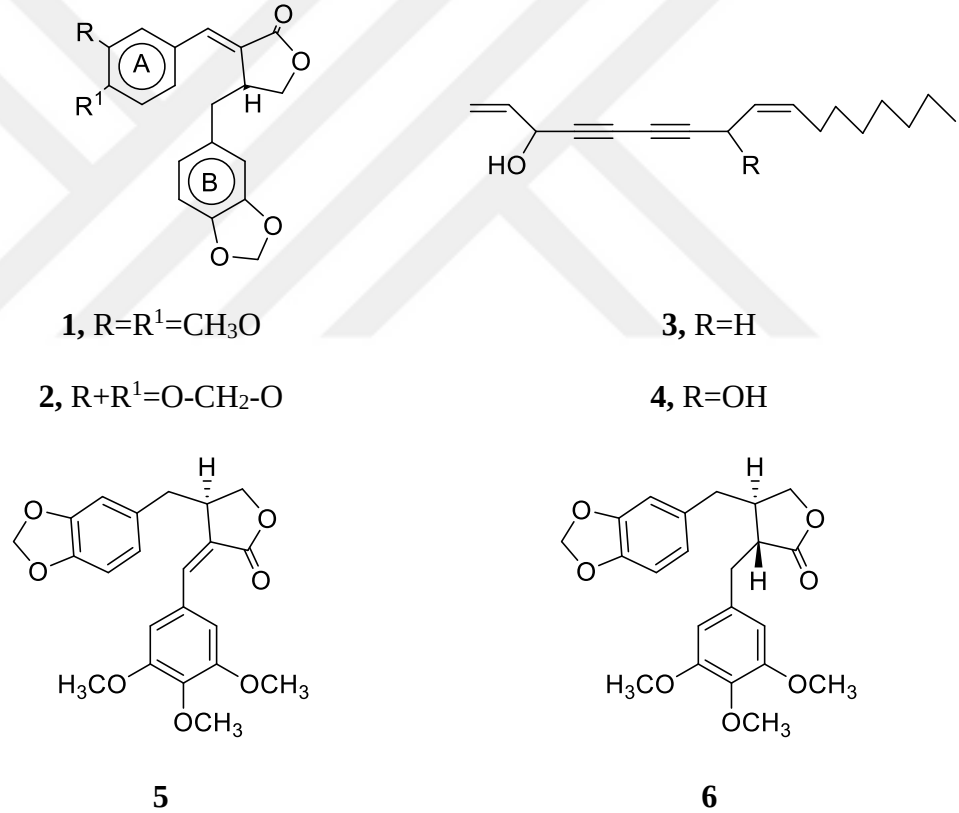
(4), üç lignan türevi; nemerosin (5), deokspodorizon (6), deokspodo-filotoksin (7), iki fenilpropanoid; 1-hidroksimiristisin (8) ve onun angeloil esteri (9) izole edilmiştir. *Chaerophyllum aureum*'un toprak altı kısmından izole edilen bileşikler arasında 1-hidroksimiristisin (8) ve onun angeloil esteri (9) olan iki fenilpropanoid türevi ilk kez Rollinger ve arkadaşları tarafından yapılan bu çalışmada izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapısı 1 ve 2 boyutlu NMR spektroskopisi ve yüksek çözünürlükte kütle spektroskopisi kullanılarak karakterize edilmiştir. Bunların yanı sıra TLC plakaları üzerinde yapılan biyotografik testlerde *Chaerophyllum aureum*'un toprak altı kısmının diklorometan ekstraktı önemli bir antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde; Falkarindiol ana aktif madde olarak tanımlanırken, fenilpropanoidler ve lignanların hiçbir aktivite göstermediği tespit edilmiştir (Rollinger vd., 2003).

İtalya'dan toplanan *Chaerophyllum hirsutum*'un kök kısmının sitotoksik bileşenleri Dall'Acqua (2004) tarafından yapılan bir çalışmada incelenmiştir. Toplanan bitki örneğinin kök kısmı petrol eteri, kloroform ve metanol olmak üzere üç farklı çözücü ile ekstre edilmiştir. Elde edilen ekstreler, LoVo (insan bağırsak adenokarsinomu) hücre hattına karşı sitotoksik aktiviteleri açısından test edilmiştir. Test sonuçlarına göre; kloroform ekstresi orta düzeyde (IC_{50} : 57 μ g/mL) bir aktivite değeri göstermiştir. *Chaerophyllum hirsutum*'un kök kısmından yapılan izolasyon çalışmalarına göre iki yeni lignan türevi (10 ve 11) ve bilinen skopoletin (12), metil kafeat (13), falkarindiol (14), 3,5-dikafeoilkinik asit (15), p-hidroksifeniletıl-trans-ferulat (16), 3,5-dikafeoilkinik metil ester (17), klorojenik asit ve vanilin (18) bileşikler izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapıları; 1D ve 2D NMR ve HR-MS gibi spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır. Elde edilen bileşiklerin birçoğu; HL-60, HT-1080, LoVo ve LoVo/Doxo hücre hatlarına karşı sitotoksik aktiviteleri açısından test edilmiştir. Test sonuçlarına göre bileşik 13 (IC_{50} : 16,4 $\pm$ 5,4) ve daha az ölçüde 14'ün (IC_{50} : 7,3 $\pm$ 1,1), LoVo alt klonunun büyümesini inhibe ettiği gözlemlenmiştir.

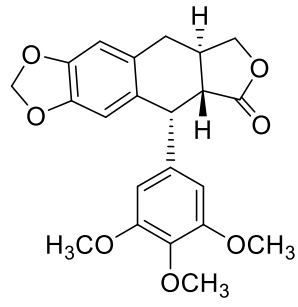
Chaerophyllum hirsutum'un kök ve toprak üstü kısımları kloroform ve metanol olmak üzere iki farklı çözücü kullanılarak ekstre edilmiştir. Elde edilen ekstratların DPPH antioksidan aktiviteleri test edilmiştir. Aktivite testinden yola çıkılarak yapılan fraksiyonlandırma işlemi sonucunda en aktif çıkan metanol ekstresinden; 6-

metilluteolin (**19**), luteolin-7-*O*- β -*D*-glukopiranosid (**20**), klorojenik asit (**21**), ferulik asit (**22**), feruloil-6-*O*- β -*D*-glukopiranosid (**23**) ve maltol- β -*D*-glukopiranosid (**24**) bileşikleri izole edilmiştir (Dall'Acqua ve Innocenti, 2004).

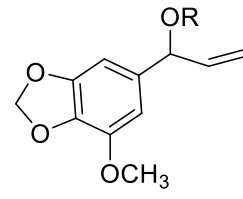
Shafaghat ve arkadaşları (2012) tarafından yapılan bir çalışmada *Chaerophyllum macropodum* Boiss.'in toprak üstü kısımlarının metanol ekstresinden kolon ve ince tabaka kromatografisi kullanılarak bir flavonoid türevi 4',5-*O*-dirhamnosid-3'-butanoat-7-hidroksiflavon (**25**) ve bir ftalik asit esteri olan dioktilftalat (**26**) izole edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapıları; UV, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HMBC, EI-MS ve IR spekturumları kullanılarak aydınlatılmıştır. Sonuç olarak bu çalışma, *Chaerophyllum macropodum*'un metanol ekstresinin etkili doğal antioksidanların yanı sıra çekici flavonoid kaynağıda olabileceğini ortaya koymuştur.



Şekil 1.1 *Chaerophyllum* türlerinden izole edilen bileşikler

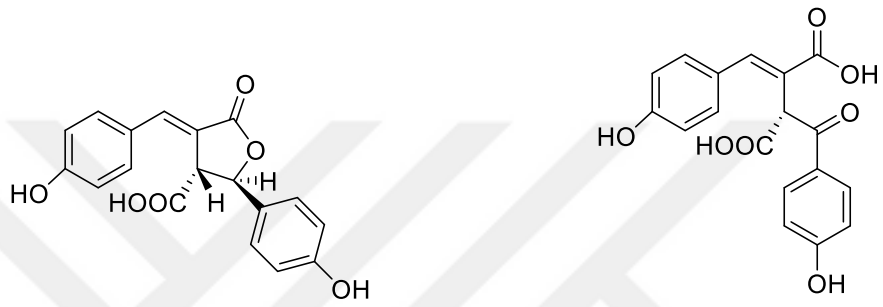


7

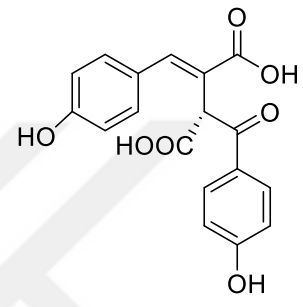


8, R=H

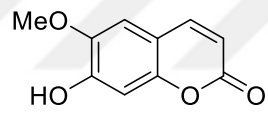
9, R=angeloly



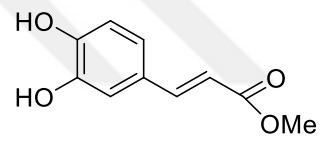
10



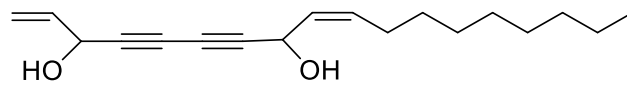
11



12

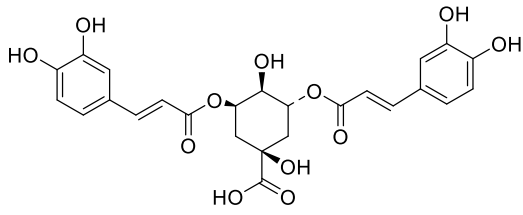


13

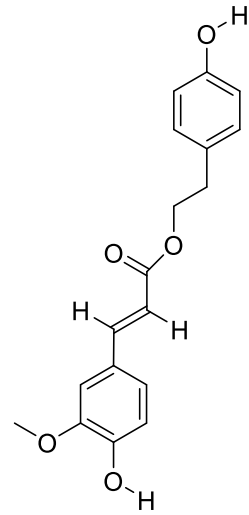


14

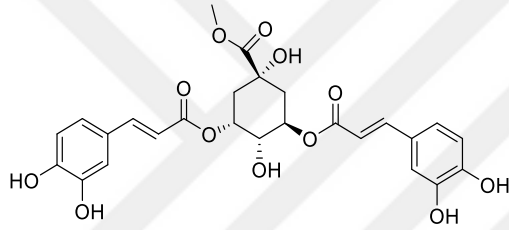
Şekil 1.1. (devam)



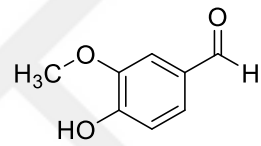
15



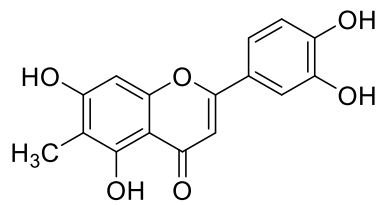
16



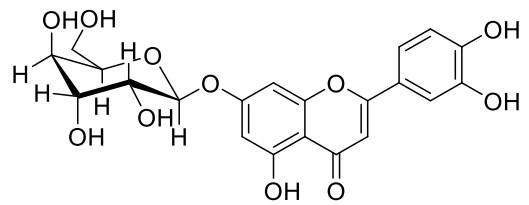
17



18

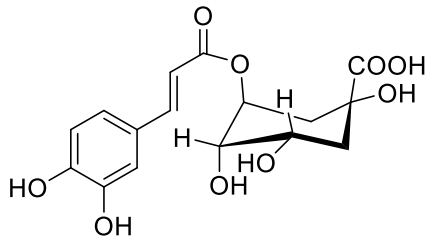


19

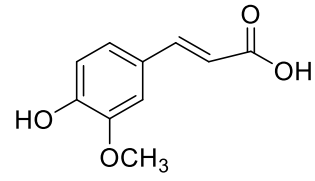


20

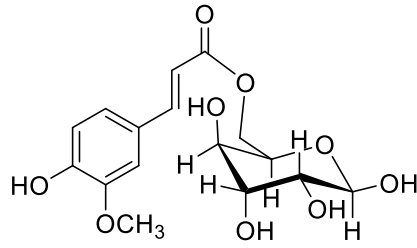
Şekil 1.1.(devam)



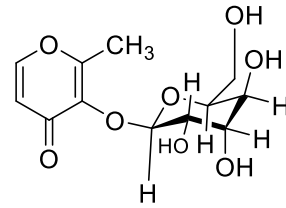
21



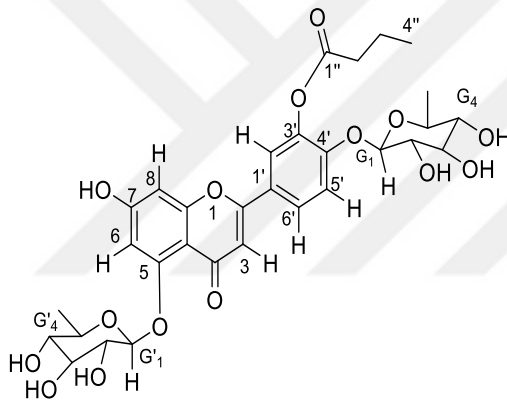
22



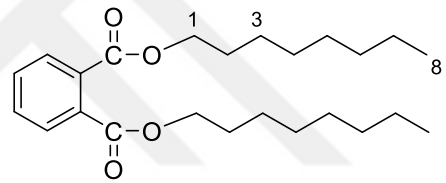
23



24



25



26

Şekil 1.1.(devam)

1.2.3.4. *Chaerophyllum bulbosum* Türü Üzerine Yapılan Bilimsel Çalışmalar

Literatür çalışmalarına bakıldığında *Chaerophyllum bulbosum* türü üzerine sınırlı sayıda çalışma yapıldığı görülmektedir. Bu çalışmalar genellikle uçucu yağın kimyasal içeriği ve onun aktivitesi üzerinedir. Masaudi ve arkadaşlarının (2011) yapmış oldukları çalışmada İran'dan toplanan *C. bulbosum*'un hidrodestilasyon ile uçucu yağı çıkarılmış ve GC, GC/MS yöntemleri kullanılarak analiz edilmiş. (E)- β -farnesen (%22,3), (Z)- β -osimen (%18,8) ve miristin (%17,1) maddelerini ana bileşenler olarak içerdiği belirtilmiştir. Aynı zamanda *C. bulbosum*'un uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesi de çalışılmış özellikle *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus anthracis* olmak üzere tüm gram (+) bakterilere karşı önemli aktivite, *Escherichia coli*'ye karşı ılıman inhibitör aktivitesi, *Klebsiella pneumonia* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine karşı ise aktivite göstermediği rapor edilmiştir.

Stephanou ve Kokkalou (1990) tarafından Yunanistan'dan toplanan *C. bulbosum*'un uçucu yağının majör bileşenleri; apiol, trimetil-3,7,11-dodekatrien-1,6,10-ol-3, linalool, miristin ve eugenol olarak tespit edilirken Mamedova ve Akhmedova (1991) tarafından İran'dan toplanan *C. bulbosum*'un uçucu yağının majör bileşenleri α -pinen, β -pinen, linalool, sineol ve terpinol olarak belirlenmiştir.

Sibul ve arkadaşlarının (2016) yapmış oldukları çalışmada, *C. bulbosum*'un da olduğu çok çeşitli bitki türlerinden fenolik ve flavanoid profillerini belirlemek ve ekstraksiyon yöntemlerinde kullanılan çözücülerin, sıcaklık, karıştırma ve zaman koşullarının ekstraksiyona etkisi ve fenolik bileşiklerin kazanımlarına katkısı kinetik olarak araştırılmıştır. Ayrıca söz konusu çalışmada fenolik profilde tespit edilen bazı fenolik maddelerin immunomodulator, antikanser ve hepatoprotektif etkilerinin literatür araştırmasına dayalı olarak yazarların yaptığı yorum makalede rapor edilmiştir. Buna karşılık, *C. bulbosum*'dan elde edilen ekstraktlar üzerine herhangi bir aktivite çalışması yoktur. İlgili çalışmada izolasyon çalışması olmadığı gibi, bu projeye yapmayı hedeflediğimiz araştırma ile söz konusu makalede yapılan çalışma arasında benzerlik yoktur.

Son zamanlarda çıkmış bir derlemede Solhan (Bingöl-Türkiye)'daki tıbbi bitkiler arasından *C. bulbosum*'un yerel halk tarafından iştah, kolesterol ve diyabet rahatsızlıkları için kullanıldığı ifade edilmiştir (Polat vd. 2013).

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Bitki Materyalleri

Chaerophyllum bulbosum bitkisinin toprak üstü kısmı 167,00 gram olarak Ardahan'dan 2017 yılının temmuz ayında temin edildi. Bitki, İstanbul Üniversitesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı'nda öğretim üyesi olan ve Projede araştırmacı olarak görev yapan Dr. Öğr. Üyesi Yeter Yeşil tarafından teşhisi yapıldı. Bitki örneği İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi herbaryumunda ISTE115344 numarası ile saklanmaktadır.

2.2. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler

2.2.1. Kimyasal maddeler ve çözücüler

Asetilkolin klorür (AcCl), elektrik balığından asetilkolinesteraz [AChE, Type-VI-S, EC 3.1.1.7, 425.84 U/mg], β -karoten, bütirilkolin iyodür (BuI), linoleik asit, 5,5'-ditiyobis(2-nitro-benzoik asit) (DTNB), kojik asit, at serumundan bütirilkolinesteraz [BChE, EC 3.1.1.8, 11.4 U/mg], 3,4-dihidroksi-D-fenilalanin (L-DOPA), α -tokoferol, gallik asit, fumarik asit, tirozinaz, üreaz, üre, tiyoüre, α -amilaz, α -glukozidaz, akarboz, sodyum nitropürizit, nişasta, PNP (4-Nitrofenil- β -D- glukopiranozit), 3,4-dihidroksi benzoik asit, p-hidroksi benzoik asit, Sodyum hipoklorit, katekin hidrat, 6,7-dihidroksi kumarin, vanilin, kafeik asit, 2,4-dihidroksi benzoik asit, p-kumarik asit, trans-2-hidroksi sinamik asit, ferulik asit, elajik asit, rosmarinik asit, kumarin, trans-sinamik asit, tripsin Sigma kimyasaldan; asetik asit Riedel de Haen kimyasaldan; Folin Ciocalteu Reaktifi (FCR), 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) ve bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) Fluka kimyasaldan; ferrin, demir-II-klorür, bakır-II-klorür, 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) diamonyum (ABTS), tween-40

[polioksietilen sorbitan monopalmitat], neokuprin, amonyum asetat, silika jel 60 (0,063-0,200 mm; 70-230 mesh ASTM, Merck KGaA 1.07734), ince tabaka plakaları (Alufolien Kieselgel 60F254, Merck KGaA 1.05554), TLC silika jel 60 RP-18 (Cam plate F254S, Merck KGaA 1.15685), sodyum karbonat, disodyum hidrojen fosfat, sodyum dihidrojen fosfat, pirokatekol, sodyum hidroksit, sülfürik asit, nitrik asit, hidrojen klorür, fenol, meta fosforik asit, kloroform, hekzan, etil asetat, etanol, aseton ve metanol Merck'den temin edildi. Kullanılan diğer kimyasallar ve çözücüler analitik saflıktadır.

2.2.2. Çözeltilerin hazırlanması

2.2.2.1. *β -karoten-linoleik asit yönteminde kullanılan çözeltiler*

- β -karoten reaktifinin hazırlanması: β -Karoten'den 0,5 mg tartılarak, 1 mL kloroformda çözüldü ve bir balona aktarıldı. Üzerine 20 μ L linoleik asit ve 200 μ L Tween-40 ilave edilerek karıştırıldı. Döner buharlaştırıcıda kloroform uçuruldu. Daha sonra üzerine oksijen ile doyurulmuş 50 mL su ilave edildi ve kuvvetlice çalkalandı.

2.2.2.2. *DPPH serbest radikal giderim yönteminde kullanılan çözeltiler*

- 0,1 mM DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) çözeltisinin hazırlanması: 4 mg DPPH tartıldı ve 100 mL metanolde çözüldü.

2.2.2.3. *ABTS kation radikal giderim yönteminde kullanılan çözeltiler*

- 7 mM ABTS^{•+} Hazırlanması: 19,2 mg ABTS tartıldı ve 5 mL suda çözüldü. Son konsantrasyonu 2,45 mM olacak şekilde toz halinde K₂S₂O₈ eklenip, karıştırıldı ve oda sıcaklığında 12-16 saat bekletildi.

2.2.2.4. *CUPRAC yönteminde (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) kullanılan çözeltiler*

- 10 mM Cu(II) çözeltisinin hazırlanması: 17,05 mg CuCl₂.2H₂O katısından tartıldı ve 10 ml suda çözüldü.

- 1 M, pH=7 Amonyumasetat tamponunun hazırlanması: 0,77 g NH_4OAc tartıldı ve 10 ml suda çözüldü.
- 7,5 mM Neokuprin çözeltisinin hazırlanması: 39 mg neokuprin tartıldı ve 25 ml etanolde çözüldü.

2.2.2.5. Metal bağlama aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler

- 0,5 mM Ferren çözeltisinin hazırlanması: 2,5 mg tartılan Ferren 10 ml suda çözüldü.
- 0,2 mM FeCl_2 çözeltisinin hazırlanması: 4 mg tartılan $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 100 ml suda çözüldü.

2.2.2.6. Antikolinesteraz aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler

- 0,1 M Fosfat tamponu hazırlanması: 1,56 g tartılan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 100 mL'lik bir balon jöjeye konuldu. Bir miktar saf su ile çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı. 8,89 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartıldı. Bir miktar saf su ile çözüldü ve hacmi 500 mL'ye tamamlandı.
- pH=8 tamponu hazırlanması: Fosfat tamponu için hazırlanan Na_2HPO_4 'den 94,7 mL, NaH_2PO_4 'den de 5,3 ml alındıktan sonra pH metre ile pH'ı kontrol edildi ve 200 mL'ye seyreltilti.
- pH=7 tamponu hazırlanması: 61 mL Na_2HPO_4 'den, 39 mL de NaH_2PO_4 'den alındıktan sonra pH metre ile pH kontrol edilerek 200 mL ye seyreltilti.
- DTNB (5,5'-ditiyobis(2-nitro-benzoik asit)) çözeltisinin hazırlanması: 16 mg DTNB tartıldı ve pH=7 tamponunda çözüldü. Aynı bir yerde 7,5 mg tartılan NaHCO_3 1mL pH=7 tamponunda çözüldü. İkisi karıştırıldı ve pH=7 tamponuyla 4 mL'ye seyreltilti.
- AcI (Asetilkolin iyodür) Hazırlanması: 16 mg AcI tartıldı ve 4 mL deiyonize suda çözüldü.
- BuI (Bütirilkolin iyodür) Hazırlanması: 4 mg BuI tartıldı ve 4 mL deiyonize suda çözüldü.

- pH=6,8 tamponu hazırlanması: Antikolinesteraz aktivite için hazırlanan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ çözeltisinden 49 mL, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ çözeltisinden 51 mL alındıktan sonra pH metre ile pH'ı kontrol edildi ve 200 mL'ye seyreltilti.
- 8,5 mM L-DOPA (3,4-dihidroksi-D-fenilalanin) çözeltisinin hazırlanması: 8,4 mg L-DOPA tartıldı ve 5 mL suda çözüldü.

2.2.2.7. İnce tabaka kromatografisinde kullanılan belirteçler

- Serik Sülfat Belirtecini Hazırlanması: 2,0 g $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ katısından tartıldı ve 100 mL % 10'luk H_2SO_4 'de çözülerek hazırlandı. Belirteç, pulvarizatör kullanılarak uygun çözücü sisteminde yürütülen ince tabaka plaklarının üzerine püskürtüldü. Belirteç püskürtüldükten sonra 110 °C'de etüvde lekeler oluşuncaya kadar bekletildi.

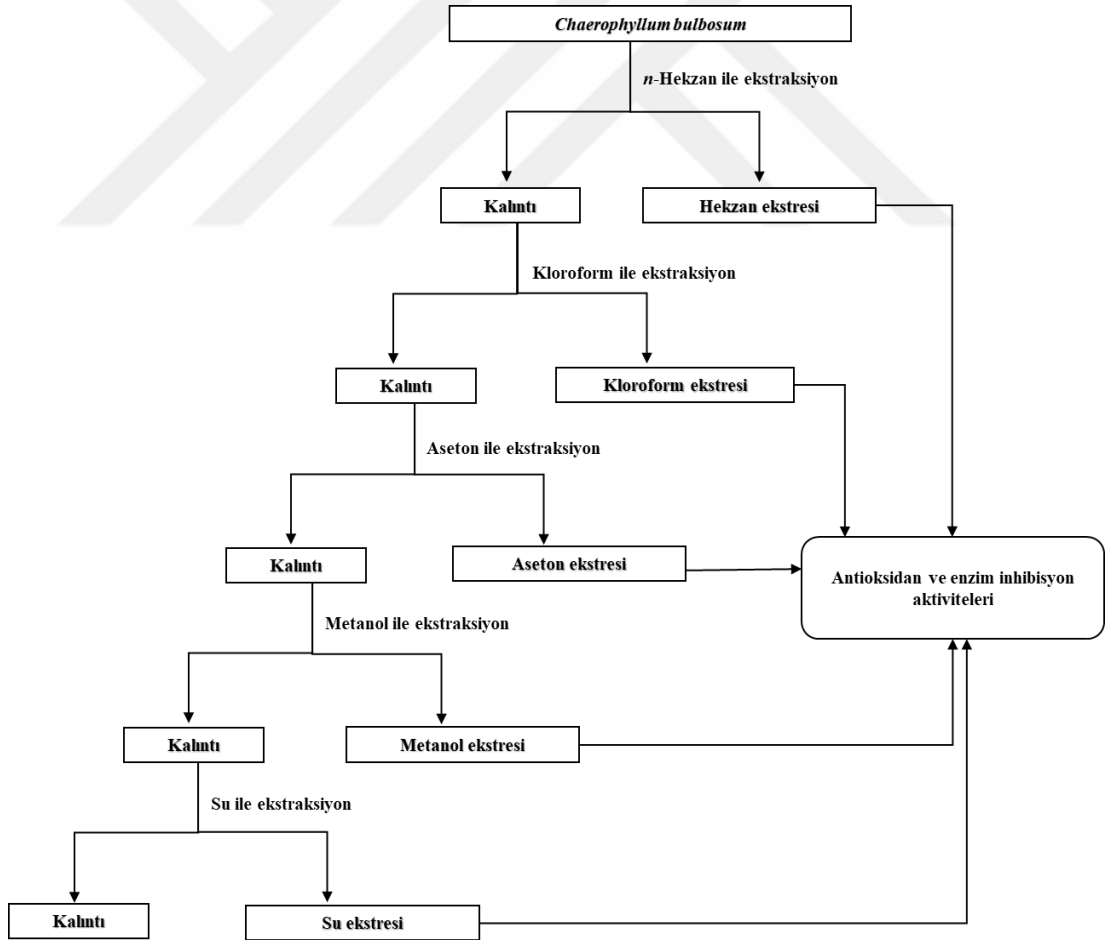
2.2.3. Aletler ve diğer gereçler

- Döner Buharlaştırıcı (Rota Evaporatör)
- Liyofilizatör (CHRİST Marka, Freeze Dryer)
- Mikro-plaka okuyucu (Elisa Reader, 96'lı okuyucu)
- Mikro-plaka okuyucu SoftMax Pro 340 (Molecular Devices)
- Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) (Shimadzu)
- Nükleer Manyetik Rezonans Cihazı (NMR), (Bruker Avance, 300 MHz, 400 MHz, 500 MHz ve 600 MHz (Cryo-cooled Probu))
- Preparatif HPLC (Geri Dönüşümlü Preparatif HPLC, JAI, Japan Analytical Industry Co., Ltd.).
- Kütle Spektrometresi (EI için: JEOL MSRoute resolüsyon)
- FT-IR (THERMO Scientic, Nicolet iS10)
- Ultraviyole Spektrofometresi (UV-Vis), (Shimadzu UV-1601)
- Hassas terazi (Scaltec SBA 31)
- pH-metre (Thermo, Amerika Birleşik Devletleri)
- Ultra saf su cihazı (Younglin Instrument, aquaMAX-Ultra, Kore)
- Hesap makinesi (Casio fx-3650P Super FX, Japonya), Pulvarizatör, Balon jojeler, armudi cam balonlar, Magnetler, Azot ve Oksijen Tüpleri, Manyetik

Karıştırıcı (Heidolph MR 3001, Almanya), Otomatik pipetler (20–200µL, 100–1000µL, 50–5000µL) (Eppendorf, Almanya)

2.2.4. Ekstrelerin hazırlanması

C. bulbosum kurutulduktan sonra toz haline getirildi. Daha sonra örneğin üzerine 5 katı kadar çözücü ilave edildi ve oda şartlarında sırasıyla *n*-hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su ile ekstraksiyonları yapıldı. *n*-hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su ekstraksiyonlarından toplanan fraksiyonların çözücüleri ayrı ayrı döner buharlaştırıcıda vakum altında uzaklaştırıldı ve verimleri hesaplandı (Çizelge 3.1). Böylece *C. bulbosum*'un artan polaritelerdeki çözücülerle yapılan sıralı ekstraksiyonları sonucunda, her bir drogtan 5'er ekstre (*n*-hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su ekstraleleri) elde edildi (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. *Chaerophyllum bulbosum* 'un ekstraksiyon akış şeması

2.2.5. Antioksidan aktivite tayin yöntemleri

2.2.5.1. Toplam antioksidan aktivite: β -karoten renk açılım yöntemi

Analiz örneklerinin toplam antioksidan aktivitesi β -karoten-linoleik asit yöntemi kullanılarak belirlendi. Bu yöntemde linoleik asidin oksidasyonu sonucu oluşan konjuge dien hidroperoksitlerinin inhibisyonu ve β -karotenin renginin açılması ölçülmektedir (Miller, 1971; Tel vd., 2012). Farklı konsantrasyonlardaki 40 μ L örneğin üzerine 160 μ L β -karoten çözeltisi ilave edildi. 96 kuyucuklu mikropłaka okuyucu kullanılarak başlangıç absorbensları 470 nm'de ölçüldü. 45°C'de inkübasyona bırakıldı ve kontrol olarak kullanılan tüpteki β -karotenin rengi kayboluncaya kadar (yaklaşık 120 dk.) inkübasyona devam edildi. 120 dk. sonunda aynı dalga boyunda tekrar absorbensları ölçüldü. Kontrol olarak 40 μ L metanol kullanıldı. β -karoten renk açılım oranı (R), aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı:

$$R = \frac{\ln \frac{a}{b}}{t} \quad (2.1)$$

ln: doğal logaritma, a : başlangıç absorbensı, b : inkübasyondan sonraki absorbens, t : inkübasyon süresi (dk).

Antioksidan aktivite (AA) aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı:

$$AA (\% \text{ İnhibisyon}) = \frac{R_{Kontrol} - R_{Örnek}}{R_{Kontrol}} \times 100 \quad (2.2)$$

$R_{Kontrol}$ kontrolün renginin açılma hızı ve $R_{Örnek}$ örneğin renginin açılma hızıdır.

2.2.5.2. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi

DPPH $\cdot$ serbest radikali kullanılarak, analiz örneklerinin serbest radikal giderim aktiviteleri belirlendi (Blois, 1958; Tel vd., 2012). Bu yöntemde DPPH $\cdot$ çözeltisinin renginin açılması ölçülmektedir. Farklı konsantrasyonlardaki 40 μ L örneğin üzerine 160 μ L 0,4 mM DPPH çözeltisi ilave edildi. Kontrol olarak 40 μ L metanol kullanıldı. Oda sıcaklığında, karanlıkta 30 dk. inkübasyonda bırakıldı ve 96 kuyucuklu mikropłaka okuyucu kullanılarak 517 nm'de absorbensları ölçüldü. Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\text{DPPH giderim aktivitesi (\% İnhibisyon)} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100 \quad (2.3)$$

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

2.2.5.3. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi

Analiz örneklerinin serbest radikal giderim aktivitelerini belirlemek amacıyla ABTS katyon radikali kullanıldı (Re vd., 1999; Tel vd., 2012). Bu yöntemde ABTS^{•+} çözeltisinin renginin açılması ölçülmektedir. ABTS^{•+} çözeltisini kullanmadan önce 734 nm’de absorbansı 0,700 olacak şekilde etanol ile seyreltildi. Daha sonra farklı konsantrasyonlardaki 40 µL örneğin üzerine 160 µL ABTS^{•+} çözeltisi eklendi. Oda sıcaklığında 10 dk. inkübasyona bırakıldı ve 734 nm’de 96 kuyucuklu mikropłaka okuyucu kullanılarak absorbansları ölçüldü. Kontrol olarak 40 µL etanol kullanıldı. ABTS katyon radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\text{ABTS}^{\bullet+} \text{ giderim aktivitesi (\% İnhibisyon)} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100 \quad (2.4)$$

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

2.2.5.4. Cu (II) indirgeme aktivitesi (CUPRAC) yöntemi

Analiz örneklerinin indirgeme gücü bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi yöntemi kullanılarak belirlendi (Apak vd., 2004; Tel vd. 2012). Farklı konsantrasyonlardaki 40 µL örneğin üzerine 50 µL 10 mM Cu (II), 50 µL 7,5 mM neokuprin ve 60 µL amonyum asetat (NH₄OAc) tampon (1 M, pH 7,0) çözeltileri eklenerek karıştırıldı. 1 saat inkübasyona bırakıldı ve sonra 96 kuyucuklu mikropłaka kullanılarak 450 nm’de absorbansları ölçüldü.

2.2.5.5. Metal bağlama aktivitesi yöntemi

Analiz örneklerinin şelatlama aktiviteleri Decker ve Welch (1990) tarafından geliştirilen metot kullanılarak ölçüldü. Farklı konsantrasyonlardaki 40 µL örnek çözeltilerinin üzerine 40 µL etanol, 40 µL 0,2 mM FeCl₂ çözeltisi ve 80 µL 0,5 mM ferrin eklenmesiyle reaksiyon başlatıldı. Karışım 10 dk. oda sıcaklığında bekletildi ve

10 dk. sonunda 593 nm’de absorbansları ölçüldü. Metal bağlama aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\text{Metal bağlama aktivitesi (\% İnhibisyon)} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100 \quad (2.5)$$

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

2.2.6. Enzim İnhibisyon Aktivite Belirleme Yöntemleri

2.2.6.1. Asetilkolinesteraz İnhibisyon Aktivitesi Yöntemi

Ellman metodu kullanılarak, analiz örneklerinin asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi ölçüldü (Ellman vd.,1961; Tel vd., 2012). Enzim olarak elektrik balığından elde edilen asetilkolinesteraz (AChE) kullanıldı. Substrat olarak asetilkolin iyodür (AcI) ve aktivitenin ölçümü için renk reaktifi 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) kullanıldı. Mikroplakaların (96 kuyucuklu) her bir kuyucuğuna 130 µL 0,1 M pH=8 fosfat tamponundan, 10 µL farklı konsantrasyonlardaki örnek çözeltilerinden, 10 µL AChE enzim çözeltisinden ilave edildi. 25°C’de 15 dk. inkübasyona bırakıldı. Daha sonra üzerine 20 µL DTNB çözeltisi ve 20 µL AcI ilave edilerek 10 dk. boyunca 412 nm dalga boyunda kinetik olarak ölçüm yapıldı.

2.2.6.2. Bütirilkolinesteraz İnhibisyon Aktivitesi Yöntemi

Ellman metodu kullanılarak, analiz örneklerinin bütirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi ölçüldü (Ellman vd.,1961; Tel vd., 2012). Enzim olarak at serumundan elde edilen bütirilkolinesteraz (BChE) kullanıldı. Substrat olarak bütirilkolinoyodür (BuI) ve aktivitenin ölçümü için renk reaktifi 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) kullanıldı. Mikroplakaların (96 kuyucuklu) her bir kuyucuğuna 130 µL 0,1 M pH=8 fosfat tamponundan, 10 µL farklı konsantrasyonlardaki örnek çözeltilerinden, 10 µL BChE enzim çözeltisinden ilave edildi. 25°C’de 15 dk. inkübasyona bırakıldı. Daha sonra üzerine 20 µL DTNB çözeltisi ve BuI ilave edilerek 10 dk. boyunca 412 nm dalga boyunda kinetik olarak ölçüm yapıldı.

2.2.7. Kromatografik yöntemler

2.2.7.1. Kolon kromatografisi

C. bulbosum dan elde edilen ekstreleri fraksiyonlandırmak ve bu fraksiyonlardan saf bileşikler elde etmek amacıyla üç çeşit dolgu maddesi kullanıldı. Bu dolgu maddeleri silika jel, C18 ters faz ve Sephadex LH-20'dir.

Aktivite gösteren ekstreleri fraksiyonlandırmak için kolon kromatografisinde silika jel kullanıldı. Ekstreler az miktarda uygun çözücüde çözülerek adsorban ile karıştırıldı. Karışım oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Kuruyan karışım dibine az miktarda pamuk yerleştirilmiş, ekstre miktarına uygun olarak seçilmiş ve boyunun 2/3 oranında silika jel ile doldurulmuş kolonun üst kısmına paketleme yöntemiyle yerleştirildi. Elüsyona %100 petrol eteri ile başlandı ve sırasıyla kloroform, aseton ve metanol ile polarite artırılarak elüsyona devam edildi, sonunda % 100 metanol ile elüsyon tamamlandı. Benzer fraksiyonlar birleştirildi ve saflaştırma için daha küçük boyuttaki kolonlarda silika jelin yanı sıra Poliamit ve Sephadex LH-20 adsorban olarak kullanıldı.

Aktivite gösteren fraksiyonlardan saf madde elde etmek için Sephadex LH-20 içeren kolonlar kullanıldı. Bu yöntemde karışımın polaritesine göre iki çözücü sistemi kullanıldı. Bunlar, apolar özellik gösteren fraksiyonlar için hekzan: kloroform: metanol (7:4:1) çözücü sistemi, polar özellik gösteren fraksiyonlar için ise %100 metanol'dür. Fraksiyonlar kolonda kullanılacak çözücü sisteminde çözülerek sıvı halde Sephadex LH-20 ile doldurulmuş kolonun üst kısmından tatbik edildi. Elüsyon tek bir çözücü sistemi kullanılarak sonlandırıldı. Bazı fraksiyonlar ise C18'in adsorban olarak kullanıldığı kolonlarda ayrıldı.

2.2.7.2. İnce tabaka kromatografisi

İnce tabaka kromatografisinde (İTK), silika jel hazır plakalardan (20x20 cm) ve TLC silika jel 60 RP-18 (ters faz) plakalardan yararlanıldı. Ekstrelerin kolon kromatografisi ile ayrılması sonucu elde edilen fraksiyonların karşılaştırılmasında İTK plakaları kullanıldı. Maddeleri saflaştırmak için preparatif ince tabaka kromatografisinden de yararlanıldı.

2.2.8. Spektroskopik yöntemler

2.2.8.1. NMR spektroskopisi

Kromatografik yöntemlerle saflaştırılan bileşiklerin ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, HSQC, HMBC, COSY spektrumları alındı. Referans olarak tetrametilsilan (TMS), çözücü olarak döterokloroform (CDCl_3) ve döterometanol (CD_3OD) kullanıldı.

2.2.8.2. Kütle spektroskopisi

Elektron impakt (EI), Elektrosprey iyonizasyon (ESI) yöntemleri kullanılarak saf bileşiklerin kütle spektrumları alındı.

2.2.9. İstatistik hesaplamalar

Aktivite sonuçları 3 paralel testin ortalaması $\pm$ standart sapması olarak verildi. Paralel ölçümler arasında anlamlı bir fark görülmedi.

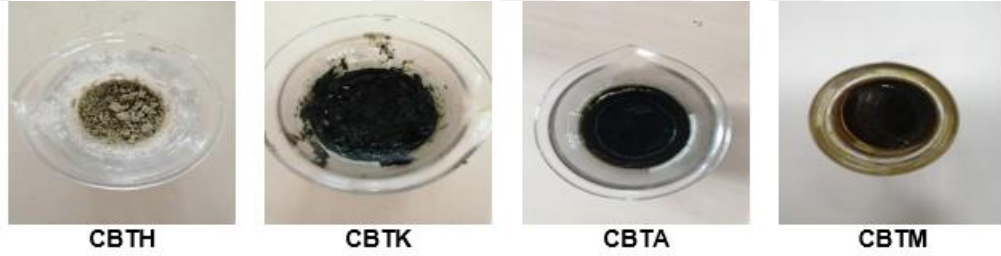
2.2.10. IC_{50} ve $\text{A}_{0,5}$ değerlerin hesaplanması

Aktivite sonuçları %50 inhibisyon konsantrasyonu (IC_{50}) olarak verildi. IC_{50} değeri örnek konsantrasyonun % inhibisyona karşı çizilen grafiğinden, $\text{A}_{0,5}$ değeri ise örnek konsantrasyonun absorbansa karşı çizilen grafikten hesaplandı.

3. BULGULAR VE İRDELEME

3.1. *C. bulbosum* Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin Miktarları

Çizelge 3.1’de *C. bulbosum*’dan elde edilen ekstrelerin kodları, miktarları ve verimleri görülmektedir. Şekil 3.1’de *C. bulbosum*’dan elde edilen ekstrelerin görüntüleri görülmektedir.



Şekil 3.1. *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen ekstrelerin görüntüleri

Çizelge 3.1. *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen ekstrelerin miktarları

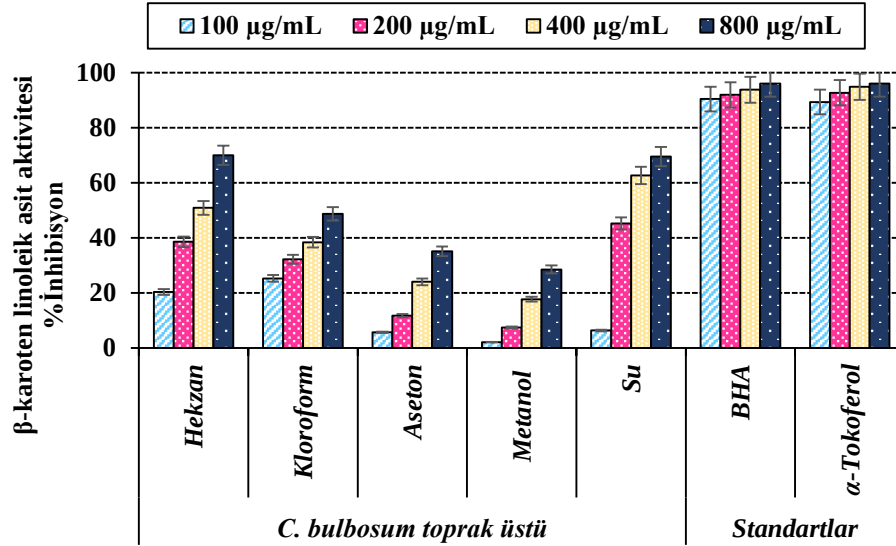
	Ekstrenin adı	Kodu	Miktarı (g)	Verim (%)
<i>C. bulbosum</i>	Hekzan ekstresi	CBTH	5,00	0,29
	Kloroform ekstresi	CBTK	11,00	0,65
	Aseton ekstresi	CBTA	14,10	0,84
	Metanol ekstresi	CBTM	125,40	7,48
	Su eksteresi	CBTS	184,70	10,86

3.2. *Chaerophyllum bulbosum* Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerinin Antioksidan Aktivite Sonuçları

3.2.1. β -Karoten renk açılım yöntemi sonuçları (lipit peroksidasyon inhibisyon aktivitesi)

β -karoten renk açılımı yöntemi kullanılarak, *C. bulbosum*’den elde edilen hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su ekstrlerinin toplam antioksidan aktivitesi (lipit

peroksidasyonu inhibisyon aktivitesi) belirlenmiştir. Şekil 3.2 ve Çizelge 3.2’de ekstrelerin ve standart antioksidanların β -karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenen toplam antioksidan aktiviteleri verilmektedir. Sonuçlar bitki ekstrelerinin % inhibisyon değerleri ile IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) değerleri şeklinde verilmektedir.



Şekil 3.2. *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen ekstrelerin β -karoten renk açılımı yöntemiyle lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi

Çizelge 3.2. *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen ekstrelerin β -karoten renk açılımı yöntemiyle lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi^a

		β -karoten linoleik Asit Aktivitesi				
Ekstreler		100 $\mu\text{g/mL}$	200 $\mu\text{g/mL}$	400 $\mu\text{g/mL}$	800 $\mu\text{g/mL}$	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
<i>C. bulbosum</i>	Hekzan	20,28±1,85	38,55±1,19	50,85±1,60	69,96±0,12	381,95±0,41
	Kloroform	25,23±3,47	32,14±1,37	38,35±1,44	48,73±1,63	>800
	Aseton	5,65±0,21	11,68±0,36	23,97±1,54	35,12±1,05	>800
	Metanol	2,10±2,47	7,38±0,79	17,64±0,80	28,50±1,30	>800
	Su	6,30±2,90	45,19±2,75	62,64±1,06	69,52±0,79	178,45±0,34
Standartlar	BHA	90,39±0,37	91,91±0,38	93,79±1,16	96,01±1,18	1,34±0,04
	α -Tokoferol	89,32±0,54	92,70±0,69	94,88±0,55	96,04±0,58	2,10±0,08

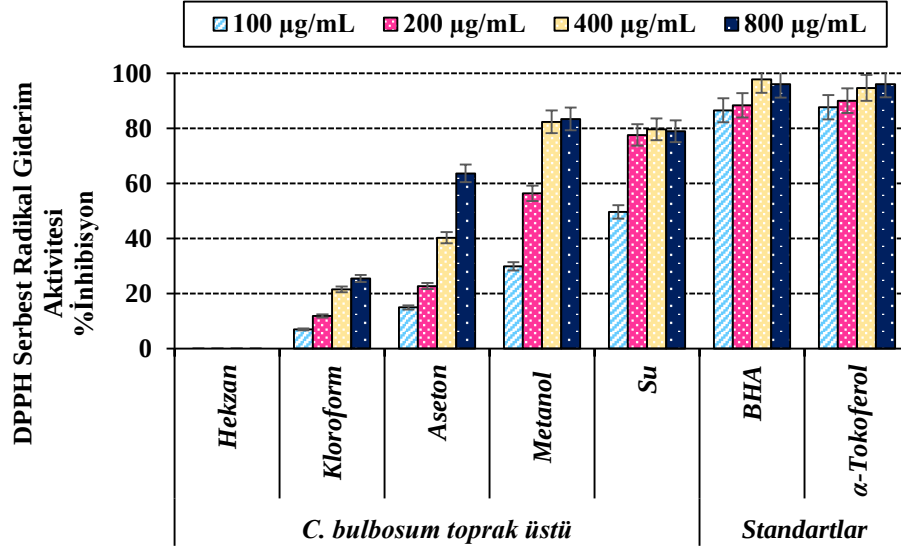
^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verildi.

C. bulbosum’dan elde edilen hekzan ekstresinin 381,95±0,41 $\mu\text{g/mL}$ IC_{50} değeri ile yüksek lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesini gösterdiği belirlenmiştir.

3.2.3. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi sonuçları

DPPH yöntemi kullanılarak, *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su ekstrelerinin serbest radikal giderim aktiviteleri belirlenmiştir.

Şekil 3.3 ve Çizelge 3.3’de bitki ekstralarının ve standart antioksidanların DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri verilmektedir. Sonuçlar bitki ekstralarının % inhibisyon değerleri ile IC₅₀ (µg/mL) değerleri şeklinde verilmektedir (Çizelge 3.3).



Şekil 3.3. *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen ekstraların DPPH serbest radikali giderim aktivitesi

Çizelge 3.3. *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen ekstraların DPPH serbest radikali giderim aktivitesi^a

		DPPH' Aktivitesi				
Ekstreler		100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL	IC ₅₀ (µg/mL)
<i>C. bulbosum</i>	Hekzan	_b	_b	_b	_b	>800
	Kloroform	7,02±0,60	11,83±0,27	21,50±0,34	25,47±0,93	>800
	Aseton	14,96±0,65	22,74±0,90	40,30±1,55	63,65±1,21	601,23±0,82
	Metanol	29,87±0,41	56,40±0,02	82,37±1,54	83,46±0,21	196,95±0,10
	Su	49,66±0,99	77,62±0,58	79,68±0,20	78,65±0,06	61,55±0,12
Standartlar	BHA	86,58±0,02	88,36±0,29	97,79±0,15	96,05±0,08	19,76±0,36
	α-Tokoferol	87,70±0,12	90,07±0,52	94,74±0,15	96,12±0,42	37,18±0,41

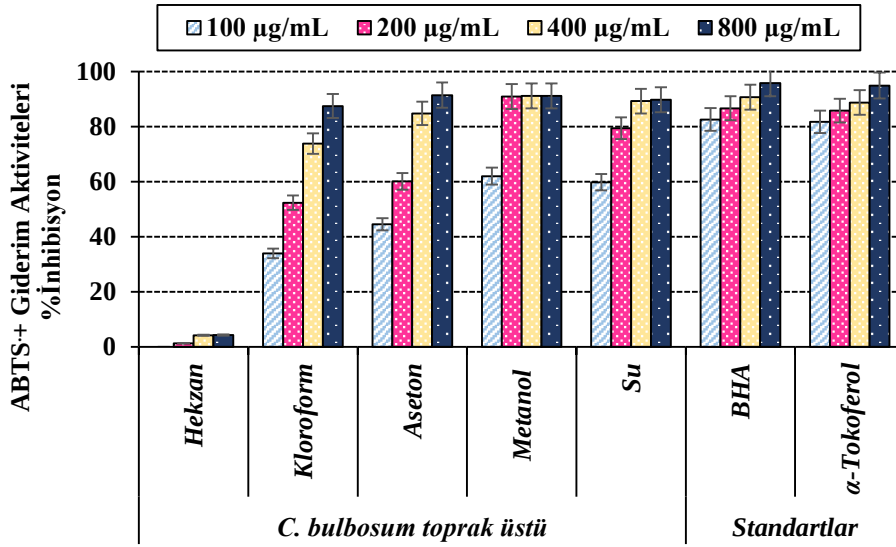
^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verildi. $p < 0.05$.

^b Aktivite yok.

C. bulbosum’dan elde edilen ekstraların DPPH serbest radikal giderim sonuçları incelendiğinde; 61,55±0,12 µg/mL IC₅₀ değeri ile su ekstresinin en yüksek aktiviteyi gösterdiği belirlendi. Bunu metanol ekstresi (IC₅₀: 196,95±0,10 µg/mL) takip etmektedir.

3.2.4. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi sonuçları

ABTS yöntemi kullanılarak, *C. bulbosum*'den elde edilen hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su ekstralarının radikal giderim aktiviteleri belirlendi. Şekil 3.4 ve Çizelge 3.4'de bitki ekstralarının ve standart antioksidanların ABTS katyon radikali giderim aktiviteleri verilmektedir. Sonuçlar bitki ekstralarının % inhibisyon değerleri ile IC₅₀ (µg/mL) değerleri şeklinde verilmektedir (Çizelge 3.4).



Şekil 3.4. *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen ekstraların ABTS katyon radikali giderim aktivitesi

Çizelge 3.4. *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen ekstraların ABTS katyon radikali giderim aktivitesi^a

		ABTS ⁺ Aktivitesi				
Ekstreler		100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL	IC ₅₀ (µg/mL)
<i>C. bulbosum</i>	Hekzan	^b	1,30±0,84	4,24±1,60	4,30±1,37	>800
	Kloroform	33,98±0,23	52,35±0,42	73,89±0,44	87,52±0,15	167,38±0,39
	Aseton	44,57±1,05	60,15±1,01	84,82±0,61	91,45±0,25	133,97±0,45
	Metanol	62,04±1,13	90,99±0,08	91,18±0,04	91,21±0,10	79,20±0,10
	Su	59,82±1,37	79,42±0,20	89,32±0,15	89,81±0,31	66,72±0,26
Standartlar	BHA	82,63±0,02	86,70±0,10	90,75±0,05	95,89±0,10	11,76±0,09
	α-Tokoferol	81,81±0,16	85,83±0,12	88,79±0,06	94,96±0,53	38,46±0,54

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verildi. $p < 0.05$.

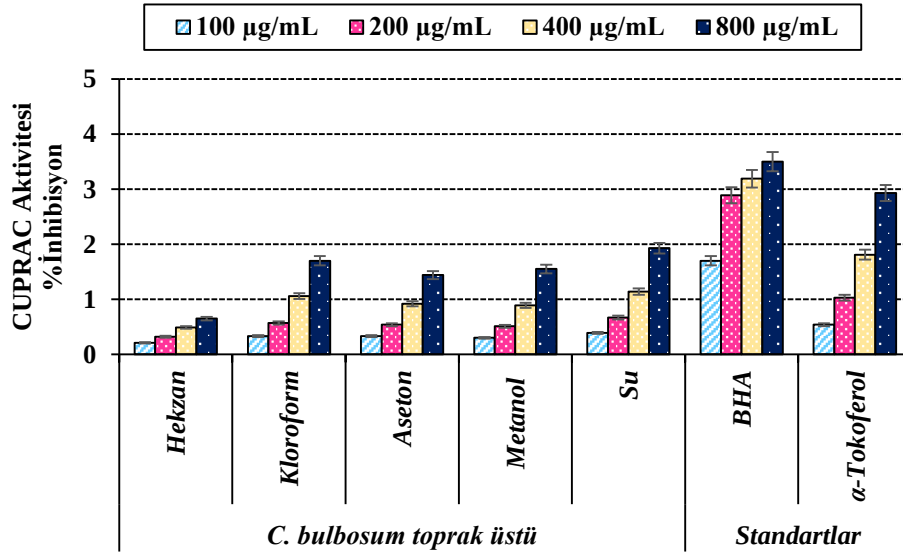
^b Aktivite yok.

C. bulbosum'dan elde edilen su ekstresinin 66,72±0,26 µg/mL IC₅₀ değeri ile en yüksek ABTS katyon radikal giderim aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. *C. bulbosum*'dan elde edilen metanol ekstresinin 200 ve 400 µg/mL konsantrasyonlarda standart olarak kullanılan BHA ve α-tokoferole göre daha yüksek aktivite gösterdiği

belirlendi. Ayrıca *C. bulbosum*'dan elde edilen aseton ekstresi 200, 400 ve 800 µg/mL konsantrasyonlarda kullanılan standartlara yakın aktivite göstermektedir.

3.2.5. Cu (II) indirgeme aktivitesi (CUPRAC) yöntemi sonuçları

CUPRAC yöntemi kullanılarak, *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su ekstraktlarının Cu²⁺ indirgeme gücü aktivitesi belirlenmiştir. Şekil 3.5 ve Çizelge 3.5'da bitki ekstraktlarının ve standart antioksidanların Cu²⁺ indirgeme gücü aktivitesi verilmektedir. Sonuçlar bitki ekstraktlarının absorbans değeri ve A_{0,50} (µg/mL) değerleri şeklinde verilmiştir.



Şekil 3.5. *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen ekstraktların CUPRAC yöntemiyle Cu²⁺ indirgeme gücü aktivitesi

Çizelge 3.5. *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen ekstraktların CUPRAC yöntemiyle Cu²⁺ indirgeme gücü aktivitesi^a

		CUPRAC Aktivitesi				A _{0,50} (µg/mL)
Ekstreler		100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL	
<i>C. bulbosum</i>	Hekzan	0,21±0,01	0,32±0,03	0,49±0,04	0,65±0,06	416,66±0,53
	Kloroform	0,33±0,00	0,57±0,02	1,06±0,02	1,70±0,02	172,91±0,38
	Aseton	0,33±0,00	0,54±0,01	0,92±0,03	1,44±0,05	180,00±0,19
	Metanol	0,30±0,00	0,51±0,01	0,89±0,00	1,55±0,16	195,38±0,11
	Su	0,39±0,01	0,67±0,01	1,14±0,02	1,93±0,01	169,44±0,08
Standartlar	BHA	1,70±0,05	2,89±0,41	3,19±0,03	3,50±0,04	24,42±0,69
	α-Tokoferol	0,54±0,01	1,03±0,03	1,81±0,11	2,93±0,16	89,47±0,87

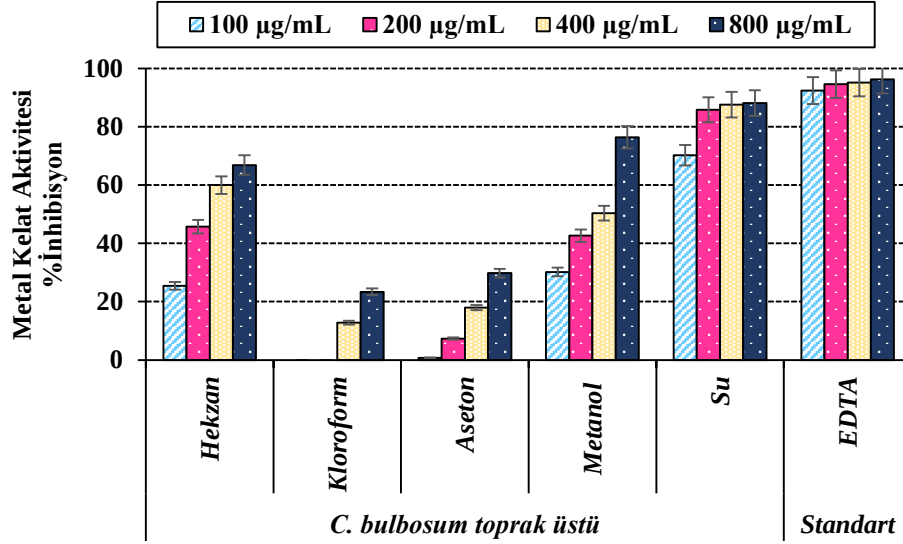
^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verildi. $p < 0.05$.

^b Aktivite yok.

C. bulbosum'un Cu^{2+} indirgeme gücü kapasitesi en yüksek olan ekstralarının $169,44 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$ $A_{0,50}$ değeri ile su ekstresi, $172,91 \pm 0,38 \mu\text{g/mL}$ $A_{0,50}$ değeri ile kloroform ekstresi ve $180,00 \pm 0,19 \mu\text{g/mL}$ $A_{0,50}$ değeri ile aseton ekstresi olduğu belirlendi.

3.2.6. Metal bağlama aktivitesi yöntemi sonuçları

Fe^{2+} -Ferrin kompleksi yöntemi kullanılarak *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su ekstralarının metal bağlama aktivitesi belirlendi. Şekil 3.6 ve Çizelge 3.6'de bitki ekstralarının ve standart antioksidanın metal bağlama aktivitesi verilmektedir. Sonuçlar bitki ekstralarının % inhibisyon değerleri ile IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) değerleri şeklinde verilmektedir (Çizelge 3.6).



Şekil 3.6. *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen ekstraların Fe^{2+} -Ferrin yöntemiyle metal bağlama aktivitesi

Çizelge 3.6. *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen ekstraların Fe^{2+} -Ferrin yöntemiyle metal bağlama aktivitesi^a

		Metal Kelat Aktivitesi				
	Ekstreler	100 μg/mL	200 μg/mL	400 μg/mL	800 μg/mL	IC ₅₀ (μg/mL)
<i>C. bulbosum</i>	Hekzan	25,43±1,50	45,74±0,96	60,00±1,41	66,88±0,44	313,10±0,14
	Kloroform	_{-b}	_{-b}	12,80±1,72	23,40±1,51	>800
	Aseton	0,77±0,02	7,34±0,90	18,00±1,11	29,80±1,17	>800
	Metanol	30,19±1,00	42,66±1,48	50,42±1,17	76,39±1,64	398,19±0,29
	Su	70,28±1,82	85,89±0,31	87,64±0,70	88,18±0,03	65,91±0,36
Standart	EDTA	92,46±1,40	94,65±0,56	95,20±0,13	96,30±0,11	3,47±0,35

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verildi. $p < 0,05$.

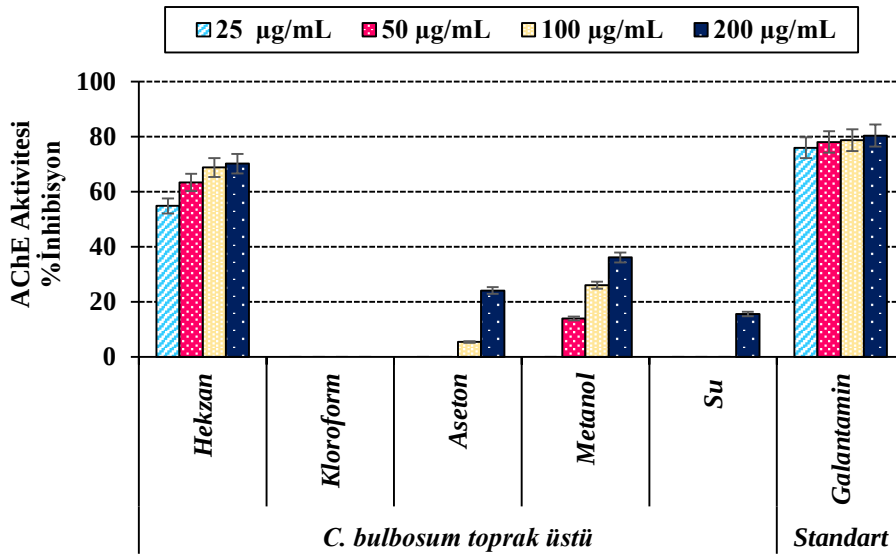
^b Aktivite yok.

C. bulbosum'dan elde edilen su ekstresinin $65,91 \pm 0,36$ $\mu\text{g/mL}$ IC_{50} değeri ile en yüksek metal bağlama aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. *C. bulbosum* toprak üstü kısmından elde edilen ekstrelerin metal bağlama aktivitesi sırasıyla su>hekzan>metanol >aseton>kloroform olarak belirlendi.

3.3. *C. bulbosum* Bitkisinin Elde Edilen Ekstrelerin Enzim İnhibisyon Aktivite Sonuçları

3.3.1. Asetilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları

Ellman yöntemi kullanılarak *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su ekstrlerinin asetilkolinesteraz inhibisyon aktiviteleri belirlenmiştir. Şekil 3.7 ve Çizelge 3.7'de bitki ekstrlerinin ve standart olarak kullanılan galantaminin asetilkolinesteraz inhibisyon aktiviteleri verilmektedir. Sonuçlar bitki ekstrlerinin % inhibisyon değerleri ile IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) değerleri şeklinde raporlandırıldı (Çizelge 3.7).



Şekil 3.7. *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen ekstrelerin AChE inhibisyon aktivitesi

Çizelge 3.7. *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen ekstrelerin AChE inhibisyon aktivitesi^a

AChE İnhibisyon Aktivitesi						
	Ekstreler	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	IC ₅₀ (µg/mL)
<i>C. bulbosum</i>	Hekzan	54,85±1,78	63,34±0,99	68,78±0,13	70,19±1,13	10,71±0,10
	Kloroform	_{-b}	_{-b}	_{-b}	_{-b}	>200
	Aseton	_{-b}	_{-b}	5,37±0,07	24,08±1,91	>200
	Metanol	_{-b}	13,86±1,41	25,98±0,27	36,10±0,26	>200
	Su	_{-b}	_{-b}	_{-b}	15,53±0,37	>200
Standart	Galantamin	75,99±0,45	78,08±1,08	78,76±0,52	80,41±0,98	4,31±0,03

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

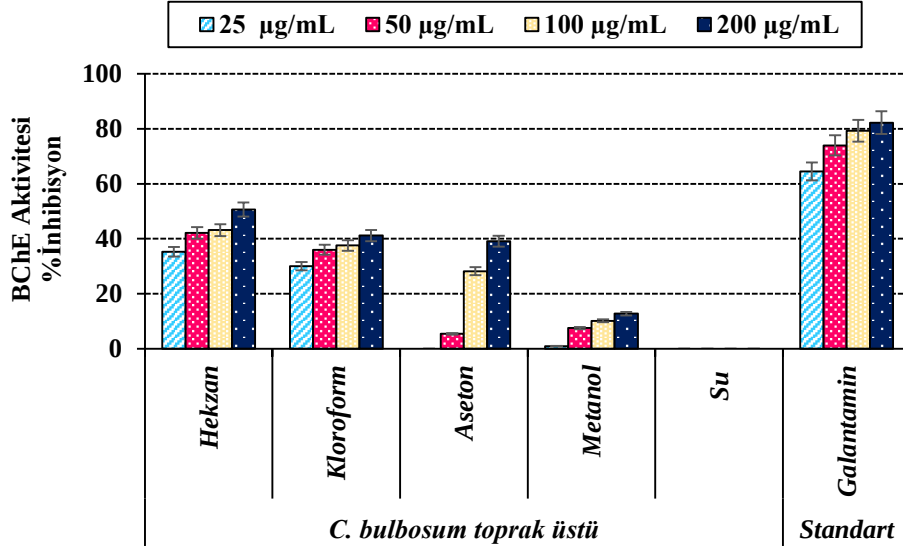
^b Aktivite yok.

Vinutha vd. (2007)'ye göre, ekstrelerin inhibisyon etkinliği üç ayrı sınıfa ayrılmaktadır: Güçlü (>% 50), orta (% 30-50), aktif olmayan veya düşük (<% 30).

C. bulbosum'dan elde edilen hekzan ekstresi 10,71±0,10 µg/mL IC₅₀ değeri ile güçlü AChE inhibisyon aktivitesi gösterirken, metanol ekstresi 200 µg/mL konsantrasyonda %36,10±0,26 inhibisyon değeri ile orta derece AChE enzim inhibisyonu aktivitesi göstermektedir.

3.3.2. Bütirilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları

Ellman yöntemi kullanılarak *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su ekstrelerinin bütirilkolinesteraz inhibisyon aktiviteleri belirlenmiştir. Şekil 3.8 ve Çizelge 3.8'da bitki ekstrelerinin ve standart olarak kullanılan galantaminin bütirilkolinesteraz inhibisyon aktiviteleri verilmektedir. Sonuçlar bitki ekstrelerinin % inhibisyon değerleri ile IC₅₀ (µg/mL) değerleri şeklinde verilmektedir (Çizelge 3.8).



Şekil 3.8. *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen ekstrelerin BChE inhibisyon aktivitesi

Çizelge 3.8. *C. bulbosum* bitkisinden elde edilen ekstrelerin BChE inhibisyon aktivitesi^a

		BChE İnhibisyon Aktivitesi				IC ₅₀ (µg/mL)
	Ekstreler	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	
<i>C. bulbosum</i>	Hekzan	35,28±1,34	42,14±2,46	43,14±1,13	50,67±1,03	>200
	Kloroform	30,07±0,03	36,03±1,50	37,56±0,52	41,17±0,99	>200
	Aseton	- ^b	5,45±0,71	28,24±1,11	39,14±0,44	>200
	Metanol	1,00±0,14	7,54±1,34	10,19±0,60	12,79±0,71	>200
	Su	- ^b	- ^b	- ^b	- ^b	>200
Standart	Galantamin	64,49±1,31	73,96±1,21	79,27±0,56	82,23±2,67	12,29±0,06

^aDeğerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

^bAktivite yok.

C. bulbosum'dan elde edilen hekzan ekstresi 200 µg/mL konsantrasyonda %50,67±1,03 inhibisyon değeri ile güçlü BChE inhibitörü olabileceği, kloroform ve aseton ekstralarının ise orta derece BChE inhibitörü olabileceği kanaatini oluşturmaktadır.

3.4. *C. bulbosum* Bitkisinin Biyoaktivite Kontrollü Fraksiyonlandırma Çalışmaları Sonuçları

3.4.1. *C. bulbosum* Hekzan Ekstresinin Biyoaktivite Kontrollü Fraksiyonlandırma Çalışmaları Sonuçları

C. bulbosum hekzan ekstresinin (CBTH) (6,00 g) biyoaktif bileşenlerini izole etmek için ana kolon yapıldı. Kolona hekzan ile başlandı. Polarite her defasında % 25 arttırılarak hekzan-kloroform, kloroform-aseton ve aseton-metanol ile kolona devam edildi. Kolon en son 0,5:99,5 asetik asit:su ile yıkandı. İnce tabaka kromatografisi ile yapılan testler sonucunda birbirine benzeyen fraksiyonlar birleştirildi. Toplam 11 fraksiyon elde edildi. CBTH11 kodlu fraksiyon yıkama fraksiyonudur. Şekil 3.9’da ana kolonun görüntüsü ve Şekil 3.10’da İTK görüntüleri görülmektedir. Elde edilen fraksiyonların miktarları ve verimleri Çizelge 3.9’de görülmektedir.



Şekil 3.9. *C. bulbosum* hekzan ekstresinin ana kolon görüntüsü



Şekil 3.10. *C. bulbosum* hekzan ekstresi fraksiyonlarının ince tabaka kromatografi görüntüleri

Çizelge 3.9. *C. bulbosum*’un hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonların miktarları

Fraksiyon kodu	Miktar	Verim
CBTH1	1,20 g	21,42
CBTH2	202 mg	3,60
CBTH3	480 mg	8,57

Fraksiyon kodu	Miktar	Verim
CBTH4	190 mg	3,39
CBTH5	372 mg	6,64
CBTH6	1,11 g	19,82
CBTH7	681 mg	12,16
CBTH8	662 mg	11,82
CBTH9	368 mg	6,57
CBTH10	47 mg	0,89
CBTH11	363 mg	6,48
Toplam	5,60 g	

C. bulbosum'dan elde ettiğimiz hekzan ekstresinden kolon kromatografisiyle elde ettiğimiz fraksiyonlarının DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri Çizelge 3.10'da; ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri Çizelge 3.11'de; Cu²⁺ indirgeme gücü aktiviteleri Çizelge 3.12'de gösterilmektedir. *C. bulbosum* toprak üstü kısmının hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonlardan CBTH1 800 µg/mL konsantrasyonda %58,17±1,01 inhibisyon değeri ile en yüksek DPPH serbest radikali giderim aktivitesini gösterirken, CBTH10 fraksiyonu 800 µg/mL konsantrasyonda %65,43±0,16 inhibisyon değeri ile en yüksek ABTS katyon radikal giderim aktivitesini göstermektedir. CUPRAC yönteminde ise, sırasıyla CBTH8, CBTH7 ve CBTH9 fraksiyonları orta derecede aktivite gösterirken, diğer fraksiyonlar düşük aktiviteye sahiptir.

Çizelge 3.10. *C. bulbosum*'un hekzan fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri^a

		DPPH* Aktivitesi			
		100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTH1	9,00±1,00	17,24±0,14	32,03±0,00	58,17±1,01
	CBTH2	0,99±0,42	2,16±0,14	12,16±0,43	27,53±1,03
	CBTH3	_b	_b	0,45±0,28	1,46±0,22
	CBTH4	_b	_b	_b	_b
	CBTH5	_b	0,70±0,01	1,09±0,25	1,38±0,14
	CBTH6	_b	0,21±0,14	1,29±0,28	18,52±1,39
	CBTH7	_b	_b	_b	_b
	CBTH8	_b	0,81±0,01	0,91±0,03	1,01±0,10
	CBTH9	2,82±0,31	3,79±0,14	4,20±1,00	5,01±0,43
	CBTH10	0,86±0,05	1,33±0,24	3,22±0,71	4,30±0,70
	CBTH11	_b	_b	_b	_b
Standartlar	BHA	86,58±0,02	88,36±0,29	97,79±0,15	96,05±0,08
	α-Tokoferol	87,70±0,12	90,07±0,52	94,74±0,15	96,12±0,42

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. (p<0,05).

^b Aktivite yok.

Çizelge 3.11. *C. bulbosum* 'un hekzan fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri^a

		ABTS ^{•+} Aktivitesi			
		100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTH1	^b	0,67±0,70	4,37±0,40	9,83±0,56
	CBTH2	^b	^b	1,55±0,37	2,52±0,18
	CBTH3	^b	^b	^b	1,00±0,20
	CBTH4	1,69±0,72	6,54±0,19	7,62±0,19	8,29±0,05
	CBTH5	^b	^b	0,74±0,13	1,01±0,21
	CBTH6	0,47±0,06	1,01±0,12	1,28±0,41	3,03±0,57
	CBTH7	^b	4,52±0,00	5,42±0,11	5,63±0,56
	CBTH8	13,36±0,15	17,63±0,58	24,40±0,62	28,55±0,62
	CBTH9	5,07±0,47	11,69±1,01	19,55±0,16	39,09±0,33
	CBTH10	9,49±0,55	19,96±0,25	34,59±0,86	65,43±0,16
	CBTH11	2,39±0,09	5,03±0,26	11,88±0,45	27,77±0,21
Standartlar	BHA	82,63±0,02	86,70±0,10	90,75±0,05	95,89±0,10
	α -Tokoferol	81,81±0,16	85,83±0,12	88,79±0,06	94,96±0,53

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

^b Aktivite yok.

Çizelge 3.12. *C. bulbosum* 'un hekzan fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların CUPRAC yöntemiyle Cu²⁺ indirgeme gücü aktiviteleri^a

		CUPRAC Aktivitesi			
		100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTH1	0,13±0,00	0,15±0,00	0,20±0,00	0,28±0,00
	CBTH2	0,13±0,00	0,14±0,00	0,16±0,00	0,19±0,00
	CBTH3	0,12±0,00	0,15±0,00	0,19±0,01	0,31±0,03
	CBTH4	0,14±0,00	0,17±0,00	0,24±0,01	0,42±0,00
	CBTH5	0,17±0,00	0,24±0,00	0,35±0,01	0,87±0,03
	CBTH6	0,20±0,00	0,30±0,00	0,47±0,01	0,59±0,03
	CBTH7	0,25±0,00	0,39±0,00	0,66±0,03	1,25±0,04
	CBTH8	0,30±0,00	0,55±0,01	1,02±0,00	1,62±0,00
	CBTH9	0,23±0,00	0,39±0,00	0,70±0,00	1,00±0,01
	CBTH10	0,13±0,00	0,19±0,00	0,33±0,00	0,71±0,02
	CBTH11	0,10±0,00	0,11±0,00	0,13±0,00	0,17±0,00
Standartlar	BHA	1,70±0,05	2,89±0,41	3,19±0,03	3,50±0,04
	α -Tokoferol	0,54±0,01	1,03±0,03	1,81±0,11	2,93±0,16

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

^b Aktivite yok.

C. bulbosum hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonlarının kolinesteraz inhibisyon aktiviteleri Çizelge 3.13 ve Çizelge 3.14'da verilmektedir. Bu fraksiyonlardan sırasıyla CBTH1, CBTH4, CBTH8, CBTH11 ve CBTH7 düşük AChE inhibisyon aktivitesi gösterirken, diğer fraksiyonlar aktivite göstermemiştir. Çalışılan bütün fraksiyonlar BChE enzimine karşı genel olarak daha yüksek inhibisyona sahiptir. En yüksek BChE inhibisyon aktivitesini CBTH8 (%54,06±1,04) ve CBTH1 (%35,05±0,12) fraksiyonları göstermektedir.

Çizelge 3.13. *C. bulbosum* 'un hekzan fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların AChE inhibisyon aktiviteleri^a

		AChE İnhibisyon Aktivitesi			
		25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTH1	_b	_b	_b	18,78±0,35
	CBTH2	_b	_b	_b	_b
	CBTH3	_b	_b	_b	_b
	CBTH4	_b	_b	_b	11,11±0,05
	CBTH5	_b	_b	_b	_b
	CBTH6	_b	_b	_b	_b
	CBTH7	_b	_b	_b	0,37±0,18
	CBTH8	_b	_b	_b	3,71±0,56
	CBTH9	_b	_b	_b	_b
	CBTH10	_b	_b	_b	_b
	CBTH11	0,11±0,01	0,87±0,12	1,26±0,41	1,98±0,68
Standart	Galantamin	75,99±0,45	78,08±1,08	78,76±0,52	80,41±0,98

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

^b Aktivite yok.

Çizelge 3.14. *C. bulbosum* 'un hekzan fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların BChE inhibisyon aktiviteleri^a

		BChE İnhibisyon Aktivitesi			
		25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTH1	26,55±0,54	28,08±0,70	29,60±0,31	35,05±0,12
	CBTH2	5,85±0,26	8,25±0,54	18,92±0,00	33,53±0,31
	CBTH3	6,72±0,23	11,08±0,51	14,57±0,85	23,28±1,23
	CBTH4	_b	_b	_b	_b
	CBTH5	_b	_b	_b	_b
	CBTH6	_b	_b	_b	_b
	CBTH7	8,44±0,18	13,72±0,66	15,48±0,00	16,07±0,29
	CBTH8	26,53±0,51	32,73±1,32	45,35±1,02	54,06±1,04
	CBTH9	10,98±0,39	15,92±0,17	19,42±0,70	33,51±0,51
	CBTH10	_b	_b	_b	3,26±0,20
	CBTH11	_b	_b	_b	_b
Standart	Galantamin	64,49±1,31	73,96±1,21	79,27±0,56	82,23±2,67

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

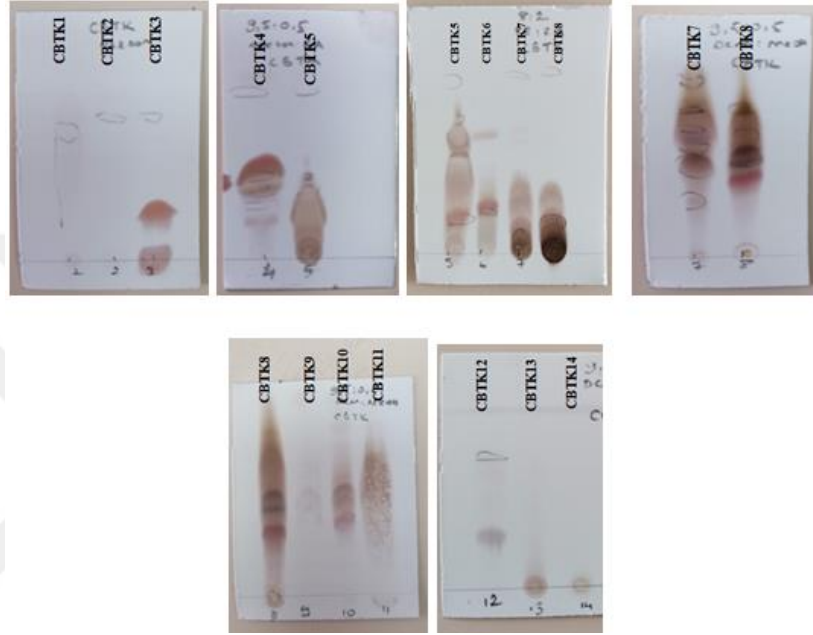
^b Aktivite yok.

3.4.2. *C. bulbosum* Bitkisinin Kloroform Ekstresinin Biyoaktivite Kontrollü Fraksiyonlandırma Çalışmaları Sonuçları

C. bulbosum kloroform ekstresi (CBTK) (10,70 g) ana kolon yapıldı. Kolona hekzan ile başlandı. Polarite her defasında %25 arttırılarak hekzan-kloroform, kloroform-aseton ve aseton-metanol ile kolona devam edildi. Kolon en son 0,5:99,5 asetik asit:su ile yıkandı. İnce tabaka kromatografisi ile yapılan testler sonucunda birbirine benzeyen fraksiyonlar birleştirildi. Toplam 15 fraksiyon elde edildi. CBTK15 kodlu fraksiyon yıkama fraksiyonudur. Şekil 3.11'de ana kolonun görüntüsü ve Şekil 3.12'de İTK görüntüleri görülmektedir. Elde edilen fraksiyonların miktarları ve verimleri Çizelge 3.15'de görülmektedir.



Şekil 3.11. *C. bulbosum* kloroform ekstresinin ana kolon görüntüsü



Şekil 3.12. *C. bulbosum* kloroform ekstresi fraksiyonlarının ince tabaka kromatografisi görüntüleri

Çizelge 3.15. *C. bulbosum*'un kloroform ekstresinden elde edilen fraksiyonların miktarları

Fraksiyon kodu	Miktar	Verim (%)
CBTK1	622 mg	5,86
CBTK2	11 mg	0,10
CBTK3	170 mg	1,60
CBTK4	211 mg	1,99
CBTK5	620 mg	5,84
CBTK6	2,79 g	26,32
CBTK7	180 mg	1,69
CBTK8	1,12 g	10,56
CBTK9	43 mg	0,40
CBTK10	357 mg	3,36
CBTK11	556 mg	5,24
CBTK12	2,19 g	20,66
CBTK13	176 mg	1,66
CBTK14	533 mg	5,02
CBTK15	1,06 g	10,00
Toplam	10,60 g	

C. bulbosum kloroform ekstresinden elde edilen fraksiyonlarının DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri Çizelge 3.16’da; ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri Çizelge 3.17’de; Cu^{2+} indirgeme gücü aktiviteleri Çizelge 3.18’de gösterilmektedir. *C. bulbosum* toprak üstü kısmının kloroform ekstresinden elde edilen CBTk13 fraksiyonu çalışılan diğer fraksiyonlar arasında en yüksek DPPH serbest radikali (%54,09±1,28), ABTS katyon radikal giderim (%90,26±0,38) ve Cu^{2+} indirgeme gücü (%1,79±0,02) aktivitesine sahiptir. Ayrıca bu fraksiyon 400 µg/mL konsantrasyonda %89,32±0,38 inhibisyon değeri ile α -tokoferolden daha yüksek ABTS katyon radikal giderim aktivitesi göstermektedir.

Çizelge 3.16. *C. bulbosum*’un kloroform fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri^a

		DPPH [•] Aktivitesi			
		100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTK1	4,32±0,41	11,65±1,19	25,13±0,98	46,57±0,56
	CBTK3	1,03±0,60	1,42±0,49	10,86±0,83	25,23±0,14
	CBTK4	1,09±0,00	6,56±0,28	10,38±0,69	18,94±1,90
	CBTK5	0,83±0,11	1,48±0,02	2,07±0,00	2,66±0,00
	CBTK6	_b	_b	_b	1,13±0,51
	CBTK7	1,74±0,23	5,45±0,84	8,48±0,84	15,63±0,29
	CBTK8	2,95±0,12	3,79±0,43	4,23±0,42	14,31±0,43
	CBTK9	_b	_b	1,87±0,04	14,21±0,46
	CBTK10	8,45±0,14	13,00±0,57	13,27±0,23	22,17±0,77
	CBTK11	9,21±0,00	13,37±0,63	22,32±0,82	33,60±0,54
	CBTK12	5,79±0,83	11,73±0,59	14,94±0,29	21,91±0,41
	CBTK13	10,33±0,14	16,93±0,31	35,51±0,63	54,09±1,28
	CBTK14	7,43±0,31	18,12±0,43	25,26±0,59	43,33±0,43
	CBTK15	_b	_b	1,08±0,42	3,62±0,18
Standartlar	BHA	86,58±0,02	88,36±0,29	97,79±0,15	96,05±0,08
	α -Tokoferol	87,70±0,12	90,07±0,52	94,74±0,15	96,12±0,42

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

^b Aktivite yok.

Çizelge 3.17. *C. bulbosum*’un kloroform fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri^a

		ABTS ^{•+} Aktivitesi			
		100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTK1	1,01±0,19	1,42±0,45	2,09±0,34	9,78±0,19
	CBTK3	0,47±0,01	1,55±0,38	2,36±0,71	2,49±0,19
	CBTK4	9,10±0,71	20,16±0,76	26,55±0,33	37,78±0,95
	CBTK5	0,74±0,04	1,82±0,38	2,76±0,10	2,90±0,53
	CBTK6	11,32±0,38	19,33±0,16	32,72±0,16	48,53±0,16
	CBTK7	25,37±0,00	40,08±0,17	48,86±0,31	56,32±0,93
	CBTK8	29,32±0,58	42,78±0,09	58,81±0,34	73,00±0,93
	CBTK9	22,63±0,16	28,00±0,24	51,60±0,16	54,97±0,16
	CBTK10	41,91±0,71	54,34±0,22	65,43±0,47	65,65±0,33
	CBTK11	42,23±0,31	57,60±0,46	69,99±0,50	75,48±0,46

Çizelge 3.17. (devamı)

		ABTS ^{•+} Aktivitesi			
		100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTK12	35,48±1,09	44,41±0,00	60,25±0,91	76,31±1,07
	CBTK13	51,83±0,92	81,04±0,62	89,32±0,38	90,26±0,38
	CBTK14	48,41±0,50	63,81±0,74	87,57±0,16	89,98±0,45
	CBTK15	13,84±0,87	19,94±0,24	31,39±0,71	55,79±0,64
Standartlar	BHA	82,63±0,02	86,70±0,10	90,75±0,05	95,89±0,10
	α -Tokoferol	81,81±0,16	85,83±0,12	88,79±0,06	94,96±0,53

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

^b Aktivite yok.

Çizelge 3.18. *C. bulbosum*'un kloroform fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların CUPRAC yöntemiyle Cu²⁺ indirgeme gücü aktiviteleri^a

		CUPRAC Aktivitesi			
		100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTK1	0,30±0,01	0,48±0,00	0,74±0,01	1,22±0,00
	CBTK3	0,14±0,00	0,17±0,00	0,26±0,00	0,45±0,00
	CBTK4	0,33±0,01	0,53±0,00	0,87±0,01	1,46±0,03
	CBTK5	0,23±0,00	0,38±0,00	0,56±0,00	1,01±0,02
	CBTK6	0,27±0,01	0,52±0,02	0,99±0,00	1,51±0,02
	CBTK7	0,27±0,00	0,48±0,03	1,02±0,02	1,44±0,00
	CBTK8	0,29±0,00	0,53±0,00	0,95±0,02	1,45±0,03
	CBTK9	0,50±0,00	0,75±0,01	1,11±0,01	1,41±0,00
	CBTK10	0,40±0,01	0,67±0,01	1,14±0,00	1,17±0,02
	CBTK11	0,27±0,00	0,48±0,00	0,84±0,00	1,48±0,01
	CBTK12	0,21±0,00	0,31±0,00	0,53±0,00	0,83±0,00
	CBTK13	0,27±0,00	0,47±0,00	1,04±0,00	1,79±0,02
	CBTK14	0,29±0,00	0,50±0,00	0,99±0,03	1,56±0,00
	CBTK15	0,14±0,02	0,23±0,01	0,20±0,01	0,27±0,00
Standartlar	BHA	1,70±0,05	2,89±0,41	3,19±0,03	3,50±0,04
	α -Tokoferol	0,54±0,01	1,03±0,03	1,81±0,11	2,93±0,16

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

^b Aktivite yok.

C. bulbosum kloroform ekstresinden elde edilen fraksiyonlarının kolinesteraz inhibisyon aktiviteleri Çizelge 3.19 ve Çizelge 3.20'de verilmektedir. *C. bulbosum* toprak üstü kloroform ekstresinden elde edilen sırasıyla CBTK5, CBTK4, CBTK10, CBTK15, CBTK3 ve CBTK6 fraksiyonları düşük AChE inhibisyonu gösterirken, diğer fraksiyonlar aktivite göstermemiştir. İlâveten, CBTK6 ve CBTK10 fraksiyonları 200 µg/mL konsantrasyonda %77,80±0,30 ve %65,82±0,64 inhibisyon değerleri ile en yüksek BChE inhibisyon aktivitesine sahiptir.

Çizelge 3.19. *C. bulbosum* 'un kloroform fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların AChE inhibisyon aktiviteleri^a

		AChE İnhibisyon Aktivitesi			
		25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTK1	_ b	_ b	_ b	_ b
	CBTK3	_ b	_ b	0,52±0,01	4,76±0,12
	CBTK4	_ b	_ b	_ b	10,40±0,19
	CBTK5	8,99±0,10	11,81±0,42	15,34±0,23	16,04±0,38
	CBTK6	_ b	0,84±0,14	1,32±0,23	3,30±0,17
	CBTK7	_ b	_ b	_ b	_ b
	CBTK8	_ b	_ b	_ b	_ b
	CBTK9	_ b	_ b	_ b	_ b
	CBTK10	3,89±0,01	4,59±0,37	5,29±0,10	5,52±0,26
	CBTK11	_ b	_ b	_ b	_ b
	CBTK12	_ b	_ b	_ b	_ b
	CBTK13	_ b	_ b	_ b	_ b
	CBTK14	_ b	_ b	_ b	_ b
	CBTK15	_ b	0,68±0,03	3,37±0,55	5,48±1,01
Standart	Galantamin	75,99±0,45	78,08±1,08	78,76±0,52	80,41±0,98

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

^b Aktivite yok.

Çizelge 3.20. *C. bulbosum* 'un kloroform fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların BChE inhibisyon aktiviteleri^a

		BChE İnhibisyon Aktivitesi			
		25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTK1	_ b	_ b	_ b	_ b
	CBTK3	_ b	_ b	_ b	_ b
	CBTK4	_ b	_ b	_ b	_ b
	CBTK5	_ b	5,93±0,15	9,50±0,12	16,62±0,71
	CBTK6	39,57±0,88	47,41±1,07	65,38±0,92	77,80±0,30
	CBTK7	20,27±0,22	33,49±0,71	48,37±0,34	57,42±0,51
	CBTK8	23,28±0,06	32,45±0,34	41,01±0,51	51,51±1,05
	CBTK9	11,10±0,56	18,76±0,71	28,59±1,05	47,53±1,19
	CBTK10	35,83±0,09	38,84±0,85	51,87±0,56	65,82±0,64
	CBTK11	22,01±0,95	32,65±0,17	40,55±0,62	48,12±0,40
	CBTK12	6,65±0,16	12,03±0,31	33,64±1,02	42,74±0,58
	CBTK13	4,57±0,11	6,33±0,30	15,10±0,31	22,78±0,34
	CBTK14	_ b	1,50±0,01	3,69±0,12	13,13±0,62
	CBTK15	_ b	_ b	_ b	_ b
Standart	Galantamin	64,49±1,31	73,96±1,21	79,27±0,56	82,23±2,67

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

^b Aktivite yok.

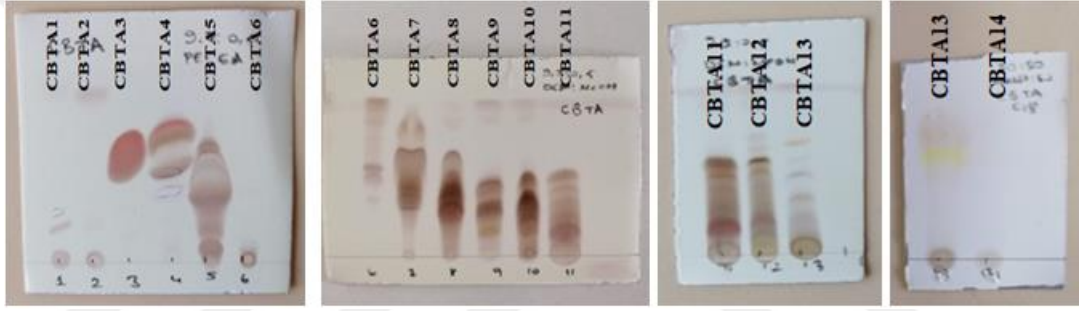
3.4.3. *C. bulbosum* Bitkisinin Aseton Ekstresinin Biyoaktivite Kontrollü Fraksiyonlandırma Çalışmaları Sonuçları

C. bulbosum aseton ekstresine (CBTA) (10,00 g) ana kolon yapıldı. Kolona hekzan ile başlandı. Polarite her defasında %25 arttırılarak hekzan-kloroform, kloroform-aseton ve aseton-metanol ile kolona devam edildi. Kolon en son 0,5:99,5 asetik asit:su ile yıkandı. İnce tabaka kromatografisi ile yapılan testler sonucunda birbirine benzeyen

fraksiyonlar birleştirildi. Toplam 15 fraksiyon elde edildi. CBTA15 kodlu fraksiyon yıkama fraksiyonudur. Şekil 3.13’de ana kolon görüntüsü ve Şekil 3.14’de İTK görüntüleri görülmektedir. Elde edilen fraksiyonların miktarları ve verimleri Çizelge 3.21’de görülmektedir.



Şekil 3.13. *C. bulbosum* aseton ekstresinin ana kolon görüntüsü



Şekil 3.14. *C. bulbosum* aseton ekstresi fraksiyonlarının ince tabaka kromatografi görüntüleri

Çizelge 3.21. *C. bulbosum*’un aseton ekstresinden elde edilen fraksiyonların miktarları

Fraksiyon kodu	Miktar	Verim
CBTA1	27 mg	0,33
CBTA2	6 mg	0,07
CBTA3	70 mg	0,87
CBTA4	52 mg	0,64
CBTA5	200 mg	2,49
CBTA6	725 mg	9,05
CBTA7	187 mg	2,33
CBTA8	391 mg	4,88
CBTA9	100 mg	1,24
CBTA10	187 mg	2,33
CBTA11	1,25 g	15,63
CBTA12	639 mg	7,97
CBTA13	2,52 g	31,46
CBTA14	301 mg	3,75
CBTA15	1,30 g	16,22
Toplam	8,01 g	

C. bulbosum aseton ekstresinden elde edilen fraksiyonlarının DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri Çizelge 3.22’de; ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri Çizelge

3.23’de; Cu²⁺ indirgeme gücü aktiviteleri Çizelge 3.24’de gösterilmektedir. *C. bulbosum* aseton ekstresinden elde edilen CBTA14 fraksiyonu hem DPPH serbest radikali giderim aktivitesi hem de ABTS katyon radikal giderim aktivitesi bakımında en aktif fraksiyon olarak belirlendi. CBTA3, CBTA5 ve CBTA6 dışındaki bütün fraksiyonlar yüksek ABTS katyon radikal giderim aktivitesi göstermektedir. Bu fraksiyonlardan CBTA14 100, 200 ve 400 µg/mL konsantrasyonlarda standartlardan daha yüksek aktiviteye sahiptir. CUPRAC yönteminde ise, CBTA4 ve CBTA9 en aktif fraksiyonlar olduğu hesaplandı.

Çizelge 3.22. *C. bulbosum* ’un aseton fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri^a

		DPPH• Aktivitesi			
		100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTA3	_b	_b	_b	_b
	CBTA4	3,88±0,20	11,87±0,71	17,20±0,71	30,52±0,29
	CBTA5	0,53±0,01	1,01±0,58	1,28±0,66	3,60±0,12
	CBTA6	_b	_b	_b	1,14±0,57
	CBTA7	4,82±0,23	10,78±0,85	11,52±0,81	24,25±0,20
	CBTA8	11,32±0,12	16,88±0,65	27,33±0,51	41,26±0,84
	CBTA9	12,53±0,31	22,97±0,14	29,17±0,14	43,13±0,71
	CBTA10	7,67±0,43	12,09±0,43	18,08±0,71	29,67±0,00
	CBTA11	3,82±0,23	11,25±0,91	14,51±0,14	24,45±0,20
	CBTA12	15,41±0,28	23,64±0,85	37,61±0,71	36,53±0,71
	CBTA13	15,19±0,74	29,35±0,48	54,59±1,15	81,22±0,21
	CBTA14	21,45±0,15	44,65±0,32	74,76±0,96	76,43±0,30
	CBTA15	4,50±0,69	5,48±0,41	12,01±0,18	23,82±0,62
Standartlar	BHA	86,58±0,02	88,36±0,29	97,79±0,15	96,05±0,08
	α-Tokoferol	87,70±0,12	90,07±0,52	94,74±0,15	96,12±0,42

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. (p<0,05).

^b Aktivite yok.

Çizelge 3.23. *C. bulbosum* ’un aseton fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri^a

		ABTS• ⁺ Aktivitesi			
		100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTA3	4,60±0,67	5,61±0,58	8,08±0,63	9,39±0,77
	CBTA4	41,65±1,08	52,37±0,77	62,36±0,55	66,87±0,31
	CBTA5	6,05±0,52	10,60±0,15	15,75±0,15	25,01±0,62
	CBTA6	18,08±0,55	25,81±0,31	36,01±0,92	47,94±1,23
	CBTA7	35,50±0,50	47,61±0,46	55,10±0,61	65,44±1,09
	CBTA8	46,64±0,65	56,11±0,33	65,22±0,76	73,68±0,88
	CBTA9	54,88±0,43	63,56±0,75	71,15±0,57	78,96±0,31
	CBTA10	43,38±0,78	54,66±0,31	61,68±0,88	65,08±0,61
	CBTA11	22,89±0,15	37,42±0,15	52,82±0,15	65,29±0,53
	CBTA12	43,89±0,66	56,69±0,13	68,33±0,31	85,32±0,63
	CBTA13	42,64±0,81	75,61±0,32	90,53±0,52	91,12±0,26
	CBTA14	83,39±0,32	90,08±0,13	91,05±0,00	91,27±0,00
	CBTA15	18,32±0,25	35,52±0,97	63,19±0,76	81,66±0,00

Çizelge 3.23^(devam)

		ABTS ^{•+} Aktivitesi			
		100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
Standartlar	BHA	82,63±0,02	86,70±0,10	90,75±0,05	95,89±0,10
	α -Tokoferol	81,81±0,16	85,83±0,12	88,79±0,06	94,96±0,53

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

^b Aktivite yok.

Çizelge 3.24. *C. bulbosum* 'un aseton fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların CUPRAC yöntemiyle Cu²⁺ indirgeme gücü aktiviteleri^a

		CUPRAC Aktivitesi			
		100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTA3	0,23±0,00	0,37±0,00	0,57±0,00	0,84±0,00
	CBTA4	0,60±0,01	1,05±0,03	1,80±0,02	2,46±0,02
	CBTA5	0,32±0,00	0,51±0,00	0,82±0,01	1,16±0,00
	CBTA6	0,37±0,00	0,70±0,00	1,14±0,00	1,46±0,00
	CBTA7	0,37±0,00	0,85±0,01	1,23±0,00	1,69±0,00
	CBTA8	0,39±0,00	0,68±0,00	1,35±0,03	1,90±0,02
	CBTA9	0,40±0,00	0,68±0,02	1,29±0,01	2,09±0,02
	CBTA10	0,26±0,00	0,41±0,00	0,67±0,00	1,25±0,02
	CBTA11	0,19±0,00	0,29±0,00	0,49±0,01	0,88±0,01
	CBTA12	0,30±0,01	0,56±0,00	0,99±0,02	1,69±0,00
	CBTA13	0,22±0,00	0,36±0,01	0,63±0,01	1,16±0,00
	CBTA14	0,29±0,00	0,47±0,00	0,92±0,02	1,44±0,03
	CBTA15	0,15±0,00	0,20±0,00	0,30±0,00	0,49±0,00
Standartlar	BHA	1,70±0,05	2,89±0,41	3,19±0,03	3,50±0,04
	α -Tokoferol	0,54±0,01	1,03±0,03	1,81±0,11	2,93±0,16

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

^b Aktivite yok.

C. bulbosum aseton ekstresinden elde edilen fraksiyonlarının kolinesteraz inhibisyon aktiviteleri Çizelge 3.25 ve Çizelge 3.26'de verilmektedir. *C. bulbosum* toprak üstü aseton ekstresinden elde edilen CBTA4 (%52,24±0,17) fraksiyonu en yüksek AChE inhibisyon aktivitesini gösterirken, CBTA7 (%68,77±0,66) fraksiyonu en yüksek BChE inhibisyon aktivitesine sahiptir.

Çizelge 3.25. *C. bulbosum* 'un aseton fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların AChE inhibisyon aktiviteleri^a

		AChE İnhibisyon Aktivitesi			
		25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTA3	_{-b}	_{-b}	10,00±0,65	20,98±0,33
	CBTA4	_{-b}	15,09±0,78	25,71±0,33	52,24±0,17
	CBTA5	_{-b}	6,68±0,95	12,97±0,36	29,36±0,83
	CBTA6	_{-b}	_{-b}	_{-b}	_{-b}
	CBTA7	_{-b}	_{-b}	_{-b}	1,95±0,37
	CBTA8	_{-b}	_{-b}	_{-b}	3,61±0,08
	CBTA9	_{-b}	_{-b}	_{-b}	0,52±0,14
	CBTA10	_{-b}	_{-b}	_{-b}	_{-b}
	CBTA11	_{-b}	_{-b}	_{-b}	_{-b}

Çizelge 3.25. (devam)

		AChE İnhibisyon Aktivitesi			
		25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTA12	_b	1,00±0,07	3,73±0,18	9,31±0,49
	CBTA13	_b	_b	_b	_b
	CBTA14	_b	_b	_b	_b
	CBTA15	_b	_b	_b	_b
Standart	Galantamin	75,99±0,45	78,08±1,08	78,76±0,52	80,41±0,98

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

^b Aktivite yok.

Çizelge 3.26. *C. bulbosum* 'un aseton fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların BChE inhibisyon aktiviteleri^a

		BChE İnhibisyon Aktivitesi			
		25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTA3	_b	_b	_b	_b
	CBTA4	5,45±0,10	5,89±0,22	6,54±0,49	8,96±0,87
	CBTA5	2,60±0,16	5,08±0,25	16,53±1,40	29,80±0,00
	CBTA6	15,11±0,83	23,33±0,50	27,08±0,49	43,64±0,19
	CBTA7	31,19±1,00	55,03±0,50	56,56±0,00	68,77±0,66
	CBTA8	21,92±0,16	25,09±1,00	35,66±0,81	48,10±0,00
	CBTA9	17,69±0,17	31,43±0,95	46,11±0,17	59,14±0,14
	CBTA10	22,39±0,17	24,03±0,83	33,31±0,00	38,00±0,41
	CBTA11	5,36±0,33	18,28±0,61	21,10±1,33	39,77±0,83
	CBTA12	9,12±0,40	13,11±0,11	21,21±0,17	33,66±0,83
	CBTA13	8,77±0,48	13,29±0,22	15,38±0,15	22,33±0,23
	CBTA14	7,26±0,70	23,49±0,29	37,29±0,64	60,50±0,00
	CBTA15	_b	_b	_b	_b
Standart	Galantamin	64,49±1,31	73,96±1,21	79,27±0,56	82,23±2,67

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

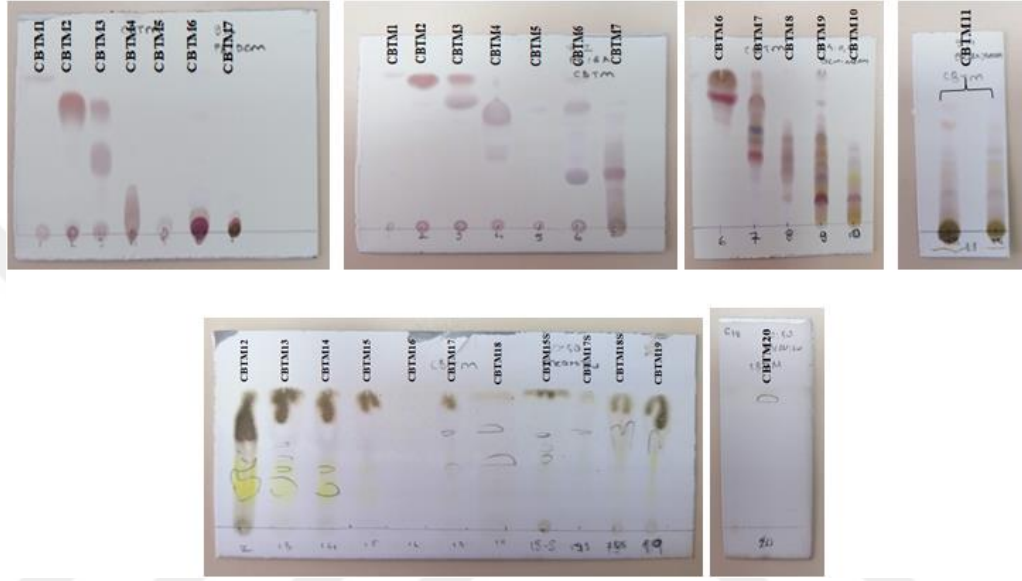
^b Aktivite yok.

3.4.4. *C. bulbosum* Bitkisinin Metanol Ekstresinin Biyoaktivite Kontrollü Fraksiyonlandırma Çalışmaları Sonuçları

C. bulbosum metanol ekstresi (CBTM) (110,00 g) ana kolon yapıldı. Kolona hekzan ile başlandı. Polarite her defasında % 25 arttırılarak hekzan-kloroform, kloroform-aseton ve aseton-metanol ile kolona devam edildi. Kolon en son 0,5:99,5 asetik asit:su ile yıkandı. İnce tabaka kromatografisi ile yapılan testler sonucunda birbirine benzeyen fraksiyonlar birleştirildi. Toplam 27 fraksiyon elde edildi. CBTM21 ve CBTM22 kodlu fraksiyonlar yıkama fraksiyonlarıdır. Şekil 3.15'de ana kolonun görüntüsü ve Şekil 3.16'da İTK görüntüleri görülmektedir. Elde edilen fraksiyonların miktarları ve verimleri Çizelge 3.27'de görülmektedir.



Şekil 3.15. *C. bulbosum* metanol ekstresinin ana kolon görüntüsü



Şekil 3.16. *C. bulbosum* metanol ekstresi fraksiyonlarının ince tabaka kromatografi görüntüleri

Çizelge 3.27. *C. bulbosum*'un metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonların miktarları

Fraksiyon kodu	Miktar	Verim
CBTM1	14 mg	0,01
CBTM2	21 mg	0,01
CBTM3	26 mg	0,02
CBTM4	100 mg	0,09
CBTM5	11 mg	0,01
CBTM6	265 mg	0,25
CBTM7	350 mg	0,33
CBTM8	1,10 g	1,04
CBTM9	823 mg	0,77
CBTM10	300 mg	0,28
CBTM11	16,90 g	15,99
CBTM12	9,00 g	8,51
CBTM13	18,40 g	17,41
CBTM14	18,90 g	17,88
CBTM15	4,16 g	3,93
CBTM15S	600 mg	0,56
CBTM16	1,80 g	1,70
CBTM17	3,90	3,69
CBTM17S	930 mg	0,88

Çizelge 3.27. (devam)

Fraksiyon kodu	Miktar	Verim
CBTM18	1,40 g	1,32
CBTM18S	2,70 g	2,55
CBTM19	5,50 g	5,20
CBTM19S	6,00 g	5,67
CBTM20	830 mg	0,78
CBTM20S	262 mg	0,24
CBTM21	3,70 g	3,50
CBTM22	3,90 g	3,69
Toplam	105,66 g	

C. bulbosum metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonlarının DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri Çizelge 3.28’de; ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri Çizelge 3.29’da; Cu^{2+} indirgeme gücü aktiviteleri Çizelge 3.30’da gösterilmektedir. *C. bulbosum* metanol ekstresinden elde edilen CBTM6 ile CBTM15 ve CBTM16 ile CBTM19 arasındaki fraksiyonlar yüksek DPPH serbest radikali giderim aktivitesine sahiptir. CBTM4 dışındaki bütün fraksiyonların yüksek ABTS katyon radikal giderim aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca bu fraksiyonların 800 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda kullanılan standartlara yakın aktivite gösterdiği belirlendi. CUPRAC yönteminde ise, CBTM8, CBTM8, CBTM9 ve CBTM10 fraksiyonları en aktif fraksiyonlar olarak bulundu. Bu fraksiyonlar çalışılan bütün konsantrasyonlarda α - tokoferolden daha yüksek aktiviteye sahiptir.

Çizelge 3.28. *C. bulbosum*’un metanol fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri^a

		DPPH* Aktivitesi			
		100 $\mu\text{g/mL}$	200 $\mu\text{g/mL}$	400 $\mu\text{g/mL}$	800 $\mu\text{g/mL}$
Fraksiyonlar	CBTM4	_b	_b	_b	_b
	CBTM6	1,39±0,48	9,14±1,03	12,93±0,21	23,75±1,03
	CBTM7	36,89±0,55	57,51±0,32	75,49±0,15	83,52±0,21
	CBTM8	36,51±0,48	57,44±0,59	73,82±0,51	80,25±0,79
	CBTM9	39,29±0,55	57,51±0,32	75,49±0,15	83,52±0,21
	CBTM10	47,00±0,46	69,47±0,76	82,29±0,35	84,10±0,00
	CBTM11	20,50±0,57	39,75±0,91	68,40±0,88	85,11±0,20
	CBTM12	34,49±0,14	60,85±0,85	82,19±1,00	85,17±0,12
	CBTM13	41,64±0,31	50,59±0,43	67,59±0,92	85,04±0,84
	CBTM14	22,31±0,53	38,28±0,51	71,62±0,28	85,41±0,14
	CBTM15	15,77±0,13	27,34±0,20	52,80±1,00	85,64±0,23
	CBTM15S	3,85±0,18	11,74±0,37	18,61±0,63	32,74±0,00
	CBTM16	19,56±0,86	37,67±0,57	72,18±0,14	82,53±0,12
	CBTM17	17,37±0,22	41,52±1,07	67,52±0,14	84,55±0,12
	CBTM17S	13,90±1,00	27,96±0,29	56,90±0,27	77,81±0,12
	CBTM18	17,03±0,00	45,67±1,43	71,57±0,72	79,83±0,12

Çizelge 3.28. (devam)

		DPPH [•] Aktivitesi			
		100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTM18S	14,91±0,14	33,12±0,72	63,17±0,57	82,53±0,12
	CBTM19	10,56±0,00	32,07±0,24	45,87±0,43	76,42±0,01
	CBTM20	9,34±0,93	21,48±0,93	34,44±0,21	55,48±0,57
	CBTM20S	7,53±0,55	13,12±0,41	13,38±0,00	17,48±0,28
	CBTM21	10,78±0,56	29,18±0,18	39,62±0,41	65,47±0,55
	CBTM22	4,21±0,38	8,01±0,57	13,77±0,55	22,74±0,28
Standartlar	BHA	86,58±0,02	88,36±0,29	97,79±0,15	96,05±0,08
	α -Tokoferol	87,70±0,12	90,07±0,52	94,74±0,15	96,12±0,42

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

^b Aktivite yok.

Çizelge 3.29. *C. bulbosum* 'un metanol fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların ABTS kation radikal giderim aktiviteleri^a

		ABTS ^{•+} Aktivitesi			
		100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTM4	2,07±0,05	4,61±0,56	10,95±0,81	18,78±0,43
	CBTM6	38,32±0,90	58,27±0,16	61,29±0,95	84,67±0,12
	CBTM7	69,27±0,56	78,22±0,47	86,65±0,34	91,05±0,00
	CBTM8	69,12±0,98	78,07±0,75	87,13±0,16	90,60±0,00
	CBTM9	77,25±0,47	86,05±0,13	91,12±0,47	91,35±0,35
	CBTM10	76,68±0,55	86,59±0,25	90,38±0,00	91,11±0,13
	CBTM11	39,88±0,93	67,35±0,46	82,95±0,22	91,18±0,13
	CBTM12	65,35±0,46	84,81±1,39	91,26±0,00	91,26±0,00
	CBTM13	79,78±0,77	90,60±0,31	91,18±0,13	91,40±0,13
	CBTM14	47,39±0,24	82,00±0,25	90,96±0,33	91,18±0,13
	CBTM15	60,50±0,70	91,11±0,46	91,33±0,13	91,47±0,00
	CBTM15S	11,96±0,65	23,03±0,59	41,03±0,12	81,70±0,49
	CBTM16	55,75±0,96	78,55±0,00	90,29±0,60	90,74±0,23
	CBTM17	36,22±0,76	58,91±0,19	74,15±0,35	90,97±0,00
	CBTM17S	48,07±0,28	63,54±1,03	88,15±0,39	90,59±0,13
	CBTM18	45,25±1,12	67,26±0,19	81,83±0,80	90,74±0,23
	CBTM18S	51,80±0,80	72,46±0,70	89,28±0,16	90,97±0,00
	CBTM19	28,88±0,64	54,77±1,02	72,68±0,64	90,37±0,13
	CBTM20	45,36±0,32	62,36±1,28	81,19±0,79	89,16±0,00
	CBTM20S	34,90±0,60	56,06±0,15	69,77±0,44	80,57±0,22
	CBTM21	44,30±0,14	67,40±0,44	90,50±0,57	90,72±0,00
	CBTM22	13,21±0,00	29,54±1,11	52,28±1,22	74,20±0,37
Standartlar	BHA	82,63±0,02	86,70±0,10	90,75±0,05	95,89±0,10
	α -Tokoferol	81,81±0,16	85,83±0,12	88,79±0,06	94,96±0,53

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

^b Aktivite yok.

Çizelge 3.30. *C. bulbosum* 'un metanol fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların CUPRAC yöntemiyle Cu²⁺ indirgeme gücü aktiviteleri^a

		CUPRAC Aktivitesi			
		100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTM4	0,25±0,00	0,48±0,01	0,84±0,00	1,27±0,00
	CBTM6	0,45±0,00	0,77±0,00	1,27±0,01	1,91±0,01

Çizelge 3.30. (devam)

		CUPRAC Aktivitesi			
		100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTM7	0,59±0,01	1,12±0,02	2,12±0,01	3,40±0,02
	CBTM8	0,94±0,01	1,59±0,01	2,52±0,03	3,45±0,02
	CBTM9	0,64±0,02	1,20±0,00	1,97±0,01	3,07±0,02
	CBTM10	0,66±0,00	1,18±0,00	1,92±0,00	3,26±0,00
	CBTM11	0,26±0,00	0,39±0,00	0,67±0,00	1,07±0,01
	CBTM12	0,35±0,00	0,65±0,02	1,12±0,02	2,16±0,01
	CBTM13	0,28±0,00	0,43±0,00	0,74±0,01	1,24±0,01
	CBTM14	0,28±0,00	0,47±0,01	0,83±0,02	1,54±0,00
	CBTM15	0,27±0,00	0,41±0,00	0,71±0,01	1,18±0,00
	CBTM15S	0,15±0,00	0,20±0,00	0,30±0,00	0,51±0,00
	CBTM16	0,25±0,00	0,38±0,02	0,62±0,00	1,06±0,03
	CBTM17	0,27±0,00	0,45±0,00	0,78±0,01	1,34±0,00
	CBTM17S	0,23±0,00	0,34±0,00	0,55±0,00	0,91±0,00
	CBTM18	0,28±0,00	0,44±0,00	0,69±0,00	1,12±0,01
	CBTM18S	0,25±0,00	0,36±0,00	0,61±0,00	1,02±0,01
	CBTM19	0,24±0,00	0,36±0,00	0,60±0,00	1,07±0,01
	CBTM20	0,22±0,00	0,32±0,00	0,51±0,00	0,79±0,00
	CBTM20S	0,17±0,00	0,25±0,00	0,39±0,00	0,62±0,00
	CBTM21	0,19±0,00	0,26±0,00	0,43±0,00	0,71±0,00
	CBTM22	0,12±0,00	0,15±0,00	0,21±0,00	0,33±0,00
Standartlar	BHA	1,70±0,05	2,89±0,41	3,19±0,03	3,50±0,04
	α-Tokoferol	0,54±0,01	1,03±0,03	1,81±0,11	2,93±0,16

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

^b Aktivite yok.

C. bulbosum metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonlarının kolinesteraz inhibisyon aktiviteleri Çizelge 3.31 ve Çizelge 3.32’de verilmektedir. *C. bulbosum* toprak üstü metanol ekstresinden elde edilen CBTM15 (%46,02±0,43) fraksiyonu en yüksek AChE inhibisyon aktivitesini gösterirken, CBTM15 (%80,56±0,53) fraksiyonu en yüksek BChE inhibisyon aktivitesini göstermektedir.

Çizelge 3.31. *C. bulbosum*’un metanol fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların AChE inhibisyon aktiviteleri^a

		AChE İnhibisyon Aktivitesi			
		25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTM4	2,23±0,56	4,88±0,50	5,99±0,10	19,93±0,33
	CBTM6	_b	_b	2,67±0,06	5,77±0,61
	CBTM7	_b	_b	_b	3,77±0,15
	CBTM8	_b	_b	_b	_b
	CBTM9	_b	_b	_b	1,12±0,03
	CBTM10	_b	_b	15,51±0,43	35,31±0,71
	CBTM11	25,71±0,29	41,22±0,29	45,10±0,00	45,41±1,59
	CBTM12	_b	_b	20,71±1,03	38,67±0,72
	CBTM13	13,57±0,74	32,24±0,91	41,63±0,29	42,76±0,43
	CBTM14	-	_b	19,08±0,88	_b
	CBTM15	15,29±0,19	29,86±0,25	45,82±0,14	46,02±0,43
	CBTM15S	_b	_b	_b	_b
	CBTM16	_b	_b	_b	_b

Çizelge 3.31.^(devam)

		AChE İnhibisyon Aktivitesi			
		25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTM17	_ ^b	_ ^b	_ ^b	2,59±0,09
	CBTM17S	_ ^b	_ ^b	_ ^b	_ ^b
	CBTM18	_ ^b	_ ^b	_ ^b	_ ^b
	CBTM18S	_ ^b	_ ^b	_ ^b	_ ^b
	CBTM19	_ ^b	_ ^b	_ ^b	_ ^b
	CBTM20	_ ^b	_ ^b	_ ^b	_ ^b
	CBTM20S	_ ^b	_ ^b	_ ^b	0,20±0,04
	CBTM21	_ ^b	_ ^b	_ ^b	8,08±0,46
	CBTM22	1,18±0,16	2,62±0,23	3,58±0,73	5,03±0,74
Standart	Galantamin	75,99±0,45	78,08±1,08	78,76±0,52	80,41±0,98

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

^b Aktivite yok.

Çizelge 3.32. *C. bulbosum* 'un metanol fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların BChE inhibisyon aktiviteleri^a

		BChE İnhibisyon Aktivitesi			
		25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL
Fraksiyonlar	CBTM4	4,71±0,30	14,22±0,00	19,55±0,30	27,55±0,16
	CBTM6	19,55±0,07	29,98±0,33	45,87±0,750	46,91±0,14
	CBTM7	8,66±0,31	10,66±1,10	30,39±0,00	57,81±0,33
	CBTM8	36,94±0,11	48,76±1,30	50,04±0,81	58,38±0,49
	CBTM9	20,25±1,31	35,63±0,75	36,13±1,15	49,00±0,33
	CBTM10	5,63±0,20	6,52±0,27	20,59±0,80	24,55±0,72
	CBTM11	_ ^b	_ ^b	_ ^b	_ ^b
	CBTM12	_ ^b	_ ^b	9,72±1,09	17,77±0,63
	CBTM13	_ ^b	5,37±0,05	11,51±0,10	27,62±0,43
	CBTM14	_ ^b	_ ^b	_ ^b	7,80±0,18
	CBTM15	47,06±0,72	58,44±0,54	78,13±0,44	80,56±0,53
	CBTM15S	_ ^b	_ ^b	_ ^b	_ ^b
	CBTM16	_ ^b	_ ^b	_ ^b	0,39±0,06
	CBTM17	_ ^b	_ ^b	_ ^b	_ ^b
	CBTM17S	_ ^b	_ ^b	_ ^b	_ ^b
	CBTM18	_ ^b	_ ^b	_ ^b	_ ^b
	CBTM18S	_ ^b	_ ^b	_ ^b	_ ^b
	CBTM19	_ ^b	_ ^b	_ ^b	_ ^b
	CBTM20	_ ^b	_ ^b	_ ^b	_ ^b
	CBTM20S	_ ^b	_ ^b	0,70±0,23	3,27±0,87
	CBTM21	_ ^b	_ ^b	_ ^b	8,08±0,41
	CBTM22	_ ^b	_ ^b	_ ^b	_ ^b
Standart	Galantamin	64,49±1,31	73,96±1,21	79,27±0,56	82,23±2,67

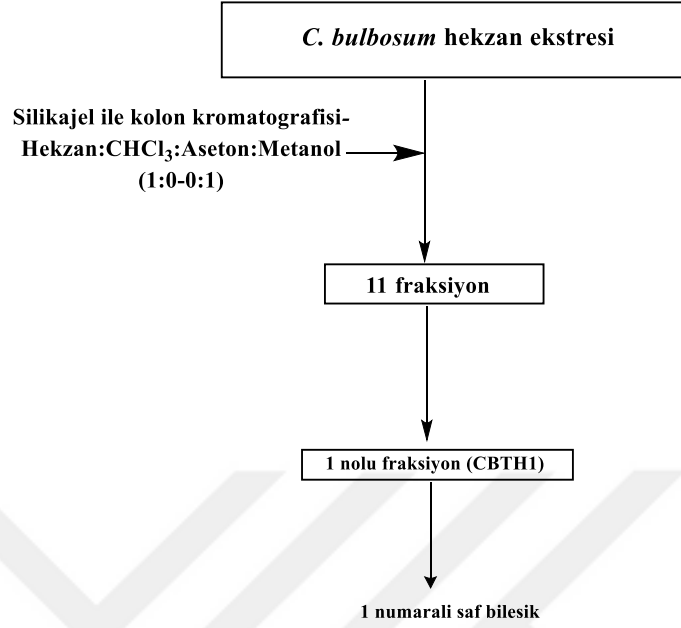
^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart hatası olarak verilmiştir. ($p<0,05$).

^b Aktivite yok.

3.4.5. *C. bulbosum* Bitkisinden İzole Edilen Saf Bileşikler

C. bulbosum bitkisinden yapıları belirlenmiş olan 9 bileşik izole edildi. Bu bileşiklerin yapıları *n*-oktakosen (1), *n*-Heptadekanil eikosanoat (2), Stigmasterol (3), β -sitosterol-3-*O*- β -*D*-glikopiranozit (4), Kersetin-3-*O*- β -*D*-glikopiranozit (5), Apigenin-7-*O*- β -*D*-

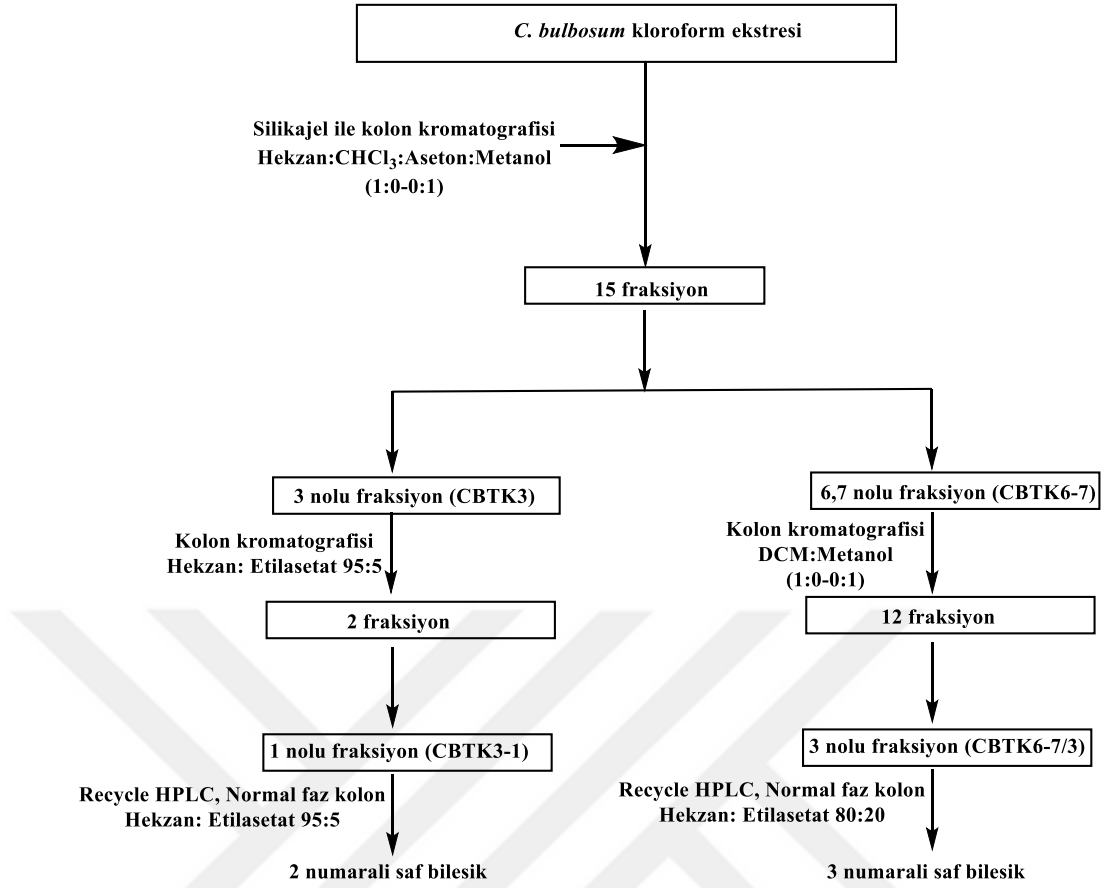
glikopiranozit (6), Luteolin-7-*O*- β -D-glikopiranozit (7) Sakkaroz (8) ve luteolin-7-*O*- α -D-glikopiranozit-4"-*O*- β -D-glikopiranozit (9) olarak belirlendi.



Şekil 3.17. *C. bulbosum* hekzan ekstresinin fraksiyonlandırılmasıyla elde edilen saf bileşikler

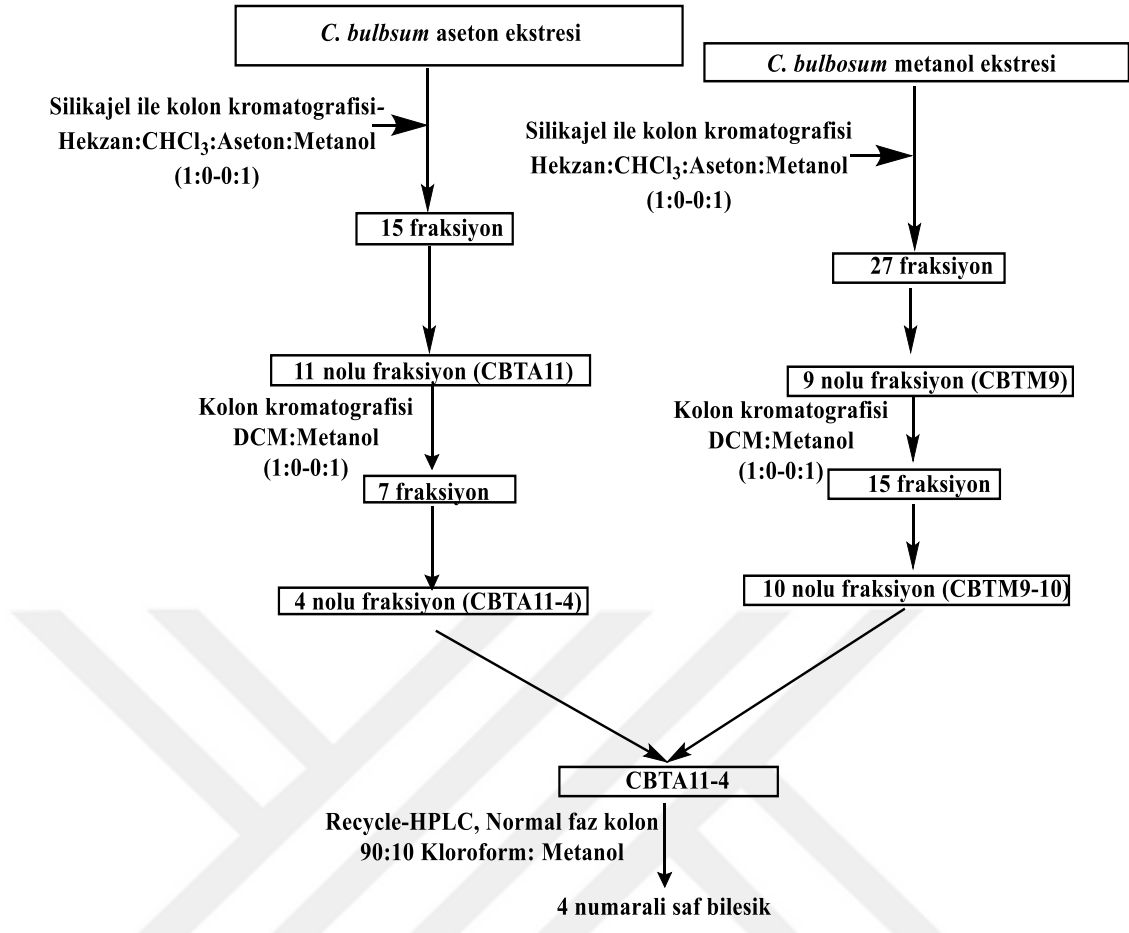
C. bulbosum hekzan ekstresi (CBTH) üzerine yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda ana kolondan 11 fraksiyon elde edildi. Elde edilen bu fraksiyonlardan CBTH1 kodlu fraksiyonun saf olduğu belirlenerek 1 numaralı saf bileşik elde edildi. Şekil 3.17’de *C. bulbosum* toprak üstü hekzan ekstresinin fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen saf bileşik görülmektedir.

C. bulbosum kloroform ekstresi (CBTK) üzerine yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda ana kolondan 15 fraksiyon elde edildi. Elde edilen bu fraksiyonlardan CBTK3 kodlu fraksiyonun 95:5 hekzan:etil asetat sistemi ile tekrar kolon yapılması sonucunda 2 fraksiyon elde edildi. Bu iki fraksiyondan CBTK3-1 kodlu fraksiyon recycle HPLC’de normal faz (JAIGEL-SIL) kolon kullanılarak 95:5 hekzan:etil asetat sistemi ile tekrar saflaştırılması sonucunda 2 numaralı saf bileşik elde edildi. CBTK6-7 kodlu fraksiyon DCM: metanol (1:0-0:1) sistemi ile kolon yapıldıktan sonra elde edilen 12 fraksiyondan CBTK6-7/3 kodlu fraksiyon recycle HPLC’de normal faz (JAIGEL-SIL) kolon kullanılarak 80:20 hekzan:etil asetat sistemi ile tekrar saflaştırılması sonucunda 3 numaralı saf bileşik elde edildi. Şekil 3.18’de *C. bulbosum* kloroform ekstresinin fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen saf bileşikler görülmektedir.



Şekil 3.18. *C. bulbosum* kloroform ekstresinin fraksiyonlandırılmasıyla elde edilen saf bileşikler

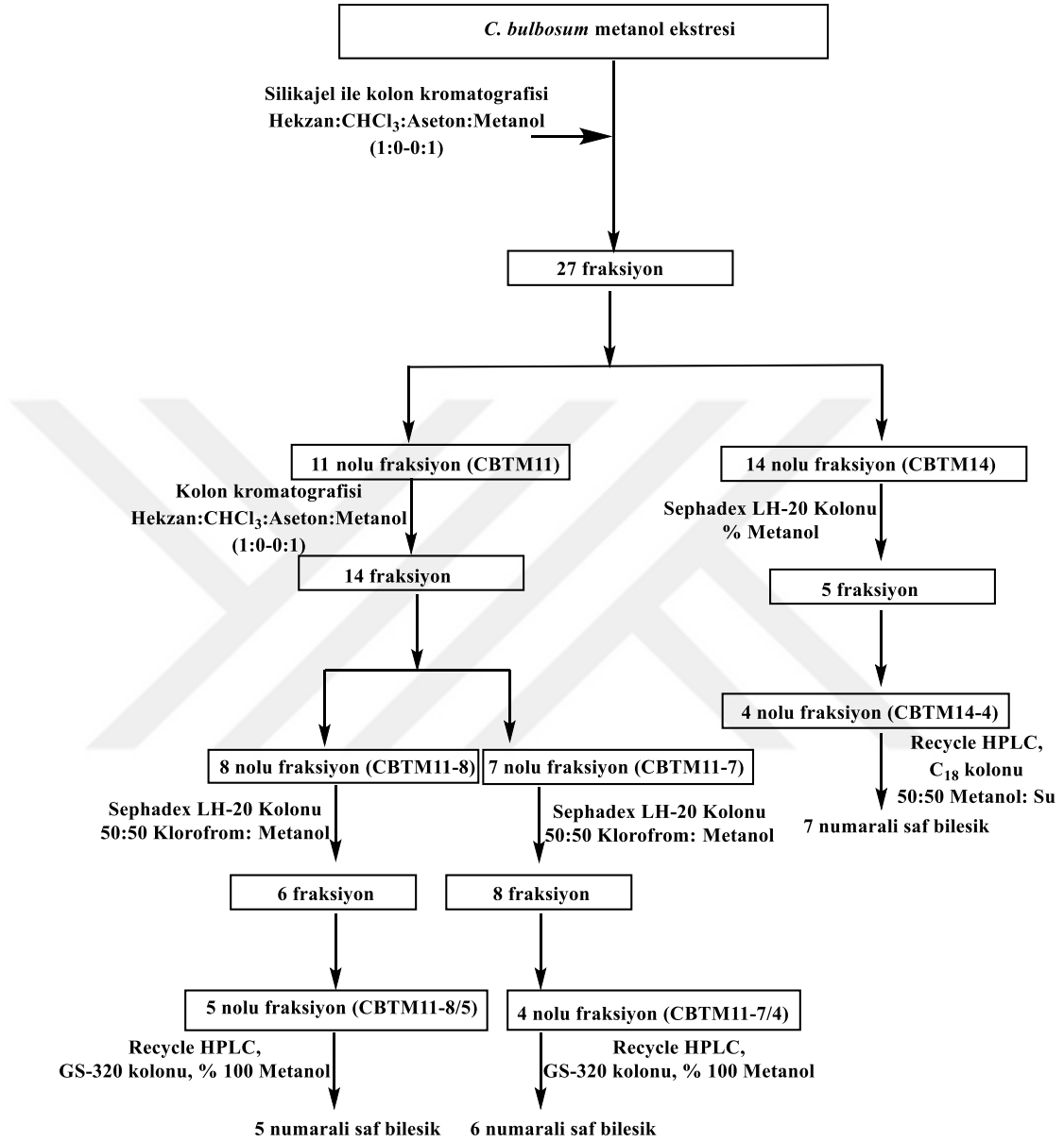
C. bulbosum aseton ekstresi (CBTA) üzerine yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda ana kolondan 15 fraksiyon elde edildi. Elde edilen bu fraksiyonlardan CBTA11 kodlu fraksiyonun DCM:metanol (1:0,0:1) ile fraksiyonlandırılmasıyla elde edilen 7 fraksiyondan CBTA11-4 kodlu fraksiyon recycle HPLC’de normal faz (JAIGEL-SIL serisi) kolon ve 90:10 Kloroform:metanol sistemi kullanılarak tekrar saflaştırılması sonucunda **4** numaralı saf bileşik elde edildi. Şekil 3.19’da *C. bulbosum* aseton ekstresinin fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen saf bileşikler görülmektedir.



Şekil 3.19. *C. bulbosum* aseton ekstresinin fraksiyonlandırılmasıyla elde edilen saf bileşikler

C. bulbosum metanol ekstresi (CBTM) üzerine yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda ana kolondan 27 fraksiyon elde edildi. Elde edilen bu fraksiyonlardan CBTM11 kodlu fraksiyona ana kolon yapıldı ve toplam 14 fraksiyon elde edildi. Elde edilen bu fraksiyonlardan CBTM11-8 kodlu fraksiyon 50:50 kloroform:metanol kullanılarak Sephadex LH-20 kolon yapıldı. Toplam 6 fraksiyon elde edildi. Elde edilen bu alt fraksiyonlardan CBTM11-8/5 kodlu fraksiyon %100 metanol sistemi ve GS-320 kolon kullanılarak recycle-HPLC’de 5 numaralı saf bileşik elde edildi. CBTM11-7 kodlu fraksiyon kloroform:metanol (50:50) kullanılarak Sephadex LH-20 kolon yapıldı. Toplam 8 fraksiyon elde edildi. Elde edilen bu alt fraksiyonlardan CBTM11-7/4 kodlu fraksiyon %100 metanol sistemi ve GS-320 kolon kullanılarak recycle-HPLC’de 6 numaralı numaralı saf bileşik elde edildi. CBTM14 kodlu fraksiyon %100 metanol kullanılarak Sephadex LH-20 kolonu yapıldı. Toplam 5 fraksiyon elde edildi. Elde edilen bu fraksiyonlardan CBTM14-4 kodlu alt fraksiyon metanol:su (50:50) sistemi ve C₁₈ kolon kullanılarak recycle-HPLC’de tekrar

saflaştırılması sonucunda 7 numaralı saf bileşik elde edildi. Şekil 3.20’de *C. bulbosum* metanol ekstresinin fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen 5, 6 ve 7 kodlu saf bileşikler görülmektedir.

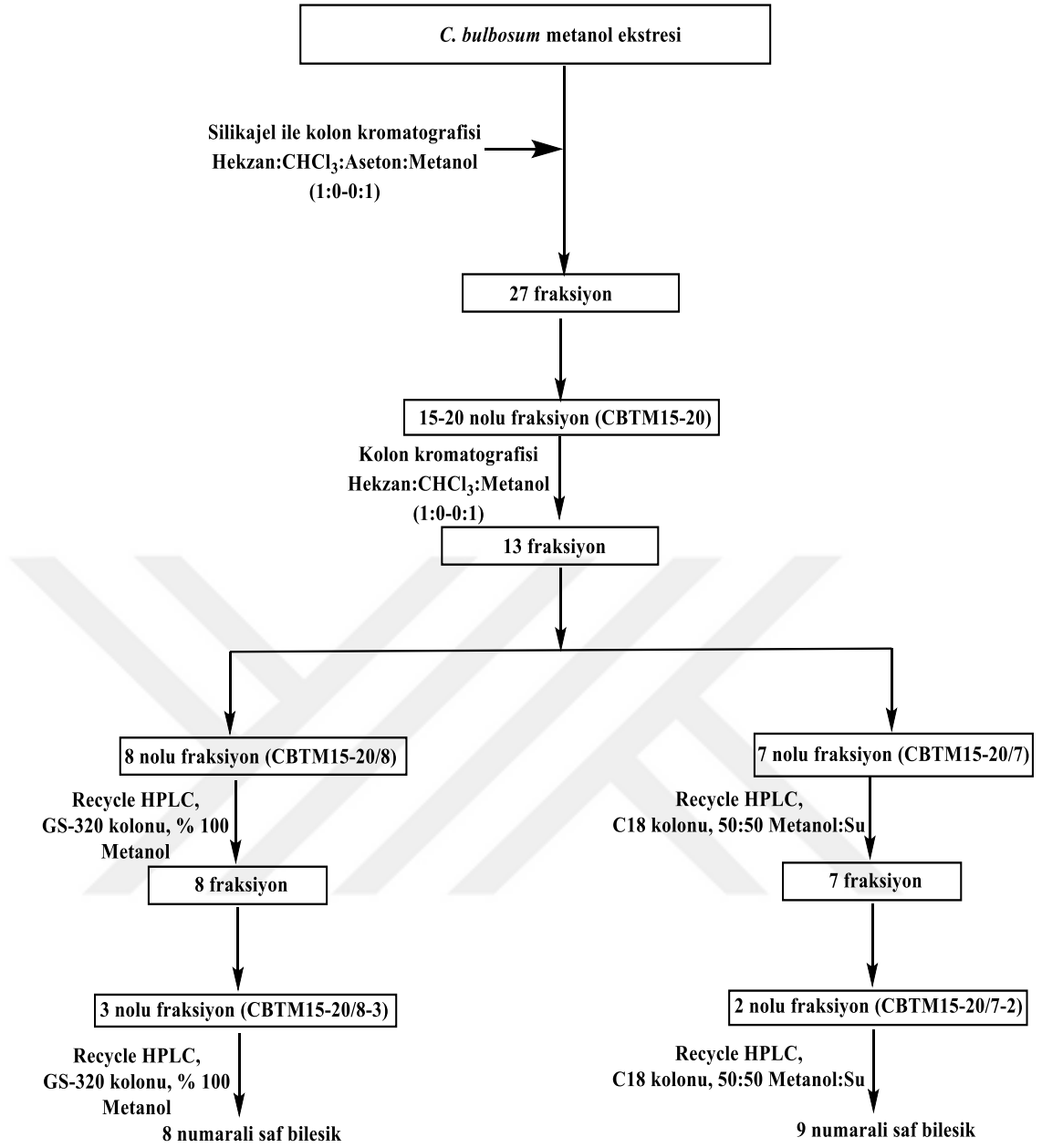


Şekil 3.20. *C. bulbosum* metanol ekstresinin fraksiyonlandırılmasıyla elde edilen 5, 6 ve 7 kodlu saf bileşikler

CBTM15, CBTM16, CBTM17, CBTM18, CBTM19 ve CBTM20 kodlu fraksiyonlar birleştirildi ve CBTM15-20 kodu verildi. Fraksiyona ana kolon yapıldı. Kolona hekzan ile başlandı. Daha sonra polarite her defasında %25 arttırılarak kloroform, aseton ve metanol ile kolona devam edildi. Kolon en son 0,5:99,5 asetik asit:su ile yıkandı. Toplam 13 fraksiyon elde edildi. Elde edilen fraksiyonlardan CBTM15-20/8 kodlu

fraksiyon %100 metanol ile GS-320 kolon kullanılarak Recycle-HPLC’de fraksiyonlandırıldı. Toplam 8 fraksiyon elde edildi. Elde edilen bu alt fraksiyonlardan CBTM15-20/8-3 kodlu fraksiyon %100 metanol sistemi ve GS-320 kolon kullanılarak recycle-HPLC’de tekrar saflaştırılması sonucunda **8** numaralı saf bileşik elde edildi.

CBTM-(15-20)/7 numaralı fraksiyon Geri dönüşümlü HPLC cihazında 50:50 metanol:su kullanılarak fraksiyonlandırıldı. Toplam 7 tane fraksiyon elde edildi. CBTM15-20/7-2 kodlu fraksiyon 50:50 metanol:su sistemi ve C18 kolon kullanılarak recycle-HPLC’de fraksiyonlandırıldı. Toplam 7 fraksiyon elde edildi. Elde edilen bu alt fraksiyonlardan CBTM15-20/7-2 kodlu fraksiyon 50:50 metanol:su sistemi ve C18 kolon kullanılarak recycle-HPLC’de tekrar saflaştırılması sonucunda **9** numaralı saf bileşik elde edildi. Şekil 3.21’de *C. bulbosum* metanol ekstresinin fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen 8 ve 9 kodlu saf bileşikler görülmektedir.

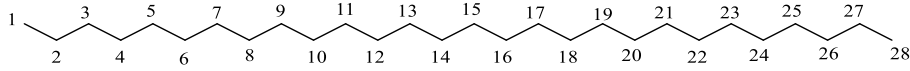


Şekil 3.21. *C. bulbosum* metanol ekstresinin fraksiyonlandırılmasıyla elde edilen 8 ve 9 kodlu saf bileşikler

3.4.5.1. *n*-Oktakosen (1)

Beyaz renkli amorf katı (1,20 g)

IR $V_{\max}$ cm^{-1} : 1464 (C-H), 1171 (C-C)



Şekil 3.22. *n*-oktakosen(1)

CBTH1 kodlu fraksiyon ana kolon yapılırken, kolondan beyaz renkli bir madde ayrıldı. GC-MS ile analizi yapıldığında tek bir pik görüldü. **1** numarası verilen bu bileşik beyaz amorf katı (1,20 g) olarak elde edildi. **1** numaralı saf bileşiğin yapısı GC-MS, ^1H -NMR ve APT spektrumları ile aydınlatıldı.

^1H -NMR (CDCl_3 , 600 MHz) spektrumunda δ 0,88 (t, $J=7,1$ Hz, H-1 ve H-28) ppm'de ve δ 1,25 (br.s) ppm'de izlenen sinyaller molekülün düz zincirli doymuş bir hidrokarbon olduğunu önermektedir. Hidrojen integrallerine bakıldığında δ 1,25 (br.s) ppm'de rezonans olan pik δ 0,88 (t, $J=7,08$ Hz, H-1 ve H-28) ppm'de rezonans olan pikin yaklaşık 9 katıdır ve 54 hidrojene tekabül etmektedir.

APT spektrumunda (CDCl_3 , 125 MHz) molekülün sadece sp^3 hibritleşmesi yapmış metil ve metilen karbonlarının olduğu izlendi. δ 14,1 (C-1, C-28), δ 22,7 (C-2, C-27) ve δ 31,9 (C-3, C-26) ppm'de rezonans olan karbon pikleri hidrokarbon zinciri için spesifiklerdir. Diğer sp^3 hibritleşmesi yapmış metilen karbonları ise δ 29,4-29,7 (C4-C25) ppm'de rezonans olmaktadır.

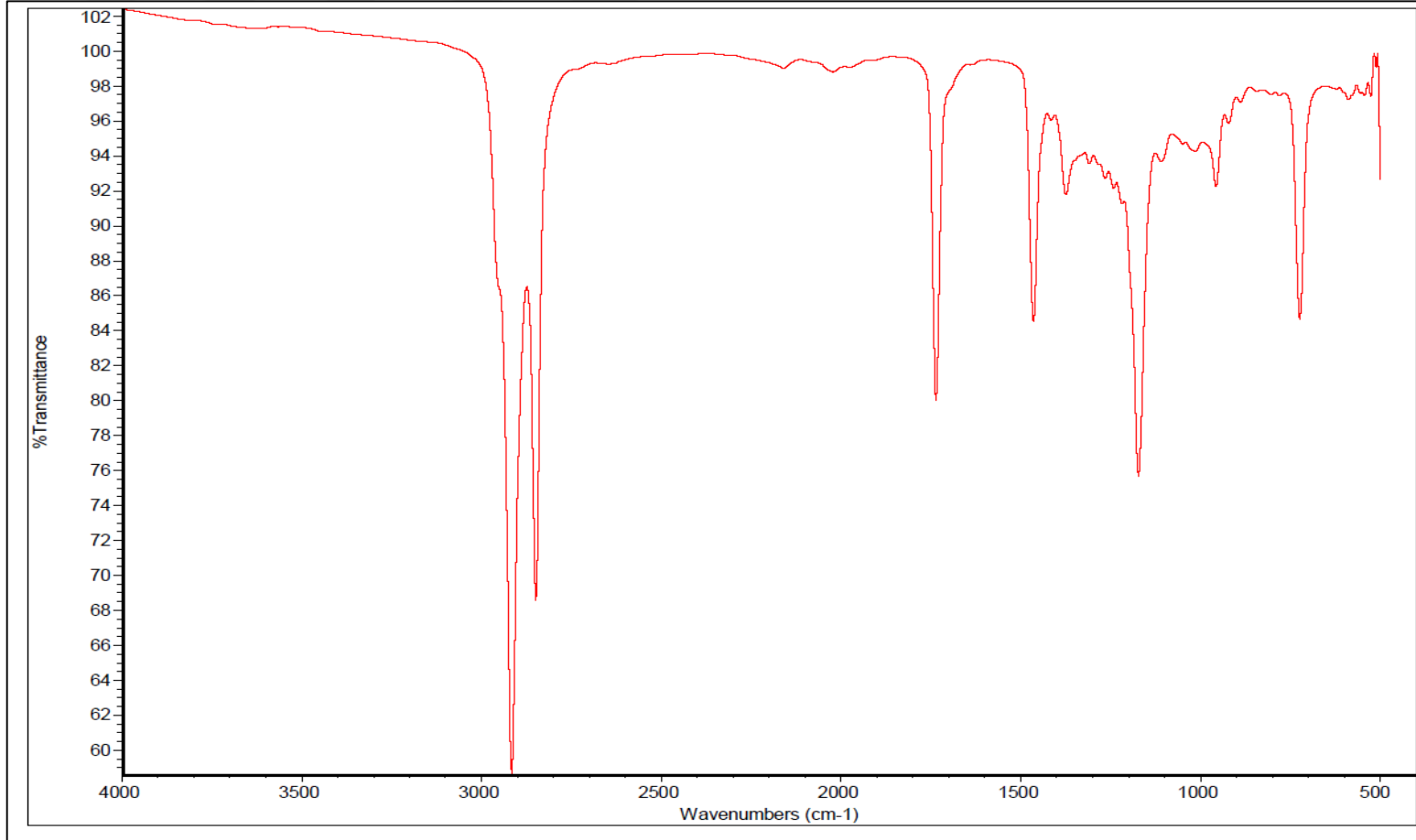
GC-MS cihazına, enjekte edilen **1** numaralı maddenin hidrokarbon standartları ile karşılaştırıldığında $\text{C}_{28}\text{H}_{58}$ olduğu kesinleştirildi.

Tüm spektroskopik veriler ve literatür çalışmaları sonucunda **1** numaralı bileşiğin yapısı ***n*-oktakosen** olarak tespit edildi (Tesemma vd., 2013). ***n*-Oktakosen (1)** bileşiği daha önce *Chaerophyllum* türlerinden izole edilmemiş olup, ilk defa bu proje ile *C. bulbosum* bitkisinden izole edilmiştir. ***n*-Oktakosen (1)** olarak tanımlanan bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri Çizelge 3.33'de; IR, ^1H -NMR, APT ve MS spektrumları ve GC-MS kromatogramı Şekil 3.23-3.26'de verilmektedir.

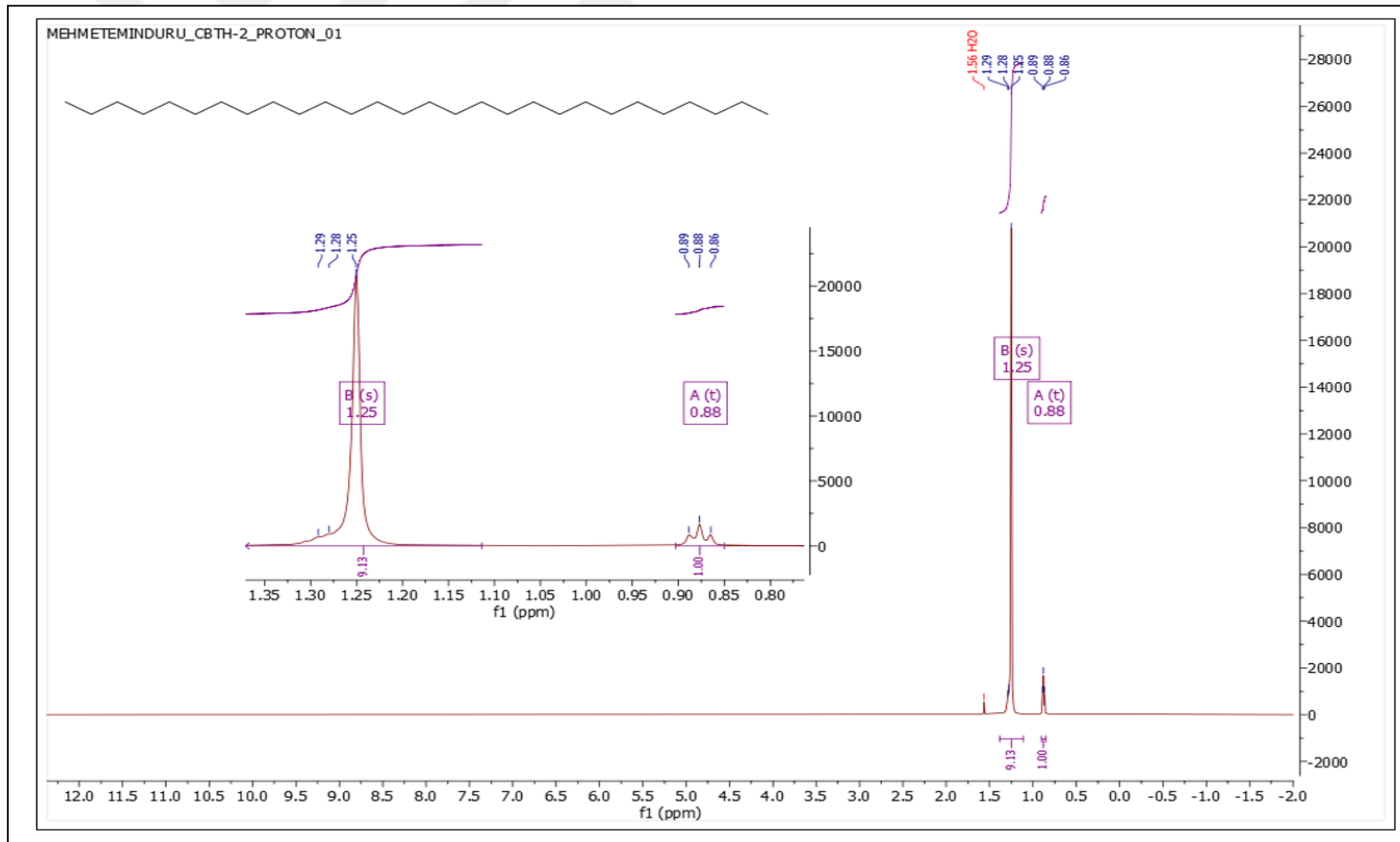
Çizelge 3.33. *n*-oktakosen (1) bileşiğinin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR değerleri

C. no	Karbon türü	¹ H-NMR	¹³ C-NMR	¹ H-NMR ^a	¹³ C-NMR ^a
1	CH ₃	0,88 (<i>t</i> , <i>J</i> = 7,1 Hz)	14,1	0,90	14,1
2	CH ₂	1,29 (<i>m</i>)	22,7	1,29	22,7
3	CH ₂	1,28 (<i>m</i>)	31,9	1,27	31,9
4	CH ₂	1,25 (<i>br.s</i>)	29,4	1,27	29,4
5-24	CH ₂	1,25 (<i>br.s</i>)	29,7-29,7	1,27	29,7-29,7
25	CH ₂	1,25 (<i>br.s</i>)	29,4	1,27	29,4
26	CH ₂	1,28 (<i>m</i>)	31,9	1,27	31,9
27	CH ₂	1,29 (<i>m</i>)	22,7	1,29	22,7
28	CH ₃	0,88 (<i>t</i> , <i>J</i> = 7,1 Hz)	14,1	0,90	14,1

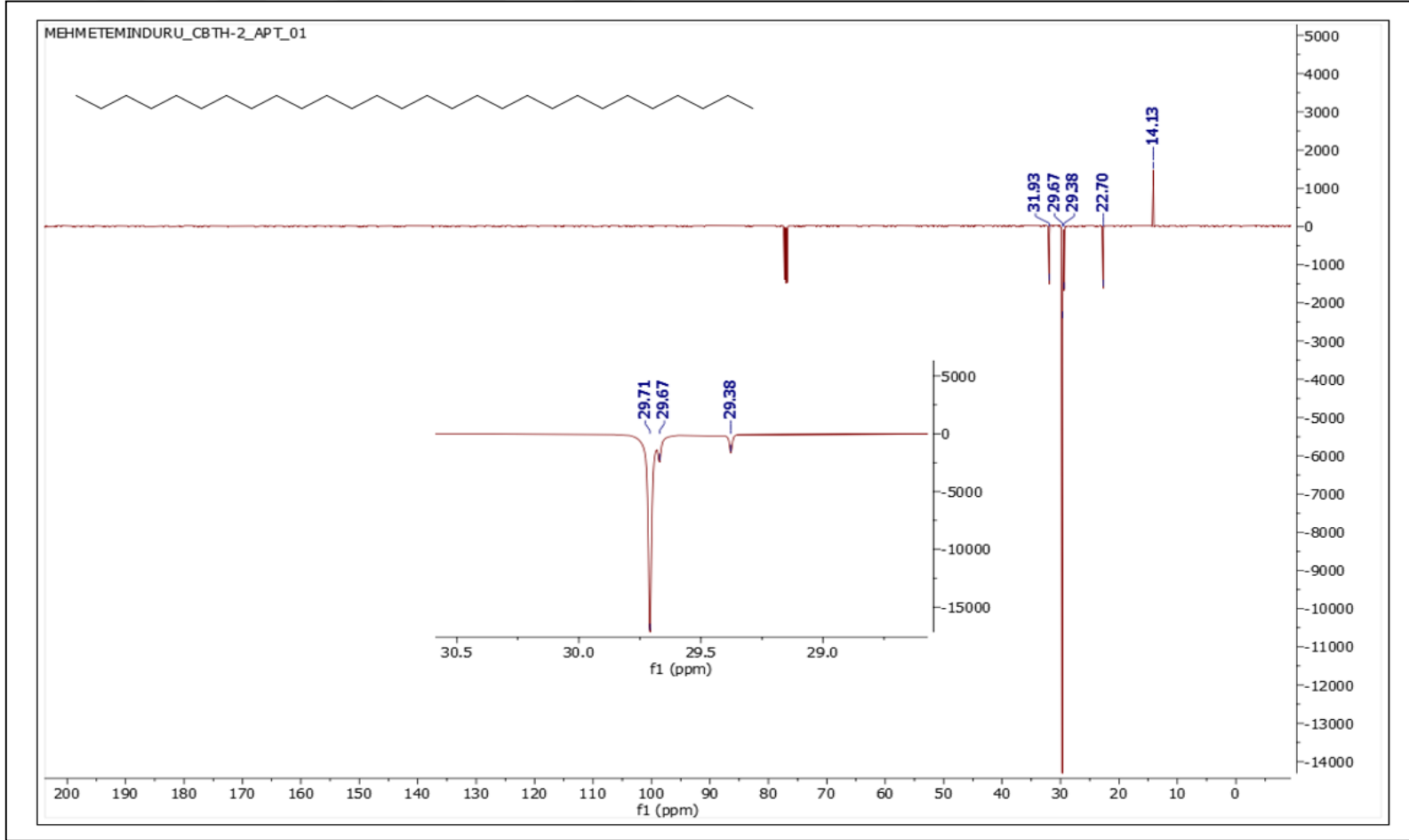
^a: Literatürdeki NMR değerleri (Tesemma vd., 2013)



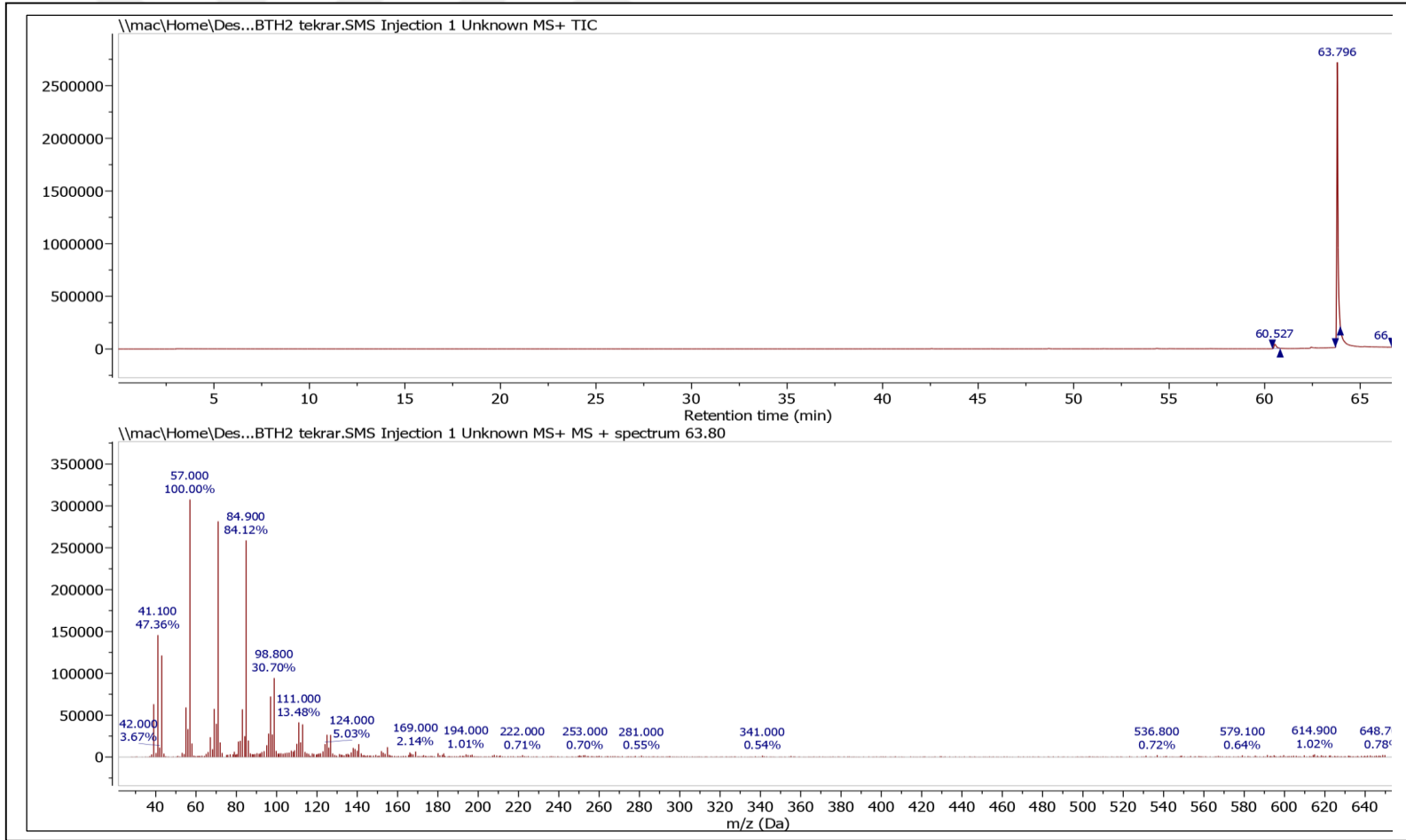
Şekil 3.23. *n*-oktakosen'in (1) IR spektrumu



Şekil 3.24. *n*-oktakosen'in (1) ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



Şekil 3.25. *n*-oktakosen'in (1) APT spektrumu (CDCl₃, 125 MHz)

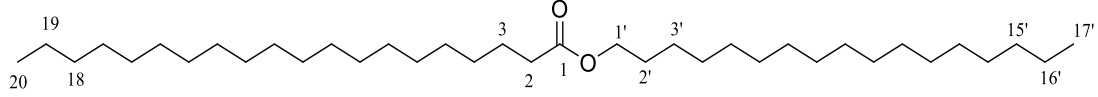


Şekil 3.26. *n*-oktakosen'in (1) GC-MS kromatogramı ve MS spektrumu

3.4.5.2. *n*-Heptadekanil eikosanoat (2)

Beyaz amorf katı (21 mg)

IR $V_{\max}$ cm^{-1} : 2916 (Alifatik C-H), 1736 (C=O), 1174 (C-O)



Şekil 3.27. *n*-Heptadekanil eikosanoat (2)

CBTK3 kodlu fraksiyon önce 95:5 hekzan:etil asetat sistemi kullanılarak kolon yapıldı ve toplam iki fraksiyon elde edildi. Elde edilen CBTK3-1 kodlu fraksiyon 95:5 hekzan:etil asetat sistemi ve normal faz (JAIGEL-SIL Serisi) kolon kullanılarak recycle HPLC’de saflaştırıldı. **2** numarası verilen bileşik beyaz amorf katı (21 mg) olarak elde edildi. Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) pembe renk olmaktadır. Şekil 3.28’de **2** numaralı bileşiğinin İTK görüntüsü görülmektedir. **2** numaralı bileşiğin yapısı IR, ^1H -NMR, APT, 2D (HSQC, HMBC, COSY), HR-MS spektrumları ve GC-MS kromatogramı ile aydınlatıldı.

^1H -NMR (CDCl_3 , 600 MHz) spektrumunda δ 4,05 (2H, *t*, J = 6,7 Hz, H-1'), 2,28 (2H, *h*, J = 8,1; 7,5 Hz, H-2), 1,60 (4H, *q*, J = 7,3; 7,2 Hz, H-3 ve H-2') ve 0,87 (*t*, J = 6,9 Hz, H-20 ve H-17') ppm’de rezonans olan pikler sp^3 doymuş yağ asidini önerdi. δ 1,25 (br.s) ppm’de rezonans olan pik δ 0,87 (*t*, J = 6,9 Hz, H-20 ve H-17') ppm’de rezonans olan pik ile karşılaştırıldığında 74 proton integraline denk gelen pik uzun hidrokarbon zincirli esteri önerdi.

APT spektrumunda (CDCl_3 , 125 MHz) spektrumundan δ 14,1 ppm’de rezonans olan metil piki, δ 64,4 (C-1') ppm’de rezonans olan oksijenlenmiş metilen karbonu piki ve δ 174,1 (C-1) ppm’de rezonans olan katerner piki ile diğer izlenen metilen pikleri molekülün ester olduğunu göstermektedir. δ 14,1, 22,7 ve 31,9 ppm’de rezonans olan pikler esterin hem -il (C) hem de -at (C') kısmına ait zincirin son üç karbonuna ait piklerdir. δ 34,4 (C-2), 25,0 (C-3) ile 28,6 (C-2') ve 25,9 (C-3') ppm’deki piklerinin yeri kesindir. HSQC spektrumu ile protonlarının rezonans oldukları kimyasal kaymalar belirlenmiştir. Esterin her iki bölgesinde bulunan ve APT spektrumunda δ 29,2-29,7 ppm’de rezonans olan metilen karbonlarının sayısının net olarak belirlenebilmesi ve yapının net olarak ortaya konulması için bileşik hidroliz edildi,

daha sonra elde edilen hidrolizat metillenerek GC-MS'e enjekte edildi. Şekil 3.24'de bileşiğin GC-MS Kromatogramı bulunmaktadır. GC-MS piklerinin tanımlanması standartlar ile karşılaştırıldığında ve Wiley MS kütüphanesi tarandığında, GC-MS cihazına, enjekte edilen 2 numaralı maddenin yağ asidinin GC-MS cihazına, enjekte edilen 2 numaralı maddenin yağ asidinin eikosanoik asit (Rt: 57,828) olduğu alkol kısmının ise n-heptadekanol olduğu (Rt: 47,488) tespit edildi. Dolayısıyla bileşiğin yapısının n-heptadekanil eikosanoat olduğu kesinleştirildi.

HR-MS spektrumunda (Şekil 3.36) m/z 551,5760 piki $[M+1]^+$ moleküler iyon pikidir. Kapalı formülü $C_{37}H_{74}O_2$ bileşiğin $[M+1]$ molekül ağırlığı 551,5767 g/mol olarak hesaplanmakta olup bu hesaplanan değer HR-MS verisiyle de uyumludur.

Tüm spektroskopik veriler ve literatür çalışmaları sonucunda 2 numaralı bileşiğin yapısı kapalı formülü $C_{37}H_{74}O_2$ olan **n-heptadekanil eikosanoat** olarak tespit edildi (Nazreen vd., 2018). **n-Heptadekanil eikosanoat (2)** bileşiği daha önce *Chaerophyllum* türlerinden izole edilmemiş olup, ilk defa bu proje ile *C. bulbosum* bitkisinden izole edilmiştir. **n-Heptadekanil eikosanoat (2)** olarak tanımlanan bileşiğin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri Çizelge 3.34'de; IR, ^1H -NMR, APT 2D-NMR ve HR-MS spektrumları Şekil 3.29-3.36'de verilmektedir.



Şekil 3.28. n-Heptadekanil eikosanoat (2) bileşiğinin İTK görüntüsü

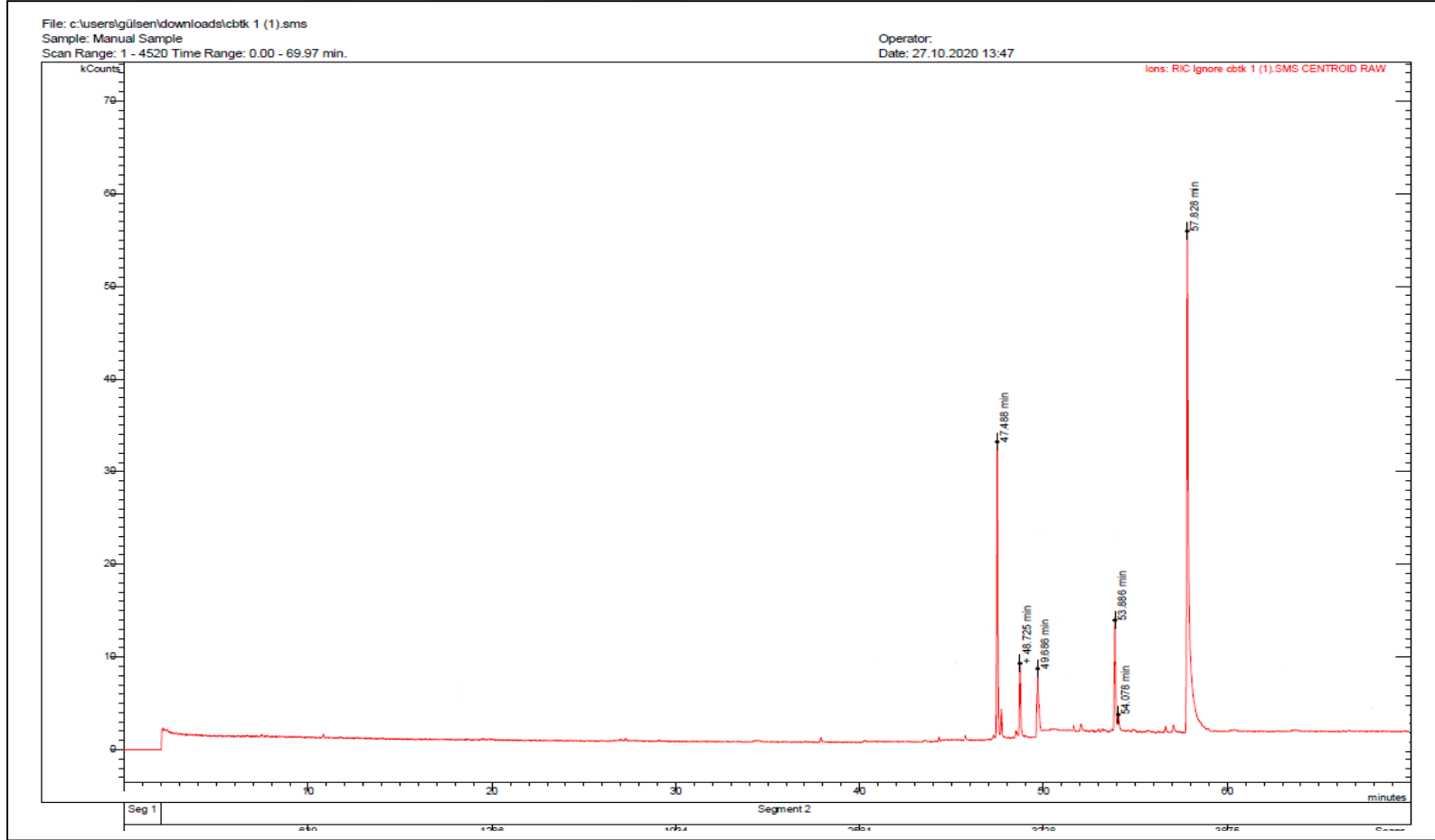
Çizelge 3.34. n-Heptadekanil eikosanoat (2) bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri

C no	Karbon türü	^1H -NMR	^{13}C -NMR	HMBC H → C	COSY
1	C	-	174,1		
2	CH ₂	2,28 (h, J= 8,1; 7,5 Hz)	34,4	C-1; C-3; C-4	H-3
3	CH ₂	1,60 (q, J= 7,3; 7,2 Hz)	25,0	C-1; C-3; C-5; C-6	H-2
4-17	(CH ₂) ₁₄	1,25 (br.s)	29,2-29,7		
18	CH ₂	1,28 (m)	31,9		
19	CH ₂	1,29 (m)	22,7		
20	CH ₃	0,87 (t, J= 6,9 Hz)	14,1	C-19; C-18	
1'	CH ₂	4,05 (t, J= 6,7 Hz)	64,4	C-1; C-2'; C-3'	H-2
2'	CH ₂	1,60 (q, J= 7,3; 7,2 Hz)	28,6	C-1'; C-3'; C-4'	H-1
3'	CH ₂	1,59 (m)	25,9		

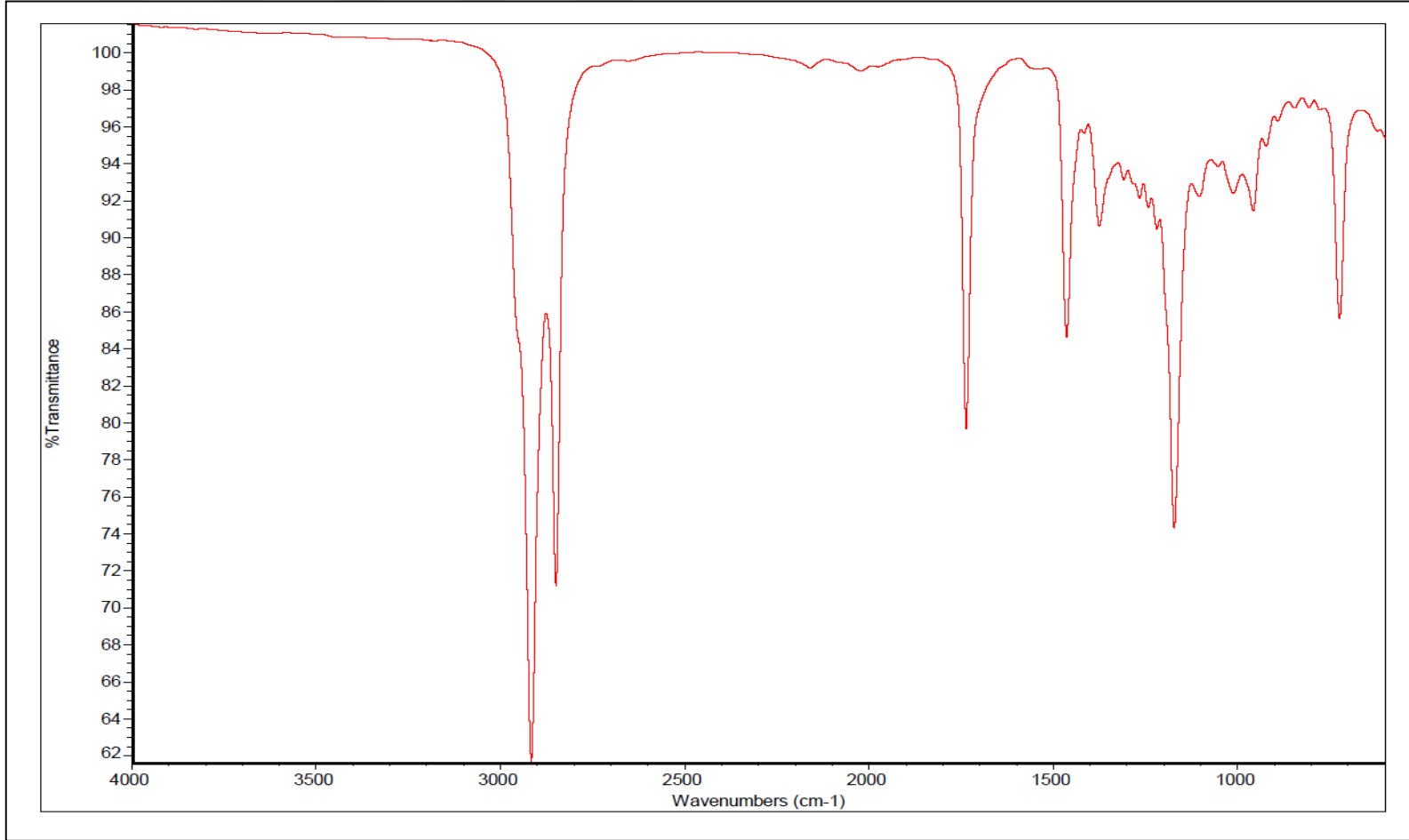
Çizelge 3.34. (devam)

C no	Karbon türü	¹ H-NMR	¹³ C-NMR	HMBC H → C	COSY
4'- 14'	(CH ₂) ₁₁	1,25 (br.s)	29,2-29,7		
15'	CH ₂	1,28 (<i>m</i>)	31,9		
16'	CH ₂	1,29 (<i>m</i>)	22,7		
17'	CH ₃	0,87 (<i>t</i> , <i>J</i> = 6,9 Hz)	14,1	C-16'; C-15'	

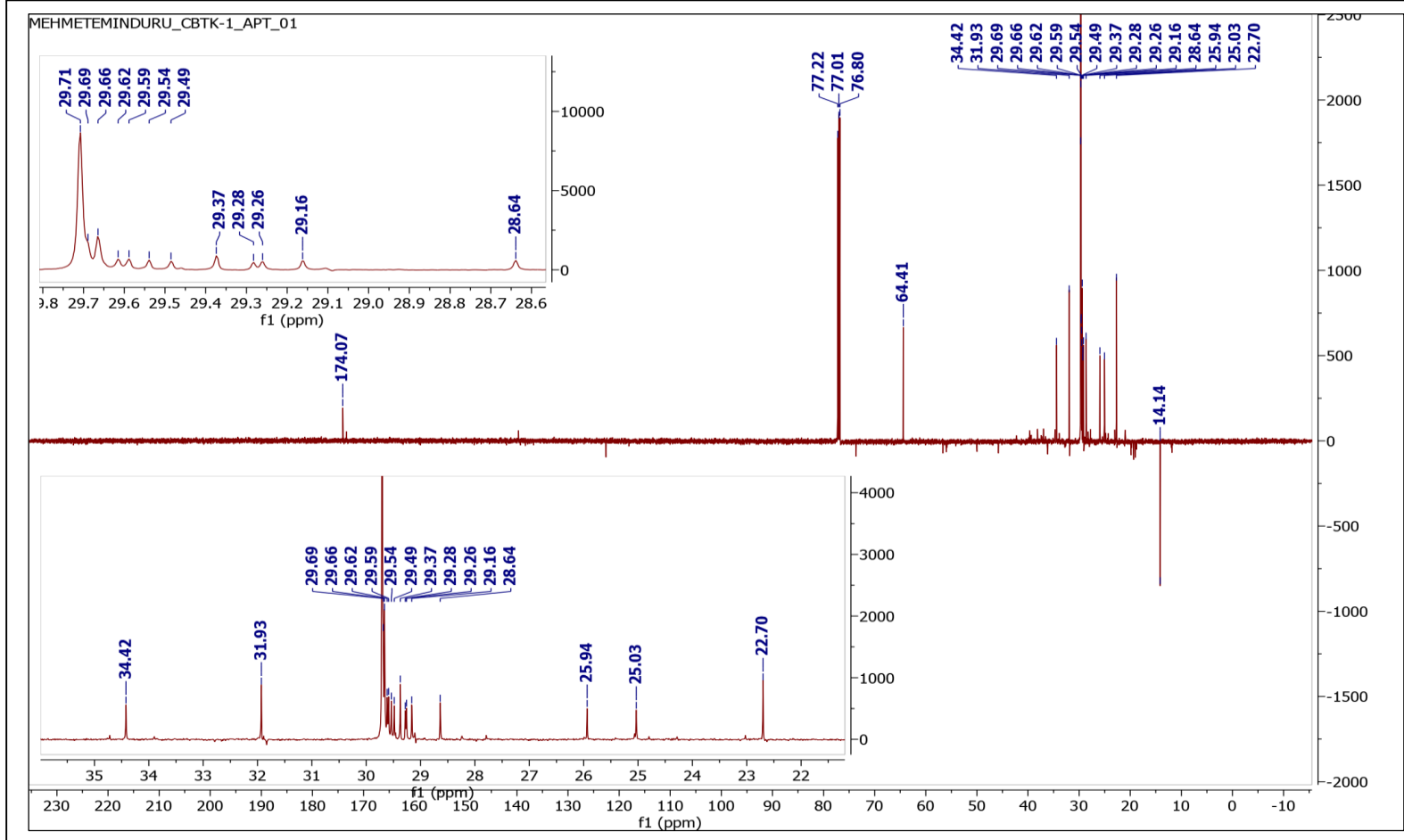
^a: Literatürdeki NMR değerleri (Tesemma vd., 2013)



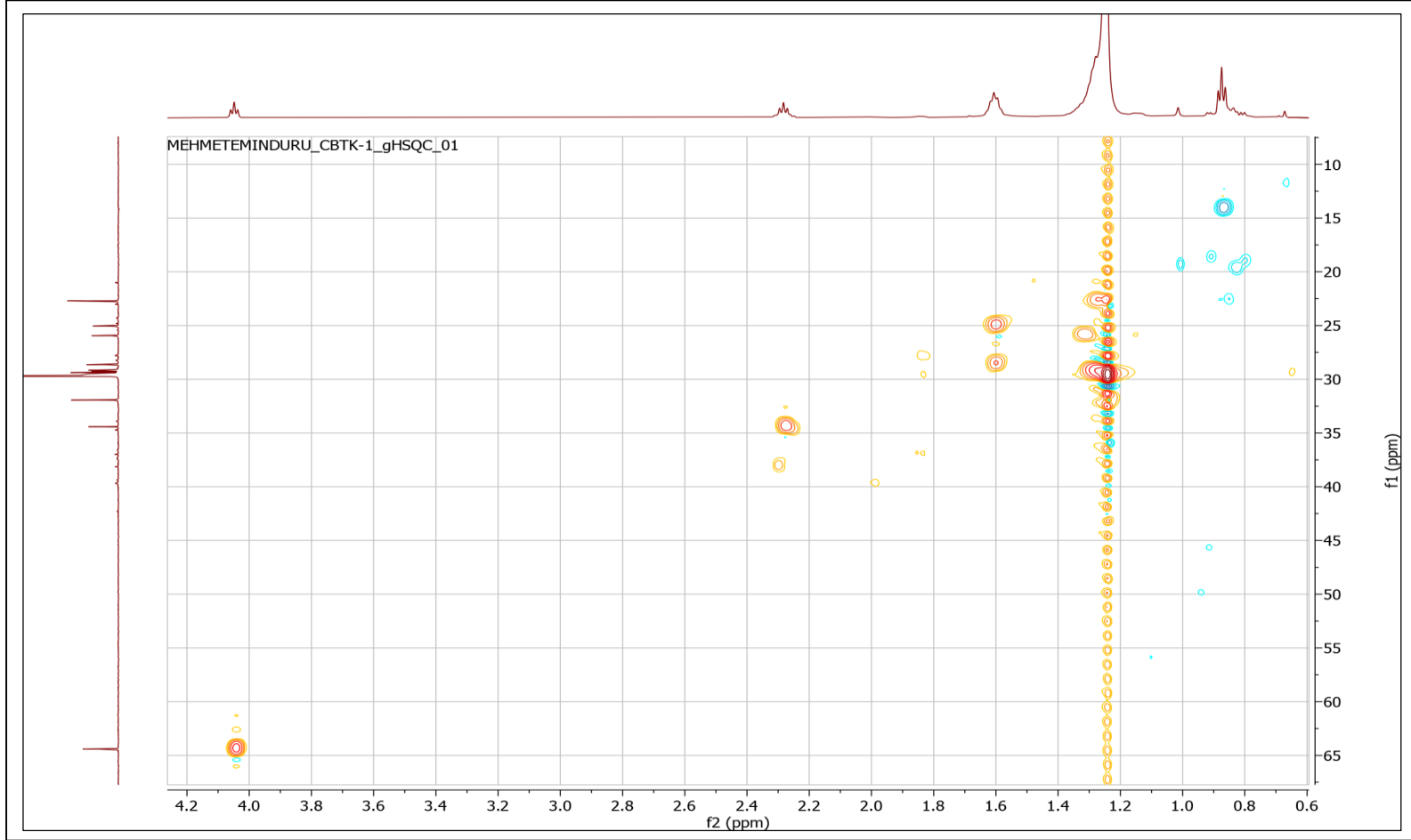
Şekil 3.29. *n*-Heptadekanil eikosoat'ın (2) GC-MS kromatogramı



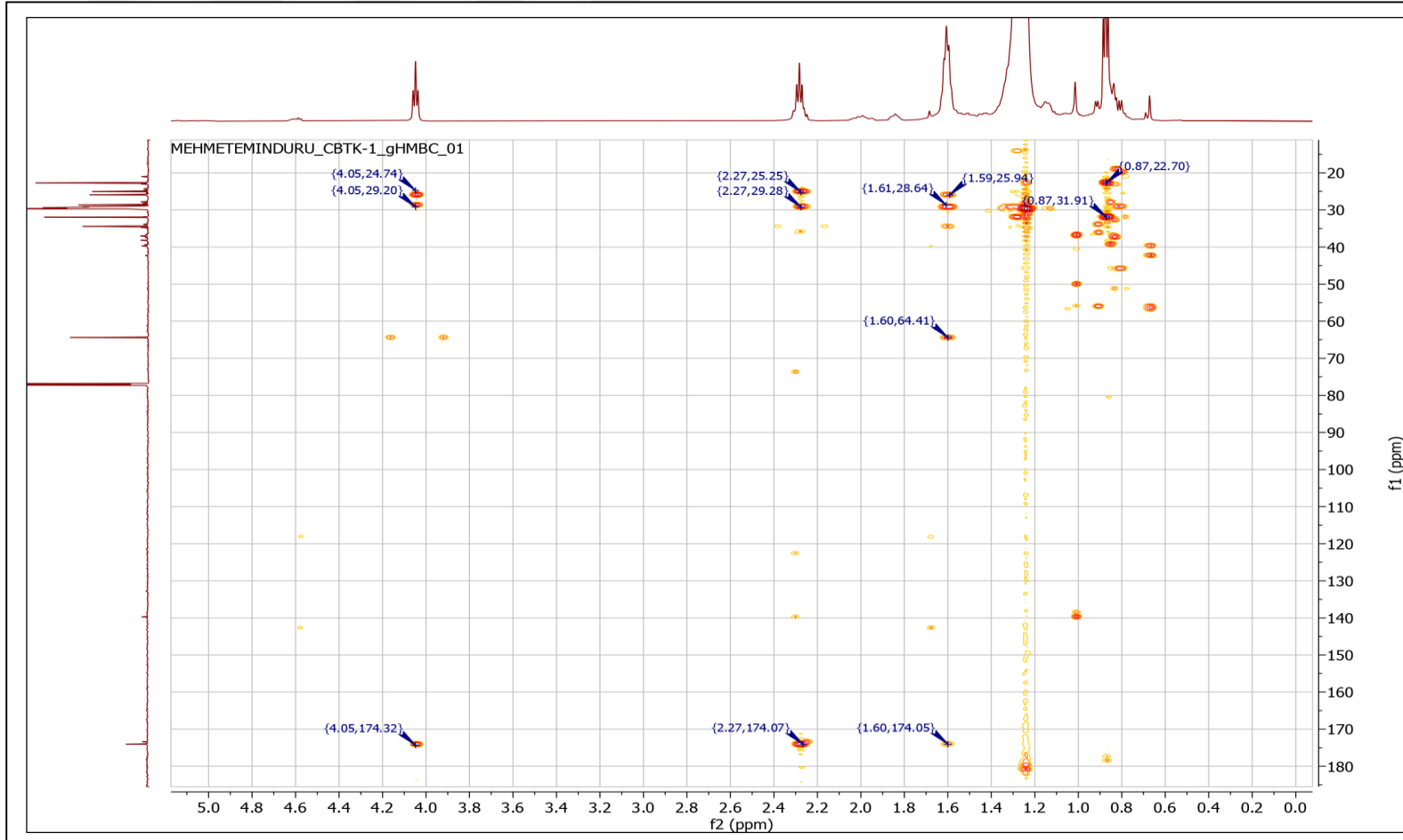
Şekil 3.30. *n*-Heptadekanil eikosoat'ın (2) IR spektrumu



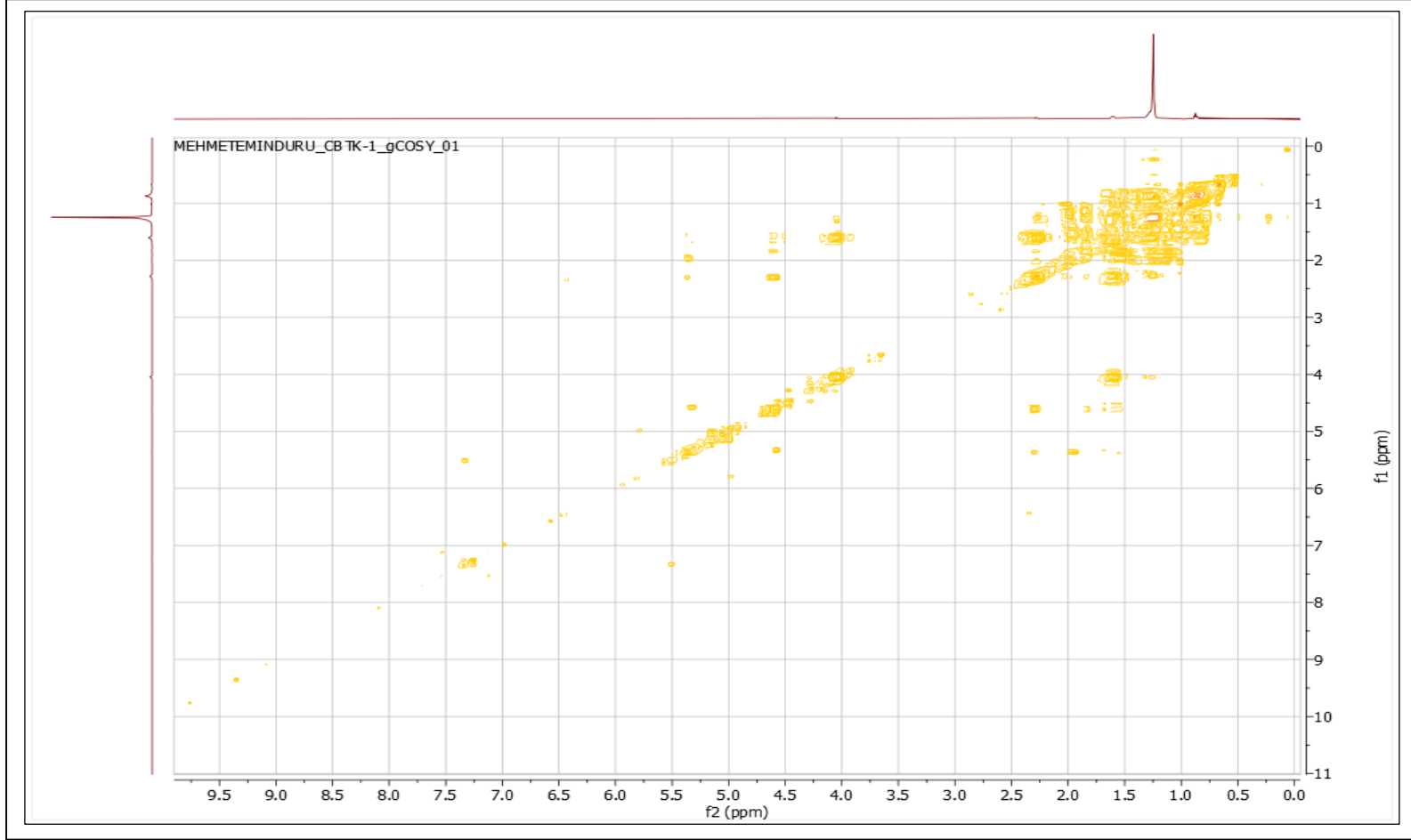
Şekil 3.32. *n*-Heptadekanil eikosanoat'ın (2) APT spektrumu (CDCl₃, 125 MHz)



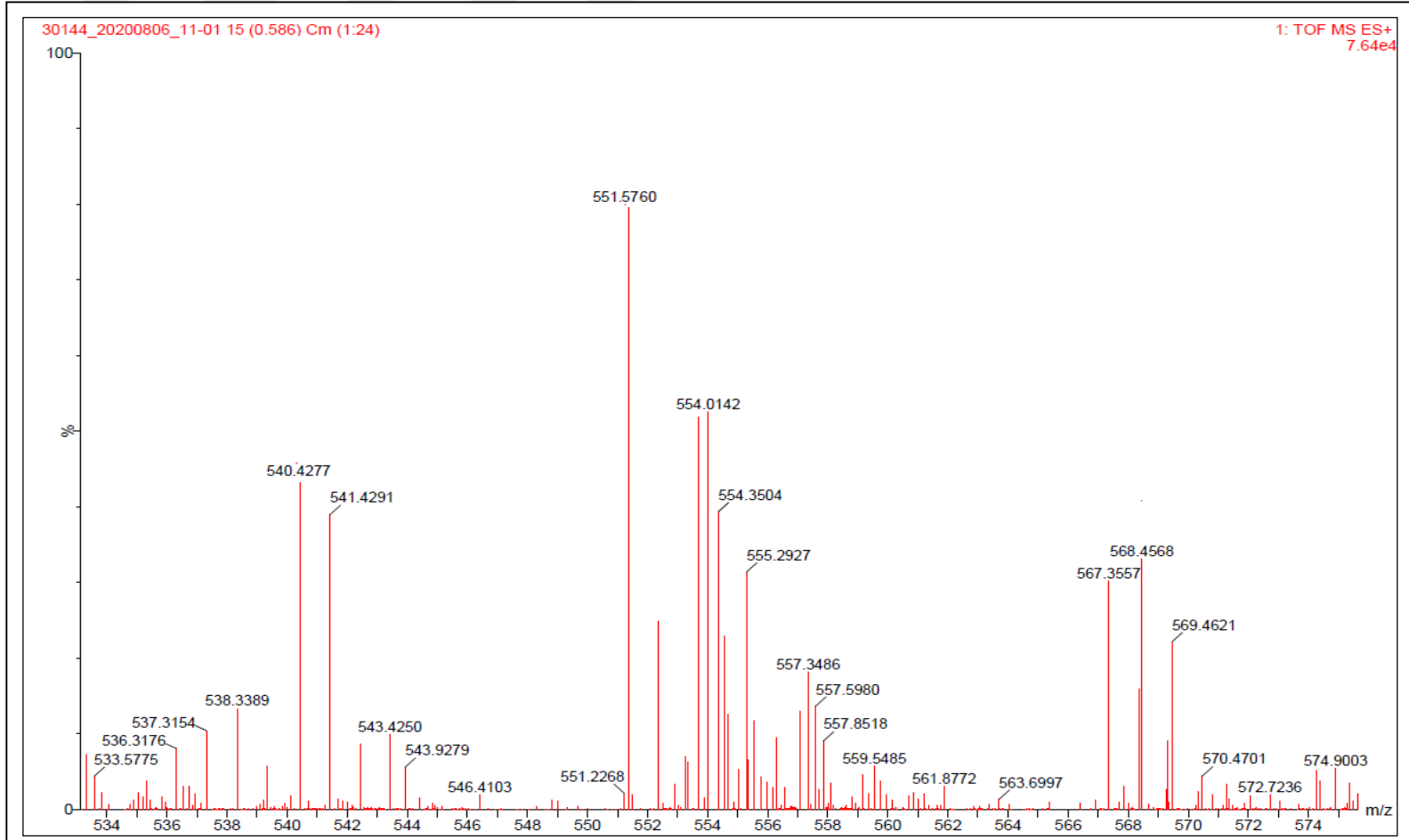
Şekil 3.33. *n*-Heptadekanil eikosoat'ın (2) HSQC spektrumu



Şekil 3.34. *n*-Heptadekanil eikosanoat'ın (2) HMBC spektrumu



Şekil 3.35. *n*-Heptadekanil eikosanoat'ın (2) COSY spektrumu

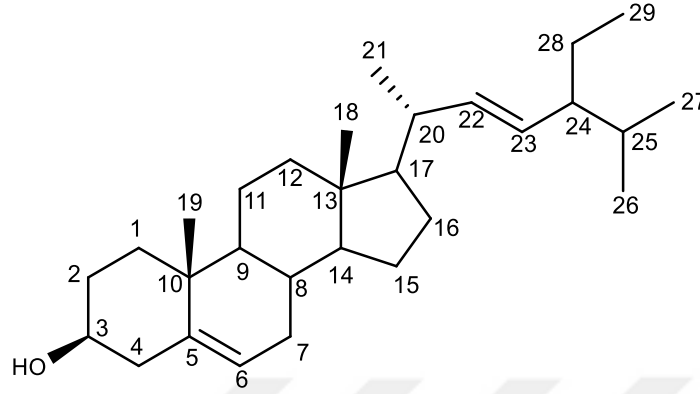


Şekil 3.36. *n*-Heptadekanil eikosanoat'ın (2) HR-MS spektrumu

3.4.5.3. Stigmasterol (3)

Beyaz amorf katı (40 mg)

IR $V_{\max}$ cm^{-1} : 3283 (OH), 2932 (Alifatik C-H), 1055 (C-O)



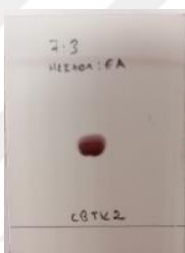
Şekil 3.37. Stigmasterol (3)

CBTK6 ve CBTK7 kodlu fraksiyonlar birleştirilip CBTK6-7 kodu verildikten sonra, bu fraksiyon silika jel kullanılarak kolonda izolasyonu yapıldı. Kolona 90:10 hekzan:etil asetat ile başlandı. Daha sonra kolondan DCM geçirildikten sonra, kolona 98:2, 95:5, 90:10; 50:50 DCM:metanol ile devam edildi. Kolondan metanol geçirildikten sonra, kolon en son 0,5:99,5 asetik asit:su ile yıkandı. Toplam 12 fraksiyon elde edildi. Elde edilen bu fraksiyonlardan CBTK6-7/3 kodlu fraksiyon 80:20 hekzan:etil asetat sistemi ve normal faz (JAIGEL-SIL Serisi) kolon kullanılarak recycle-HPLC’de saflaştırıldı. **3** numarası verilen bileşik beyaz amorf katı (40 mg) olarak elde edildi. Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) pembe renk olmaktadır. Şekil 3.38’de **stigmasterol (3)** bileşiğinin İTK görüntüsü görülmektedir. **3** numaralı bileşiğin yapısı $^1\text{H-NMR}$, APT, 2D (HSQC, HMBC, COSY) spektrumları ile aydınlatıldı.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (CDCl_3 , 600MHz) δ 0,69 (3H, s, H-18), 1,00 (3H, s, H-19), 0,79 (3H, d, $J= 7,0$ Hz, H-21), 1,01 (3H, d, $J= 6,7$ Hz, H-26), 0,84 (3H, d, $J= 6,7$ Hz, H-27) ve 0,80 (3H, t, $J= 6,8$ Hz, H-29) ppm’de rezonans olan 6 metil piki bileşiğin 29 karbona sahip bir steroid olduğunu önerdi. δ 3,52 (1H, m, H-3) ppm’de rezonans olan pik hidroksilin $\beta\text{-OH}$ bağlandığını ve δ 5,34 (1H, br.s, H-6), 5,14 (1H, dd, $J= 15,1; 8,7$ Hz, H-22), 5,01 (1H, dd, $J= 15,1; 8,6$ Hz, H-23) ppm’de rezonans olan piklerin vinilik hidrojenlere ait olduğu görüldü.

APT spektrumu (CDCl₃, 125 MHz) HSQC spektrumu ile birlikte değerlendirildiğinde 6 metil, 9 metilen, 11 metin ve 3 katerner karbon gözlemlendi. δ 71,8 (C-3) ppm'de hidroksillenmiş karbon sinyali, δ 140,7 (C-5), 121,7 (C-6), 138,3 (C-22) ve 129,2 (C-23) ppm'de olefinik karbon sinyalleri ile birlikte δ 12,0 (C-18), 19,4 (C-19), 18,9 (C-21), 21,2 (C-26), 21,1 (C-27) ve 12,3 (C-29) ppm'de metil karbonlarına ait sinyaller izlendi.

Tüm spektroskopik veriler ve literatür çalışmaları sonucunda **3** numaralı bileşiğin yapısı kapalı formülü C₂₉H₄₈O olan **stigmasterol** olarak tespit edildi (Chaturvedula vd., 2012; Suttiarporn vd., 2015). **Stigmasterol (3)** bileşiği daha önce *Chaerophyllum* türlerinden izole edilmemiş olup, ilk defa bu proje ile *C. bulbosum* bitkisinden izole edilmiştir. **Stigmasterol (3)** olarak tanımlanan bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR değerleri Çizelge 3.35'de; IR, ¹H-NMR, APT ve 2D-NMR spektrumları Şekil 3.39-3.44'de verilmektedir.



Şekil 3.38. Stigmasterol (3) İTK görüntüsü

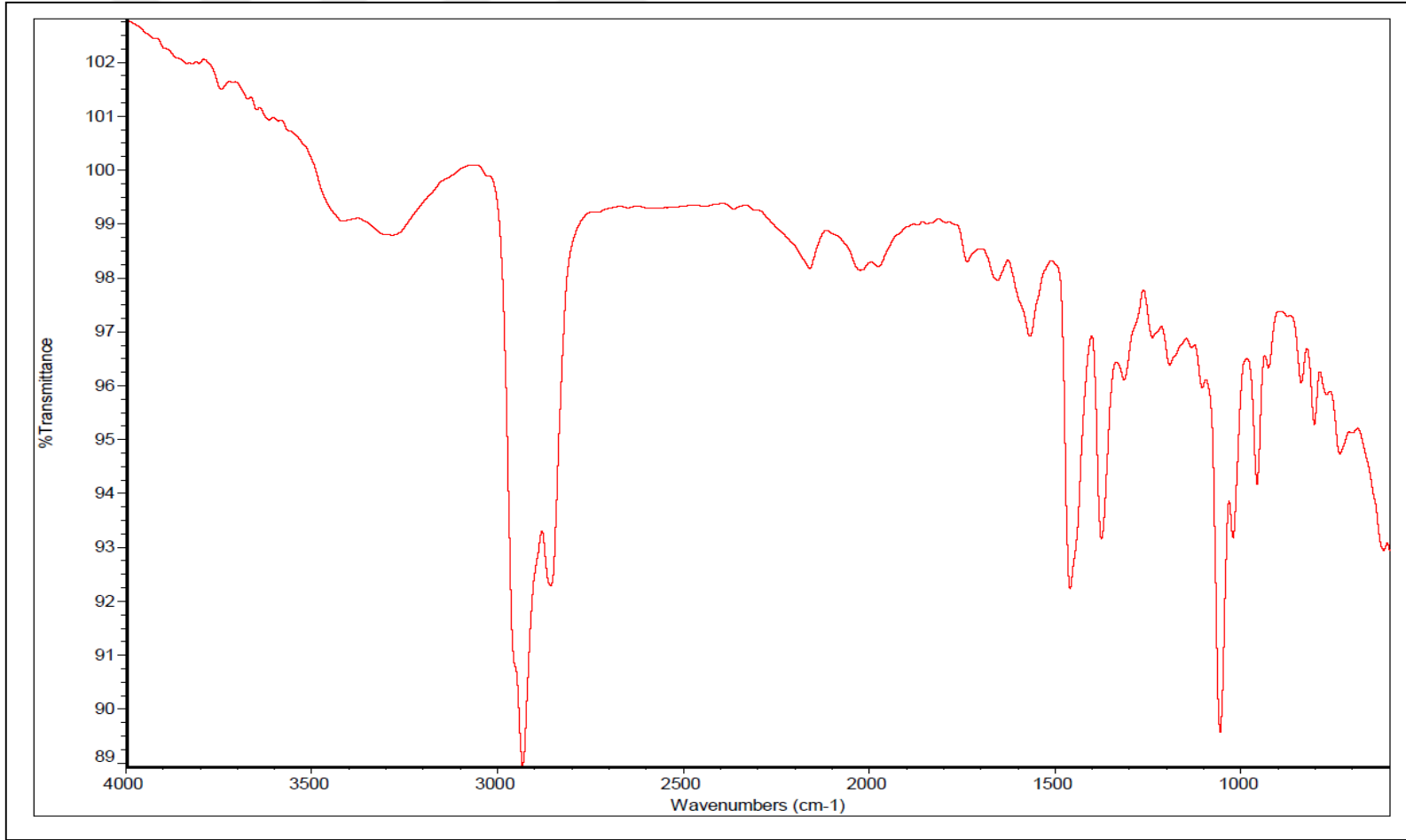
Çizelge 3.35. Stigmasterol (3) bileşiğinin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR değerleri

C no	Karbon türü	¹ H-NMR	¹³ C-NMR	¹ H-NMR ^a	¹³ C-NMR ^a
1	CH ₂	1,04, 1,83 (m)	37,2		
2	CH ₂	1,81, 1,96 (m)	31,6		
3	CH	3,52 (m)	71,8	3,51 (m)	71,8
4	CH ₂	2,22, 2,27 (m)	42,3		
5	C	-	140,7		140,8
6	CH	5,35 (dd, J= 5,2, 2,3 Hz)	121,7	5,33 (d, J= 5,2 Hz)	121,7
7	CH ₂	1,81, 1,93 (m)	31,9		
8	CH	1,43, 1,51 (m)	31,9		
9	CH	0,91 (m)	50,1		
10	C	-	36,5		
11	CH ₂	0,82, 0,99 (m)	21,1		
12	CH ₂	1,16, 1,98 (m)	39,7		
13	C	-	42,2		
14	CH	0,99 (m)	56,8		
15	CH ₂	1,13, 1,39 (m)	25,4		
16	CH ₂	1,14, 1,23 (m)	28,9		
17	CH	1,13 (m)	55,9		

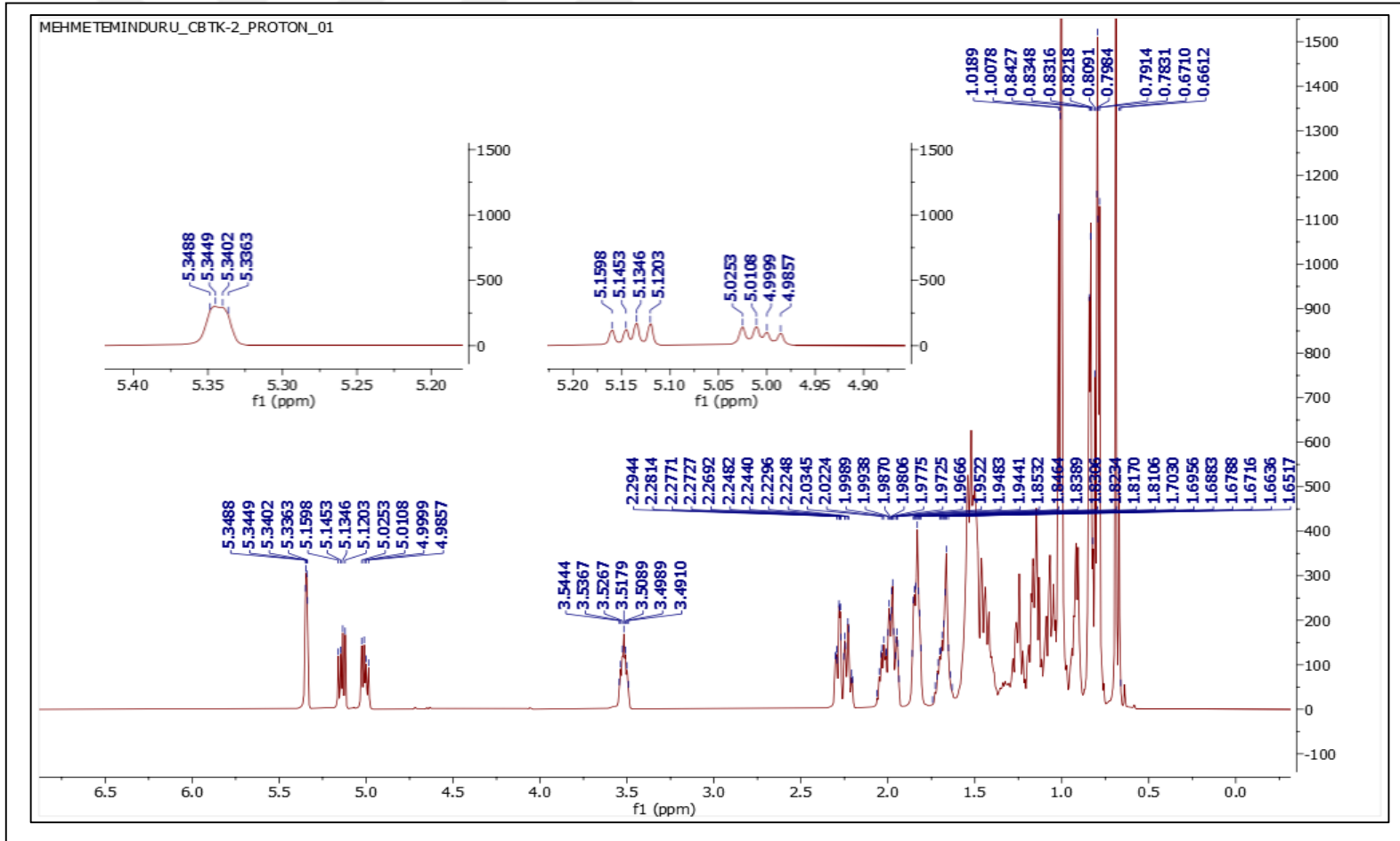
Çizelge 3.35. (devam)

C no	Karbon türü	¹ H-NMR	¹³ C-NMR	¹ H-NMR ^a	¹³ C-NMR ^a
18	CH ₃	0,69 (s)	12,0	0,69 (s)	11,9
19	CH ₃	1,00 (s)	19,4	1,00 (s)	19,4
20	CH	2,01 (m)	40,5		
21	CH ₃	0,79 (d, J= 7,0 Hz)	18,9	1,01 (d, J= 6,6 Hz)	18,9
22	CH	5,01 (dd, J= 15,1; 8,6 Hz)	129,2	5,00 (dd, J=8,6; 5,2 Hz)	129,3
23	CH	5,14 (dd, J= 15,1; 8,7 Hz)	138,3	5,15 (dd, J=8,6; 5,2 Hz)	138,3
24	CH	1,50 (m)	51,2		
25	CH	1,42 (m)	31,9		
26	CH ₃	1,01 (d, J= 6,7 Hz)	21,2	0,85 (d, J= 6,8 Hz)	20,6
27	CH ₃	0,84 (d, J= 6,7 Hz)	21,1	0,80 (d, J= 6,8 Hz)	20,5
28	CH ₂	1,03, 1,54 (m)	24,4		
29	CH ₃	0,80 (t, J= 6,8 Hz)	12,3	0,76 (d, J= 7,8 Hz)	15,2

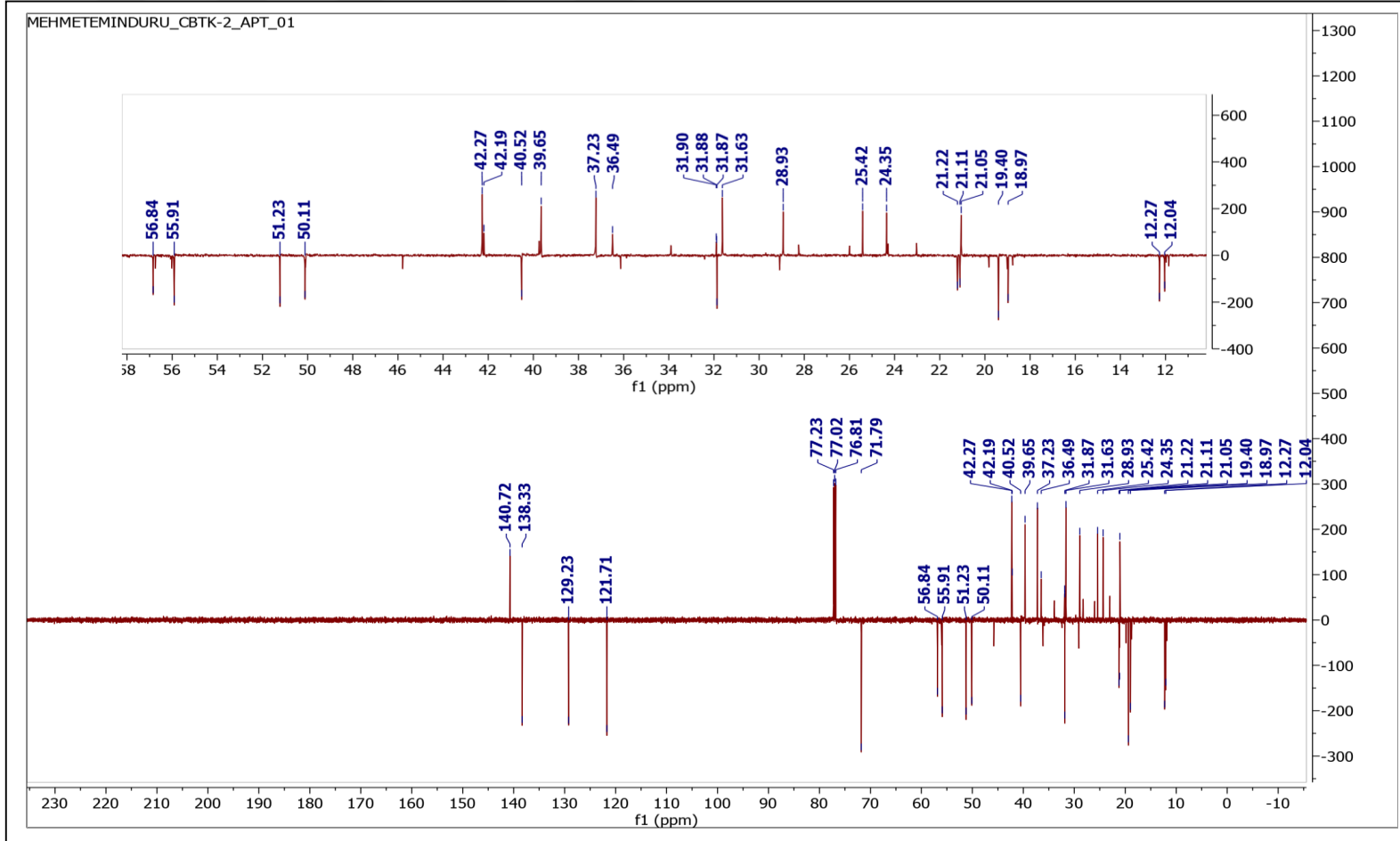
^a: Literatürdeki NMR değerleri (Tesemma vd., 2003)



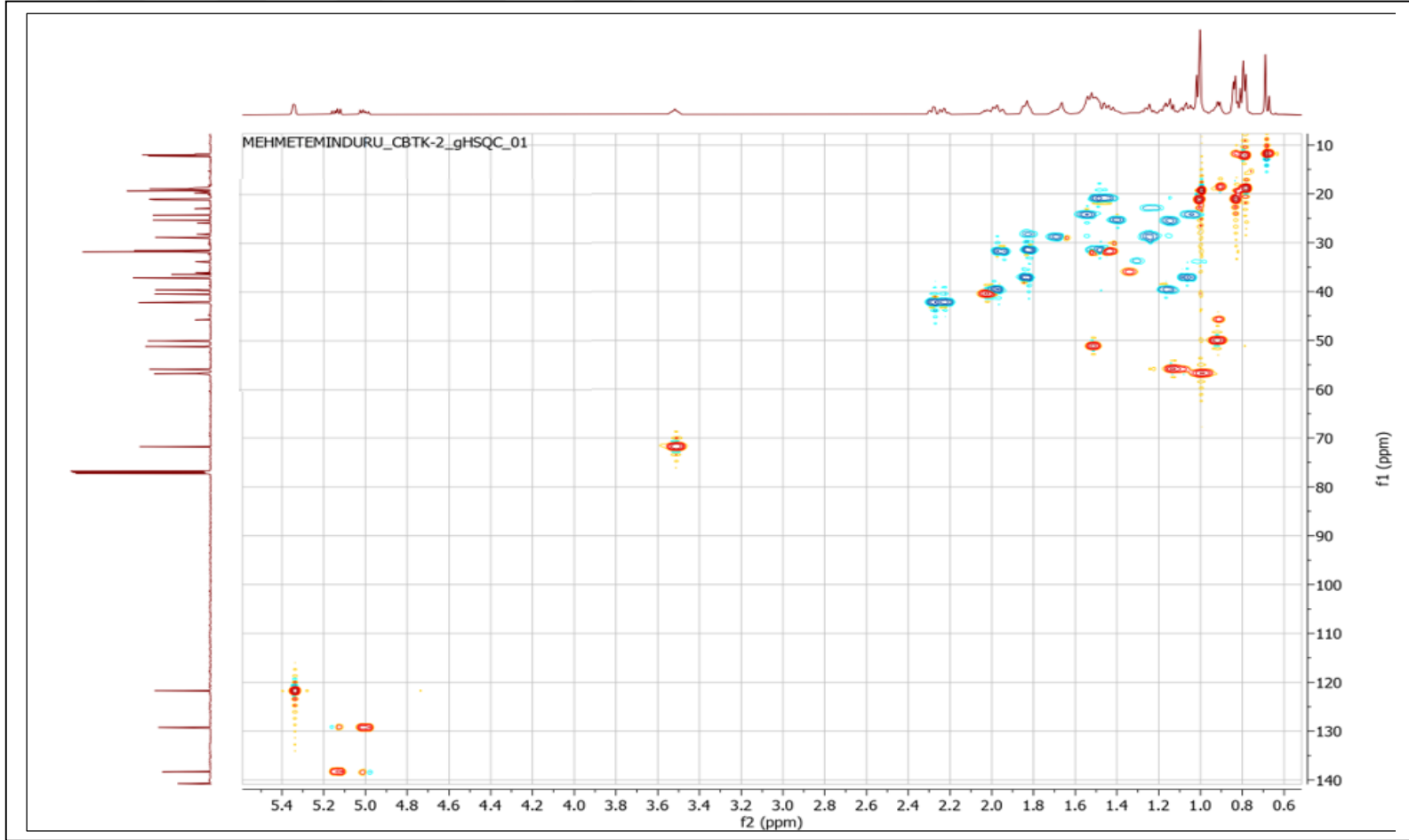
Şekil 3.39. Stigmasterol'ün (3) IR spektrumu



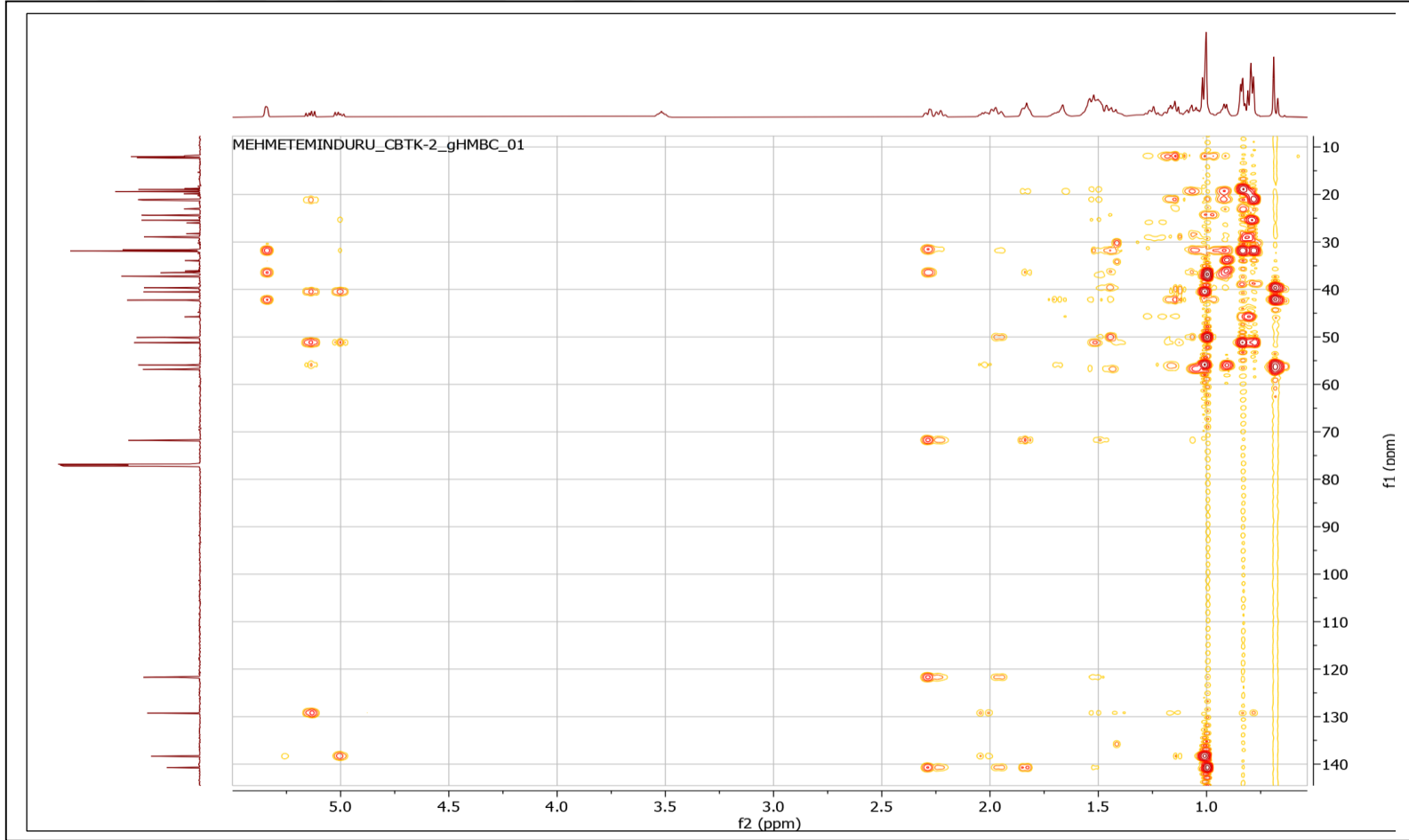
Şekil 3.40. Stigmasterol'ün (3) ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



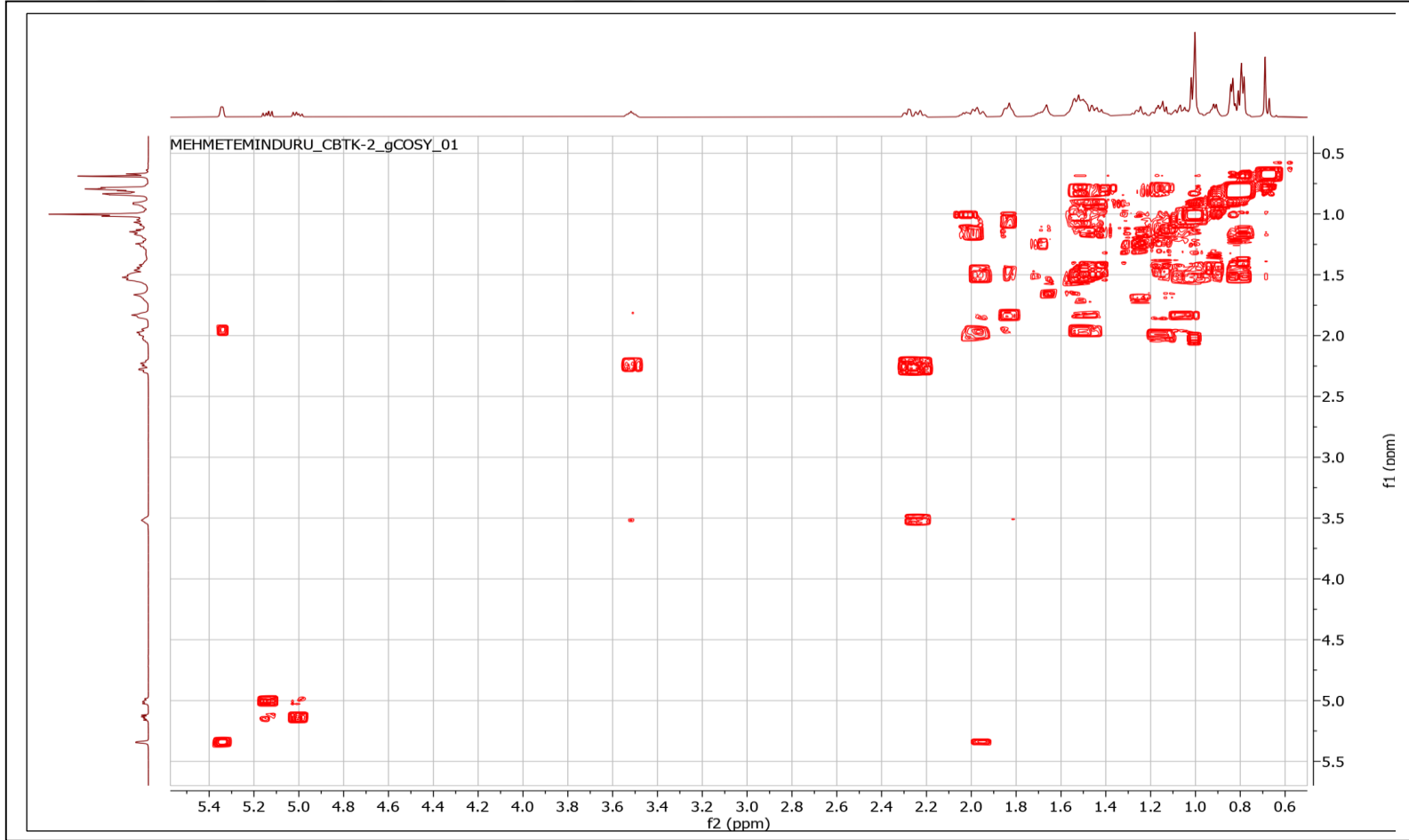
Şekil 3.41. Stigmasterol'ün (3) APT spektrumu (CDCl₃, 125 MHz)



Şekil 3.42. Stigmasterol'ün (3) HSQC spektrumu



Şekil 3.43. Stigmasterol'ün (3) HMBC spektrumu

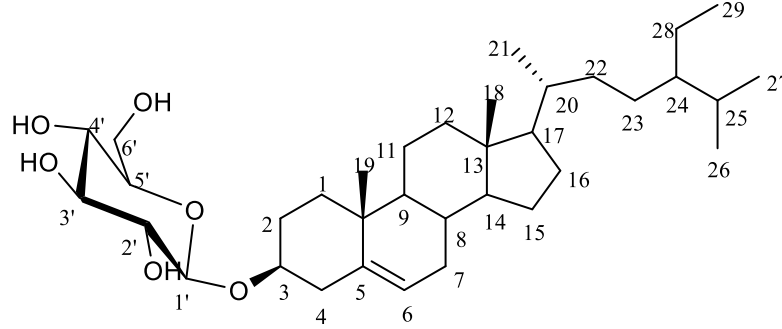


Şekil 3.44. Stigmasterol'ün (3) COSY spektrumu

3.4.5.4. β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit (4)

Beyaz amorf katı (14 mg)

IR $V_{\max}$ cm^{-1} : 3360 (OH), 2932 (Alifatik C-H), 1372 (C=C), 1055 (C-O)



Şekil 3.45. β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit (4)

CBTA11 kodlu fraksiyon silika jel kullanılarak kolon yapıldı. Kolona 98:2 DCM:metanol ile başlandı daha sonra kolona sırasıyla 95:5; 90:10; 75:25; 50:50 DCM:metanol sistemleri ile devam edildi kolondan metanol geçirildikten sonra kolon en son 0,5:99,5 asetik asit:su ile yıkandı. Toplam 7 fraksiyon elde edildi.

CBTM9 kodlu fraksiyon silika jel kullanılarak kolona yapıldı. Kolona 98:2 DCM:metanol ile başlandı daha sonra kolona sırasıyla 95:5; 90:10; 75:25; 50:50 DCM:metanol sistemleri ile devam edildi kolondan metanol geçirildikten sonra kolon en son 0.5:99.5 asetik asit:su ile yıkandı. Toplam 15 fraksiyon elde edildi. CBTA11-4 ve CBTM9-10 numaralı fraksiyonlar birleştirilerek CBTA11-4 ismi verildi.

CBTA11-4 kodlu fraksiyon kloroform:metanol (90:10) sistemi ve (JAIGEL-SIL Serisi) normal faz kolon kullanılarak recycle-HPLC'de saflaştırıldı. **4** numarası verilen bileşik beyaz amorf katı (14 mg) olarak elde edildi. Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) pembe renk olmaktadır. Şekil 3.46'da **β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit (4)** bileşiğinin İTK görüntüsü görülmektedir. **4** numaralı bileşiğin yapısı $^1\text{H-NMR}$, APT, 2D (HSQC, HMBC, COSY) spektrumları ile aydınlatıldı.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (CDCl_3 , 600MHz) δ 0,66 (3H, s, H-18), 1,00 (3H, s, H-19), 0,89 (3H, d, $J= 6,3$ Hz, H-21), 0,77 (3H, m, H-26), 0,80 (3H, d, $J= 6,3$ Hz, H-27) ve 0,81 (3H, t, $J= 7,0$ Hz, H-29) ppm'de rezonans olan 6 metil piki bileşiğin lanostan tipi 29

karbona sahip bir steroid olduğunu ve δ 3,25-4,36 ppm arasındaki pikler ile bileşiğin glikozit içerdiğini önerdi. δ 3,57 (1H, *m*, H-3) ppm'de rezonans olan pikten hidroksilin β -OH bağlandığı izlenirken ve δ 5,34 (1H, *br.s*, H-6) ppm'de rezonans olan pik ile bileşikteki tek vinilik hidrojen izlendi. Glikozitin β anomerik proton sinyali δ 4,36 (1H, *d*, *J*= 7,9 Hz, H-1') ppm'de izlendi.

APT spektrumu (CDCl₃, 125 MHz) HSQC spektrumu ile birlikte değerlendirildiğinde 6 metil, 12 metilen, 14 metin ve 3 katerner karbon gözlemlendi. δ 78,9 (C-3) ppm'de glikozitin bağlandığı karbon sinyali; δ 140,3 (C-5) ve 121,9 (C-6) ppm'de olefinik karbon sinyalleri; δ 11,6 (C-18), 19,0 (C-19), 18,5 (C-21), 19,4 (C-26), 18,6 (C-27) ve 11,5 (C-29) ppm'de metil karbonlarına ait sinyaller; ile δ 101,0 (C-1') ppm'de glikopiranozid grubuna ait anomerik karbon sinyali gözlemlendi. HMBC ile δ 3,57 (*m*, H-3) ppm'de rezonans olan pikin δ 101,0 (C-1') ppm'de rezonans olan pik ile korelasyon yapması ve benzer şekilde δ 4,4 (1H, *d*, *J*= 7,9 Hz, H-1') ppm'de rezonans olan pikin δ 78,9 (C-3) ppm'deki pik ile korelasyon olamaması C-3 karbonuna glikozitin C-1' konumundan bağlandığını göstermektedir. Glikozite ait olan ve δ 101,0; 73,5; 76,0; 70,1; 76,5; 61,6 ppm'de rezonans olan şeker karbon pikleri literatür ile karşılaştırıldığında β -D-glikoz ile uyushmaktadır (Sobeh vd., 2019).

Tüm spektroskopik veriler ve literatür çalışmaları sonucunda **4** numaralı bileşiğin yapısı kapalı formülü C₃₅H₅₈O₆ olan **β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozid** olarak tespit edildi (Voutquenne vd., 1999; Flamini vd., 2001). **β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozid (4)** bileşiği daha önce *Chaerophyllum* türlerinden izole edilmemiş olup, ilk defa bu proje ile *C. bulbosum* bitkisinden izole edilmiştir. **β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozid (4)** olarak tanımlanan bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR değerleri Çizelge 3.36'da; IR, ¹H-NMR, APT ve 2D-NMR spektrumları Şekil 3.47-3.52'de verilmektedir.

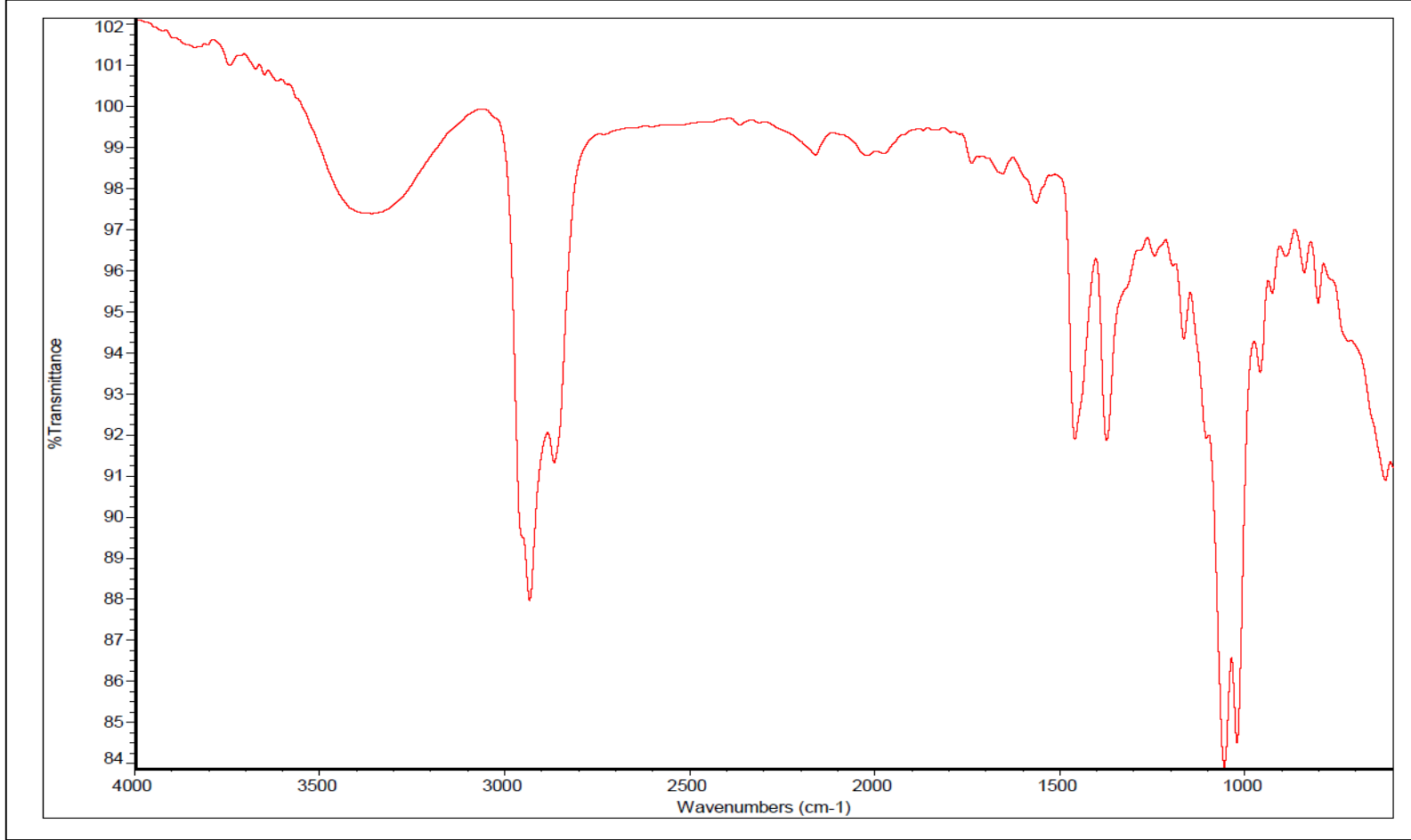


Şekil 3.46. β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozid (4) İTK görüntüsü

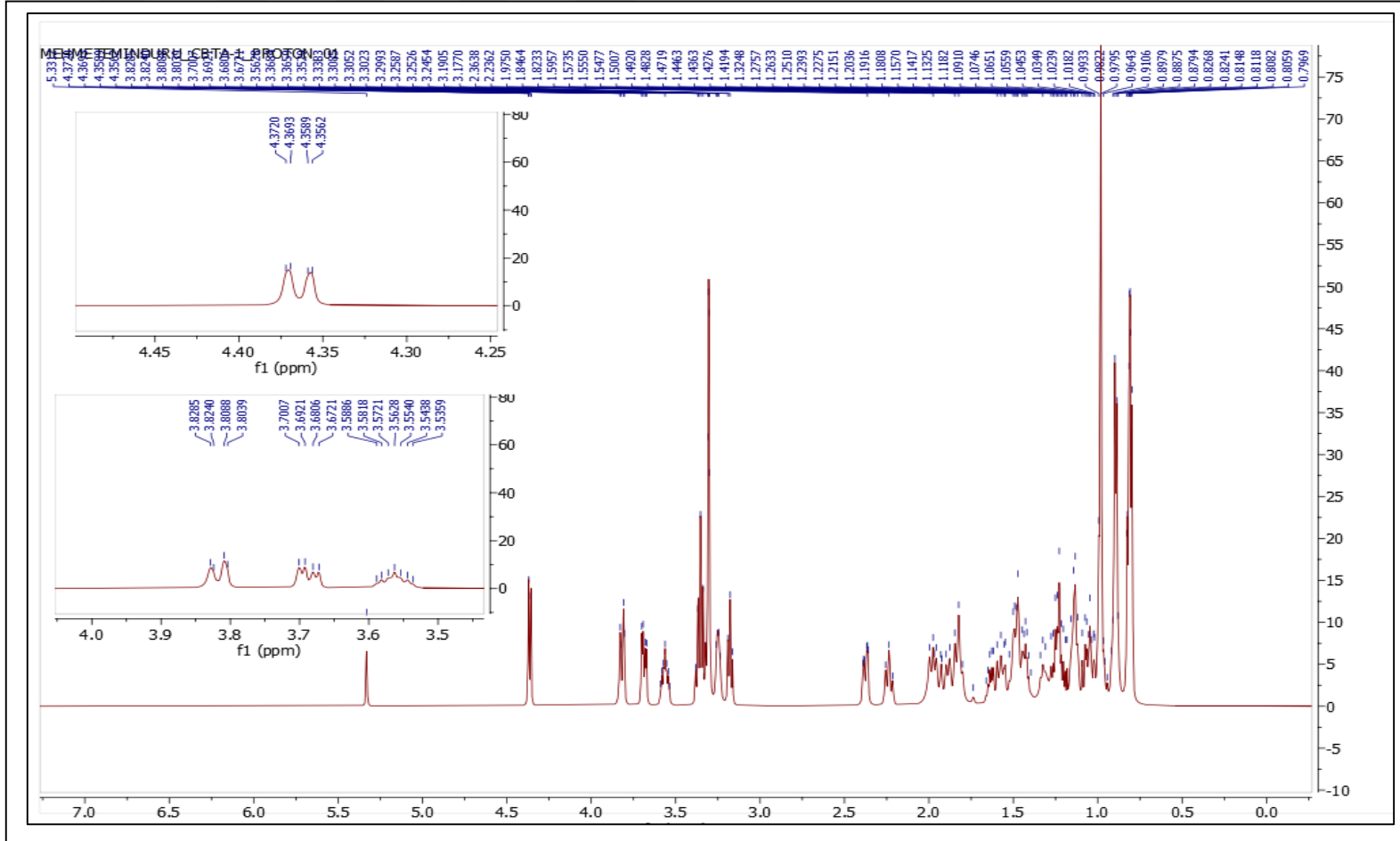
Çizelge 3.36. β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit (4) bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri

C no	Karbon türü	^1H -NMR	^{13}C -NMR	^1H -NMR ^a	^{13}C -NMR ^a
1	CH ₂	1,03 (m), 1,82 (m)	37,2		37,0
2	CH ₂	1,22 (m), 1,57 (m)	29,4		31,6
3	CH	3,57 (m)	78,9	3,58 (m)	78,9
4	CH ₂	2,24 (t, J= 12,5 Hz), 2,38 (m)	39,7	2,28 (m), 2,40 (m)	39,5
5	C	-	140,3		141,6
6	CH	5,33 (br.s, Hz)	121,9		121,9
7	CH ₂	1,50 (m), 1,98 (m)	31,8		31,6
8	CH	1,42 (m)	31,8		31,7
9	CH	0,89 (m)	50,1		50,0
10	C	-	36,6		36,5
11	CH ₂	0,98 (m), 1,47 (m)	20,9		20,8
12	CH ₂	2,23 (m), 2,37 (m)	38,5		38,5
13	C	-	42,2		42,1
14	CH	0,98 (m)	56,7		56,5
15	CH ₂	0,90 (m), 1,13 (m)	25,8		24,5
16	CH ₂	1,05 (m), 1,55 (m)	24,1		28,7
17	CH	1,08 (m)	55,9		55,8
18	CH ₃	0,66 (s)	11,6	1,70 (s)	12,0
19	CH ₃	1,00 (s)	19,0	1,01 (s)	19,0
20	CH	1,33 (m)	36,0	1,27 (s)	36,0
21	CH ₃	0,89 (d, J= 6,3 Hz)	18,5	0,94 (d, J= 6,5 Hz)	18,5
22	CH ₂	0,98 (m), 1,32 (m)	33,8		34,0
23	CH ₂	1,23 (m), 1,82 (m)	28,1		28,0
24	CH	0,89 (m)	45,8		45,7
25	CH	1,63 (m)	28,9		28,9
26	CH ₃	0,77 (m)	19,4	0,8-0,9 (s)	19,5
27	CH ₃	0,80 (d, J= 6,3 Hz)	18,6	0,8-0,9 (s)	18,7
28	CH ₂	1,19 (m), 1,24 (m)	22,9		22,8
29	CH ₃	0,81 (t, J= 7,0 Hz)	11,54	0,8-0,9 (s)	12
1'	CH	4,36 (d, J= 7,9 Hz)	101,0	4,41 (d, J= 7,3 Hz)	100,9
2'	CH	3,25 (br.s)	73,5	3,28 (m)	73,3
3'	CH	3,36 (m)	76,0	3,40-3,50 (m)	76,2
4'	CH	3,35 (m)	70,2	3,40-3,50 (m)	70,0
5'	CH	3,25 (m)	76,5	3,31 (m)	75,4
6'	CH ₂	3,69 (dd, J= 12,0; 5,1 Hz) 3,82 (dd, J= 11,9; 2,8 Hz)	61,6	3,77 (dd, J= 11; 4,4 Hz) 3,86 (dd, J= 11; 3,3 Hz)	61,7

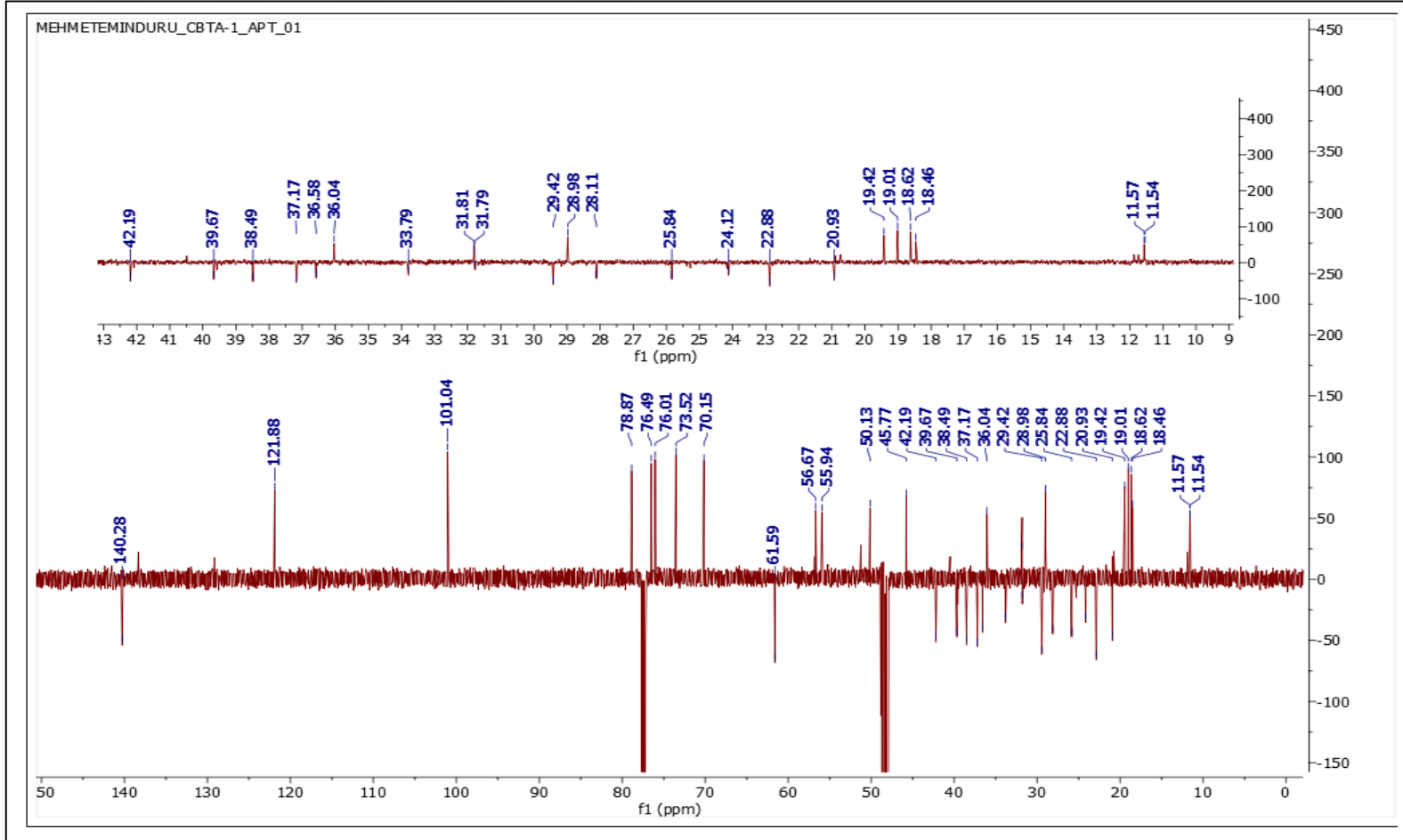
^a: Literatürdeki NMR değerleri (Tesemma vd., 2013)



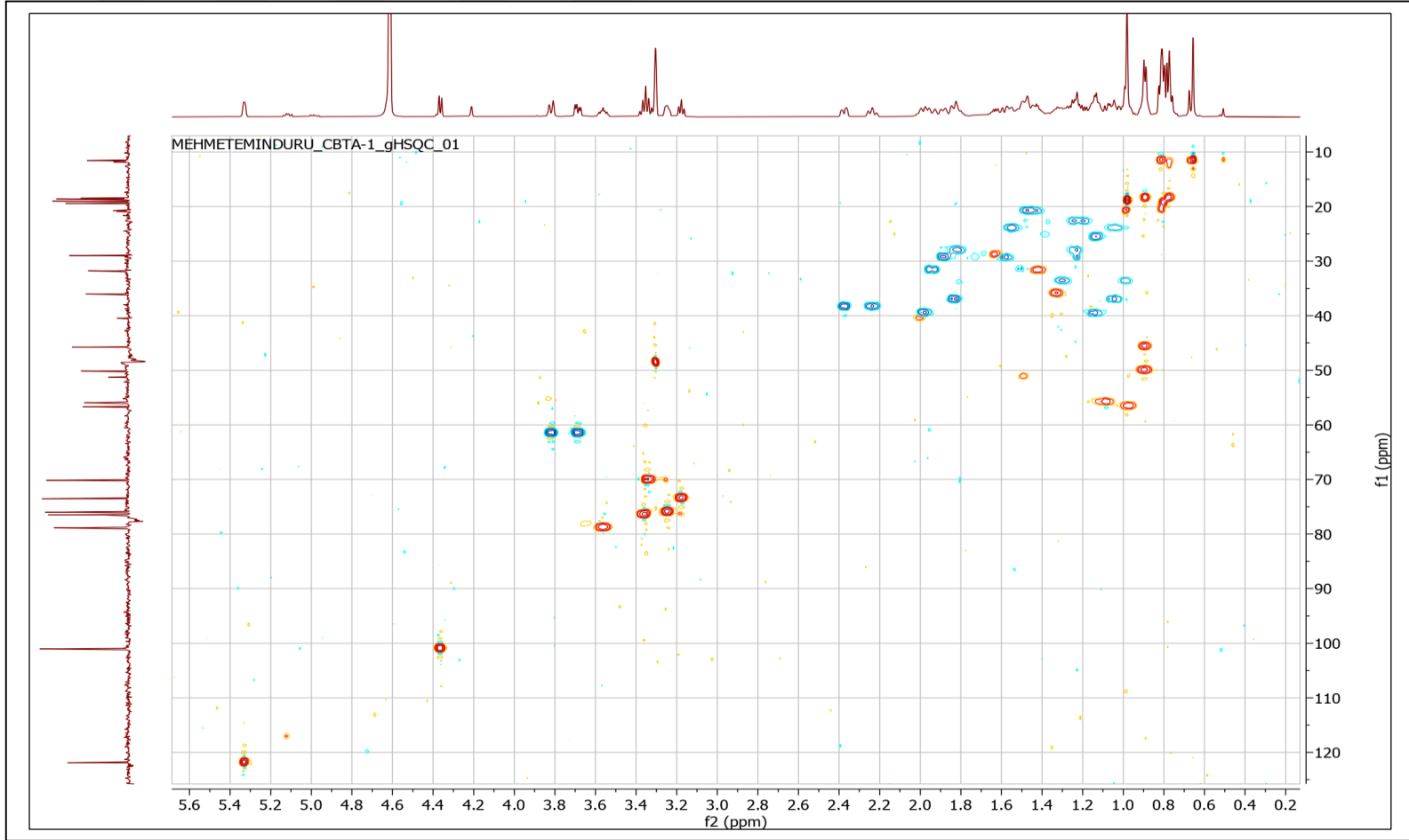
Şekil 3.47. β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit'in (4) IR spektrumu



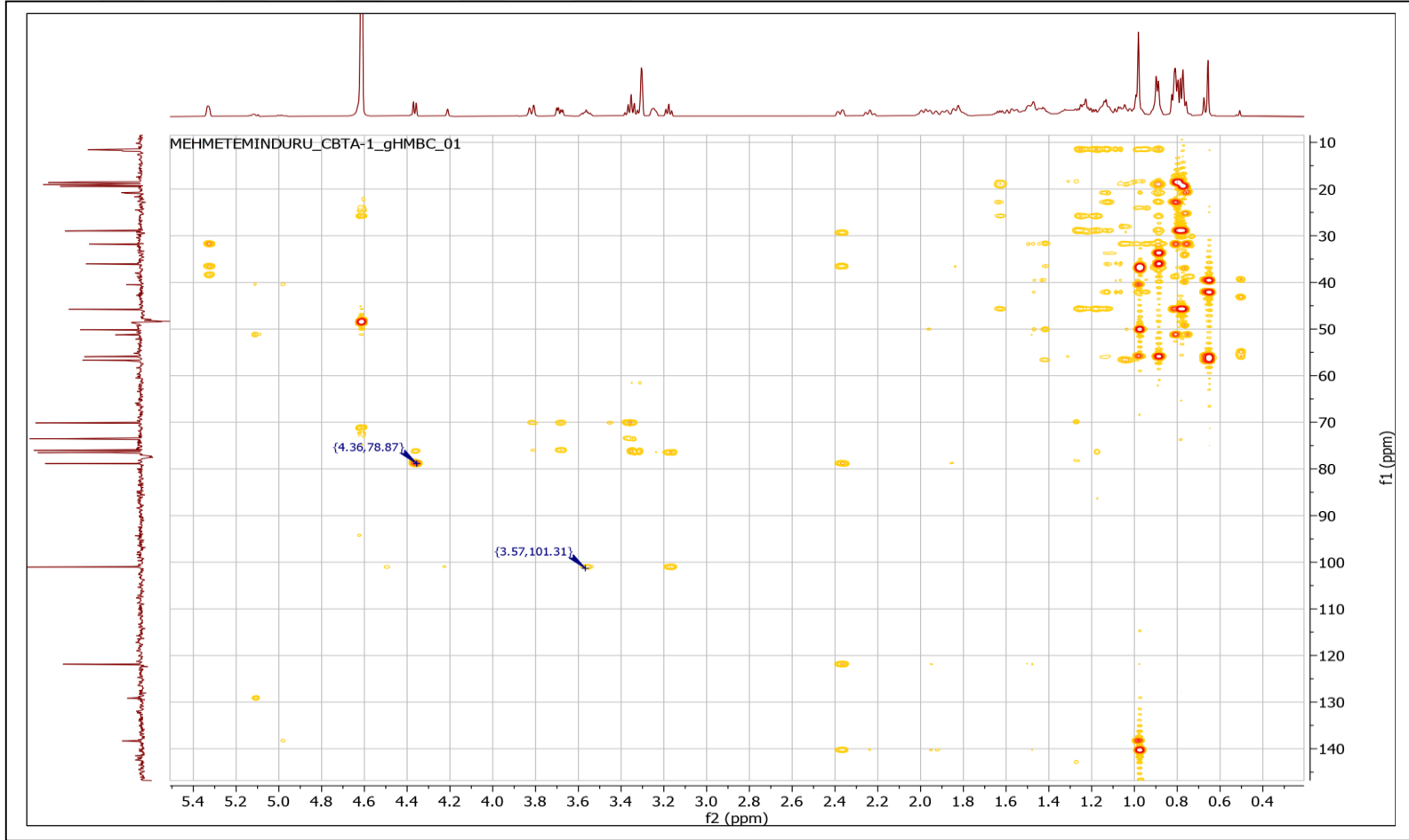
Şekil 3.48. β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit'in (4) ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



Şekil 3.49. β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit'in (4) APT spektrumu (CDCl_3 , 125 MHz)



Şekil 3.50. β -sitosterol 3-O- β -D-glikopiranozit'in (4) HSQC spektrumu

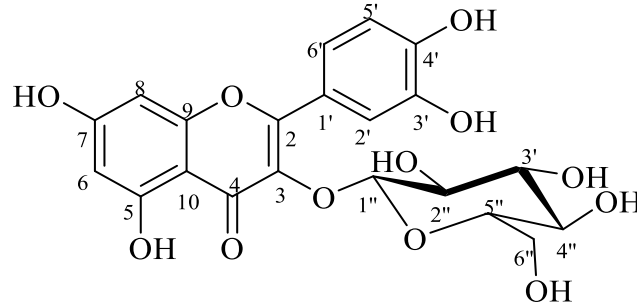


Şekil 3.51. β -sitosterol 3-O- β -D-glikopiranozit'in (4) HMBC spektrumu

3.4.5.5. Kersetin-3-O-β-D-glikopiranozit (5)

Sarı amorf katı (12,6 mg)

IR $V_{\max}$ cm^{-1} : 3182 (OH), 1649 (C=O), 1498, 1600 (Aromatik C=C), 1350 (C=C)



Şekil 3.53. Kersetin-3-O-β-D-glikopiranozit (5)

CBTM11 kodlu fraksiyon ana kolon yapıldı. Kolona hekzan ile başlandı. Daha sonra polarite her defasında % 25 arttırılarak kloroform, aseton ve metanol ile kolona devam edildi. Kolon en son 0,5:99,5 asetik asit:su ile yıkandı. Toplam 14 fraksiyon elde edildi. Elde edilen bu fraksiyonlardan CBTM11-8 kodlu fraksiyon 50:50 kloroform:metanol kullanılarak Sefadeks LH-20 kolon yapıldı. Toplam 6 fraksiyon elde edildi. Elde edilen bu alt fraksiyonlardan CBTM11-8/5 kodlu fraksiyon % 100 metanol sistemi ve GS-320 kolon kullanılarak recycle-HPLC’de saflaştırıldı. 5 numarası verilen bileşik sarı amorf katı (12,6 mg) olarak elde edildi. Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) sarı renk olmaktadır. Şekil 3.54’de **kersetin-3-O-β-D-glikopiranozit (5)** bileşiğinin İTK görüntüsü görülmektedir. 5 numaralı bileşiğin yapısı $^1\text{H-NMR}$, APT, 2D (HSQC, HMBC, COSY) spektrumları ile aydınlatıldı.

APT (CD_3OD , 125 MHz) spektrumu incelendiğinde 5 numaralı bileşiğin 1 metilen, 10 metin ve 10 katerner olmak üzere toplam 21 karbon içerdiği belirlendi. Kimyasal kaymalarla birlikte incelendiğinde APT spektrumu $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ kapalı formülüne sahip bir flavonoid glikozit yapısını önerdi.

CD_3OD ile alınan $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (600 MHz) δ 6,18 (1H, s) ve 6,37 (1H, s) izlenen piklerin sırası ile H-6 ve H-8 protonlarına ait olduğu COSY, HSQC ve HMBC spektrumlarındaki ilişkilerden belirlendi. δ 6,86 ppm’de (1H, d, J = 8,4 Hz, H- 5'), 7,70 ppm’de (1H, s, H-2') ve 7,58 ppm’de (1H, d, J = 8,8 Hz, H-6') izlenen pikler ile B

halkasında 3' ve 4' konumlarında hidroksil gruplarının bulunduğu tespit edildi. δ 5,24 ppm'de (1H, *d*, *J*= 7,7 Hz, H-1'') izlenen pik, aglikona β -bağlanmış glikozitin anomerik protonu olup HMBC spektrumu incelendiğinde glikozitin C-1'' konumundan (δ 104,3, C-1'') aglikonun δ 135,58 ppm'de rezonans olan C-3 karbonuna bağlandığı belirlendi. Glikozite ait olan ve δ 104,3, 75,7, 78,1, 71,2, 78,4, 62,5 ppm'de rezonans olan şeker karbon pikleri literatür ile karşılaştırıldığında β -D-glikoz ile uyushmaktadır (Sobeh vd., 2019).

Tüm spektroskopik veriler ve literatür çalışmaları sonucunda 5 numaralı bileşiğin yapısı **kersetin-3-O- β -D-glikopiranozit** olarak tespit edildi (Shokoohinia vd., 2015). **Kersetin-3-O- β -D-glikopiranozit (5)** bileşiği ilk defa bu proje ile *C. bulbosum* bitkisinden proje kapsamında tarafımızca izole edilmiştir. **Kersetin-3-O- β -D-glikopiranozit (5)** olarak tanımlanan bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ değerleri Çizelge 3.37'de; IR, $^1\text{H-NMR}$, APT ve 2D-NMR spektrumları Şekil 3.55-3.60'de verilmektedir.



Şekil 3.54. Kersetin-3-O- β -D-glikopiranozit (5) İTK görüntüsü

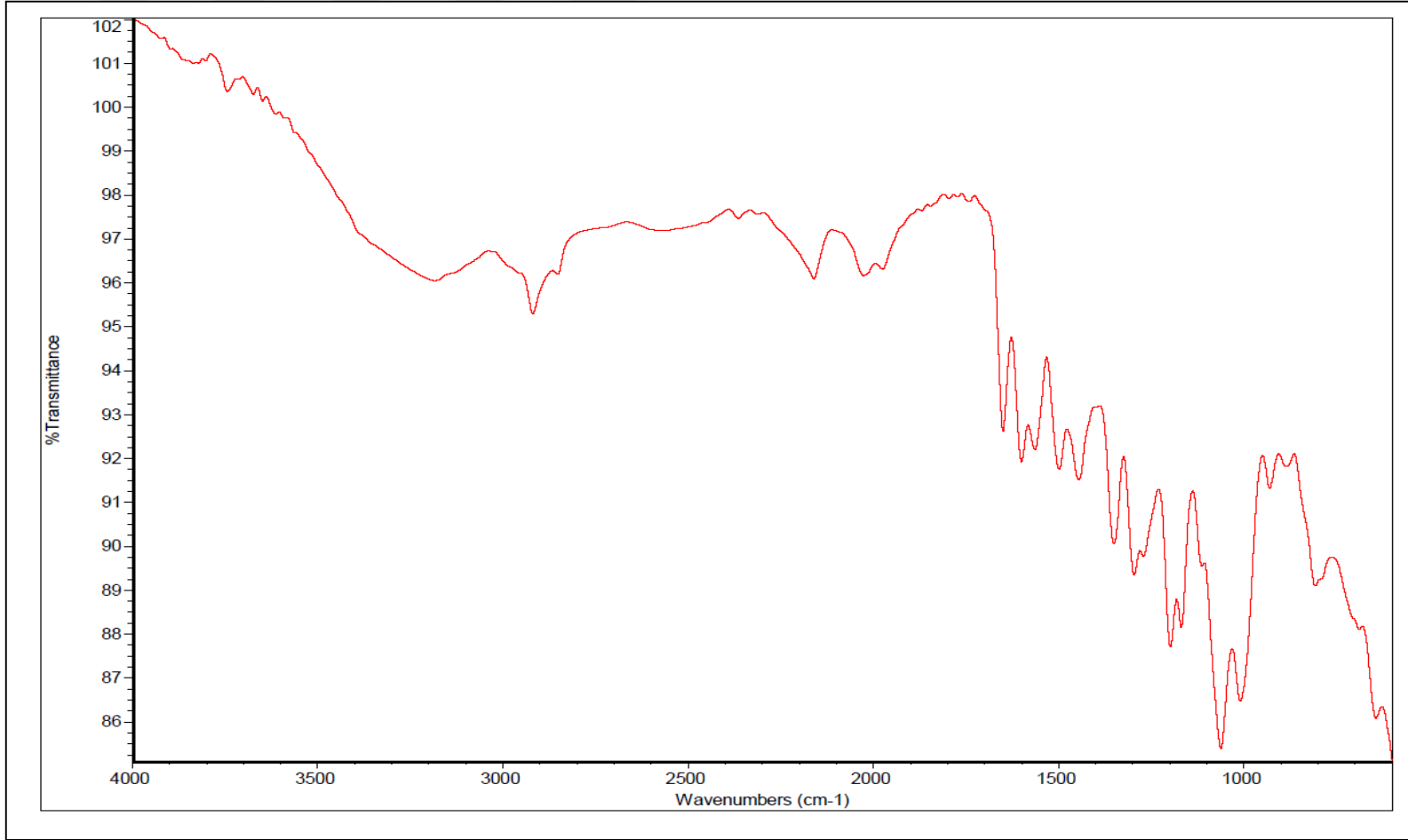
Çizelge 3.37. Kersetin-3-O- β -D-glikopiranozit (5) bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ değerleri

C no	Karbon türü	$^1\text{H-NMR}$	$^{13}\text{C-NMR}$	$^1\text{H-NMR}^a$	$^{13}\text{C-NMR}^a$
2	C	-	158,4		158,4
3	C	-	135,6		135,6
4	C	-	179,4		179,4
5	C	-	163,0		162,9
6	CH	6,18 (s)	99,9	6,08 (<i>d</i> , <i>J</i> = 1,6 Hz)	99,9
7	C	-	166,3		165,9
8	CH	6,37 (s)	94,8	6,26 (<i>d</i> , <i>J</i> = 1,6 Hz)	94,8
9	C	-	158,9		159,0
10	C	-	105,6		105,6
1'	C	-	123,0		123,0
2'	CH	7,70 (s)	117,5	7,62 (<i>d</i> , <i>J</i> = 2,0 Hz)	117,6
3'	C	-	145,9		145,8
4'	C	-	149,9		149,8
5'	CH	6,86 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,4 Hz)	115,9	6,76 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,4 Hz)	116,0
6'	CH	7,58 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,8 Hz)	123,2	7,47 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 2,0; 8,4 Hz)	123,2
1''	CH	5,24 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7,7 Hz)	104,3	5,13 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7,6 Hz)	104,4
2''	CH	3,48 (<i>t</i> , <i>J</i> = 8,5 Hz)	75,7	3,37 (<i>m</i>)	75,7
3''	CH	3,44 (<i>t</i> , <i>J</i> = 9,0 Hz)	78,1	3,20 (<i>m</i>)	78,1

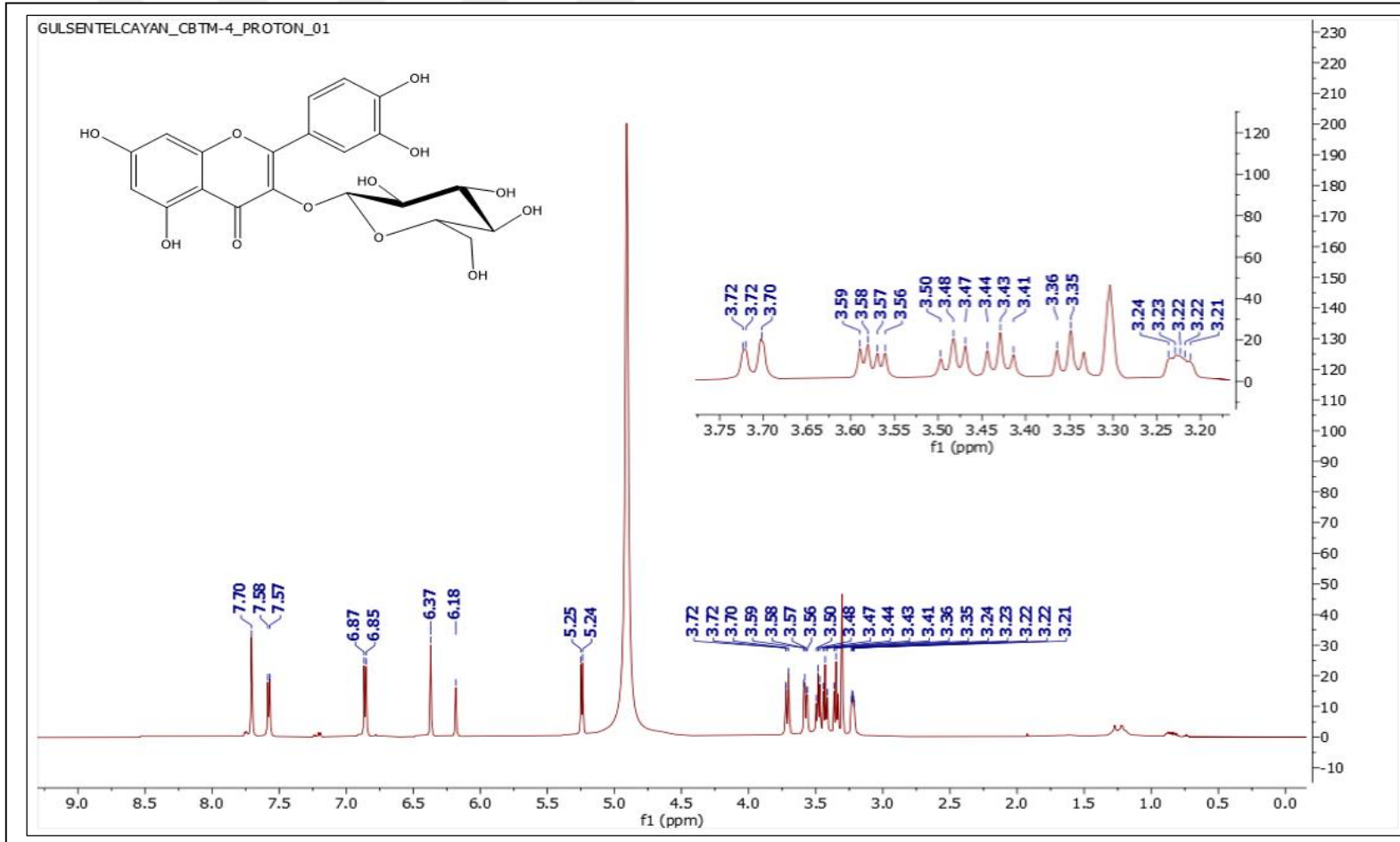
Çizelge 3.37. (devam)

C no	Karbon türü	¹ H-NMR	¹³ C-NMR	¹ H-NMR ^a	¹³ C-NMR ^a
4''	CH	3,35 (<i>t</i> , <i>J</i> = 9,2 Hz)	71,2	3,26 (<i>m</i>)	71,1
5''	CH	3,25 (<i>m</i>)	78,4	3,14 (<i>m</i>)	78,3
		3,59 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 11,9; 5,4 Hz),	62,5	3,64 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 2,4; 11,8 Hz),	62,5
6''	CH ₂	3,72 (<i>d</i> , <i>J</i> = 11,3 Hz)		3,46 (<i>d</i> , <i>J</i> = 11,8 Hz)	

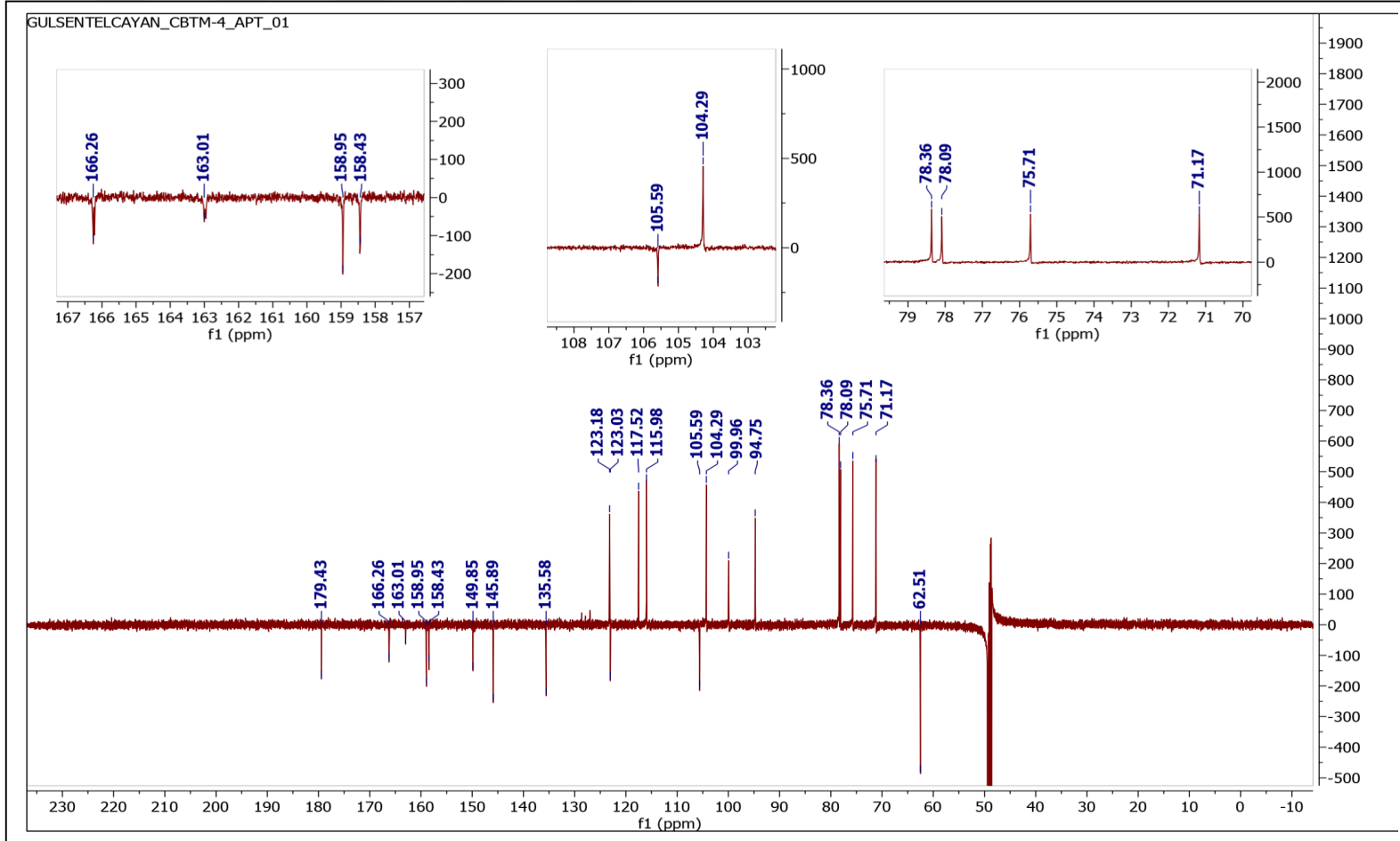
^a: Literatürdeki NMR değerleri (Tesemma vd., 2013)



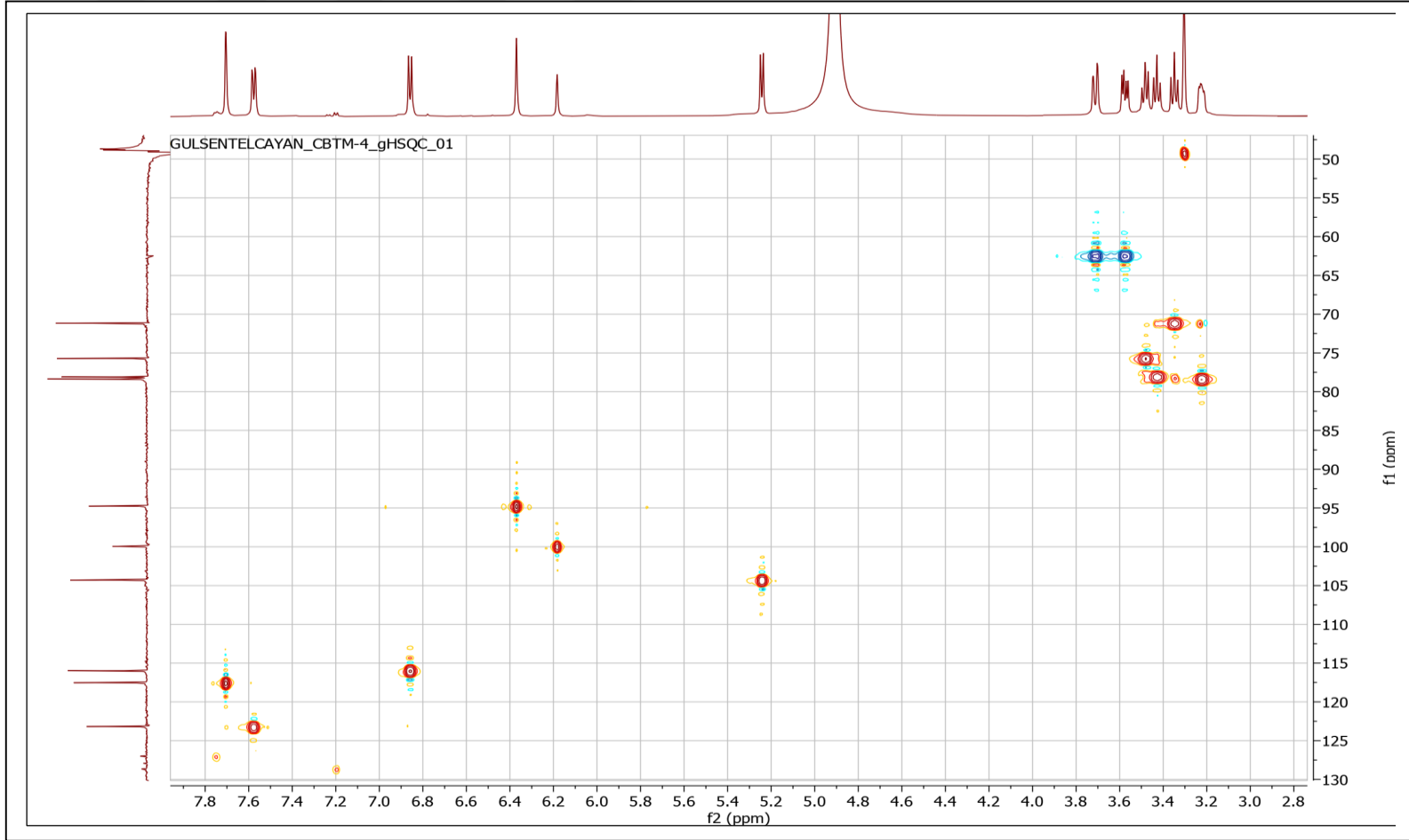
Şekil 3.55. Kersetin-3-O-β-D-glikopiranozit'in (5) IR spektrumu



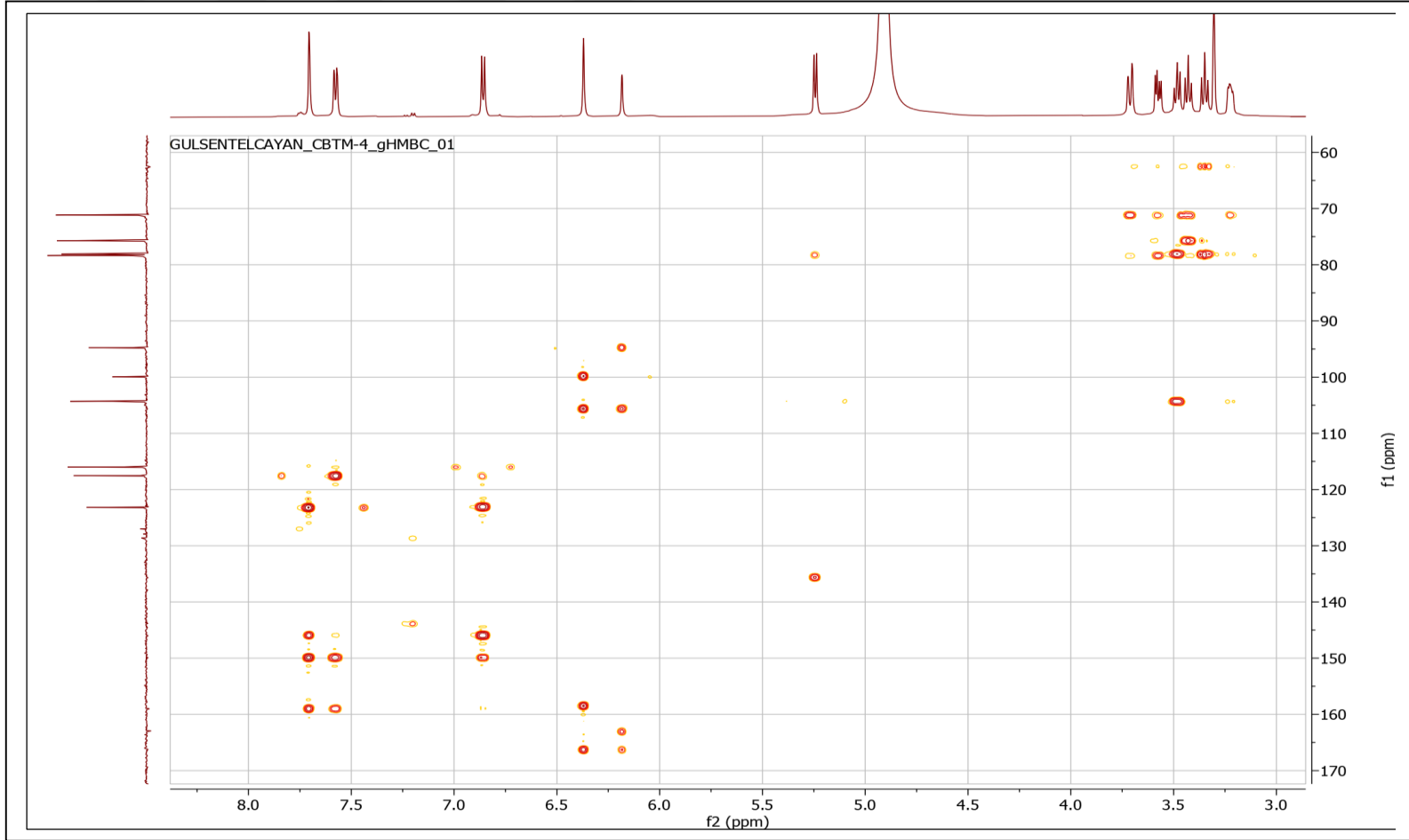
Şekil 3.56. Kersetin-3-O- β -D-glikopiranozit'in (5) ^1H -NMR spektrumu (CD₃OD, 600 MHz)



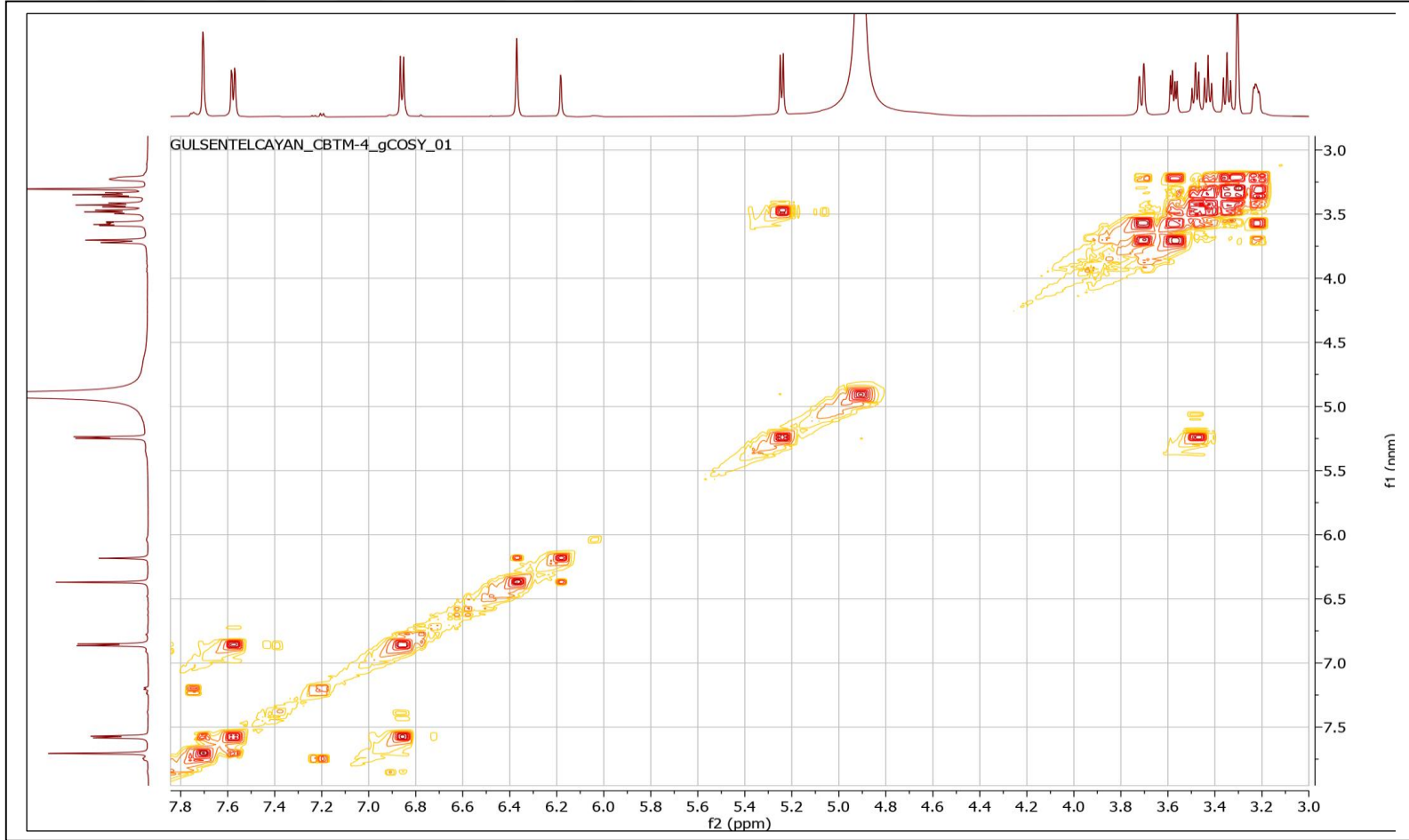
Şekil 3.57. Kersetin 3-O-β-D-glikopiranozit'in (5) APT spektrumu (CD₃OD, 125 MHz)



Şekil 3.58. Kersetin 3-O-β-D-glikopiranozit'in (5) HSQC spektrumu



Şekil 3.59. Kersetin 3-O- β -D-glikopiranozit'in (5) HMBC spektrumu

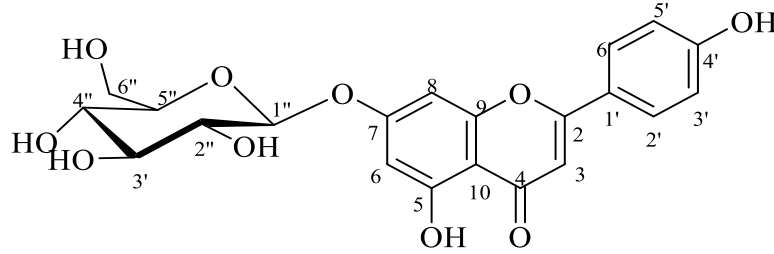


Şekil 3.60. Kersetin 3-O-β-D-glikopiranozit'in (5) COSY spektrumu

3.4.5.6. Apigenin-7-O-β-D-glikopiranozit (6)

Sarı amorf katı (7,5 mg)

IR $V_{\max}$ cm^{-1} : 3272 (OH), 1651 (C=O), 1497, 1599 (Aromatik C=C), 1357 (C=C)



Şekil 3.61. Apigenin-7-O-β-D-glikopiranozit (6)

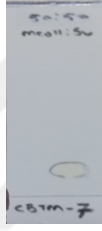
CBTM11 kodlu fraksiyon ana kolon yapıldı. Kolona hekzan ile başlandı. Daha sonra polarite her defasında %25 arttırılarak kloroform, aseton ve metanol ile kolona devam edildi. Kolon en son 0,5:99,5 asetik asit:su ile yıkandı. Toplam 14 fraksiyon elde edildi. Elde edilen bu fraksiyonlardan CBTM11-7 kodlu fraksiyon kloroform:metanol (50:50) kullanılarak Sephadex LH-20 kolon yapıldı. Toplam 8 fraksiyon elde edildi. Elde edilen bu alt fraksiyonlardan CBTM11-7/4 kodlu fraksiyon %100 metanol sistemi ve GS-320 kolon kullanılarak recycle-HPLC’de saflaştırıldı. **6** numarası verilen bileşik sarı amorf katı (7,5 mg) olarak elde edildi. Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) sarı renk olmaktadır. Şekil 3.62’de **apigenin-7-O-β-D-glikopiranozit (6)** bileşiğinin İTK görüntüsü görülmektedir. **6** numaralı bileşiğin yapısı $^1\text{H-NMR}$, APT, 2D (HSQC, HMBC, COSY) spektrumları ile aydınlatıldı.

APT (CD_3OD , 125 MHz) spektrumu incelendiğinde **6** numaralı bileşiğin 1 metilen, 12 metin ve 8 katerner olmak üzere toplam 21 karbon içerdiği belirlendi. Kimyasal kaymalarla birlikte incelendiğinde APT spektrumu $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$ kapalı formülüne sahip bir flavonoid glikozit yapısını önerdi.

CD_3OD ile alınan $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (600 MHz) δ 6,48 (1H, *d*, *J*= 2,2 Hz) ve 6,79 (1H, *d*, *J*= 2,2 Hz) izlenen piklerin sırası ile H-6 ve H-8 protonlarına ait olduğu COSY, HSQC ve HMBC spektrumlarındaki ilişkilerden belirlendi. δ 6,90 ppm’de (2H, *d*, *J*= 8,4 Hz, H-3’ ve H-5’) ve δ 7,86 ppm’de (2H, *d*, *J*= 8,8 Hz, H-2’ ve H-6’) izlenen pikler ile B halkasında 4’ konumunda hidroksil grubunun bulunduğu tespit

edildi. δ 5,07 ppm'de (1H, *d*, *J*= 6,8 Hz, H-1'') izlenen pik, aglikona β -bağlanmış, glikozitin anomerik protonu olup HMBC spektrumu incelendiğinde glikozitin C-1'' konumundan (δ 101,6 C-1'') aglikon'un δ 166,9 ppm'de rezonans olan C-7 karbonuna bağlandığı belirlendi. Glikozite ait olan ve δ 101,6; 74,7; 77,8; 71,3; 78,4 ve 62,4 ppm'de rezonans olan şeker karbon pikleri literatür ile karşılaştırıldığında β -D-glikoz ile uyumaktadır (Sobeh vd., 2019).

Tüm spektroskopik veriler ve literatür çalışmaları sonucunda **6** numaralı bileşiğin yapısı **apigenin-7-O- β -D-glikopiranozit** olarak tespit edildi (Redaelli vd., 1980; Toshmatov vd., 2018). **Apigenin-7-O- β -D-glikopiranozit (6)** bileşiği daha önce *C. aromaticum* bitkisinden izole edilmiş olup, ilk defa bu proje ile *C. bulbosum* bitkisinden izole edilmiştir (Cisowski, 1986). **Apigenin-7-O- β -D-glikopiranozit (6)** olarak tanımlanan bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ değerleri Çizelge 3.38'de; IR, $^1\text{H-NMR}$ ve 2D-NMR spektrumları Şekil 3.63-3.68'de verilmektedir.



Şekil 3.62. Apigenin-7-O- β -D-glikopiranozit (6) İTK görüntüsü

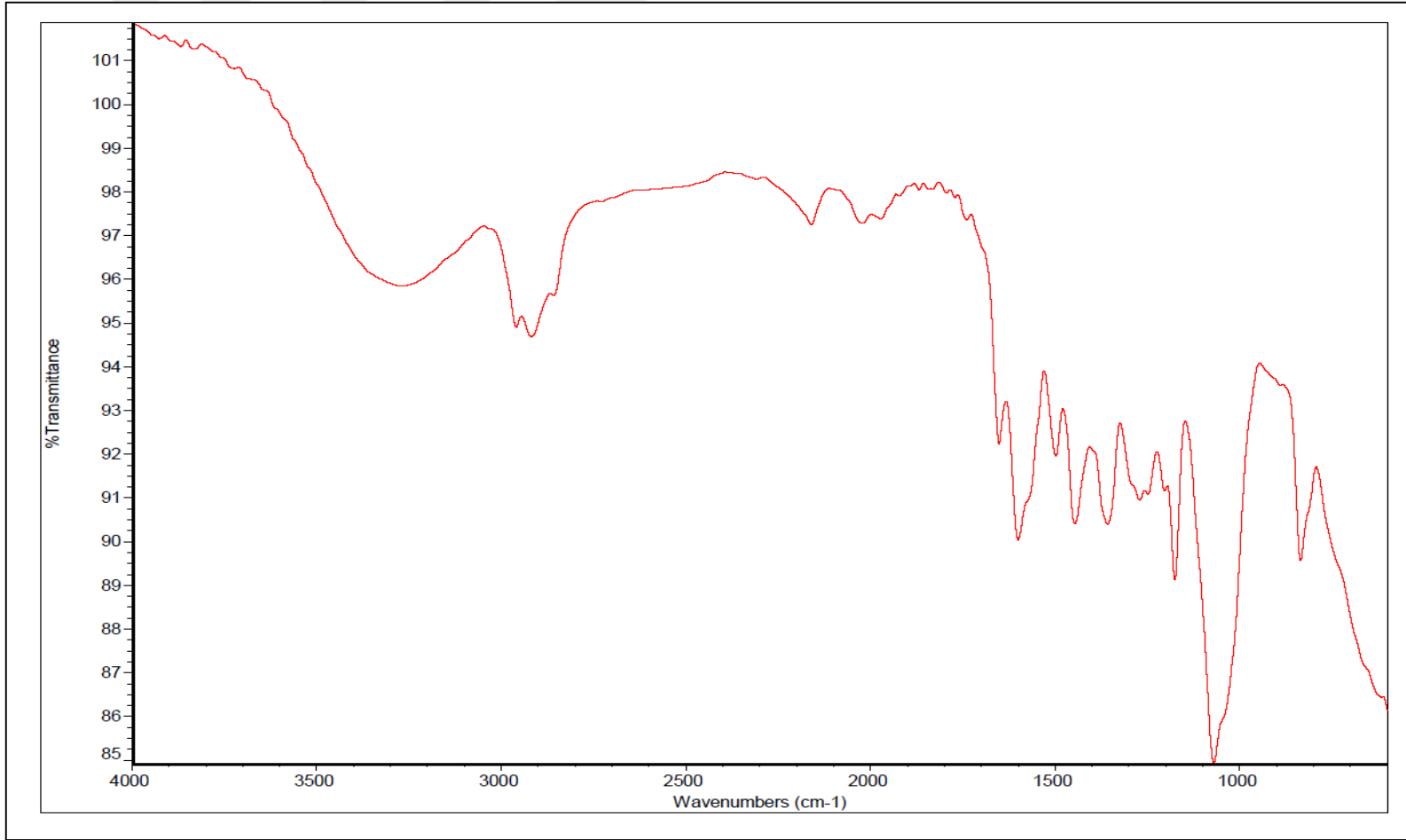
Çizelge 3.38. Apigenin-7-O- β -D-glikopiranozit (6) bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ değerleri

C no	Karbon türü	$^1\text{H-NMR}$	$^{13}\text{C-NMR}$	$^1\text{H-NMR}^a$	$^{13}\text{C-NMR}^a$
2	C	-	164,7	-	161,5
3	CH	6,62 (s)	103,7	6,68 (s)	102,7
4	C	-	184,0	-	182,6
5	C	-	162,8	-	161,5
6	CH	6,48 (<i>d</i> , <i>J</i> = 2,2 Hz)	101,1	6,52 (s)	99,8
7	C	-	166,9	-	163,4
8	CH	6,79 (<i>d</i> , <i>J</i> = 2,2 Hz)	96,0	6,84 (s)	94,6
9	C	-	158,9	-	157,6
10	C	-	107,0	-	105,7
1'	C	-	122,2	-	121,6
2'	CH	7,86 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,4 Hz)	129,6	7,91 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,3 Hz)	128,2
3'	CH	6,90 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,4 Hz)	117,5	6,96 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,5 Hz)	115,6
4'	C	-	164,7	-	165,3
5'	CH	6,90 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,4 Hz)	117,5	6,96 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,5 Hz)	115,6
6'	CH	7,86 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,4 Hz)	129,6	7,91 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,3 Hz)	128,2
1''	CH	5,07 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,8 Hz)	101,6	5,10 (<i>d</i> , <i>J</i> = 5,3 Hz)	100,2
2''	CH	3,49 (<i>t</i> , <i>J</i> = 6,4 Hz)	74,7	3,52 (<i>d</i> , <i>J</i> = 9,1 Hz)	73,3
3''	CH	3,50 (<i>t</i> , <i>J</i> = 6,4 Hz)	77,8	3,58 (<i>m</i>)	76,4

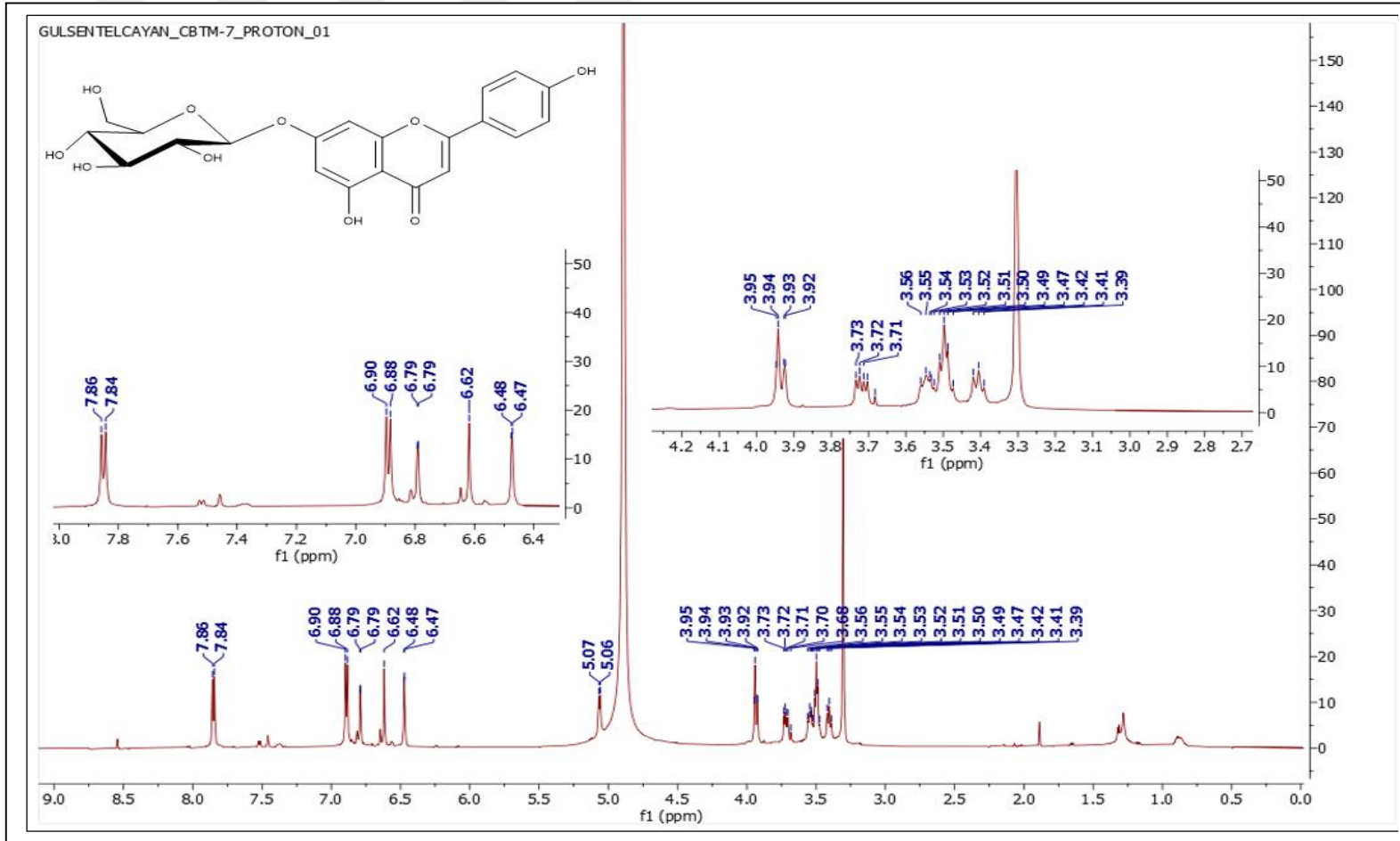
Çizelge 3.38.^(devam)

C no	Karbon türü	¹ H-NMR	¹³ C- NMR	¹ H-NMR ^a	¹³ C- NMR ^a
4''	CH	3,40 (t, <i>J</i> = 8,8 Hz)	71,3	3,44 (<i>m</i>)	69,9
5''	CH	3,73 (<i>m</i>)	78,4	3,54 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,8 Hz)	76,9
6''	CH ₂	3,93 (<i>d</i> , <i>J</i> = 11,3 Hz), 3,71 (<i>m</i>)	62,4	3,97 (<i>d</i> , <i>J</i> = 12,0 Hz), 3,75 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 12,1, 5,7 Hz)	61,1

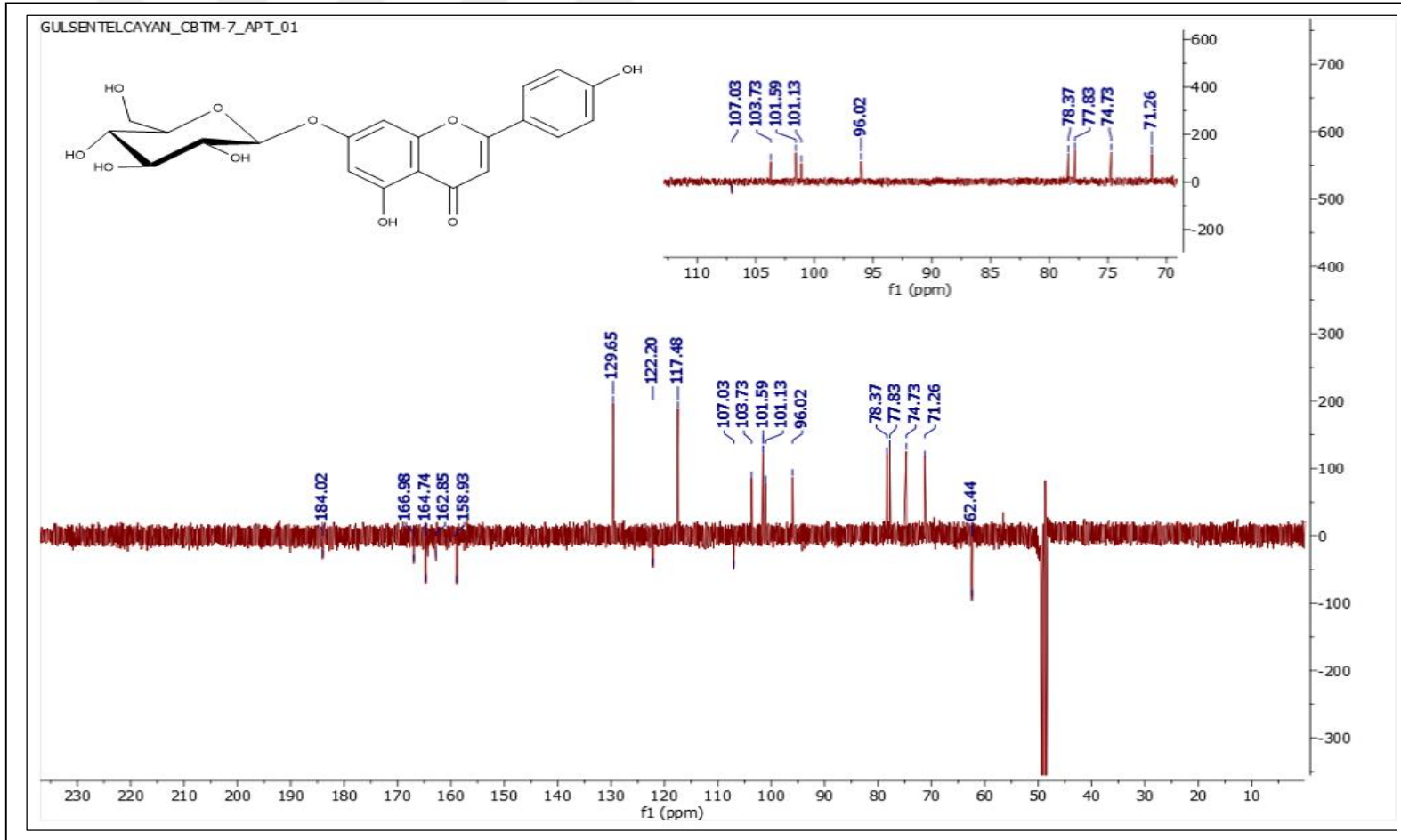
^a: Literatürdeki NMR değerleri (Tesevma vd., 2013)



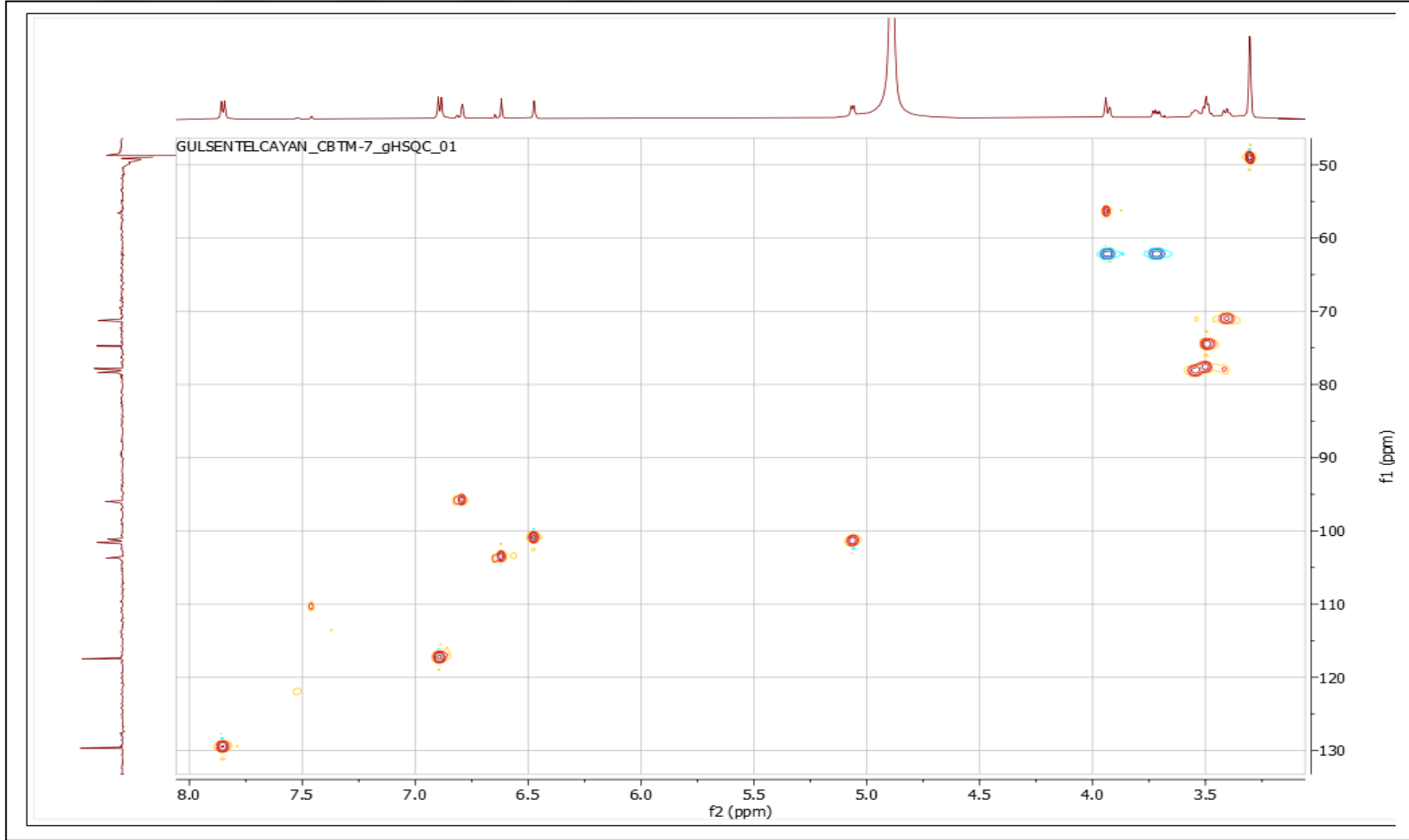
Şekil 3.63. Apigenin-7-O-β-D-glikopiranozit'in (6) IR spektrumu



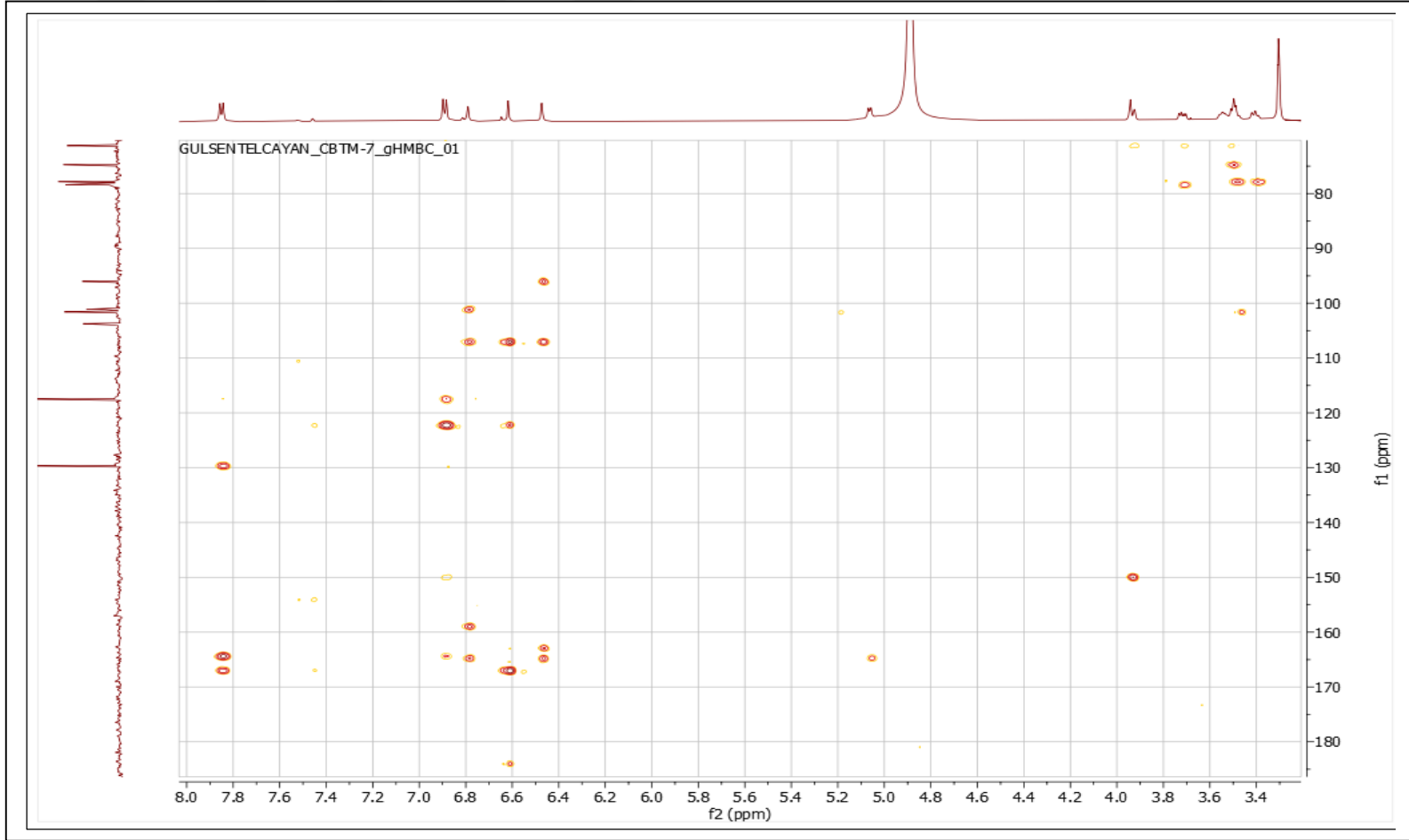
Şekil 3.64. Apigenin-7-O- β -D-glikopiranozit'in (6) ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 600 MHz)



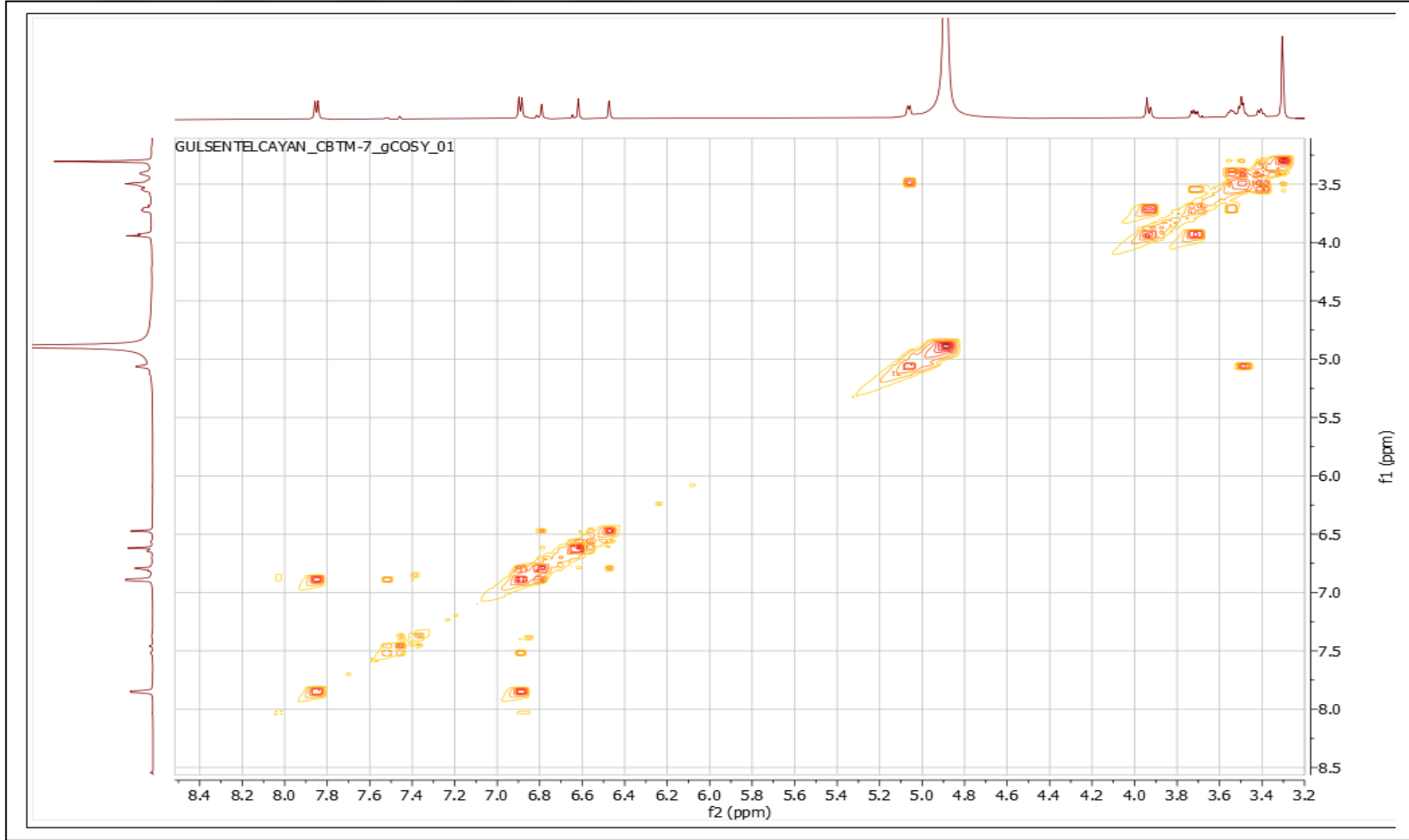
Şekil 3.65. Apigenin 7-O- β -D-glikopiranozit'in (6) APT spektrumu (CD₃OD, 125 MHz)



Şekil 3.66. Apigenin-7-O- β -D-glikopiranozit'in (6) HSQC spektrumu



Şekil 3.67. Apigenin-7-O- β -D-glikopiranozit'in (6) HMBC spektrumu

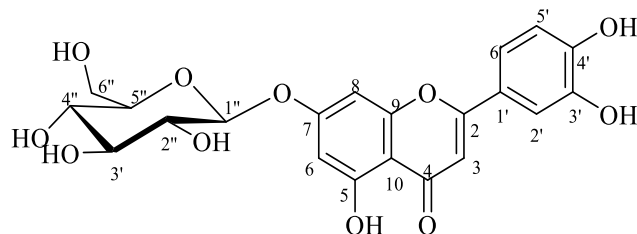


Şekil 3.68. Apigenin-7-O- β -D-glikopiranozit'in (6) COSY spektrumu

3.4.5.7. Luteolin-7-O- β -D-glikopiranozit (7)

Sarı amorf katı (7,8 mg)

IR $V_{\max}$ cm^{-1} : 3234 (OH), 1650 (C=O), 1488, 1597 (Aromatik C=C), 1365 (C=C)



Şekil 3.69. Luteolin-7-O- β -D-glikopiranozit (7)

CBTM14 kodlu fraksiyon metanol kullanılarak Sephadex LH-20 kolonu yapıldı. Toplam 5 fraksiyon elde edildi. Elde edilen bu fraksiyonlardan CBTM14-4 kodlu alt fraksiyon metanol:su (50:50) sistemi ve C_{18} kolon kullanılarak recycle-HPLC’de saflaştırıldı. 7 numarası verilen bileşik sarı amorf katı (7,8 mg) olarak elde edildi. Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) sarı renk olmaktadır. Şekil 3.70’de **luteolin-7-O- β -D-glikopiranozit (7)** bileşiğinin İTK görüntüsü görülmektedir. 7 kodlu bileşiğin yapısı $^1\text{H-NMR}$, APT, 2D (HSQC, HMBC, COSY) spektrumları ile aydınlatıldı.

APT (CD_3OD , 125 MHz) spektrumu incelendiğinde 7 numaralı bileşiğin 1 metilen, 9 metin ve 11 katerner olmak üzere toplam 21 karbon içerdiği belirlendi. Kimyasal kaymalarla birlikte incelendiğinde APT spektrumu $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$ kapalı formülüne sahip bir flavonoid glikozit yapısını önerdi.

CD_3OD ile alınan $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (600 MHz) δ 6,58 (1H, *d*, J = 2,2 Hz) ve 6,79 (1H, *d*, J = 2,2 Hz) izlenen piklerin sırası ile H-6 ve H-8 protonlarına ait olduğu COSY, HSQC ve HMBC spektrumlarındaki ilişkilerden belirlendi. δ 6,86 ppm’de (1H, *d*, J = 8,4 Hz, H-5'), 7,38 ppm’de (1H, *d*, J = 2,3 Hz, H-2') ve 7,41’de (1H, *dd*, J = 8,4; 2,3 Hz, H-6') izlenen pikler ile B halkasında 3' ve 4' konumlarında hidroksil gruplarının bulunduğu tespit edildi. δ 5,06 ppm’de (1H, *d*, J = 6,9 Hz, H-1'') izlenen pik, aglikona β -bağlanmış glikozitin anomerik protonu olup HMBC spektrumu incelendiğinde glikozitin C-1'' konumundan (δ 101,6 C-1'') aglikonun δ 166,6 ppm’de

rezonans olan C-7 karbonuna bağlandığı belirlendi. Glikozite ait olan ve δ 101,6; 74,7; 77,8; 71,2; 78,4; 62,4 ppm'de rezonans olan şeker karbon pikleri literatür ile karşılaştırıldığında β -D-glikoz ile uyushmaktadır (Sobeh vd., 2019).

Tüm spektroskopik veriler ve literatür çalışmaları sonucunda 7 numaralı bileşğin yapısı **luteolin 7-O- β -D-glikopiranozit** olarak tespit edildi (Chiruvella vd., 2007; Ma vd., 2009; Shi vd., 2014). **Luteolin 7-O- β -D-glikopiranozit (7)** bileşiği daha önce *C. aromaticum* ve *C. hirsutum* bitkisinden izole edilmiş olup, ilk defa bu proje ile *C. bulbosum* bitkisinden de tarafımızca izole edilmiştir (Cisowski, 1986; Dall'Acqua ve Innocenti, 2004). **Luteolin 7-O- β -D-glikopiranozit (7)** olarak tanımlanan bileşğin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri Çizelge 3.39'da; IR, ^1H -NMR, APT ve 2D-NMR spektrumları Şekil 3.71-3.3.76'da verilmektedir.

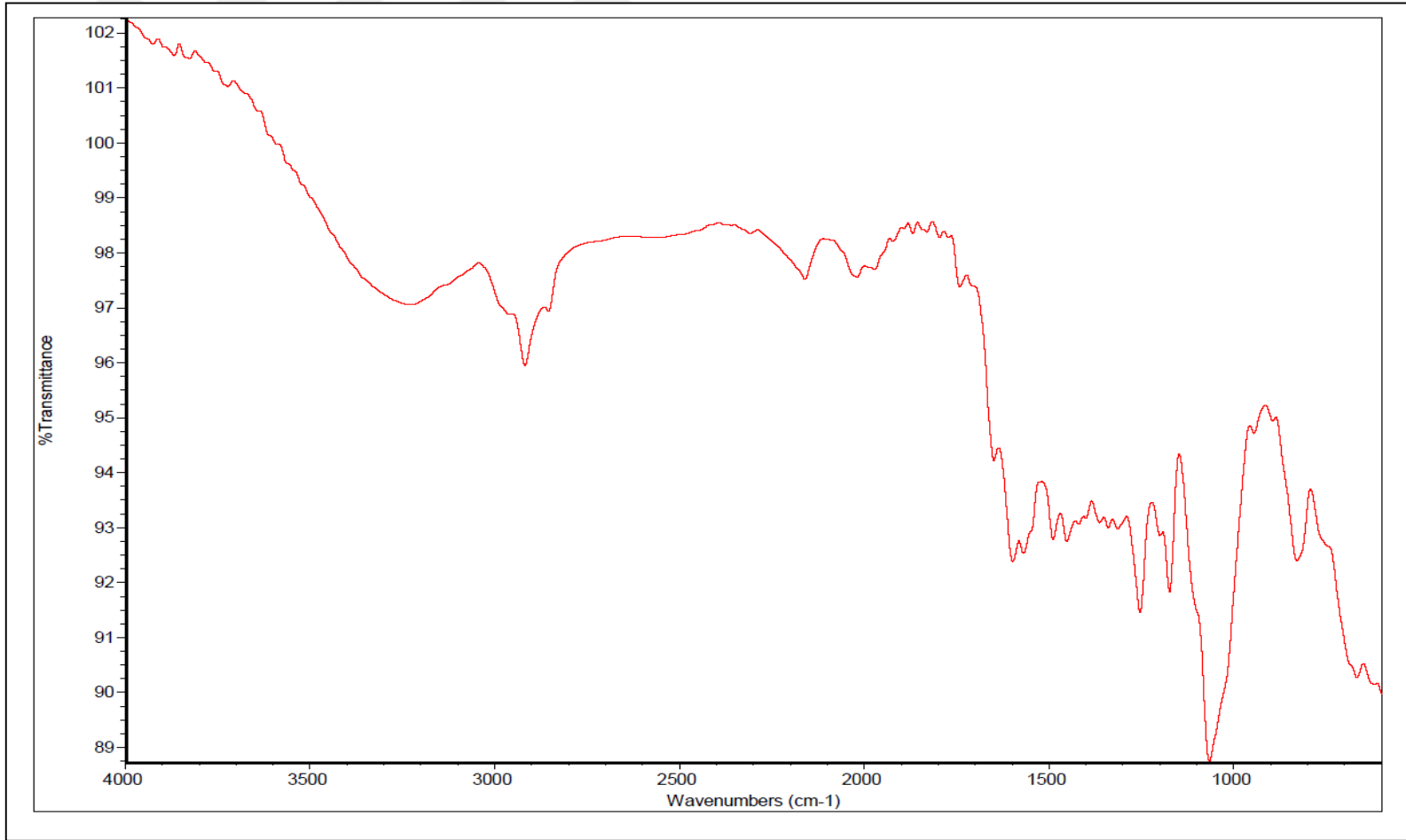


Şekil 3.70. Luteolin-7-O- β -D-glikopiranozit (7) İTK görüntüsü

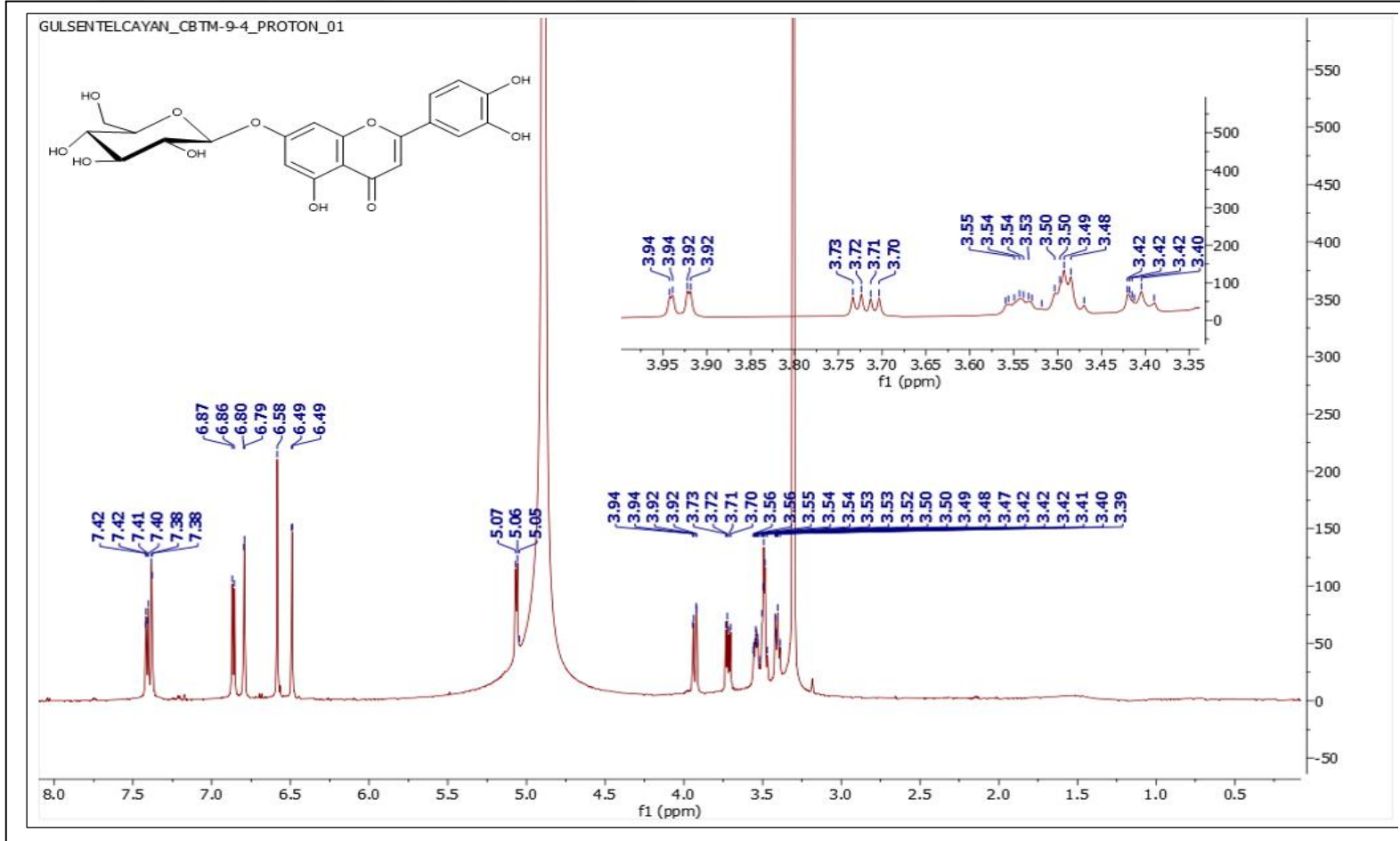
Çizelge 3.39. Luteolin-7-O- β -D-glikopiranozit (7) bileşğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri

C no	Karbon türü	^1H -NMR	^{13}C -NMR	^1H -NMR ^a	^{13}C -NMR ^a
2	C	-	164,8	-	164,9
3	CH	6,58 (s)	103,8	6,73 (s)	103,7
4	C	-	178,6	-	181,8
5	C	-	164,8	-	161,2
6	CH	6,49 (d, J= 2,2 Hz)	101,1	6,46 (d, J= 2,0 Hz)	100,0
7	C	-	166,6	-	163,4
8	CH	6,79 (d, J= 2,2 Hz),	96,0	6,81 (d, J= 2,0 Hz)	95,4
9	C	-	158,9	-	157,4
10	C	-	107,1	-	105,8
1'	C	-	122,5	-	121,9
2'	CH	7,38 (d, J= 2,3 Hz)	113,9	7,43 (d, J= 2,0 Hz)	113,9
3'	C	-	146,8	-	146,0
4'	C	-	149,5	-	150,1
5'	CH	6,86 (d, J= 8,4 Hz)	116,9	6,94 (d, J= 8,2 Hz)	116,4
6'	CH	7,41 (dd, J= 8,4; 2,3 Hz)	120,6	7,47 (dd, J= 8,2, 2,0 Hz)	119,7
1''	CH	5,06 (d, J= 6,9 Hz)	101,6	5,07 (d, J= 7,5 Hz)	100,4
2''	CH	3,49 (dd, J= 6,9; 4,2 Hz)	74,7	3,20-3,75 (m)	73,4
3''	CH	3,50 (dd, J= 6,9; 4,2 Hz)	77,8	3,20-3,75 (m)	77,5
4''	CH	3,40 (m)	71,2	3,20-3,75 (m)	70,0
5''	CH	3,54 (q, J= 12,5 Hz)	78,4	3,20-3,75 (m)	76,6
6''	CH ₂	3,73 (dd, J= 12,2; 5,8 Hz), 3,93 (dd, J= 12,3; 2,3 Hz)	62,4	3,20-3,75 (m)	61,0

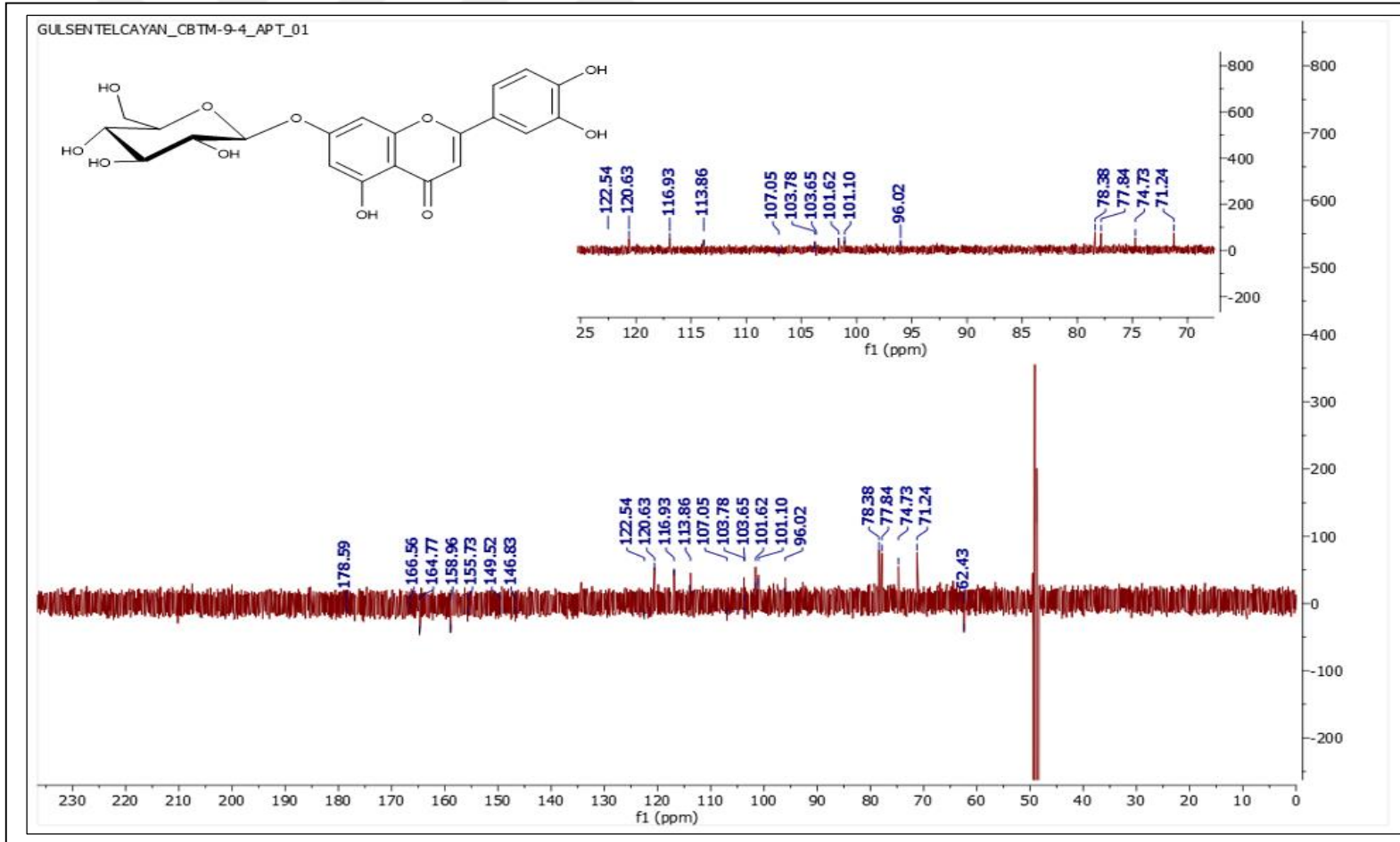
^a: Literatürdeki NMR değerleri (Tesemma vd., 2013)



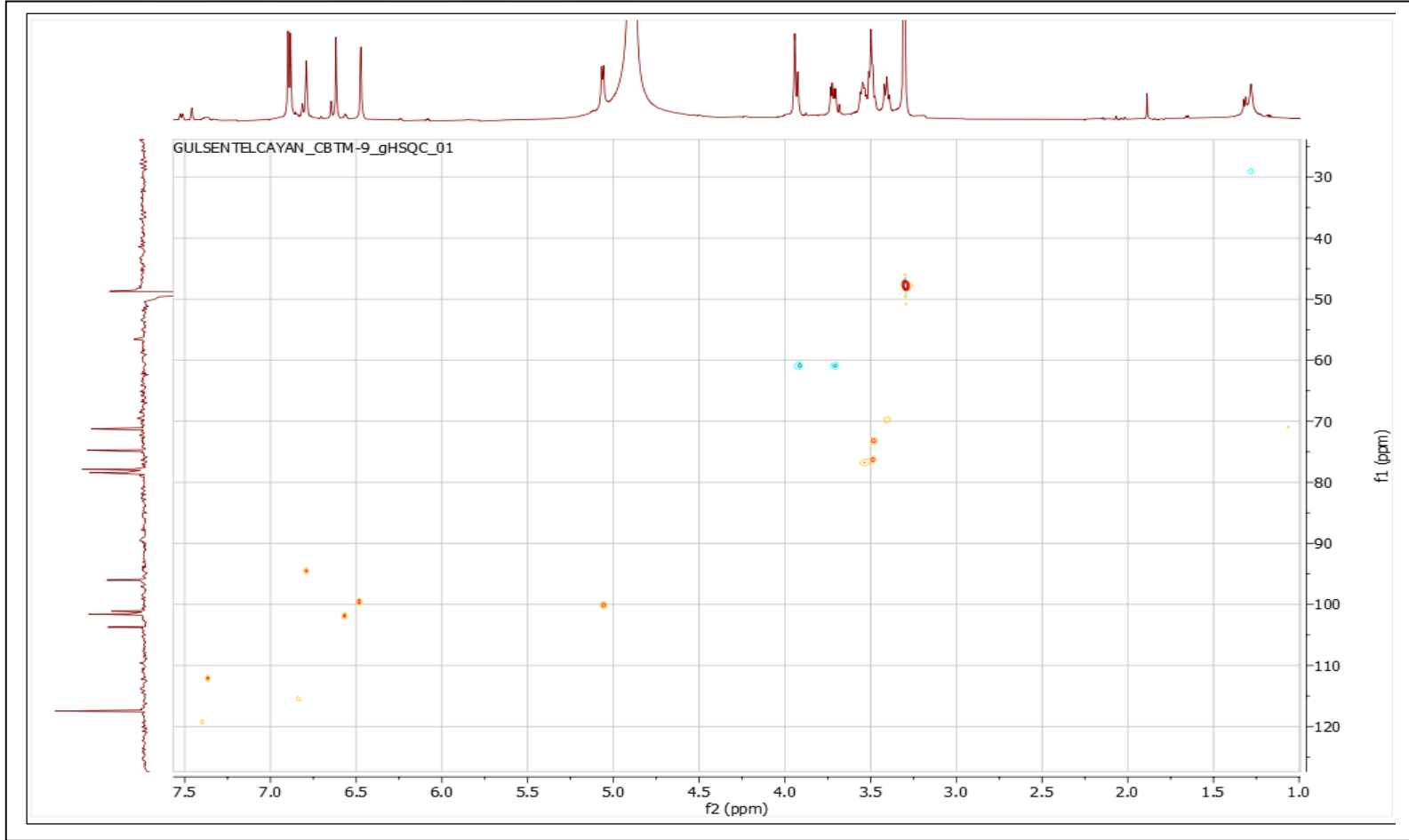
Şekil 3.71. Luteolin 7-O- β -D-glukopiranozit'in (7) IR spektrumu



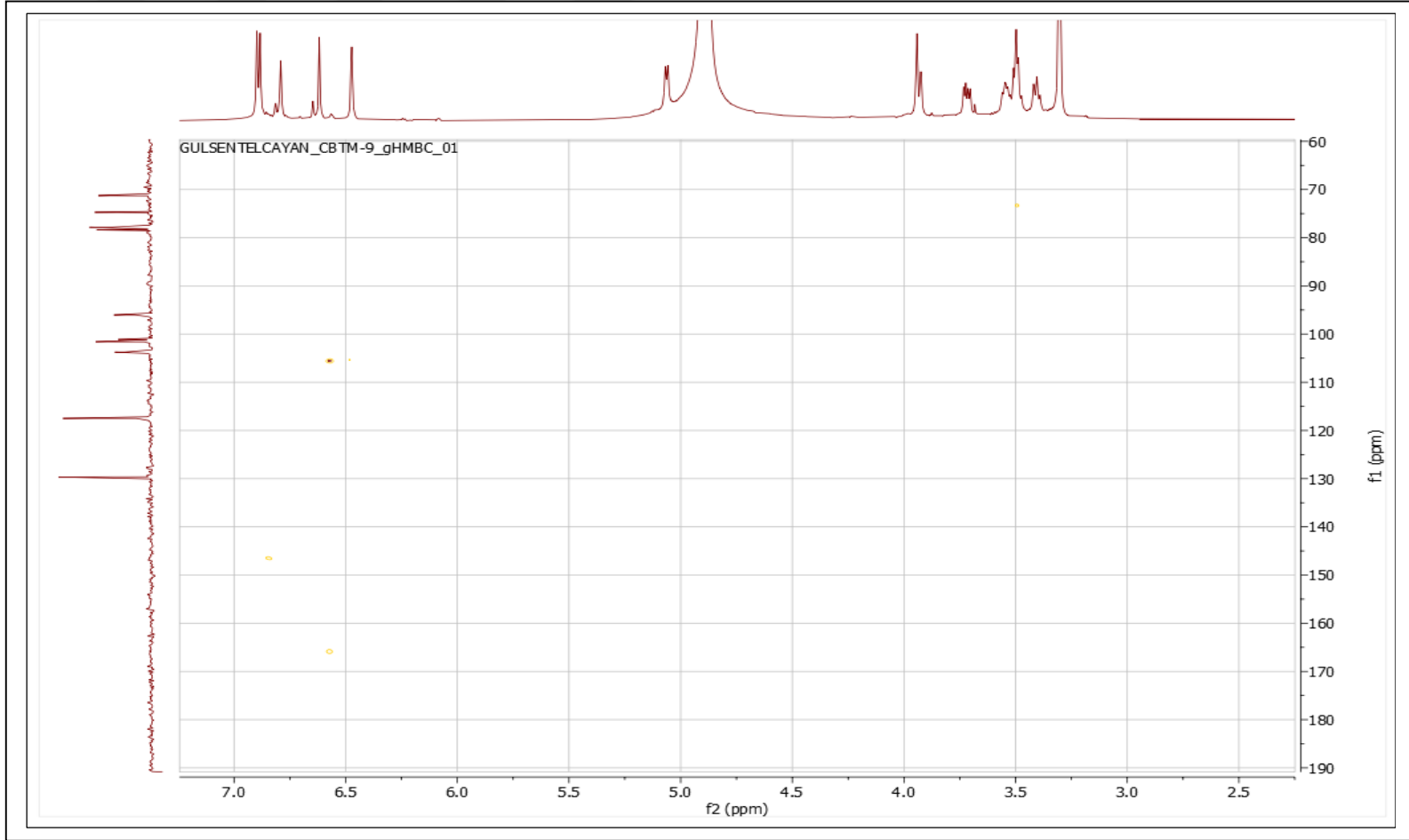
Şekil 3.72. Luteolin 7-O- β -D-glikopiranozit'in (7) ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 600 MHz)



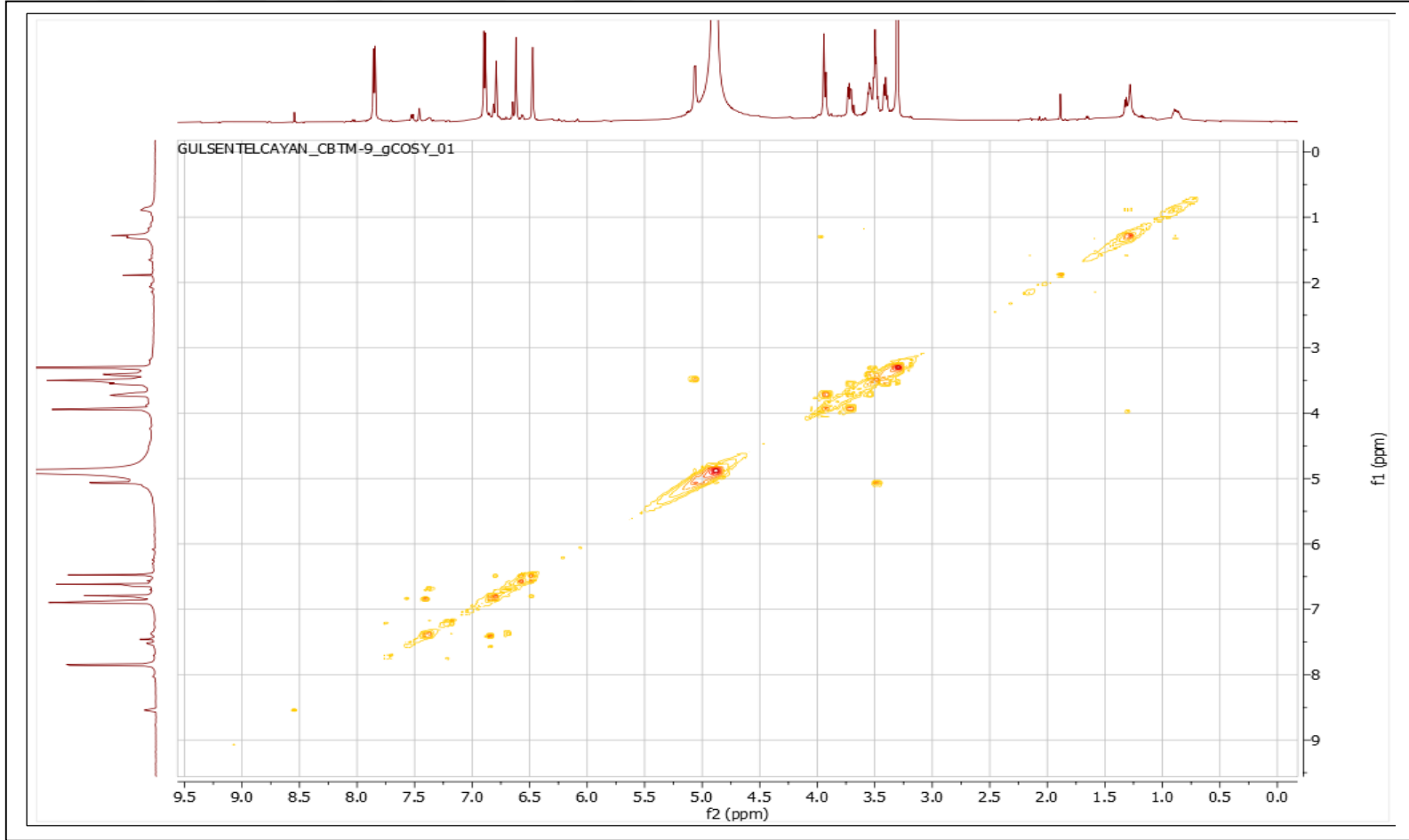
Şekil 3.73. Luteolin-7-O- β -D-glikopiranozit'in (7) APT spektrumu (CD₃OD, 125 MHz)



Şekil 3.74. Luteolin-7-O- β -D-glikopiranozit'in (7) HSQC spektrumu



Şekil 3.75. Luteolin-7-O- β -D-glikopiranozit'in (7) HMBC spektrumu

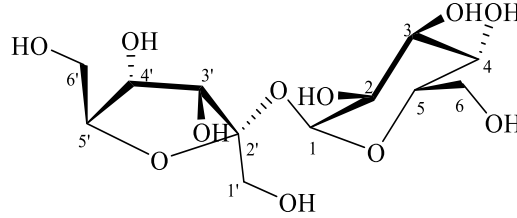


Şekil 3.76. Luteolin-7-O- β -D-glikopiranozit'in (7) COSY spektrumu

3.4.5.8. Sakkaroz (8)

Beyaz amorf katı (32,4 mg)

IR $V_{\max}$ cm^{-1} : 3299 (OH), 2919 (C-H), 1340 (C=C), 1041 (C-O)



Şekil 3.77. Sakkaroz (8)

CBTM15, CBTM16, CBTM17, CBTM18, CBTM19 ve CBTM20 kodlu fraksiyonlar birleştirildi ve CBTM15-20 kodu verildi. Fraksiyona ana kolon yapıldı. Kolona hekzan ile başlandı. Daha sonra polarite her defasında % 25 arttırılarak kloroform, aseton ve metanol ile kolona devam edildi. Kolon en son 0,5:99,5 asetik asit:su ile yıkandı. Toplam 13 fraksiyon elde edildi. Elde edilen fraksiyonlardan CBTM15-20/8 kodlu fraksiyon %100 metanol ile GS-320 kolon kullanılarak Recycle-HPLC’de fraksiyonlandırıldı. Toplam 8 fraksiyon elde edildi. Elde edilen bu alt fraksiyonlardan CBTM15-20/8-3 kodlu fraksiyon %100 metanol sistemi ve GS-320 kolon kullanılarak recycle-HPLC’de saflaştırıldı. **8** numarası verilen bileşik beyaz amorf katı (32,4 mg) olarak elde edildi. Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) siyah-kahverengi renk olmaktadır. Şekil 3.78’de **sakkaroz (8)** bileşiğinin İTK görüntüsü görülmektedir. **8** numaralı bileşiğin yapısı IR, ^1H -NMR, APT, 2D (HSQC, HMBC, COSY) spektrumları ile aydınlatıldı.

APT (CD_3OD , 125 MHz) spektrumu değerlendirildiğinde **8** numaralı bileşiğin 3 metilen, 8 metin ve 1 katerner olmak üzere toplam 12 karbona sahip olduğu tespit edildi. APT spektrumlarında üç hidroksimetilen grubunun varlığının δ 62,1; 63,9 ve 63,3 ppm’de açıkça izlenmesi ve iki anomerik karbon sinyalinin ise δ 93,6 ve 105,3 ppm’de izlenmesi bu şekerin bir disakkarit olduğuna ve muhtemelen sakkaroz olabileceğine işaret etti. Nitekim tek bir anomerik protonun δ 5,38 ppm’de $J= 3,8$ Hz’lik bir duplet olarak izlenmesi bunu doğruladı.

ESI-MS spektrumundan m/z 365 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ piki’nden bir disakkarit olduğu doğrulayan bu şekerdeki bağın α olduğu ^1H -NMR’daki etkileşme sabitinden ($J= 3,8$ Hz) anlaşıldı

(Öztürk, 2008; Li vd., 2016). **8** numaralı bileşiğin spektral değerleri literatürdeki değerlerle karşılaştırıldığında bu bileşiğin kapalı formülü $C_{12}H_{22}O_{11}$ olan **sakkaroz** (α -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-fruktofuranozit) olduğu ve *Chaerophyllum* türlerinden ilk defa elde edildiği tespit edildi. **Sakkaroz (8)** olarak tanımlanan bileşiğin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri Çizelge 3.40'da; ^1H -NMR, APT, 2D-NMR ve ESI-MS spektrumları Şekil 3.79-3.85'de verilmektedir.

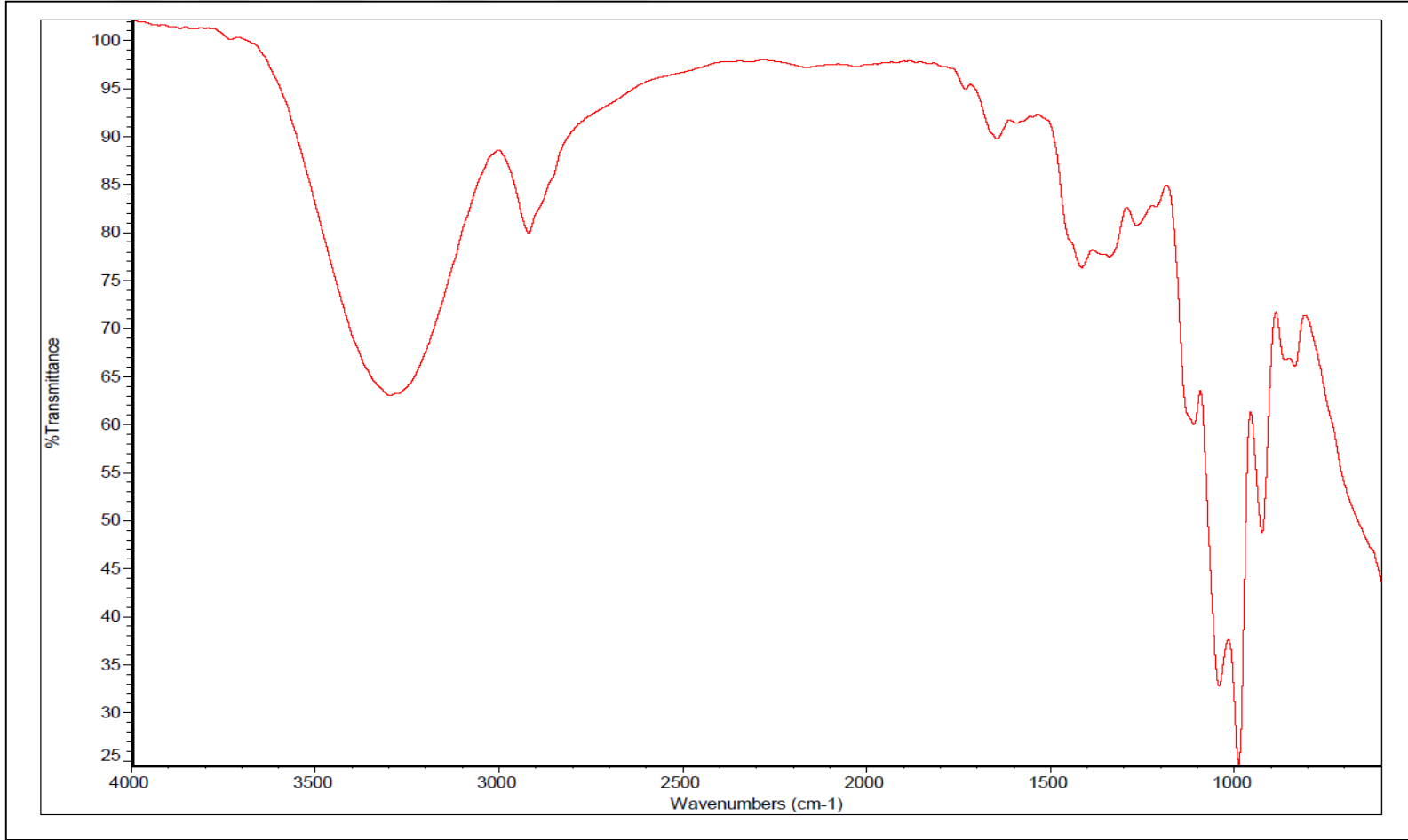


Şekil 3.78. Sakkaroz (8) İTK görüntüsü

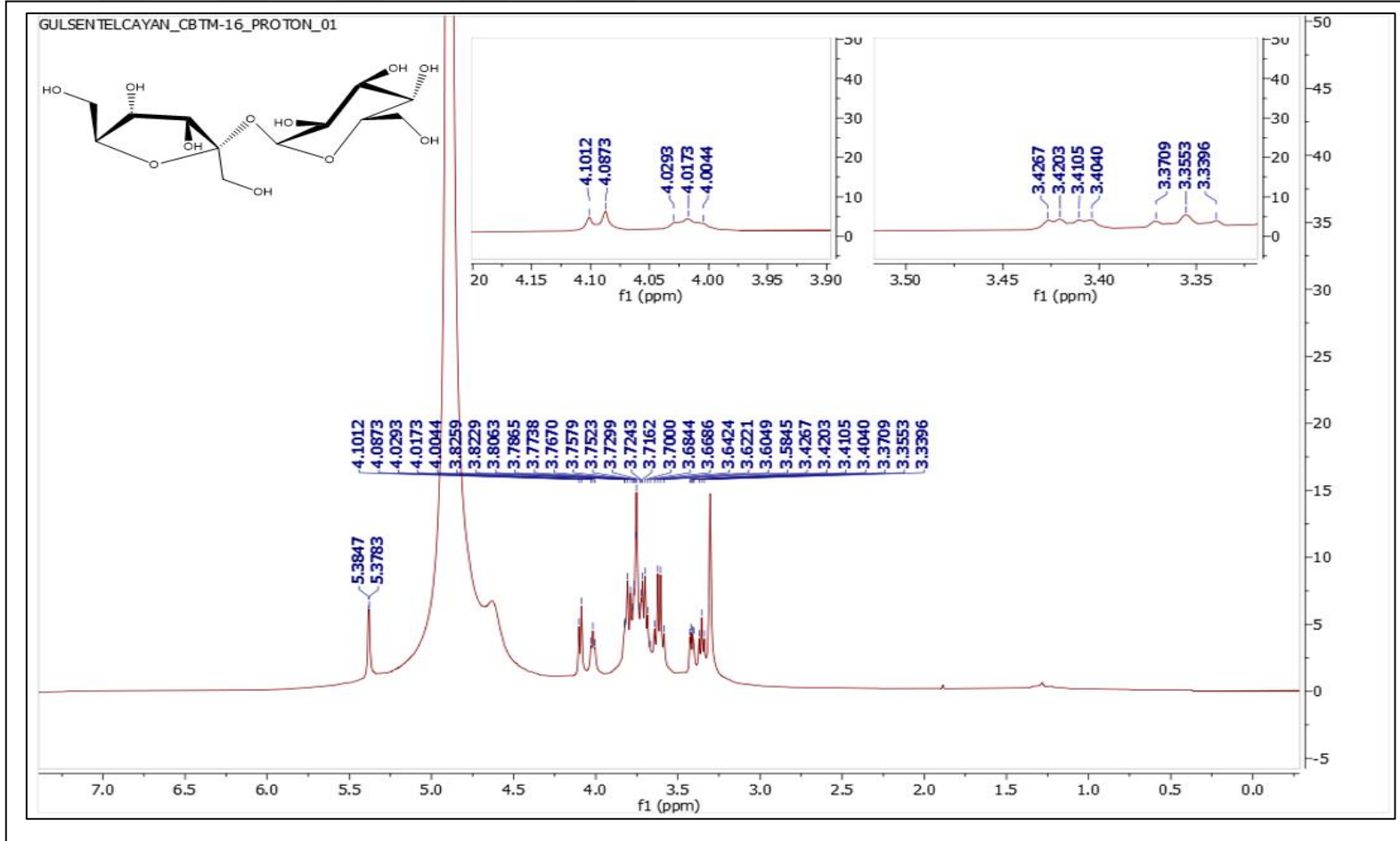
Çizelge 3.40. Sakkaroz (8) bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri

Pozisyon	Karbon türü	^1H -NMR	^{13}C -NMR	^1H -NMR ^a	^{13}C -NMR ^a
Glu-1	CH	5,38 (<i>d</i> , <i>J</i> = 3,8 Hz)	93,6	5,18 (<i>d</i> , <i>J</i> = 3,6 Hz)	91,8
2	CH	3,43 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 9,8; 3,9 Hz)	73,2	3,25-3,90 (<i>m</i>)	74,3
3	CH	3,70 (<i>m</i>)	74,6	3,25-3,90 (<i>m</i>)	77,0
4	CH	3,37 (<i>t</i> , <i>J</i> = 9,4 Hz)	71,3	3,25-3,90 (<i>m</i>)	69,8
5	CH	3,74 (<i>m</i>)	75,6	3,25-3,90 (<i>m</i>)	71,6
6	CH₂	3,81 (<i>m</i>)	62,1	3,25-3,90 (<i>m</i>)	62,1
Fru-1'	CH₂	3,67 (<i>m</i>)	63,9	3,25-3,90 (<i>m</i>)	72,8
2'	C	-	105,3	-	104,0
3'	CH	4,10 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,3 Hz)	79,2	4,38 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7,2 Hz)	76,5
4'	CH	4,03 (<i>t</i> , <i>J</i> = 7,5 Hz)	74,4	3,25-3,90 (<i>m</i>)	72,9
5'	CH	3,75 (<i>m</i>)	83,8	3,25-3,90 (<i>m</i>)	82,5
6'	CH₂	3,58 – 3,83 (<i>m</i>)	63,3	3,25-3,90 (<i>m</i>)	62,0

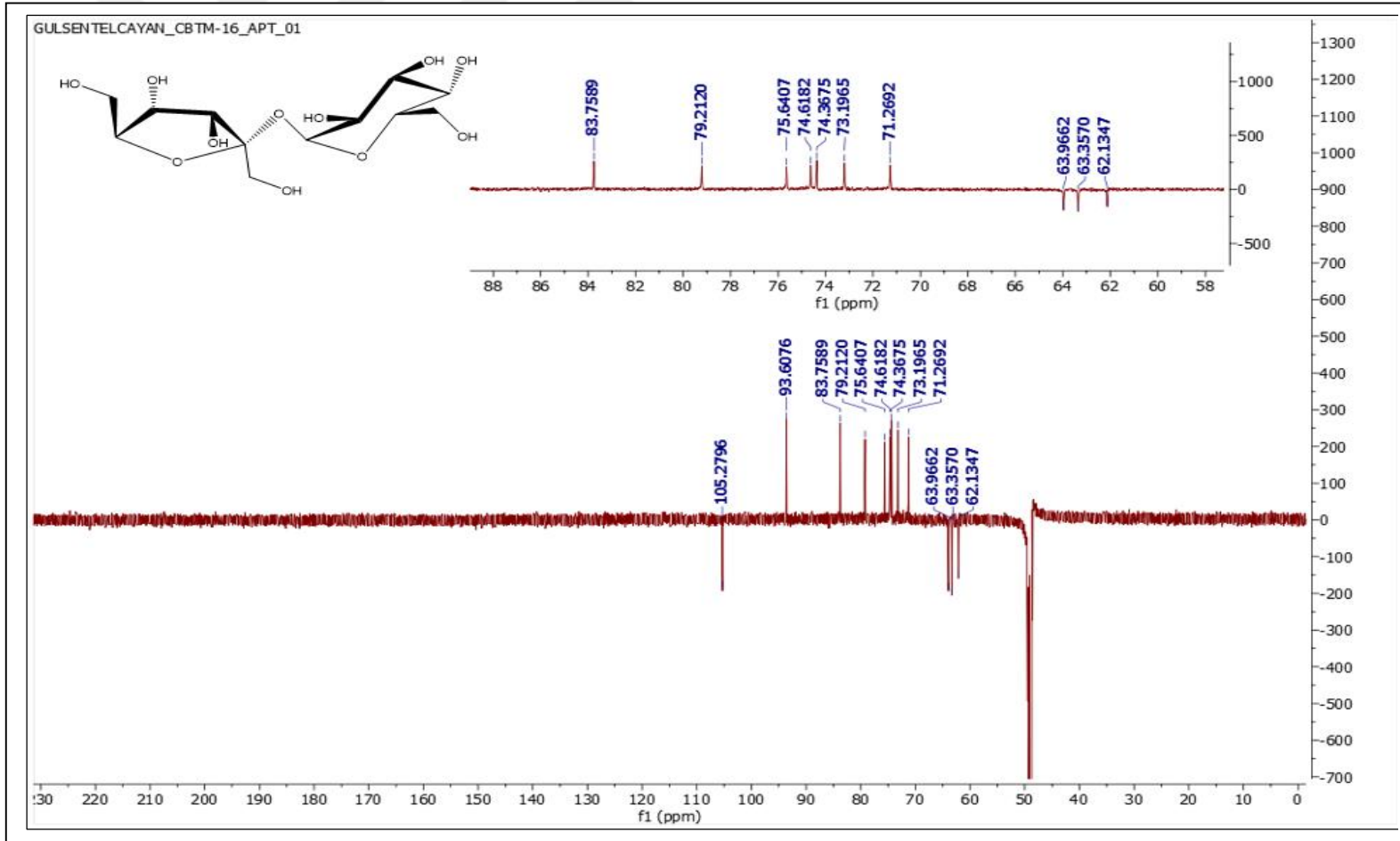
^a: Literatürdeki NMR değerleri (Tesemma vd., 2013)



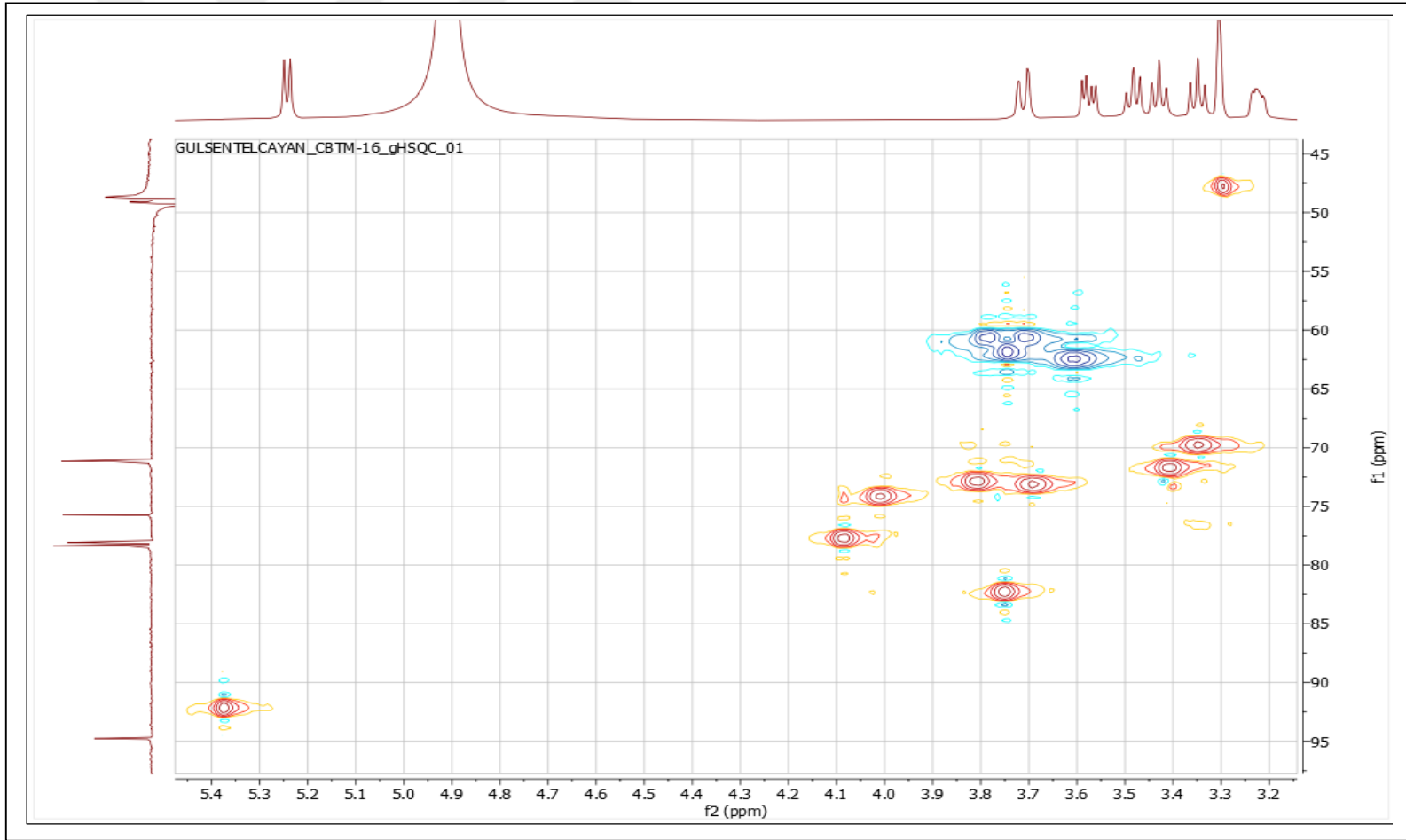
Şekil 3.79. Sakkaroz'un (8) IR spektrumu



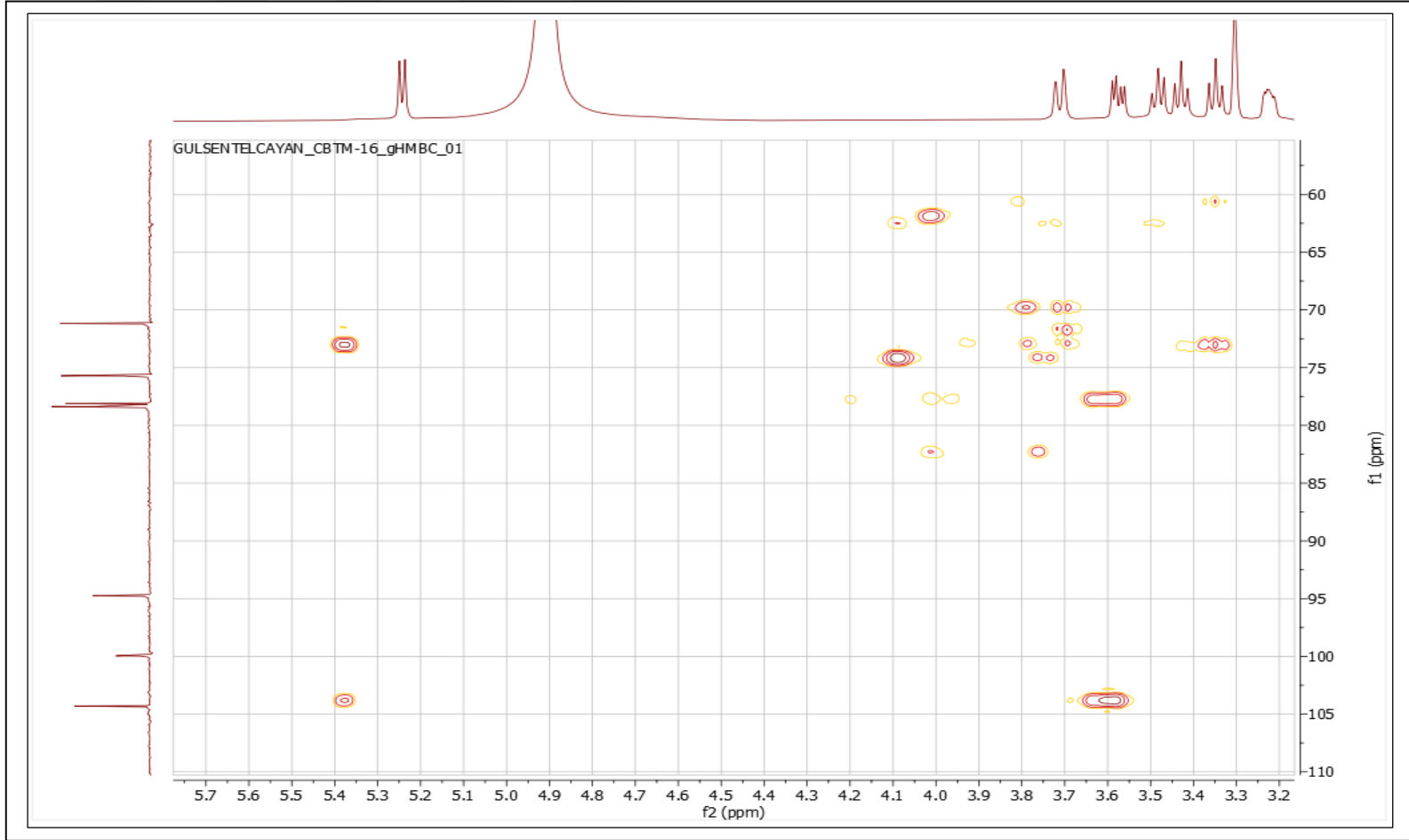
Şekil 3.80. Sakkaroz'un (8) ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 600 MHz)



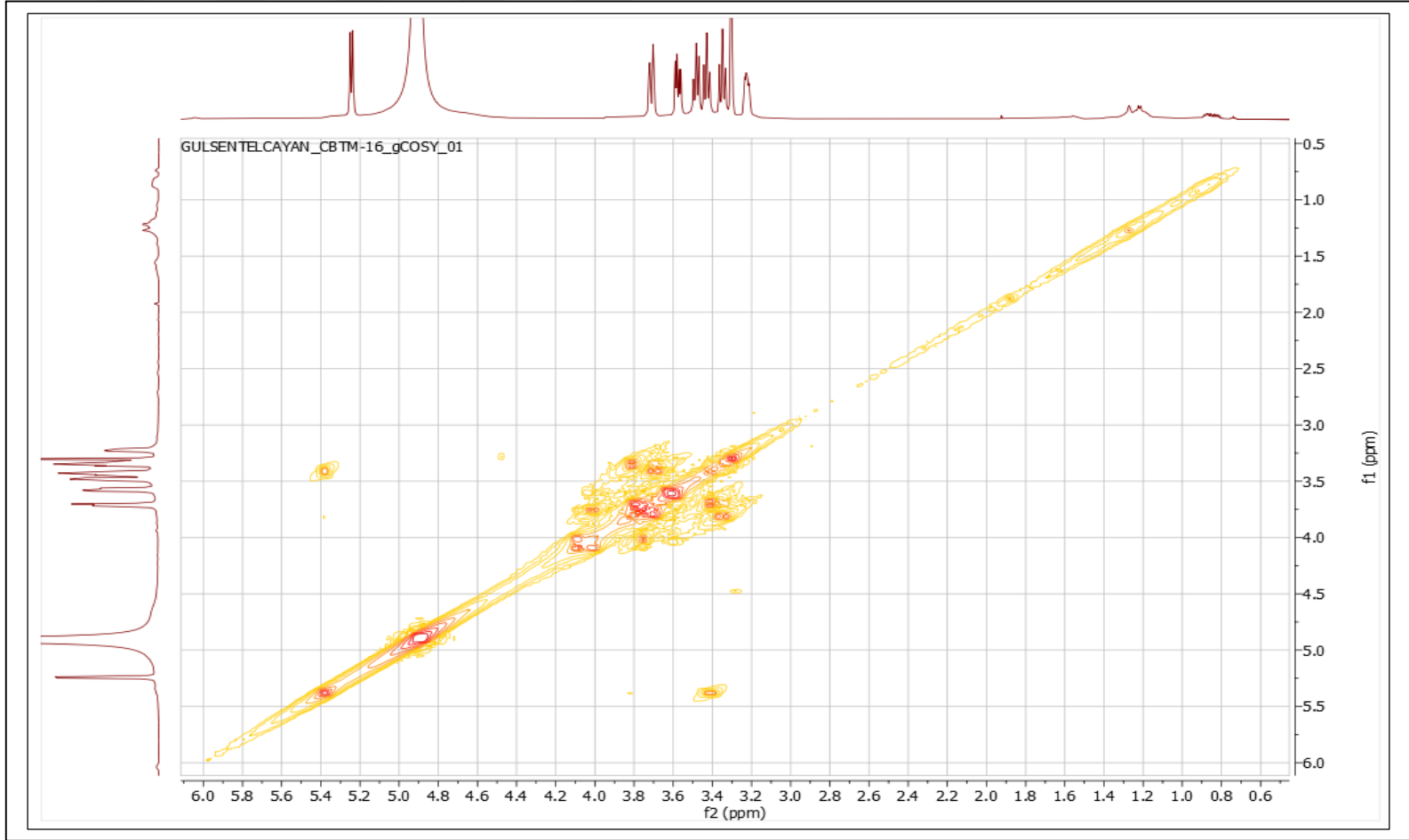
Şekil 3.81. Sakkaroz'un (8) APT spektrumu (CD₃OD, 125 MHz)



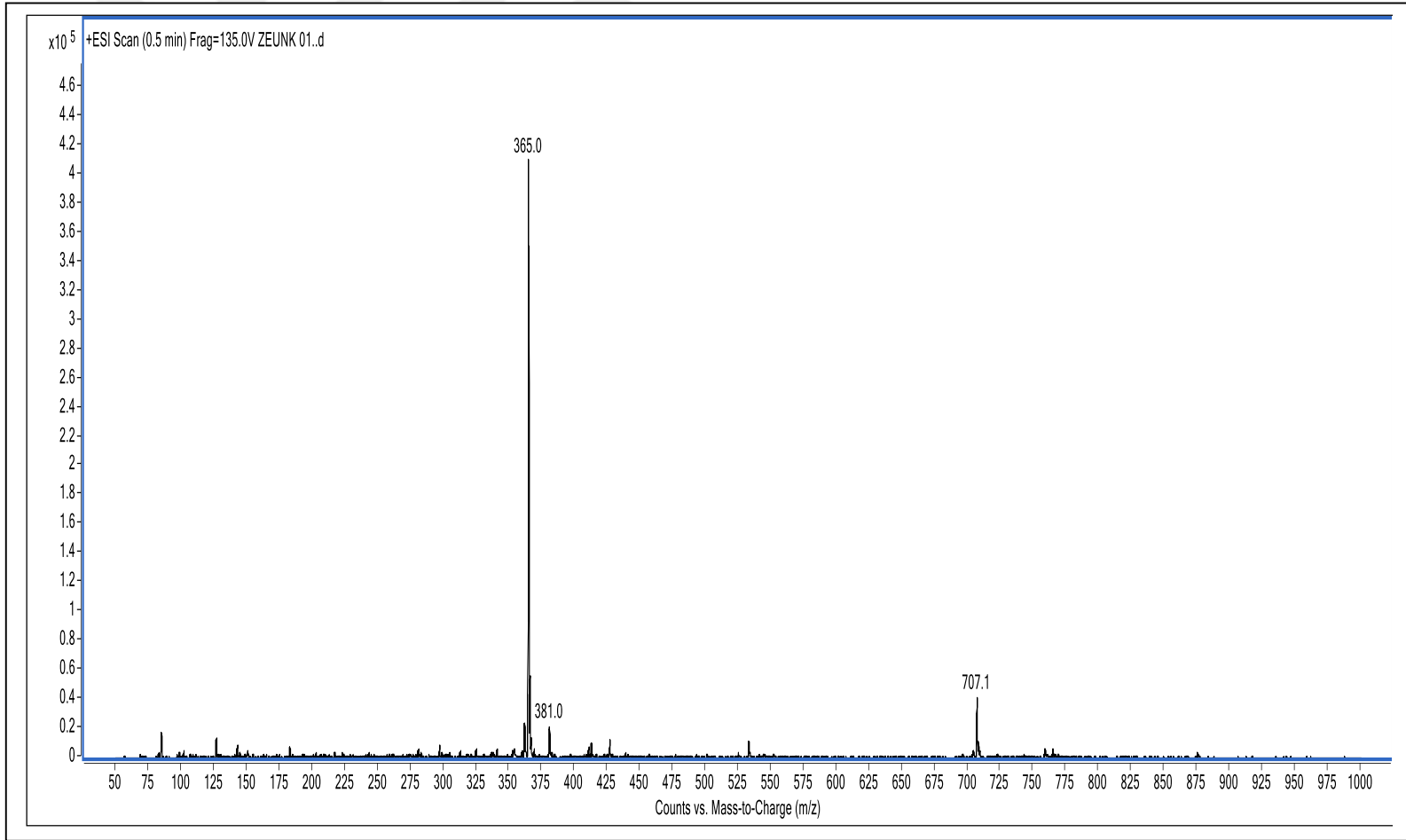
Şekil 3.82. Sakkaroz'un (8) HSQC spektrumu



Şekil 3.83. Sakkaroz'un (8) HMBC spektrumu



Şekil 3.84. Sakkaroz'un (8) COSY spektrumu



Şekil 3.85. Sakkaroz'un (8) EI-MS spektrumu

glikozitin C-1" konumundan (δ 93,6 C-1") aglikonun δ 166,9 ppm'de rezonans olan C-7 karbonuna bağlandığı belirlendi. Glikozite ait olan ve δ 101,6; 74,7; 77,8; 71,2; 78,4; 62,4 ppm'de rezonans olan şeker karbon pikleri literatür ile karşılaştırıldığında β -D-glikoz ile uyuşmaktadır (Sobeh vd., 2019). δ 5,06'da (1H, d, J = 6,8 Hz, H-1") görülen pik uçtaki β -glukoza ait anomerik protonudur. HMBC spektrumu incelendiğinde ikinci glukozun 4" konumundan (C-4") bağlandığı belirlendi

HR-MS spektrumunda m/z 611,1612 [M+H]⁺ pikini vermektedir. Önerilen bileşik için hesaplanan [M+1] değeri 611,1612 olup bileşiğin molekül formülünün C₂₇H₃₀O₁₆ olduğunu göstermektedir (Şekil 3.87).

Tüm spektroskopik veriler sonucunda **9** numaralı bileşiğin **luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4''-O- β -D-glikopiranozit (9)** olarak tespit edildi. Elde ettiğimiz bileşiğin β - bağlı formu **Luteolin-7-O- β -D-glikopiranozit-4''-O- β -D-glikopiranozit** bileşiği hakkında tek bir literatür çalışması mevcuttur. Bu çalışmada da *Salvia lavandulifolia* bitkisinden kütle spektroskopisi ile HPLC ve TLC sistemlerinin birleşiminden oluşan iki boyutlu (2D TLC-LCMS) ile ekstredeki Luteolin-7-O- β -D-glikopiranozit-4''-O- β -D-glikopiranozit tespit edilmiştir (Sajewicz vd., 2011). **Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4''-O- β -D-glikopiranozit (9)** bileşiği ilk defa tarafımızdan bu proje ile tespit edilmiştir. **Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4''-O- β -D-glikopiranozit (9)** olarak tanımlanan bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR değerleri Çizelge 3.41'de; IR, ¹H-NMR, APT, 2D-NMR ve HR-MS spektrumları Şekil 3.88-3.94'de verilmektedir.

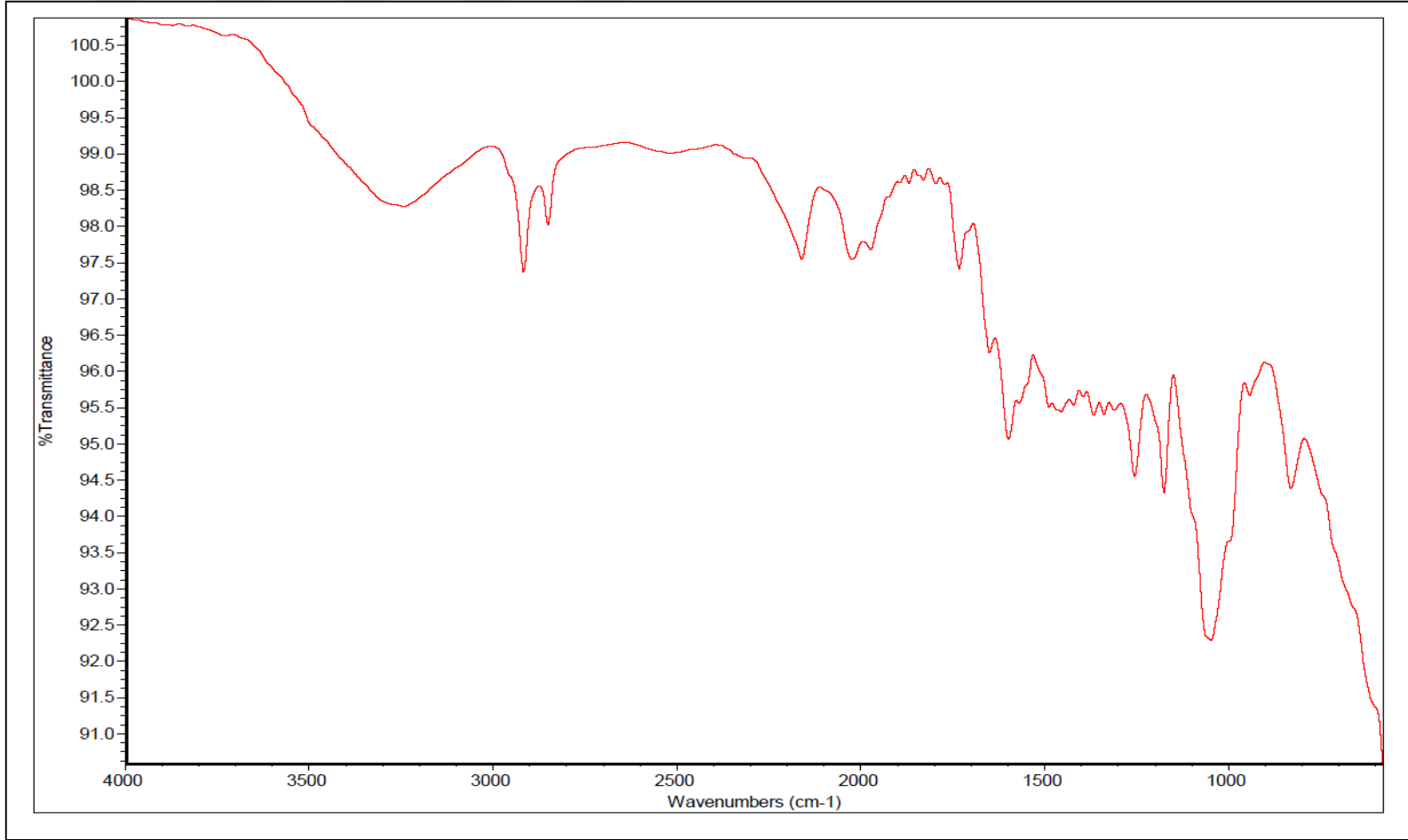


Şekil 3.87. Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4''-O- β -D-glikopiranozit (9) İTK görüntüsü

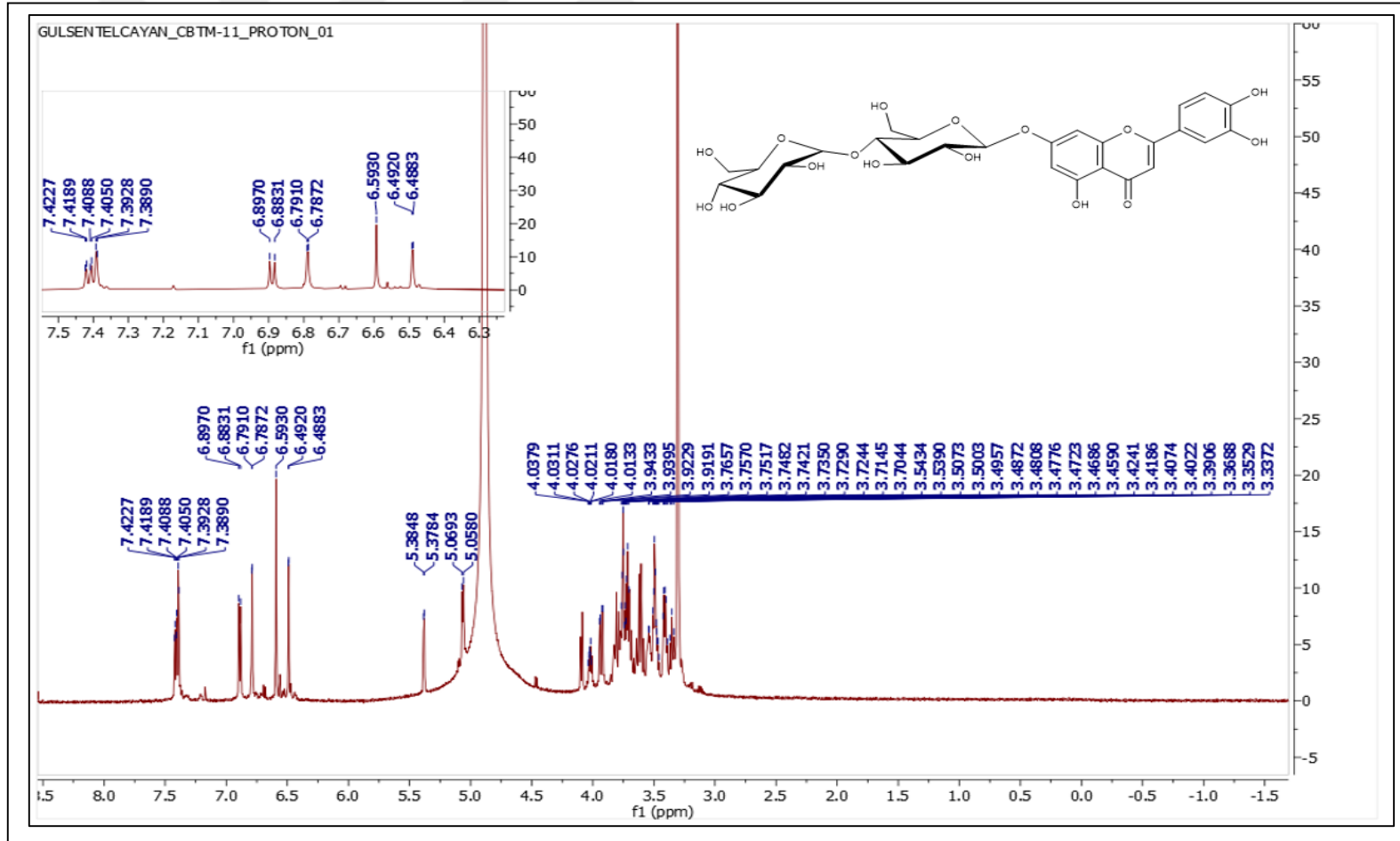
Çizelge 3.41. Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4''-O- β -D-glikopiranozit (9) bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri

C no	Karbon türü	^1H -NMR	^{13}C -NMR
2	C	-	164,8
3	CH	6,59 (s)	104,0
4	C	-	184,0
5	C	-	162,9
6	CH	6,49 (d, $J= 2,2$ Hz)	101,1
7	C	-	166,9
8	CH	6,79 (d, $J= 2,3$ Hz)	96,0
9	C	-	158,9
10	C	-	107,1
1'	C	-	123,2
2'	CH	7,39 (d, $J= 2,2$ Hz)	114,1
3'	C	-	147,2
4'	C	-	151,7
5'	CH	6,89 (d, $J= 8,3$ Hz)	116,8
6'	CH	7,41 (dd, $J= 8,4; 2,3$ Hz)	120,6
1''	CH	5,38 (d, $J= 3,2$ Hz)	93,6
2''	CH	3,40 (m)	71,4
3''	CH	3,49 (m)	74,6
4''	CH	3,76 (m)	83,8
5''	CH	4,02 (td, $J= 7,1; 6,7; 4,2$ Hz)	75,7
6''	CH ₂	3,75 (m)	63,4
1'''	CH	5,06 (d, $J= 6,8$ Hz)	101,6
2'''	CH	3,40 (m)	73,2
3'''	CH	3,50 (m)	77,8
4'''	CH	3,36 (m)	71,3
5'''	CH	3,54 (m)	78,4
6'''	CH ₂	3,75 (m), 3,93 (m)	62,4

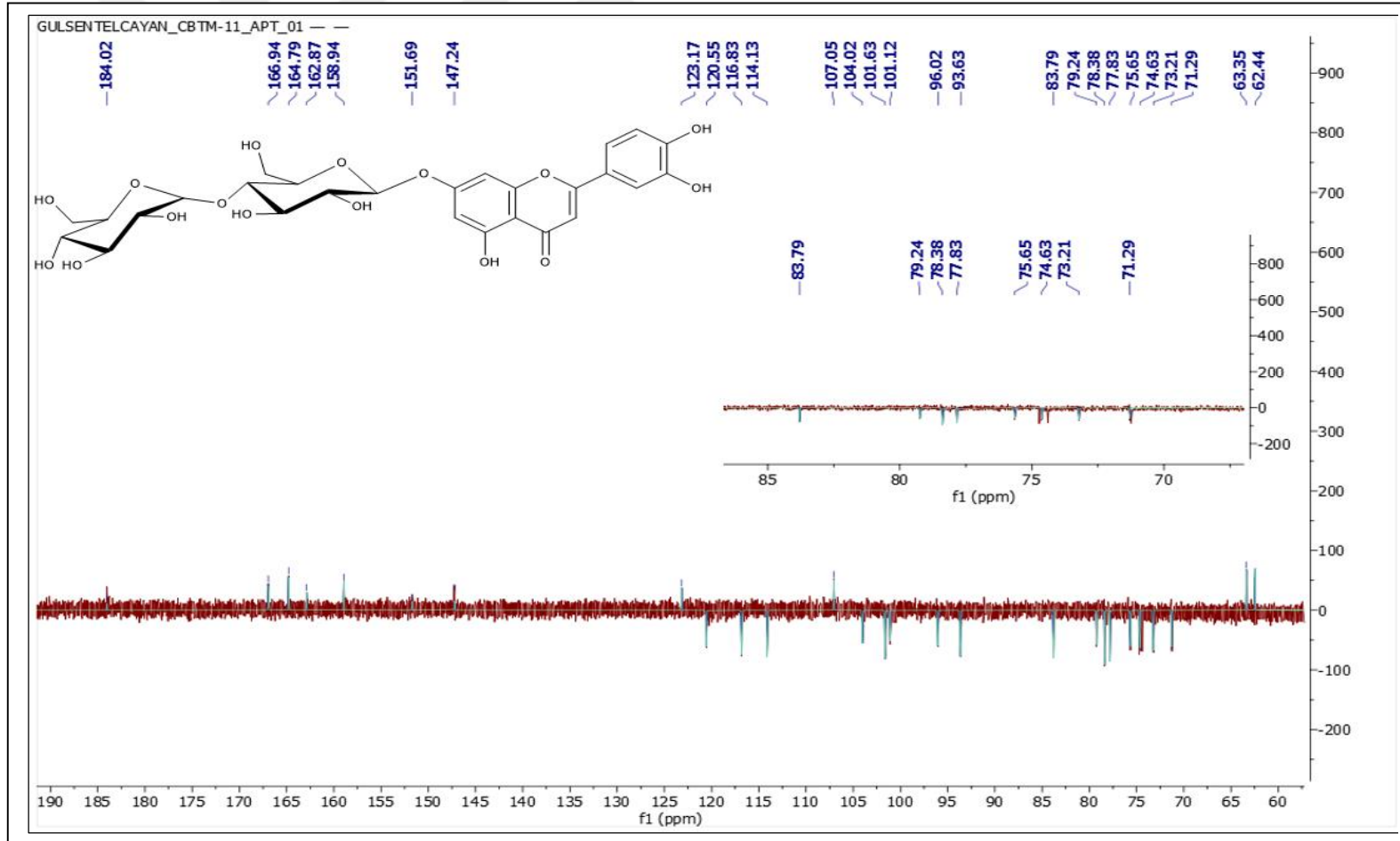
^a: Literatürdeki NMR değerleri (Tesemma vd., 2013)



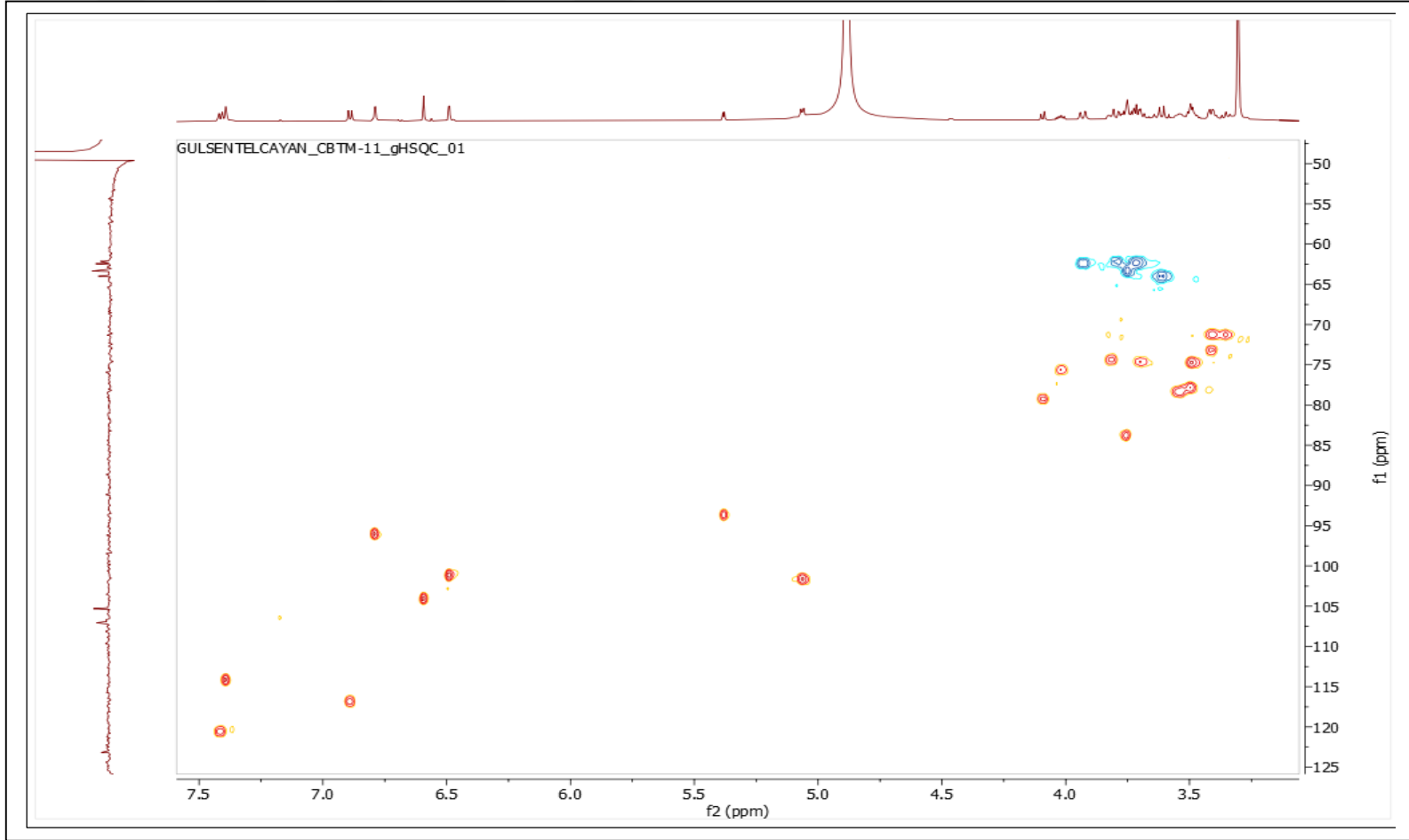
Şekil 3.88. Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4''-O- β -D-glikopiranozit (9) IR spektrumu



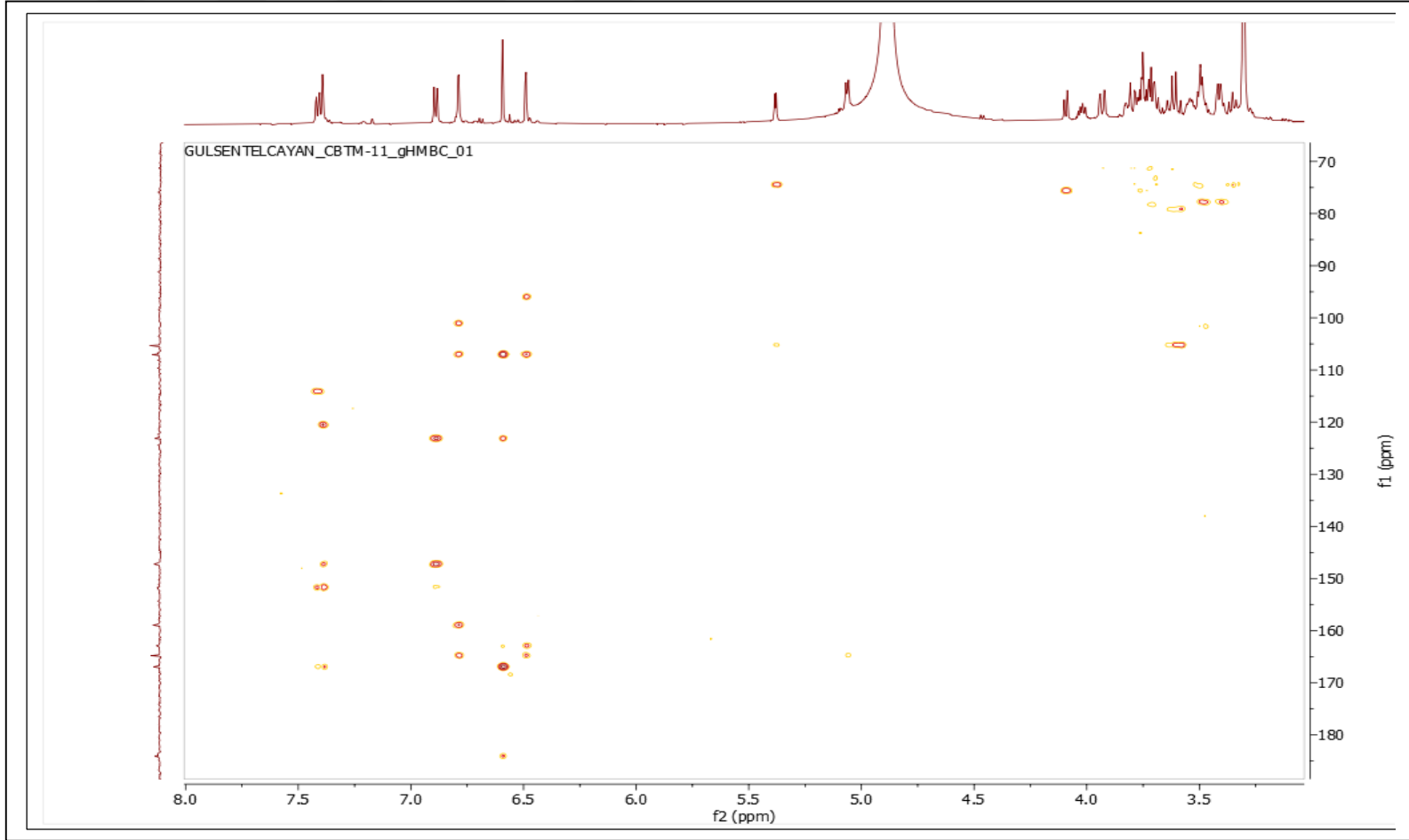
Şekil 3.89. Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4''-O- β -D-glikopiranozit (9) ¹H-NMR spektrumu (CD₃OD, 600 MHz)



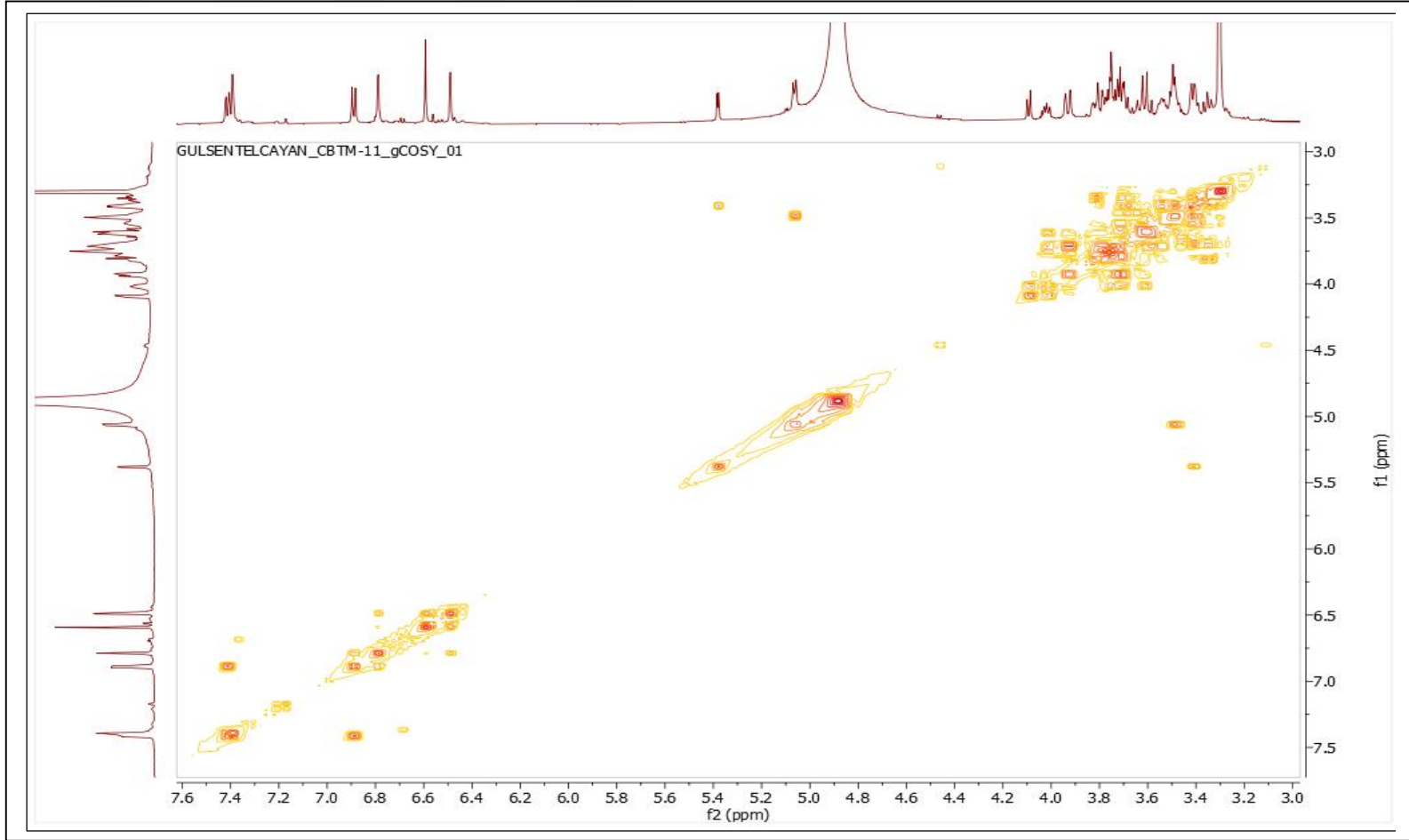
Şekil 3.90. Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4''-O- β -D-glikopiranozit (9) APT spektrumu (CD₃OD, 125 MHz)



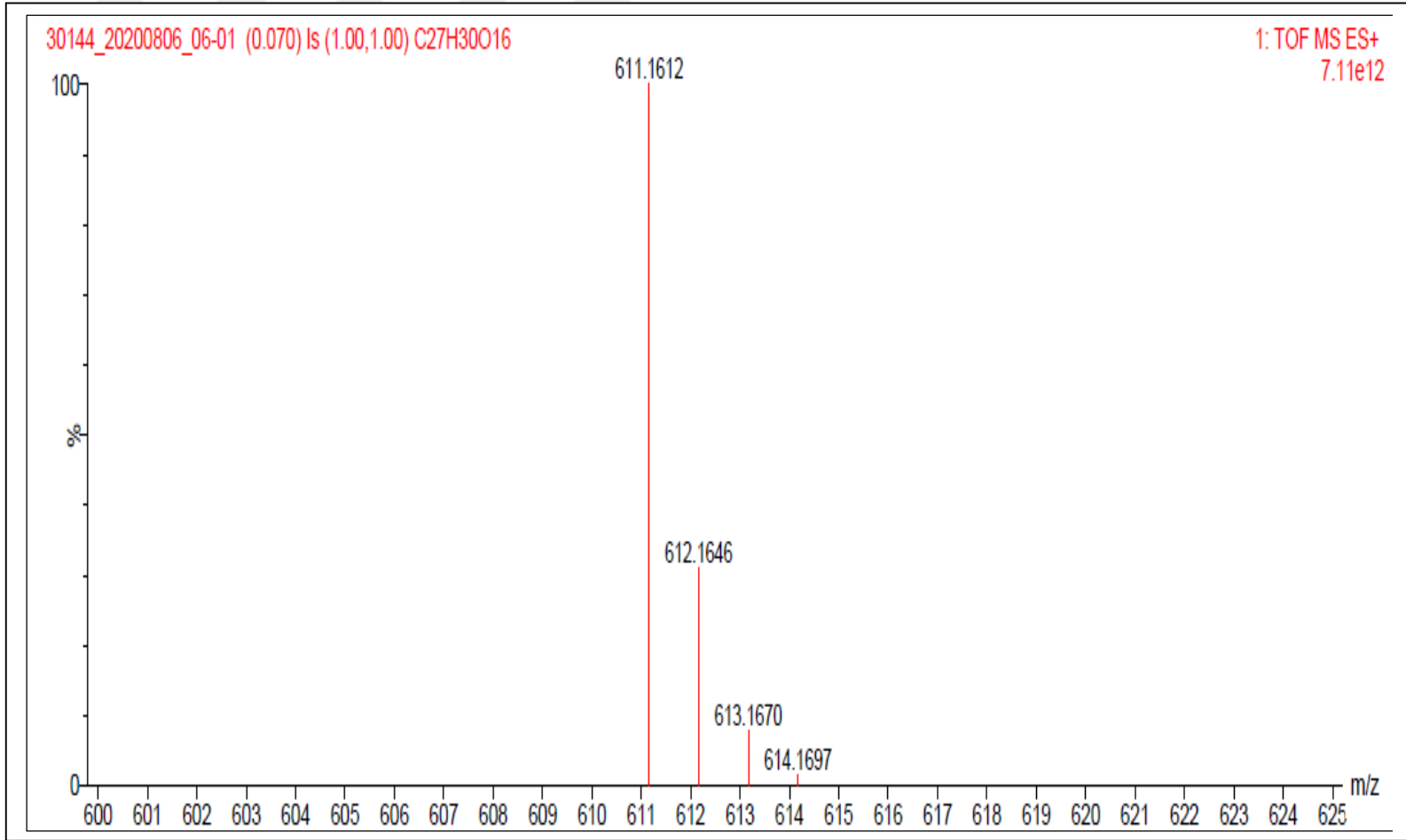
Şekil 3.91. Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4''-O- β -D-glikopiranozit (9) HSQC spektrumu



Şekil 3.92. Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4''-O- β -D-glikopiranozit (9) HMBC spektrumu



Şekil 3.93. Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4''-O- β -D-glikopiranozit (9) COSY spektrumu



Şekil 3.94. Luteolin-7-O- α -D-glikopiranozit-4''-O- β -D-glikopiranozit (9) HR-MS spektrumu

3.5. *C. bulbosum* Bitkisinden Elde Edilen Saf Bileşiklerin Antioksidan Aktivite Sonuçları

C. bulbosum bitkisinden izole edilen toplam 9 bileşiğin antioksidan aktiviteleri β -karoten renk açılım, DPPH serbest radikali giderim, ABTS katyon radikali giderim, CUPRAC indirgeme gücü ve metal bağlama yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar saf bileşiklerin % inhibisyon değerleri ile IC₅₀ (μ g/mL) değerleri şeklinde Çizelge 3.42’de verilmektedir. Sonuçlar standart olarak kullanılan BHA ve α -tokoferol ile karşılaştırılmıştır. Çizelgedende görüldüğü üzere, β -karoten renk açılım yönteminde en yüksek aktiviteyi kersetin-3-*O*- β -D-glukopiranozit (5) (IC₅₀: 12,72 $\pm$ 0,41 μ g/mL) bileşiği göstermiştir. Bunu 13,37 $\pm$ 0,10 μ g/mL IC₅₀ değeri ile luteolin-7-*O*- β -D-glukopiranozit (7) bileşiği takip etmektedir.

Çizelge 3.42. *C. bulbosum*’dan izole edilen saf bileşiklerin β -karoten renk açılımı yöntemiyle lipid peroksidasyonu inhibisyon aktivitesi^a

	β-Karoten Linoleik Asit Aktivitesi				
	50 μg/mL	100 μg/mL	200 μg/mL	400 μg/mL	IC₅₀ (μg/mL)
<i>n</i> -Oktakosan (1)	2,05 $\pm$ 0,15	3,87 $\pm$ 0,15	5,61 $\pm$ 0,76	19,85 $\pm$ 0,85	>400
<i>n</i> -Heptadekanil eikosanoat (2)	5,14 $\pm$ 0,67	15,48 $\pm$ 0,87	23,67 $\pm$ 1,14	24,33 $\pm$ 0,94	>400
Stigmasterol (3)	23,72 $\pm$ 0,08	39,86 $\pm$ 0,28	43,03 $\pm$ 0,57	50,76 $\pm$ 0,18	381,60 $\pm$ 0,17
β -Sitosterol-3- <i>O</i> - β -D-glukopiranozit (4)	3,86 $\pm$ 0,43	10,92 $\pm$ 0,08	26,91 $\pm$ 0,96	50,74 $\pm$ 0,32	394,24 $\pm$ 0,59
Kersetin-3- <i>O</i> - β -D-glukopiranozit (5)	69,78 $\pm$ 1,23	77,96 $\pm$ 0,88	88,63 $\pm$ 0,84	91,25 $\pm$ 1,01	12,72 $\pm$ 0,41
Apigenin-7- <i>O</i> - β -D-glukopiranozit (6)	59,65 $\pm$ 1,31	73,51 $\pm$ 0,40	80,36 $\pm$ 0,27	83,52 $\pm$ 0,73	41,35 $\pm$ 0,33
Luteolin-7- <i>O</i> - β -D-glukopiranozit (7)	60,19 $\pm$ 0,63	61,12 $\pm$ 0,34	64,54 $\pm$ 0,22	65,78 $\pm$ 0,05	13,37 $\pm$ 0,10
Sakkaroz (8)	0,73 $\pm$ 0,12	2,84 $\pm$ 0,27	3,32 $\pm$ 0,41	7,50 $\pm$ 0,43	>400
Luteolin-7- <i>O</i> - α -D-glikopiranozit-4"- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit (9)	5,46 $\pm$ 0,18	5,91 $\pm$ 0,96	6,09 $\pm$ 0,24	11,33 $\pm$ 0,66	>400
BHA^b	90,88 $\pm$ 1,93	91,16 $\pm$ 1,70	91,78 $\pm$ 1,26	92,93 $\pm$ 0,47	1,34 $\pm$ 0,04
α-Tokoferol^b	88,52 $\pm$ 1,97	90,11 $\pm$ 0,50	90,51 $\pm$ 0,18	90,56 $\pm$ 0,79	2,10 $\pm$ 0,08

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verildi. $p < 0.05$.

^b Antioksidan standartlar.

^c - : Aktivite yok

İzole edilen saf bileşiklerin DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri Çizelge 3.43’de görülmektedir. İzole edilen bileşikler arasında kersetin-3-*O*- β -D-glukopiranozit (5)

(IC₅₀: 6,94±0,29 µg/mL) ve luteolin-7-*O*-β-*D*-glukopiranozit (7) (IC₅₀: 11,97±0,90 µg/mL) bileşikleri en yüksek DPPH serbest radikali giderim aktivitesini göstermiştir. İzole edilen kersetin-3-*O*-β-*D*-glukopiranozit (5) ve luteolin-7-*O*-β-*D*-glukopiranozit (7) bileşikleri standart olarak kullanılan BHA ve α-tokoferol'den daha yüksek DPPH serbest radikali giderim aktivitesi göstermiştir.

Çizelge 3.43. *C. bulbosum*'dan izole edilen saf bileşiklerin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi^a

	DPPH Aktivitesi				
	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	IC ₅₀ (µg/mL)
<i>n</i> -Oktakosan (1)	- ^b	0,72±0,56	2,64±0,00	17,02±0,73	>400
<i>n</i> -Heptadekanil eikosoanoat (2)	2,19±0,59	2,42±0,22	3,37±0,26	3,52±0,56	>400
Stigmasterol (3)	1,64±0,78	1,83±0,78	2,75±0,16	7,87±0,89	>400
β-Sitosterol-3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glukopiranozit (4)	3,37±0,68	3,96±0,38	6,25±0,22	10,90±0,51	>400
Kersetin-3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glukopiranozit (5)	84,79±0,60	85,02±0,60	85,74±0,21	85,85±0,47	6,94±0,29
Apigenin-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glukopiranozit (6)	41,20±0,64	76,47±0,86	83,05±0,73	83,96±0,26	63,33±0,45
Luteolin-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glukopiranozit (7)	81,86±0,19	83,40±0,05	84,26±0,48	84,73±0,20	11,97±0,90
Sakkaroz (8)	0,51±0,01	0,96±0,13	1,41±0,08	2,39±0,47	>400
Luteolin-7- <i>O</i> -α- <i>D</i> -glukopiranozit-4"- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glukopiranozit (9)	0,34±0,02	0,34±0,00	1,78±0,35	5,18±0,73	>400
BHA^b	79,37±0,33	86,21±0,16	87,13±0,09	87,27±0,03	19,80±0,36
α-Tokoferol^b	66,68±0,43	87,28±0,13	87,14±0,28	87,44±0,09	37,20±0,41

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verildi. *p*<0.05.

^b Antioksidan standartlar.

^c - : Aktivite yok

Çizelge 3.44.'de görüldüğü üzere, en yüksek ABTS katyon radikali giderim aktivitesini izole edilen kersetin-3-*O*-β-*D*-glukopiranozit (5) (IC₅₀: 9,87±0,46 µg/mL) ve luteolin-7-*O*-β-*D*-glukopiranozit (7) (IC₅₀: 10,19±0,16 µg/mL) bileşikleri göstermiştir. İzole edilen kersetin-3-*O*-β-*D*-glukopiranozit (5) ve luteolin-7-*O*-β-*D*-glukopiranozit (7) bileşikleri standart olarak kullanılan BHA ve α-tokoferol'den, apigenin-7-*O*-β-*D*-glukopiranozit (6) bileşiği ise α-tokoferol'den daha yüksek ABTS katyon radikali giderim aktivitesi göstermiştir.

Çizelge 3.44. *C. bulbosum*'dan izole edilen saf bileşiklerin ABTS katyon radikal giderim aktivitesi^a

	ABTS Aktivitesi				
	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	IC ₅₀ (µg/mL)
<i>n</i> -Oktakosan (1)	5,82±0,48	6,27±0,16	12,38±0,16	30,70±0,36	>400
<i>n</i> -Heptadekanil eikosanoat (2)	6,39±0,32	8,76±0,16	12,61±0,16	18,03±0,44	>400
Stigmasterol (3)	11,36±0,68	14,38±0,14	21,54±0,64	40,08±0,00	>400
β-Sitosterol-3- <i>O</i> -β-D-glukopiranozit (4)	6,16±0,00	11,59±0,99	23,35±1,28	40,42±1,44	>400
Kersetin-3- <i>O</i> -β-D-glukopiranozit (5)	90,63±0,26	90,79±0,13	90,79±0,13	90,79±0,13	9,87±0,46
Apigenin-7- <i>O</i> -β-D-glukopiranozit (6)	78,42±2,10	89,42±0,13	90,49±0,35	90,64±0,00	30,48±0,09
Luteolin-7- <i>O</i> -β-D-glukopiranozit (7)	90,05±0,54	90,28±0,67	91,33±0,28	91,73±0,19	10,19±0,16
Sakkaroz (8)	4,15±0,00	6,19±0,96	8,23±0,76	10,27±1,60	>400
Luteolin-7- <i>O</i> -α-D-glikopiranozit-4"- <i>O</i> -β-D-glikopiranozit (9)	1,35±0,23	2,80±0,70	4,70±0,26	11,25±0,92	>400
BHA^b	90,79±0,19	91,02±0,05	91,50±0,20	91,18±0,26	11,82±0,09
α-Tokoferol^b	66,52±3,77	88,80±2,57	91,95±0,09	91,86±0,12	38,51±0,54

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verildi. *p*<0.05.

^b Antioksidan standartlar.

^c - : Aktivite yok

Çizelge 3.45.'de görüldüğü gibi, CUPRAC yönteminde en yüksek aktiviteyi kersetin-3-*O*-β-D-glukopiranozit (5) (*A*_{0,50}: 29,52±0,01 µg/mL) ve luteolin-7-*O*-β-D-glukopiranozit (7) (*A*_{0,50}: 68,05±0,01 µg/mL) bileşikleri göstermiştir. Bu bileşiklerden kersetin-3-*O*-β-D-glukopiranozit (5) bileşiği standart olarak kullanılan α-tokoferol'den daha yüksek bakır iyonu indirgeme gücü aktivitesi göstermiştir.

Çizelge 3.45. *C. bulbosum*'dan izole edilen saf bileşiklerin CUPRAC yöntemiyle Cu²⁺ indirgeme gücü aktivitesi^a

	CUPRAC Aktivitesi				
	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	<i>A</i> _{0,50} (µg/mL)
<i>n</i> -Oktakosan (1)	0,12±0,00	0,14±0,01	0,15±0,00	0,15±0,00	>400
<i>n</i> -Heptadekanil eikosanoat (2)	0,11±0,00	0,12±0,00	0,12±0,00	0,14±0,00	>400
Stigmasterol (3)	0,14±0,00	0,22±0,00	0,28±0,00	0,34±0,01	>400
β-Sitosterol-3- <i>O</i> -β-D-glukopiranozit (4)	0,13±0,01	0,14±0,00	0,20±0,01	0,24±0,01	>400
Kersetin-3- <i>O</i> -β-D-glukopiranozit (5)	0,53±0,01	0,95±0,01	1,64±0,02	2,90±0,01	29,52±0,01
Apigenin-7- <i>O</i> -β-D-glukopiranozit (6)	0,27±0,00	0,38±0,00	0,56±0,01	0,92±0,00	173,44±0,01
Luteolin-7- <i>O</i> -β-D-glukopiranozit (7)	0,43±0,02	0,67±0,01	0,84±0,01	1,61±0,01	68,05±0,01
Sakkaroz (8)	0,09±0,00	0,09±0,00	0,09±0,00	0,10±0,00	>400

Çizelge 3.45. (devam)

	CUPRAC Aktivitesi				
	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	A _{0,50} (µg/mL)
Luteolin-7- <i>O</i> - α -D- glikopiranozit-4"- <i>O</i> - β -D- glikopiranozit (9)	0,11±0,00	0,11±0,00	0,11±0,00	0,12±0,00	>400
BHA ^b	0,95±0,11	1,52±0,11	2,47±0,01	3,59±0,07	24,40±0,69
α -Tokoferol ^b	0,35±0,11	0,54±0,17	0,85±0,02	1,51±0,04	66,72±0,81

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verildi. $p < 0.05$.

^b Antioksidan standartlar.

^c - : Aktivite yok

Çizelge 3.46.'da görüldüğü üzere izole edilen saf bileşikler standart ile kıyaslandığında düşük metal bağlama aktivitesi göstermiştir. En yüksek metal bağlama aktivitesi luteolin-7-*O*- α -D- glikopiranozit-4"-*O*- β -D-glikopiranozit (9) (IC₅₀: 375,21±0,65 µg/mL) ve apigenin-7-*O*- β -D-glukopiranozit (6) (IC₅₀: 382,85±0,94 µg/mL) bileşiklerinde hesaplanmıştır. Bunu 400 µg/mL konsantrasyonda sırasıyla kersetin-3-*O*- β -D-glukopiranozit (5) (%35,73±0,25) > sakkaroz (8) (%28,03±0,79) > *n*-heptadekanil eikosanoat (2) (%27,37±0,43) > *n*-oktakosan (1) (%20,54±0,79) bileşikleri takip etmiştir.

Çizelge 3.46. *C. bulbosum*'dan izole edilen saf bileşiklerin Fe²⁺-Ferrin yöntemiyle metal bağlama aktivitesi^a

	Metal Kelat Aktivitesi				
	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	IC ₅₀ (µg/mL)
<i>n</i> -Oktakosan (1)	15,73±0,04	15,98±0,36	18,01±0,40	20,54±0,79	>400
<i>n</i> -Heptadekanil eikosanoat (2)	12,95±0,30	20,03±0,72	26,61±0,21	27,37±0,43	>400
Stigmasterol (3)	- ^b	- ^b	- ^b	8,65±0,44	>400
β -Sitosterol-3- <i>O</i> - β -D- glukopiranozit (4)	- ^b	- ^b	- ^b	0,04±0,01	>400
Kersetin-3- <i>O</i> - β -D- glukopiranozit (5)	- ^b	3,25±0,02	19,49±0,10	35,73±0,25	>400
Apigenin-7- <i>O</i> - β -D- glukopiranozit (6)	- ^b	13,97±0,80	37,19±0,80	51,18±1,44	382,85±0,94
Luteolin-7- <i>O</i> - β -D- glukopiranozit (7)	11,37±0,05	11,37±0,20	13,40±0,59	13,63±0,27	>400
Sakkaroz (8)	9,55±0,18	10,52±0,98	16,64±1,18	28,03±0,79	>400
Luteolin-7- <i>O</i> - α -D- glikopiranozit-4"- <i>O</i> - β -D- glikopiranozit (9)	9,66±0,01	17,00±0,24	36,23±0,49	52,93±0,15	375,21±0,65
EDTA	93,83±0,01	94,07±0,06	94,09±0,75	94,29±0,08	3,47±0,35

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verildi. $p < 0.05$.

^b Antioksidan standartlar.

^c - : Aktivite yok

Antioksidan aktivite ile ilgili izole edilen bileşiklerin yapılan literatür çalışmaları incelendiğinde, kersetin-3-*O*- β -D-glikopiranozit (5), apigenin-7-*O*- β -D-glikopiranozit (6), luteolin-7-*O*- β -D-glikopiranozit (7) ve sakkaroz (8) bileşiklerinin lipit peroksidasyonu inhibisyon aktivitesi; stigmasterol (3), β -sitosterol-3-*O*- β -D-glikopiranozit (4), kersetin-3-*O*- β -D-glikopiranozit (5), apigenin-7-*O*- β -D-glikopiranozit (6), luteolin-7-*O*- β -D-glikopiranozit (7) ve sakkaroz (8) bileşiklerinin DPPH radikal giderim aktivitesi; stigmasterol (3), β -sitosterol-3-*O*- β -D-glikopiranozit (4), kersetin-3-*O*- β -D-glikopiranozit (5), apigenin-7-*O*- β -D-glikopiranozit (6), luteolin-7-*O*- β -D-glikopiranozit (7) ve sakkaroz (8) bileşiklerinin ABTS katyon radikal giderim aktivitesi; kersetin-3-*O*- β -D-glikopiranozit (5), apigenin-7-*O*- β -D-glikopiranozit (6) ve luteolin-7-*O*- β -D-glikopiranozit (7) bileşiklerinin CUPRAC aktivitesinin rapor edildiği anlaşılmaktadır (Öztürk vd., 2011; Hsouna vd., 2011; Demirkıran vd., 2013; Sabudak vd., 2013; Lu vd., 2019; Khatun vd., 2019; Hou vd., 2019; Khan vd., 2020; Cherfia vd., 2020). Projede elde ettiğimiz ve yapısını aydınlattığımız bileşiklerin antioksidan aktivite sonuçları ile literatürdeki verilerin uyumlu olduğu görülmektedir.

3.6. C. bulbosum Bitkisinden Elde Edilen Saf Bileşiklerin Enzim İnhibisyon Aktivite Sonuçları

3.6.1. Asetilkolinesteraz ve Bütilkolinesteraz Enzimleri İnhibisyon Aktivite Sonuçları

C.bulbosum'dan izole edilen toplam 9 bileşiğin asetilkolinesteraz (AChE) ve bütilkolinesteraz (BChE) enzim inhibisyon aktiviteleri Ellman metodu kullanılarak test edilmiştir. Elde edilen sonuçlar bileşiklerin % inhibisyon değerleri ile IC₅₀ (μ g/mL) değerleri şeklinde Çizelge 3.47-3.48'de verilmektedir. Sonuçlar orta şiddetli Alzheimer hastalığının tedavisinde ilaç olarak kullanılan Galantamin ile karşılaştırılmıştır.

Çizelge 3.47'de görüldüğü gibi, izole edilen bileşikler arasında asetilkolinesteraz enzimine karşı en yüksek aktiviteyi 73,73 $\pm$ 0,65 μ g/mL IC₅₀ değeri ile *n*-oktakosan (1)

bileşiği göstermiştir. Saflaştırılan bütün bileşikler standart olarak kullanılan galantaminden daha düşük aktivite göstermiştir.

Çizelge 3.47. *C. bulbosum*'dan izole edilen saf bileşiklerin asetilkolinesteraz (AChE) inhibisyon aktivitesi^a

	AChE İnhibisyon Aktivitesi				
	12,5 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	IC ₅₀ (µg/mL)
<i>n</i> -Oktakosan (1)	6,76±0,09	22,60±0,48	38,68±0,45	63,71±0,15	73,73±0,65
<i>n</i> -Heptadekanil eikosanoat (2)	9,07±0,11	17,43±0,70	30,78±0,29	45,58±0,65	>100
Stigmasterol (3)	18,32±0,75	29,63±0,80	32,78±0,99	46,40±0,31	>100
β-Sitosterol-3- <i>O</i> -β-D-glukopiranozit (4)	_{-b}	_{-b}	_{-b}	_{-b}	>100
Kersetin-3- <i>O</i> -β-D-glukopiranozit (5)	7,66±0,08	16,96±0,21	30,65±0,68	32,03±0,74	>100
Apigenin-7- <i>O</i> -β-D-glukopiranozit (6)	1,83±0,21	5,98±0,56	6,28±0,14	9,81±0,36	>100
Luteolin-7- <i>O</i> -β-D-glukopiranozit (7)	3,73±0,15	9,42±0,24	11,17±0,50	19,72±0,26	>100
Sakkaroz (8)	_{-b}	2,16±0,21	3,25±0,05	9,36±0,71	>100
Luteolin-7- <i>O</i> -α-D-glikopiranozit-4"- <i>O</i> -β-D-glikopiranozit (9))	_{-b}	_{-b}	_{-b}	_{-b}	>100
Galantamin^b	59,07±0,69	61,75±1,99	63,68±0,92	78,76±0,52	4,31±0,03

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verildi. *p*<0,05.

^b Standart, ^c - : Aktivite yok

Çizelge 3.48.'de görüldüğü gibi, bütirilkolinesteraz enzimine karşı en yüksek aktiviteyi sırasıyla luteolin-7-*O*-β-D-glukopiranozit (7) (IC₅₀: 46,12±0,30 µg/mL), stigmasterol (3) (IC₅₀: 86,07±0,25 µg/mL) ve *n*-heptadekanil eikosanoat (2) (IC₅₀: 93,33±0,74 µg/mL) bileşikleri göstermiştir. Saflaştırılan bütün bileşikler standart olarak kullanılan galantaminden daha düşük aktivite göstermiştir.

Çizelge 3.48. *C. bulbosum*'dan izole edilen saf bileşiklerin bütirilkolinesteraz (BChE) inhibisyon aktivitesi^a

	BChE İnhibisyon Aktivitesi				
	12,5 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	IC ₅₀ (µg/mL)
<i>n</i> -Oktakosan (1)	12,30±0,11	13,45±0,50	15,83±0,52	44,23±0,62	>100
<i>n</i> -Heptadekanil eikosanoat (2)	4,04±0,54	12,62±0,46	24,77±0,55	53,95±0,24	93,33±0,74
Stigmasterol (3)	17,34±0,48	21,63±0,27	40,17±0,18	56,41±0,54	86,07±0,25
β-Sitosterol-3- <i>O</i> -β-D-glukopiranozit (4)	_{-b}	_{-b}	9,48±0,12	42,14±0,40	>100
Kersetin-3- <i>O</i> -β-D-glukopiranozit (5)	_{-b}	_{-b}	5,68±0,41	12,38±0,87	>100
Apigenin-7- <i>O</i> -β-D-glukopiranozit (6)	_{-b}	9,11±0,40	11,67±0,08	28,44±0,78	>100

Çizelge 3.48. (devam)

	BChE İnhibisyon Aktivitesi				
	12,5 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	IC ₅₀ (µg/mL)
Luteolin-7- <i>O</i> -β-D-glukopiranozit (7)	31,47±0,41	36,23±0,29	52,75±0,94	54,30±0,66	46,12±0,30
Sakkaroz (8)	- ^b	- ^b	0,10±0,01	2,80±0,44	>100
Luteolin-7- <i>O</i> -α-D-glikopiranozit-4"- <i>O</i> -β-D-glikopiranozit (9)	13,14±0,30	15,42±0,75	16,30±0,63	22,22±0,24	>100
Galantamin^b	50,88±1,42	62,48±0,02	66,47±0,46	79,27±0,56	12,29±0,06

^a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verildi. $p < 0.05$.

^b Standart, ^c - : Aktivite yok

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu yüksek lisans tez çalışmasında Doğu Anadolu’da yaygın olarak yetişen, yenilebilir ve ticari potansiyele sahip olan *Chaerophyllum bulbosum* bitkisinin hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su ekstralarının β -karoten renk açılım, DPPH serbest radikali giderim, ABTS katyon radikali giderim, CUPRAC indirgeme potansiyeli ve metal kelat etki yöntemleri kullanılarak antioksidan aktiviteleri, Ellman metodu kullanılarak da antikolinesteraz aktiviteleri belirlendi.

Aktivitesi yüksek olan *Chaerophyllum bulbosum*’un hekzan, kloroform, aseton ve metanol ekstraları silikajel, sefadeks LH-20 gibi dolgu maddeleri içeren kolonlarda fraksiyonlandırıldı ve aktivite kontrollü olarak dokuz bileşik saflaştırıldı. Elde edilen saf bileşiklerin yapıları IR, NMR [^1H -NMR, ^{13}C -NMR, 2D-NMR (COSY HSQC ve HMBC)] gibi spektral analizlerle ve kütle spektrometresi yöntemleri (EI-MS ve HRMS) kullanılarak aydınlatıldı.

C. bulbosum’un biyoaktivite kontrollü olarak hekzan ekstresinden *n*-oktakosan (1), kloroform ekstresinden *n*-Heptadekanil eikosanoat (2), stigmasterol (3), aseton ekstresinden β -sitosterol-3-*O*- β -*D*-glikopiranozit (4), metanol ekstresinden kersetin-3-*O*- β -*D*-glikopiranozit (5), apigenin-7-*O*- β -*D*-glikopiranozit (6), luteolin-7-*O*- β -*D*-glikopiranozit (7) sakkaroz (8) ve luteolin-7-*O*- α -*D*-glikopiranozit-4"-*O*- β -*D*-glikopiranozit (9) bileşikleri izole edildi.

Tez çalışmasıyla yapısı aydınlatılan bileşiklerin, 1 tanesi hidrokarbon, 1 tanesi ester, 1 tanesi steroid, 1 tanesi steroid glikozit, 4 tanesi flavanoid glikozit ve 1 tanesi de disakkarit yapısında bileşiklerdir.

İzole edilen saf bileşiklerin antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri aynı yöntemler kullanılarak tespit edildi.

C.bulbosum bitkisinin ekstraları arasında en yüksek antioksidan aktivite gösteren metanol fraksiyonundan biyoaktivite kontrollü olarak elde edilen kersetin-3-*O*- β -*D*-

glikopiranozit (5) bileşigidir. Bunu ikinci sırada luteolin-7-O- β -D-glukopiranozit (7) bileşiginin izlediği görüldü. Kersetin-3-O- β -D-glukopiranozit (5) ve luteolin-7-O- β -D-glukopiranozit (7) bileşiklerinin DPPH serbest radikal giderim ve ABTS katyon radikal giderim aktivitelerinde standart olarak kullanılan BHA ve α -tokoferol ile karşılaştırıldığında yüksek antioksidan aktivitesi gösterdiği görülmektedir. Kersetin-3-O- β -D-glukopiranozit (5) bileşigi CUPRAC aktivitesinde ise standart α -tokoferol'den daha yüksek aktivite göstermiştir.

Flavanoidlerin genel olarak antioksidan aktivitesinin yüksek olduğu görülmektedir. Bunlardan en yüksek aktiviteye sahip olan flavonoid glikozit yapılı kersetin-3-O- β -D-glukopiranozit (5) bileşigidir. Flavonoidlerin antioksidan aktiviteleri içerdikleri hidroksil grupları, B halkasındaki orto-dihidroksi düzenlemesi, C halkasında yer alan hidroksil grupları, C2-C3 doymamış bağları ile birlikte 4 pozisyonunda karbonil gruplarının varlığı ile ilişkilendirilmektedir (Banjarnahor ve Artanti, 2014). Flavonoidlerin 3 pozisyonunda OH grubu içermesi antioksidan aktivite özelliklerine önemli derecede katkıda bulunmaktadır. 3 pozisyonunda OH içeren flavonoller ve flavanoller düzlemsel iken, bu özelliği olmayan flavonlar ve flavanonlar hafifçe bükülmüştür. Düzlemsellik, konjugasyon, elektron dislokasyonu ve buna karşılık oluşan flavonoid fenoksil radikal stabilitesinde bir artışa neden olarak antioksidan aktivitenin daha güçlü olmasına katkıda bulunur. Bu nedenlerden dolayı 3 pozisyonunda OH grubu içermeyen flavonoidlerin antioksidan aktiviteleri daha düşük olmaktadır (Heim vd., 2002). Bunlara ilaveten B halkasında hidroksil grubunun varlığı ve sayısı antioksidan aktivitenin artmasına sebep olmaktadır (Pratt, 1976). Kersetin, luteolin ve apigenine kıyasla daha yüksek antioksidan özelliğe sahip bir flavonoiddir. Kersetinin daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olmasının nedeni katekol tipinde B halkası içermesi ve 3 ve 5 pozisyonlarında hidroksil grubunun varlığından kaynaklanmaktadır (Ozgen vd., 2016).

C. bulbosum bitkisinin ekstreleri arasında en yüksek antikolinesteraz aktivite gösteren hekzan ve kloroform ekstrelerinden biyoaktivite kontrollü olarak sırasıyla hekzan ekstresinden izole edilen *n*-oktakosan (1) bileşigi asetilkolinesteraz enzimine karşı iyi bir antikolinesteraz aktivite gösterirken, bitkinin kloroform eksteresinden izole edilen *n*-Heptadekanil eikosanoat (2) bileşigi bütirilkolinesteraz (BChE) enzimine karşı iyi bir antikolinesteraz aktivite göstermektedir.

Yapıları aydınlatılan **1, 2, 3, 4, 5, 8 ve 9** numaralı bileşikler *Chaerophyllum* türlerinden daha önce izole edilmemiş olup ilk defa bu çalışma ile *C. bulbosum* türünden izole edildi. Bunun yanı sıra **6 ve 7** numaralı bileşik ise daha önce *Chaerophyllum* türünden izole edilmiş olup ilk defa bu çalışma ile *C. bulbosum* türünden izole edilmiştir. Bunlara ilaveten *C. bulbosum* türünün ekstralarının ve elde edilen saf bileşiklerin antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleride detaylı olarak ilk defa bu tez çalışmasıyla ortaya çıkarılmıştır.



KAYNAKLAR

- Adil, M., Dastagir, G., ve Bakht, J. (2020) Phytochemical screening and antimicrobial activity of medicinally important *Achillea millefolium* L. and *Chaerophyllum villosum* wall exdc, *Pak J Bot* , Volume: 52, Issue: 3, Pages: 971-974.
- Ahmed, D., Kumar, V., Sharma, M. ve Verma, A. (2014) Target guided isolation, invitro antidiabetic, antioxidant activity and molecular docking studies of some flavonoids from *Albizzia lebbeck* Benth. Bark, *BMC Complement Altern Med*, 14: 155.
- Andrae-Marobela, K., Ghislain, F. W., Okatch, H. ve Majinda, R. (2013) Polyphenols: A diverse class of multi-target anti-HIV-1 agents, *Curr Drug Metab*, 7: 392-413.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Karademir, S. E. (2004) Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method, *J Agric Food Chem*, 52: 7970-7981.
- Avigad, G. (1982) Sucrose and other disaccharides. In: Loewus F.A., Tanner W. (editörler) *Plant Carbohydrates I.*, vol 13/A, Encyclopedia of Plant Physiology (New Series), Springer, Berlin, Heidelberg.
- Ayala Garay, O. J., Briard, M., Peron, J.Y. ve Planchot, V. (2003) *Chaerophyllum bulbosum*: A new vegetable interesting for its root carbohydrate reserves, *In Proceedings of the international symposium on sustainable use of plant biodiversity to promote new opportunities for horticultural production development*, Antalya, Turkey.
- Aydin, T. (2020) Secondary metabolites of *Helichrysum plicatum* DC. subsp. plicatum flowers as strong carbonic anhydrase, cholinesterase and α -glycosidase inhibitors, *Z Naturforsch C*, 75(5-6): 153-159.

- Badaoui, M. I., Magid, A. A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Benkhaled, M., Harakat, D., Robert, A. ve Haba, H. (2020) Antioxidant activity-guided isolation of constituents from *Euphorbia gaditana* Coss. and their antioxidant and tyrosinase inhibitory activities, *Phytochem Lett*, 39: 99-104.
- Banjarnahor, S.D.S. ve Artanti, N. (2014) Antioxidant properties of flavonoids, *Med J Indones*, 23: 239-244.
- Barreira, J.C.M. ve Ferreira, I.C.F.R. (2015) Steroids in natural matrices: Chemical features and bioactive properties, *Biotechnology of Bioactive Compounds: Sources and Applications*, First Edition Edited, Gupta, V.K., Tuohy, M.G., Lohani, M., O'Donovan, A. John Wiley & Sons, Ltd.
- Barros, L., Duenas, M., Ferreira, I. C. F. R., Baptista, P. ve Santos-Buelga, C. (2009) Phenolic acids determination by HPLC–DAD–ESI/MS in sixteen different Portuguese wild mushrooms species, *Food Chem Toxicol*, 47: 1076-1079.
- Barros, L., Pereira, C. ve Ferreira, I.C.F.R. (2013) Optimized analysis of organic acids in edible mushrooms from Portugal by ultra-fast liquid chromatography and photodiode array detection, *Food Anal Methods*, 6: 309-316.
- Baser, K.H.C., Tabanca, N., Ozek, T., Demirci, B., Duran, A. ve Duman H. (2000) Composition of the essential oil of *Chaerophyllum aksekiense* A. Duran et Duman, a recently described endemic from Turkey, *Flavour Fragr J*, Volume: 15, Issue: 1, Pages: 43-44.
- Baser, K. H. C., Özek, G., Özek, T. ve Duran, A. (2006) Composition of the Essential Oil of *Chaerophyllum macropodium* Boiss. Fruits Obtained by Microdistillation, *J Esent Oil Res*, 18: 515-517.
- Baytop, T. (1984) *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*, Sanal Matbaacılık, İstanbul Üniversitesi Yayınları, No: 3255: 282-283.
- Baytop, T. (1999) Therapy with Medicinal Plants in Turkey (Past and Present) (2nd ed.), Istanbul, *Nobel Med Publication*, pp.118–119.
- Bineshian, F., Bakhshandeh, N., Taherian, K., et al. (2018) GC-MS Analysis of Anti-*Candida* and Antioxidant Activities of Hydroalcoholic Leaf Extract of

- Blois, M. S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181: 1199-1200.
- Bordoloi, M., Saikia, S., Bordoloi, P.K., Kolita, B., Dutta, P.P., Bhuyan, P.D., Dutta, S.C. ve Rao, P.G. (2017) Isolation, characterization and antifungal activity of very long chain alkane derivatives from *Cinnamomum obtusifolium*, *Elaeocarpus lanceifolius* and *Baccaurea sapida*, *J Mol Struct*, 1142: 200-210.
- Bouic, P.J., Clark, A., Lamprecht, J., Freestone, M., Pool, E.J., Liebenberg, R.W., Kotze, D. ve van Jaarsveld, P.P. (1999) The effects of β -sitosterol (BSS) and β -sitosterol glucoside (BSSG) mixture on selected immune parameters of marathon runners: inhibition of post marathon immune suppression and inflammation, *Int J Sports Med*, 20: 258-262.
- Bowen, L., Li, C., Bin, L., Ying, T., Shijun, L. ve Junxing, D. (2020) Chemical constituents, cytotoxic and antioxidant activities of extract from the rhizomes of *Osmunda japonica* Thunb, *Nat Prod Res*, 34: 847-850.
- Cao, H. ve Chen, X. (2012) Structures required of flavonoids for inhibiting digestive enzymes Anti-Cancer Agents, *Med Chem*, 12: 929-939.
- Çelik, S. E., Özyürek, M., Altun, M., Bektaşoğlu, B., Güçlü, K., Berker, K. I., Özgökçe ve F., Apak, R. (2008) Antioxidant Capacities of Herbal Plants Used in The Manufacture of Van Herby Cheese: Otlı Peynır, *Int J Food Prop*, 11: 747–761.
- Chaturvedula, V. S. P. ve Prakash, I. (2012) Isolation of stigmasterol and β -sitosterol from the dichloromethane extract of *Rubus suavissimus*, *Int Curr Pharm J*, 1(9): 239-242.
- Cherfia, R., Zaiteb, A., Akkal, S., Chaimbault, P., Abdelwahab, A. B., Kirsch, G. ve Chaouche, N. K. (2020) New approach in the characterization of bioactive compounds isolated from *Calycotome spinosa* (L.) Link leaves by the use of negative electrospray ionization LITMSn, LC-ESI-MS/MS, as well as NMR analysis, *Bioorg Chem*, 96: 103535.

- Chiruvella, K. K., Mohammed, A., Dampuri, G., Ghanta, R. G. ve Raghavan, S. C. (2007) Phytochemical and antimicrobial studies of methyl angolensate and luteolin-7-O-glucoside isolated from callus cultures of *Soymida febrifuga*, *Int J Biomed Sci*, 3(4): 269-278.
- Chizzola, R. (2009) Composition of the Essential Oil of *Chaerophyllum aromaticum* (Apiaceae) Growing Wild in Austria, *Nat Prod Commun*, 4(9).
- Cisowski, W. (1986) Flavonoid compounds in *Chaerophyllum aromaticum* L. her, *Herba Pol*, 32(3-4): 139-44.
- Çoruh, N., Sagdıçoglu Celep, A. G. ve Ozgokce, F. (2007) Antioxidant properties of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl., *Chaerophyllum macropodium* Boiss. and *Heracleum persicum* Desf. from Apiaceae family used as food in Eastern Anatolia and their inhibitory effects on glutathione-S-transferase, *Food Chem*, 100:1237–1242.
- Dagdelen, S., Bilenler, T., Durmaz, G., Gokbulut, I., Hayaloglu A.A. ve Karabulut, I. (2014) Volatile Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Herbal Plants Used in the Manufacture of Van Herby (Otlu) Cheese, *J Food Process Preserv*, 38: 1716–1725.
- Dall’Acqua, S. ve Innocenti, G. (2004) Antioxidant compounds from *Chaerophyllum hirsutum* extracts, *Fitoterapia*, 75: 592-595.
- Dall’Acqua, S., Viola, G., Piacente, S., Cappelletti, E. M. ve Innocenti, G. (2004) Cytotoxic constituents of roots of *Chaerophyllum hirsutum*, *J Nat Prod*, 67: 1588–1590.
- Davis, P. H. (1965–1985) Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol 1–9, Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Dawe, A., Mbiancha, M., Fongang, Y., Nana, W. Y., Yakai, F., Ateufack, G., Shaiq, M. A., Lubna, I., Lateef, M. ve Ngadjui, B. T. (2017) Piptadenin, a novel 3,4-secooleanane triterpene and piptadenamide, a new ceramide from the stem bark of *Piptadeniastrum africanum* (Hook.F.) Brenan, *Chem Biodivers*, 14: e1600215.

- Decker, E.A. ve Welch, B. (1990) Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food, *J Agric Food Chem*, 38: 674-677.
- Deng, G.F., Xu, X.R., Zhang, Y., Li, D., Gan, R.Y. ve Li, H.B. (2013) Phenolic compounds and bioactivities of pigmented rice, *Crit Rev Food Sci Nutr*, 53: 296-306.
- Demirci, B., Kosar, M., Demirci, F., Dinc, M. ve Baser, K. H.C. (2007), Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Chaerophyllum libanoticum* Boiss. et Kots, *Food Chem*, 105(4): 1512-1517.
- Demirkiran, O., Sabudak, T., Ozturk, M. ve Topcu, G. (2013) Antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of flavonoids from *Trifolium nigrescens* subsp. petrisavi, *J Agric Food Chem*, 61: 12598-12603.
- Demirkiran, O., Topcu, G., Azarpira, A. ve Choudhary, M. I. (2014) Tyrosinase inhibitory activity of chemical constituents of *Euphorbia macrostegia*, *Chem Nat Compound*, 50(5): 810-813.
- Durmaz, H., Sagun, E., Tarakci, Z., et al. (2006) Antibacterial activities of *Allium vineale*, *Chaerophyllum macropodum* and *Prangos ferulacea*, *Afr J Biotechnol*, Volume: 5, Issue: 19, Pages: 1795-1798
- Ebrahimabadi, A. H., Djafari-Bidgoli, Z., Mazoochi, A., Kashi, F. J. ve Batooli, H. (2010) Essential oils composition, antioxidant and antimicrobial activity of the leaves and flowers of *Chaerophyllum macropodum* Boiss, *Food Control*, 21: 1173–1178.
- Ebrahimisadr, P., Majidiani, H., Bineshian, F., Jameie, F., Ghasemi, E. ve Ghaffarifar, F. (2017) Evaluation of the cytotoxicity effect of *Chaerophyllum* extract on *Leishmania major* and J774 cell line in vitro, *Jundishapur J Nat Pharm Prod* (2017), 12(3Suppl.), e38948/1-e38948/6.
- Ellman, G.L., Courtney, K. D., Andres, V. ve Featherston, R. M. (1961) A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochem Pharmacol*, 7: 88-95.

- Evergetis, E., Michaelakis, A. ve Haroutounian, S. A. (2013) Exploitation of Apiaceae family essential oils as potent biopesticides and rich source of phellandrenes, *Ind Crops Prod*, 41: 365– 370.
- Farnsworth, N. R. (1990) The role of the ethnopharmacology in drug development. In Bioactive Compounds from Plants, *CIBA Foundation Symposium*, 154. pp, 2-21 Chichester, New York Brisbane, Toronto, Singapore, John Wiley & Sons.
- Flamini, G., Antognoli, E. ve Morelli, I. (2001) Two flavonoids and other compounds from the aerial parts of *Centaurea bracteata* from Italy, *Phytochemistry*, 57: 559-564.
- Ghannadi, A., Sajjadi, S. E., Kukhedan, A. J. ve Mortazavian, S. M. (2011) Volatile Constituents of Flowering Aerial Parts of *Chaerophyllum macropodum* Boiss. from Iran, *J Essent Oil Bear Plants*, 14(4): 408 – 412.
- Gholamhoseinian, A., Moradi, M. N. ve Sharifi-far, F. (2009) Screening the methanol extracts of some Iranian plants for acetylcholinesterase inhibitory activity, *Res Pharm Sci*, 4(2): 105-112.
- Gonnet, J. F. (1983) Phytosociological and geographical variation of flavonoid glycosides in *Chaerophyllum aureum*, *Phytochemistry*, 22: 1421–1423.
- Gonnet, J. F. (1986) Individual variation of flavonoid glycosides in *Chaerophyllum aureum*, *Biochem Syst Ecol*, 14: 409–415.
- Grille, S., Zaslowski, A., Thiele, S., Plat, J. ve Warnecke, D. (2010) The functions of sterol glycosides come to those who wait: recent advances in plants, fungi, bacteria and animals, *Prog Lipid Res*, 49: 262-288.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T. ve Başer, K.H.C. (2000) Flora of Turkey and the East Aegean Islands, vol 11, Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Guo, F., Wu, M., Dai, Z., Zhang, S., Zhang, W., Dong, W., Zhou, J., Jiang, M. ve Xin, F. (2020) Current advances on biological production of fumaric acid, *Biochem Eng J*, 153: 107397.

- Haghi, G., Hatami, A., Ghasian, F. ve Hoseini, H. (2010) Antioxidant Activity Evaluation and Essential Oil Analysis of *Chaerophyllum macropodum* Boiss. from Central Iran, *J Essent Oil Bear Plants*, 13(4): 489-495.
- Hayta, S. ve Celikezen, F. C., (2016) Evaluation of essential oil composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Chaerophyllum crinitum* Boiss (Apiaceae) from Turkey: a traditional medicinal herb. *J Biol Sci*, Faisalabad, Pakistan, 16(3): 72-76.
- He, C.L., Fu, B.D., Shen, H.Q., Jiang, X.L. ve Wei, X.B. (2011) Fumaric acid, an antibacterial component of Aloe vera L., *Afr J Biotechnol*, 10(15): 2973-2977.
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. ve Bobilya, D.J. (2002) Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships, *J Nutr Biochem*, 13: 572-584.
- Hou, Y., Zhang, G., Li, M., Li, B., Chen, L., Tian, Y., Liu, S., Li, B. ve Dong, J. (2019) Antioxidant and anti-inflammatory constituents from *Flos populi*, *Nat Prod Res*, Ahead of Print.
- Hsouna, A. B., Trigui, M., Culioli, G., Blache, Y. ve Jaou, S. (2011) Antioxidant constituents from Lawsonia inermis leaves: Isolation, structure elucidation and antioxidative capacity, *Food Chem*, 125: 193-200.
- Hudson, J. B., Lee, M. K., Sener, B. ve Erdemoglu, N. (2000) Antiviral activities in extracts of Turkish medicinal plants, *Pharm Biol*, 38:171-175.
- Jia, Y., Ma, Y., Cheng, G., Zhang, Y. ve Cai, S. (2019) Comparative study of dietary flavonoids with different structures as α -glucosidase inhibitors and insulin sensitizers, *J Agric Food Chem*, 67: 10521-10533.
- Johnson, M. H., De-Mejia, E.G., Fan, J., Lila, M. A. ve Yousef, G. G. (2013) Anthocyanins and proanthocyanidins from blueberry-blackberry fermented beverages inhibit markers of inflammation in macrophages and carbohydrate-utilizing enzymes *in vitro*, *Mol Nutr Food Res*, 57: 1182-1197.
- Joshi R. K. ve Mathela, C. S. (2013) Volatile oil composition and antioxidant activity of leaf of *Chaerophyllum villosum* Wall. ex DC from Uttarakhand, India, *Recent Res Sci Technol*, 5(1): 25-28.

- Józwiak, M., Struga, M., Roszkowski, P., Filipek, A., Nowicka, G. ve Olejarz, W. (2019) Anticancer effects of alloxanthoxyletin and fatty acids esters–*In vitro* study on cancer HTB-140 and A549 cells, *Biomed Pharmacother*, 110: 618-630.
- Ju, Y.H., Clausen, L.M., Allred, K.F., Almada, A.L. ve Helferich, W.G. (2004) β -Sitosterol, β -sitosterol glucoside, and a mixture of β -sitosterol and β -sitosterol glucoside modulate the growth of estrogen-responsive breast cancer cells in vitro and in ovariectomized athymic mice, *J Nutr*, 134: 1145-1151.
- Kapetanios, C., Karioti, A., Bojovic, S., et al. (2008) Chemical and principal-component analyses of the essential oils of apioidae taxa (Apiaceae) from central Balkan, *Chem Biodivers*, Volume: 5, Issue: 1 Pages: 101-119.
- Kargıoğlu, M., Cenkci, S., Serteser, A., Konuk, M. ve Vural, G. (2010) Traditional uses of wild plants in the Middle Aegean Region of Turkey, *Human Ecology*, 38: 429–450.
- Kaur, N., Chaudhary, J., Jain, A. ve Kishore, L. (2011) Stigmasterol: a comprehensive review, *Int J Pharm Sci Res*, 2(9): 2259-2265.
- Khajehie, N., Golmakani, M. T., Eblaghi, M., et al. (2017) Evaluating the Effects of Microwave-Assisted Hydrodistillation on Antifungal and Radical Scavenging Activities of *Oliveria decumbens* and *Chaerophyllum macropodium* Essential Oils, *J Food Prot*, Volume: 80, Issue: 5, Pages: 783-791.
- Khan, S., Khan, M. T. H. ve Kardar, M. N. (2014) Tyrosinase inhibitors from the fruits of *Madhuca latifolia*, *Curr Bioact Compd*, 10: 31-36.
- Khan, I., Zahoor, M., Zeb, A., Sahibzada, M. U. K., Bari, W. U. ve Naz, S. (2020) Isolation, characterization, pharmacological evaluation and in silico modeling of bioactive secondary metabolites from *Ziziphus oxyphylla* a member of Rhamnaceae family, *Trop J Pharm Res*, 19(2): 351-359.
- Khatun, A., Rahman, M., Rahman, M.S., Hossain, M. K. ve Rashid, M. A. (2019) Terpenoids and phytosteroids isolated from *Commelina benghalensis* Linn. with antioxidant activity, *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 2019: 20180218.

- Kim, J.S., Kwon, C.S. ve Son, K.H. (2000) Inhibition of α -glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid, *Biosci Biotech Bioch*, 64: 2458–2461.
- Kim, J.S., Kwon, Y.S., Sa, Y.J. ve Kim, M.J. (2011a) Isolation and identification of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) phenolics with antioxidant activity and α -glucosidase inhibitory effect, *J Agric Food Chem*, 59: 138-144.
- Kim, H.Y., Lee, J.M., Yokozawa, T., Sakata, K. ve Lee, S. (2011b) Protective activity of flavonoid and flavonoid glycosides against glucosemediated protein damage, *Food Chem*, 126: 892-895.
- Koca, I., Tekguler, B. ve Yilmaz, V. A. (2018) The Physical, Chemical and Antioxidant Properties of the Leafs of *Chaerophyllum byzantinum* Boiss. Plants, *Indian J Pharm Educ Res*, Volume: 52, Issue: 4, Supplement: 1, Pages: S124-S127.
- Kreis, W. ve Müller-Uri, F. (2010) Biochemistry of sterols, cardiac glycosides, brassinosteroids, phytoecdysteroids and steroid saponins. In: Wink M (editör) Biochemistry of plant secondary metabolism, *Annual Review Plant*, vol 40, CRC Press, Sheffield, pp 304-363.
- Kubeczka, K. H., Bohn, I., ve Schultze, W. (1989) The Composition of the Essential Oils of *Chaerophyllum hirsutum* L., *J Essent Oil Res*, 1:249-259.
- Kural (2012) *Trabzon çevresinde yayılış gösteren faydalı bitkiler üzerinde ekonomik botanik yönünden araştırmalar*, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 283s.
- Kürkçüoğlu, M., Başer, K.H.C., Işcan, G., Malyer, H. ve Kaynak, G. (2006) Composition and anticandidal activity of the essential oil of *Chaerophyllum byzantinum* Boiss., *Flavour Fragr J*, 21: 115–117.
- Kurkcuoglu, M., Sen, A., Bitis, L., et al. (2018) Chemical Composition, Anti-Inflammatory, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Essential Oil from Aerial Parts of *Chaerophyllum aromaticum* L. from Turkey, *J Essent Oil Bear Plants*, Volume: 21, Issue: 2, Pages: 563-569.

- Kytidou, K., Artola, M., Overkleeft, H.S. ve Aerts, J.M.F.G. (2020) Plant glycosides and glycosidases: a treasure-trove for therapeutics, *Front Plant Sci*, 11: 357.
- Lakusic, B., Slavkovska, V., Pavlovic, M., et al. (2009) Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential OH from *Chaerophyllum aureum* L. (Apiaceae), *Nat Prod Commun*, Volume: 4, Issue: 1, Pages: 115-118.
- Letchamo, W., Korolyk, E. A. ve Tkachev, A. V. (2005) Chemical Screening of Essential Oil Bearing Flora of Siberia V. Composition of the Essential Oil of *Chaerophyllum prescottii* DC Tops from Altai Region, *J Essent Oil Res*, 17: 560-562.
- Li, Y., Yue, R., Liu, R., Zhang, L. ve Wang, M. (2016) Secondary metabolites from the root of *Aralia echinocaulis* Hand-Mazz., *Rec Nat Prod*, 10:5: 639-644.
- Liu, A.L., Wang, H.D., Lee, S.M.Y., Wang, Y.T. ve Du, G.H. (2008) Structure-activity relationship of flavonoids as influenza virus neuraminidase inhibitors and their *in vitro* anti-viral activities, *Bioorg Med Chem*, 16: 7141-7147.
- Lodhi, M.A., Shams, S. ve Khan, K.M. (2014) Thiazolidine esters: new potent urease inhibitors, *J Chem Soc Pak*, 36: 858-864.
- Lu, S.-H., Zuo, H.-J., Shi, J.-X., Li, C.-R., Li, Y.-H., Wang, X., Li, L.-R. ve Huang, J. (2019) Two new glycosides from the leaves of *Ligustrum robustum* and their antioxidant activities and inhibitory effects on α -glucosidase and α -amylase, *S Afr J Bot*, 125: 521-526.
- Ma, X., Zhou, F., Deng, Y., Sun, K., Zhang, H., Zeng, X., Zhang, Y. ve Yu, X. (2018) A new steroid ester from the leaves of *Melia azedarach*, *Chem Nat Compd*, 54: 921-925.
- Ma, Y. M., Zhang, Z. W. ve Feng, C. L. (2009) Flavonoids of *Broussonetia papyrifera*, *Chem Nat Compd*, 45(6): 881-882.
- Mahboubi, M. ve Feizabadi, M. M. (2016) Antimicrobial activity of some essential oils alone and in combination with amikacin against *Acinetobacter* sp, *J Microbiol Biotechnol Food Sci*, 5(5): 412-415.

- Mamedova, S. A. ve Akhmedova, E. R. (1991) Essential oil of Turnip-root chervil, *Chem Nat Compd*, 27: 248–249.
- Mamedova, S.A. (1994) Essential Oil of *Chaerophyllum-macrospermum*, *Chem Nat Compd*, Issue: 2, Pages: 291-292.
- Mamode Cassim, A., Gouguet, P., Gronnier, J., Laurent, N., Germain, V., Grison, M., Boutté, Y., Gerbeau-Pissot, P., Simon-Plas, F. ve Mongranda, S. (2019) Plant lipids: key players of plasma membrane organization and function, *Prog Lipid Res*, 73: 1-27.
- Masoudi, Sh., Faridchehr, A., Alizadehfard, S., Zabarjadshiraz, N., Chalabian, F., Taghizadfarid, R. ve Rustaiyan, A. (2011) Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of *Semenovia frigida* and *Chaerophyllum bulbosum* from Iran, *Chem Nat Compd*, 47(5): 829-832.
- Masuda, D., Yamashita, Y., Takeda, Y. ve Yonemori, S. (2005) Screening for tyrosinase inhibitors among extracts of seashore plants and identification of potent inhibitors from *Garcinia subelliptica*, *Biosci Biotech Bioch*, 69: 197-201.
- Mehenni, C., Atmani-Kilani, D., Dumarcay, S., Perrin, D., Gerardin, P. ve Atmani, D. (2016) Hepatoprotective and antidiabetic effects of *Pistacia lentiscus* leaf and fruit extracts, *J Food Drug Anal*, 24(3): 653-669
- Mikaya, G. A., Turabelidze, D. G., Kemertelidze, E. P. ve Wulfson, N. S. (1981) Kaerophyllin, a new lignan from *Chaerophyllum maculatum*, *Planta Med*, 43: 378–380.
- Miller, H.M. (1971) A simplified method for the evaluation of antioxidants, *J Am Oil Chem Soc*, 48: 91.
- Miras-Moreno, B., Sabater-Jara, A.B., Pedreno, M.A. ve Almagro, L. (2016) Bioactivity of phytosterols and their production in plant *in vitro* cultures, *J Agric Food Chem*, 6(4): 7049-7058.
- Moerman, D.E. (1996) An analysis of the food plants and drug plants of native North America, *J Ethnopharmacol*, 52(1996) 1-22.

- Moghadasian, M.H. (2000) Pharmacological properties of plant sterols: *in vivo* and *in vitro* observations, *Life Sci*, 67: 605-615.
- Mora, A., Paya, M., Rios, J.L. ve Alcaraz, M.J. (1990) Structure-activity relationships of polymethoxyflavones and other flavonoids as inhibitors of non-enzymic lipid peroxidation, *Biochem Pharmacol*, 40: 793-797.
- Nadeem, M., Imran, M., Gondal, T.A., Imran, A., Shahbaz, M., Amir, R.M., Sajid, M.W., Qaisrani, T.B., Atif, M., Hussain, G., Salehi, B., Ostrander, E.A., Martorell, M., Sharifi-Rad, J., Cho, W.C. ve Martins, N. (2019) Therapeutic potential of rosmarinic acid: a comprehensive review, *Appl Sci*, 9: 3139.
- Naveed, M. A., Riaz, N., Saleem, M., Mussadiq, S., Jabeen, B., Ashraf, M., Shaukat, A., Ahmed, M. M. ve Jabbar, A. (2016) New enzyme inhibitory constituents from *Tribulus longipetalus*, *Rec Nat Prod*, 10:2: 128-136.
- Nazreen, S., Alam, M. M., Hamid, H., Ali, M. ve Alam, M. S. (2018) Chemical constituents with antimicrobial and antioxidant activity from the aerial parts of *Callistemon lanceolatus* (Sm.) Sweet, *Nat Prod Res*, DOI: 10.1080/14786419.2018.1557174.
- Nematollahi, F., Akhgar, M.R., Larijani, K., et al. (2005) Essential oils of *Chaerophyllum macropodium* Boiss. and *Chaerophyllum crinitum* Boiss. from Iran, *J Essent Oil Res*, Volume: 17, Issue: 1, Pages: 71-72.
- Nguyen, D. H., Seo, U. M., Zhao, B. T., Le, D. D., Seong, S. H., Choi, J. S., Min, B.S. ve Woo, M. H. (2017) Ellagitannin and flavonoid constituents from *Agrimonia pilosa* Ledeb. with their protein tyrosine phosphatase and acetylcholinesterase inhibitory activities, *Bioorg Chem*, 72: 293-300.
- Nyström, L., Schär, A. ve Lampi, A.-M. (2012) Steryl glycosides and acylated steryl glycosides in plant foods reflect unique sterol patterns, *Eur J Lipid Sci Technol*, 114: 656-669.
- Okechukwu, P. N. (2020) Evaluation of anti-inflammatory, analgesic, antipyretic effect of eicosane, pentadecane, octacosane, and heneicosane, *Asian J Pharm Clin Res*, 13: 29-35.

- Oualid, T. ve Artur, M. S. S. (2012) Advances in C-glycosylflavonoid research, *Curr Org Chem*, 16: 859-896.
- Ozgen, S., Kilinc, O. K. ve Selamoglu, Z. (2016) Antioxidant activity of quercetin: a mechanistic review, *Turkish J Agric Food Sci Technol*, 4(12): 1134-1138.
- Özgökçe, F. ve Özçelik, H. (2004) Ethnobotanical aspects of some taxa in East Anatolia (Turkey), *Economic Botany*, 58: 697–704.
- Özhatay, N., Koyuncu, M., Atay, S. ve Byfield, A. (1997) Türkiye'nin Doğal Tıbbi Bitkilerinin Ticareti Hakkında Bir Çalışma Wwfuk/Stanley Smith Horticultural Trust. *Doğal Hayatı Koruma Derneği, İstanbul*, Türkiye I.S.B.N. 975-96081-9- 7.
- Özhatay, N., Akalın, E., Özhatay, E. ve Ünlü, S. (2009) Rare and endemic taxa of Apiaceae in Turkey and their conservation significance, *J Pharm Istanbul*, 40: 1–9.
- Öztürk, M. (2008) *Micromeria cilicica* ve *M. juliana* türlerinde antioksidan bileşiklerin HPLC ile analizi ve yapılarının aydınlatılması, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi.
- Öztürk, M., Kolak, U., Topçu, G., Öksüz, S. ve Choudhary, M. I. (2011) Antioxidant and anticholinesterase active constituents from *Micromeria cilicica* by radical-scavenging activity-guided fractionation, *Food Chem*, 126: 31-38.
- Pedro, L.G., Silva, J. A., Barroso, J.G., Figueiredo, A. C., Deans, S. G., Looman, A. ve Scheffer, J. J. C. (1999) Composition of the essential oil of *Chaerophyllum azoricum* Trel., an endemic species of the Azores archipelago, *Flavour Fragr J*, 14: 287-289.
- Petrovic, G. M., Stamenkovic, J. G., Kostevski, I. R., Stojanovic, G. S., Mitic, V. D. ve Zlatkovic, B. K. (2017) Chemical Composition of Volatiles; Antimicrobial, Antioxidant and Cholinesterase Inhibitory Activity of *Chaerophyllum aromaticum* L. (Apiaceae) Essential Oils and Extracts, *Chem Biodivers*, 14: e1600367.
- Pervaiz, I., Ahmad, S., Arshad, A., Khurshid, U. ve Basit, A. (2019) GC-MS metabolic profiling and anti-urease activity of nonpolar fractions of *Calligonum*

Polygonoides L. (Polygonaceae) and *Crateva Adansonii* DC. Prodr. (Capparaceae), *Trop J Pharm Res*, 18 (9): 1955-1960.

Piironen, V., Lindsay, D.G., Miettinen, T.A., Toivo, J. ve Lampi, A.M. (2000) Plant sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition, *J Sci Food Agric*, 80: 939-966.

Plunkett, G. M. ve Lowry II, P. P. (2001) Relationships among "ancient Araliads" and their significance for the systematics of Apiales, *Mol Phylogenetics Evol*, 19: 259–276.

Polat R., Cakilcioglu U. ve Satıl, F. (2013) Traditional uses of medicinal plants in Solhan (Bingöl-Turkey), *J Ethnopharmacol*, 148: 951–963.

Pourshamsian, K., Montazeri, N. ve Barami, Z. (2012) Free Radical Scavenging Activity and Chemical Composition of Essential Oils from *Chaerophyllum sativum* Against Food-Related Microorganisms, *Asian J Chem*, Volume: 24 Issue: 7, Pages: 3019-3021.

Pratt, D.E. (1976) Role of flavones and related compounds in retarding lipidoxidativeflavour changes in foods. In: Phenolic, Sulfur., Compounds, Nitrogen., Charalambous, 1, Katz, Ira (Eds.), Phenolic, Sulfur, and Nitrogen Compounds in Food Flavors, vol. 26(1), *Am Chem Soc Press*, Washington, DC, pp. 1–13.

Quan, N.V., Tran, H.D., Xuan, T.D., Ahmad, A., Dat, T.D., Khanh, T.D. ve Teschke, R. (2019) Momilactones A and B Are α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitors, *Molecules*, 24: 482.

Rahbardar, M.G. ve Hosseinzadeh, H. (2020) Effects of rosmarinic acid on nervous system disorders: an updated review, *Naunyn-Schmiedeberg's Arc Pharmacol*, 393: 1779-1795.

Razavi S.M. ve Nejad-Ebrahimi, S. (2010) Essential Oil Composition of *Chaerophyllum macrospermum* (Spreng.) Fisch C.A. Mey Seeds, *J Essent Oil Bear Plants*, 13 (2): 205 – 210.

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Bio Med*, 26: 1231–1237.
- Redaelli, C., Formentin, L. ve Santaniell, E. (1980) Apigenin 7-glucoside and its 2"- and 6"-acetates from ligulate flowers of *Matricaria chamomilla*, *Phytochemistry*, 19: 985-986.
- Ren, D., Meng, F-C., Liu, H., Xiao, T., Lu, J-J., Lin, L-G., Chen, X-P. ve Zhang, Q-W. (2018) Novel biflavonoids from *Cephalotaxus oliveri* Mast., *Phytochem Lett*, 24: 150-153.
- Ren, W., Wang, Y., He, Q., Zhou, Y., Li, C., Wang, W., Leng, X., Zeng, T., Zou, Q. ve Li, L. (2020) Chemical composition of *Erycibe schmidtii* and antiproliferative activity of scopoletin on immature dendritic cells, *Nat Prod Res*, 34: 2581-2588.
- Renda, G., Sari, S., Barut, B., Šoral, M., Liptaj, T., Korkmaz, B., Özel, A., Erik, İ. ve Şöhretoğlu, D. (2018) α -Glucosidase inhibitory effects of polyphenols from *Geranium asphodeloides*: Inhibition kinetics and mechanistic insights through in vitro and in silico studies, *Bioorg Chem*, 81: 545-552.
- Riaz, N., Tabussum, A., Saleem, M., Parveen, S., Ashraf, M., Ejaz, S. A., Jabeen, B., Ahmad, I., Malik, A. ve Jabbar, A. (2014) Bioactive secondary metabolites from *Chrozophora plicata*, *J Chem Soc Pak*, 36(2): 296-304.
- Ribeiro, B., Andrade, P.B., Baptista, P., Barros, L., Ferreira, I.C.F.R., Seabra, R.M. ve Valentão P. (2008) *Leucopaxillus giganteus* mycelium, effect of nitrogen source on organic acids and alkaloids, *J Agric Food Chem*, 56: 4769-4774.
- Rollinger, J. M., Zidorn, C., Dobner, M. J., Ellmerer, E. P. ve Stuppner, H. (2003) Lignans, phenylpropanoids and polyacetylenes from *Chaerophyllum aureum* L. (Apiaceae), *Z Naturforsch C, J Biosci*, 58: 553–557.
- Rustaiyan, A., Neekpoor, N., Rabani, M., Komeilizadeh, H., Masoudi, S. ve Monfared, A. (2002) Composition of the Essential Oil of *Chaerophyllum macrospermum* (Spreng.) Fisch. and C.A. Mey. From Iran, *J Essent Oil Res*, 14: 216-217.

- Sabudak, T., Demirkiran, O., Ozturk, M. ve Topcu, G. (2013) Phenolic compounds from *Trifolium echinatum* Bieb. and investigation of their tyrosinase inhibitory and antioxidant activities, *Phytochemistry*, 96: 305-311.
- Sadasivam, M., Kumarasamy, C., Thangaraj, A., Govindan, M., Kasirajan, G., Vijayan, V., Devadasan, V., Chia-Her, L., Madhusudhanan, G.R., Ramaraj, T. ve Subramaniam, M. P. (2018) Phytochemical constituents from dietary plant *Citrus hystrix*, *Nat Prod Res*, 32(14): 1721-1726.
- Sajewicz, M., Staszek, D., Natic', M., Wojtal, L., Waksmundzka-Hajnos, M. ve Kowalska, T. (2011) TLC-MS Versus TLC-LC-MS Fingerprints of Herbal Extracts. Part II. Phenolic Acids and Flavonoids, *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 34: 864–887.
- Sefidkon, F. ve Abdoli, M. (2005) Essential oil composition of *Chaerophyllum macrospermum* from Iran, *J Essent Oil Res*, Volume: 17, Issue: 3, Pages: 249-250.
- Semwal, D.K., Semwal, R.B., Combrinck, S. ve Viljoen, A. (2016) Myricetin: a dietary molecule with diverse biological activities, *Nutrients*, 8: 90.
- Shabana, S., Kawai, A., Kai, K., Akiyama, K. ve Hayashi, H. (2010) Inhibitory activity against urease of quercetin glycosides isolated from *Allium cepa* and *Psidium guajava*, *Biosci Biotechnol Biochem*, 74(4): 878-880.
- Shafaghat, A. (2009) Chemical Composition of the Essential Oil from the Roots of *Chaerophyllum macropodum* Boiss. from Iran, *J Essent Oil Bear Plants*, 12(5): 615 – 619.
- Shafaghat, A. (2010) Volatile Constituents of the Leaf Oil of *Chaerophyllum macropodum* Boiss. From Iran, *J Essent Oil Res*, 22: 531-533.
- Shafaghat, A. (2011) Fatty Acid Composition and Antimicrobial Activity of the Hexane Extract from Root and Seed of *Chaerophyllum crinitum* Boiss., *Anal Chem Lett*, 1(3): 240 – 245.
- Shafaghat, A., Salimi, F. ve Mahmoodi, R. (2012) Antioxidant, antimicrobial activity and chemical analysis of the flavonoid from *Chaerophyllum macropodum* (Boiss.), *J Med Plants Res*, 6(11): 2111-2116.

- Shafaghat, A. (2013) Biological activity and chemical compounds of the hexane extracts from *Chaerophyllum macropodum* in two different habitats, *J Med Plant Res*, 7(20): 1406-1410.
- Shafaghat, A. (2017) Comparison of the Antimicrobial Activity and Chemical Constituents of the Essential Oil and Hexanic Extract from *Chaerophyllum macropodum*, *J Essent Oil Bear Plants*, DOI: 10.1080/0972060X.2017.1354725.
- Shakya, A., Singh, G.K., Chatterjee, S.S. ve Kumar, V. (2014) Role of fumaric acid in anti-inflammatory and analgesic activities of a *Fumaria indica* extracts, *J Intercult Ethnopharmacol*, 3(4): 173-178.
- Shi, G., Xu, M., Duan, W., Fang, L., Liu, W., Wang, X. ve Zhang, Y. (2016) Chemical Constituents from *Trichosanthis pericarpium*, *Asian J Chem*, 26: 4626-4630.
- Shokoohinia, Y., Rashidi, M., Hosseinzadeh, L. ve Jelodarian, Z. (2015) Quercetin-3-O-b-D-glucopyranoside, a dietary flavonoid, protects PC12 cells from H₂O₂-induced cytotoxicity through inhibition of reactive oxygen species, *Food Chem*, 167: 162-167.
- Šibul, F. S., Orčić, D. Z., Svirčev, E. ve Mimica-Dukić, N. M. (2016) Optimization of extraction conditions for secondary biomolecules from various plant species, *Hem Ind*, 70(4): 473–483.
- Sichaem, J., Ruksilp, T., Sawasdee, P., Khumkratok, S. ve Tip-pyang, S. (2018) Chemical constituents of the stems of *Spatholobus parviflorus* and their cholinesterase inhibitory activity, *Chem Nat Compd*, 54(2): 356-357.
- Sobeh, M., El-Raey, M., Rezq, Samar; A., Mohamed A.O., Petruk, G., Osman, S., El-Shazly, A.M., El-Beshbishy, H.A., Mahmoud, M.F. ve Wink, M. (2019) Chemical profiling of secondary metabolites of *Eugenia uniflora* and their antioxidant, anti-inflammatory, pain killing and anti-diabetic activities: A comprehensive approach, *J Ethnopharmacol*, 240: 111939.
- Stamenković, J. G., Petrović, G. M., Stojanović, G. S., Đorđević, A.S. ve Zlatković, B. K. (2016) *Chaerophyllum aureum* L. Volatiles: Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity, *Rec Nat Prod*, 10:2: 245-250.

- Stamenkovic, J. G., Stojanovic, G. S., Radojkovic, I. R., et al. (2015) Chemical Composition of the Essential Oil from *Chaerophyllum temulum* (Apiaceae), *Nat Prod Commun*, Volume: 10, Issue: 8, Pages: 1439-1441.
- Stephanou, E. ve Kokkalou, E. (1990) Phytochemical study of *Chaerophyllum bulbosum* L., growing wild in Greece and *Calamintha nepeta* L. endemic to Greece, *Develop Food Sci*, 24: 839-845.
- Stevens, P.F. (2001) Angiosperm phylogeny website, Version 12, July 2012.
- Stochmal, A., Piacente, S., Pizza, C., De Riccardis, F., Leitz, R. ve Oleszek, W. (2001) Alfalfa (*Medicago sativa* L.) flavonoids. 1. apigenin and luteolin glycosides from aerial parts, *J Agric Food Chem*, 49: 753-758.
- Suttiarporn, P., Chumpolsri, W., Mahatheeranont, S., Luangkamin, S., Teepsawang, S. ve Leardkamolkarn, V. (2015) Structures of phytosterols and triterpenoids with potential anti-cancer activity in bran of black non-glutinous rice, *Nutrients*, 7: 1672-1687.
- Tabata, R. C., Wilson, J. M. B., Ly, P., Zwiegers, P., Kwok, D., Van Kampen, J.M. ve Shaw, C. A. (2008) Chronic exposure to dietary sterol glucosides is neurotoxic to motor neurons and induces an ALS-PDC phenotype, *Neuromol Med*, 10: 24-39.
- Toshmatov, Z. O., Eshbakova, K.A. ve Aisa, H.A. (2018) Glycoside flavonoids from *Dracocephalum komarovii*, *Chem Nat Compd*, 54(2): 358-359.
- Tel, G., Apaydin, M., Duru, M. E. ve Öztürk, M. (2012) Antioxidant and cholinesterase inhibition activities of three *Tricholoma* species with total phenolic and flavonoid contents: The edible mushrooms from Anatolia, *Food Anal Method*, 5: 495-504.
- Tel-Çayan, G., Öztürk, M., Duru, M. E., Rehman, M., Adhikari, A., Türkoglu, A. ve Choudhary, M.I. (2015) Phytochemical investigation, antioxidant and anticholinesterase activities of *Ganoderma adspersum*, *Ind Crops Prod*, 76: 749-754.
- Teng, H., Lu, Y., Li, J., Yang, Z. G. ve Mei, Z. N. (2011) Two new steroidal glycosides from the root of *Cynanchum auriculatum*, *Chin Chem Lett*, 22: 77-80.

- Teng, Y., Stewart, S.G., Hai, Y. W., Li, X., Banwell, M. G. ve Lan, P. (2020) Sucrose fatty acid esters: synthesis, emulsifying capacities, biological activities and structureproperty profiles, *Crit Rev Food Sci Nutr*, In press.
- Tesemma, M., Adane, L., Tariku, Y., Muleta, D. ve Demise, S. (2013) Isolation of compounds from acetone extract of root wood of *Moringa stenopetala* and evaluation of their antibacterial activities, *Res J Med Plant*, 7: 32-47.
- Tunçtürk, M. ve Özgökçe, F. (2015) Chemical composition of some Apiaceae plants commonly used in herby cheese in Eastern Anatolia, *Turk J Agric For*, 39: 55-62.
- Ugulu, I., Aydin, H., Yorek, N. ve Dogan, Y. (2008) The impact of endemism concept on environmental attitudes of secondary school students, *Natura Montenegrina*, 7: 165–173.
- Vanitha, V., Vijayakumar, S., Nilavukkarasi, M., Punitha, V.N., Vidhya, E. ve Praseetha, P.K. (2020) Heneicosane-A novel microbicidal bioactive alkane identified from *Plumbago zeylanica* L., *Ind Crops Prod*, 154: 112748.
- Veitch, N.C. ve Grayer, R.J. (2011) Flavonoids and their glycosides, including anthocyanins, *Nat Prod Rep*, 28: 1626-1695.
- Vinutha, B., Prashanth, D., Salmab, K., Sreeja, S.L., Pratiti, D., Padmaja, R. Radhika, S., Amit, A., Venkateshwarlu, K. ve Deepak, M. (2007) Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity, *J Ethnopharmacol*, 109: 359-363.
- Voutquenne, L., Lavauda, C., Massiot, G., Sevenet, T. ve Hadic, H.A. (1999) Cytotoxic polyisoprenes and glycosides of long-chain fatty alcohols from *Dimocarpus fumatus*, *Phytochemistry*, 50(1): 63-69.
- Washa M., Maleci L. ve Bini C. (2019) The impact of former mining activity on soils and plant in the vicinity of an old mercury mine, *Geochem Explor Env A*, Vol:19, pp 171-175.
- Weatherburn, M.W. (1967) Phenol–hypochlorite reaction for determination of ammonia, *Anal Chem*, 39: 971–974.

Xiao, J. (2017) Dietary flavonoid aglycones and their glycosides: Which show better biological significance?, *Crit Rev Food Sci Nutr*, 57(9): 1874-1905.

Yang, B., Liu, H., Yang, J., Gupta, V.K. ve Jiang, Y. (2018) New insights on bioactivities and biosynthesis of flavonoid glycosides, *Trends Food Sci Technol*, 79: 116-124.



Ek A: *Chaerophyllum bulbosum* bitkisinin toprak üstü kısmının resmi



Chaerophyllum bulbosum

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Ad Soyad : Z****p M**O
Uyruk : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi: G**** / 0*.1*.19**
Medeni Hali : B****
Telefon : 05**86**9*2
E-posta : z**p**2*@o*****k.com

Eğitim

Alınan Derece	Aldığı Kurum/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lise	Sarkuysan Anadolu Lisesi	2012
Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2018
Yüksek Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2021

İş Tecrübesi

Yıl	Yer	Pozisyon/görev
2015	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	Kısmi Zamanlı Çalışan Öğrenci
2016	Green Chemicals	Stajer

Bilimsel Faaliyetler

1. Yayınlar

A. Bilimsel Toplantılar (Konferans, Panel, Sempozyum, Kongre, Seminer)

✓ Uluslararası Kongre ve Sempozyumlarda

E1. Pınar Terzioğlu, Zeynep Molo, Mehmet Emin Duru (2018). ‘‘Sono-assisted Preparation and Characterization of Biochar /MgAl-Layered Double Hydroxide Composite’’, 1st International Symposium on Light Alloys and Composite Materials (ISLAC’18), 22-24 March 2018 Karabük/Turkey. Poster Number: P-144

E2. Gülsen Tel-Çayan, Ebru Deveci, Zeynep Molo, Mehmet Emin Duru, Mehmet Öztürk (2019). ‘‘Enzyme Inhibition Activities of the Various Extracts of the Root and Aerial Parts of *Chaerophyllum bulbosum*’’, 2nd Eurasia Biochemical Approaches & Technologies (EBAT) Congress, 26-29 October 2019 Antalya/Turkey.

E3. Zeynep Molo, Ebru Deveci, Gülsen Tel-Çayan, Mehmet Emin Duru (2020). ‘‘Antioxidant activities of the extracts of the root and aerial parts of *Chaerophyllum bulbosum*’’, 3rd International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2020), 19-20 March 2020, Ankara, Turkey.

E4. Zeynep Molo, Gülsen Tel-Çayan, Ebru Deveci, Mehmet Emin Duru (2020). ‘‘Cholinesterase inhibitory activities on key enzymes associated with Alzheimer's disease of extracts of *Chaerophyllum bulbosum*’’, 3rd International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2020), 19-20 March 2020, Ankara, Turkey.

E5. Zeynep Molo, Gülsen Tel-Çayan, Ebru Deveci, Mehmet Emin Duru (2020). ‘‘Bioassay-guided isolation and identification of compounds from *Chaerophyllum bulbosum* and their antioxidant activities’’, 2nd International Eurasian Conference on Science, Engineering and Technology (EurasianSciEnTech 2020), 07-09 October 2020, Gaziantep, Turkey.

E6. Zeynep Molo, Gülsen Tel-Çayan, Ebru Deveci, Mehmet Öztürk, Mehmet Emin Duru (2020). ‘‘Anticholinesterase, anti-tyrosinase, anti-urease, and anti-diabetic activities of flavonoid glucopyranosides isolated from *Chaerophyllum bulbosum*’’, 2nd International Eurasian Conference on Science, Engineering and Technology (EurasianSciEnTech 2020), 07-09 October 2020, Gaziantep, Turkey.

2. Proje Faaliyetleri

Görev	Proje Adı	Bütçe	Kuruluş
Bursiyer (Tez Projesi)	TÜBİTAK-118Z610 <i>Chaerophyllum bulbosum</i> 'un Biyoaktif Bileşiklerinin İzolasyonu ve Yapılarının Aydınlatılması	74.000,00	TÜBİTAK Proje Destek Programları (118Z610) 01.11.2018- 01.11.2020
Bursiyer	TÜBİTAK-118Z417 <i>Liquidambar orientalis</i> var. <i>orientalis</i> , <i>L. orientalis</i> var. <i>integriloba</i> Reçine, Meyve ve Yapraklarının Biyoaktif Bileşiklerinin İzolasyonu ve Yapılarının Aydınlatılması	359.445,00	TÜBİTAK Proje Destek Programları (118Z417) (Devam ediyor) 01.11.2018- 01.11.2021
Araştırmacı	TAGEM Türkiye’de Üretilen ve Ticari Potansiyeli Olan Çeşitli Bal Türlerinin β -Fruktofuranosidaz Aktivitelerinin, α -Amilaz ve Oligosakkarit Miktarlarının Araştırılması, Metotların Validasyonu ve Standardizasyonları	350.000,00	TAGEM-ARGE 18/64 (Devam ediyor) 01.02.2019- 31.01.2021

Hobiler

Kitap okumak, Sinema ve Tiyatroya gitmek, Gelişen Teknoloji, Doğa ve Tarihi yer gezileri