



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FINDIK KABUĞUNDA PAKLİTAKSEL İÇİN EKSTRAKSİYON
ŞARTLARININ BELİRLENMESİ**

AYŞE UZUN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
PROF. DR. HALİL İBRAHİM UĞRAŞ**

DÜZCE, 2017

T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FINDIK KABUĞUNDA PAKLİTAKSEL İÇİN EKSTRAKSİYON
ŞARTLARININ BELİRLENMESİ

AYŞE UZUN tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Düzce Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü KİMYA Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Halil İbrahim UĞRAŞ

Düzce Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Halil İbrahim UĞRAŞ

Düzce Üniversitesi

Prof. Dr. Ümit ÇAKIR

Balıkesir Üniversitesi

Yrd.Doç.Dr. Ersin ORHAN

Düzce Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 03/02/2017

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

03 Şubat 2017

Ayşe Uzun



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve bu tezin hazırlanması sırasında beni her zaman yönlendiren, her an desteğini gördüğüm çok değerli hocam Prof. Dr. Halil İbrahim UĞRAŞ'a en içten dileklerle teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca değerli katkılarını esirgemeyen değerli hocalarım Yrd. Doç. Dr. Serpil UĞRAŞ, Yrd. Doç. Dr. Abdulkadir ALLI'ya şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmam boyunca değerli katkılarını, yardım ve desteklerini esirgemeyen çok değerli arkadaşlarım Buşra UZUNYAYLA, Ebrar DURMUŞ, Aslı YÜKSEL, Buşra BEŞİR, Nefne TAYMAZ, Gözde KÖPRÜLÜ, Bilal UZUN ve Kemal BARLAK' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım, Sevim KILIÇARSLAN, Merve CAN, Bora KARAGÜL, Sultan ÜLGER, Pınar AYDIN, Esra KÜTÜK, Sinem ERGEN, Melike YAZICI, Mert DÖNMEZ, Güven YAZICI' ya özellikle Elif Sine AKSOY ve Şebnem ÜZMEZ' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda olan, desteğini hissettiğim Enes BAHAROĞLU' na çok teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca desteklerini her zaman gördüğüm, beni yetiştiren anneme, babama, çok sevdiğim ağabeyim ve kardeşime de sonsuz teşekkür ederim.

Tezimin gerçekleşmesinde TBAG-114Z233 numaralı proje ile maddi destek sağlayan TÜBİTAK' a teşekkürlerimi sunarım.

03 Şubat 2017

Ayşe Uzun

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ŞEKİL LİSTESİ.....	VIII
ÇİZELGE LİSTESİ.....	IX
KISALTMALAR.....	X
ÖZET.....	XI
ABSTRACT.....	XII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. KANSER.....	1
1.2. KANSER TEDAVİSİ.....	2
1.2.1. Antineoplastikler.....	2
1.2.2. Kemoterapötik Ajanlar ve Etki Mekanizmaları.....	3
<i>1.2.2.1. Alkilleyici Ajanlar.....</i>	<i>3</i>
<i>1.2.2.2. Antimetabolitler.....</i>	<i>4</i>
<i>1.2.2.3. Antitümör Antibiyotikler.....</i>	<i>4</i>
<i>1.2.2.4. Mitotik inhibitörler.....</i>	<i>4</i>
<i>1.2.2.5. Hormonlar ve Antagonistleri.....</i>	<i>4</i>
<i>1.2.2.6. Diğerleri.....</i>	<i>4</i>
1.3. TAKSANLAR.....	7
1.3.1. Paklitaksel.....	8
<i>1.3.1.1. Paklitakselin Tarihsel Gelişimi.....</i>	<i>8</i>
<i>1.3.1.2. Fizikokimyasal Özellikleri.....</i>	<i>9</i>
<i>1.3.1.3. Etki Mekanizması.....</i>	<i>10</i>
1.4. FINDIK (CORYLUS AVELLANA) SERT KABUĞUNDA TAKSAN VARLIĞI.....	11
1.5. EKSTRAKSİYON.....	13
1.5.1. Çözücülerle Ekstraksiyon.....	13
<i>1.5.1.1. Sıvı- Sıvı Ekstraksiyon (LLE).....</i>	<i>13</i>
1.5.2. Sokslet Ekstraksiyonu.....	14
1.5.3. Ultrasonik Ekstraksiyon.....	14
1.5.4. Mikrodalga Ekstraksiyonu.....	15

1.5.5. Hızlandırılmış Çözücü Ekstraksiyonu	15
1.5.6. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SFE)	15
1.6. PAKLİTAKSEL EKSTRAKSİYONU İLE İLGİLİ YAPILMIŞ ÇALIŞMALAR	16
2. MATERYAL VE YÖNTEM	21
2.1. PAKLİTAKSEL KESİN MİKTAR TAYİNİ ÇALIŞMALARI.....	21
2.1.1. Ekstraksiyon Çalışması İçin Numune Hazırlama	21
2.1.2. Ekstraksiyon İşlemleri.....	22
2.1.2.1. Aktif Karbon Etkisi.....	23
2.1.2.2. Asit Etkisi	23
2.1.3. HPLC Analizi	23
2.1.3.1. İç Standart Metodu	23
2.1.3.2. Saf Eluant Piki	24
2.1.3.3. Kütle Tayini.....	24
3. BULGULAR	25
3.1. HPLC YÖNTEM ÇALIŞMASI SONUÇLARI.....	25
3.1.1. İç Standart Metodu.....	25
3.1.2. Saf Eluant Piki	26
3.1.3. Kütle Tayini.....	27
3.2. EKSTRAKSİYON ÇALIŞMASI SONUÇLARI.....	27
3.2.1. Sekiz (8) Saatlik Çalışma Sonuçları	28
3.2.1.1. Sekiz (8) Saatlik Paklitaksel Sonuçları	28
3.2.1.2. Sekiz (8) Saatlik Sefalomannin Sonuçları.....	30
3.2.1.3. Sekiz (8) Saatlik Bakkatin III Sonuçları.....	31
3.2.1.4. Sekiz (8) Saatlik 10-Deasetil Bakkatin III Sonuçları	33
3.2.2. Onaltı (16) Saatlik Çalışma Sonuçları	35
3.2.2.1. Onaltı (16) Saatlik Paklitaksel Sonuçları	35
3.2.2.2. Onaltı (16) Saatlik Sefalomannin Sonuçları.....	37
3.2.2.3. Onaltı (16) Saatlik Bakkatin III Sonuçları.....	38
3.2.2.4. Onaltı (16) Saatlik 10-Deasetil Bakkatin III Sonuçları	40
3.2.3. Yirmi Dört (24) Saatlik Çalışma Sonuçları	42
3.2.3.1. Yirmi Dört (24) Saatlik Paklitaksel Sonuçları.....	42
3.2.3.2. Yirmi Dört (24) Saatlik Sefalomannin Sonuçları.....	42

3.2.3.3. Yirmi Dört (24) Saatlik Bakkatin III Sonuçları	43
3.2.3.4. Yirmi Dört (24) Saatlik 10-Deasetil Bakkatin III Sonuçları.....	43
3.2.4. Kırk Sekiz (48) Saatlik Çalışma Sonuçları.....	43
3.2.4.1. Kırk Sekiz (48) Saatlik Paklitaksel Sonuçları.....	43
3.2.4.2. Kırk Sekiz (48) Saatlik Sefalomannin Sonuçları.....	44
3.2.4.3. Kırk Sekiz (48) Saatlik Bakkatin III Sonuçları.....	44
3.2.4.4. Kırk Sekiz (48) Saatlik 10-Deasetil Bakkatin III Sonuçları.....	44
3.2.5. Yetmiş İki (72) Saatlik Çalışma Sonuçları	45
3.2.5.1. Yetmiş İki (72) Saatlik Paklitaksel Sonuçları	45
3.2.5.2. Yetmiş İki (72) Saatlik Sefalomannin Sonuçları	45
3.2.5.3. Yetmiş İki (72) Saatlik Bakkatin III Sonuçları.....	45
3.2.5.4. Yetmiş İki (72) Saatlik 10-Deasetil Bakkatin III Sonuçları	46
3.2.5 Aktif Karbon Etkisi Sonuçları.....	46
3.2.6 Asit Etkisi Sonuçları	46
3.3. ÖRNEKLEM SONUÇLARI NETİCESİNDE KESİN MİKTAR ÇALIŞMA SONUÇLARI.....	47
3.3.1. Sert Kabukta Paklitaksel/ Sefalomannin/ Bakkatin III/ 10-Deasetil Bakkatin III Sonuçları	47
4. TARTIŞMA SONUÇ	48
5. KAYNAKLAR.....	56
ÖZGEÇMİŞ.....	64

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. Vinblastin, R=CHO (1), Vinkristin, R=CHO (2).	5
Şekil 1.2. Tenipozit (3).	6
Şekil 1.3. Podofiloksin (4).	6
Şekil 1.4. Kamptotesin, R ₁ =R ₂ =R ₃ =H (5), Topotekan, R ₁ =OH, R ₃ =H	6
Şekil 1.5. Kolşisin (7).	7
Şekil 1.6. Taksan çekirdeği (8)	7
Şekil 1.7. Paklitaksel (9)' in molekül yapısı.	9
Şekil 3.1. Dört standartın (paklitaksel, sefalomannin, bakkatin III ve 10-deasetil bakkatin III) HPLC kromatogramı.	25
Şekil 3.2. Numune ile birlikte dört standartın (paklitaksel, sefalomannin, bakkatin III ve 10-deasetil bakkatin III) HPLC kromatogramı.	26
Şekil 3.3. Numune + dört standart ve numuneye iç standart eklenmiş (paklitaksel, sefalomannin, bakkatin III ve 10-deasetil bakkatin III) HPLC kromatogramında sadece paklitaksel kısmının gösterimi (Siyah: std, Mavi: numune, Kırmızı: numuneye iç std eklenmiş hali).	26
Şekil 3.4. Saf elantımız ve paklitaksel standartının HPLC kromatogramı (Siyah: saf paklitaksel, kırmızı: saf eluant).	27
Şekil 3.5. Saf eluantın MRM sonucu.	27

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa No

Çizelge 1.1.	Dünyada en sık görülen ölümcül hastalıkların % ölüm sıralaması	1
Çizelge 1.2.	Kanser ilaçlarının sınıflandırılması	5
Çizelge 1.3.	Paklitakselin tarihsel gelişimi	9
Çizelge 1.4.	Paklitakselin organik çözücülerdeki çözünürlük değerleri	10
Çizelge 1.5.	Farklı ekstraksiyon metotları ile elde edilen taksanlar	18
Çizelge 1.6.	Klasik çözücü ekstraksiyonu kullanılarak elde edilen taksanlar	19
Çizelge 2.1.	Numunelerin bölgeleri.	21
Çizelge 2.2.	Çözücü sistemi.....	22
Çizelge 3.1.	Sekiz (8) saatlik paklitaksel sonuçları.	28
Çizelge 3.1.	(devam) Sekiz (8) saatlik paklitaksel sonuçları.	29
Çizelge 3.2.	Sekiz (8) saatlik sefalomannin sonuçları.	30
Çizelge 3.2.	(devam) Sekiz (8) saatlik sefalomannin sonuçları.....	31
Çizelge 3.3.	Sekiz (8) saatlik bakkatin III sonuçları.....	31
Çizelge 3.3.	(devam) Sekiz (8) saatlik bakkatin III sonuçları.	32
Çizelge 3.3.	(devam) Sekiz (8) saatlik bakkatin III sonuçları..	33
Çizelge 3.4.	Sekiz (8) saatlik 10-deasetil bakkatin III sonuçları.	33
Çizelge 3.4.	(devam) Sekiz (8) saatlik 10-deasetil bakkatin III sonuçları	334
Çizelge 3.4.	(devam) Sekiz (8) saatlik 10-deasetil bakkatin III sonuçları..	35
Çizelge 3.5.	Onaltı (16) saatlik paklitaksel sonuçları.	35
Çizelge 3.5.	(devam) Onaltı (16) saatlik paklitaksel sonuçları.....	336
Çizelge 3.6.	Onaltı (16) saatlik sefalomannin sonuçları.	37
Çizelge 3.6.	(devam) Onaltı (16) sefalomannin sonuçları.....	338
Çizelge 3.7.	Onaltı (16) saatlik bakkatin III sonuçları.....	38
Çizelge 3.7.	(devam) Onaltı (16) bakkatin III sonuçları.....	339
Çizelge 3.7.	(devam) Onaltı (16) bakkatin III sonuçları.....	40
Çizelge 3.8.	Onaltı (16) saatlik 10-deasetil bakkatin III sonuçları.	40
Çizelge 3.8.	(devam) Onaltı (16) saatlik 10-deasetil bakkatin III sonuçları	31
Çizelge 3.8.	(devam) Onaltı (16) saatlik 10-deasetil bakkatin III sonuçları.....	42
Çizelge 3.9.	Yirmi dört (24) saatlik paklitaksel sonuçları.	42
Çizelge 3.10.	Yirmi dört (24) saatlik sefalomannin sonuçları.....	42
Çizelge 3.11.	Yirmi dört (24) saatlik bakkatin III sonuçları.....	43
Çizelge 3.12.	Yirmi dört (24) saatlik 10-deasetil bakkatin III sonuçları.	43
Çizelge 3.13.	Kırk sekiz (48) saatlik paklitaksel sonuçları.....	43
Çizelge 3.14.	Kırk sekiz (48) saatlik sefalomannin sonuçları.	44
Çizelge 3.15.	Kırk sekiz (48) saatlik bakkatin III sonuçları.	44
Çizelge 3.16.	Kırk sekiz (48) saatlik 10-deasetil bakkatin III sonuçları.....	44
Çizelge 3.17.	Yetmiş iki (72) saatlik paklitaksel sonuçları.	45
Çizelge 3.18.	Yetmiş iki (72) saatlik sefalomannin sonuçları.	45
Çizelge 3.19.	Yetmiş iki (72) saatlik bakkatin III sonuçları.....	45
Çizelge 3.20.	Yetmiş iki (72) saatlik 10-deasetil bakkatin III sonuçları.	46
Çizelge 3.21.	Yetmiş iki (72) saatlik paklitaksel sonuçları (aktif karbon).	46
Çizelge 3.22.	Yetmiş iki (72) saatlik paklitaksel sonuçları (asit etkisi).	46
Çizelge 3.23.	Sert kabukta paklitaksel/sefalomannin/bakkatin III/10-deasetil bakkatin III sonuçları.	47

KISALTMALAR

A	Aseton
ACN	Asetonitril
Atm	Atmosfer Basınç
BSE	Basıncılı Sıvı Ekstraksiyonu
C18-SPE	Ters Faz-Katı Faz Ekstraksiyonu
DCM	Diklorometan
E	Etanol
FDA	Amerikan İlaç ve Gıda Kurumu (Food and Drug Administration)
GHz	Gigahertz
G	Gram
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
K	Kelvin
Kg	Kilogram
KHz	Kilohertz
Kv	Kilovolt
LC-MS	Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
LLE	Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu (Liquid-Liquid Extraction)
M	Metanol
M	Metre
MDE	Mikrodalga Ekstraksiyon
Mesh	Meç (ölçü birimi)
Mg	Miligram
ml	Mililitre
MRM	Çoklu Reaksiyon İzleme (Multiple Reaction Monitoring)
Mrna	Mesajcı RNA (Messenger RNA)
MPa	Megapaskal
NCI	Ulusal Kanser Enstitüsü (National Cancer Institute)
Nm	Nanometre
ODS3	Oktadesilsilan
ORT STD SP	Ortalama Standart Sapma
RP	Ters Faz (Reverse Phase)
Rpm	Devir/Dakika (revolution per minute)
SE	Sokslet Ekstraksiyonu (Soxhlet Extraction)
STD	Standart
SFE	Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (Supercritical Fluid Extraction)
USE	Ultrasonik Ekstraksiyon
UV	Görünür Bölge (Ultra Viyole)

ÖZET

FINDIK KABUĞUNDAN PAKLİTAKSEL İÇİN EKSTRAKSİYON ŞARTLARININ BELİRLENMESİ

Ayşe UZUN

Düzce Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Halil İbrahim UĞRAŞ

2017, 63 sayfa

Kanser çağımızın en önemli sağlık sorunlarının başında yer almaktadır. Kansere karşı kullanılan kemoterapi ilaçlarından, antitümör aktivitesi çok yüksek olan paklitaksel gelmektedir. Paklitaksel, doğal ve çok önemli bir antikanser ilacı olup günümüzde yumurtalık, meme, mide, baş boyun ve küçük hücreli akciğer kanserlerinin tedavisinde direkt yada birtakım kemoterapötik bileşiklerle birlikte kullanılmaktadır. Bu madde dünyada en fazla kullanılan beş kemoterapi ilacından biridir. Kanser tedavisinde kullanılan paklitaksel bir diterpen alkaloidi olup pasifik porsuğu bitkisinden üretilmektedir. Paklitaksel maddesi *Taxus brevifolia*'nın ağaç kabuklarının özütlerinde yer almakla birlikte paklitakselin elde edilmesi, ağacın nadir bulunması, ağaç gelişiminin çok uzun zaman alması ve çok fazla kabuğa ihtiyaç duyulmasından dolayı önemli bir sorun ortaya çıkarmaktadır. Porsuk ağacından elde edilen paklitaksel, yapılan çalışmalar sonucunda fındık kabuğunda da bulunmaktadır. Ülkemizde her yıl yaklaşık olarak 300 bin ton civarında açığa çıkan ve atık olarak değerlendirilen fındık sert kabuğunu kullanarak porsuk ağacına göre az olsa da yeteri kadar yüksek miktarda paklitaksel eldesi hedeflenmektedir. Maliyet olarak da çok düşük olması ve diğer durumlar da göz önüne alındığında fındık sert kabuğu paklitaksel eldesi için önemini artırmaktadır. Çalışmalarda, fındık kabuğunun kurutulup öğütülmesinden sonra farklı çözücü , farklı oran ve farklı süreler denenerek ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemleri sonucunda taksanların elde edilmesinde en iyi verim oda sıcaklığında 24 saat % 100 etanolün çözücü olarak kullanıldığı deneyler sonucunda elde edilmiştir.

Anahtar sözcükler: Ekstraksiyon, Fındık kabuğu, Kanser, Paklitaksel.

ABSTRACT

DETERMINE OF EXTRACTION CONDITIONS FOR PACLITAXEL IN HAZELNUT SHELL

Ayşe UZUN

Duzce University

Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Chemistry

Master of Science Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Halil İbrahim UĞRAŞ

2017, 63 pages

Cancer is one of the most important health problems of our time. Paclitaxel, which has a very high antitumor activity, is also the most important chemotherapy drug used against cancer. Paclitaxel is a natural and very important anticancer drug and is currently being used directly in combination with several chemotherapeutic compounds in the treatment of ovarium, breast, stomach, head, neck and small cell lung cancers. This substance is one of the five most commonly used chemotherapy drugs in the world. Paclitaxel, used in the treatment of cancer, is a diterpene alcoholoid and is produced from the pacific birch plant. The paclitaxel substance is found in the extracts of the tree bark of *Taxus brevifolia*. The paclitaxel obtained from the yew tree is also found in the hazelnut shell as a result of research. extraction of paclitaxel is aimed using hazelnut husk, which is released as approximately 300 thousand tons every year in our country and utilized as waste, although it is less compared to that of the yew tree; high enough, nonetheless. Taking into consideration the fact that it is very low in cost and other situations, hazelnut hard shell increases the importance of paclitaxel. In the studies, after drying and grinding of hazelnut shell, extractions were done by testing different solvents, different ratios and different durations. As a result of extractions, the best yields were obtained from experiments in which 100 % ethanol was used as solvent for 24 hours at room temperature.

Keywords: Extraction, Hazelnut hard shell, Cancer, Paclitaxel.

1. GİRİŞ

1.1. KANSER

Kanser; ortaya çıkışı, gelişimi ve sonucu bir hastadan diğer hastaya oldukça değişkenlik gösteren karmaşık bir hastalıktır. Kanser hastalığı, hücrelerin köklü metabolik ve davranışsal değişiklikler geçirdiği çok aşamalı bir süreçtir. Kanser hücreleri aşırı ve zamansız bir şekilde çoğalırlar ve sonuçta uzaktaki dokuları bile istila ederler [1]. Birçok kanser sadece bir hücreden ya da az sayıda hücreden ortaya çıkmaktadır [2]. Kanser, hücrenin büyümesi ve hücre mitozunu kontrol eden hücre genlerinin mutasyonu veya anormal aktivasyonu sonucunda ortaya çıkmaktadır [3].

Kanser, hücrelerin kontrolsüz çoğalması sonucu sürekli ifade edilmesi olarak tanımlanabilir. Başlangıç yaşlarına, büyüme oranlarına, yayılımlarına, evrelerine ve tedaviye yönelik verdikleri tepkilere göre çeşitlilik gösterir. Kontrolsüz çoğalma olarak bilinen kanserin bazı türleri ölüme sebebiyet vermesiyle tedavisi için en çok araştırma yapılan ve çeşitli yöntemler denenmiş ve halen gelişmiş ülkelerin ölüm istatistiklerinde kalp-damar hastalıklarından sonra ikinci sırada yer alan öldürücü bir hastalıktır [4], [5].

Çizelge 1.1. Dünyada en sık görülen ölümcül hastalıkların % ölüm sıralaması [4].

Ölüm Nedeni	%
Koroner Kalp Hastalıkları	25.9
Kanser	20.6
Serebravasküler Hastalıklar	13.7
Pnömoni	8.0
Kronik bronşit	4.1
Kazalar	3.8

Erkeklerde görülen en yaygın 3 kanser türü sırasıyla; prostat kanseri, akciğer kanseri ve kolorektal kanserler iken kadınlarda sırası ile meme kanseri, akciğer kanseri ve kolorektal kanserlerdir [6]. Bugün dünyada yaklaşık 25.000.000 kanser hastası vardır.

Her yıl yaklaşık 11.000.000 kişi kansere yakalanmaktadır. 2020 yılında bu rakamın yıllık 16 milyon vakaya ulaşacağı tahmin edilmektedir. Bunların da üçte ikisinin gelişmekte olan ülkelerde olması beklenmektedir. Dünyada her yıl 7.000.000 kişi kanserden ölmektedir. 2020 yılında bu sayının 10.000.000' u geçeceği rapor edilmektedir [7]. Türkiye'de ise her yıl yaklaşık 150.000 kişi kansere yakalanmaktadır [8].

1.2. KANSER TEDAVİSİ

Kanser tedavisinde uygulanan yöntemler genel olarak üç başlık altında yapılmaktadır. Bunlar antineoplastikler, cerrahi ve radyoterapi şeklindedir.

Cerrahi yöntem, kanserli dokuyu ve çevresindeki invazyon riski taşıyan bir kısım sağlıklı dokuyuda çıkarma işlemi ile yapılır. Bazı durumlarda ise kanserli dokuya cerrahi müdahale uygulamak imkansız olabilir, bu durumda ise radyoterapi veya kemoterapi uygulanır. Radyoterapi işlemi uygun dozda ışın uygulaması yapılarak kanserli hücreleri öldürme yöntemidir. Kanserli hücrelerin ilaç kullanılarak öldürülmesi ise kemoterapi yöntemi ile uygulanmaktadır. Bunların yanı sıra alternatif tıp bağışıklık sistemine güçlendirmeyi, asıl tedaviye destek olmayı hedefleyen ancak marjinalliğe açık olması nedeniyle, güvenilirliği ve etkinliği de kontrollü deneylerle ispatlanmamış bir ön tedavi yöntemi ile de yapılmaktadır [9], [10].

Kanser tedavisinde özellikle cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi yöntemleri hastalığın gelişim süreciyle mücadelede kullanılmaktadır. Cerrahi ve radyoterapi uygulamaları bölgesel tedavi yöntemi olarak kullanılır. Neoplastik hücrelerin cerrahi olarak veya radyasyon tedavisi kullanılarak gelişimi azaltılır veya yavaşlatılır. Sonrasında tamamlayıcı ve sistematik olarak kemoterapi veya immünoterapi kullanımına geçilir. Kanser kemoterapisi ile tümörün büyümesini engelleyecek ve farklı odaklarda yeniden gelişmesini ve hatta tümüyle ortadan kaldırılmasını sağlayacak sitotoksik etki sağlanması amaçlanır [11], [12].

1.2.1. Antineoplastikler

Neoplastik hastalıkların esas tedavi yöntemleri cerrahi, ışın ve kemoterapidir. Kanser hücrelerini yok etmek ya da büyüme ve çoğalmalarını önlemek için, anti-kanser

(antineoplastik) ilaçlarla yapılan tedavi kemoterapi adını almaktadır. Birçok kemoterapi ajanı doğal olarak bakteri ya da bitkilerden elde edilmiş bileşikler olabileceği gibi, sitotoksik etkileri için geliştirilen sentetik kimyasal maddeler de olabilmektedir. Antikanser ilaçların çoğu hücre çoğalmasını nükleotit sentezini inhibe ederek engeller, böylece daha hızlı proliferasyon yapan hücreleri etkiler [13]-[16].

Kemoterapinin temel ilkesi kanserli hücrelerin bölünme ve çoğalmalarını inhibe etmektir. Kanser hücreleri büyüme ve gelişme yeteneklerine göre normal hücrelerden farklılık göstermektedirler. Proto-onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen mutasyonlar hücre bölünmesini teşvik eder ve normal hücre döngüsünde kontrol kaybı olur. Birçok sitotoksik kemoterapötik ajan, etkisini çeşitli yollarla hücre döngüsüne müdahale ederek göstermektedir. Antikanser ilaçlarının seçimi etki ettikleri hücre döngüsü aşamalarına göre yapılmaktadır [17].

Aktif olarak çoğalan hücreler kemoterapi için oldukça hassastırlar. Buna karşın bölünmeyen hücreler üzerinde antikanser ilaçlarının daha az etkili olduğu bilinmektedir [18]. Kemoterapötik ilaçlar bu ilke temel alınarak geliştirilmektedir. Hücre döngüsünün belli bir fazına etki eden faz spesifik ilaçlar ya da bütün fazlara etkili faz spesifik olmayan ilaçlar geliştirilebilmektedir. Kemoterapi ilaçları ya doğrudan doğruya DNA ile etkileşerek ya da hücre bölünmesi için gerekli olan proteinlere etki ederek hücreyi apoptoza taşıyabilirler [17].

1.2.2. Kemoterapötik Ajanlar ve Etki Mekanizmaları

Kanser tedavisinde yararlanılan ilaçlar farklı mekanizmalarla etki göstermektedirler. Bu etki mekanizmaların başlıcaları şöyledir. Alkilleyici ajanlar, antimetabolitler, antitümör antibiyotikler, mitotik inhibitörler, topoizomeraaz inhibitörleri, hormonlar ve antagonistler, son olarak da diğerleri şeklinde sıralanmaktadır [19].

1.2.2.1. Alkilleyici Ajanlar

Bu grupta bulunan ajanların hepsi güçlü elektrofiller haline gelerek doğrudan ya da bir karbonyum ara ürünü oluşturarak bir alkil grubunu hücresel hedef moleküllere iletirler. Bu reaksiyonlar çeşitli nükleofilik kısımların alkillenmesiyle kovalent bağların oluşumunu sağlarlar. Ayrıca DNA çift zincirini etkileyerek çapraz bağlanmaları, tek ve çift zincir kırıklarının oluşumuna sebep olmaktadır. Kemoterapötik ve sitotoksik etkiler

direk olarak DNA' ın alkillenmesiyle ilgilidir. Hücre döngüsüne özgü olmamalarından dolayı geniş bir etki spektrumuna sahiptirler [20].

1.2.2.2. Antimetabolitler

Antimetabolitler hücre büyümesi ve replikasyonu için gerekli metabolitlerin analoqları olmasından dolayı etkilerini onların yerine geçerek göstermektedirler. Etkilerini ya enzimleri inhibe ederek ya da zincir sonlanmasını sağlayarak göstermektedirler [21].

1.2.2.3. Antitümör Antibiyotikler

Bu gruptaki bileşikler çok çeşitli ve farklı mekanizmalarla etki göstermektedirler. Hücre döngüsüne özgü değildirler. Bir çoğu interkalasyon yaparak DNA' yı bloke eder, bunun sonucunda DNA replikasyonu ve mRNA üretimini durdururlar. Tek ve çift zincir kırıkları yaparak veya hücre proteinlerinde hasara neden olabilecek serbest radikaller üreterek etkilerini göstermektedirler [21].

1.2.2.4. Mitotik inhibitörler

Mitotik inhibitörler 2 grupta incelenmektedir.

1.2.2.5. Tubulin Bağlayıcı İlaçlar

Vinka alkaloidleri tubuline spesifik olarak mikrotübüllere bağlanarak oluşumlarını engellerler. Taksanlar ise, mikrotübüllerin ayrılmasını önleyerek depolimerizasyonu engellemektedir.

1.2.2.6. Topoizomeraz İnhibitörleri

DNA' nın çift sarmal yapısını kontrol eden topoizomeraz I ve topoizomeraz II enzimlerinin aktivitelerini inhibe etmektedirler.

1.2.2.7. Hormonlar ve Antagonistleri

Tümörü doğrudan etkilemekte veya tümörü besleyen vücut hormonlarını kontrol edip baskılamaktadır.

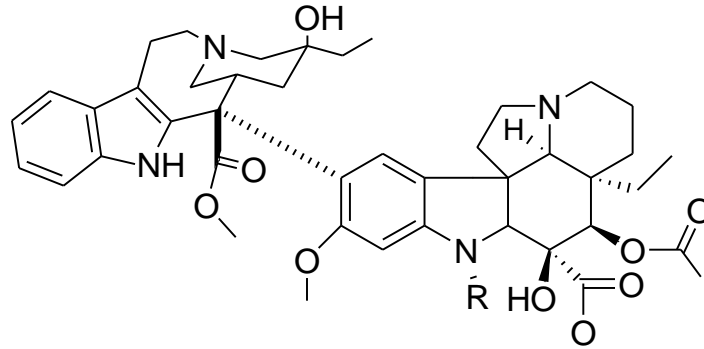
1.2.2.8. Diğerleri

DNA, RNA ve protein sentezini baskılamaktadır [22].

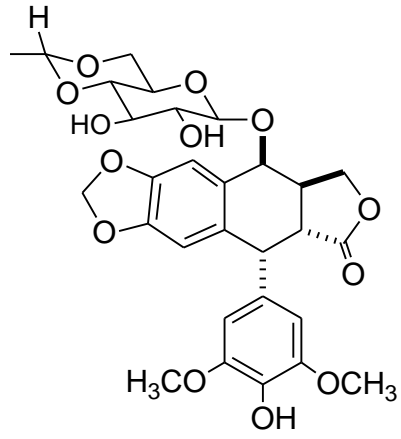
Çizelge 1.2. Kanser ilaçlarının sınıflandırılması [23].

Antimetabolitler	Antibiyotikler	Alkilleyici Ajanlar
Sitarabin Fludarabin 5-florourasil 6-merkaptopürin Metotraksat 6-Tiyoguanin	Bleomisin Daktinomisin Daunorobisin Doksorubisin İdaurubisin Plikamisin	Korbustin ve Lomustin Siklofosfamid ve Mekloreタミン Streptozotosin
Mikrotübül İnhibitörleri	Hormonlar ve Antagonistleri	Diğerleri
Novelbin Paklitaksel (Taksol) Vinblastin Topotekan Etoposid	Amino glutetimidler Estrojenler Flutamid Prednizon Löprolid	Asparaginaz Sisplatin ve Kaboplaün Estopozid İnterferonlar Radyoaktif İzotoplar

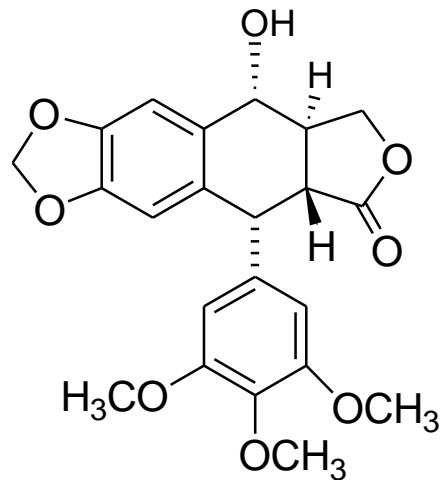
Kanser tedavisi için kullanılmak üzere doğadan elde edilen antikanser reaktiflerin keşfi ve gelişimi sayesinde önemli ölçüde bir sınıf kimyasal, ilaç endüstrisine kazandırılmıştır [24]. Şuanda piyasada bulunan antikanser ilaçların büyük çoğunluğu direkt olarak doğal bileşiklerden elde edilmektedir [25].



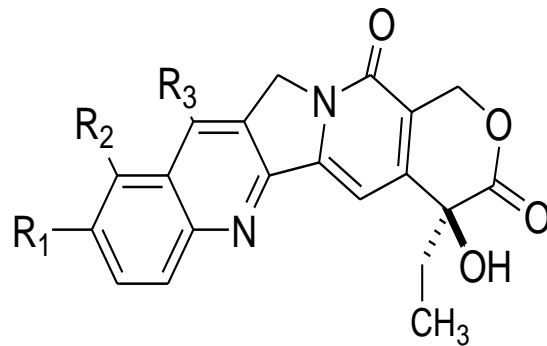
Şekil 1.1. Vinblastin, R=CHO (1), Vinkristin, R=CHO (2).



Şekil 1.2. Tenipozit (3).

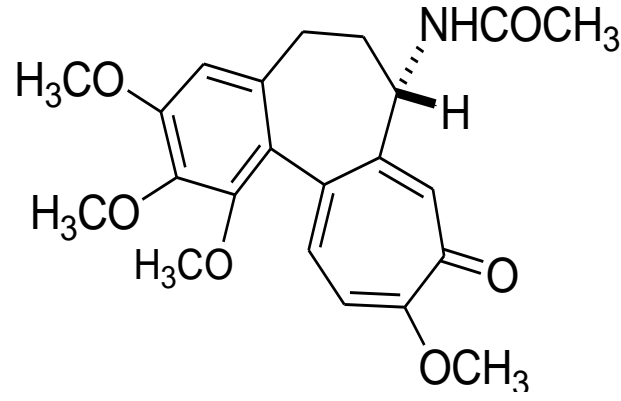


Şekil 1.3. Podofiloksin (4).



Şekil 1.4. Kamptotesin, $R_1=R_2=R_3=H$ (5), Topotekan, $R_1=OH$, $R_3=H$

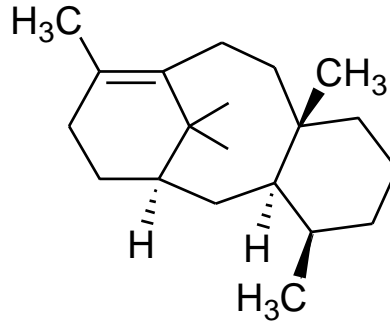
$R_2=CH_2N(CH_3)_2$ (6).



Şekil 1.5. Kolşisin (7).

1.3. TAKSANLAR

Taksanlar taksus familyasından bitkilerde bulunan ve diterpen sınıfında yer alan alkaloidlerdir. Bu diterpenlerin uzun zamandır biyolojik aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir [25]. Bu familyadan yaklaşık 350 civarı bileşik bilinmektedir ve bir çoğu taksan çekirdeğine (8) sahiptir [26].



Şekil 1.6. Taksan çekirdeği (8) .

Taksanların bir kısmı antitümöral etki gösterirken, diğer kısmı da aynı etkiyi gösteren başka bileşiklerin yarı sentezi için öncül molekül olarak kullanılır [27]. 1856 da Alman eczacı Lucas taksanların karışımını elde etmeye başlamış ve bu çalışmaları bileşiklerin metabolit olarak kullanılması ile ilgili ilk adım olmuştur. Lucas taksanların karakterizasyon çalışmalarını, yapının çok karmaşık olması ve yeterli teknikleri olmamasından dolayı uzun bir süreçte gerçekleştirmiş. Yapı analizinden sonra ise bunlara taksin adını vermiştir [25]. 1960'lı yılların sonunda yapılan çalışmalar sırasında çeşitli taksan familyaları alkaloid yapı bulundurmayan taksan türleri bulunmuştur [28].

Taksoidlerin bir çoğu pentametil [9.3.1.0] trisiklopentadekan diye adlandırılan normal taksan iskeletine sahiptir ve her birinin kendine ait isimlendirilmeleri olan kimyasallardır [29]. Paklitaksel (9) normal taksan iskeletine sahiptir, aynı zamanda da bu serinin ilk bileşimidir [30]. Paklitaksel (9) ve onun yarı sentetik türevi dosetakselin mitoz inhibisyonuna neden olan farmakolojik etkileri benzersizdir. Kolşisin (7) türevleri ve vinka alkaloidlerinden (1-2) farklı olarak β -tubulinin farklı bölgelerine bağlanırlar ve mikrotübül formasyonunu inhibe etmekten çok aktive ederler [31]. Paklitaksel (9) göğüs ve yumurtalık kanserlerinin tedavisinde kullanılan en önemli kemoterapi ilaçlarından biri olmuştur. Aynı zamanda paklitaksel (9) ve dosetaksel baş-boyun, akciğer, metastatik over kanseri için potansiyel tedavi aracı olduğu görülmüştür [32].

1.3.1. Paklitaksel

1.3.1.1. Paklitakselin Tarihsel Gelişimi

Taxus brevifolia bitkisinin kabuklarından izole edilen palitaksel (9), doğal bir diterpen alkoloididir [33]. Paklitaksel (9) klinikte uygulanan ilk taksan türevi ve ilk olarak kemoterapiye karşı dirençli meme ve yumurtalık kanseri olan hastalarda hafifletme amacıyla kullanılmıştır. Günümüzde ise başlangıç tedavisinde kullanılmaktadır [34].

Paklitaksel (9), Amerika Ulusal Kanser Enstitüsü'nün yeni doğal antikanser bileşikler bulmak için değişik birçok farklı bitkinin tarandığı bir programda keşfedilmiştir. İlk olarak 1961 yılında Kuzey Carolina'da , uzun yıllarda yetişen her zaman yeşil kalan *Taxus brevifolia* isimli Pasifik porsuk ağacının işlenmemiş genç sürgünlerinden elde edilmiştir ve klinik öncesi çalışmalarda çeşitli tümörlere karşı antitümör etkisi var olduğu gözlemlenmiştir. 1971 yılında aktif bileşen olan paklitakselin (9) kimyasal yapısı tanımlanmıştır [34].

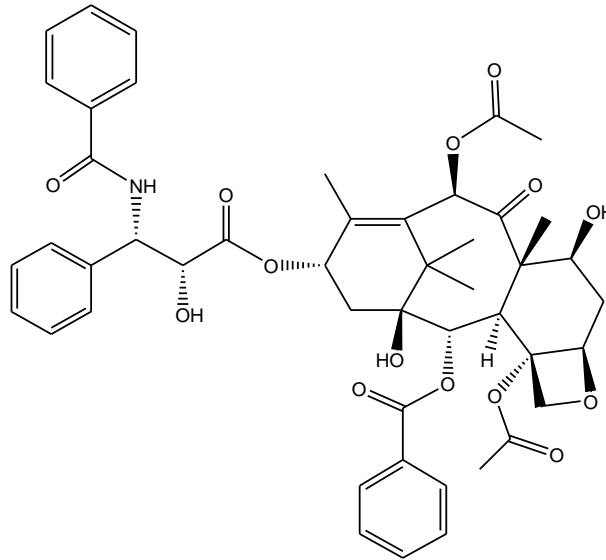
Paklitakselin (9) gelişimi, önemli derecede üstün aktiviteye sahip yeni bir kimyasal yapı olması, formülasyon problemleri ve klinik öncesi çalışmalarda o dönemlerde araştırılan diğer etkin maddelere göre daha fazla antitümör etkinlik göstermemesi ve sudaki oldukça düşük çözünürlüğü bunlara ek olarak büyük ölçüde toplanması, ekstrakte edilmesi ve izolasyonu gibi problemler nedeniyle uzun sürmüştür [34], [35]. Ancak yapılan tümör taramasında ortaya çıkan kendine özgü etki mekanizması, onun yeniden gündeme gelmesini sağladı [34]. Paklitakselin (9) tarihsel gelişimi Çizelge 1.3'de açıklanmıştır.

Çizelge 1.3. Paklitakselin tarihsel gelişimi [36], [37].

TARİH	GELİŞİM
1961-1968	Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI)'nün doğal ürünlerden antikanser ajanlar taraması
1967	Antitümör Aktivitesinin keşfedilmesi
1969	Saf Paklitakselin izolasyonu
1971	Kimyasal yapısının aydınlatılması
1979	Kendine özgü etki mekanizmasının açıklanması
1983	Faz I çalışmalarının başlatılması
1986	Aşırı duyarlılık reaksiyonlarının gözlenmesi
1988	NCI tarafından premedikasyonunun önerilmesi
1989	Yumurtalık kanserinde etkinliğinin saptanması
1991	Meme kanserinde etkinliğin saptanması
1992	Küçük hücreli akciğer kanserinde etkinliğinin saptanması
1992	Yumurtalık kanserinde kullanılmak üzere FDA tarafından onaylanması
1994	Meme kanserinde kullanılmak üzere FDA tarafından onaylanması
1999	Sisplatin ile kombine olarak küçük hücreli olmayan akciğer kanserinin ilk basamak tedavisi için FDA tarafından onaylanması
2000	Fındık kabuğunda Paklitaksel ve türevi maddeler tesbit edildi

1.3.1.2. Fizikokimyasal Özellikleri

Paklitaksel (9), beyazımsı renkte kristal yapıda tozdur. Oldukça lipofilik yapıdadır ve 216-217°C civarı erime sıcaklığına sahiptir. Kimyasal açık adı ' 5 β , 20-epoksi-1,2 α , 4, 7 β , 10 β , 13 α -hekzahidroksitaks-11-en-9-on 4, 10-diasetat 2-benzoat-13 ester (2R,3S)-N-benzoil-3-fenilzoserin'dir. Empirik formülü C₄₇H₅₁NO₁₄, moleküler ağırlığı 853,9 g/mol'dür [36]. Paklitakselin (9) kimyasal yapısı Şekil 1.3'te belirtilmiştir.



Şekil 1.7. Paklitaksel (9)'in molekül yapısı.

Paklitakselin (9) sudaki çözünürlüğü 0,3 µg/ml olmasına karşın, çeşitli organik çözücülerde nispeten daha fazla çözünürlük göstermektedir. Çizelge 1.4’te paklitakselin (9) bazı organik çözücülerdeki çözünürlük değerleri gösterilmektedir [38].

Çizelge 1.4. Paklitakselin organik çözücülerdeki çözünürlük değerleri [38].

Organik Çözücü	Çözünürlük (µg/ml)
Etanol	46
Asetonitril	20
Diklorometan	20
İzopropanol	14
Metanol	12

1.3.1.3. Etki Mekanizması

1970’ li yılların sonlarına kadar eldesinin zor olması ve düşük çözünürlüğü sebebiyle formüle edilememesinden dolayı paklitakselin (9) önemi tam anlaşılamamıştır. Paklitakseli (9) farklı kılan ise etki mekanizması olacaktır. 1979 yılında, Dr. Susan Band Horwitz çalışmaları sonucunda paklitakselin (9) benzersiz etki mekanizmasını keşfetti. Hücre iskeletinin yapısında tubulin adı verilen küresel proteinler bulunmaktadır ve bu tubulinler sinir hücrelerinin aksonlarında bulunan mikrotübülleri meydana getirmektedirler [39],[40]. Paklitakselin (9) tubulinlere bağlanması, klinik uygulamalar için öneminin artmasına sebep olmuştur [34], [41]. Paklitaksel (9), tubulin ve mikrotübülinlerin arasına girerek sitotoksik etkisiyle fonksiyon göstermesini önler . Mikrotübüller, hücrelerin sitoplazmasında yer alan, birçok hücre aktivitesinde yer alan aktif polimerik yapılardır ve en önemli görevleri ise hücre bölünmesinde kromozomların ayrılmasına sebep olmalarıdır [42]. Bundan dolayı esnek bir şekilde hücrenin iskeletini kullanmasını ortadan kaldırarak, oluşan paklitaksel-mikrotübül kompleksi parçalanamaz hale getirilir. Mikrotübüllerin esnemesi engellenmiş olup, hücre ölümü sağlanır [42]-[44]. Sonuçta ise paklitaksel (9) hücre döngüsünün G2/M evresinde hücreleri bloke eder, böylelikle hücrelerde normal mitoz bölünme hazırlık safhasını engeller. Replikasyon önlenmiş olur veya çok yavaş ilerlemesi sağlanmış olur. Paklitaksel (9) hücreler üzerindeki etkisini iki yolla gerçekleştirmektedir.

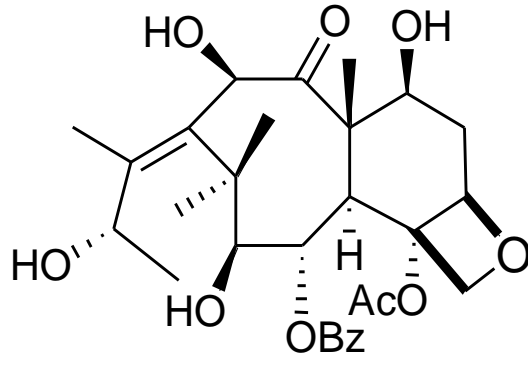
1-Hücre Döngüsünü Bloke Ederek: Paklitaksel (9), kanser tedavisinde kullanılan, etkisini mikrotübüller üzerinde gösteren vinkristin (2) ve vinblastin (1)’den farklı olarak

tubulin proteinlerine bağlanarak mikrotübül oluşumunu engellemek yerine stabilize ederek hücre bölünmesini durdurmaktadır.

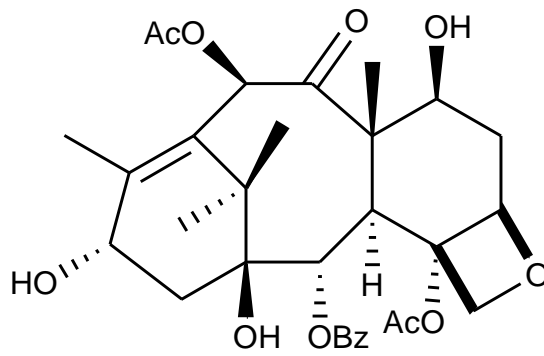
2-Apoptozis: Paklitakselin (9) apoptozis etki mekanizması, programlanmış hücre ölümü anlamındadır. Hücre ve dokuların mekanik bir etki ve hasar olmadan belirli moleküler işlemler ve sinyaller ardından hücrelerin kendiliğinden ölmesi işlemidir. Paklitakselin (9) hücrelerin mitotik evreye geçmelerini engellemesi sonucu hücrelerin bölünmesi engellenir [43], [45]-[49].

1.4. FINDIK (*CORYLUS AVELLANA*) SERT KABUĞUNDA TAKSAN VARLIĞI

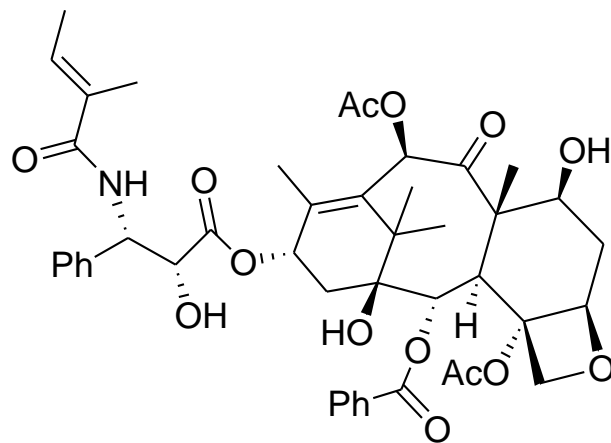
Porsuk ağacından elde edilen paklitaksel (9), yapılan çalışmalar sonucu aynı zamanda fındık sert kabuğunda da rastlanmıştır. Taksanların fındık kabuğundaki varlığı ilk olarak 2000 yılında yapılan bir çalışma ile ortaya çıkmıştır [50]. Fındığın taksanları, doğu fındık yanıklığı hastalığına karşı koruma amaçlı sentezlediğine dair sonuçların tespit edilmesi ile paklitakseli (9) sentezlediği bulunmuştur [51], [52]. Paklitaksel (9) dışında 10-deasetil bakkatin III (10), bakkatin III (11) ve sefalomannin (12) fındık yan ürünlerinde mevcuttur [53]. Fındık kabuklarında bulunan miktarın, yapılan çalışmalarda bulunan sonuçlara nazaran porsuk ağacında yada hücre kültür ortamındakilere oranla daha az var olduğu gözlenmiştir. Buna rağmen porsuk ağacının oldukça yavaş büyümesi, bir ormanın var olmaması, yeryüzünde seyrek bir yayılım göstermesi ve dağınık yetiştirme şekli dezavantajları olmaktadır. Fındık sert kabuğunda çok az miktarlarda paklitaksel (9) ve türevleri bulunmaktadır, ancak porsuk ağacı ve diğer yöntemlere göre fındık atıkları düzenli bir şekilde her yıl en az 500 bin ton gibi çok büyük bir miktarda açığa çıkmaktadır. Maliyet olarak da çok düşük olması ve diğer durumlar da göz önüne alındığında fındık sert kabuğu paklitaksel (9) eldesi için önemini artırmaktadır [54]-[56].



Şekil 1.8. 10-Deasetil Bakkatin III (10).



Şekil 1.9. Bakkatin III (11).



Şekil 1.10. Sefalomannin (12).

1.5. EKSTRAKSİYON

Bitkiler belli miktarlarda yapılarında bioaktif bileşikler bulundurmaktadırlar [57]. Bileşikler ise doğada her zaman karışım halinde bulunmaktadırlar [58]. Bitki ekstraktları gıda, ilaç ve kozmetik endüstrisinde büyük ölçüde kullanılmaktadır [57]. Ekstraksiyon yöntemi, ekstrakte edilecek ürün içerisinde uygun bir çözücü geçirilmesiyle bitkisel ürünün içindeki çözünebilir maddelerin bu çözücü yardımıyla karışımdan veya doğal üründen ayırmak için kullanılan en genel işlemdir [58], [59].

Ekstraksiyon işleminde, ayrılması istenen bileşen ile karışmayan ve ayrıştırılmak istenen bileşene karşı farklı çözünme gücüne sahip çözücü ile çözülerek yapılır ve bu işlem için iki farklı çözücü kullanılır, diğer bileşikler ise ikinci çözücüye geçer. Ekstraksiyon, istenilen bileşiği tamamen ayrıştırmak için birkaç kez gerçekleştirilebilir [58].

1.5.1. Çözücülerle Ekstraksiyon

Hidrokarbon çözücülerin kullanılarak yapıldığı en yaygın ekstraksiyon metodudur. Ekstre edilecek olan ürünün katı veya sıvı fazda olmasına göre katı-sıvı veya sıvı-sıvı ekstraksiyon şeklinde adlandırılmaktadır [60].

1.5.1.1. Sıvı- Sıvı Ekstraksiyon (LLE)

Sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemi birbiri içerisinde karışmayan iki çözücü ile yapılır. Genellikle çözücülerden biri istenen bileşen ile etkileşime girmekte diğer çözücü ise istenmeyen maddeleri veya safsızlıkları uzaklaştırmak amacıyla kullanılmaktadır. Uzun yıllar boyunca sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemi örnek hazırlamada en çok kullanılan yöntem olmuştur. Ancak sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemlerinde bol miktarda çözücü israfı, işlemlerin uzun sürmesi ve yüksek maliyetli olması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Ayrıca ekstraksiyon işlemi sırasında emülsiyon faz oluşması, yeterli saflığa ulaşamayan ekstraktlar, çözücülerin yeterince uzaklaştırılmaması ve sağlıklı kantitatif sonuçlara ulaşamamak gibi istenilmeyen durumlara da sebep olmaktadır [61] .

1.5.2. Sokslet Ekstraksiyonu

Sokslet ekstraksiyon yöntemi özel bir cihazda yapılabilmektedir. Katı veya yarı-katı numuneler için uygun bir yöntemdir [62]. Sokslet ekstraktörü, solvent şişesi, orta kısımda sıvı akış borusu, soğutulmuş kondansör ve ısıtma sisteminden oluşmaktadır. Katı numune orta kısımda bulunan ekstraksiyon bölmesine konulur, çözücü ise bu bölmenin altında bulunan cam balon içersine konulur ve işlemler şu sırayla gerçekleşir. Çözücü kaynama sıcaklığının üzerinde ısıtılır ve buharlaşır, sıcak çözücü buharları yoğunlaşmanın olduğu yere doğru ilerler, yoğunlaşarak katı numunenin üzerine düşer. Numune ıslanır ve çözücü miktarı bypass kolunun seviyesine ulaştığında sifon oluşarak çözücü tekrar cam balona boşalır. Bu yoğunlaşma, yükselme ve sifon döngüsüne reflüks denilmektedir ve sürekli tekrar edilir. Her döngüde, numunenin içerdiği bir miktar yağ çözücü içinde çözünmekte ve döngüye tekrar katılmamaktadır. Bu durum, sokslet ekstraksiyonunun en büyük avantajıdır ve uygulanan bu yöntemin verimi yüksektir [63], [64].

1.5.3. Ultrasonik Ekstraksiyon

Ses dalgaları, farklı ortamlar içinde yayılan ve örneğe 20 kHz üstündeki frekanslarla akustik titreşimler uygulayan boyuna dalgalardır [65], [66]. Bu titreşimler sıvıdan geçtiğinde kavitasyon (boşluk oluşumu) gerçekleşir ve bu ultrasonik enerjinin yol açtığı oluşum ile sıvı ortamında çok sayıda ufacık kabarcıklar meydana gelerek katıların mekanik olarak sarsılmasına neden olup partiküllerin kopmasını sağlamaktadır [67]. Bir ses dalgası art arda oluşan sıkışma ve genişlemelerden meydana gelmektedir. Bir sıvı sıkışmalara kolaylıkla dayanabilmekte fakat genişlemesine yani basıncın şiddetli bir biçimde düşmesi sıvının içinde boşluk meydana getirmektedir. Boşluklar buharla veya sıvıdaki çözünmüş gazın ortaya çıkmasıyla hemen doldurulabilen küçük bir kabarcıklara dönüşmektedir. Bu kabarcıklar dağıldıklarında şiddetli bir şok dalgası meydana gelir ve temizleme sağlanmış [68]. Bitkiye özgü nem miktarı, tanecik büyüklüğü ve kullanılan çözücü gibi etmenler yanında, frekans, sıcaklık ve zaman gibi faktörlerde ultrasonik ekstraksiyon verimini etkilemektedir. Ucuz olması, basit olması, ekstraksiyon kinetiğinin hızlı olması ve ısıya duyarlı bileşiklerin ekstrakte edilebilmesi bu yöntemin avantajıdır [69]. Bu yöntemde en çok kullanılan ve en ucuz olan ses dalga kaynağı ultrasonik banyodur [70].

1.5.4. Mikrodalga Ekstraksiyonu

Mikrodalgalar yüksek frekanslı 0.3-300 GHz aralığında değişen elektromanyetik dalgalardır ve genellikle doğal ürünlerde 2.5-75 GHz'de ekstraksiyon işlemleri yapılmaktadır [71]. Mikrodalga enerjisi kullanılarak ısıtma prensibi, iyonların iletimi, dipol rotasyon yoluyla molekülün üzerine direkt etki temeline dayanmaktadır ve mikrodalga ekstraksiyonun etkinliği çözücünün ne olduğuna, bitkinin içeriğine ve uygulanan mikrodalga şiddetine bağlıdır [71], [72].

Mikrodalga ekstraksiyonu ile bitkilerde polifenoller ve lignanlar ayrıştırılabilmektedir [72], [73].

1.5.5. Hızlandırılmış Çözücü Ekstraksiyonu

Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu, 50-200 °C sıcaklık ve 10-15 MPa basınç altında yapılan katı-sıvı ekstraksiyon yöntemidir [74]. Ekstraksiyon yüksek sıcaklıklarda ve basınç altında çözücünün sıvı fazda iken gerçekleşmektedir ve ekstraksiyon sırasında çözücü kritik şartların altındadır. Sıcaklığın artırılması ile ekstraksiyon kinetiği de artmakta ve yüksek basınç ile çözücü sıvı fazda kalarak sağlıklı ve hızlı bir şekilde ekstraksiyon yapılabilmektedir. Klasik çözücü ekstraksiyonu ile karşılaştırıldığında oldukça düşük çözücü kullanımı avantajları arasında görülmektedir [75].

1.5.6. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SFE)

Bileşenlerin ana yapıdan ayrılması sırasında çözücü olarak süperkritik akışkanın kullanıldığı yöntemlere denir [76]. Bu yöntemde daha az çözücü harcanır, ekstraksiyon süresi daha kısadır ve normalden yüksek sıcaklıklarda çözünen bileşenleri ayrıştırma özelliğine sahiptir [77]. Süperkritik akışkanların çözme ve yayılma gücü fazla olduğundan hızlı reaksiyon kinetiğine de sahiptirler [78]. Bu akışkanlar çeşitli örnekler için kusursuz ekstraksiyon ortamı oluşturabilirler [79]. SFE' de, akışkan sürekli geçirildiğinden kantitatif veya tam bir ekstraksiyon sağlanmış olur [80]. Son yıllarda, süperkritik akışkan ekstraksiyonu bu özelliklerinden dolayı bilinen ekstraksiyon metotlarına göre alternatif bir metot olarak kullanılmakta ve diğer ekstraksiyon yöntemleri ile yapılamayan birçok uygulamayı gerçekleştirebilmektedir [76], [81].

1.6. PAKLİTAKSEL EKSTRAKSİYONU İLE İLGİLİ YAPILMIŞ ÇALIŞMALAR

Taxus baccata L.'nin iğne yapraklarından klasik çözücü ekstraksiyonu yöntemi ile Guenard ve arkadaşları % 0.02 oranında elde edilen 10-DAB III (10) miktarını 5 kat artırarak, 1 kg yapraktan 1g 10-DAB III elde etmişlerdir [82].

Taxus baccata L.'nin yapraklarından mikrodalga ekstraksiyon yöntemi kullanılarak Talebi ve arkadaşları 59 mg/kg paklitaksel (9) elde etmişler. Aynı çalışma klasik ekstraksiyon yöntemi ile yapıldığında ise 62 mg/kg paklitaksel (9) elde etmişlerdir [83].

Taxus baccata nın iğne yapraklarından katı faz ekstraksiyon yöntemi ile Mroczek ve arkadaşları % 0.0566 ve dallarından % 0.0695 oranında 10-DAB III (10) izole etmişlerdir [84].

Taxus cuspidata'nın sıvı karbondioksitin çözücü olarak kullanıldığı ekstraksiyon işleminde Kukuchi ve arkadaşları ekstraksiyon sonucunda % 0.02 oranında paklitaksel (9), % 0.04 oranında bakkatin III (11) ve % 0.04 oranında 10-DAB III (10) elde etmişlerdir. Aynı çalışmaya sıcaklık ve ekstraksiyon sabit bırakılarak CO₂ + metanol karışımı ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi sonunda paklitaksel (9) ve 10-DAB III (10) miktarlarında belirgin artışlar elde etmişlerdir. Bu çalışmanın üçüncü safhasında ise metanol çözücü olarak kullanılmış ve ekstraksiyon sonunda % 0.03 paklitaksel (9), % 0.05 bakkatin III (11) ve % 0.06 10-DAB III (10) eldesi sağlanmıştır [85].

Taxus baccata L.'nin dal ve yapraklarına uygulanan klasik çözücü ekstraksiyonu ile Glowniak ve arkadaşları dallarından 12.7 mg/kg paklitaksel (9), 302.2 mg/kg 10-DAB III (10), 45.7 mg/kg bakkatin III (11) ve 7.9 mg/kg sefalomannin (12) izole etmişlerdir. İğne yapraklarından yapılan ekstraksiyon sonucunda ise 12.9 mg/kg paklitaksel (9), 145.9 mg/kg 10-DAB III (10), 37.2 mg/kg bakkatin III (11) ve 34.6 mg/kg sefalomannin (12) izole edilmiştir [86].

Taxus brevifolia'nın dallarından ana çözücü süperkritik nitröz oksit kullanılan çalışmada Vandana ve arkadaşları 331.9 K sıcaklık ve 34.76 MPa basınç ile ekstraksiyon gerçekleştirerek 24.2 mg/kg paklitaksel (9) elde etmişlerdir. Bu çalışmanın ikinci basamağında 320.6 K sıcaklık ve 10.45 MPa basınç altında % 6.3 mol etanol ile süperkritik nitröz oksitin karıştırılması sonucunda 24.4 mg/kg paklitaksel (9) eldesi

sağlanmıştır. Üçüncü basamakta ise 330.8 K sıcaklık, 34.34 MPa basınç ve % 10.5 mol etanol kullanımında 159.56 mg/kg paklitaksel (9) elde edilerek artış sağlanmıştır [87].

Taxus cuspidata'nın kabuk kısımlarını hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu yöntemi kullanılarak Kawamura ve arkadaşları değişken sıcaklıklarda 15 dakika 10.13 MPa basınç altında ekstrakte edilmiştir. Bu yöntem ile 160 °C sıcaklığa kadar bitki geri kazanımı artış gösterirken bu sıcaklıktan 200 °C sıcaklığa kadar ise geri kazanımda düşüş olduğunu görmüşlerdir ve 160 °C ye kadar ekstrakt edilen madde miktarında artış varken bundan sonraki sıcaklıklarda azalma olduğu da tespit edilmiştir. Ekstraksiyon sırasında çözücü olarak aseton, su, benzen, diklorometan, asetonitril, etilasetat, metanol, etanol ve izopropil alkol kullanılmıştır. Bu geri kazanım işlemi için en iyi çözücü metanol olarak belirlenmiştir. Çalışmada hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu kullanılması ile sürenin kısaltılması ve yüksek sıcaklıklarda çalışabilme avantajı sağlanırken ekstrakte edilen paklitaksel (9) miktarının da klasik ekstraksiyon yöntemine nazaran 50 kat, ısıtılmış su ekstraksiyonuna göre ise 5 kat daha iyi sonuç verdiği de gösterilmiştir [88].

Taxus cuspidata'ya hücre kültürü yöntemi ile yapılan çalışmada Nguyen ve arkadaşları 4 hafta sonrasında paklitaksel (9) miktarını 149 µg/L, 10-DAB III (10) 1.9 mg/L ve bakkatin III (11)' ü 583 µg/L seviyesinde elde etmişlerdir [89].

Taxus cuspidata'nın yapraklarından 308 K sıcaklık ve 300 bar basınçta, 4 saat süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu Chun ve arkadaşları ile paklitaksel (9) kütlece % 0.262 ve aynı işlemler sadece sıcaklığı 323 K yapıldığında bakkatin III (11)' ün kütlece % 0.644 oranında eldesini sağlamışlardır [90].

Taxus baccata'nın yapraklarından klasik çözücü ekstraksiyon metodu kullanılarak yapılan çalışmada Saicic ve arkadaşları çözücü olarak etanol, diklorometan ve etilasetat ile 265 mg/kg 10-DAB III (10) elde etmişlerdir [91].

Taxus brevifolia'nın dallarından % 0.014 oranında paklitakseli (9) Suffness ve arkadaşları klasik çözücü ekstraksiyon yöntemi kullanarak elde etmişlerdir [92].

Mikrodalga ekstraksiyon sistemi ile Mattina ve arkadaşları paklitaksel (9), sefalomannin (12) ve 10-DAB III (10)' ün geri kazanımı için çalışmalar yapmışlardır. Çalışmada çözücü olarak metanol kullanıldığında her üçü için de % 90 oranında geri kazanım

varken % 95' lik etanol kullanıldığında ise paklitaksel (9) ve 10-DAB III (10) için % 85 ve sefalomannin (12) için % 90 oranında, kloroform çözücü olarak kullanıldığı zaman paklitaksel (9) ve sefalomannin (12) için % 40, 10-DAB III (10) için % 60 oranında geri kazanım miktarlarının azaldığını gözlemlemiştir. Tüm bu çalışmaların sonucunda mikrodalga ekstraksiyon ile klasik çözücü ekstraksiyonunun geri kazanım değerlerinin yakın olduğu ve bu yöntemin taksanların geri kazanımı için uygulanan ekstraksiyon deneylerine uygun bir yöntem olduğu tespit edilmiştir [93].

Taxus brevifolia, *Taxus cuspidata*, *Taxus canadensis*, *Taxus media* c.v gibi çeşitli Taksus türlerinin Witherup ve arkadaşları ekstraksiyonu ile paklitaksel (9) ve 10-DAB III (10)' ün miktarları için çalışılmıştır. Çalışma sonucunda en fazla paklitakselin (9) *Taxus canadensis*, *Taxus cuspidata*, ve *Taxus brevifolia*'da bulunduğu belirlenmiştir. 10-DAB III (10)' ün de en fazla (paklitaksel oranla daha az miktarda) *Taxus brevifolia*'da bulunduğu belirlenmiştir [94].

Taxus baccata L.'nin iğne yaprakları kullanılarak yapılan süperkritik karbondioksit ekstraksiyonunda Heaton ve arkadaşları % 10 metanol kullanarak, 400 atm basınç, 50 °C sıcaklık ve 15-105 dakika zaman aralıklarında ekstraksiyon işlemini gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonucunda klasik çözücü ekstraksiyonu ile yapılan çalışmaya göre bu çalışmada daha az miktarda taksisin eldesi sağlanmıştır [95].

Taxus baccata L.'nin ince dallarının kullanıldığı ultrasonik, mikrodalga, sokslet ve basınçlı sıvı ekstraksiyon yöntemlerinin Wianowska ve arkadaşları çalışıldığı ve bu çalışma sonucunda elde edilen ekstrakt miktarlarına göre yöntemleri birbirlerine göre kıyaslamışlardır. Çalışma sonucu elde edilen taksan miktarları çizelge'de verilmiştir [96].

Çizelge 1.5. Farklı ekstraksiyon metotları ile elde edilen taksanlar [96].

Ekstraksiyon metodu	10-DAB III (mg/g)	Sefalomanin (mg/g)	Paklitaksel (mg/g)
USE (20 °C)	0.1114	0.0795	0.0246
USE (60 °C)	0.1229	0.0755	0.0246
MDE (Kapalı)	0.0341	0.0181	0.0008
MDE (Açık)	0.1454	0.0429	0.0136
BSE (I)	0.1470	0.0831	0.0360
BSE (II)	0.1766	0.0890	0.0104
SE	0.2059	0.1175	0.0518

Taxus media ve *Taxus brevifolia*'nın ham yapraklarının klasik çözücü ekstraksiyonu kullanılarak Gibson ve arkadaşları ekstrakte etmişlerdir. Ekstraksiyon işlemlerinde çözücü olarak toluen, diklorometan, etil eter, etil asetat, metanol ve etanol kullanmışlardır [97].

Çizelge 1.6. Klasik çözücü ekstraksiyonu kullanılarak elde edilen taksanlar [98].

İşlem	% Paklitaksel (<i>Taxus media</i>)	<i>Taxus brevifolia</i>	Paklitaksel (µg/g)
Taze yaprak	0.005	(1) % 40 Etanol	361
Dondurulmuş kuru yaprak	0.015	(2) % 40 Etanol	182
% 100 Metanol	0.031		
% 50 Metanol	0.042		
C18-SPE	0.0324		
% 40 Etanol-C18-SPE	1.543		

Taxus cuspidata ve *Taxus media*'dan katı faz ekstraksiyon tekniği (SPE) ile Lou ve arkadaşları taksanları elde etmişlerdir. Çalışmalar sonucunda *Taxus cuspidata* ve *Taxus media*'dan 50.39 mg, 51 mg paklitaksel (9) ve 46.16 mg, 132 mg 10-DAB III (10) elde etmişlerdir [98].

Taxus cuspidata hicksii'nin bitki materyallerinden Cociancich ve arkadaşları metanol ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirmişlerdir. Daha sonra ise vakum altında konsantre ederek, kuru ekstraktı su ile seyirtmişler ve sikloheksan-DCM ile sıvı-sıvı ekstraksiyon uygulamışlardır [99].

Taxus brevifolia, *Taxus baccata*, *Taxus canadensis*, *Taxus wallichiana*, *Taxus vunnanensis*, *Taxus densiformis*, *Taxus hicksii*, *Taxus wardii*, *Taxus cuspidata*, *Taxus capitata*, *Taxus brownii* türlerinin iğne ve yapraklarını kullanarak Bui-Khae ve arkadaşları paklitaksel üzerinde yapılan çalışmışlardır. Çalışmada ilk olarak çökme işlemi yapılmıştır. Üçüncü basamakta perklarizasyon işlemi yapılmıştır. Dördüncü işlem olarak da yine çökme işlemi yapılmıştır. Bu işlemlere ek olarak kromatografik saflaştırma işlemleri uygulanmış ve % 40-% 60 oranında paklitaksel (9) eldesi sağlanmıştır [100].

Taxus canadensis'in iğne ve yapraklarından yaptıkları çalışmada Jian Lui ve arkadaşları ekstraksiyon işleminde çözücü olarak metanolü kullanmışlardır ve çözücü-örnek muamelesi için Bui-Khae ve arkadaşlarına göre daha az sürede 3 saatte

ekstraksiyon işlemini gerçekleştirmişlerdir. Bu işlemlerde önce hekzan-su ekstraksiyonuyla yağimsılıkları, DCM-su ile de safsızlıkların giderilmesini amaçlamışlardır. 600 kg biyokütleden yaklaşık olarak 45 kg paklitaksel (9) elde edilmiştir [101].

Taxux media Hicskii' nin kök, yaprak ve dallarını kullanarak Gabetta ve arkadaşları toz halindeki numuneyi sulu aseton ile ekstrakte etmişlerdir. Ekstrakt vakum altında konsantre edildikten sonra metanol ve diklorometan ile 5 kez ekstraksiyon işlemi uygulanır. Toplamda 1000 kg kullanılan numuneden, en son kromatografik saflaştırma uygulamalarından sonra 255 g paklitaksel (9) eldesi sağlanmıştır [102].

Taxus chinensis' in hücre kültüründen Pyo ve arkadaşları bitki kültürünü oda sıcaklığında metanolle ekstrakte etmişlerdir. Bu ekstraksiyon işleminin uygulanışını karıştırıcı üzerinde 30 dakika olacak şekilde yapılmıştır. Ekstraksiyon işlemi 4 kez tekrarlandıktan sonra elde edilen metanol ekstraktını vakum altında konsantre hale getirmişlerdir. Konsantreye DCM eklenerek çalkalanır ve DCM fazı ayrılır. Ayrılan DCM fazı vakumda konsantre edilerek kurutulur. 100 kg kullanılan numuneden en son yapılan kromatografik işlemler sonunda % 6.9 saflıkta 737 g paklitaksel (9) elde edilmiştir [103].

Taxus baccata yapraklarından Ramados ve arkadaşları oda sıcaklığında 12 saat boyunca ekstraksiyon işlemi uygulamışlardır. 23.1 g son ürün elde edilir, % 93.5 10-DAB III (10) içermektedir [104].

Taxus Cuspidata yapraklarından Han ve arkadaşları ekstraksiyon işlemi uygulamışlardır. Bu işlemde karıştırıcıda oda sıcaklığında 3 saat boyunca metanolle karıştırarak ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. 10 kg numuneden % 98.5 saflıkta 900 mg paklitaksel (9) eldesi sağlanmıştır [105].

Farklı taxus türleri kullanan ElSholy ve arkadaşları ekstraksiyon işlemleri için diğer araştırmacılardan farklı olarak etanol tercih etmişlerdir ve maserasyon süresini 24 saat olarak belirlemişlerdir [106].

Corylus arellana L.' nin sert kabuk, yeşil kabuk ve yapraklarını kullanan Hoffman ve Shahidi ilk olarak hekzan ile yağimsılıkları ayırmışlardır. Tortular uzaklaştırılarak 40 °C' de konsantre edilmiştir. Sonuçlarda 1.9 µg paklitaksel (9) eldesi sağlanmıştır [107].

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. PAKLİTAKSEL KESİN MİKTAR TAYİNİ ÇALIŞMALARI

2.1.1. Ekstraksiyon Çalışması İçin Numune Hazırlama

Bu aşamada çalışmamız da belirtildiği üzere öncelikle fındık sert kabuğunda var olan paklitakselin (9) kesin miktarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmalarımızda objektif sonuç elde edebilmek amacıyla ülkemizin bütün fındık yetişen illerinden (Trabzon, Giresun, Ordu, Samsun, Düzce ve Sakarya) sert kabuk numuneleri toplandı ve gölgede kurutuldu. Kurutulan ve karıştırılan numuneler öğütücü değirmende 80 mesh boyutuna kadar öğütüldü. Öğütülen numunelerden 30'ar gramı ayrılarak derin dondurucuda analiz işlemine kadar bekletilmiştir. En uygun ekstraksiyon metodunun belirlenmesinin akabinde belirlenen metod ile bu örneklemeler tekrar analiz edilmiştir. Toplanan numuneler aşağıda tabloda verilmiştir.

Çizelge 2.1. Numunelerin bölgeleri.

Numune Kodu	Numunenin alındığı yer	Rakım (m)
N1	Düzce / Hacıaliler mevki	0-250
N2	Düzce / Çilimli / Kırkharman Köyü	250-500
N3	Düzce / Cumayeri ilçesi	250-500
N4	Düzce / Muncurlu mevki	500+
N5	Düzce / Gölyaka / Muhapdede köyü	500+
N6	Sakarya / Karasu / Aziziye / Karabaşdere mevki	0-250
N7	Sakarya / Kocaali / Kozluk köyü	0-250
N8	Sakarya / Kocaali / Melen ovası	0-250
N9	Sakarya / Karapürçek / Mecidiye / Gavurharmanı Köyü	250-500
N10	Sakarya / Geyve	500+
N11	Trabzon / Arsin / Elmaalan / Bekarlı	0-250
N12	Trabzon / Yomra / Yenice / Alçak mah	0-250
N13	Trabzon / Vakfikebir / Hacıköy mah	0-250
N14	Trabzon / Arsin / Yeşilce / Kerimoğlu	250-500
N15	Trabzon / Yomra / Yenice / Cami mah	250-500
N16	Trabzon / Arsin / Elmaalan / Alsancak	500+
N17	Giresun / Merkez	0-250
N18	Samsun / Terme / Sakarlı	0-250
N19	Samsun / Kirazlık / Çimenli köyü	250-500

Çalışmamızda ekstraksiyon ve analiz işlemleri HPLC grade saflıkta çözücüler ile gerçekleştirilmiştir. Numune öğütme işlemi RETSCH SM 100 marka değirmende gerçekleştirilmiştir. Çözücü evaporasyonu Heidolph Hei-Vap Value HL/G1 marka Rotary Evaporatör ile gerçekleştirilmiştir. HPLC analizleri SHIMADZU MARKA LC-20A model cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

2.1.2. Ekstraksiyon İşlemleri

Kurutulup öğütülen numuneler 10 gram olacak şekilde tartılarak balona alındı. Balona aşağıdaki tabloda belirtilen çözücü sistemlerinde tartılan miktarları ışıktan korumak amacıyla folyo ile sarılan balonda oda sıcaklığında 400 rpm de karıştırıldı. Akabinde süzülen karışım rotary evaporatörde kuruluğa kadar buharlaştırıldı. Kalan kuru ekstrakt 30 ml metanolde çözüldükten sonra yağimsı madde-boyar madde safsızlıklarından kurtulmak amacıyla hekzan ile (3x30 ml) yıkandı. Metanol fazı alınıp evapore edildikten sonra HPLC analizi için 4 ml metanolde çözülüp viallendi. Örnekler analize kadarlı amber renkli vialde -20 °C’ de saklanmıştır.

Çizelge 2.2. Çözücü sistemi.

Çözücü	Süre (saat)	Çözücü Oran (g/mL)	Yüzde Oran (%)
Metanol	72-48-24-16-8	1:5-1:10-1:15	100
Etanol	72-48-24-16-8	1:5-1:10-1:15	100
Aseton	72-48-24-16-8	1:5-1:10-1:15	100
DCM	72-48-24-16-8	1:5-1:10-1:15	100
Metanol-Etanol	72-48-24-16-8	1:5-1:10-1:15	75:25-50:50-25:75
Metanol-Aseton	72-48-24-16-8	1:5-1:10-1:15	75:25-50:50-25:75
Metanol-DCM	72-48-24-16-8	1:5-1:10-1:15	75:25-50:50-25:75
Etanol-Aseton	72-48-24-16-8	1:5-1:10-1:15	75:25-50:50-25:75
Etanol-DCM	72-48-24-16-8	1:5-1:10-1:15	75:25-50:50-25:75
Aseton-DCM	72-48-24-16-8	1:5-1:10-1:15	75:25-50:50-25:75
Etanol-Metanol	72-48-24-16-8	1:5-1:10-1:15	25:75-50:50-75:25
Aseton-Etanol	72-48-24-16-8	1:5-1:10-1:15	25:75-50:50-75:25

Çizelge 2.2 (devam). Çözücü sistemi.

Aseton-Metanol	72-48-24-16-8	1:5-1:10-1:15	25:75-50:50-75:25
DCM-Metanol	72-48-24-16-8	1:5-1:10-1:15	25:75-50:50-75:25
DCM-Aseton	72-48-24-16-8	1:5-1:10-1:15	25:75-50:50-75:25
DCM-Etanol	72-48-24-16-8	1:5-1:10-1:15	25:75-50:50-75:25

2.1.2.1. Aktif Karbon Etkisi

Ekstraksiyon işleminde adsorban etkisinin ölçülmesi amacıyla bazı numuneler seçilerek hekzan muamesesi sonrası aktif karbon ile muamele edilmiştir. Bu amaçla evaporasyon sonrası numune 30 ml diklorometanda çözülmüş ve akabinde 5 gram aktif karbon eklenerek 10 dakika karıştırılmıştır. Karıştırma sonrası mavi bant süzgeç kağıdından süzölmüş ve evapore edilerek HPLC analizine hazır hale getirilmiştir.

2.1.2.2. Asit Etkisi

Ekstraksiyona asit etkisini ölçebilmek amacıyla bazı numuneler için ekstraksiyon ortamına % 0,01 oranında asetik asit eklenerek asidik ortamda ekstraksiyon denemesi gerçekleştirilmiştir.

2.1.3. HPLC Analizi

Analizler HPLC ters faz (RP) fenil hekzil kolonda (250 x 4.6 mm, 5 µm partikül büyüklüğü) gerçekleştirilmiştir. Mobil faz gradient programda (ACN:H₂O - 25:75, 75:25, 40 dk) 1.00 mL/min akış hızında ve oda sıcaklığındaki kolonda gerçekleştirilmiştir. Enjeksiyon hacmi 20 µL olup UV dedektörde 227 nm' de pikler tayin edilmiştir. Standart olarak dört adet molekül (paklitaksel (9), sefalomannin (12), bakkatin III (11) ve 10-deasetil bakkatin III (10)) kullanılmıştır.

HPLC'de elde edilen piklerin doğrulaması 3 şekilde gerçekleştirilmiştir.

2.1.3.1. İç Standart Metodu

Bu aşamada ham ekstrakt içerisine konsantrasyonu belirli standartlardan eklenmiş ve eluant kesin olarak tespit edilmiştir.

2.1.3.2. Saf Eluant Piki

Tespit edilen pikler fraksiyon kollektörde toplanmış ve akabinde saf olarak yürütülerek saf standart ile çakışması tespit edilmiştir.

2.1.3.3. Kütle Tayini

Saf eluantlar toplanıp doğrulama amacıyla LC-MS/MS ile tayin yapılmıştır. Eluant MRM (Multiple reaction monitoring) kütlesi tayin edilmiş ve doğrulanmıştır. MRM'de Shimadzu LC MS/MS 8040 cihazı kullanılmıştır. Çalışma şartları; LC Şartları; Mobil faz A: Ultra saf su (%0.1 formik asit), Mobil faz B: Asetonitril, Akış: 0.3 ml/dk, Enjeksiyon hacmi: 5 µL, Gradient sistem; Zaman: 0. dk, B kons. %5, Zaman: 2. dk, B kons. %95, Zaman: 5. dk, B kons. %95, Zaman: 5.1 dk, B kons. %5, Zaman: 8. dk, stop.

MS/MS şartları; Polarite: ESI (+), Ion Spray Voltaj: 4.5 kV, Nebulizing gaz: 1.5 L/dk, Drying gaz: 10 L/dk, Desolvation Line Temperature: 25 °C, Block Heater Temperature: 400 °C .

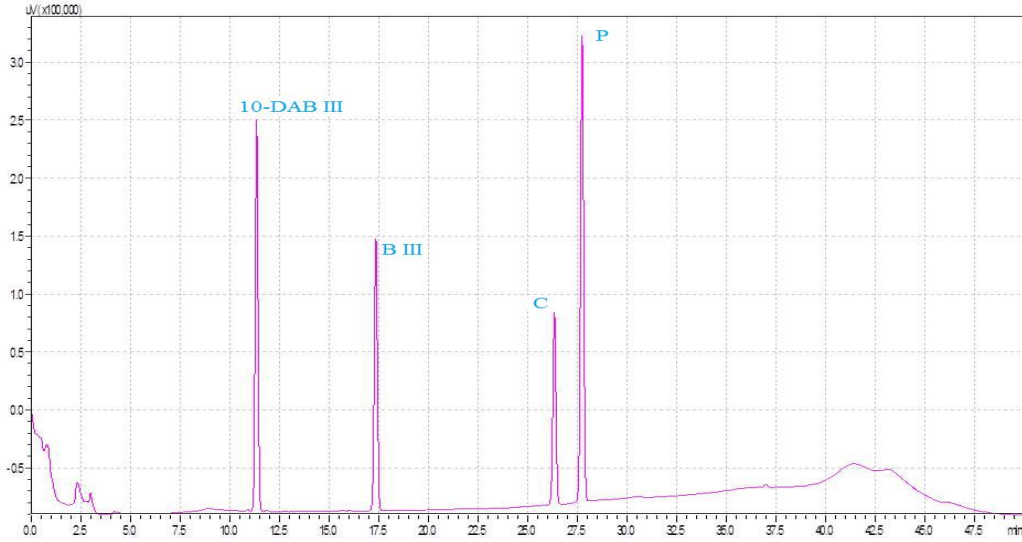
3. BULGULAR

3.1. HPLC YÖNTEM ÇALIŞMASI SONUÇLARI

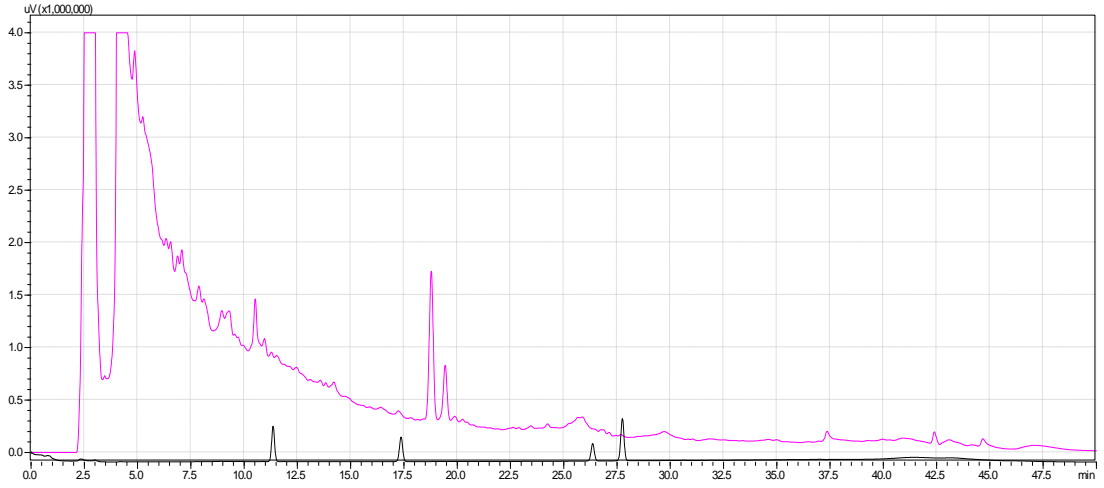
Bu aşamada öncelikle standartların ayırımı için yöntem geliştirilmiştir. Bu amaçla öncelikle ODS3 kolonda bir çok farklı yöntem çalışılmasına rağmen istenilen sonuçlara ulaşılamayınca fenilhekzil kolon denemelerine geçilmiştir. Akabinde yapılan izotermal ve gradient şartlarda denemelerde deneysel kısımda bahsi geçen yöntemle en uygun ayırım gerçekleştirilmiş ve analizler yapılmıştır.

3.1.1. İç Standart Metodu

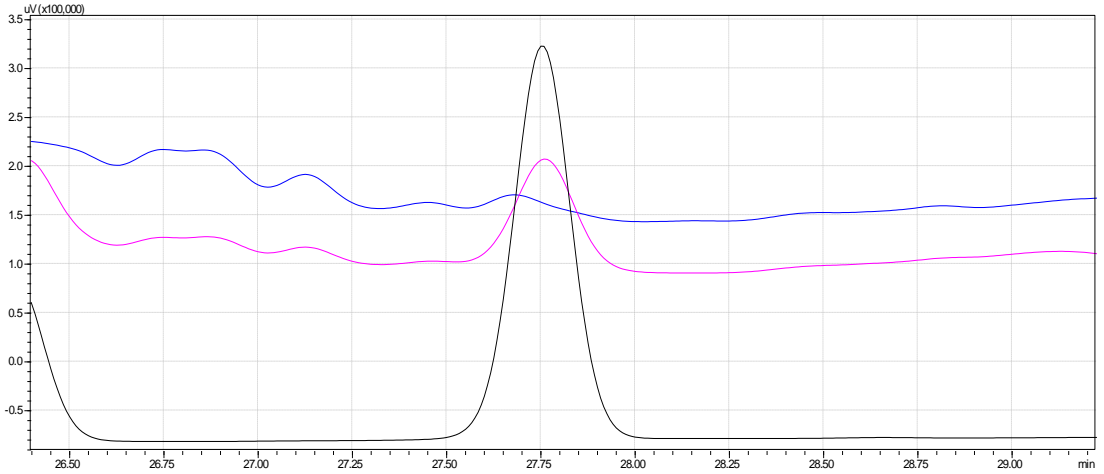
Bu aşamada ham ekstrakt içerisine konsantrasyonu belirli standartlardan eklenmiş ve eluant kesin olarak tespit edilmiştir.



Şekil 3.1. Dört standartın (paklitaksel, sefalomannin, bakkatin III ve 10-deasetil bakkatin III) HPLC kromatogramı.



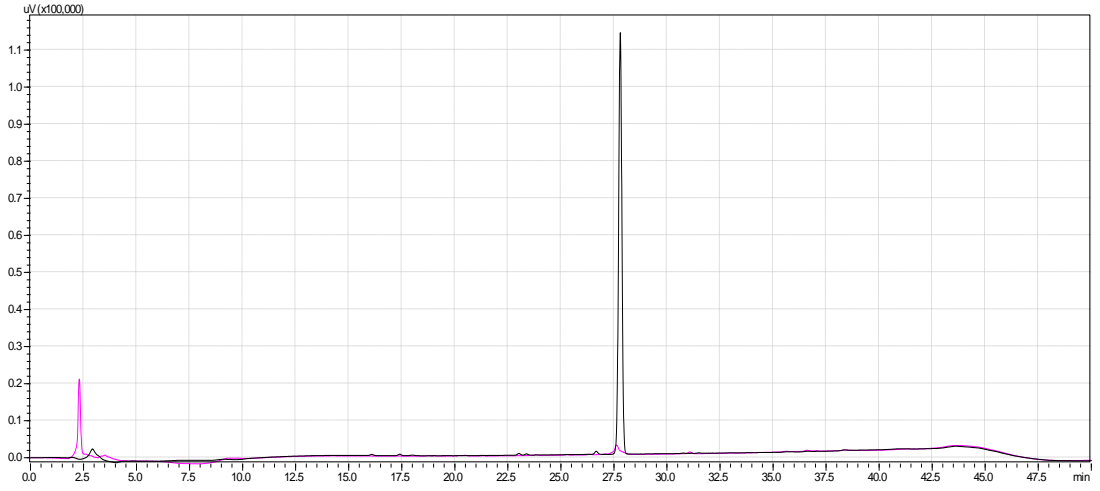
Şekil 3.2. Numune ile birlikte dört standartın (paklitaksel, sefalomannin, bakkatin III ve 10-deasetil bakkatin III) HPLC kromatogramı.



Şekil 3.3. Numune + dört standart ve numuneneye iç standart eklenmiş (paklitaksel, sefalomannin, bakkatin III ve 10-deasetil bakkatin III) HPLC kromatogramında sadece paklitaksel kısmının gösterimi (Siyah: std, Mavi: numune, Kırmızı: numuneneye iç std eklenmiş hali).

3.1.2. Saf Eluant Piki

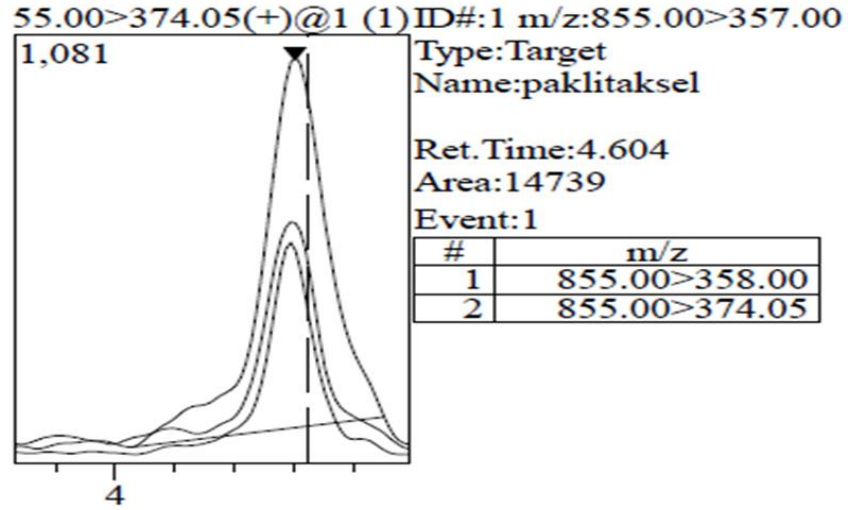
Tespit edilen pikler fraksiyon kollektörde toplanmış ve akabinde saf olarak yürütülerek saf standart ile çakışması tespit edilmiştir.



Şekil 3.4. Saf elantımız ve paklitaksel standartının HPLC kromatogramı (Siyah: saf paklitaksel, kırmızı: saf eluant).

3.1.3. Kütle Tayini

Saf eluantlar toplanıp doğrulama amacıyla LC-MS/MS ile tayin yapılmıştır. Eluant MRM (Multiple reaction monitoring) kütlesi tayin edilmiş ve doğrulanmıştır.



Şekil 3.5. Saf eluantın MRM sonucu.

3.2. EKSTRAKSİYON ÇALIŞMASI SONUÇLARI

Bu noktada belirtilmesi gereken husus öncelikli olarak 8 ve 16 saatlik çalışmalar komplike bir şekilde çalışılmıştır. Akabinde HPLC analizleri neticesinde yüksek etken madde değerleri çıkan şartların daha ileri saat çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Bu nedenle 8 ve 16 saatlik analiz sonuçları çok daha fazla adettedir. Sonuçlar kuru 1 gram sert kabukta mikrogram şeklinde verilmiştir.

Çalışmada paklitakselin, yanı sıra sefalomannin, bakkatin III ve 10-deasetil bakkatin III'de kullanılarak bunların sonuçları da elde edilmiştir.

3.2.1. Sekiz (8) Saatlik Çalışma Sonuçları

3.2.1.1. Sekiz (8) Saatlik Paklitaksel Sonuçları

Çizelge 3.1. Sekiz (8) saatlik paklitaksel sonuçları.

No	Çözücü		Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar (µg/1 g)
1	M		100	1:5	8	1,48
2	M		100	1:10	8	2,15
3	M		100	1:15	8	2,17
4	E		100	1:5	8	0,47
5	E		100	1:10	8	0,44
6	E		100	1:15	8	2,31
7	DCM		100	1:5	8	1,22
8	DCM		100	1:10	8	1,32
9	DCM		100	1:15	8	0,97
10	A		100	1:5	8	0,37
11	A		100	1:10	8	0,53
12	A		100	1:15	8	0,64
13	M	A	75:25	1:5	8	*
14	M	A	75:25	1:10	8	1,68
15	M	A	75:25	1:15	8	0,92
16	M	A	50:50	1:5	8	*
17	M	A	50:50	1:10	8	*
18	M	A	50:50	1:15	8	*
19	M	A	25:75	1:5	8	*
20	M	A	25:75	1:10	8	*
21	M	A	25:75	1:15	8	*
22	M	E	75:25	1:5	8	*
23	M	E	75:25	1:10	8	*
24	M	E	75:25	1:15	8	*
25	M	E	50:50	1:5	8	*
26	M	E	50:50	1:10	8	*
27	M	E	50:50	1:15	8	*
28	M	E	25:75	1:5	8	*
29	M	E	25:75	1:10	8	*

Çizelge 3.1 (devam). Sekiz (8) saatlik paklitaksel sonuçları.

No	Çözücü		Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar (µg/1 g)
30	M	E	25:75	1:15	8	*
31	E	A	75:25	1:5	8	0,51
32	E	A	75:25	1:10	8	0,61
33	E	A	75:25	1:15	8	0,89
34	E	A	50:50	1:5	8	0,48
35	E	A	50:50	1:10	8	0,56
36	E	A	50:50	1:15	8	0,61
37	E	A	25:75	1:5	8	0,86
38	E	A	25:75	1:10	8	0,51
39	E	A	25:75	1:15	8	0,57
40	DCM	M	75:25	1:5	8	*
41	DCM	M	75:25	1:10	8	1,02
42	DCM	M	75:25	1:15	8	1,02
43	DCM	M	50:50	1:5	8	*
44	DCM	M	50:50	1:10	8	1,54
45	DCM	M	50:50	1:15	8	1,75
46	DCM	M	25:75	1:5	8	*
47	DCM	M	25:75	1:10	8	1,85
48	DCM	M	25:75	1:15	8	1,35
49	DCM	E	75:25	1:5	8	1,74
50	DCM	E	75:25	1:10	8	1,38
51	DCM	E	75:25	1:15	8	1,41
52	DCM	E	50:50	1:5	8	1,07
53	DCM	E	50:50	1:10	8	0,97
54	DCM	E	50:50	1:15	8	1,05
55	DCM	E	25:75	1:5	8	0,92
56	DCM	E	25:75	1:10	8	0,78
57	DCM	E	25:75	1:15	8	0,89
58	A	DCM	75:25	1:5	8	0,46
59	A	DCM	75:25	1:10	8	0,66
60	A	DCM	75:25	1:15	8	0,89
61	A	DCM	50:50	1:5	8	0,93
62	A	DCM	50:50	1:10	8	0,99
63	A	DCM	50:50	1:15	8	1,18
64	A	DCM	25:75	1:5	8	*
65	A	DCM	25:75	1:10	8	1,04
66	A	DCM	25:75	1:15	8	1,18

3.2.1.2. Sekiz (8) Saatlik Sefalomannin Sonuçları

Çizelge 3.2. Sekiz (8) saatlik sefalomannin sonuçları.

No	Çözücü		Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar (µg/1 g)
1	M		100	1:5	8	5,87
2	M		100	1:10	8	6,34
3	M		100	1:15	8	7,57
4	E		100	1:5	8	2,73
5	E		100	1:10	8	4,47
6	E		100	1:15	8	6,54
7	DCM		100	1:5	8	4,79
8	DCM		100	1:10	8	6,26
9	DCM		100	1:15	8	4,43
10	A		100	1:5	8	1,96
11	A		100	1:10	8	3,80
12	A		100	1:15	8	3,23
13	M	A	75:25	1:5	8	*
14	M	A	75:25	1:10	8	7,80
15	M	A	75:25	1:15	8	7,09
16	M	A	50:50	1:5	8	*
17	M	A	50:50	1:10	8	*
18	M	A	50:50	1:15	8	*
19	M	A	25:75	1:5	8	*
20	M	A	25:75	1:10	8	*
21	M	A	25:75	1:15	8	*
22	M	E	75:25	1:5	8	*
23	M	E	75:25	1:10	8	*
24	M	E	75:25	1:15	8	*
25	M	E	50:50	1:5	8	*
26	M	E	50:50	1:10	8	*
27	M	E	50:50	1:15	8	*
28	M	E	25:75	1:5	8	*
29	M	E	25:75	1:10	8	*
30	M	E	25:75	1:15	8	*
31	E	A	75:25	1:5	8	4,28
32	E	A	75:25	1:10	8	3,06
33	E	A	75:25	1:15	8	3,96
34	E	A	50:50	1:5	8	3,29
35	E	A	50:50	1:10	8	3,49
36	E	A	50:50	1:15	8	3,01
37	E	A	25:75	1:5	8	1,77
38	E	A	25:75	1:10	8	2,36

Çizelge 3.2 (devam). Sekiz (8) saatlik sefalomannin sonuçları.

39	E	A	25:75	1:15	8	2,45
40	DCM	M	75:25	1:5	8	*
41	DCM	M	75:25	1:10	8	4,68
42	DCM	M	75:25	1:15	8	5,61
43	DCM	M	50:50	1:5	8	*
44	DCM	M	50:50	1:10	8	4,49
45	DCM	M	50:50	1:15	8	4,12
46	DCM	M	25:75	1:5	8	*
47	DCM	M	25:75	1:10	8	5,78
48	DCM	M	25:75	1:15	8	7,09
49	DCM	E	75:25	1:5	8	7,91
50	DCM	E	75:25	1:10	8	8,12
51	DCM	E	75:25	1:15	8	7,54
52	DCM	E	50:50	1:5	8	5,91
53	DCM	E	50:50	1:10	8	5,26
54	DCM	E	50:50	1:15	8	6,51
55	DCM	E	25:75	1:5	8	3,07
56	DCM	E	25:75	1:10	8	3,64
57	DCM	E	25:75	1:15	8	4,81
58	A	DCM	75:25	1:5	8	2,30
59	A	DCM	75:25	1:10	8	3,18
60	A	DCM	75:25	1:15	8	5,26
61	A	DCM	50:50	1:5	8	5,86
62	A	DCM	50:50	1:10	8	6,21
63	A	DCM	50:50	1:15	8	6,28
64	A	DCM	25:75	1:5	8	*
65	A	DCM	25:75	1:10	8	7,93
66	A	DCM	25:75	1:15	8	7,77

3.2.1.3. Sekiz (8) Saatlik Bakkatin III Sonuçları

Çizelge 3.3. Sekiz (8) saatlik bakkatin III sonuçları.

No	Çözücü	Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar (µg/1 g)
1	M	100	1:5	8	7,10
2	M	100	1:10	8	7,21
3	M	100	1:15	8	6,44
4	E	100	1:5	8	0,95
5	E	100	1:10	8	1,67

Çizelge 3.3 (devam). Sekiz (8) saatlik bakkatin III sonuçları.

No	Çözücü		Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar (µg/1 g)
6	E		100	1:15	8	3,69
7	DCM		100	1:5	8	3,26
8	DCM		100	1:10	8	2,96
9	DCM		100	1:15	8	3,09
10	A		100	1:5	8	0,52
11	A		100	1:10	8	1,14
12	A		100	1:15	8	0,91
13	M	A	75:25	1:5	8	*
14	M	A	75:25	1:10	8	4,50
15	M	A	75:25	1:15	8	1,76
16	M	A	50:50	1:5	8	*
17	M	A	50:50	1:10	8	*
18	M	A	50:50	1:15	8	*
19	M	A	25:75	1:5	8	*
20	M	A	25:75	1:10	8	*
21	M	A	25:75	1:15	8	*
22	M	E	75:25	1:5	8	*
23	M	E	75:25	1:10	8	*
24	M	E	75:25	1:15	8	*
25	M	E	50:50	1:5	8	*
26	M	E	50:50	1:10	8	*
27	M	E	50:50	1:15	8	*
28	M	E	25:75	1:5	8	*
29	M	E	25:75	1:10	8	*
30	M	E	25:75	1:15	8	*
31	E	A	75:25	1:5	8	1,57
32	E	A	75:25	1:10	8	1,61
33	E	A	75:25	1:15	8	1,74
34	E	A	50:50	1:5	8	1,22
35	E	A	50:50	1:10	8	1,27
36	E	A	50:50	1:15	8	1,16
37	E	A	25:75	1:5	8	0,50
38	E	A	25:75	1:10	8	0,84
39	E	A	25:75	1:15	8	0,65
40	DCM	M	75:25	1:5	8	*
41	DCM	M	75:25	1:10	8	3,54
42	DCM	M	75:25	1:15	8	5,83
43	DCM	M	50:50	1:5	8	*
44	DCM	M	50:50	1:10	8	1,21
45	DCM	M	50:50	1:15	8	1,22
46	DCM	M	25:75	1:5	8	*

Çizelge 3.3 (devam). Sekiz (8) saatlik bakkatin III sonuçları.

No	Çözücü	Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar (µg/1 g)	No
47	DCM	M	25:75	1:10	8	1,66
48	DCM	M	25:75	1:15	8	2,15
49	DCM	E	75:25	1:5	8	3,51
50	DCM	E	75:25	1:10	8	5,78
51	DCM	E	75:25	1:15	8	4,51
52	DCM	E	50:50	1:5	8	1,94
53	DCM	E	50:50	1:10	8	1,89
54	DCM	E	50:50	1:15	8	3,72
55	DCM	E	25:75	1:5	8	1,41
56	DCM	E	25:75	1:10	8	1,38
57	DCM	E	25:75	1:15	8	2,20
58	A	DCM	75:25	1:5	8	0,92
59	A	DCM	75:25	1:10	8	1,36
60	A	DCM	75:25	1:15	8	2,27
61	A	DCM	50:50	1:5	8	3,53
62	A	DCM	50:50	1:10	8	3,51
63	A	DCM	50:50	1:15	8	3,11
64	A	DCM	25:75	1:5	8	*
65	A	DCM	25:75	1:10	8	3,35
66	A	DCM	25:75	1:15	8	3,20

3.2.1.4. Sekiz (8) Saatlik 10-Deasetil Bakkatin III Sonuçları

Çizelge 3.4. Sekiz (8) saatlik 10-deasetil bakkatin III sonuçları.

No	Çözücü	Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar (µg/1 g)	
1	M	100	1:5	8	7,60	
2	M	100	1:10	8	6,34	
3	M	100	1:15	8	7,50	
4	E	100	1:5	8	0,14	
5	E	100	1:10	8	0,23	
6	E	100	1:15	8	4,47	
7	DCM	100	1:5	8	1,59	
8	DCM	100	1:10	8	*	
9	DCM	100	1:15	8	1,21	
10	A	100	1:5	8	*	
11	A	100	1:10	8	0,48	
12	A	100	1:15	8	0,15	
13	M	A	75:25	1:5	8	*

Çizelge 3.4 (devam). Sekiz (8) saatlik 10-deasetil bakkatin III sonuçları.

14	M	A	75:25	1:10	8	5,15
15	M	A	75:25	1:15	8	0,26
16	M	A	50:50	1:5	8	*
17	M	A	50:50	1:10	8	*
18	M	A	50:50	1:15	8	*
19	M	A	25:75	1:5	8	*
20	M	A	25:75	1:10	8	*
21	M	A	25:75	1:15	8	*
22	M	E	75:25	1:5	8	*
23	M	E	75:25	1:10	8	*
24	M	E	75:25	1:15	8	*
25	M	E	50:50	1:5	8	*
26	M	E	50:50	1:10	8	*
27	M	E	50:50	1:15	8	*
28	M	E	25:75	1:5	8	*
29	M	E	25:75	1:10	8	*
30	M	E	25:75	1:15	8	*
31	E	A	75:25	1:5	8	0,49
32	E	A	75:25	1:10	8	0,24
33	E	A	75:25	1:15	8	0,70
34	E	A	50:50	1:5	8	0,41
35	E	A	50:50	1:10	8	1,99
36	E	A	50:50	1:15	8	0,40
37	E	A	25:75	1:5	8	*
38	E	A	25:75	1:10	8	0,27
39	E	A	25:75	1:15	8	0,03
40	DCM	M	75:25	1:5	8	*
41	DCM	M	75:25	1:10	8	0,11
42	DCM	M	75:25	1:15	8	6,60
43	DCM	M	50:50	1:5	8	*
44	DCM	M	50:50	1:10	8	0,66
45	DCM	M	50:50	1:15	8	0,58
46	DCM	M	25:75	1:5	8	*
47	DCM	M	25:75	1:10	8	0,76
48	DCM	M	25:75	1:15	8	1,53
49	DCM	E	75:25	1:5	8	2,12
50	DCM	E	75:25	1:10	8	8,60
51	DCM	E	75:25	1:15	8	4,97
52	DCM	E	50:50	1:5	8	2,03
53	DCM	E	50:50	1:10	8	1,61
54	DCM	E	50:50	1:15	8	3,56
55	DCM	E	25:75	1:5	8	0,65
56	DCM	E	25:75	1:10	8	0,76

Çizelge 3.4 (devam). Sekiz (8) saatlik 10-deasetil bakkatin III sonuçları.

57	DCM	E	25:75	1:15	8	1,38
58	A	DCM	75:25	1:5	8	*
59	A	DCM	75:25	1:10	8	*
60	A	DCM	75:25	1:15	8	0,92
61	A	DCM	50:50	1:5	8	2,20
62	A	DCM	50:50	1:10	8	2,96
63	A	DCM	50:50	1:15	8	2,67
64	A	DCM	25:75	1:5	8	*
65	A	DCM	25:75	1:10	8	2,72
66	A	DCM	25:75	1:15	8	2,25

3.2.2. Onaltı (16) Saatlik Çalışma Sonuçları

3.2.2.1. Onaltı (16) Saatlik Paklitaksel Sonuçları

Çizelge 3.5. Onaltı (16) saatlik paklitaksel sonuçları.

No	Çözücü		Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar (µg/1 g)
1	M		100	1:5	16	1,83
2	M		100	1:10	16	1,93
3	M		100	1:15	16	2,54
4	E		100	1:5	16	7,19
5	E		100	1:10	16	4,83
6	E		100	1:15	16	10,15
7	DCM		100	1:5	16	1,16
8	DCM		100	1:10	16	1,42
9	DCM		100	1:15	16	1,43
10	A		100	1:5	16	0,58
11	A		100	1:10	16	0,58
12	A		100	1:15	16	0,51
13	M	A	75:25	1:5	16	1,21
14	M	A	75:25	1:10	16	0,76
15	M	A	75:25	1:15	16	2,33
16	M	A	50:50	1:5	16	0,84
17	M	A	50:50	1:10	16	1,39
18	M	A	50:50	1:15	16	1,71
19	M	A	25:75	1:5	16	1,39
20	M	A	25:75	1:10	16	1,36
21	M	A	25:75	1:15	16	1,78
22	M	E	75:25	1:5	16	0,68
23	M	E	75:25	1:10	16	0,77

Çizelge 3.5 (devam). Onaltı (16) saatlik paklitaksel sonuçları.

24	M	E	75:25	1:15	16	*
25	M	E	50:50	1:5	16	*
26	M	E	50:50	1:10	16	*
27	M	E	50:50	1:15	16	*
28	M	E	25:75	1:5	16	0,98
29	M	E	25:75	1:10	16	0,61
30	M	E	25:75	1:15	16	0,84
31	E	A	75:25	1:5	16	1,05
32	E	A	75:25	1:10	16	1,00
33	E	A	75:25	1:15	16	0,59
34	E	A	50:50	1:5	16	0,99
35	E	A	50:50	1:10	16	0,47
36	E	A	50:50	1:15	16	0,68
37	E	A	25:75	1:5	16	0,37
38	E	A	25:75	1:10	16	0,65
39	E	A	25:75	1:15	16	0,64
40	DCM	M	75:25	1:5	16	0,86
41	DCM	M	75:25	1:10	16	0,85
42	DCM	M	75:25	1:15	16	0,76
43	DCM	M	50:50	1:5	16	2,23
44	DCM	M	50:50	1:10	16	1,46
45	DCM	M	50:50	1:15	16	1,02
46	DCM	M	25:75	1:5	16	1,30
47	DCM	M	25:75	1:10	16	1,31
48	DCM	M	25:75	1:15	16	1,73
49	DCM	E	75:25	1:5	16	0,80
50	DCM	E	75:25	1:10	16	1,05
51	DCM	E	75:25	1:15	16	1,15
52	DCM	E	50:50	1:5	16	0,95
53	DCM	E	50:50	1:10	16	1,18
54	DCM	E	50:50	1:15	16	0,93
55	DCM	E	25:75	1:5	16	0,69
56	DCM	E	25:75	1:10	16	0,67
57	DCM	E	25:75	1:15	16	0,70
58	A	DCM	75:25	1:5	16	0,55
59	A	DCM	75:25	1:10	16	0,67
60	A	DCM	75:25	1:15	16	0,62
61	A	DCM	50:50	1:5	16	0,80
62	A	DCM	50:50	1:10	16	1,02
63	A	DCM	50:50	1:15	16	0,91
64	A	DCM	25:75	1:5	16	0,78
65	A	DCM	25:75	1:10	16	1,09
66	A	DCM	25:75	1:15	16	0,90

3.2.2.2. Onaltı (16) Saatlik Sefalomannin Sonuçları

Çizelge 3.6. Onaltı (16) saatlik sefalomannin sonuçları.

No	Çözücü		Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar (µg/1 g)
1	M		100	1:5	16	5,41
2	M		100	1:10	16	6,13
3	M		100	1:15	16	8,89
4	E		100	1:5	16	3,81
5	E		100	1:10	16	3,56
6	E		100	1:15	16	8,64
7	DCM		100	1:5	16	4,93
8	DCM		100	1:10	16	6,23
9	DCM		100	1:15	16	5,09
10	A		100	1:5	16	2,51
11	A		100	1:10	16	2,89
12	A		100	1:15	16	2,91
13	M	A	75:25	1:5	16	7,37
14	M	A	75:25	1:10	16	6,84
15	M	A	75:25	1:15	16	8,50
16	M	A	50:50	1:5	16	2,16
17	M	A	50:50	1:10	16	5,78
18	M	A	50:50	1:15	16	6,95
19	M	A	25:75	1:5	16	4,99
20	M	A	25:75	1:10	16	5,32
21	M	A	25:75	1:15	16	6,20
22	M	E	75:25	1:5	16	1,99
23	M	E	75:25	1:10	16	3,56
24	M	E	75:25	1:15	16	*
25	M	E	50:50	1:5	16	*
26	M	E	50:50	1:10	16	*
27	M	E	50:50	1:15	16	*
28	M	E	25:75	1:5	16	0,47
29	M	E	25:75	1:10	16	3,63
30	M	E	25:75	1:15	16	4,05
31	E	A	75:25	1:5	16	3,19
32	E	A	75:25	1:10	16	3,07
33	E	A	75:25	1:15	16	3,00
34	E	A	50:50	1:5	16	4,10
35	E	A	50:50	1:10	16	2,35
36	E	A	50:50	1:15	16	3,39
37	E	A	25:75	1:5	16	3,06

Çizelge 3.6 (devam). Onaltı (16) saatlik sefalomannin sonuçları.

38	E	A	25:75	1:10	16	2,68
39	E	A	25:75	1:15	16	2,94
40	DCM	M	75:25	1:5	16	3,38
41	DCM	M	75:25	1:10	16	4,33
42	DCM	M	75:25	1:15	16	5,32
43	DCM	M	50:50	1:5	16	5,76
44	DCM	M	50:50	1:10	16	5,13
45	DCM	M	50:50	1:15	16	6,20
46	DCM	M	25:75	1:5	16	2,96
47	DCM	M	25:75	1:10	16	4,86
48	DCM	M	25:75	1:15	16	5,96
49	DCM	E	75:25	1:5	16	3,51
50	DCM	E	75:25	1:10	16	5,21
51	DCM	E	75:25	1:15	16	6,48
52	DCM	E	50:50	1:5	16	5,06
53	DCM	E	50:50	1:10	16	4,59
54	DCM	E	50:50	1:15	16	4,84
55	DCM	E	25:75	1:5	16	3,29
56	DCM	E	25:75	1:10	16	4,09
57	DCM	E	25:75	1:15	16	4,22
58	A	DCM	75:25	1:5	16	3,37
59	A	DCM	75:25	1:10	16	4,63
60	A	DCM	75:25	1:15	16	4,60
61	A	DCM	50:50	1:5	16	5,32
62	A	DCM	50:50	1:10	16	7,25
63	A	DCM	50:50	1:15	16	5,68
64	A	DCM	25:75	1:5	16	4,26
65	A	DCM	25:75	1:10	16	7,09
66	A	DCM	25:75	1:15	16	5,55

3.2.2.3. Onaltı (16) Saatlik Bakkatin III Sonuçları

Çizelge 3.7. Onaltı (16) saatlik bakkatin III sonuçları.

No	Çözücü	Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar (µg/1 g)
1	M	100	1:5	16	6,71
2	M	100	1:10	16	4,60
3	M	100	1:15	16	5,88
4	E	100	1:5	16	11,14
5	E	100	1:10	16	16,27

Çizelge 3.7 (devam). Onaltı (16) saatlik bakkatin III sonuçları.

6	E		100	1:15	16	19,71
7	DCM		100	1:5	16	2,33
8	DCM		100	1:10	16	3,85
9	DCM		100	1:15	16	3,09
10	A		100	1:5	16	0,57
11	A		100	1:10	16	0,85
12	A		100	1:15	16	1,11
13	M	A	75:25	1:5	16	4,73
14	M	A	75:25	1:10	16	2,31
15	M	A	75:25	1:15	16	6,34
16	M	A	50:50	1:5	16	3,34
17	M	A	50:50	1:10	16	2,30
18	M	A	50:50	1:15	16	2,48
19	M	A	25:75	1:5	16	3,34
20	M	A	25:75	1:10	16	0,91
21	M	A	25:75	1:15	16	1,25
22	M	E	75:25	1:5	16	0,77
23	M	E	75:25	1:10	16	0,92
24	M	E	75:25	1:15	16	*
25	M	E	50:50	1:5	16	*
26	M	E	50:50	1:10	16	*
27	M	E	50:50	1:15	16	*
28	M	E	25:75	1:5	16	1,73
29	M	E	25:75	1:10	16	1,41
30	M	E	25:75	1:15	16	1,60
31	E	A	75:25	1:5	16	1,63
32	E	A	75:25	1:10	16	1,48
33	E	A	75:25	1:15	16	1,78
34	E	A	50:50	1:5	16	4,62
35	E	A	50:50	1:10	16	0,94
36	E	A	50:50	1:15	16	1,38
37	E	A	25:75	1:5	16	1,19
38	E	A	25:75	1:10	16	0,73
39	E	A	25:75	1:15	16	1,20
40	DCM	M	75:25	1:5	16	1,76
41	DCM	M	75:25	1:10	16	3,89
42	DCM	M	75:25	1:15	16	2,57
43	DCM	M	50:50	1:5	16	4,71
44	DCM	M	50:50	1:10	16	2,01
45	DCM	M	50:50	1:15	16	5,40
46	DCM	M	25:75	1:5	16	1,04
47	DCM	M	25:75	1:10	16	4,77
48	DCM	M	25:75	1:15	16	5,48

Çizelge 3.7 (devam). Onaltı (16) saatlik bakkatin III sonuçları.

49	DCM	E	75:25	1:5	16	3,88
50	DCM	E	75:25	1:10	16	5,24
51	DCM	E	75:25	1:15	16	5,90
52	DCM	E	50:50	1:5	16	3,43
53	DCM	E	50:50	1:10	16	2,46
54	DCM	E	50:50	1:15	16	2,71
55	DCM	E	25:75	1:5	16	1,47
56	DCM	E	25:75	1:10	16	1,50
57	DCM	E	25:75	1:15	16	1,76
58	A	DCM	75:25	1:5	16	1,30
59	A	DCM	75:25	1:10	16	1,83
60	A	DCM	75:25	1:15	16	1,90
61	A	DCM	50:50	1:5	16	3,16
62	A	DCM	50:50	1:10	16	4,96
63	A	DCM	50:50	1:15	16	3,90
64	A	DCM	25:75	1:5	16	2,25
65	A	DCM	25:75	1:10	16	3,08
66	A	DCM	25:75	1:15	16	2,68

3.2.2.4. Onaltı (16) Saatlik 10-Deasetil Bakkatin III Sonuçları

Çizelge 3.8. Onaltı (16) saatlik 10-deasetil bakkatin III sonuçları.

No	Çözücü	Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar (µg/1 g)
1	M	100	1:5	16	0,79
2	M	100	1:10	16	3,13
3	M	100	1:15	16	2,62
4	E	100	1:5	16	*
5	E	100	1:10	16	0,92
6	E	100	1:15	16	*
7	DCM	100	1:5	16	1,33
8	DCM	100	1:10	16	2,60
9	DCM	100	1:15	16	2,16
10	A	100	1:5	16	*
11	A	100	1:10	16	*
12	A	100	1:15	16	*
13	M	A	75:25	1:5	4,59
14	M	A	75:25	1:10	0,90
15	M	A	75:25	1:15	6,28
16	M	A	50:50	1:5	2,73
17	M	A	50:50	1:10	2,13
18	M	A	50:50	1:15	2,06

Çizelge 3.8 (devam). Onaltı (16) saatlik 10-deasetil bakkatin III sonuçları.

19	M	A	25:75	1:5	16	4,90
20	M	A	25:75	1:10	16	*
21	M	A	25:75	1:15	16	0,12
22	M	E	75:25	1:5	16	0,29
23	M	E	75:25	1:10	16	0,39
24	M	E	75:25	1:15	16	*
25	M	E	50:50	1:5	16	*
26	M	E	50:50	1:10	16	*
27	M	E	50:50	1:15	16	*
28	M	E	25:75	1:5	16	0,77
29	M	E	25:75	1:10	16	0,87
30	M	E	25:75	1:15	16	1,11
31	E	A	75:25	1:5	16	0,31
32	E	A	75:25	1:10	16	0,43
33	E	A	75:25	1:15	16	0,48
34	E	A	50:50	1:5	16	4,51
35	E	A	50:50	1:10	16	0,08
36	E	A	50:50	1:15	16	0,41
37	E	A	25:75	1:5	16	0,48
38	E	A	25:75	1:10	16	0,41
39	E	A	25:75	1:15	16	0,33
40	DCM	M	75:25	1:5	16	1,33
41	DCM	M	75:25	1:10	16	4,57
42	DCM	M	75:25	1:15	16	2,59
43	DCM	M	50:50	1:5	16	5,02
44	DCM	M	50:50	1:10	16	1,63
45	DCM	M	50:50	1:15	16	5,10
46	DCM	M	25:75	1:5	16	0,09
47	DCM	M	25:75	1:10	16	4,40
48	DCM	M	25:75	1:15	16	6,86
49	DCM	E	75:25	1:5	16	3,21
50	DCM	E	75:25	1:10	16	4,60
51	DCM	E	75:25	1:15	16	5,18
52	DCM	E	50:50	1:5	16	2,38
53	DCM	E	50:50	1:10	16	1,26
54	DCM	E	50:50	1:15	16	1,77
55	DCM	E	25:75	1:5	16	1,56
56	DCM	E	25:75	1:10	16	1,02
57	DCM	E	25:75	1:15	16	1,57
58	A	DCM	75:25	1:5	16	0,51
59	A	DCM	75:25	1:10	16	1,20
60	A	DCM	75:25	1:15	16	1,34
61	A	DCM	50:50	1:5	16	2,07

Çizelge 3.8 (devam). Onaltı (16) saatlik 10-deasetil bakkatin III sonuçları.

62	A	DCM	50:50	1:10	16	3,46
63	A	DCM	50:50	1:15	16	2,47
64	A	DCM	25:75	1:5	16	1,43
65	A	DCM	25:75	1:10	16	1,51
66	A	DCM	25:75	1:15	16	3,06

3.2.3. Yirmi Dört (24) Saatlik Çalışma Sonuçları

3.2.3.1. Yirmi Dört (24) Saatlik Paklitaksel Sonuçları

Çizelge 3.9. Yirmi dört (24) saatlik paklitaksel sonuçları.

No	Çözücü	Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar (µg/1 g)
1	M	100	1:5	24	1,46
2	M	100	1:10	24	1,93
3	M	100	1:15	24	1,90
4	E	100	1:5	24	1,66
5	E	100	1:10	24	1,56
6	E	100	1:15	24	13,87

3.2.3.2. Yirmi Sört (24) Saatlik Sefalomannin Sonuçları

Çizelge 3.10. Yirmi dört (24) saatlik sefalomannin sonuçları.

No	Çözücü	Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar (µg/1 g)
1	M	100	1:5	24	3,97
2	M	100	1:10	24	3,20
3	M	100	1:15	24	3,70
4	E	100	1:5	24	6,88
5	E	100	1:10	24	3,57
6	E	100	1:15	24	13,51

3.2.3.3. Yirmi Dört (24) Saatlik Bakkatin III Sonuçları

Çizelge 3.11. Yirmi dört (24) saatlik bakkatin III sonuçları.

No	Çözücü	Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar (µg/1 g)
1	M	100	1:5	24	6,75
2	M	100	1:10	24	9,83
3	M	100	1:15	24	8,39
4	E	100	1:5	24	4,11
5	E	100	1:10	24	3,17
6	E	100	1:15	24	4,19

3.2.3.4. Yirmi Dört (24) Saatlik 10-Deasetil Bakkatin III Sonuçları

Çizelge 3.12. Yirmi dört (24) saatlik 10-deasetil bakkatin III sonuçları.

No	Çözücü	Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar (µg/1 g)
1	M	100	1:5	24	6,75
2	M	100	1:10	24	9,83
3	M	100	1:15	24	8,39
4	E	100	1:5	24	4,11
5	E	100	1:10	24	3,17
6	E	100	1:15	24	4,19

3.2.4. Kırk Sekiz (48) Saatlik Çalışma Sonuçları

3.2.4.1. Kırk Sekiz (48) Saatlik Paklitaksel Sonuçları

Çizelge 3.13. Kırk sekiz (48) saatlik paklitaksel sonuçları.

No	Çözücü	Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar (µg/1 g)
1	M	100	1:5	48	0,86
2	M	100	1:10	48	1,70
3	M	100	1:15	48	2,40
4	E	100	1:5	48	2,58
5	E	100	1:10	48	2,17
6	E	100	1:15	48	4,83

3.2.4.2. Kırk Sekiz (48) Saatlik Sefalomannin Sonuçları

Çizelge 3.14. Kırk sekiz (48) saatlik sefalomannin sonuçları.

No	Çözücü	Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar ($\mu\text{g}/1\text{ g}$)
1	M	100	1:5	48	0,52
2	M	100	1:10	48	4,61
3	M	100	1:15	48	14,46
4	E	100	1:5	48	2,84
5	E	100	1:10	48	3,51
6	E	100	1:15	48	25,82

3.2.4.3. Kırk Sekiz (48) Saatlik Bakkatin III Sonuçları

Çizelge 3.15. Kırk sekiz (48) saatlik bakkatin III sonuçları.

No	Çözücü	Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar ($\mu\text{g}/1\text{ g}$)
1	M	100	1:5	48	6,32
2	M	100	1:10	48	7,79
3	M	100	1:15	48	9,22
4	E	100	1:5	48	2,59
5	E	100	1:10	48	3,12
6	E	100	1:15	48	7,45

3.2.4.4. Kırk Sekiz (48) Saatlik 10-Deasetil Bakkatin III Sonuçları

Çizelge 3.16. Kırk sekiz (48) saatlik 10-deasetil bakkatin III sonuçları.

No	Çözücü	Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar ($\mu\text{g}/1\text{ g}$)
1	M	100	1:5	48	6,32
2	M	100	1:10	48	7,79
3	M	100	1:15	48	9,22
4	E	100	1:5	48	2,59
5	E	100	1:10	48	3,12
6	E	100	1:15	48	6,82

3.2.5. Yetmiş İki (72) Saatlik Çalışma Sonuçları

3.2.5.1. Yetmiş İki (72) Saatlik Paklitaksel Sonuçları

Çizelge 3.17. Yetmiş iki (72) saatlik paklitaksel sonuçları.

No	Çözücü	Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar ($\mu\text{g}/1 \text{ g}$)
1	M	100	1:5	72	4,96
2	M	100	1:10	72	2,47
3	M	100	1:15	72	3,32
4	E	100	1:5	72	2,93
5	E	100	1:10	72	2,77
6	E	100	1:15	72	5,82

3.2.5.2. Yetmiş İki (72) Saatlik Sefalomannin Sonuçları

Çizelge 3.18. Yetmiş iki (72) saatlik sefalomannin sonuçları.

No	Çözücü	Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar ($\mu\text{g}/1 \text{ g}$)
1	M	100	1:5	72	25,20
2	M	100	1:10	72	5,29
3	M	100	1:15	72	15,71
4	E	100	1:5	72	2,61
5	E	100	1:10	72	2,71
6	E	100	1:15	72	29,62

3.2.5.3. Yetmiş İki (72) Saatlik Bakkatin III Sonuçları

Çizelge 3.19. Yetmiş iki (72) saatlik bakkatin III sonuçları.

No	Çözücü	Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar ($\mu\text{g}/1 \text{ g}$)
1	M	100	1:5	72	7,39
2	M	100	1:10	72	5,98
3	M	100	1:15	72	14,62
4	E	100	1:5	72	5,23
5	E	100	1:10	72	5,39
6	E	100	1:15	72	8,52

3.2.5.4. Yetmiş İki (72) Saatlik 10-Deasetil Bakkatin III Sonuçları

Çizelge 3.20. Yetmiş iki (72) saatlik 10-deasetil bakkatin III sonuçları.

No	Çözücü	Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar (µg/1 g)
1	M	100	1:5	72	7,39
2	M	100	1:10	72	5,98
3	M	100	1:15	72	14,62
4	E	100	1:5	72	5,23
5	E	100	1:10	72	5,39
6	E	100	1:15	72	4,72

3.2.5. Aktif Karbon Etkisi Sonuçları

Çizelge 3.21. Yetmiş iki (72) saatlik paklitaksel sonuçları (aktif karbon).

No	Çözücü	Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar (µg/1 g)
1	M	100	1:15	72	1,69

3.2.6. Asit Etkisi Sonuçları

Çizelge 3.22. Yetmiş iki (72) saatlik paklitaksel sonuçları (asit etkisi).

No	Çözücü	Karışım (yüzde)	Çözücü (oran g/ml)	Süre (saat)	Miktar (µg/1 g)
1	M	100	1:15	72	2,05
2	E	100	1:15	72	4,11

3.3. ÖRNEKLEM SONUÇLARI NETİCESİNDE KESİN MİKTAR ÇALIŞMA SONUÇLARI

3.3.1. Sert Kabukta Paklitaksel/Sefalomannin/Bakkatin III/10-Deasetil Bakkatin III Sonuçları

Çizelge 3.23. Sert kabukta paklitaksel/sefalomannin/bakkatin III/10-deasetil bakkatin III sonuçları.

Numune Kodu	Miktar (µg/1 g)			
	Paklitaksel	Sefalomannin	Bakkatin III	10-DAB III
N1	1,89	9,46	6,62	2,38
N2	4,85	5,96	8,82	5,41
N3	5,30	2,65	2,77	31,95
N4	4,07	3,10	7,36	15,38
N5	6,68	2,17	0,88	92,40
N6	5,79	1,95	4,08	1,66
N7	4,15	2,14	4,19	5,72
N8	5,25	3,87	4,15	5,00
N9	2,50	1,43	13,59	101,94
N10	7,42	2,66	20,04	48,66
N11	1,54	4,31	5,76	5,86
N12	1,96	5,87	5,27	17,64
N13	1,41	3,85	4,12	5,44
N14	2,31	4,41	14,30	*
N15	1,81	1,62	3,68	*
N16	4,22	8,86	12,57	2,44
N17	1,82	0,55	2,51	10,89
N18	0,80	2,97	2,22	48,49
N19	2,33	3,44	7,48	0,67
Ort.±stds p	3,48±1,97	3,75±2,37	6,86±4,99	23,64±31,62

4. TARTIŞMA SONUÇ

Kanser, genetik değişkenlik ve birden çok moleküler değişikliğin birleşmesi sonucu oluşan kompleks bir hastalıktır. Hücre döngüsünün bozularak sürekli olarak yeni kanser hücrelerinin meydana gelmesi ve yok edilememesi ile karakterize edilir. Dünya genelinde kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci en sık ölüm nedenidir. Kansere karşı bir çok tedavi şekli olmasına rağmen günümüzde en çok kullanılan kemoterapidir ve paklitaksel ise en çok kullanılan kemoterapi ilaçlarındandır. Bu tedavi şeklinde kanserli hücrelere karşı kemoterapi ajanları kullanılmaktadır. Bunların arasında dünyada en etkili ve en çok kullanılanlardan birisi paklitakseldir. Doğal anti kanser bileşiklerinden biri olan paklitaksel, diterpen ailesinden olup tedavi amaçlı klinikte rahim, akciğer ve meme kanserlerine karşı ciddi miktarlarda kullanılan oldukça yüksek etkiye sahip bir ilaçtır. Son yıllarda paklitakselin baş ve boyun bölgesindeki kanser türleri için de potansiyel bir tedavi aracı olduğu ispatlanmıştır.

Paklitaksele göre daha düşük antikanser etkiye sahip ve moleköl yapıları birbirine çok yakın olan sefalomannin, taksan ilaçlarının yarı sentezinde ve düzenlenmesinde başlangıç maddesi olarak kullanılmaktadır. Paklitaksel, aynı zamanda bakkatin III ve 10-DAB III' e yan zincirin bağlanması içeren yarı sentetik yöntem paklitaksel eldesi için olanak vermektedir. Doğada oldukça az bulunmasından dolayı bu kompleks molekölün sentetik olarak eldesi için birçok çalışma yapılmış fakat total sentezi kompleks yapısından dolayı oldukça zordur. Bu sebeplerden dolayı paklitaksele oranla daha fazla bulunan türevlerinden yarı sentezi sağlanmaktadır. Doğal ürün olan fındık sert kabuğundan paklitakseli ve türevlerini daha etkili yollarla en yüksek geri kazanım ve saflıkta izolasyonu ve saflaştırılma işlemleri yapıldı. Bu çalışmada fındık sert kabuğunda sefalomannin, bakkatin III, 10-DAB III varlığı tespit edildi ve bu türevlerden yarı sentezin sağlanabilmesinden dolayı taksan türevleri önemini artırmıştır. Fındık sert kabuğundan yapılan bu denemelerde paklitaksel ve türevlerinin klasik ekstraksiyon metoduyla izolasyonu birkaç aşamadan oluşmakta, en düşük maliyet ve en yüksek verim ile eldesi sağlanmıştır.

Farklı zaman, farklı yerlerden fındık numuneleri toplandı. Bu numuneler 3 farklı

bölgeden temin edildi. Bunlar doğu (Giresun), orta (Samsun) ve batı (Düzce) Karadeniz bölgeleri şeklinde 3 farklı bölgeden 3 farklı rakımda (0-250, 250-500 ve 500-750 m) toplanan fındık sert kabuğu numunelerinden çalışılmıştır. Toplanan bu numuneler güneş ışınlarından uzak gölgede kurutululdu. Deneyler bu numunelerden 10 g alınarak belirlenen çözücü ve oranlarda klasik ekstraksiyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Ekstraksiyon sonrasında ilk önce saf su ile polar safsızlıklar uzaklaştırıldı. Bir sonraki aşamasında ise hekzan ile boyar ve yağimsı maddeler uzaklaştırıldı. Alternatif olarak adsorban (aktif karbon) uygulaması yapıldı bununla birlikte boyar madde uzaklaşımı sağlandı. Bu iki denemede de gözle görülür olumlu sonuçlar tespit edildi. Bu işlemler sonunda ekstraktların HPLC ile miktar tayini sağlandı. Yapılan çalışmada paklitaksel ek olarak paklitakselin yanında yarı sentezinde kullanılan paklitaksel türevi bazı bileşiklerde bulunmakta ve izolasyon sırasında bu bileşiklerde izole edilmektedir. Bu bileşikler, sefalomannin, bakkatin III ve 10-DAB III' ün de miktar tayinlerine bakılmıştır.

Fındık sert kabuğunda yapılan 8 saatlik ekstraksiyon çalışmasında paklitaksel miktarı en yüksek değerler 6. deneyde çözücü oranı 1:15 olan çalışmada 2,31 µg/1 g miktarda ve 2. deneyde çözücü oranı 1:10 olan çalışmada 2.15 µg/1 g miktarda bulunmuştur. Bu miktarlar sırasıyla % 100 etanol ve metanol de bulunmuştur. En düşük değerler ise 5. deneyde 1:10 oranında, % 100 etanol de madde miktarı 0,44 µg/1 g ve 10.deneyde 1:5 oranında, % 100 aseton kullanılan çalışmada madde miktarı 0,44 µg/1 g bulunmuştur. Tespit edilemeyen deney sonucu ise 20 tanedir. 13. deney, 16. deney, 17. deney, 18. deney, 19. deney, 20. deney, 21. deney, 22. deney, 23. deney, 24. deney, 25. deney, 26. deney, 27. deney, 28. deney, 29. deney, 30. deney, 40. deney, 43. deney, 46. deney, 64. deneylerde herhangi bir sonuç tespit edilememiştir.

Fındık sert kabuğundaki 8 saatlik ekstraksiyon çalışmasında sefalomannin miktarı en yüksek değer 50. deneyde 25:75 karışım yüzdesi etanol:diklorometan çözücü sisteminde 1:10 çözücü oranında madde miktarı 8,12 µg/1 g olarak tespit edilmiştir. En düşük sefalomannin miktarı 37. deneyde çalışılan karışım 1:5 çözücü oranında 25:75 karışım yüzdesinde etanol:aseton çözücü sistemi kullanılarak yapılan çalışmada madde miktarı 1,77 µg/1 g bulunmuştur. Tespit edilemeyen deney sonucu 20 tanedir. 13. deney, 16. deney, 17. deney, 18. deney, 19. deney, 20. deney, 21. deney, 22. deney, 23. deney, 24. deney, 25. deney, 26. deney, 27. deney, 28. deney, 29. deney, 30. deney, 40. deney, 43.

deney, 46. deney, 64. deneylerde herhangi bir sonuç tespit edilememiştir.

Fındık sert kabuğundaki 8 saatlik ekstraksiyon çalışmasında bakkatin III miktarı en yüksek değer 2. deneyde 1:10 çözücü oranında madde miktarı 7,21 µg/1 g tespit edilmiştir. Bu miktar % 100 metanol çözücü sisteminde bulunmuştur. En düşük bakkatin III miktarı 37. deneyde çalışılan karışım 1:5 çözücü oranında 25:75 karışım yüzdesinde etanol:aseton çözücü sistemi kullanılarak yapılan çalışmada madde miktarı 0,50 µg/1 g olarak bulunmuştur. Tespit edilemeyen deney sonucu 20 tanedir. 13. deney, 16. deney, 17. deney, 18. deney, 19. deney, 20. deney, 21. deney, 22. deney, 23. deney, 24. deney, 25. deney, 26. deney, 27. deney, 28. deney, 29. deney 30. deney, 40. deney, 43. deney, 46. deney, 64. deneylerde herhangi bir sonuç tespit edilememiştir.

Fındık sert kabuğundaki 8 saatlik ekstraksiyon çalışmasında 10-deasetil bakkatin III miktarı en yüksek değer 1. deneyde 1:5 çözücü oranında % 100 metanol çözücü sisteminde madde miktarı 7,60 µg/1 g tespit edilmiştir. En düşük 10-deasetil bakkatin III değeri 39. deneyde çalışılan karışım yüzde oranı 25:75 etanol:aseton çözücü sisteminde çözücü oranı 1:15 olan çalışmada madde miktarı 0,03 µg/1 g bulunmuştur. Tespit edilemeyen deney sonucu 25 tanedir. 8. deney, 10. deney, 13. deney, 16. deney, 17. deney, 18. deney, 19. deney, 20. deney, 21. deney, 22. deney, 23. deney, 24. deney, 25. deney, 26. deney, 27. deney, 28. deney, 29. deney 30. deney, 37. deney, 40. deney, 43. deney, 46. deney, 58. deney, 59. deney ve 64. deneylerde herhangi bir sonuç tespit edilememiştir.

Fındık sert kabuğundaki 16 saatlik ekstraksiyon çalışmasında paklitaksel miktarı en yüksek değerler 6. deneyde % 100 etanolun kullanıldığı 1:15 çözücü sisteminde yapılan çalışmada madde miktarı 10,15 µg/1 g ve 4. deneyde 1:5 oranı % 100 etanol çalışmasında madde miktarı 7,19 µg/1 g'dır. En düşük paklitaksel değerleri ise 35. deneyde 1:10 çözücü oranında etanol:aseton çözücü sistemi 50:50 oranındaki çalışmadaki madde miktarı 0,47 µg/1 g ve 37. deneyde etanol:aseton karışımı 25:75 oranında çözücü sistemiyle çalışılan deneyde madde miktarı 0,37 µg/1 g bulunmuştur. Tespit edilemeyen deney sonucu 4 tanedir. 24. deney, 25. deney, 26. deney, 27. deneylerde herhangi bir sonuç tespit edilememiştir.

Fındık sert kabuğundaki 16 saatlik ekstraksiyon çalışmasında sefalomannin miktarı en yüksek değer 3. deneydeki % 100 metanol çözücü sisteminde yapılan çalışmada madde

miktarı 8,89 µg/1 g tespit edilmiştir. Çalışmada 1:15 oranındaki çözücü sistemi kullanılmıştır. En düşük sefalomannin değeri 22. deneydeki 1:5 oranında metanol:etanol çözücü sisteminde 75:25 çözücü oranındaki madde miktarı 0,47 µg/1 g bulunmuştur. Tespit edilemeyen deney sonucu 4 tanedir. 24. deney, 25. deney, 26. deney, 27. deneylerde herhangi bir sonuç tespit edilememiştir.

Fındık sert kabuğundaki 16 saatlik ekstraksiyon çalışmasında bakkatin III miktarı en yüksek değer 6. deneyde 1:15 çözücü oranındaki % 100 etanolün kullanıldığı çözücü sisteminde madde miktarı 19,71 µg/1 g tespit edilmiştir. En düşük bakkatin III değeri 10. deneyde % 100 aseton çözücü sisteminde 1:5 çözücü oranındaki çalışmada madde miktarı 0,57 µg/1 g bulunmuştur. Tespit edilemeyen deney sonucu 4 tanedir. 24. deney, 25. deney, 26. deney, 27. deneylerde herhangi bir sonuç tespit edilememiştir.

Fındık sert kabuğundaki 16 saatlik ekstraksiyon çalışmasında 10-deasetil bakkatin III miktarı en yüksek değer 48. deneyde 1:15 çözücü oranında 25:75, diklorometan:metanol çözücü sistemindeki madde miktarı 6,86 µg/1 g tespit edilmiştir. En düşük 10-deasetil bakkatin III değerleri 35. deneyde 50:50 oranında etanol:aseton çözücü sisteminde çözücü oranı 1:10 olan çalışmada madde miktarı 0,08 µg/1 g bulunmuştur. Tespit edilemeyen deney sonucu 5 tanedir. 6. deney, 24. deney, 25. deney, 26. deney, 27. deneylerde herhangi bir sonuç tespit edilememiştir.

Fındık sert kabuğundaki 24 saatlik ekstraksiyon çalışmasında paklitaksel miktarı en yüksek değerler 2. deneyde 1:10 oranı % 100 metanol çalışmasında madde miktarı 1,93 µg/1 g ve 6. deneyde % 100 etanolün kullanıldığı 1:15 çözücü sisteminde yapılan çalışmada madde miktarı 13,87 µg/1 g olarak tespit edilmiştir. En düşük paklitaksel değerleri ise 1. deneyde 1:5 çözücü oranında % 100 etanolün kullanıldığı çözücü sistemindeki çalışmada madde miktarı 1,46 µg/1 g ve 5. deneyde 1:10 çözücü oranında % 100 metanol çözücü sistemiyle çalışılan deneyde madde miktarı 1,56 µg/1 g bulunmuştur. Bu iki çalışmada ciddi farklılıklar tespit edilememiştir.

Fındık sert kabuğundaki 24 saatlik ekstraksiyon çalışmasında sefalomannin miktarı en yüksek değer 6. deneyde 1:15 çözücü oranında yapılan çalışmada madde miktarı 13,51 µg/1 g'dır. Bu çalışmada % 100 etanol çözücü sistemi uygulanmıştır. En düşük sefalomannin değeri ise 2. deneyde 1:10 çözücü oranında % 100 metanolün kullanıldığı çözücü sistemindeki çalışmada madde miktarı 3,20 µg/1 g bulunmuştur.

Fındık sert kabuğundaki 24 saatlik ekstraksiyon çalışmasında bakkatin III miktarı en yüksek değer 2. deneydeki 1:10 oranında % 100 metanolün kullanıldığı çözücü sistemi ile yapılan çalışmada madde miktarı 9,83 µg/1 g tespit edilmiştir. En düşük bakkatin III değeri ise 5. deneyde 1:10 oranının kullanıldığı çalışmada ise madde miktarı 3,17 µg/1 g bulunmuştur ve bu çalışmada % 100 etanolün kullanıldığı çözücü sistemi uygulanmıştır.

Fındık sert kabuğundaki 24 saatlik ekstraksiyon çalışmasında 10-deasetil bakkatin III miktarı en yüksek değeri 2. deneydeki 1:10 oranında % 100 metanolün kullanıldığı çözücü sistemi ile yapılan çalışmada madde miktarı 9,83 µg/1 g tespit edilmiştir. En düşük 10-deasetil bakkatin III değeri 5. deneyde 1:10 oranının kullanıldığı çalışmada ise madde miktarı 3,17 µg/1 g bulunmuştur. Bu çalışmada da % 100 etanolün kullanıldığı çözücü sistemi uygulanmıştır.

Fındık sert kabuğundaki 48 saatlik ekstraksiyon çalışmasında paklitaksel miktarı en yüksek değerler 4. deneydeki 1:5 oranında yapılan çalışmada madde miktarı 2,58 µg/1 g ve 6. deneyde 1:15 çözücü oranındaki çalışma madde miktarı 4,83 µg/1 g tespit edilmiştir. İki çalışmada da % 100 etanolün kullanıldığı çözücü sistemi uygulanmıştır. En düşük paklitaksel değerleri 1. deneyde 1:5 çözücü oranındaki çalışmada madde miktarı 0,86 µg/1 g ve 2. deneyde 1:10 oranının kullanıldığı çalışmada ise madde miktarı 1,70 µg/1 g bulunmuştur. Her iki çalışmada da % 100 metanol çözücü sistemi olarak uygulanmıştır.

Fındık sert kabuğundaki 24 saatlik ekstraksiyon çalışmasında sefalomannin miktarı en yüksek değer 6. deneyde % 100 etanolün kullanıldığı 1:15 çözücü sisteminde yapılan çalışmada madde miktarı 25,82 µg/1 g olarak tespit edilmiştir. En düşük sefalomannin değeri ise 1. deneyde 1:5 çözücü oranında % 100 metanolün kullanıldığı çözücü sistemindeki çalışmada madde miktarı 0,52 µg/1 g bulunmuştur.

Fındık sert kabuğundaki 48 saatlik ekstraksiyon çalışmasında bakkatin III miktarı en yüksek değer 3. deneyde % 100 metanolün kullanıldığı çözücü sistemi 1:15 çözücü oranındaki çalışmada madde miktarı 9,22 µg/1 g tespit edilmiştir. En düşük bakkatin III değeri 4. deneyde 1:5 çözücü oranındaki çalışmada madde miktarı 2,59 µg/1 g bulunmuştur ve bu çalışmada da % 100 etanol çözücü sistemi olarak uygulanmıştır.

Fındık sert kabuğundaki 48 saatlik ekstraksiyon çalışmasında 10-deasetil bakkatin III

miktarı en yüksek değer 3. deneyde % 100 metanolün kullanıldığı çözücü sisteminde 1:15 çözücü oranındaki çalışmada madde miktarı 9,22 µg/1 g tespit edilmiştir. En düşük 10-deastil bakkatin III değeri 4. deneyde % 100 etanol çözücü sisteminde 1:5 çözücü oranındaki çalışmada madde miktarı 2,59 µg/1 g bulunmuştur.

Fındık sert kabuğundaki 72 saatlik ekstraksiyon çalışmasında paklitaksel miktarı en yüksek değerler 1. deneyde 1:5 oranı % 100 metanol çalışmasında madde miktarı 4,96 µg/1 g ve 6. deneyde % 100 etanolun kullanıldığı 1:15 çözücü sisteminde yapılan çalışmada madde miktarı 5,82 µg/1 g olarak tespit edilmiştir. En düşük paklitaksel değerleri ise 2. deneyde 1:10 çözücü oranında % 100 metanolün kullanıldığı çözücü sistemindeki çalışmada madde miktarı 2,47 µg/1 g ve 5. deneyde 1:10 çözücü oranında % 100 etanol çözücü sistemiyle çalışılan deneyde madde miktarı 2,77 µg/1 g bulunmuştur.

Fındık sert kabuğundaki 72 saatlik ekstraksiyon çalışmasında sefalomannin miktarı en yüksek değer 6. deneyde % 100 etanolun kullanıldığı 1:15 çözücü sisteminde yapılan çalışmada madde miktarı 29,62 µg/1 g olarak tespit edilmiştir. En düşük sefalomannin değeri ise 4. deneyde % 100 etanol çözücü sisteminde 1:5 çözücü oranındaki çalışmada madde miktarı 2,61 µg/1 g bulunmuştur.

Fındık sert kabuğundaki 72 saatlik ekstraksiyon çalışmasında bakkatin III miktarı en yüksek değer 3. deneyde 1:15 oranı % 100 metanol çalışmasında madde miktarı 14,62 µg/1 g tespit edilmiştir. En düşük bakkatin III değeri ise 4. deneyde % 100 etanol kullanılan çözücü sisteminde 1:5 çözücü oranındaki çalışmada madde miktarı 5,23 µg/1 g olarak tespit edilmiştir.

Fındık sert kabuğundaki 72 saatlik ekstraksiyon çalışmasında 10-deasetil bakkatin III miktarı en yüksek değer 3. deneyde % 100 metanolün kullanıldığı çözücü sisteminde 1:15 çözücü oranındaki çalışmada madde miktarı 14,62 µg/1 g tespit edilmiştir. En düşük 10-deastil bakkatin III değeri 6. deneyde % 100 etanol çözücü sisteminde 1:15 oranının kullanıldığı çalışmada ise madde miktarı 4,72 µg/1 g bulunmuştur.

Çalışmada paklitakselin, yanı sıra sefalomannin, bakkatin III ve 10-deasetil bakkatin III'de kullanılarak bunların sonuçları da elde edilmiştir. HPLC kullanılarak gerçekleştirilen tayinlerde sonuçlardan emin olabilmek amacıyla üçlü bir doğrulama sistemine gidilmiştir. İç standart ekleme, saf eluant kromatoğramı ve saf eluantın kütle

taini şeklinde gerçekleştirilen bu doğrulama neticesinde tüm analizler gerçekleştirilmiştir. Analizlerimizde özellikle sefalomannin ve paklitaksel ham numunede diğerlerinden daha sonra ve daha iyi ayrılmış olarak gelirken özellikle 10-deasetil bakkatin III karışık piklerin olduğu bölgede geldiğinden dolayı sonuçların standart sapması ve belirsizlik yüksek görülmektedir.

Optimum ekstraksiyon çalışması sonucunda fındık sert kabuğundaki paklitaksel için en uygun şartların çözücü olarak % 100 etanolün 1:15 oranda kullanıldığı ve 24 saatlik çalışma olduğu belirlenmiştir.

Örneklemlerin analizi neticesinde ise fındık kabuklarındaki paklitaksel kesin miktarı ort. 3,48 µg/1 g olarak belirlenmiştir. Bu ise endüstriyel açıdan 1000 ton kabukta 3,48 kilogram paklitakselin varlığını gösterir ki hiç de azımsanmayacak bir değerdir.

Örneklemlerin analizinde standart sapmaların yüksek olması doğal ürünlerin doğası gereği olarak görülmektedir. Çünkü etken bileşenlerin miktarları iklime, yağışa, mikrobiyal vb. ortamlara göre çok fazla değişkenlik göstermektedir. Bitkisel ekstraktlardaki etken bileşenlerin miktar sonuçlarının en az 3 yıl boyunca ölçümlerle izlenmesi gerekliliği elzemdir. Çalışma grubu olarak bu süreci hali hazırda devam ettirmekteyiz.

Çalışmalara ek olarak fındık sert kabuğunun 72 saatlik ekstraksiyon çalışmasında 1:15 oranında % 100 metanol çözücü sisteminde aktif karbon etkisi incelenmiş ve paklitakselin madde miktarı 1,69 µg/1 g olarak belirlenmiştir. Aktif karbon sayesinde HPLC kromatogramı daha da sadeleşmiş olmasına rağmen bakkatin III miktarındaki azalma bize maddemizin adsorbsiyon nedeniyle kaybını işaret etmiştir. Ancak bu sonucun diğer bileşiklerde ise anlamlı değerleri elde edilememiştir. Yani aktif karbon etkisi tekrarlanabilir olmamıştır.

Ayrıca ekstraksiyon ortamına % 0,01 oranında asetik asit eklenerek asidik ortamda ekstraksiyon denemesi gerçekleştirilmiştir. 72 saatlik 1:15 oranındaki % 100 metanol çalışmasında paklitaksel miktarı 2,05 µg/1 g olarak ve aynı şartlarda çözücü sistemi etanol olarak değiştirildiğinde paklitaksel madde miktarı 4,11 µg/1 g tespit edilmiştir. Elde edilen sonuç asitsiz ortama madde miktarında biraz daha azalma olarak gözlenmiştir.

Fındık ülkemizin en önemli tarımsal ürün ihracatıdır, Türkiye’ de özellikle Karadeniz bölgesinde tek tarım tipi olarak yapılmaktadır. Dünya fındık üretiminin % 70-80’ lik miktarını karşılar ve dünya fındık üretiminde birinci sırada yer alır. Her yıl ortalama 300 bin ton fındık sert kabuğu atıl olarak ortaya çıkmaktadır, maliyeti ise çok düşüktür. Büyük çoğunluğu yakılarak değerlendirilmektedir. Dünya üzerinde satışı bir kaç milyar doları geçen, ve toplam anti kanser kemoterapi ilaç satışında yüzde 22’lik paya sahip olan paklitaksel, fındık sert kabuğundan elde edilebilmektedir. Paklitaksel ve türevlerinin varlığı fındık sert kabuklarında çok düşük miktarlarda bulunmasının yanı sıra, yakıt olarak kullanılan atıl materyalimizin maliyetinin çok düşük olması ve atıl miktarının çok olması gibi avantajlarından dolayı başarılı sonuçların ne derece önemli olduğu görülmektedir.

Çalışma sonucunda fındık ilk olarak fındık sert kabuğundaki paklitaksel için en uygun ekstraksiyon koşulu belirlenmiştir. Ardından belirlenen şartlar neticesinde örneklerle kesin miktar tayini (ek olarak sefalomannin, bakkatin III ve 10 deasetil bakkatin III) çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda çok fazla deneme gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarımızda objektif sonuç elde edebilmek için numunelerimizi ülkemizin fındık yetişen hemen tüm illerinden toplayarak karıştırdık ki en objektif sonuçlar sağlanabilsin. Öncelikle en uygun ekstraksiyon şartları belirlenmiş ve bu şartlar uygulanarak örneklerle miktar tayinleri gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen optimum ekstraksiyon sonuçları bize çok değerli bilgiler kazandırmıştır. Bu bilgiler literatür açısından değerli olmasına rağmen asıl endüstriyel açıdan büyük öneme arz etmektedir. Çünkü yola çıkıştaki amacımız fındık atıklarındaki bu değerli bileşenleri ülkemiz ekonomisine kazandırmak olduğundan bilimsel açıdan hiç bir açıdan boş nokta bırakılmamıştır.

Böylesine bir çalışmada üç sene ard arda numune alınmalıdır. Herhalükarda paklitakselin standart sapması yüksek olacaktır. Paklitaksel eldesi için çok çok iyi bir alternati olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar bağlamında gerçekleştirmiş olduğumuz çalışmanın yatırıma dökülebilmesi için TEYDEB projesi hazırlanmış, sunulmuş sonucu beklenmektedir. İlerleyen zamanlarda bu proje vasıtasıyla elde edeceğimiz sonuçlar sayesinde yatırıma dökülerek ülkemize katkıda bulunması amaçlanmaktadır.

5. KAYNAKLAR

- [1] M.L. Merlo, J.W. Pepper, J.B. Reid, M.C. Carlo, "Maley Cancer as an evolutionary and ecological process," *Natural Review Cancer*, no. 6, pp. 35-924, 2006.
- [2] C.P. Nowell, "The clonal evolution of tumor cell populations," *Science*, no. 194, pp. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 8.baskı. Ankara, Türkiye: Feryal Matbaacılık, 1998, ss. 1007-1072.
- [3] C.A. Guyton, E.J. Hall, "Protein sentezi hücre fonksiyonu ve hücre çoğalmasının genetik kontrolü", In: H. Çavuşcuoğlu, *Tıbbi Fizyoloji*, 10. Baskı. Ankara, Türkiye: Nobel Tıp Kitapevleri Ltd Şti, 2001, ss. 24-37.
- [4] O.S. Kayaalp, "Kanser Kemoterapisinin Esasları ve Antineoplastik İlaçlar", *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 8. Baskı. Ankara, Türkiye: Feryal Matbaacılık, 1998, ss. 1007-1072.
- [5] L. Gate, D.K. Tew, "Glutathione S-transferases as emerging targets", *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, vol. 4, no. 5, pp. 477-489, 2001.
- [6] M.D. Parkin, F. Bray, J. Felay, P. Pisani, "Global cancer statistics", *A Cancer Journal for Clinicians*, vol. 1, no. 55, pp. 74-108, 2005.
- [7] A. Jemal, R. Siegel, E. Ward, et al., "Cancer statistics", *A Cancer Journal for Clinicians*, vol. 1, no. 57, pp. 43-66, 2007.
- [8] Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu. (2016, 20 Temmuz). Türk Kanser Dergisi. Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu. Erişim: <http://www.turkkanser.org/Dokümanlar/Türk Kanser Haberleri-2014>.
- [9] S. Özenoğlu, G. Aydoğdu, A.B. Dinçsoy, A.A. Taghıdızaj, K. Derici, E. Yılmaz, S. Aras, D. Cansaran-Duman, "Likens Sekonder Bileşiklerinin Farklı İnsan Kanser Hücre Tipleri Üzerine Antikanserojenik Etkisi", *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, c. 70, s. 4, ss. 215-226, 2013.
- [10] S. Korkmaz, "Paklitaksel, Kersetin ve Berberinin, A549, HeLa, HT-29, MCF-7 ve NIH3T3 Hücre Kültürlerinde Sitotoksik Etkilerinin Değerlendirilmesi," Doktora tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, Türkiye, 2002.
- [11] R.F. Weaver, P.W. Hedrick, "Genes and Cancer", in *Genetics*, 3rd ed., vol. 1, Mishawaka, USA:Brown Publishers, 1997, pp. 482-503.
- [12] P. Calabresi, D.A. Welch, "Chemotherapy of neoplastic diseases", *Annual Review of Medicine*, vol. 2, no.13, pp. 147-202, 1962.
- [13] İ. Kantemir, "Antineoplastikler", *Farmakoloji*, Ankara, Türkiye: Ayyıldız Matbaası, 1975, ss. 340-358.
- [14] L.S. Jacob, "Kanser Kemoterapisi", *Farmakoloji*, 4. Baskı, İstanbul, Türkiye: Nobel Tıp Kitapevleri, 1998, ss. 253-273.
- [15] Ö. Süzer, "Antikanser İlaçlar", *Farmakoloji Ders Kitabı*, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye: 2008, ss. 515-530.

- [16] J. Bhosle, G. Hall, "Principles of cancer treatment by chemotherapy", *Surgery Oxford*, vol. 27, no. 4, pp. 173–177, 2009.
- [17] A. Caley, R. Jones, "The principles of cancer treatment by chemotherapy", *Surgery Oxford*, vol. 30, no. 4, pp. 186-190, 2012.
- [18] T. Sridhar, P.R. Symond, "Principles of chemotherzapy and radiotherapy", *Obstetrics, Gynaecology & Reproductive Medicine*, vol. 19, no.3, pp. 61-67, 2009.
- [19] G.H. Hitchings, "Rational design of anticancer drugs: here, imminent or illusive. In Development of Target-Oriented Anticancer Drugs", *Progress in Cancer Research and Therapy*, vol. 28, Raven Press, pp. 227-238, 1983.
- [20] R.P. Symonds, K. Foweraker, "Principles of chemotherapy and radiotherapy", *Current Obstetrics & Gynaecology*, vol. 16, pp. 100–106, 2006.
- [21] J.M. Lind, "Principles of cytotoxic chemotherapy", *Medicine*, vol. 32, no. 3, pp. 20-25, 2004.
- [22] C. Parnell, J.P. Woll, "Principles of cancer treatment by chemotherapy", *Surgery Oxford*, vol. 21, no. 11, pp. 272-276, 2003.
- [23] J.M. Nabholtz, K. Tonkin, M. Smylie, H.J. Au, M.A. Lindsay, J. Mackey, "Docetaxel (Taxotere) in combination with anthracyclines in the treatment of breast cancer", *Oncology*, vol. 22, pp. 187-206, 2000.
- [24] D.G.I. Kingston, "In Cancer growth and progression; cancer growth in man", *Kluwer Academic Publishers*, pp. 152-158, 1989.
- [25] H. Yuan, "Studies on the chemistry of Paclitaxel", Ph.D. thesis, Medicine, Submitted to the Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia, ABD, 1998.
- [26] E. Baloğlu, "A New Synthesis of Taxol from Baccatin III", Master's thesis, Pharmacology Department, Polytechnic Institute and State University, Virginia, ABD, 1998.
- [27] N. Erdemoğlu, "Türkiye'de yetişen *taxus baccata* L. bitkisinin taxan türevi bileşikleri üzerinde araştırmalar", Doktora tezi, Eczacılık Bölümü, Gazi Üniversitesi, Ankara, Türkiye, 1999.
- [28] K. Ueda, S. Uyeo, Y. Yamamayo, Y. Maki, "The structure of taxinine a nitrogen-free compound occurring in *taxus cuspidata*", *Tetrahedron Lett*, vol. 22, pp. 2167, 1963.
- [29] L. Barboni, P. Gariboldi, G. Appendino, R. Enriu, B. Gabetta, S. Iwasaki, M. Naito, and T. Tsuruo, "Taxuspines A~C, New taxoids from Japanese yew *taxus cuspidata* inhibiting drug transport activity of p-glycoprotein in multidrug-resistant cells", *Tetrahedron*, vol. 50, pp. 7401-7410, 1994.
- [30] J. Crown, M. O'Leary, "Taxanes as adjuvant for breast cancer", *Lancet*, vol. 355, pp. 1176-1178, 2000.
- [31] L.L. Brunton, J.S. Lazo, K.L. Parker, "Antineoplastik İlaçlar Tedavinin Farmakolojik Temeli", Öner Süzer, Goodman & Gilman, İstanbul, Türkiye: Nobel Tıp Kitabevleri, 2009, böl.5, ss. 1315-1403.

- [32] E.K. Rowinsky, "The development and clinical utility of the taxane class of antimicro tubule chemotherapy agents", *Annual Review of Medicine*, vol. 48, pp. 353-374, 1997.
- [33] J.M.M. Terwogt, B. Nuijen, T. Huinink, J.H. Beijnen, "Alternative Formulation of Paclitaxel", *Cancer Treatment Reviews*, vol. 23, pp. 87-95, 1997.
- [34] A.K. Singla, A. Garg, D. Aggarwal, "Paclitaxel and Its Formulations", *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 235, pp. 179-192, 2001.
- [35] G. Işık, "Meme kanseri tedavisinde Paklitaksel yüklü polikasyonik ve anyonik siklodekstrin nanoküre formülasyonu ve invitro", Yüksek lisans tezi, Nanoteknoloji ve Nano Tıp Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye, 2013.
- [36] R. Panchagnula, "Pharmaceutical Aspects of Paclitaxel", *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 172, pp. 1-15, 1998 .
- [37] O. Gürkaynak, "Paklitakselin siklodekstrin bazlı sistemlerle formülasyon geliştirme ve değerlendirilmesi", Yüksek lisans tezi, Sağlık Bilimleri Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye, 2006.
- [38] J.D. Adams, K. Flora, R.B. Goldspiel, W.J. Wilson, R. Finley, "Taxol: a History of Pharmaceutical Development and Current Pharmaceutical Concerns", *Journal of National Cancer Institute*, vol. 15, pp. 141-147, 1993.
- [39] R. Panchagnula, "Pharmaceutical aspects of paclitaxel", *Journal of Pharmacy*, vol. 172, pp. 1-15, 1998.
- [40] S. B. Horwitz, "Correlation of p53 status with outcome of neoadjuvant chemotherapy using paclitaxel and doxorubicin in stage IIIB breast cancer", *Journal of National Cancer Institute*, vol. 67, pp. 136-138, 2003.
- [41] W.L. Lee, J.Y. Shiao, L.F. Shyur, "Taxol, Camptothecin and Beyond for Cancer Therapy", *Advances in Botanical Research*, vol. 1, pp. 62, 2012.
- [42] M. Brabander, "Microtubule Dynamics during the cell cycle: The effects of Taxol and nocodazole on the microtubule system of Pt K2 cells at different stages of the mitotic cycle", *International Review of Cytology*, vol. 101, pp. 215-218, 1986.
- [43] J. Parness, S.B. Horwitz, "Taxol binds to polymerized tubulin in vitro", *Cell Biology*, vol. 91, pp. 479-487, 1981.
- [44] P.B. Schiff, S.B. Horwitz, "Taxol assembles tubulin in the absence of exogenous guanosine-5'-triphosphate or microtubule-associated proteins", *Biochemistry*, vol. 20, pp. 3247-3252, 1981.
- [45] S.B. Horwitz, "Taxol (Paclitaxel): Mechanism of Action", *Annals of Oncology : Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 5, 6:S3-6, 1994.
- [46] D. Belotti, V. Vergani, T. Drudis, "The Microtubule-Affecting Drug Paclitaxel Has Antiangiogenic Activity", *Clinical Cancer Research*, no. 2, pp. 1843-1849, 1996.
- [47] D. Mastropaolo, A. Camerman, Y. Luo, G.D. Brayer, N. Camerman, "Crystal and molecular structure of paclitaxel (taxol)", *Proceedings of National Academy of Science*, vol. 92, pp. 6920-6924, 1995.

- [48] N. Soy, "Doku kültüründe paklitaksel'in apoptotik ve antiproliferatif Etkileri", Yüksek lisans tezi, Biyokimya, Kimya Anabilim Dalı, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, 2006.
- [49] M. Blagosklonny, T. Fojo, "Molecular Effects of Paclitaxel: Myths and Reality", *International Journal of Cancer*, vol. 83, pp. 151-156, 1999.
- [50] M.L. Gupta, C.J. Bode, G.I. Georg, R.H. Himes, "Understanding tubulin-Taxol interactions: Mutations that impart Taxol binding to yeast tubulin", *Proceeding of National Academy of Sciences United States of America*, vol. 100, no. 11, pp. 6394-6397, 2003.
- [51] A. Hoffmana, F. Shadidi, "Paclitaxel and other taxanes in hazelnut", *Journal of Functional Foods*, vol. 1, pp. 33-37, 2009.
- [52] A. Hoffman, G. Graziano, M.K. Edwards, "Methyl jasmonate and paclitaxel may protect hazelnut trees from eastern filbert blight" *Journal of Plant Biology*, vol. 5, pp. 43-67, 2005.
- [53] M.J.L. de Alda, A. Gil, E. Paz, D. Barcelo, "Occurrence and analysis of estrogens and progestogens in river sediments by liquid chromatography-electrospray-mass spectrometry", *Analyst*, vol. 127, no. 10, pp. 1299, 2002.
- [54] W. Stopher, "Biological activity of curcumioids from turmeric assessed in patients with advanced pancreatic cancer," *Journal of the American Botanical Council*, vol. 4, pp. 21, 2000.
- [55] L. Ottaggio, F. Bestoso, A. Armirotti, A. Balbi, G. Damonte, M. Mazzei, M. Sancandi, and M. Miele "Taxanes from Shells and Leaves of *Corylus avellana*", *Journal of National Product*, vol. 71, pp. 58-60, 2008.
- [56] E. Fırıncıahmetoğlu, "Porsuk (*Taxus baccata* L.) ağacının yapraklarındaki uçucu yağ bileşenleri üzerine araştırma," Yüksek lisans tezi, Orman Mühendisliği, Bartın Üniversitesi, Bartın, Türkiye, 2010.
- [57] L. Wang, C.L. Weller, "Recent advanced in extraction of nutraceuticals from plants", *Trends in Food Science & Technology*, no. 17, pp. 300-312, 2006.
- [58] A. Güngör, "Bazı katyonların katı-sıvı ekstraksiyonu", Yüksek lisans tezi, Kimya Bölümü, Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir, Türkiye, 2000.
- [59] B.M. Lawrance, "The Isolation of Aromatic Materials from Natural Plant Products", *In: A Manual on the Essential Oil Industry*, Edit. K., Tuley De Silva, pp. 58-109, 1995.
- [60] K.H.C. Başer, "Tıbbi ve Aromatik Bitkisel Ürünlerin Üretimi ve Kalite Kontrolü", Eskişehir, Türkiye: Anadolu Üniversitesi Yayınevi, 2010, Anadolu Üniversitesi Yayın No. 2109.
- [61] H.D. Şahinbaş, "Katı faz ekstraksiyonu ile bazı metal iyonlarının zenginleştirilmesi", Yüksek lisans tezi, Kimya Bölümü, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, Türkiye, 2011.
- [62] R. Kellner, M.M., M.Otto, M.Valcarcel, H.M. Widmer, "Sample preparation," in *Analytical Chemistry: Modern Approach to Analytical Science*, 2nd ed., Delhi, India:Wiley&Weinheim, 2004, pp. 506-508.
- [63] M.D.L. de Castro, F. Priego-Capote, "Soxhlet extraction past and present panacea," *Journal of Chromatography A*, vol. 16, pp. 2383, 2010.

- [64] M.D.L. de Castro, L.E. Garcia-Ayuso, "Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future," *Analytica Chimica Acta*, vol. 369, pp. 1-2, 1998.
- [65] J.L. Capelo, A.M. Mota, "Ultrasonication for analytical chemistry," *Current Analytical Chemistry*, vol. 1, pp. 193, 2005.
- [66] J.F. Huertas-Perez, M.D. Iruela, A.M. Garcia-Campana, A. Gonzalez-Casado, A. Sanchez-Navarro, "Determination of the herbicide metribuzin and its major conversion products in soil by micellar electrokinetic chromatography," *Journal of Chromatography A*, vol. 2, pp. 280, 2006.
- [67] J.L. Tadeo, C. Sanchez-Brunete, B. Albero, A.I. Garcia-Valcarcel, "Application of ultrasound-assisted extraction to the determination of contaminants in food and soil Sample", *Journal of Chromatography A*, vol. 16, pp. 2415, 2010.
- [68] D.E. Raynie, "Modern Extraction Techniques", *Analytical Chemistry*, vol. 76, pp. 4659-4664, 2004.
- [69] C. Domeno, M. Blasco, C. Sanchez, C. Nerin, "A fast extraction technique for extracting polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from lichens samples used as biomonitors of air pollution: Dynamic sonication versus other methods", *Analytica Chimica Acta*, vol. 569, pp. 103, 2006.
- [70] T. Hyotylainen, M.L. Riekkola, "Potential of effective extraction techniques and new analytical systems for profiling the marine environment", *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, vol. 26, no. 8, pp. 78, 2007.
- [71] A. Bouaid, A. Martin-Esteban, P. Fernandez, C. Camara, "Microwave-assisted extraction method for the determination of atrazine and four organophosphorus pesticides in oranges by gas chromatography (GC)", *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, vol. 367, no. 3, pp. 291, 2000.
- [72] B. Kaufmann, P. Christen, "Recent extraction techniques for natural products: microwaveassisted extraction and pressurised solvent extraction", *Phytochemical Analysis*, vol. 13, pp. 105-113, 2002.
- [73] B. Kaufmann, S. Rudaz, S. Cherkaoui, J.L. Veuthey, P. Christen, "Influence of plant matrix on microwave-assisted extraction process", The case of diosgenin extracted from fenugreek, *Phytochemical Analysis*, vol. 18, pp. 70-76, 2007.
- [74] R. Kellner, M. Otto, M. Valcarcel, H.M. Widmer, "Sample Preparation", in *Analytical Chemistry: A Modern Approach to Analytical Science*, 2nd ed., Delhi, India: Wiley&Weinheim, 2004, pp. 18.
- [75] M.A. Rostagno, A. Villares, E. Guillamon, A. Garcia-Lafuente, J.A. Martinez, "Sample preparation for the analysis of isoflavones from soybeans and soy Food", *Journal of Chromatography A*, vol. 1216, pp. 1- 2, 2009.
- [76] Y.P. Sun, "Organic chemicalreactions and catalysis in supercritical fluid media", in *Supercritical Fluid Technology in Materials Science and Engineering*, 3rd ed., New York, ABD:Marcel Dekker, 2002, pp. 87-188.
- [77] Y. Yamani, M. Khajeh, E. Ghasemi, M. Mirza, K. Javidnia, in "Comparison of essential oil compositions of *salvia mirzayanii* obtained by supercritical

- carbondioxide extraction and hydrodisilaltion methods”, *Journal of Food Chemistry*, 2007, pp. 341-346.
- [78] B. Mira, M. Blasco, A. Berna, A. Subirats, “Supercritical CO₂ extraction of essential oil from orange peel., Effect of operation conditions on the extract composition”, *Journal of Supercritical Fluids*, vol. 14, no. 2, pp. 95, 1999.
- [79] M. Zougagh, M. Valcarcel, A. Rios, “Supercritical fluid extraction: a critical review of its analytical usefulness”, *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, vol. 23, no. 5, pp. 399, 2004.
- [80] E.E. Stashenko, M.A. Puertas, M.Y. Combariza, “Volatile secondary metabolites from *Spilanthes americana* obtained by simultaneous steam distillation solvent extraction and supercritical fluid extraction”, *Journal of Chromatography A*, vol. 752, pp. 223, 1996.
- [81] Y. Arai, T. Sako, Y. Takebayashi, “Supercritical Fluids, Molecular Interactions, Physical Properties and New Applications”, *Springer-Verlag*, vol. 16, pp. 59, 2002.
- [82] J.N. Denis, A.E. Greene, D. Guenard, F. Gueritte-Voegelein, L. Mangatal, P. Potier, “A Highly efficient,pratical approach to Taxol”, *Journal of the American Chemical Society*, vol. 110, pp. 5917, 1988.
- [83] M. Talebi, A. Ghassempour, Z. Talebpour, A. Rassouli, L. Dolatyari, “Optimization of the extraction of paclitaxel from *Taxus baccata* L.by the use of microwave energy”, *Journal of Science*, vol. 27, pp. 1130-1136, 2004.
- [84] T. Mroczek, K. Glowniak, “Solid-phase extraction and simplified highperformance liquid chromatography determination of 10-deacetylbaccatin III and related taxoid in yew species”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 26, pp. 89-102, 2001.
- [85] Y. Kukuchi, F. Kawamura, “Liquid carbon dioxide extraction of Taxol and its related compounds from the needles of *Taxus cuspidata*”, *Holz als Roh-und Werkstoff*, vol. 57, pp. 12, 1999.
- [86] K. Glowniak, T. Mroczek, “Investigations on Preparative Thin-Layer Chromatographic Separation of taxoids from *Taxus baccata* L.”, *Journal of Liquid Chromatography&Related Technologies*, vol. 22, no. 16, pp. 2483-2502, 1999.
- [87] V. Vandana, A.S. Teja, L.H. Zalkow, “Supercritical Extraction and HPLC Analysis of Taxol ferom *Taxus brevifolia* using Nitrous oxide and Nitrous Oxide+Ethanol Mixtures”, *Fluid Phase Equilibria*, vol. 1, no. 116, pp. 162-169, 1996.
- [88] F. Kawamura, Y. Kukichi, T. Ohira, M. Ytagai, “Accelerated Solvent Extraction of Paclitaxel and Related Compounds from the bark of *Taxus cuspidata*”, *Journal of National Product*, vol. 2, no. 62, pp. 244-247, 1999.
- [89] Y. Nguyen, J. Eshraghi, G. Gonyea, R. Ream, R. Smith, “Studies on factors influencing stability and recovery of paclitaxel from suspension medis and cultures of *Taxus cuspidata* cv. *Densiformis* by highperformance liquid chromatography”, *Journal of Chromatography A*, vol. 911, pp. 55-61, 2001.
- [90] M.K. Chun, W.H. Shin, H. Lee, “Supercritical fluid extraction of paclitaxel and baccatin III from needles of *Taxus Cuspidata*”, *Journal of Supercritical Fluids*, vol. 1, no. 2, pp. 9-19, 1996.

- [91] R.N. Saicic, R. Matovic, Z. Cekovic, "Semisynthesis of Taxol and improved procedure for the isolation of 10-deacetylbaccatin III", *Journal Serbian Chemical Society*, vol. 64, no. 9, pp. 497-503, 1999.
- [92] M. Suffness, E.M. Wall, "Discovery and development of taxol", *Taxol: Science and Applications*, 3rd ed., Florida, ABD:CRC Pres, 1995, pp. 379-415.
- [93] M.J.I. Mattina, W.A.L. Berger, C.L. Denson, "Microwave-Assisted Extraction of Taxanes from Taxus Biomass", *Journal Agricultural and Food Chemistry*, vol.45, pp. 4691-4696, 1997.
- [94] K.M. Witherup, S.A. Look, W. Stasko, J.T. Ghiorzi, G.M. Muschix, M.G.Cragg, "Taxus Spp. Needles contain amounts of Taxol Comparable to the Bark of Taxus brevifolia: Analysis and Isolation", *Journal of Natural Products*, vol. 53, no. 5, pp. 1249-1255, 1990.
- [95] D.M. Heaton, K.D. Bartle, C.M. Rayner, A.A. Clifford, "Application of supercritical fluid extraction and supercritical fluid chromatography to production of taxanes as anti-cancer drugs", *Journal of High Resolution Chromatography*, vol. 7, no. 16, pp. 666-670, 1993.
- [96] D. Wianowska, M. Hajnos, A.L. Dawidowicz, A. Oniszczyk, H. Weksmundzka, K. Glowniak, "Extraction Methods of 10-deacetylbaccatin III, Paclitaxel and Cephalomanine from Taxus baccata L. Twigs: A Comparison", *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, vol. 1, no. 32, pp. 589-601, 2009.
- [97] R.E.B. Ketchum, J.V. Luong, D.M. Gibson, "Efficient extraction of paclitaxel and related taxoids from leaf tissue of Taxol using a potable solvent system", *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, vol. 22, no. 11, pp. 1715-1732, 1999.
- [98] H. Lou, L. Zhang, G.B. Gu, T. Efferth, W. Liu, Y.G. Zu, R. Sun, J.Y. Fu, "Simultaneous determination of main taxoids in taxus needles extracts by solid-phase extraction high-performance liquid chromatography with pentafluorophenyl column," *Biomedical Chromatography*, vol. 23, pp. 63-70, 2003.
- [99] E. Cociancich, R. Via, R. Pace, "Process for the extraction of taxol and derivatives thereof from plants of the genus taxus", E.P. Patent 553 780 A1, January 27, 1993.
- [100] T. Khac-Bui, M. Poiter, "Process for isolation and purification of Paclitaxel from natural sources," U.S. Patent 6 759 539 B1, July 6, 2004.
- [101] J. Liu, A. Cherry, "Process for the extraction of Paclitaxel and 9-dihydro-13-acetyl baccatin III from taxus," U.S. Patent 7 169 307 B2, January 30, 2007.
- [102] B. Gabetta, G. Zini, "Method for obtaining Paclitaxel from taxus plants," U.S. Patent 14 968 A1, January 19, 2006.
- [103] S.H. Pyo, M.S. Kim, J.S. Cho, B.K. Song, H.J. Choi, "Method for purification of Paclitaxel from paclitaxel-containing materials", U.S. Patent 154 218 A1, July 14, 2005.
- [104] S. Ramadoss, K. Haus, A. Vardhan, "Process for isolation of 14-b-hydroxy-10-deacetyl baccatin-III", E.P. Patent 1 010 697 B1, October 31, 2001.
- [105] M.W. Han, K.J. Yoo, D.M. Hong, "Process of extracting Taxol from taxus cuspidata", U.S. Patent 6 066 748 A, May 23, 2000.

- [106] H.N. ElSohly, M.E. Croom, A.M. ElSohly, D.J. McChesney, "Method for isolating individual Taxanes", U.S. Patent 5 480 639 , January 23, 1996.
- [107] A.M. Hoffman, F. Shahidi, "Paclitaxel and other taxanes in hazelnut," *Journal of Functional Foods*, vol. 2, no.1, pp. 33–37, 2009.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ayşe UZUN
Doğum Tarihi ve Yeri : 01.06.1989 Samsun
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : uzunayse55@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Kimya Bölümü	Düzce Üniversitesi	2017
Lisans	Kimya Bölümü	Düzce Üniversitesi	2014
Lise	Matematik-Fen	Tekkeköy Lisesi	2006