



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



BAZI *CIRSİUM* MILL. (ASTERACEAE) TÜRLERİ ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Sıla Özlem ŞENER

FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. H. Gülçin SALTAN İŞCAN

ANKARA

2019

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI *CIRSİUM* MILL. (ASTERACEAE) TÜRLERİ ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Sıla Özlem ŞENER

FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

1. DANIŞMAN

Prof. Dr. H. Gülçin SALTAN İŞCAN

2. DANIŞMAN

Prof. Dr. Ufuk ÖZGEN

Bu tez, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu tarafından 116Z675 proje numarası, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 18H023700 proje numarası ve Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSA-2017-6866 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
2019

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Bazı *Cirsium* Mill. (Asteraceae) Türleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanlarım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler ve yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin

Adı Soyadı: Sıla Özlem SEVER

Tarih: 25.06.2018

İmza:

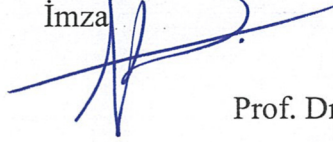


KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Anabilim Dalında Sıla Özlem ŞENER tarafından hazırlanan “Bazı *Cirsium* Mill. (Asteraceae) Türleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

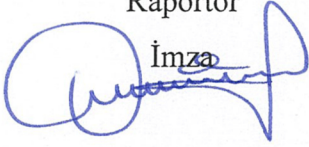
Tez Savunma Tarihi: 25.06.2019

Prof. Dr. H. Gülçin SALTAN İŞCAN
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı
İmza



Prof. Dr. Betül SEVER YILMAZ
Ankara Üniversitesi

Raportör



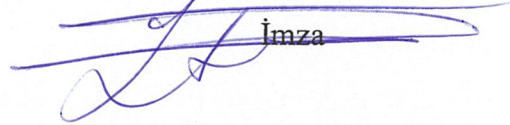
Prof. Dr. İ. İrem TATLI ÇANKAYA
Hacettepe Üniversitesi

Üye



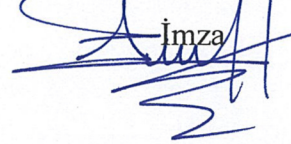
Prof. Dr. M. Levent ALTUN
Ankara Üniversitesi

Üye



Prof. Dr. Esra KÜPELİ AKKOL
Gazi Üniversitesi

Üye



Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza

Prof. Dr. Mehmet AKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	x
Şekiller	xiii
Çizelgeler	xviii

1. Giriş	1
1.1. <i>Cirsium</i> Mill. Türlerinin Botanik Özellikleri	1
1.1.2. Bitkinin Sistematikteki Yeri	1
1.1.3. Asteraceae Familyasının Genel Özellikleri	2
1.1.4. <i>Cirsium</i> Mill. Cinsinin Özellikleri	2
1.1.5. Tez Konusu <i>Cirsium</i> Mill. Türlerinin Tayin Anahtarı	3
1.1.6. Çalışılan <i>Cirsium</i> Mill. Türlerinin Botanik Özellikleri	5
1.1.6.1. <i>C. balikesirense</i> Yıldız, Arabacı ve Dirmenci	5
1.1.6.2. <i>C. nerimaniae</i> Yıldız, Dirmenci ve Arabacı	6
1.1.6.3. <i>C. sommieri</i> Petr.	7
1.1.6.4. <i>C. cephalotes</i> Boiss.	7
1.2. <i>Cirsium</i> Türlerinin Halk Arasında Kullanılışları	8
1.3. <i>Cirsium</i> Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	11
1.3.1. Flavonoidler	11
1.3.2. Fenilpropanoidler	22
1.3.3. Fenolik Asitler	23
1.3.4. Lignanlar	25
1.3.5. Terpenik Bileşikler	26
1.3.6. Kumarinler	32
1.3.7. Megastigman Glikozitleri	33
1.3.8. Yağ Asitleri	33
1.3.9. Uçucu Yağlar	33
1.4. <i>Cirsium</i> Türlerindeki Biyolojik Aktivite Çalışmaları	34
1.4.1. Antidepresan ve Bilişsel Fonksiyonlar Üzerine Etkisi	34
1.4.2. Antidiyabetik Etki	35
1.4.3. Antienflamatuvar Etki	35
1.4.4. Antikanser Etki	36
1.4.5. Antimikrobiyal Etki	37
1.4.6. Antioksidan Etki	39
1.4.7. Hepatoprotektif Etki	40
1.4.8. Antiobezite Etki	41
1.5 Obezite Hakkında Genel Bilgiler	42
1.5.1 Görülme Sıklığı	42
1.5.2 Obezite ve Dislipidemi İlişkisi	43
1.5.3 Obezite, İnsülin Direnci ve Enflamasyon İlişkisi	45

1.5.4. Obezite Tedavisindeki Yaklaşımlar	48
1.5.4.1. Lipaz Enzim İnhibisyonu	48
1.5.4.2. İştahın Baskılanması	48
1.5.4.3. Enerji Tüketiminin Uyarılması	49
1.5.4.4. Adiposit Farklılaşmasının İnhibisyonu	49
1.5.4.5. FAS Geninin Baskılanması	50
1.5.4.6. Anti-enflamatuvar Yaklaşım	50
2. GEREÇ ve YÖNTEM	51
2.1. Materyal	51
2.1.1. Arazi Çalışmaları	51
2.1.2. Bitkilerin Teşhisi, Kurutulması ve Öğütülmesi	54
2.2. <i>In vivo</i> Antiobezite Aktivite Çalışmaları	55
2.2.1. Sıçanlara Uygulanan Ekstrelerin Hazırlanması	55
2.1.2. Sıçanlara Uygulanan Orlistat Karışımının Hazırlanması	56
2.2.3. <i>In vivo</i> Antiobezite Aktivite	56
2.2.3.1. Deney Hayvanları	56
2.2.3.2. Biyokimyasal Analiz Çalışmaları	57
2.2.3.3. Histopatolojik Analiz Çalışmaları	588
2.2.3.4. İstatistiksel Analiz Çalışmaları	58
2.2.3.5. PCR Çalışmaları	59
2.2.3.5.1. qRT-PCR Protokolü	59
2.3. Biyolojik Aktivite Yönlendirmeli Fraksiyonlama Çalışmaları	60
2.3.1. Lipaz Enzim İnhibisyonu Değerlendirme Çalışmaları	60
2.3.2. Etkili Türlerde Alt Fraksiyonların Hazırlanması	62
2.3.3. Etkili Türlerde BAYF	62
2.3.3.1. BAYF Tekniğinde Kullanılan Kromatografik Yöntemler Hakkında Bilgiler	62
2.3.3.1.1. Kolon Kromatografisi Uygulamaları	62
2.3.3.1.2. İnce Tabaka Kromatografisi Uygulamaları	64
2.3.3.2. <i>C. balikesirens</i> Üzerinde Gerçekleştirilen BAYF	65
2.3.3.2.1. <i>C. balikesirens</i> Üzerinde Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları	66
2.3.3.2.1.1 <i>C. balikesirens</i> 'nin Arta Kalan Su Alt Fraksiyonunda Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları	66
2.3.3.2.1.2 <i>C. balikesirens</i> 'nin Kloroform Alt Fraksiyonunda Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları	66
2.3.3.3. <i>C. nerimaniae</i> Üzerinde Gerçekleştirilen BAYF	69
2.3.3.3.1. <i>C. nerimaniae</i> Üzerinde Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları	69
2.3.3.3.1.1 <i>C. nerimaniae</i> 'nin Arta Kalan Su Alt Fraksiyonunda Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları	69
2.3.3.3.1.2 <i>C. nerimaniae</i> 'nin Kloroform Alt Fraksiyonunda Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları	70
2.3.3.4. <i>C. sommieri</i> Üzerinde Gerçekleştirilen BAYF	72
2.3.3.4.1. <i>C. sommieri</i> Üzerinde Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları	73
2.3.3.4.1.1 <i>C. sommieri</i> 'nin Kloroform Alt Fraksiyonunda Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları	73
2.3.3.5. <i>C. cephalotes</i> Üzerinde Gerçekleştirilen BAYF	75
2.3.3.5.1. <i>C. cephalotes</i> Üzerinde Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları	76

2.3.3.5.1.1 <i>C. cephalotes</i> 'in Etil Asetat Alt Fraksiyonunda Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları	76
2.3.3.5.1.2 <i>C. cephalotes</i> 'in Kloroform Alt Fraksiyonunda Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları	76
2.3.3.6. İzole Edilen Bileşiklerin Yapılarının Tayini	78
2.4. Çalışılan <i>Cirsium</i> Türlerinin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK) Analizi	78
2.4.1 Standart ve Örnek Çözeltilerinin Hazırlanması	78
2.4.2. YPSK Analizi Şartları	79
2.4.3. YPSK Yönteminin Validasyonu	79
2.5. <i>In vitro</i> Sitotoksik Aktivite Tayini	80
2.5.1 Hücre Kültürü	80
2.5.2. Sitotoksik Aktivite	80

3. BULGULAR	82
3.1 <i>In vivo</i> Antiobezite Aktivite Çalışmalarına Yönelik Bulgular	82
3.1.1. Ağırlık, Ağırlık Farkı ve % Ağırlık Değişimine Ait Bulgular	82
3.1.2. Biyokimyasal Analiz Çalışmalarına Yönelik Bulgular	86
3.1.3. Histopatolojik Analiz Çalışmalarına Yönelik Bulgular	90
3.1.4. İstatistiksel Analiz Çalışmalarına Yönelik Bulgular	94
3.1.5. PCR Çalışmalarına Yönelik Bulgular	94
3.2. BAYF'na Yönelik Bulgular	95
3.2.1. Lipaz Enzim İnhibisyonu Değerlendirme Çalışmalarına Yönelik Bulgular	95
3.2.1.1. Türlerin Metanol Ekstreleri ve Alt Fraksiyonlarının Lipaz Enzim İnhibisyonu Değerlendirme Çalışmalarına Yönelik Bulguları	95
3.2.1.2. <i>C. balikesirensense</i> Lipaz Enzim İnhibisyonu Değerlendirme Çalışmalarına Yönelik Bulgular	97
3.2.1.3. <i>C. nerimaniae</i> Lipaz Enzim İnhibisyonu Değerlendirme Çalışmalarına Yönelik Bulgular	98
3.2.1.4. <i>C. sommieri</i> Lipaz Enzim İnhibisyonu Değerlendirme Çalışmalarına Yönelik Bulgular	99
3.2.1.5. <i>C. cephalotes</i> Lipaz Enzim İnhibisyonu Değerlendirme Çalışmalarına Yönelik Bulgular	100
3.2.2. Lipaz Enzim İnhibisyonu Üzerine Etkili Türlerde İzolasyon Çalışmalarına Yönelik Bulgular	102
3.2.2.1. İTK Bulguları	102
3.2.2.1.1. <i>C. balikesirensense</i> İTK Bulguları	102
3.2.2.1.2. <i>C. nerimaniae</i> İTK Bulguları	105
3.2.2.1.3. <i>C. sommieri</i> İTK Bulguları	107
3.2.2.1.4. <i>C. cephalotes</i> İTK Bulguları	108
3.2.2.2. Spektroskopik Bulgular	111
3.2.2.2.1. <i>C. balikesirensense</i> BAYF Spektroskopik Bulguları	111
3.2.2.2.1.1 CBS-1 Bileşiğine Yönelik Spektroskopik Bulgular	111
3.2.2.2.1.2. CBS-2 Bileşiğine Yönelik Spektroskopik Bulgular	116
3.2.2.2.1.3. CBK-1 Bileşiğine Yönelik Spektroskopik Bulgular	121
3.2.2.2.2. <i>C. nerimaniae</i> BAYF Spektroskopik Bulguları	127
3.2.2.2.2.1. CNS-1 Bileşiğine Yönelik Spektroskopik Bulgular	127

3.2.2.2.2. CNS-2 Bileşimine Yönelik Spektroskopik Bulgular	132
3.2.2.2.3. CNK-1 Bileşimine Yönelik Spektroskopik Bulgular	137
3.2.2.2.3. <i>C. sommieri</i> BAYF Spektroskopik Bulguları	143
3.2.2.2.3.1. CSK-1 Bileşimine Yönelik Spektroskopik Bulgular	143
3.2.2.2.3.2. CSK-2 Bileşimine Yönelik Spektroskopik Bulgular	150
3.2.2.2.4. <i>C. cephalotes</i> Spektroskopik Bulgular	157
3.2.2.2.4.1. CCE-1 Bileşimine Yönelik Spektroskopik Bulgular	157
3.2.2.2.4.2. CCE-2 Bileşimine Yönelik Spektroskopik Bulgular	162
3.2.2.2.4.3. CCK-1 Bileşimine Yönelik Spektroskopik Bulgular	167
3.3. YPSK Çalışmalarına Yönelik Bulgular	173
3.3.1. YPSK Yöntem Validasyonuna Yönelik Bulgular	173
3.3.1. <i>Cirsium</i> Türlerin YPSK Analizleri	175
3.4. <i>In vitro</i> Sitotoksik Aktivite Çalışmalarına Yönelik Bulgular	177
3.4.1 <i>C. balikesirense</i> 'nin Adipositlerdeki Sitotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi	177
3.4.2 <i>C. nerimaniae</i> 'nin Adipositlerdeki Sitotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi	178
3.4.3 <i>C. sommieri</i> 'nin Adipositlerdeki Sitotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi	179
3.4.4 <i>C. cephalotes</i> 'in Adipositlerdeki Sitotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi	179
4. TARTIŞMA	180
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	191
ÖZET	193
SUMMARY	195
KAYNAKLAR	197
EKLER	219
EK-1. Etik Kurul Onay Belgesi	219
ÖZGEÇMİŞ	221

ÖNSÖZ

Tüm doktora ve asistanlığım sürecinde bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, hiçbir zaman benden desteklerini esirgemeyen, çok sevdiğim akademisyenlik mesleğine tutunabilmemi sağlayan, her zaman minnettar kalacağım değerli danışman hocalarım Prof. Dr. Gülçin SALTAN İŞCAN'a ve Prof. Dr. Ufuk ÖZGEN'e,

Tüm öğrencilik sürecim boyunca emeği geçen tüm hocalarıma,

İlgili araştırma süresince ve karşılaştığım tüm diğer zorluklarda desteklerini esirgemeyen manevi kardeşlerim Dr. Merve BADEM, Arş. Gör. Nuriye KORKMAZ ve Arş. Gör. Şeyda KANBOLAT'a,

In vivo biyolojik aktivite çalışmaları kapsamındaki histopatolojik çalışmalardaki yardımlarından dolayı Prof. Dr. Engin YENİLMEZ ve Dr. Hatice HANCI'ya,

Türlerin toplanması ve teşhislerindeki yardımlarından dolayı Prof. Dr. Tuncay DİRMENCİ ve Prof. Dr. Turan ARABACI'ya,

Manevi desteklerinden dolayı hayatımın gülen tarafındaki manevi kardeşlerim Seda EMRE, Nevin ULAŞ ÇOLAK'a ve desteklerinden dolayı Arş. Gör. İshak ERİK'e,

116Z675 kodlu TÜBİTAK projesi, 18H023700 kodlu Ankara Üniversitesi BAP projesi ve TSA-2017-6866 kodlu Karadeniz Teknik Üniversitesi BAP projesi ile desteklenen bu araştırma için tüm destekçi kurumlara,

TÜBİTAK-BİDEB 2211-Yurt İçi Doktora Burs Programı kapsamında, doktora eğitimim süresince maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a,

Haklarını asla ödeyemeyeceğim, hayattaki en büyük şanslarım, desteklerini her zaman yanımda hissettiğim ve bildiğim annem Necla ŞENER ve uzaklardan bana gülümseyen babam Altan ŞENER'e,

Teşekkürü bir borç bilirim.



SİMGELER VE KISALTMALAR

α	Alfa
Apolipoprotein	Apo
β	Beta
BAYF	Biyolojik aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama çalışmaları
BSS	Bağıl standart sapma
γ	Gama
C/EBP	CCAAT-arttırıcı-bağlayıcı protein
CBE	<i>C. balikesirens</i> etil asetat ekstresi
CBK	<i>C. balikesirens</i> kloroform ekstresi
CBM	<i>C. balikesirens</i> metanol ekstresi
CBS	<i>C. balikesirens</i> arta kalan su ekstresi
CCE	<i>C. cephalotes</i> etil asetat ekstresi
CCK	<i>C. cephalotes</i> kloroform ekstresi
CCM	<i>C. cephalotes</i> metanol ekstresi
CCS	<i>C. cephalotes</i> arta kalan su ekstresi
CD ₃ OD	Dötero metanol
CDCl ₃	Dötero kloroform
cm	Santimetre
CNE	<i>C. nerimaniae</i> etil asetat ekstresi
CNK	<i>C. nerimaniae</i> kloroform ekstresi
CNM	<i>C. nerimaniae</i> metanol ekstresi
CNS	<i>C. nerimaniae</i> arta kalan su ekstresi
COX	Siklooksijenaz
CSE	<i>C. sommieri</i> etil asetat ekstresi
CSK	<i>C. sommieri</i> kloroform ekstresi
CSM	<i>C. sommieri</i> metanol ekstresi
CSS	<i>C. sommieri</i> arta kalan su ekstresi
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
g	Gram
HCl	Hidroklorik asit
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein
HL	Hepatik lipaz

HMG-CoA	3-hidroksi-3-metil-glutaril-KoA
IC ₅₀	% 50 inhibisyona neden olan inhibitör konsantrasyonu
IDL	Ara dansiteli lipoprotein
IL	İnterlökin
JNK	c-Jun N-terminal kinaz
KEPT	Kolestrol esteri taşıyıcı protein
kg	Kilogram
KK	Kolon kromatografisi
km	Kilometre
KS	Kütle spektroskopisi
L	Litre
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
LOX	Lipoksijenaz
LPL	Lipoprotein lipaz
μ	Mikro
M	Molar
m	Metre
M1	Proenflamatuvar özellikli yağ dokusu makrafojlari
M2	Antienflamatuvar özellikli yağ dokusu makrafojlari
mg	Miligram
MIK	Minimal inhibisyon konsantrasyonu
mL	Mililitre
mm	Milimetre
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NF- κ B	Nükleer faktör kappa B
NO	Nitrik oksit
NMR	Nükleer manyetik rezonans
NP	Normal faz
PG	Prostaglandin
<i>p</i> -NPB	<i>p</i> -nitro fenil butirat
PPAR	Peroksizom proliferatör aktive reseptör
qRT-PCR	Real-Time PCR
RAW 264.7	Fare makrofaj benzeri hücreleri
RP	Ters Faz
SE	Sefadeks

SOD	Süperoksit dismutaz
SREBP	Sterol düzenleyici element bağlayıcı protein
SS	Standart sapma
t-BHP	Tersiyer bütıl hidroperoksit
TG	Trigliserit
TNF	Tümör nekroz faktörü
U	Ünite
VLDL	Çok düşük dansiteli lipoprotein
XTT	3'-[1-(fenilamino)-karbonil]-3,4-tetrazolyum]-bis(4-metoksi-6-nitro) benzensülfonik asit hidrat
ψ	Psi
YPSK	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. <i>Cirsium</i> türlerindeki flavon bileşikleri ve flavon glikozitleri	16
Şekil 1.2. <i>Cirsium</i> türlerindeki flavonol bileşikleri ve flavonol glikozitleri	20
Şekil 1.3. <i>Cirsium</i> türlerindeki flavanon bileşikleri ve flavanon glikozitleri	22
Şekil 1.4. <i>Cirsium</i> türlerindeki fenilpropanoit glikoziti	23
Şekil 1.5. <i>Cirsium</i> türlerindeki fenolik asitler	24
Şekil 1.6. <i>Cirsium</i> türlerindeki lignan türevi bileşikler	25
Şekil 1.7. <i>Cirsium</i> türlerindeki triterpenik bileşikler	28
Şekil 1.8. <i>Cirsium</i> türlerindeki steroidal bileşikler	30
Şekil 1.9. <i>Cirsium</i> türlerindeki seskiterpenler	32
Şekil 1.10. <i>Cirsium</i> türlerindeki kumarin yapısındaki bileşikler	32
Şekil 1.11. <i>Cirsium</i> türlerindeki megastigman glikozitleri	33
Şekil 1.12. Obezitedeki lipoprotein metabolizması	45
Şekil 1.13. Obezite, enflamasyon ve insülin direnci ilişkisi	47
Şekil 2.1. <i>C. balikesirensense</i> toplanma yerindeki genel görüntüsü, kapitulumu	51
Şekil 2.2. <i>C. nerimaniae</i> toplanma yerindeki genel görüntüsü, kapitulumu	52
Şekil 2.3. <i>C. sommieri</i> toplanma yerindeki genel görünüşü, kapitulumu	53
Şekil 2.4. <i>C. cephalotes</i> toplanma yerindeki genel görüntüsü, kapitulumu	54
Şekil 2.6. <i>C. balikesirensense</i> izolasyon şeması	68
Şekil 2.7. <i>C. nerimaniae</i> izolasyon şeması	71
Şekil 2.8. <i>C. sommieri</i> izolasyon şeması	74
Şekil 2.9. <i>C. cephalotes</i> izolasyon şeması	77
Şekil 3.1. Grupların haftalara göre ağırlık ortalamalarının şematik gösterimi	83

Şekil 3.2. Grupların haftalara göre aldıkları ağırlık miktarının şematik gösterimi	84
Şekil 3.3. Grupların haftalara göre % ağırlık değişiminin şematik gösterimi	84
Şekil 3.4. 8 haftalık deney süresi sonunda gruplara ait genel görüntü	85
Şekil 3.5. 8 haftalık deney süresi sonunda gruplara ait karın içi yağ dokusu genel görüntüsü	86
Şekil 3.6. Sıçan serum TNF- α düzeylerinin şematik gösterimi	87
Şekil 3.7. Sıçan serum IL-1 β düzeylerinin şematik gösterimi	88
Şekil 3.8. Sıçan serum insülin düzeylerinin şematik gösterimi	89
Şekil 3.9. Sıçan serum lipaz düzeyleri	89
Şekil 3.10. Grupların adipositlerinin histopatolojik incelemesi	91
Şekil 3.11. Grup II adipositlerinin histopatolojik incelemesi	92
Şekil 3.12. Grupların karaciğer dokularının histopatolojik incelemesi	92
Şekil 3.13. Grupların yağ dokusu gen ekspresyon düzeyleri	94
Şekil 3.14. Orlistatin % enzim inhibisyon değerleri ve ait olduğu konsantrasyonun logaritması şeklinde oluşturulan grafiği	95
Şekil 3.15. BAYF için seçilen CBS-RP Fr ₃₅₋₃₆ 'yı içeren etil asetat:metanol:su (7:2:1) solvan sistemindeki İTK görüntüsü	102
Şekil 3.16. CBS-1'in yer aldığı etil asetat:metanol:su (7:2:1) solvan sistemindeki İTK görüntüsü	103
Şekil 3.17. CBS-2'in yer aldığı etil asetat:metanol:su (7:2:1) solvan sistemindeki İTK görüntüsü	104
Şekil 3.18. CBK-1'in yer aldığı <i>n</i> -hekzan-etil asetat (8:2) solvan sistemindeki İTK görüntüsü	105

Şekil 3.19. CNS-1 ve CNS-2'nin yer aldığı etil asetat:metanol:su (7:2:1) solvan sistemindeki İTK görüntüsü	106
Şekil 3.20. CNK-1'in yer aldığı <i>n</i> -hekzan-etil asetat (8:2) solvan sistemindeki İTK görüntüsü	106
Şekil 3.21. BAYF için seçilen CSK-NP1 Fr ₈₆₋₁₀₉ 'ı içeren <i>n</i> -hekzan: etil asetat (8:2) solvan sistemindeki İTK görüntüsü	107
Şekil 3.22. CSK-1 ve CSK-2'nin yer aldığı <i>n</i> -hekzan: etil asetat (8:2) solvan sistemindeki İTK görüntüsü	108
Şekil 3.23. BAYF için seçilen CCE-SE Fr ₆₋₁₀ 'u içeren kloroform:metanol:su (80:20:2) solvan sistemindeki İTK görüntüsü	109
Şekil 3.24. CCE-1 ve CCE-2'nin yer aldığı kloroform:metanol:su (80:20:2) solvan sistemindeki İTK görüntüsü	110
Şekil 3.25. CCK-1'in yer aldığı <i>n</i> -hekzan-etil asetat (8:2) solvan sistemindeki İTK görüntüsü	110
Şekil 3.26. CBS-1 bileşiğinin yapısına ait bulgular	111
Şekil 3.27. CBS-1 bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu (CD ₃ OD, 400 MHz)	113
Şekil 3.28. CBS-1 bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu (CD ₃ OD, 100 MHz)	114
Şekil 3.29. CBS-1 bileşiğinin Kütle Spektrumu	115
Şekil 3.30. CBS-2 bileşiğinin yapısına ait bulgular	116
Şekil 3.31. CBS-2 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu (CD ₃ OD, 400 MHz)	118
Şekil 3.32. CBS-2 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu (CD ₃ OD, 100 MHz)	119
Şekil 3.33. CBS-2 bileşiğinin kütle spektrumu	120
Şekil 3.34. CBK-1 bileşiğinin yapısına ait bulgular	121
Şekil 3.35. CBK-1 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu (CDCl ₃ , 400 MHz)	123

Şekil 3.36. CBK-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	124
Şekil 3.37. CBK-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	125
Şekil 3.38. CBK-1 bileşiğinin kütle spektrumu	126
Şekil 3.39. CNS-1 bileşiğine ait yapısal bulgular	127
Şekil 3.40. CNS-1 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)	129
Şekil 3.41. CNS-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)	130
Şekil 3.42. CNS-1 bileşiğinin kütle spektrumu	131
Şekil 3.43. CNS-2 bileşiğine ait yapısal bulgular	132
Şekil 3.44. CNS-2 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)	134
Şekil 3.45. CNS-2 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)	135
Şekil 3.46. CNS-2 bileşiğinin kütle spektrumu	136
Şekil 3.47. CNK-1 bileşiğine ait yapısal bulgular	137
Şekil 3.48. CNK-1 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 400 MHz)	139
Şekil 3.49. CNK-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	140
Şekil 3.50. CNK-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	141
Şekil 3.51. CNK-1 bileşiğinin kütle spektrumu	142
Şekil 3.52. CSK-1 bileşiğine ait yapısal bulgular	143
Şekil 3.53. CSK-1 bileşiğinin ^1H -NMR (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu	146
Şekil 3.54. CSK-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	147
Şekil 3.55. CSK-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	148
Şekil 3.56. CSK-1 bileşiğinin kütle spektrumu	149
Şekil 3.57. CSK-2 bileşiğine ait yapısal bulgular	150
Şekil 3.58. CSK-2 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 400 MHz)	153
Şekil 3.59. CSK-2 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	154

Şekil 3.60. CSK-2 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	155
Şekil 3.61. CSK-2 bileşiğinin kütle spektrumu	156
Şekil 3.62. CCE-1 bileşiğine ait yapısal bulgular	157
Şekil 3.63. CCE-1 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)	159
Şekil 3.64. CCE-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)	160
Şekil 3.65. CCE-1 bileşiğinin kütle spektrumu	161
Şekil 3.66. CCE-2 bileşiğine ait yapısal bulgular	162
Şekil 3.67. CCE-2 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)	164
Şekil 3.68. CCE-2 bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)	165
Şekil 3.69. CCE-2 bileşiğinin kütle spektrumu	166
Şekil 3.70. CCK-1 bileşiğine ait yapısal bulgular	167
Şekil 3.71. CCK-1 bileşiğinin ^1H -NMR Spektrumu (CDCl_3 , 400 MHz)	169
Şekil 3.72. CCK-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	170
Şekil 3.73. CCK-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	171
Şekil 3.74. CCK-1 bileşiğinin kütle spektrumu	172
Şekil 3.75. Standartlarının YPSK kromatogramı	173
Şekil 3.76. <i>C. balikesirensense</i> metanol ekstresi YPSK Kromatogramı	175
Şekil 3.77. <i>C. nerimaniae</i> metanol ekstresi YPSK Kromatogramı	176
Şekil 3.78. <i>C. sommieri</i> metanol ekstresi YPSK Kromatogramı	176
Şekil 3.79. <i>C. cephalotes</i> metanol ekstresi YPSK Kromatogramı	177
Şekil 3.80. <i>C. balikesirensense</i> metanol ekstresi sitotoksik aktivite değerleri	178
Şekil 3.81. <i>C. nerimaniae</i> metanol ekstresi sitotoksik aktivite değerleri	178
Şekil 3.82. <i>C. sommieri</i> metanol ekstresi sitotoksik aktivite değerler	179
Şekil 3.83. <i>C. cephalotes</i> metanol ekstresi sitotoksik aktivite değerleri	179

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. <i>In vivo</i> antiobezite aktivite deney ve kontrol grupları	56
Çizelge 2.2. RT-PCR çalışmalarındaki genlerin primer dizileri	59
Çizelge 3.1. Grupların haftalara göre ağırlık ortalamaları	82
Çizelge 3.2. Gruplara ait bazı biyokimyasal parametrelerin değerleri	87
Çizelge 3.3. Gruplara ait adiposit çapı değerleri	90
Çizelge 3.4. Türlerin ekstre ve alt fraksiyonlarının lipaz enzimi üzerine belirlenen IC ₅₀ düzeyleri	96
Çizelge 3.5. CBS ters faz kolon kromatografisi sonrasında elde edilen fraksiyonların lipaz enzimi üzerine belirlenen IC ₅₀ düzeyleri	97
Çizelge 3.6. CBS-RP Fr ₃₅₋₃₆ sefadeks kolon kromatografisi sonrasında elde edilen fraksiyonların lipaz enzimi üzerine belirlenen IC ₅₀ düzeyleri	97
Çizelge 3.7. CNS ters faz kolon kromatografisi sonrasında elde edilen fraksiyonların lipaz enzimi üzerine belirlenen IC ₅₀ düzeyleri	98
Çizelge 3.8. CSK normal faz kolon kromatografisi sonrasında elde edilen fraksiyonların lipaz enzimi üzerine belirlenen IC ₅₀ düzeyleri	99
Çizelge 3.9. CSK-NP1 Fr ₈₆₋₁₀₉ normal faz kolon kromatografisi sonrasında elde edilen fraksiyonların lipaz enzimi üzerine belirlenen IC ₅₀ düzeyleri	100
Çizelge 3.10. CCE sefadeks kolon kromatografisi sonrasında elde edilen fraksiyonların lipaz enzimi üzerine belirlenen IC ₅₀ düzeyleri	101
Çizelge 3.11. CCE-SE Fr ₆₋₁₀ 'dan ters faz kolon kromatografisi sonrasında elde edilen fraksiyonların lipaz enzimi üzerine belirlenen IC ₅₀ düzeyleri	101

Çizelge 3.12. CBS-1 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri	112
Çizelge 3.13. CBS-2 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri	117
Çizelge 3.14. CBK-1 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri	122
Çizelge 3.15. CNS-1 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri	128
Çizelge 3.16. CNS-2 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri	133
Çizelge 3.17. CNK-1 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri	138
Çizelge 3.18. CSK-1 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri	144
Çizelge 3.19. CSK-2 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR Spektral Değerleri	151
Çizelge 3.20. CCE-1 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri	158
Çizelge 3.21. CCE-2 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri	163
Çizelge 3.22. CCK-1 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri	168
Çizelge 3.23. Standartların alıkonma zamanları ve YPSK yöntemine ait bazı validasyon parametrelerinin değerleri	174

Çizelge 3.24. YPSK yöntemine ait bazı validasyon parametrelerinin değerleri	174
Çizelge 3.25. <i>Cirsium</i> türlerinin fenolik bileşikler ve benzoik asit içerikleri	175



1. GİRİŞ

Cirsium Mill. Avrupa, Asya, Kuzey Afrika ve Amerika'da yayılış gösteren, temsil ettiği 250'nin üzerindeki tür sayısı ile Asteraceae familyasına ait en geniş cinslerden biridir (Arabacı ve ark., 2011; Yıldız ve ark., 2013). *Cirsium* cinsi Türkiye'de 49'u *Epitrachys* seksiyonuna, 17'si *Cirsium* seksiyonuna ve 1 tanesi *Cephalonoplos* seksiyonuna ait 32'si endemik 67 tür ile temsil edilmektedir (Duman ve ark., 2017).

Dioscorides'e atıfta bulunan Tournefort, “şişmiş damarlar” manasına gelen Yunanca “khirsos” kelimesinden köken alan *Cirsium* türlerinin damar hastalıklarına karşı kullanıldığını bildirmiştir (Yıldız ve ark., 2016). Türkiye için toplam tür sayısı ile karşılaştığında yüksek endemizm oranına sahip olmasına ve uzun yıllardır etnofarmakolojik olarak kullanılıyor olmasına karşın, *Cirsium* türleri üzerinde sınırlı sayıda farmakognozok araştırma vardır.

1.1. *Cirsium* Mill. Türlerinin Botanik Özellikleri

1.1.2. Bitkinin Sistematikteki Yeri

Alem: Plantae

Bölüm: Spermatophyta

Alt Bölüm: Angiospermae

Sınıf: Dicotyledonae

Alt Sınıf: Dialypetalae

Takım: Asterales

Familya: Asteraceae

Cins: *Cirsium*

(Davis ve Parris., 1975)

1.1.3. Asteraceae Familyasının Genel Özellikleri

Bir yıllık, iki yıllık veya çok yıllık otsu bitkileri ile Asteraceae familyası dünya genelinde temsil ettiği 1600'ün üzerinde cins ve 23000'nin üzerinde tür sayısı ile en yaygın çiçekli bitkiler familyasıdır. Türkiye florasında endemizm oranı %38 olarak belirtilen Asteraceae familyası son eklemelerle beraber 1336 tür ile temsil edilmektedir. Bu familya bitkilerinin dokularında lateks denilen sütümsü bir sıvı bulunur, bulunmadığı da olur. Yaprakları nodyumlarda tek veya karşılıklı dizilmiş, veya hepsi tabanda yer almaktadır; yaprak kenarları düz, dişli, loblu veya derin parçalıdır. Çiçekler, etli bir tabla üzerinde sapsız dizilmiş olup çok sayıdadırlar. Bu nedenle çiçek durumu baş şeklindedir ve kapitulum adını alır. Kapitulumun altında birden çok sayıda sıra oluşturan brakte dairesi yer almaktadır. Çiçekler iki eşeyli, sadece dişi, sadece erkek veya nötr'dür. Çanak yapraklar, pulsu, kılsı veya tüysü bir yapı olan pappus şeklindedir veya yoktur. Taç yapraklar en azından tabanda birleşiktir; tüpsü, çansı, dilsî şekilde veya iki dudaklıdır. Erkek organları 5 adet; sap kısımları serbest anter kısımları birbirine birleşik veya nadiren serbesttir. Meyveleri tek tohumlu "aken" dir (Aytaç ve ark., 2015; Akyüz., 2016; Duman ve ark., 2017; Gao ve ark., 2010 ve Herman, 2000).

1.1.4. *Cirsium* Mill. Cinsinin Özellikleri

Çok yıllık, iki yıllık veya nadiren tek yıllık otsu; nadiren iki evcikli; gövde dikenli-kanatlı veya dikensiz, dallanmış veya dallanmamış bitkiler. Yapraklar kenarlarında dikenli, üst yüzü setalı ve dikencikli ya da değil, tamdan orta damara kadar parçalanmış. Kapitula homogam, diskoid, tek ya da yoğun olarak bir araya toplanmış. Fillariler çok sıralı, kiremit benzeri dizilişli, basık ya da üst kısmında hemen hemen yayık, uç kısmında salgı kanallı ya da değil, bazen uç kısmı ekli, genellikle uç dikenli, kenarı düzden dikencikliye kadar ya da düzensiz dar parçalara ayrılmış. Çiçek tablası uzun tüylü. Çiçekler iki eşeyli ya da nadiren tek eşeyli, tüpsü, genellikle eşit olmayan 5 parçalı, beyazdan morumsu-kırmızıya kadar, bazen sarımsı renkli; korolla tüpünün tabanı hafifçe genişlemiş. Polenler küremsi. Aken hemen

hemen dikdörtgensi, basık, düz, tüysüz, hemen hemen yarıküremsi kısa çıkıntılı; hilum yumurtamsı. Papus çok sıralı, yumuşak uzun sık tüylü, tabanda bir halka şeklinde birleşmiş, düşücü ya da hemen hemen kalıcı, en içteki tüyler daha uzun, çoğu zaman skabroz ya da uç kısmında kalınlaşmış; çok nadiren tamamen skabroz (Davis ve Parris., 1975 ve Yıldız ve ark., 2016).

1.1.5. Tez Konusu *Cirsium* Mill. Türlerinin Tayin Anahtarı

1. Üst yaprak yüzeyinde setalar (küçük kıllar) veya küçük dikenler bazen tüylerle kaplı

A sect. *Epitrachys*

1. Üst yaprak yüzeyinde küçük kılsız veya küçük dikensiz, sıklıkla tüylüye doğru
2. Korollanın geniş kısmı $\frac{1}{2}$ 'sine kadar 5 eşit olmayan parçalı, bitkiler dioik değil, kökler sürünücü değil, meyvede papus korolladan daha uzun

B sect. *Cirsium*

1. Gövde kanatçıklı değil veya kanatçıklar 1 cm'den daha kısa
3. Yapraklar yukarıda nadiren ağsı tüylüden yoğun tüylüye, üst yüzeydeki setalar yakın
11. Yapraklar yukarıda nadiren ağsı tüylüden tüysüze kadar
13. Dış involukrum brakteleri keskin bir şekilde geri kıvrık 1 mm kenar dikenli
14. İnvolutrum sarkık, dış ve orta involukrum brakteleri üst kısımda 1 mm genişliğinde
15. Orta involukrum braktelerinin dikenlerinin ucu zayıftan sert, 4 mm'den daha fazla
16. İnvolutrum tüysüzden ağsı tüylüye, 20-30 mm uzunluğunda, orta involukrum brakteleri 15-20 mm

sommieri

13. Dış involukrum brakteleri keskin bir şekilde geri kıvrık veya değil, 1 mm kenar dikensiz
17. İnvolumkum dik
19. Orta involukrum brakteleri uçta 1 mm'den daha az geniş ekli veya yok
21. Orta involukrum braktelerinin kenarları dikenli 0,1 mm'den daha kısa veya yok
26. İnvolumkum yukarıdaki gibi değil
27. Orta involukrum brakteleri en azından üst yarısında ağsı tüylü veya tüysüz, daha dıştakiler ortadakilerin uzunluğundan daha kısa
28. İnvolumkum 30 mm'den daha uzun
29. Orta involukrum braktelerinin uç dikenini zayıf, 4-8 x 0,1 mm; yapraklar pinnatisekt

cephalotes

1. Orta involukrum braktelerinin uç dikenini 3 mm'den daha fazla
2. İnvolumkral yapraklar 3-7, involukrumdan daha uzun; involukra dar ovalden silindiriğe; involukrum brakteleri 7-9 sıralı, 4-6 mm uç dikenleri taşıyan orta involukrum brakteleri 13-17 mm

nerimaniae

1. Orta involukrum braktelerinin uç dikenini 2,5 mm'ye kadar
3. İnvolumkralar rasemus veya panikula; korolla mor
4. İnvolumkral yapraklar eşit veya involukradan daha uzun
5. İnvolumkralar ovalden silindiriğe, 15-20x10-15; involukrum brakteleri 5-7 sıralı, orta involukrum brakteleri lineer-lanseolat, 10-14 mm (Batı Anadolu)

4. İnvolutkral yapraklar bariz bir şekilde involukradan daha kısa
6. İnvolutkralar ovalden silindiriğe; involukrum brakteleri 5-7 sıralı, orta ve dış involukrum brakteleri dik, orta involukrum brakteleri lineer-lanseolat

(Davis ve Parris., 1975; Duman ve ark., 2017 ve Yıldız ve ark., 2013).

1.1.6. Çalışılan *Cirsium* Mill. Türlerinin Botanik Özellikleri

1.1.6.1. *Cirsium balikesirens* Yıldız, Arabacı ve Dirmenci

İki yıllık, 50-200 cm, gövde kanatsız, tabanda tek, üst kısımlarda tek ya da çok dallanmış, örümcek ağı tüylüden tomentosa kadar. Yapraklar otsu, üst yüzü dikenli-strigoz, seta dik-yayık, tüysüz; alt yüzü örümcek ağı-tomentoz tüylü; taban yaprakları (15-)20-30 × 5-13 cm (yaprak sapı dahil), orta damara kadar parçalı, loblar 11 çift, şeritsi-mızraksı, 5-10 mm uç dikenini dahil 2-7 × 0,6-1 cm, sivri, lobun kenarları dikencikli-silli; orta gövde yaprakları 3-10 mm uç dikenini dahil 10-18 × 6-13 cm, sapsız, kulakçıklı, oblong, 2/3'ten orta damara kadar parçalı; loblar 5-11 çift, şeritsi-mızraksı, üst gövde yaprakları küçük, 5 × 10 cm'e kadar. İnvolutkral yapraklar 5-7 adet, 5-40 mm, çoğunlukla involukrumdan uzun, nadiren kısa ya da eşit. İnvolutkrumlar yumurtamsıdan silindirik'e kadar, 15-20 × 10-15 mm. Fillariler seyrek örümcek ağı tüylü, lineer-lanseolat, 5-7 sıralı; ortadakiler 1-2 mm uç dikenini dahil 10-14 mm, dik, kenarı 1 mm'den kısa skabrit. Korolla morumsu kırmızı, 22-27 mm, loblar 1/3 üne kadar parçalanmış; stilus korolladan uzun; filament anterin tabanında tüylü, anter 7-8 mm. Aken 4-5 mm, hafifçe basık, soluk kahverengili. Papus 14-18 mm, kirli beyaz.

Çiçeklenme zamanı: Temmuz-Eylül.

Yetiştirme ortamı: *Quercus cerris* L., *Pinus brutia* Ten., *P. nigra* J.F. Arnold ve yaprak döken orman açıklıklarında. 200-1000 m

Genel yayılışı: Endemik. Akdeniz elamanı (Yıldız ve ark., 2013).

1.1.6.2. *Cirsium nerimaniae* Yıldız, Dirmenci ve Arabacı

İki yıllık, 100-150 cm, gövde sağlam, kanatsız, üst kısımlarda dallanır, çizgili, genellikle tabanda tek, seyrek örümcek ağsı tüylü. Taban yaprakları bilinmiyor. Gövde yaprakları derimsi, tabandan uca doğru küçülür, üst yüzü setalı, tüysüz; alt yüzü örümcek ağsı tüylü, 10-20 × 4-7 cm (5-12 mm uç dikenini dahil), sapsız, kulakçıklı, dikdörtgensel, orta damara kadar parçalı; loblar 5-7 çift, iki parçalı, üçgenimsi-mızraklı, uç dikenini 5-10 mm, diken sağlam, lobun kenarları dikencikli-silli. İnvolukral yapraklar 3-7 adet, 25-50 mm, genellikle involukrumdan uzun, nadiren kısa. İnvolukrumlar dik, yumurtamsıdan silindirik'e kadar, 20-25 × 15-20 mm. Fillariler tüysüzden çok az örümcek ağsı tüylüye kadar, yumurtamsı-lanseolat, 7-9 sıralı; ortadakiler 4-6 mm uç dikenini dahil 13-17 mm, kenarı 1 mm'den kısa skabrit. Korolla morumsu kırmızı, 22-27 mm, loblar 1/3 üne kadar parçalanmış; filament anterin tabanında tüylü, anter 7-8 mm. Aken 4-5 mm, hafifçe basık, kirli beyaz. Papus 18-21 mm, kirli beyaz.

Çiçeklenme zamanı: Temmuz-Eylül.

Yetiştirme ortamı: *Sarcopoterium spinosum* Spach, *Thymbra spicata* L., *Quercus coccifera* L., *Satureja icarica* P.H. Davis, *Olea europaea* L., ve *Phyllaria laetifolia* L. türlerinden oluşan frigana içinde. 100-150 m

Genel yayılışı: Endemik. Akdeniz elamanı (Yıldız ve ark., 2013).

1.1.6.3. *Cirsium sommieri* Petr.

Çok yıllık, 45-90 cm, tabanda çok gövdeli. Gövde sıklıkla ince, yükselici, kanatsız, çok az örümcek ağı tüylü, genellikle seyrek dallanmış. Taban yaprakları, 4-5 cm'lik petiyol dahil $25-35 \times 7-10$ cm, oblong, aya $2/3$ 'üne kadar bölünmüş üst yüzü tüysüz, seyrek dikencikli, alt yüzü örümcek ağı tüylü, gövde yaprakları yumurtamsı-oblong, 20×10 cm'ye kadar, sapsız, $2/3$ 'ten orta damara kadar parçalı, yanal loblar iki parçalı, 1-3 dişli, üç köşeli, 4-9 çift, yanal ve terminal loblar dardan kalına kadar 6-16 mm uç dikenli, üst yüzü dikencikli-strigoz, setalar 0.2-1.6 mm, nadiren seyrek 7.5 mm dikenler var, tüysüz; alt yüzü bazen çok az, genellikle sık örümcek ağı tüylü, yanal dallar 1-4, 1-7 kapitulumlu, involukral yapraklar 0-3, geriye kıvrık, involukrumdan kısa, nadiren eşit. İnvolutrumlar sarkık, basık-küresimsiden geniş-ters yumurtamsıya kadar, $20-30 \times 15-30$ mm. Fillariler tüysüz ya da çok az örümcek ağı tüylü, 8-9 seri; dıştakiler ve ortadakiler orta bölgesinde, kenarında ya da bazen iç yüzünde azdan çoğa kadar 0,6-2 mm küçük dikenli, geriye kıvrık; ortadakiler dıştakilerden daha az küçük dikenli, $4-10 \times 0,3$ mm silindirik uç dikenli dahil 15-20 mm; içtekiler dikenciksiz, bazen dik-yayık. Korolla morumsu kırmızı, 22-28 mm. Papus 20-21 mm.

Çiçeklenme Zamanı: Temmuz- Eylül.

Yetiştirme Ortamı: Orman açıklıkları, orman açıklıklarında bazaltik taşlık alanlar, yol kenarları, stepik alanlar, tarım arazileri ve nemli alanlar, 1000-2500 m.

Genel yayılışı: Endemik. İran-Turan elemanı (Davis ve Parris., 1975). .

1.1.6.4. *Cirsium cephalotes* Boiss.

Çok yıllık, 30-75 cm. Gövde sert, bazen dallanmış, kanatsız, örümcek ağı tüylü. Ana gövde yaprakları semi-ampleksikaul, dikdörtgensi, orta damara kadar parçalı, yanal loblar iki parçalı, dişli, 4-8 parçalı, dar bir şekilde üçgensiden lanseolata kadar, yanal ve terminal loblar ve 2-12 mm'ye kadar uç dikenli, üst yüzü dikenli

strigoz 0,3-1,5 mm setalı, genellikle örümcek ağı tüylü, bazen üstte yeşilimsi yoğun tüylü. Yanal dallar 0-3, 1-3-kapitulalı, daha üst yapraklar 6-12, involukrat involukruma eşitten daha uzuna kadar. İnvolukrumlar dik, basık-küresimsiden ters yumurtamsı, 30-50 mm. Fillariler yoğun örümcek ağı tüylü, 8 seri; ortadakiler dik-yayık yayık sivriye kadar 4-8 x 0,1 mm uç diken taşıyan 23-29 mm. Korolla pembemsi-mor, 32-37 mm. Aken olgunlaşmamış. Papus 23-26 mm.

Çiçeklenme zamanı: Ağustos-Eylül.

Yetiştirme ortamı: Kireçsiz yamaçlarda nadiren çimenler arasında, nadasa bırakılmış alanlarda, 1500-2450 m (Davis ve Parris., 1975 ve Duman ve ark., 2017).

1.2. *Cirsium* Türlerinin Halk Arasında Kullanılışları

Cirsium kelimesi yunanca “şişmiş damarlar” anlamına gelen “khirsos” kelimesinden türetilmiş olup, halk arasında damar hastalıkları tedavisinde kullanılmaktadır (Yıldız ve ark., 2016).

Türkiye’de halk arasında “çakır diken, çarık kesen, eşek diken, hamur kesen, kavruhan, kangaldiken, kazan kulpu, kilindor, körkenger, köy göçerten ve su diken” olarak bilinen *Cirsium* türlerinin kökleri infüzyon ya da dekoksasyon şeklinde hemoroit ve bazı iç hastalıklarının tedavisinde; sapları ise taze olarak ya da infüzyon şeklinde öksürük ve bronşit tedavisinde kullanılmaktadır (Deliorman-Orhan ve ark., 2007 ve Sezik ve ark., 1997). Eşek diken olarak bilinen *Cirsium italicum*’un tohumları ise öğütülüp, suyla kaynatılıp soğutulduktan sonra her sabah aç karnına içilerek anal fissür tedavisinde kullanılmaktadır (Yeşilada ve ark., 1999). Kangal diken olarak bilinen *Cirsium arvense*’nin çiçekleri infüzyon şeklinde ya da taze olarak peptik ülser tedavisinde kullanılmaktadır (Yeşilada ve ark., 1995).

C. arvense İtalya’da halk arasında yaraların tedavisinde hemostatik olarak kullanılmakta olup yaraya doğrudan uygulanır ya da karaağaç kabuğu ile birlikte bandaj şeklinde yaraya sarılarak uygulanır. Tütün yapraklarının dekoksasyonu

dispepsi tedavisinde kullanılmaktadır (Guarrera, 2005). *C. arvense* ve *Cirsium oleraceum*'un herbası geleneksel olarak diüretik, hemostatik, anti-enflamatuvar ve astrenjan etkili olarak kullanılmaktadır (Borawska ve ark., 2010).

Cirsium chanroenicum'un topraküstü kısımları detoksifikasyon amacıyla, antipiretik olarak ve dolaşım sistemi rahatsızlıklarında halk arasında kullanılmaktadır (Lim ve ark., 2008).

Hindistan'da halk arasında *Cirsium chinensis* köklerinden elde edilen suyu dikenli tel yaralanmalarında, haricen ülserasyon ve apselerde antiseptik olarak kullanılmaktadır. Şişkinlik tedavisinde, köklerden hazırlanan dekoksyonu günde 2-3 kez oral olarak kullanılmaktadır (Sharma ve ark., 2001).

Japonya'da "yamagoba" olarak bilinen *Cirsium dipsacolepis* kökleri turşu şeklinde yenilmekte olup, et yemeklerinin yanında lezzet vermesi amacıyla da tüketilmektedir (Bracca ve Kaufman, 2008). Amerika'da *C. dipsacolepis* ve *Cirsium ochrocentrum* kökleri, ve *Cirsium pascuarens*'nin yapraklarının sulu ekstresi halk arasında antidiyabetik olarak kullanılmaktadır (Soumyanath, 2005).

Cirsium japonicum var. *ussuriense*'nin tüm kısımları Kore'de halk arasında antienflamatuvar amaçlı kullanılmakta olup topraküstü kısımları tonik, diüretik olarak, detoksifikasyon amacıyla ve dispepsi tedavisinde kullanılmaktadır (Park ve ark., 1995 ve Park ve ark., 2004). Etnofarmakolojik verilere göre *C. japonicum*, Doğu Asya ülkelerinde nutrasötik olarak, enflamasyon, travmatik kanama, hipertansiyon, hepatit ve menapozla gelişen kemik erimesinin tedavisinde kullanılmaktadır (Rodriguez ve ark., 2018). *C. japonicum* halk arasında ayrıca karaciğer, uterus kanseri ve lösemi tedavisinde kullanılmaktadır (Yin ve ark., 2008).

Cirsium maritimum geleneksel olarak Japonya'da hemoptizi, bel soğukluğu ve yanıklarının tedavisinde kullanılmakta olup sebze ve turşu şeklinde de tüketilmektedir (Nakasugi ve ark., 2003).

Cirsium rhinoceros halk arasında ödem tedavisinde, hemoroit ve kan kusmasına karşı kullanılmaktadır (Lee ve ark., 1966).

Cirsium rivulare Polonya'da halk arasında anksiyolitik amaçlı kullanılmaktadır (Nazaruk ve Jakoniuk, 2005 ve Walesuik ve ark., 2010).

Kore'de geleneksel olarak *Cirsium setidens* diyabet, hemostaz, hematemez, hematüri, hemoroit ve hipertansiyon tedavisinde kullanılmaktadır. Tütün taze yaprakları ve sapları A vitamini ve kalsiyum açısından zengindir ve gıda olarak tüketilmektedir (Yoo ve ark., 2008; Lee ve ark., 2015).

Diğer etnofarmakolojik araştırmalara göre *Cirsium* türleri Polonya'da halk arasında anksiyolitik, antiseptik ve diüretik amaçlı kullanılmaktadır (Kozyra ve Glowniak, 2013).

Cirsium türlerinin herbası Çin, Japonya ve Kore'de halk arasında aşırı kanama ve enflamatuvar rahatsızlıklara karşı, ayrıca hepatit, nefrit ve mastit tedavisinde kullanılmaktadır (Han ve ark., 2018).

Cirsium türlerinin kökleri Japonya ve Çin farmakopesinde kayıtlı olup geleneksel Çin tıbbında antihemorajik olarak kullanımı bulunmaktadır (Miyazawa ve ark., 2003).

Cirsium türlerinin kökleri ya da bütün kısımları halk arasında karaciğer ve böbrek enflamasyonunda, kanama tedavisinde ve birçok bağırsak rahatsızlığında kullanılmaktadır (Jung ve ark., 2009). *Cirsium* türlerinin yaprak ve sapları halk arasında yenilebilmekte olup, çay, salata ve çorbalara katılmaktadır (Ma ve ark., 2018).

1.3. *Cirsium* Türleri Üzerinede Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Cirsium türlerinde gerçekleştirilen fitokimyasal çalışmalara göre, bazı *Cirsium* türlerinin flavon ve flavon glikoziti, flavonol ve flavonol glikoziti, flavanon ve flavanon glikoziti, fenilpropanoit glikoziti, fenolik asit, lignan, megastigman glikoziti, kumarin ve terpen grubu yapısında bileşikler içerdiği tespit edilmiştir.

1.3.1. Flavonoidler

Flavon yapısındaki apigenin, *C. japonicum* var. *maackii*'nin tüm kısımlarının metanol ekstresinden ve topraküstü kısımlarının etanol ekstresinden hazırlanan etilasetat alt fraksiyonundan, *Cirsium nipponicum*'un tüm kısımlarından, *Cirsium palustre*'nin çiçeklerinden, *C. rhinoceros*'un topraküstü kısımlarından ve *C. rivulare*'nin çiçeklerinden hazırlanan metanol ekstresinden, *Cirsium setosum*'un çiçeklerinden, *Cirsium sipyleum*'un topraküstü kısımlarının aseton ekstresinden, *Cirsium syriacum*'un herbasının etanol ekstresinden ve *Cirsium henryi*'den izole edilmiştir ve ayrıca yüksek performanslı sıvı kromatografisi (YPSK) çalışmalarında *C. arvense*, *Cirsium oleraceum*, *C. palustre*, *C. rivulare* ve *Cirsium vulgare*'nin etilasetat ekstresinde, *C. canum*'un metanol ekstresinde ve *C. japonicum* var. *spinosissimum*, *C. japonicum* var. *ussuriense*, *Cirsium setidens*, *Cirsium pendulum* ve *C. nipponicum*'da apigenin varlığı tespit edilmiştir (Aboul-Ela ve ark., 2002; Boğa ve ark., 2014; Feng ve ark., 2012; Han ve ark., 2008; Jung ve ark., 2017; Kozyra ve ark., 2015; Lee ve ark., 1994; Lee ve Lee, 2005; Nazaruk, 2009; Nazaruk ve Szoka, 2009; Nazaruk ve Gudej, 2003; Nguyen ve ark., 2011 ve Rodriguez ve ark., 2018).

Flavon glikoziti yapısındaki apigenin 7-O- β -glukopiranozit, *C. palustre*'nin çiçeklerinin metanol ekstresinden hazırlanan etil asetat alt fraksiyonundan, *C. palustre*'nin yapraklarının ve *C. rivulare*'nin çiçeklerinin metanol ekstresinden, *Cirsium syriacum*'un herbasının etanol ekstresinden hareketle izole edilmiştir. Bu bileşik ayrıca YPSK analizi ile *Cirsium canum*'un çiçeklerinin metanol ekstresinde tespit edilmiştir; 6-hidroksiapigenin 7-O- β -glukopiranozit, *C. palustre*'nin

yapraklarının metanol ekstresinden; apigenin 7-O- β -glukuronit *C. rivulare*'nin çiçeklerinin metanol ekstresinden, *C. japonicum* var. *maackii*'nin tüm kısımlarının metanol ekstresinden ve *C. japonicum*'un topraküstü kısımlarının %70'lik etanol ekstresinden hazırlanan su alt fraksiyonundan; apigenin 7-O- β -glukuronit metil esterini ise *C. japonicum*'un topraküstü kısımlarının % 70'lik etanol ekstresinden hazırlanan su alt fraksiyonundan hareketle izole edilmiştir (Aboul-Ela ve ark., 2002; Jung ve ark., 2017; Kozyra ve ark., 2015; Ma ve ark., 2018; Nazaruk, 2009; Nazaruk ve Galicka, 2014 ve Nazaruk ve Gudej, 2003).

Hispidulin ise; *C. japonicum*'dan, *C. japonicum* var. *maackii*'nin topraküstü kısımlarının etanol ekstresinin etil asetat alt fraksiyonundan, *Cirsium oligophyllum*'un yapraklarının metanol ekstresinden, *C. rivulare*'nin çiçeklerinin metanol ekstresinden hareketle izole edilmiştir (Iwashina ve ark., 1999; Lee ve ark., 2017; Lu ve ark., 2009; Nazaruk ve Gudej, 2003 ve Rodriguez ve ark., 2018). Hispidulin 7-O- β -neohesperidozit de, *C. japonicum*'un tüm kısımlarının metanol ekstresinden hareketle izole edilmiş ve YPSK çalışmalarında *Cirsium japonicum* var. *spinosissimum*, *C. nipponicum*, *Cirsium pendulum* ve *C. setidens* içeriğinde tespit edilmiştir. Hispidulin 4'-O- β -glukopiranozit, *Cirsium oligophyllum*'un yapraklarının metanol ekstresinden; Hispidulin 7-O-glukopiranozit, *C. palustre*'nin çiçeklerinin metanol ekstresinin etil asetat alt fraksiyonundan hareketle izole edilmiştir (Han ve ark., 2018; Iwashina ve ark., 1999; Lee ve ark., 1994; Nazaruk, 2009; Nguyen ve ark., 2011 ve Park ve ark., 1995).

Flavon yapısındaki sorbifolin ise *C. palustre*'nin yapraklarının metanol ekstresinden hareketle izole edilmiştir (Nazaruk ve ark., 2014).

Flavon yapısındaki sirsimaritin (sirsitakaogenin) *C. rhinoceros*'un tüm metanol ekstresinden, *C. japonicum* var. *maackii*'nin topraküstü kısımlarının etanol ekstresinden hazırlanan etil asetat alt fraksiyonundan izole edilmiştir (Lee ve ark., 2017; Rodriguez ve ark., 2018 ve Yim ve ark., 2003). Flavon glikoziti yapısındaki sirsimaritin 4'-O- β -glukopiranozit (sirsimaritin, sirsitakaozit), *C. japonicum* var. *ussuriense*'nin tüm kısımlarının metanol ekstresinden hazırlanan *n*-butanol alt

fraksiyonundan, *C. japonicum* var. *maackii*'nin topraküstü kısımlarının etanol ekstresinden hazırlanan etil asetat alt fraksiyonundan ve *C. rhinoceros*'un metanol ekstresinden hareketle izole edilmiştir ve *Cirsium lineare*'nin topraküstü kısımlarında HPLC çalışmalarıyla tespit edilmiştir (Han ve ark., 2018; Jeong ve ark., 2008; Lee ve ark., 2017; Park ve ark., 1995; Rodriguez ve ark., 2018 ve Yim ve ark., 2003).

C. setidens'in tüm kısımlarının metanol ekstresinin *n*-butanol alt fraksiyonundan setidenozit B izole edilmiştir (Jeong ve ark., 2018). *C. arvense*'nin tüm kısımlarının metanol ekstresinden hazırlanan kloroform alt fraksiyonundan, *C. henryi*'den ve *C. rhinoceros*'ın metanol ekstresinden hazırlanan hekzan alt fraksiyonundan hareketle izole edilen flavon yapısındaki akasetinin, YPSK çalışmaları ile *C. chanroenicum*'da olduğu tespit edilmiştir (Khan ve ark., 2011; Jeong ve ark., 2008; Mao ve ark., 2016 ve Yim ve ark., 2003).

Flavon glikoziti yapısındaki akasetin 7-*O*- β -glukopiranozit, *Cirsium henryi*'den; akasetin 7-*O*- β -rutinozit (linarin) ise *Cirsium albescens*'nin yapraklarından, *C. chanroenicum*'un tüm kısımlarından hazırlanan etilasetat ekstresinden, *C. henryi*'den, *Cirsium hosogawa*'nın yapraklarından, *C. japonicum*'un rizomlarından, yapraklarından ve topraküstü kısmının %70'lik etanol ekstresinden hazırlanan su alt fraksiyonundan, *Cirsium kawakamii*'nin yapraklarından, *C. setosum*'dan, *Cirsium rhinoceros*'ın topraküstü kısımlarının metanol ekstresinden, *C. rivulare*'nin çiçeklerinden hazırlanan metanol ekstresinden ve *Cirsium ussuriense*'den izole edilmiştir ve YBSK çalışmaları *C. canum*'un çiçeklerinin, *C. japonicum*'un topraküstü kısımlarının, *C. setidens*'in yapraklarının metanol ekstresinde ve *C. setosum*'da tespit edilmiştir (Ganzera ve ark., 2005; Han ve ark., 2008; Han ve ark., 2018; Hou ve ark., 2010; Kozyra ve ark., 2015; Lee ve ark., 1994; Lim ve ark., 2008; Ma ve ark., 2018; Mao ve ark., 2016; Nazaruk ve Gudej, 2003; Nugroho ve ark., 2011; Wu ve ark., 1981 ve Zhi ve ark., 2003).

Flavon yapısındaki pektolinarigenin *C. chanroenicum*'un topraküstü kısımlarının etil asetat ekstresinden, *C. japonicum*'un topraküstü kısımlarının %80

etanol/%10 Hidroklorik asit (HCl) (4:1 v/v) ekstresinden hazırlanan kloroform alt fraksiyonundan ve *C. nipponicum*'un topraküstü kısımlarının metanol ekstresinden izole edilmiştir (Lee ve Lee, 2005; Lim ve ark., 2008; Lu ve ark., 2014 ve Lu ve ark., 2016). Flavon glikoziti yapısındaki pektolinarigenin 7-O- β -glukopiranozit, *C. arvense*'nin tüm kısımlarının metanol ekstresinden hazırlanan kloroform alt fraksiyonundan ve *C. rhinoceros*'un topraküstü kısımlarının metanol ekstresinden hareketle izole edilmiş olup (Khan ve ark., 2011 ve Lee ve ark., 1994); pektolinarigenin 7-O- β -rutinozit (pektolinarin), *C. chanroenicum*'un topraküstü kısımlarının etilasetat ekstresinden ve *C. rhinoceros*'un topraküstü kısımlarının metanol ekstresinden hareketle izole edilmiştir ve YPSK çalışmalarında *C. japonicum* var. *ussuriense*'nin kök ve topraküstü kısımlarının, *C. setidens*'in yapraklarının, *C. lineare*, *C. setidens*, *C. nipponicum* ve *C. pendulum* içeriğinde tespit edilmiştir (Ganzera ve ark., 2005; Jeong ve ark., 2008; Lee ve ark., 1994; Lim ve ark., 2008; Nguyen ve ark., 2011 ve Nugroho ve ark., 2011).

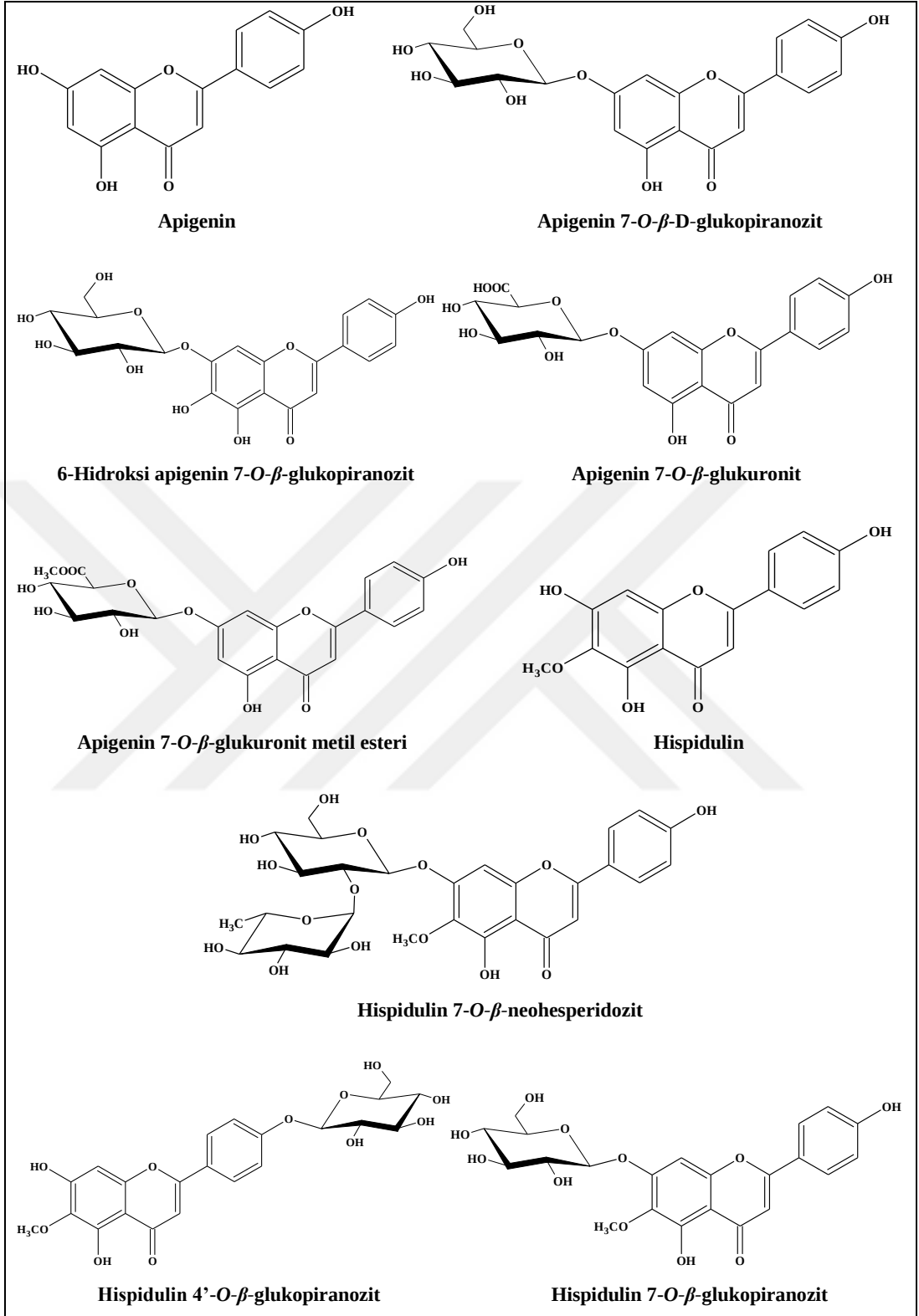
Flavon yapısındaki luteolin, *Cirsium albescens*'in yapraklarından, *C. arvense*'nin tüm kısımlarından hazırlanan etil asetat ekstresinden, *Cirsium hosogawa*'nın yapraklarından, *C. japonicum* var. *australe*'nin yapraklarından, *C. japonicum* var. *maackii*'nin yapraklarının metanol ekstresinden hareketle hazırlanan etil asetat alt fraksiyonundan ve tüm kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinden, *C. kawakamii*'nin yapraklarından, *C. palustre*'nin çiçek ve yapraklarından, *C. rivulare*'nin çiçeklerinden ve *C. rhinoceros*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinden, *Cirsium syriacum*'un herbasından hazırlanan etanol ekstresinden ve *C. vulgare*'nin etil asetat ekstresinden hareketle izole edilmiştir. YPSK çalışmalarında *C. arvense*, *C. oleraceum* ve *C. rivulare*'in yapraklarının etil asetat ekstresinde, *C. japonicum*, *C. japonicum* var. *spinosissimum*, *C. japonicum* var. *ussuriense*, *C. nipponicum* ve *C. setidens*'in topraküstü kısımlarının metanol ekstresinde tespit edilmiştir (Aboul-Ela ve ark., 2002; Dehjurian ve ark., 2018; Jung ve ark., 2009; Jung ve ark., 2017; Khan ve ark., 2013; Lee ve ark., 1994; Liu ve ark., 2013; Ganzera ve ark., 2005; Nazaruk ve Gudej, 2003; Nazaruk, 2009; Nazaruk ve ark., 2009; Nazaruk ve Galicka, 2014; Nguyen ve ark., 2011; Wagle ve ark., 2018; Wagle ve ark., 2019 ve Wu ve ark., 1981).

Flavon glikoziti yapısındaki luteolin 5-*O*- β -glukopiranozit, *C. japonicum* var. *maackii*'nin yapraklarının metanol ekstresinden hazırlanan etilasetat alt fraksiyonundan ve tüm kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinden hareketle izole edilmiştir ve YPSK çalışmalarında *C. japonicum* var. *ussuriense* ve *C. setidens*'in içeriğinde tespit edilmiştir (Jung ve ark., 2017; Nguyen ve ark., 2011 ve Wagle ve ark., 2019).

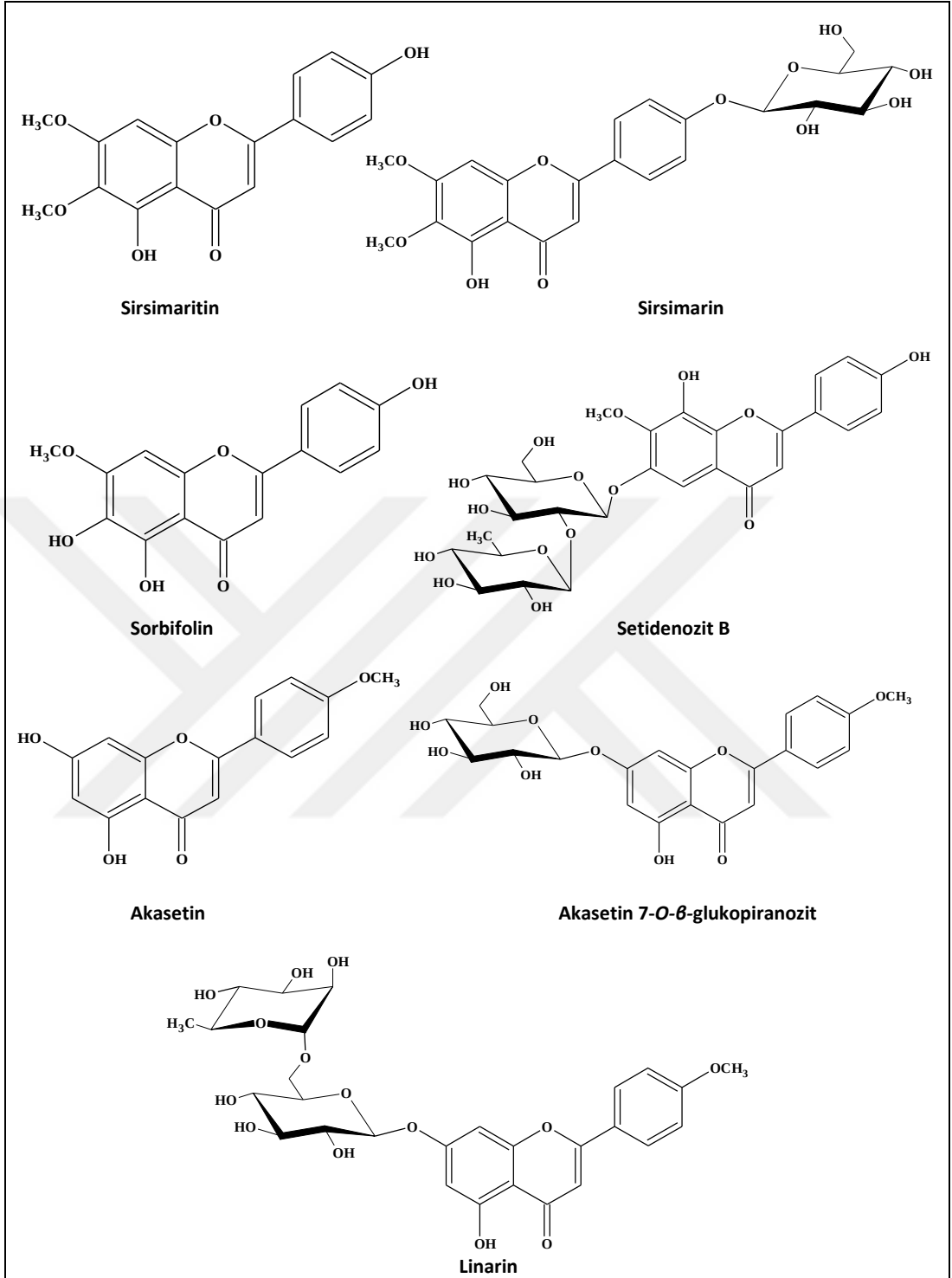
Flavon glikoziti yapısındaki luteolin 7-*O*- β -glukopiranozit ise *C. albescens*, *C. hosogawa*, *C. japonicum* var. *australe* ve *Cirsium kawakamii*'nin yapraklarından, *C. japonicum* var. *maackii*'nin yapraklarının metanol ekstresinden hazırlanan etilasetat alt fraksiyonundan ve tüm kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinden ve *C. palustre*'nin yapraklarının metanol ekstresinden hareketle izole edilmiştir ve YPSK çalışmalarında *C. japonicum* var. *spinosissimum*, *C. setidens* ve *C. pendulum* içeriğinde tespit edilmiştir. Luteolin 7-*O*- β -glukuronit ve luteolin 7-*O*- β -glukuronit metil esteri ise *C. japonicum*'un tüm kısımlarının %70'lik etanol ekstresinden hareketle izole edilmiştir (Kozyra ve ark., 2015; Ma ve ark., 2018; Nazaruk, 2009; Nazaruk ve Galicka, 2014; Nguyen ve ark., 2011; Wagle ve ark., 2019 ve Wu ve ark., 1981).

C. palustre'nin yapraklarının metanol ekstresinden hareketle flavon yapısındaki pedalitin izole edilmiştir (Nazaruk ve ark., 2014). *C. oligophyllum*'un yapraklarının metanol ekstresinden hareketle nepetin ve nepetin 4'-*O*- β -glukopiranozit izole edilmiştir (Iwashina ve ark., 1999). Diosmetin *C. japonicum*'dan izole edilmiştir (Jiang ve ark., 2006).

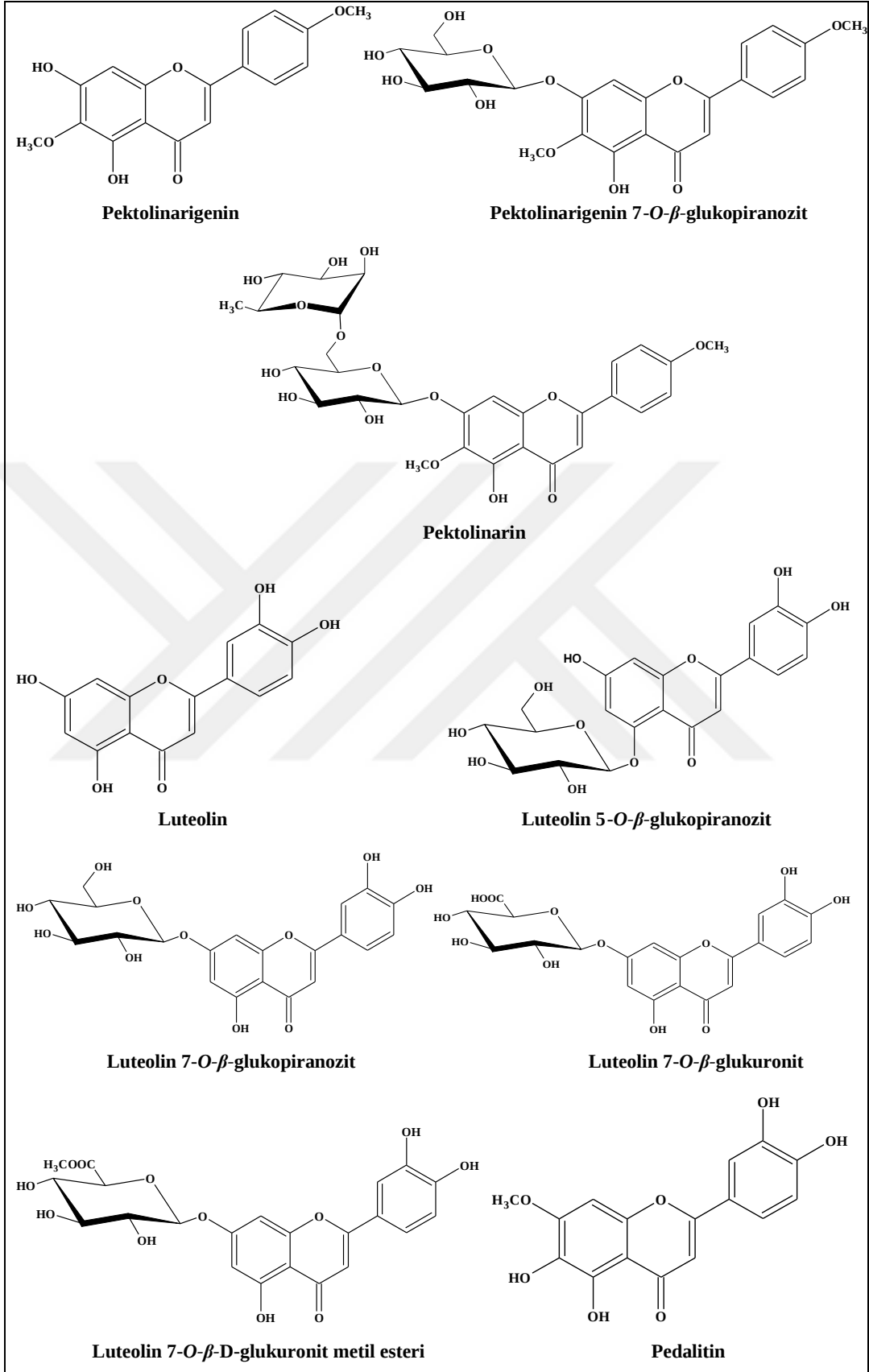
Flavon yapısındaki trisin, *C. palustre*'nin çiçeklerinin metanol ekstresinden hazırlanan etilasetat alt fraksiyonundan, *C. setosum*'dan ve *C. rivulare*'nin çiçeklerinin metanol ekstresinden hareketle, flavon glikoziti trisin-7-*O*- β -glukopiranozit, *C. setosum*'dan izole edilmiştir (Han ve ark., 2008; Nazaruk, 2009; Nazaruk ve Gudej., 2003).



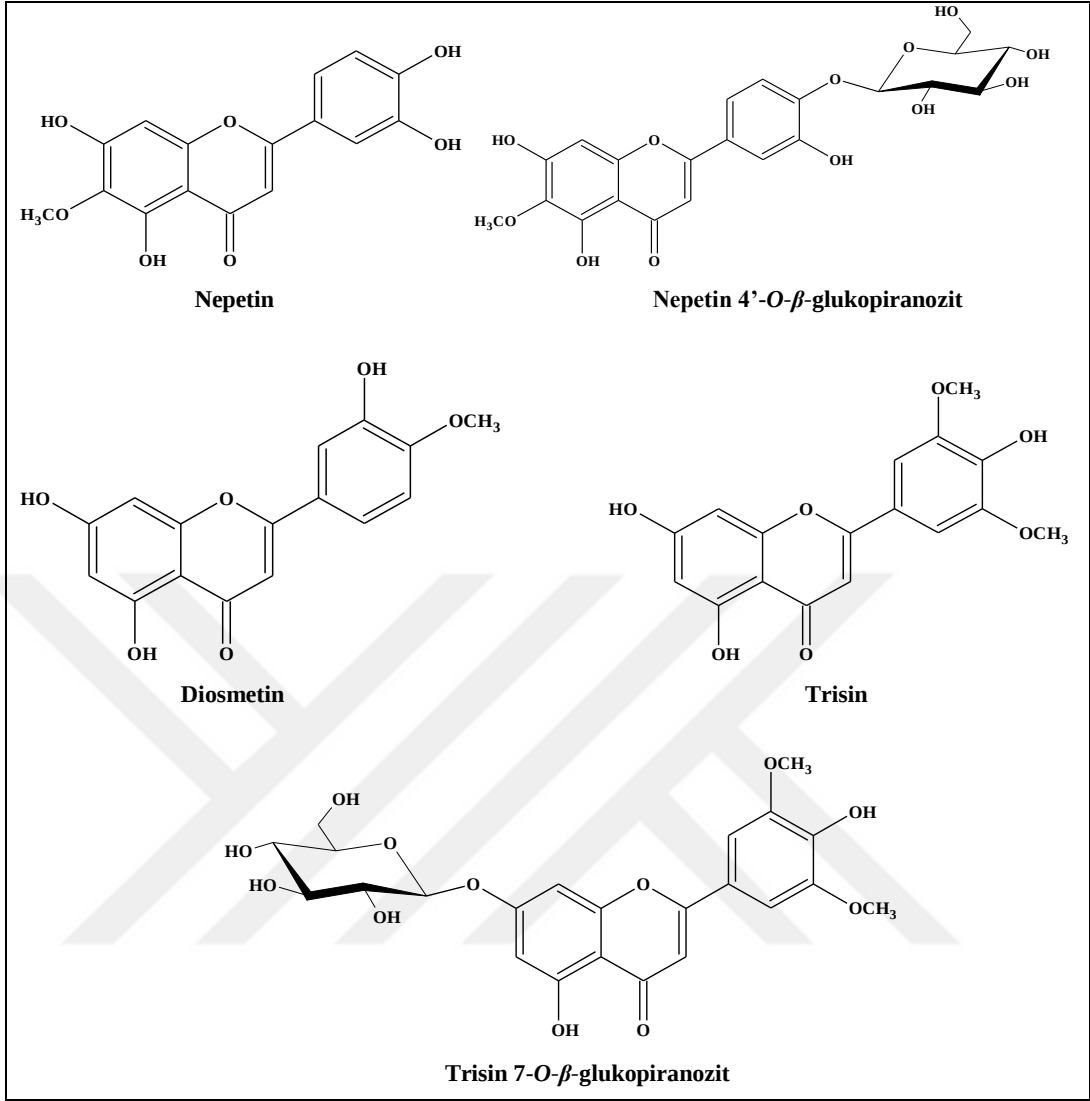
Şekil 1.1. *Cirsium* türlerindeki flavon bileşikleri ve flavon glikozitleri



Şekil 1.1. Devam. *Cirsium* türlerindeki flavon bileşikleri ve flavon glikozitleri



Şekil 1.1. Devam. *Cirsium* türlerindeki flavon bileşikleri ve flavon glikozitleri



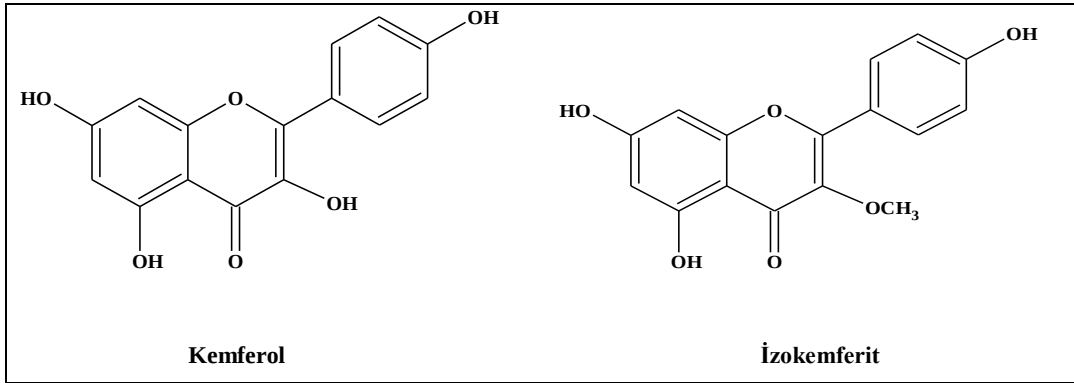
Şekil 1.1. Devam. *Cirsium* türlerindeki flavon bileşikleri ve flavon glikozitleri

C. arvense, *C. oleraceum*, *C. palustre*, *C. rivulare* ve *C. vulgare*'nin yapraklarının etil asetat ekstresinde HPLC çalışmalarında kemferol tespit edilmiştir. İzokemferit, *C. palustre*'nin çiçeklerinin metanol ekstresinin etil asetat alt fraksiyonundan ve *C. setosum*'un çiçeklerinden izole edilmiştir. Flavonol glikoziti yapısındaki kemferol 3-O- β -glukopiranozit (astragalin), *C. canum* ve *C. palustre*'nin çiçeklerinin metanol ekstresinin etil asetat alt fraksiyonundan ve *C. sipyleum* topraküstü kısımlarının metanol ekstresinden; kemferol 3-O- α -ramnopiranozit (afzelin), *Cirsium syriacum*'un herbasının etanol ekstresinden, *C. sipyleum*'un topraküstü kısımlarının metanol ekstresinden, *Cirsium tenoreanum*'un topraküstü kısımlarının metanol ekstresinden; rutin, *Cirsium esculentum*'dan, *Cirsium*

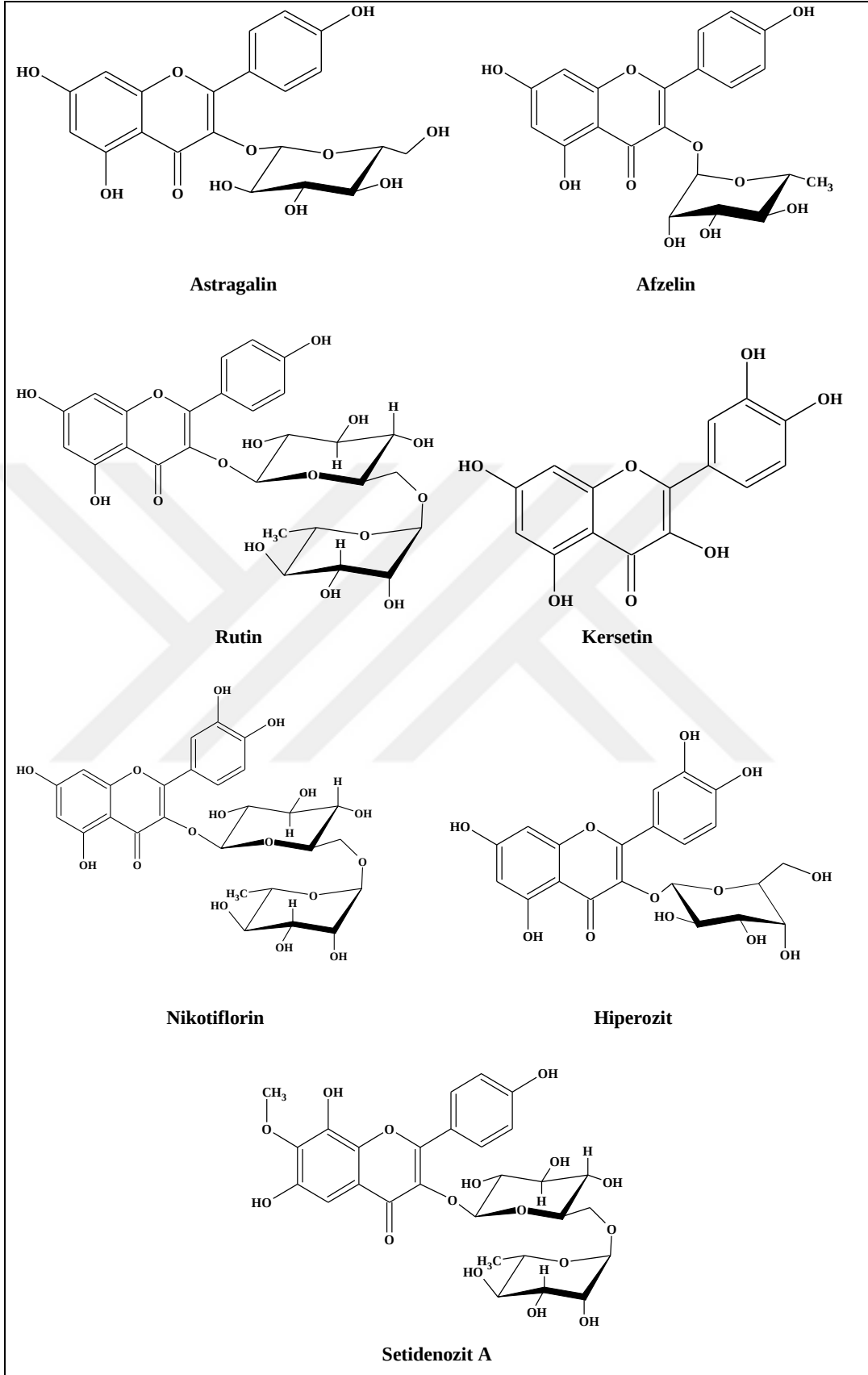
hypoleucum'un topraküstü kısımlarının metanol ekstresinden hazırlanan *n*-butanol alt fraksiyonundan, *Cirsium segestum* alkolik ekstresinden ve *C. setosum*'un çiçeklerinden hareketle izole edilmiştir (Aboul-Ela ve ark., 2002; Boğa ve ark., 2014; Chen ve ark., 2010; Deliorman-Orhan ve ark., 2007; Feng ve ark., 2012; Kozyra ve ark., 2015; Loizzo ve ark., 2004; Nazaruk, 2009; Statti ve ark., 1997; Zhou ve ark., 2007).

Kersetin *C. japonicum*'dan ve *C. setosum*'un topraküstü kısımlarının etanol ekstresinden hareketle izole edilmiştir ve *C. arvense*'nin topraküstü kısımlarının metanol ekstresinde HPLC analiziyle tespit edilmiştir. Kersetin 3-O- β -galaktopiranozit (hiperin, hiperozit), *C. tenoreanum*'un topraküstü kısımlarının metanol ekstresinden izole edilmiş ve *C. setidens*'in yapraklarında YPSK analiziyle tespit edilmiştir. Kersetin 3-O- β -rutinozit (nikotiflorin) *C. hypoleucum*'un topraküstü kısımlarının metanol ekstresinden hazırlanan *n*-butanol alt fraksiyonundan izole edilmiştir (Dehjurian ve ark., 2018; Deliorman-Orhan ve ark., 2007; Jiang ve ark., 2006; Loizzo ve ark., 2004 ve Nugroho ve ark., 2011).

C. setidens'in tüm kısımlarının metanol ekstresinin *n*-butanol alt fraksiyonundan setidenozit A izole edilmiştir (Jeong ve ark., 2018).

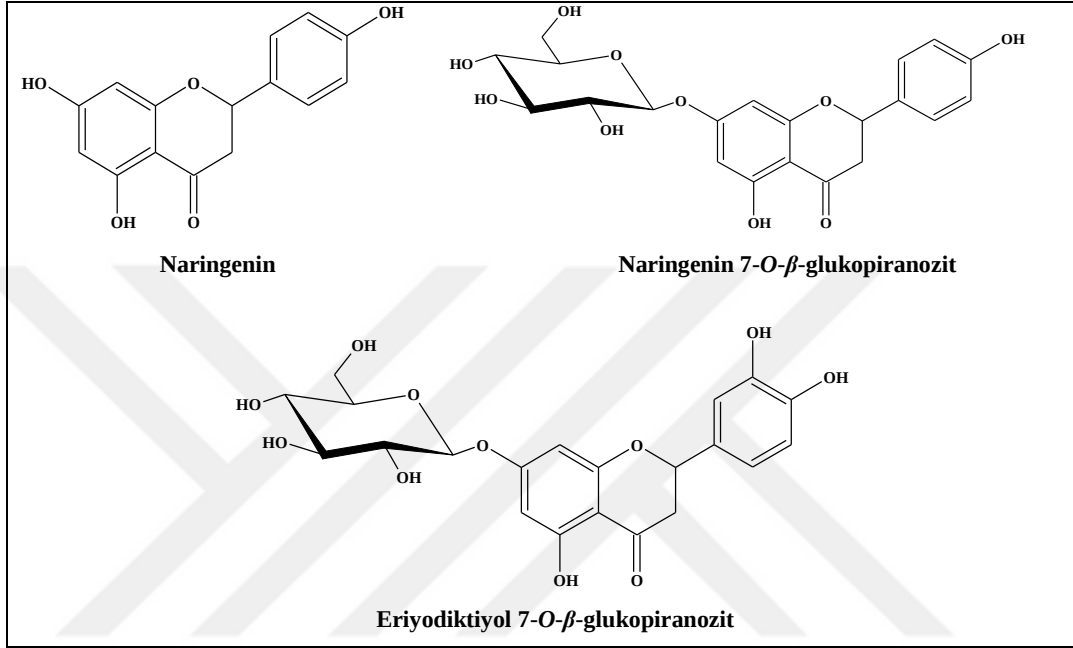


Şekil 1.2. *Cirsium* türlerindeki flavonol bileşikleri ve flavonol glikozitleri



Şekil 1.2. Devam. *Cirsium* türlerindeki flavonol bileşikleri ve flavonol glikozitleri

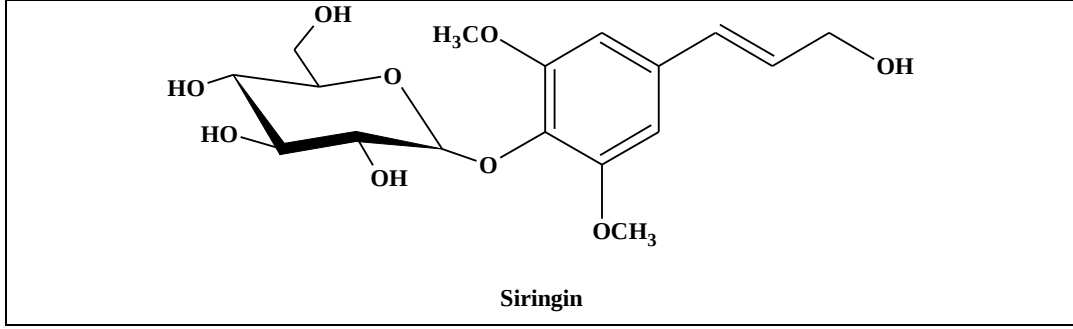
Naringenin, *Cirsium vallis-demonii*'den; naringenin 7-O- β -glukopiranozit, *C. palustre*'nin yapraklarının metanol ekstresinden hareketle izole edilmiştir (Nazaruk ve Galicka, 2014 ve Statti ve ark., 1997). Eriyodiktiyol 7-O- β -glukopiranozit, *C. palustre*'nin yapraklarının metanol ekstresinden izole edilmiştir (Nazaruk ve Galicka, 2014).



Şekil 1.3. *Cirsium* türlerindeki flavanon bileşikleri ve flavanon glikozitleri

1.3.2. Fenilpropanoitler

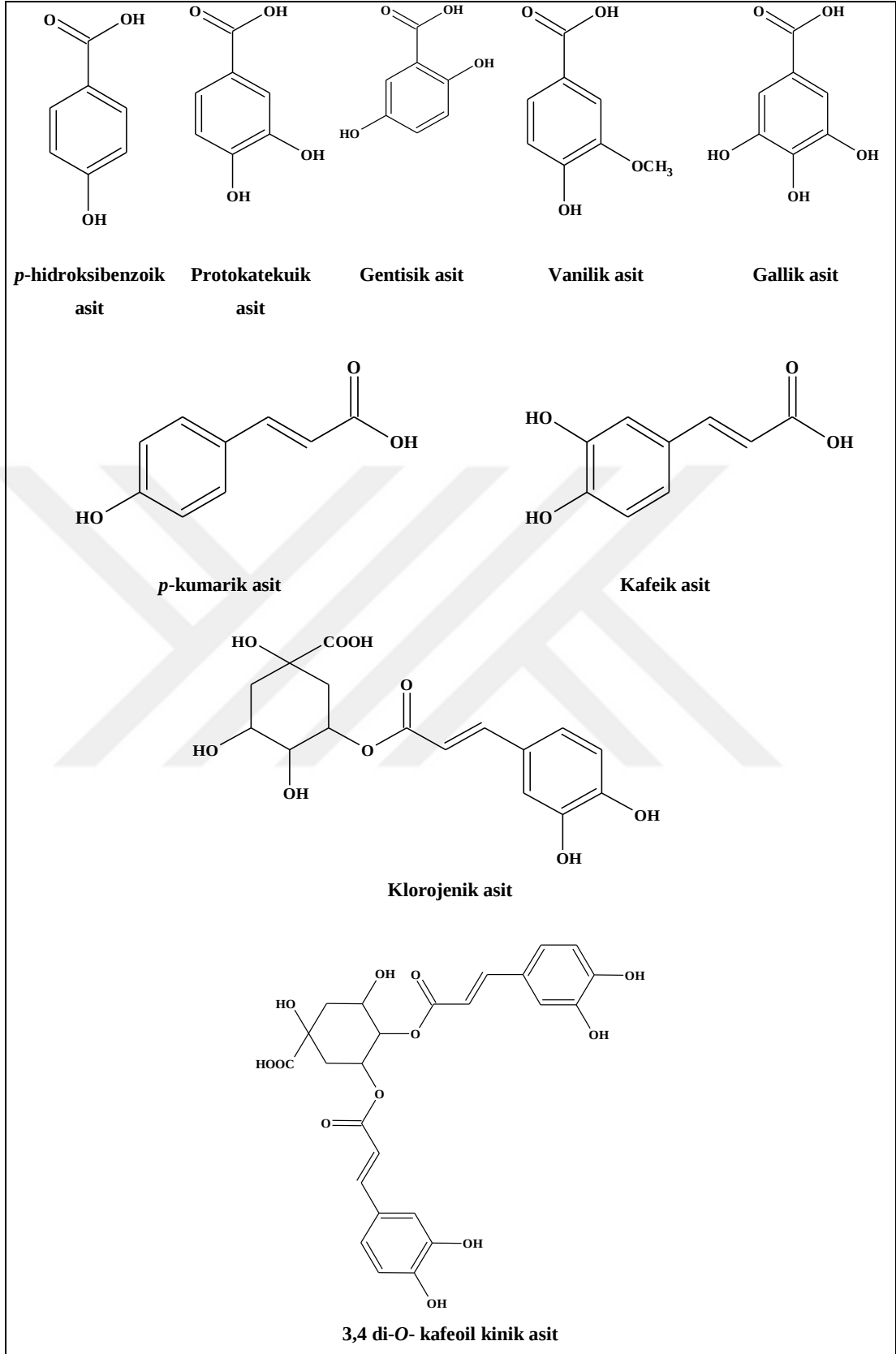
Fenilpropanoit glikozitlerinden siringin, *Cirsium japonicum*'un rizomlarından, *C. leucopsis*'in topraküstü kısımlarının aseton ekstresinden, *C. rivulare*'nin köklerinin metanol ekstresinden ve *Cirsium setidens*'in topraküstü kısımlarının metanol ekstresinin *n*-butanol alt fraksiyonundan izole edilmiştir (Boğa ve ark., 2014; Jeong ve ark., 2018; Strawa ve ark., 2016 ve Zhi ve ark., 2003).



Şekil 1.4. *Cirsium* türlerindeki fenilpropanoit glikoziti

1.3.3. Fenolik Asitler

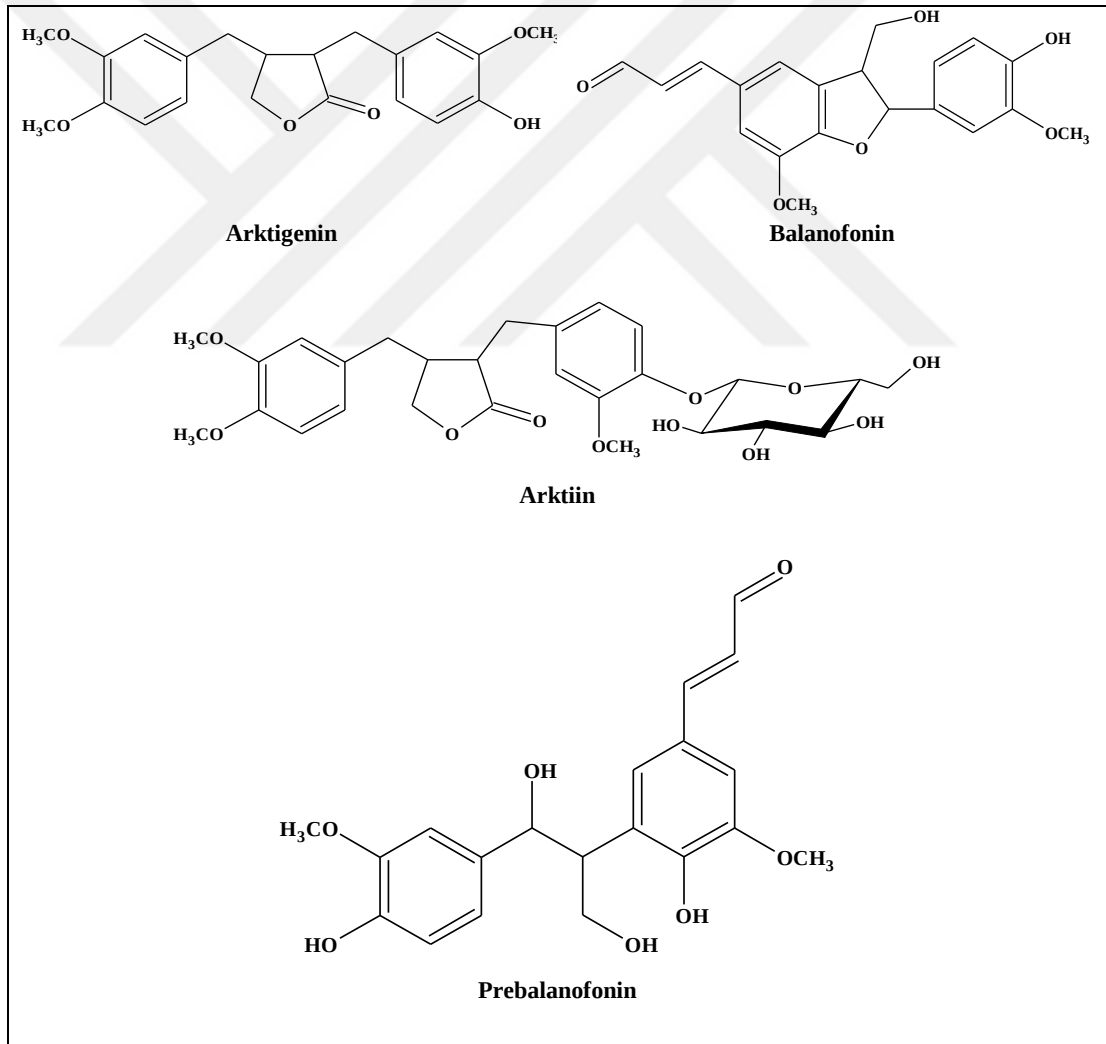
Fenolik asitlerden *p*-hidroksibenzoik asit, *C. sipyleum*'un topraküstü kısımlarının aseton ekstresinden izole edilmiş ve YPSK analizinde *C. vulgare*'nin metanol ekstresinde tespit edilmiştir. Protokateşik asit, *C. henryi*'nin köklerinden izole edilmiştir ve YPSK analizinde *C. vulgare*'nin metanol ekstresinde tespit edilmiştir. Gentisik asit, YPSK analizinde *C. vulgare*'nin metanol ekstresinde tespit edilmiştir. Vanilik asit, *C. henryi*'nin köklerinden ve *C. sipyleum*'un topraküstü kısımlarının metanol ekstresinden izole edilmiş ve YPSK analizinde *C. vulgare*'nin metanol ekstresinde tespit edilmiştir. Fenolik asitlerden gallik asit, YPSK analizinde *C. vulgare*'nin metanol ekstresinde tespit edilmiştir. *p*-Kumarik asit, *Cirsium japonicum*'un rizomlarından ve *C. setosum*'dan izole edilmiştir ve YPSK analizinde *C. canum*'un çiçeklerinin *n*-butanol ekstresinde tespit edilmiştir. Kafeik asit, *C. segestum*'dan ve *C. setosum*'dan izole edilmiştir, YPSK analizinde *C. vulgare* ve *C. canum*'un çiçeklerinin metanol ekstresinde tespit edilmiştir. (Boğa ve ark., 2014; Cao ve Chen, 2010; Han ve ark., 2008; Kozyra ve ark., 2015; Kozyra ve Glowinski, 2013; Nugroho ve ark., 2011; Statti ve ark., 1997; Zhang ve ark., 2010 ve Zhi ve ark., 2003).



Şekil 1.5. *Cirsium* türlerindeki fenolik asitler

Klorojenik asit, *C. palustre*'nin yapraklarının metanol ekstresinden, *C. pendulum*'un etanol ekstresinden ve *C. segetum*'dan izole edilmiştir ve YPSK analizinde *C. canum*'un çiçeklerinin metanol ekstresinden hazırlanan etilasetat ve *n*-butanol alt fraksiyonunda ve *C. setidens*'in yapraklarında tespit edilmiştir (Cao ve Chen, 2010; Chen ve ark., 2007; Kozyra ve ark., 2015; Nazaruk ve Galicka, 2014 ve Nugroho ve ark., 2011). *C. setidens*'in yapraklarında 3,4-di-O-kafeoil kinik asit YPSK analiziyle tespit edilmiştir (Jeong ve ark., 2018 ve Nugroho ve ark., 2011).

1.3.4. Lignanlar



Şekil 1.6. *Cirsium* türlerindeki lignan türevi bileşikler

YPSK çalışmalarında, *C. arvense*'nin metanol ekstresinde, lignan türevi bileşiklerden arktiin, arktigenin, trakelozit ve trakelogenin tespit edilmiştir (Boldizsar ve ark., 2012 ve Szokol-Borsodi ark., 2012). *C. eriophorum*'un meyvelerinin %80'lik metanol ekstresinden prebalanofonin ve balanofonin; *C. sipyleum*'un topraküstü kısımlarının aseton ekstresinden balanofonin ve 1'-O-metilbalanofonin izole edilmiştir (Boğa ve ark., 2014 ve Sólyomváry ve ark., 2015).

1.3.5. Terpenik Bileşikler

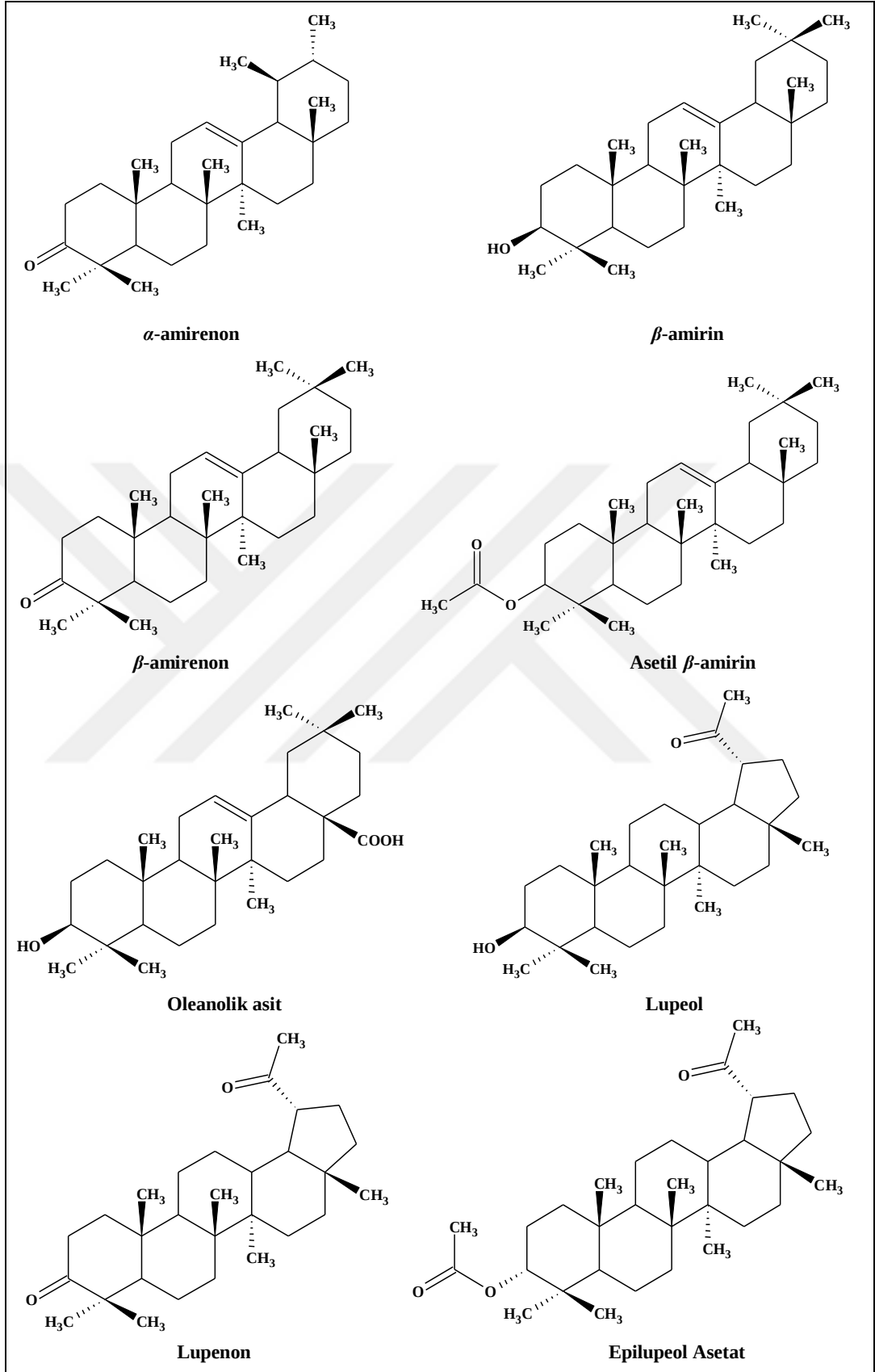
Triterpenik bileşiklerden asetil α -amirin, *Cirsium vallis-demonii*'den; α -amirenon, *C. setosum*'un etanol ekstresinin petrol eteri alt fraksiyonundan; β -amirin, *C. canum*, *Cirsium carolinianum* ve *C. hypoleucum*'dan ve *C. setosum*'un etanol ekstresinin petrol eteri alt fraksiyonundan; β -amirenon, *C. setosum*'un etanol ekstresinin petrol eteri alt fraksiyonundan; asetil β -amirin, *C. vallis-demonii*'den izole edilmiştir (Bohlmann ve Abraham, 1981; Li ve ark., 2012 ve Statti ve ark., 1997).

Oleanolik asit *C. segestum*'un alkolik ekstresinden hareketle izole edilmiştir (Zhou ve ark., 2007).

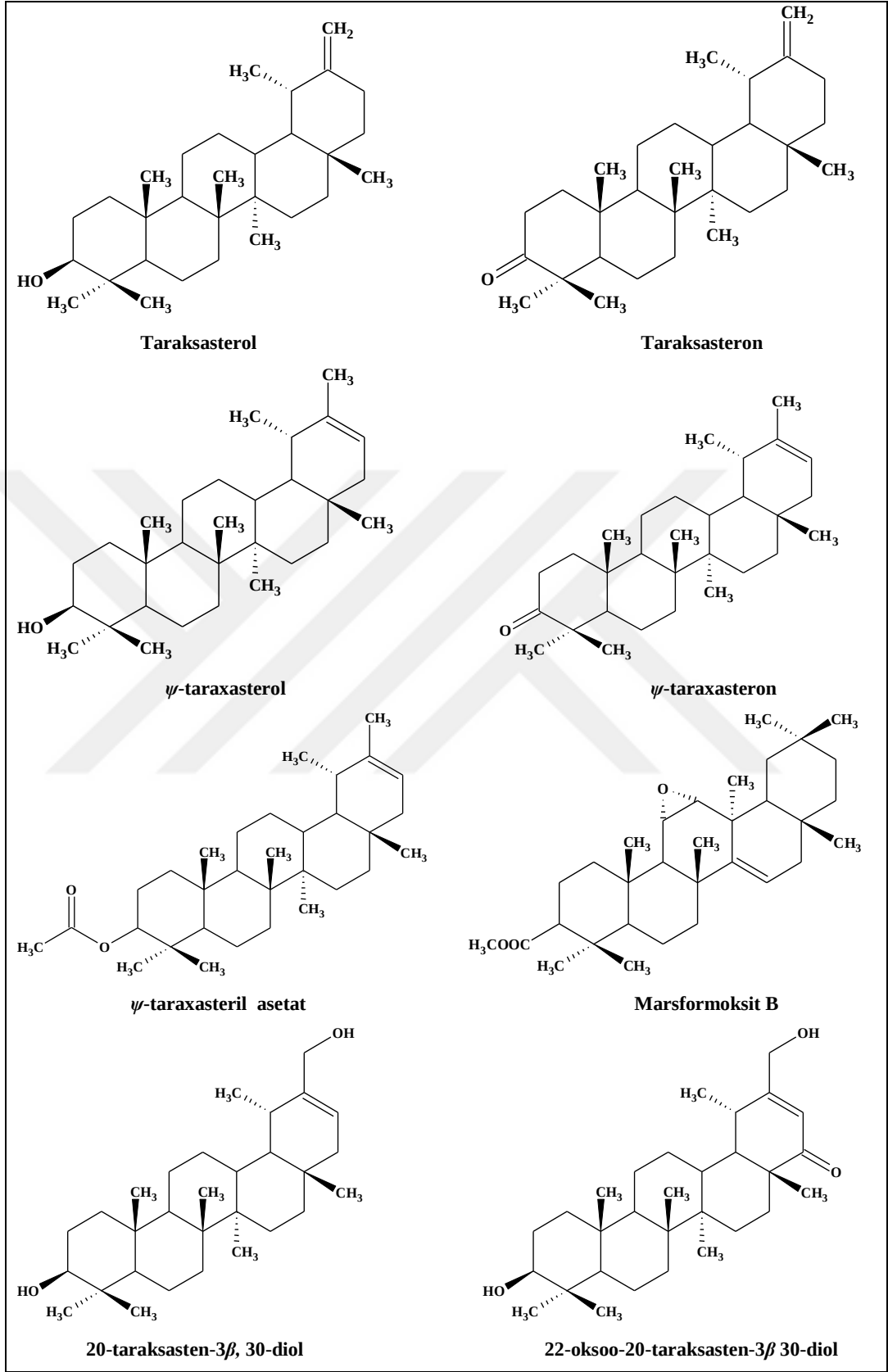
Triterpenik bileşiklerden lupeol, *Cirsium scabrum*'un yapraklarının metanol ekstresinin petrol eteri alt fraksiyonundan, *C. setosum*'un etanol ekstresinin petrol eteri alt fraksiyonundan, *C. canum*, *C. carolinianum*, *C. hypoleucum* ve *C. vallis-demonii*'den; Lupeol asetat, *C. palustre*'nin yapraklarının metanol ekstresinden ve *C. setosum*'un etanol ekstresinin petrol eteri alt fraksiyonundan; Lupenon, *C. setosum*'un etanol ekstresinin petrol eteri alt fraksiyonundan; epilupeol asetat, *C. nipponicum*'un topraküstü kısımlarının metanol ekstresinden hareketle izole edilmiştir (Bohlmann ve Abraham, 1981; Sahli ve ark., 2017; Lee ve Lee, 2005; Li ve ark., 2012; Statti ve ark., 1997 ve Nazaruk ve Galicka, 2014).

Triterpenik bileşiklerden taraksasterol, *C. arvense*'nin petrol eteri ekstresinden, *C. canum*, *C. carolinianum*, *Cirsium henryi*, *C. hypoleucum*'dan; taraksasterol asetat, *C. setosum*'un etanol ekstresinin petrol eteri alt fraksiyonundan, *C. arvense*'nin petrol eteri ekstresinden, *C. henryi*'nin yapraklarından, *C. sipyleum*'un topraküstü kısımlarının petrol eteri ekstresinden, *C. scabrum*'un yapraklarının metanol ekstresinin petrol eteri alt fraksiyonundan; taraksasteron, *C. setosum*'un etanol ekstresinin petrol eteri alt fraksiyonundan; ψ - taraksasterol, *C. setosum*'un etanol ekstresinin petrol eteri alt fraksiyonundan, *C. oleraceum*'dan ve *C. henryi*'den; ψ -taraksasterol asetat, *C. setosum*'un etanol ekstresinin petrol eteri alt fraksiyonundan ve ψ - taraksasteron, *C. setosum*'un etanol ekstresinin petrol eteri alt fraksiyonundan; izole edilmiştir (Boğa ve ark., 2014; Bohlmann ve Abraham, 1981; Chen ve ark., 2007; Dutta ve Ray, 1972; Feng ve ark., 2012; Krzysztofik ve Ludwiczak, 1970; Li ve ark., 2012; Mao ve ark., 2016; Peng-Cheng ve ark., 2019 ve Sahli ve ark., 2017). Marsformoksit B *C. setosum*'un etanol ekstresinin petrol eteri alt fraksiyonundan izole edilmiştir (Li ve ark., 2012).

$3\beta,22\alpha$ -dihidroksi-20-taraksasten-30-oik asit; 3β -hidroksi-22-okso-20-taraksasten-30-oik asit; 3-okso- 22α -hidroksi-20- taraksasten-30-oik asit; $3\beta,19\beta$ -dihidroksi-20-taraksasten-30-oik asit; 20-taraksasten- 3β , 30-diol; 20-taraksasten- 3β -ol; 22-okso-20-taraksasten- 3β 30-diol; 22α -hidroksi-20-taraksasten- 30β 30-triol *C. setosum*'un %90'lık etanol ekstresinin petrol eteri alt fraksiyonundan izole edilmiştir (Luan ve ark., 2016 ve Peng-Cheng ve ark., 2019).



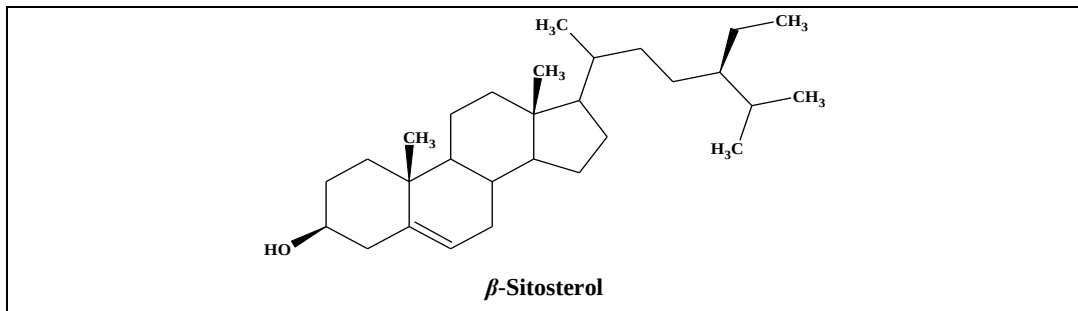
Şekil 1.7. *Cirsium* türlerindeki triterpenik bileşikler



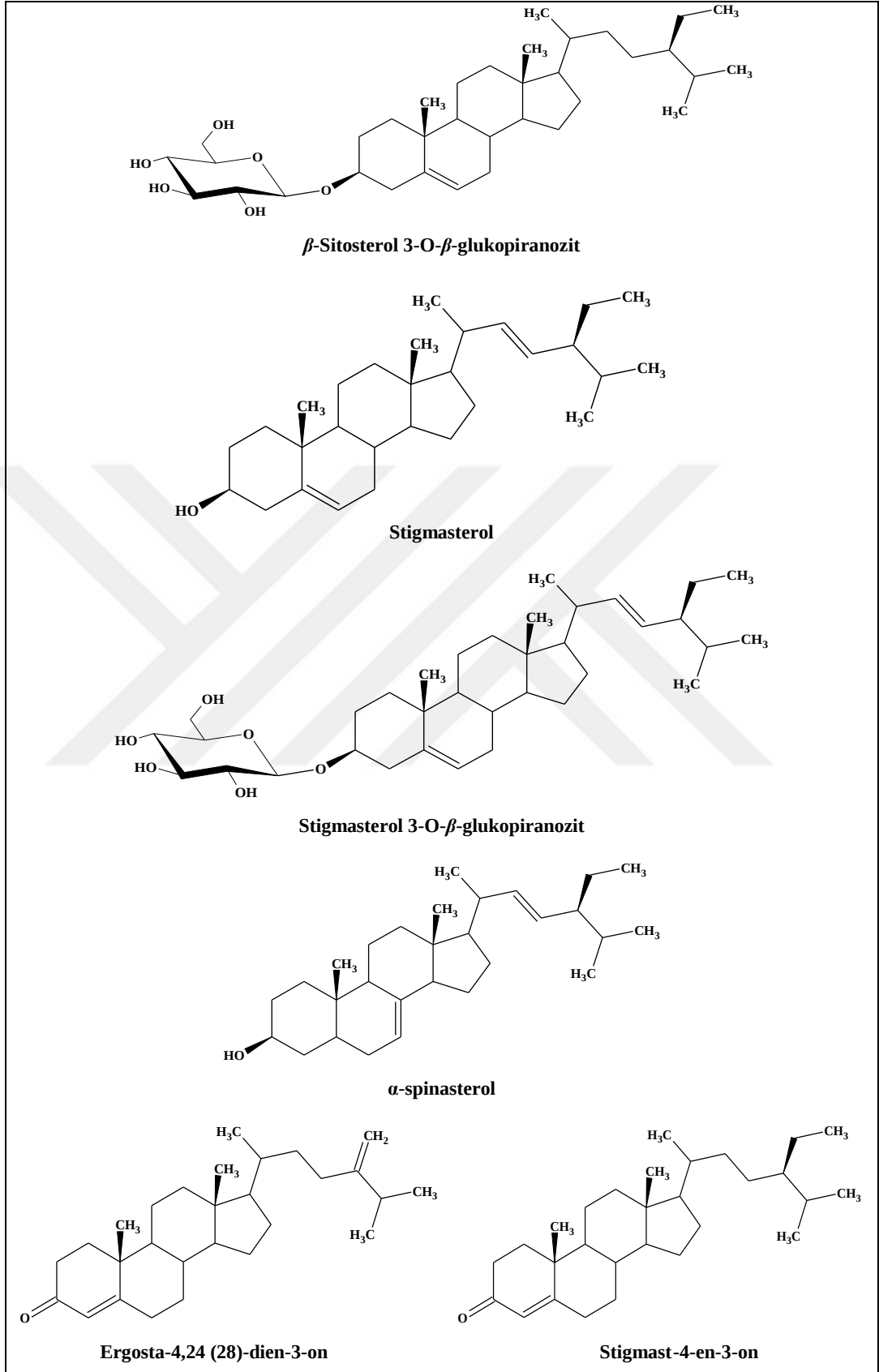
Şekil 1.7. Devam. *Cirsium* türlerindeki triterpenik bileşikler

Steroidale bileşiklerden β -Sitosterol, *C. henryi*'den, *C. japonicum*'un rizomlarından, *C. nipponicum*'un topraküstü kısımlarının metanol ekstresinden, *Cirsium pendulum*'un etanol ekstresinden, *C. setosum*'un çiçeklerinden ve topraküstü kısımlarının etanol ekstresinin petrol eteri alt fraksiyonundan, *C. sipyleum*'un topraküstü kısımlarının petrol eteri ekstresinden ve *C. rivulare*'nin köklerinin hekzan ekstresinden; β -sitosterol 3-O- β -glukopiranozit (daukosterol) *C. henryi*'den, *C. japonicum*'un rizomlarından, *C. leucopsis*'in topraküstü kısımlarının aseton ekstresinden, *C. palustre*'nin yapraklarının metanol ekstresinden, *C. setidens*'in topraküstü kısımlarının diklorometan ekstresinden, *C. rivulare*'nin köklerinin hekzan ekstresinden, *C. setosum*'dan ve *C. vallis-demonii*'den izole edilmiştir (Boğa ve ark., 2014; Chen ve ark., 2007; Feng ve ark., 2012; Han ve ark., 2008; Lee ve ark., 2002; Lee ve Lee, 2005; Mao ve ark., 2016; Nazaruk ve Galicka, 2014; Statti ve ark., 1997; Strawa ve ark., 2016; Sun ve ark., 2012 ve Zhi ve ark., 2003).

Steroidale bileşiklerden stigmasterol, *C. arvense*'nin petrol eteri ekstresinden, *C. rivulare*'nin köklerinin hekzan ekstresinden ve *C. setosum*'un topraküstü kısımlarının etanol ekstresinin petrol eteri alt fraksiyonundan; stigmasterol asetat, *C. arvense*'nin petrol eteri ekstresinden; Stigmasterol 3-O-glukopiranozit, *C. segestum*'dan; α -spinasterol, *C. pendulum*'un etanol ekstresinden; Ergosta-4,24 (28)-dien-3-on ve Stigmast-4-en-3-on, *C. setosum*'un topraküstü kısımlarının etanol ekstresinin petrol eteri alt fraksiyonundan hareketle izole edilmiştir (Cao ve Chen, 2010; Chen ve ark., 2007; Dutta ve ark., 1972; Strawa ve ark., 2016 ve Sun ve ark., 2012).

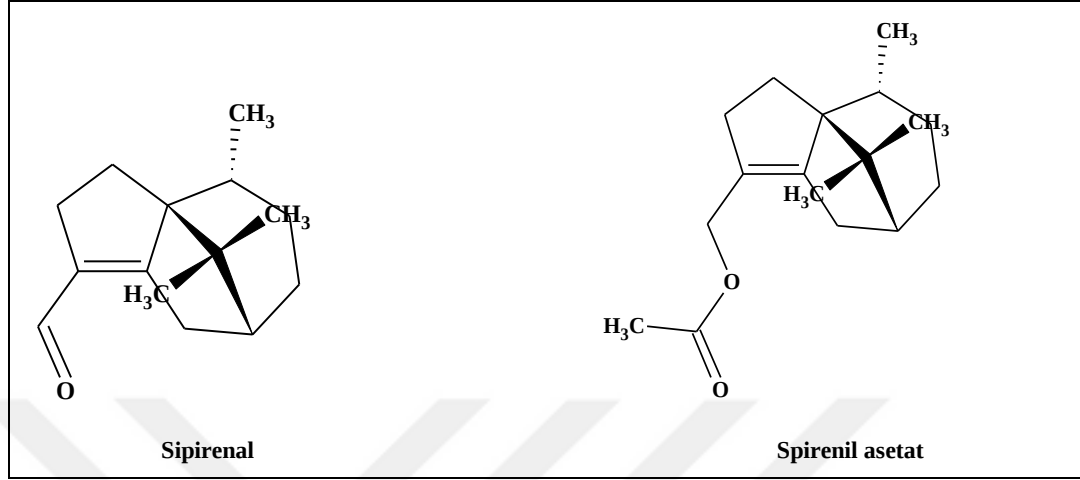


Şekil 1.8. *Cirsium* türlerindeki steroidale bileşikler



Şekil 1.8. Devam. *Cirsium* türlerindeki steroidal bileşikler

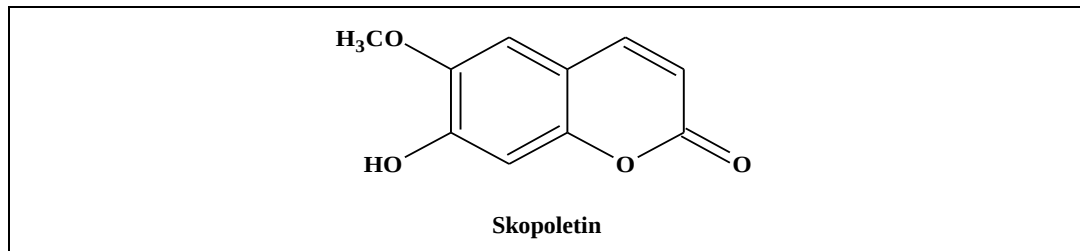
Siperenil asetat ve Siperenal *C.dipsacolepis*'ten izole edilmiştir (Takano ve Kawaminami, 1988).



Şekil 1.9. *Cirsium* türlerindeki seskiterpenler

1.3.6. Kumarinler

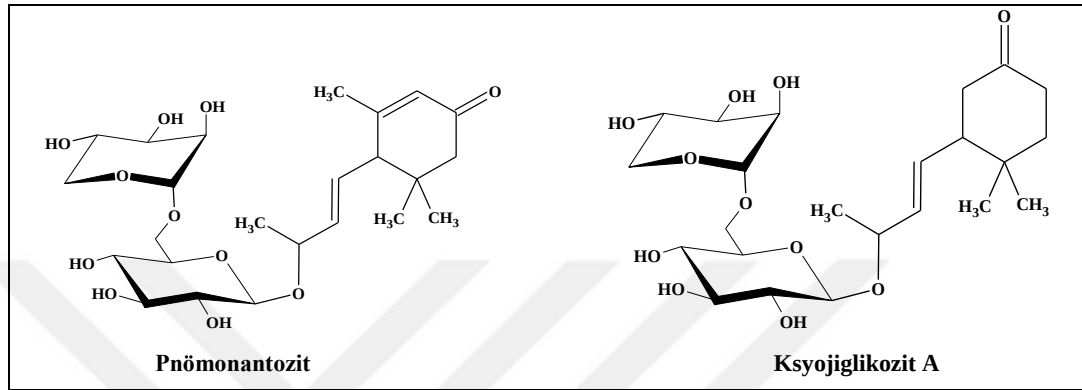
Kumarin halkası içeren bileşiklerden skopoletin, *C. arvense*'nin tüm kısımlarının metanol ekstresinin kloroform alt fraksiyonundan ve *C. rhinoceros*'un tüm kısımlarının metanol ekstresinin *n*-hekzan alt fraksiyonundan ve *C. setidens*'ten izole edilmiştir (Ahn ve ark., 2014; Khan ve ark., 2011 ve Yim ve ark., 2003).



Şekil 1.10. *Cirsium* türlerindeki kumarin yapısındaki bileşikler

1.3.7. Megastigman Glikozitleri

C. setosum'un topraküstü kısımlarının %95'lik etanol ekstresinin *n*-butanol alt fraksiyonundan hareketle pnömonantozit ve ksyojiglikozit A bileşikleri izole edilmiştir (Jiang ve ark., 2013).



Şekil 1.11. *Cirsium* türlerindeki megastigman glikozitleri

1.3.8. Yağ Asitleri

Palmitik asit, *C. japonicum*'un rizomlarından ve *C. setidens*'in topraküstü kısımlarından; palmitik asit metil ester, *C. palustre*'nin yapraklarından; linoleik asit, *C. sipyleum*'dan izole edilmiştir (Boğa ve ark., 2014; Lee ve ark., 2002; Miyazawa ve ark., 2003 ve Nazaruk ve Galicka, 2014).

1.3.9. Uçucu Yağlar

Cirsium türlerinden gerçekleştiren uçucu yağ analizlerinde *C. rivulare*, *C. palustre*, *C. japonicum* ve *C. setidens* içeriğinde limonen, α -pinen, β -pinen, kamfen, pentadekanoik asit, palmitik asit, miristik asit, fitol, 6,10,14-trimetil-2-pentadekanon, diepoksiheksadekan ve karyofilen alkol olduğu tespit edilmiştir (Nazaruk ve ark., 2012; Miyazawa ve ark., 2003 ve Choi, 2015).

1.4. *Cirsium* Türlerindeki Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Cirsium türlerinde gerçekleştirilen biyolojik aktivite çalışmalarına göre, bazı *Cirsium* türlerinin antidepresan, antidiyabetik, entienflamatuvar, antikanser, antimikrobiyal, antioksidan, hepatoptotektif ve antiobezite etkisinin olduğu ortaya konmuştur.

1.4.1. Antidepresan ve Bilişsel Fonksiyonlar Üzerine Etkisi

C. japonicum 'un antidepresan etkisin araştırıldığı bir çalışmada, zorunlu yüzmeye testiyle, 24 cm genişliğinde ve 20 cm çapındaki silindirik bir tank 18 cm yüksekliğine kadar su ile doldurularak tank içerisinde hayvanların yüzmeye, tırmanma ve hareketsizlik gibi davranışları belirli zaman aralıklarında incelenmiş ve *C. japonicum*'un etanol ekstresinin, 200 mg/kg ve 400 mg/kg dozlarda farelerin hareketsiz kalma süresini azalttığı dolayısıyla antidepresan etki sağladığı belirlenirken, açık alan testine göre ekstrenin psikomotor sistemi etkilemediği saptanmıştır (Pena ve ark., 2014).

C. rivulare'nin çiçek ve yapraklarının metanol ekstresinin anksiyolitik ve bilişsel etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada sıçanların hafızasını değerlendirmek için pasif sakınma ve nesne tanıma testlerinden yararlanılmıştır. Ayrıca metanol ekstresinin psikomotor etkilerinin değerlendirmesi için açık alan ve anksiyolitik etkisinin değerlendirmesi için yükseltilmiş artı labirent yardımcı testlerinden yararlanılmıştır. Yükseltilmiş artı labirent testine göre çiçeklerin metanol ekstresinin anksiyolitik etkili olduğu, nesne tanıma testi sonucuna göre de hafızayı kuvvetlendirdiği gözlemlenmiştir. Yapraklarının metanol ekstresinin ise anksiyolitik etki gösterdiği saptanırken, bilişsel testlerde bir etki gözlenmemiştir. Ayrıca açık alan testine göre ekstrelerin psikomotor sistemi etkilemediği ortaya konmuştur (Walsuik ve ark., 2010)

1.4.2. Antidiyabetik Etki

C. japonicum var. *maackii*'nin topraküstü kısımlarından etanol ekstresinin kloroform, etil asetat ve *n*-bütanol alt fraksiyonlarının aldoz redüktaz enzimi üzerinde, %50 inhibisyona neden olan inhibitör konsantrasyonu (IC₅₀) değerlerinin sırasıyla 1,16, 0,21 ve 0,28 µg/mL olduğu ve alt fraksiyonların aldoz redüktaz enzim inhibitör etkisi sebebiyle diyabete bağlı komplikasyonlarda kullanılabileceği değerlendirilmiştir (Lee ve ark., 2017).

C. japonicum'un köklerinin su ekstresinin antidiyabetik etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, su ekstresinin 500 µg/mL konsantrasyonda α -glukozidaz enzimini % 32 oranında inhibe ettiği ve bu inhibitör etkisi sebebiyle diyabet tedavisinde kullanılabilirliği belirlenmiştir (Yin ve ark., 2008).

C. japonicum var. *maackii*'nin yapraklarının metanol ekstresinden hazırlanan etil asetat alt fraksiyonunun α -glukozidaz enzimi için IC₅₀ değeri 32.79 µM olduğu belirlenen bir çalışmada α -glukozidaz inhibitör etkisi sebebiyle diyabet tedavisinde kullanılabilirlik potansiyeli olduğu tespit edilmiştir (Wagle ve ark., 2019).

Alloksan ile indüklenmiş diyabetik farelerde *C. pascuarensis* nin hekzan ekstresinin 100, 150, ve 200 mg/kg dozlardaki intraperitoneal uygulamasının hipoglisemik etki yarattığı ortaya konmuştur (Perez ve ark., 2001).

1.4.3. Anti-enflamatuvar Etki

C. chanroenicum'un metanol ve etil asetat ekstresinin lipopolisakkarit fraksiyonun uygulandığı fare makrofaj benzeri hücrelerde (RAW 264.7), siklooksijenaz-2 (COX-2) aracılı prostaglandin E2 (PGE₂) ve 5-lipoksijenaz (5-LOX) aracılı lökotrien sentezini azalttığı tespit edilmiştir. Bitkinin metanol ve etil asetat ekstresi, 25 µg/ml konsantrasyonda, PGE₂ üretimini sırasıyla, % 6,1 ve % 65

ve lökotrien üretimini % 13,1 ve % 35,4 azaltarak anti-enflamatuvar etki oluşturduğu tespit edilmiştir (Lim ve ark., 2008).

C. japonicum var. *ussuriense*'nin topraküstü kısımlarının % 70'lik etanol ekstresinin lipopolisakkarit fraksiyonu, uygulanan RAW 264.7 hücrelerindeki PGE₂ ve nitrik oksit (NO) sentezini azaltarak antienflamatuvar etki oluşturduğu tespit edilmiştir (Lee ve ark., 2012).

C. japonicum'un yapraklarının RAW 264.7 hücrelerindeki NO üretimini yaklaşık % 70 oranında baskılıyarak anti-enflamatuvar etki oluşturduğu tespit edilmiştir (Lee ve ark., 2008).

Fare peritoneal makrofaj hücrelerindeki tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) salınımının inhibisyonunun değerlendirildiği bir çalışmada, *C. setosum*'un köklerinin etanol ekstresinden hazırlanan petrol eteri alt fraksiyonundan izole edilen 22-oxo-20-taraxasten-3 β , 30-diol and 22 α -hydroxy-20-taraxasten-30 β , 30-triol bileşiklerinin IC₅₀ değerleri sırasıyla, 2,6 and 3,8 μ mol/L olarak bulunmuş ve her iki bileşiğin de anti-enflamatuvar etkili olduğu değerlendirilmiştir (Peng-Cheng ve ark., 2019).

1.4.4. Antikanser Etki

C. japonicum'un toprakaltı kısımlarının etanol ekstresinden hareketle hazırlanan etil asetat alt fraksiyonundan izole edilen flavon yapısındaki pektolinarin ve 5,7-dihidroksi-6,4-*O*-dimetoksiflavon bileşiklerinin 50 mg/kg dozda, S-180 fare sarkomu hücrelerinde, % 55,77 ve H-22 fare hepatosellüler karsinom hücrelerinde % 99,13 oranında çoğalmalarını inhibe ederek antikanser aktivite gösterdiği saptanmıştır (Liu ve ark., 2007).

C. japonicum'un topraküstü kısımlarının % 80 etanol: % 10 HCl (4:1, v/v) ekstresinin kloroform alt fraksiyonundan izole edilen pektolinarigeninin, 25 μ M konsantrasyonda MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinde antiproliferatif aktivite

gösterdiği 3-(4,5)-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) yöntemiyle saptanmıştır (Lu ve ark., 2014; Lu ve ark., 2016).

C. scabrum'un yapraklarından hazırlanan metanol ekstresinin J774 kanser hücre hatlarında IC₅₀ değerinin 11.53 µg/ml olduğu ve sağlıklı hücre hatlarında ise bu değerin 29.89 µg/ml olduğu saptanmıştır, kanser hücrelerindeki selektivite faktörünün ise 2,6 olduğu değerlendirilmiştir (Sahli ve ark., 2017).

C. setosum'un köklerinin etanol ekstresinden hazırlanan petrol eteri alt fraksiyonundan izole edilen 22-okso-20-taraxasten-3β, 30-diol ve 22α-hidroksi-20-taraxasten-30β, 30-triol bileşiklerinin, sırasıyla HCT-8 kolon kanser hücre hatalarındaki IC₅₀ değerleri 18,5 ve 8,9 µmol/L; A2780 yumurtalık kanser hücre hatlarında 4,7 ve 14,3 µmol/L olduğu MTT yöntemiyle saptanmış ve triterpenoit yapıdaki bu bileşiklerin antikanser aktivitede olduğu değerlendirilmiştir (Peng-Cheng ve ark., 2019).

1.4.5. Antimikrobiyal Etki

C. arvense, *C. oleraceum*, *C. palustre*, *C. rivulare* ve *C. vulgare*'nin kök ve çiçeklerinin metanol:su:trifloroasetik asit (50:50:0,1) karışımında iki gün süren maserasyonu sonrasında çözücünün yoğunlaştırılmasıyla hazırlanan kuru ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitesinin mikrodilüsyon yöntemi ile incelendiği bir çalışmada, ekstrelerin minimal inhibisyon konsantrasyonu (MIK) değerlerinin *Staphylococcus aureus* için 6,25-25 mg/mL aralığında, *Bacillus subtilis* için 1,56-25 mg/mL ve *Pseudomonas aeruginosa* için 12,5-25 mg/mL aralığında olduğu belirlenmiştir. Bitkilerin çiçeklerinden hareketle hazırlanan ekstreleri daha etkili olmakla birlikte tüm ekstrelerin, antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu da bu çalışmada tespit edilmiştir (Borawska ve ark., 2010).

C. canum'un çiçeklerinin % 50 metanol, % 80 metanol ve % 100 metanolden hareketle hazırlanan ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitesinin mikrodilüsyon

yöntemi ile araştırıldığı bir çalışmada ise, ekstrelerin MİK değerlerinin *S. aureus* için 250-1000 µg/mL aralığında; değerlerinin *S. aureus* için 500-1000 µg/mL aralığında; *B. subtilis* için 125-250 µg/mL ve *Micrococcus luteus* için 500-1000 µg/mL olduğu belirlenmiştir. (Kozyra ve ark., 2015).

Agar disk difüzyon yöntemiyle *C. arvensis*'nin ve *C. japonicum*'un tüm kısımlarının metanol ekstresinden hareketle hazırlanan hekzan, kloroform, etil asetat, *n*-butanol ve aseton alt fraksiyonlarının antibakteriyal ve antifungal etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, *C. arvensis* alt fraksiyonlarının zon inhibisyon değerlerinin *Escherichia coli* için 9-19, *Klebsiella pneumoniae* için 10-17, *Pseudomonas aeruginosa* için 10-18, *S. aureus* 14-19, *Micrococcus luteus* için 13-20, *Trichophyton longifusus* için 10-18, *Candida albicans* için 12-19, *Aspergillus flavus* için 14-17, *Microsporum canis* için 16-19, *Candida glabrata* için 15-20 ve *Fusarium solani* için 11-19 mm aralığında olduğu ve *C. japonicum* alt fraksiyonlarının zon inhibisyon değerlerinin *Escherichia coli* için 10-18, *Klebsiella pneumoniae* için 12-19, *Pseudomonas aeruginosa* için 14-18, *S. aureus* 12-20, *Micrococcus luteus* için 11-19, *Trichophyton longifusus* için 12-17, *Candida albicans* için 12-18, *Aspergillus flavus* için 13-19, *Microsporum canis* için 12-17, *Candida glabrata* için 13-20 ve *Fusarium solani* için 10-18 mm aralığında olduğu belirlenmiştir. Siprofloksasin ve ofloksasin antibiyotiklerinin pozitif kontrol olarak kullanıldığı çalışmada bitkilere ait ekstrelerin antibakteriyal ve antifungal etkinliği tespit edilmiştir (Khan ve ark., 2014).

Mikrodilüsyon yöntemiyle *C. rivulare*'nin yaprak ve çiçeklerinin su, metanol ve %70'lik etanol ekstresinin antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada MİK değerlerin, yaprak ve çiçeklerinin metanol ekstreleri için sırasıyla *M. luteous* için 3,1-12,5 ve 6,2-12,5 mg/mL; *S. aureus* için 6,2-25 ve 6,2-12,5 mg/ml; *B. subtilis* için 6,2-25 ve 12,5-25 mg/mL; *E. coli* için 12,5-50 ve 6,2-12,5 mg/ml; *K. pneumoniae* için 12,5-25 ve 6,2-25 mg/mL, *P. aeruginosa* için 12,5-50 ve 6,2-50 mg/mL ve *C. albicans* için 25-50 ve 25-50 mg/mL aralığında olduğu belirlenmiş olup Gram pozitif bakterilere karşı en yüksek antimikrobiyal aktivitenin bitkinin çiçeklerinin su ekstresinde olduğu saptanmıştır (Nazaruk ve Jakoniuk, 2005).

1.4.6. Antioksidan Etki

C. arvense, *C. oleraceum*, *C. palustre*, *C. rivulare* ve *C. vulgare*'nin yapraklarının su ekstresinin antioksidan kapasitelerinin, troloks eşdeğeri antioksidan kapasite yöntemine göre 2,31-2,78 MmL⁻¹ aralığında olduğu tespit edilmiştir (Nazaruk ve ark., 2008).

Antioksidan aktivitenin araştırıldığı bir başka çalışmada ise; 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) yöntemine göre *C. creticum*'un tüm kısımlarının maksimum etkinin yarısını ortaya çıkan dozun değeri metanol ekstresi için 0,24 mg/mL, etanol ekstresi için 1,42 mg/mL, dietileter ekstresi için 1,71 mg/mL ve *n*-hekzan ekstresi için 2,05 mg/mL olduğu dolayısıyla en yüksek antioksidan kapasitenin metanol ekstresine ait olduğu saptanmıştır (Sabudak ve ark., 2017).

C. hypoleucum topraküstü kısımlarının ekstre ve fraksiyonlarının elektron spin rezonans spektrometresi ile süperoksit radikali ve serbest radikal süpürücü etkileri değerlendirilmiştir. Bitkiye ait metanol, su ekstrelerinin, hekzan, kloroform, etil asetat, *n*-butanol ve arta kalan su fraksiyonlarının DPPH radikali süpürücü etkisi sırasıyla % 30, 97, 60, 14, 18, 18, 40 olduğu saptanırken, süperoksit dismutaz (SOD) eşdeğeri süperoksit radikali süpürücü etkisi 24018, 7101, 330, 34329, 92201, 62804 ve 4453 U/g olduğu tespit edilmiştir (Deliorman-Orhan ve ark., 2007).

C. japonicum'un köklerinin su ve metanol ekstrelerinin antioksidan kapasitesinin araştırıldığı bir çalışmada, DPPH yöntemine göre IC₅₀ değerinin sırasıyla 533,94 ve 345,32 µg/mL olduğu ve hidroksil radikali süpürücü etkisinin ise 500 µg/mL konsantrasyonda sırasıyla % 10 ve % 90 olduğu tespit edilmiştir (Yin ve ark., 2008).

C. nipponicum, *C. lineare*, *C. pendulum*, *C. setidens*'in tüm kısımlarının, *C. japonicum* var. *ussuriense*'nin topraküstü ve toprakaltı kısımlarının ve *C. chanroenicum*'un topraküstü kısımlarının metanol ekstrelerinin DPPH ve

peroksinitrit radikal süpürücü kapasite yöntemine göre antioksidan etkiye sahip olduğu ve bu yöntemlere göre IC₅₀ değerlerinin sırasıyla 4,15-46,71 ve 1,28-9,09 µg/mL aralığında olduğu tespit edilmiştir (Jeong ve ark., 2008).

1.4.7. Hepatoprotektif Etki

C. japonicum var. *ussuriense*'nin topraküstü kısımlarının metanol ekstresinin, 6 hafta boyunca % 10'luk etanol çözeltisi verilerek karaciğer hasarı oluşturulan sıçanlarda hepatoprotektif etkisinin incelendiği bir çalışmada, bitkiye ait ekstrenin 250 ve 500 mg/kg dozda, karaciğer hasarı nedeniyle bozulan alkol dehidrogenaz, aldehit dehidrogenaz ve glutatyon redüktaz enzim düzeylerini düzelttiği ve ayrıca etanol ile indüklenmiş lipit peroksidasyonuna karşı koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (Park ve ark., 2004).

Sıçanlarda galaktozaminle oluşturulan karaciğer hasarına karşı, aspartat transaminaz, alanin transaminaz, alkalın fosfataz ve laktat dehidrogenaz, glutatyon redüktaz ve SOD enzimlerinin düzeyleri belirlenerek hepatoprotektif etkinin değerlendirildiği bir çalışmada, *C. setidens*'in topraküstü kısımlarının metanol ekstresinin ve metanol ekstresinden hareketle hazırlanan *n*-butanol ve kloroform ekstralarının, 100 ve 200 mg/kg dozlarda, karaciğer hasarı sonrasında zarar gören serum enzim düzeylerini iyileştirdiği tespit edilmiştir (Yoo ve ark., 2008).

HepG2 karaciğer hücrelerinde tersiyer-bütıl hidroperoksit (t-BHP) kaynaklı oksidatif strese karşı hepatoprotektif etkinin MTT yöntemiyle incelendiği bir çalışmada ise; t-BHP'in reaktif oksijen türlerinin üretimini artırdığı ve hücre canlılığını belirgin oranda düşürdüğü tespit edilmiş, ve ayrıca *C. setidens*'in metanol ekstresinin 10 ve 50 µg/ml konsantrasyonda, t-BHP kaynaklı bu oksidatif hasara karşı koruyucu etkisinin olduğu saptanmıştır (Jung ve ark., 2017).

1.4.8. Antiobezite Etki

C. brevicale'nin yapraklarının % 5 ve % 10 konsantrasyondaki antiobezite aktivitesinin yüksek yağlı diyet uygulaması ile obezite oluşturulan C57BL/6 farelerindeki etkisinin ve bitkinin yapraklarını *n*-hekzan, kloroform, etanol ve su ekstrahelerin 3T3-L1 adiposit hücrelerindeki antiadipojenik aktivitesinin değerlendirildiği bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada *C. brevicale*'nin farelerin serum esterleşmemiş yağ asiti seviyelerini, subkutan beyaz yağ dokusu hücrelerini, hepatik lipit seviyelerini azalttığı; karaciğer yağ asiti sentaz (FAS) ve 3-hidroksi-3-metil-glutaril-KoA reduktaz (HMG-CoA) mRNA gen ekspresyon düzeylerini azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca antiadipojenik aktivite tayinininde bitkinin yapraklarının hekzan ekstresinin adiposit proliferasyonunu azalttığı, FAS genini baskıladığı ve oil red o testi ile adiposit lipit seviyelerini azalttığı belirlenmiştir (Inafuku vd., 2013).

C. oligophyllum % 30 sulu etanol ekstresinin ise 3T3-L1 adiposit hücrelerinde lipoliz uyarılı antiadipojenik aktivite gösterdiği ispatlanmıştır (Mori vd., 2009).

C. setidens'in metanol ekstresinin 3T3-L1 adiposit hücrelerindeki 3'-[1-(fenilamino)-karbonil]-3,4-tetrazolyum]-bis) (4-metoksi-6-nitro) benzensülfonik asit hidrat (XTT) yöntemiyle antiadipojenik aktivitesinin değerlendirildiği bir başka çalışmada da, adiposit proliferasyonun azaldığı ve oil red o testiyle lipit seviyelerinde % 80 oranında azalma meydana geldiği tespit edilmiştir (Lee vd., 2013).

C. setidens'in su ekstresinin yüksek yağlı diyet uygulaması ile obezite oluşturulan C57BL/6 farelerindeki antiobezite etkisinin değerlendirildiği bir araştırmada, ekstreinin 360 mg/kg dozda farelerin vücut ağırlıklarını belirgin şekilde azalttığı, yağ dokusu adiposit hücrelerini daralttığı ve serum trigliserit, total kolesterol ve glukoz düzeylerini düşürdüğü tespit edilerek, bitkinin obezite tedavisinde kullanılabilir olduğu sonucuna varılmıştır (Lee ve ark., 2015).

C. setidens'in metanol ekstresinin yüksek yağlı diyet uygulaması ile obezite oluşturulan C57BL/6 farelerinde 25, 50, 100, 200 mg/kg dozlarında antiobezite etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada, bitkiye ait ekstrenin farelerin vücut ağırlıklarını azaltması, yağ dokusu adiposit hücrelerini daraltması ve proliferatör aktive reseptör- γ (PPAR- γ), CCAAT-arttırıcı-bağlayıcı protein- α (C/EBP α), sterol düzenleyici element bağlayıcı protein 1-c (SREBP-1c) ve FAS gen ekspresyon düzeylerini azaltması nedeniyle obezite tedavisinde kullanılabilmek potansiyelin olduğu belirtilmiştir (Cho ve ark., 2017).

1.5 Obezite Hakkında Genel Bilgiler

İnsan sağlığını tehdit edecek şekilde anormal ya da aşırı yağ birikimi olarak tanımlanan obezite, kardiyovasküler rahatsızlıklar, diyabet, bazı kanser türleri, kas ve iskelet sistemi rahatsızlıkları gibi birçok hastalığın temelini oluşturan, ciddi ve küresel bir sağlık problemidir (Aktar ve ark., 2017; Hruby ve Hu, 2014).

1.5.1 Görülme Sıklığı

Yüksek gelire sahip ülkelerde, 1970 ve 1980'li yıllarda hızla artış gösteren obezite, bu yıllardan sonra orta ve düşük gelirli ülkelerde de yaygınlaşmaya başlayarak küresel bir sağlık problemine dönüşmüştür.

2008 yılında dünya nüfusunun 1,46 milyarını aşırı kilolu ve 502 milyonunu obez bireyler oluşturmakta olup (Swimburn ve ark., 2011), 2014 yılında bu rakamlar artış göstererek aşırı kilolu ve obez yetişkin sayısı 2,1 milyar seviyesine ulaşmıştır. Aynı yılda dünya çapında meydana gelen ölümlerin %5'i obeziteyle ilişkilendirilmiş olup obezitenin ciddi ekonomik kayıplara neden olduğu tespit edilmiştir (Tremmel ve ark., 2017). Dünya Sağlık Örgütü son verilerine göre dünya nüfusunun % 13'ü obez, % 39'u ise aşırı kilolu bireylerden oluşmaktadır (Bonamichi ve ark., 2018).

Obezitenin görülme sıklığı yıllara göre bu oranlarda artış gösterdiği takdirde, 2030 yılında dünya nüfusunun %38'ini aşırı kilolu ve %20'sini ise obez bireylerin oluşturacağı, dolayısıyla obezitenin, giderek artan oranlarda sağlık problemlerine ve ekonomik kayıplara yol açacağı öngörülmektedir (Hruby ve Hu, 2014; Tremmel ve ark., 2017).

1.5.2 Obezite ve Dislipidemi İlişkisi

Lipitlerin organizmada kullanımı, taşınması ve depolanması birçok metabolik süreçle ilişkilidir. Lipit içeren bir öğünden sonra, trigliseritler bağırsak lümeninde serbest yağ asitlerine ve 2-monoaçilgliserole dönüştürülerek enterositlere pasif difüzyon ya da spesifik taşıyıcılarla alınmaktadır. Enterositlerde kolesterol, kolesterol esterlerine dönüşürken, serbest yağ asitleri ve 2-monoaçilgliserol yeniden birleşerek trigliseritleri meydana getirirler. Sonrasında kolesterol esterleri, trigliseritler, fosfolipitler ve apolipoprotein B48 (Apo48) şilomikronları oluştururlar. Şilomikronlar lenfatik sistem aracılığıyla salgılanırlar ve dolaşıma katılırlar (Klop ve ark., 2013).

Şilomikronların sentezine benzer şekilde gerçekleşen çok düşük dansiteli lipoproteinlerin (VLDL) sentezi, karaciğerde trigliseritler ve serbest yağ asitlerden hareketle gerçekleşmektedir. Şilomikronların sentezinden farklı olarak apolipoprotein olarak Apo B100 VLDL'nin yapısına katılmaktadır (Klop ve ark., 2012).

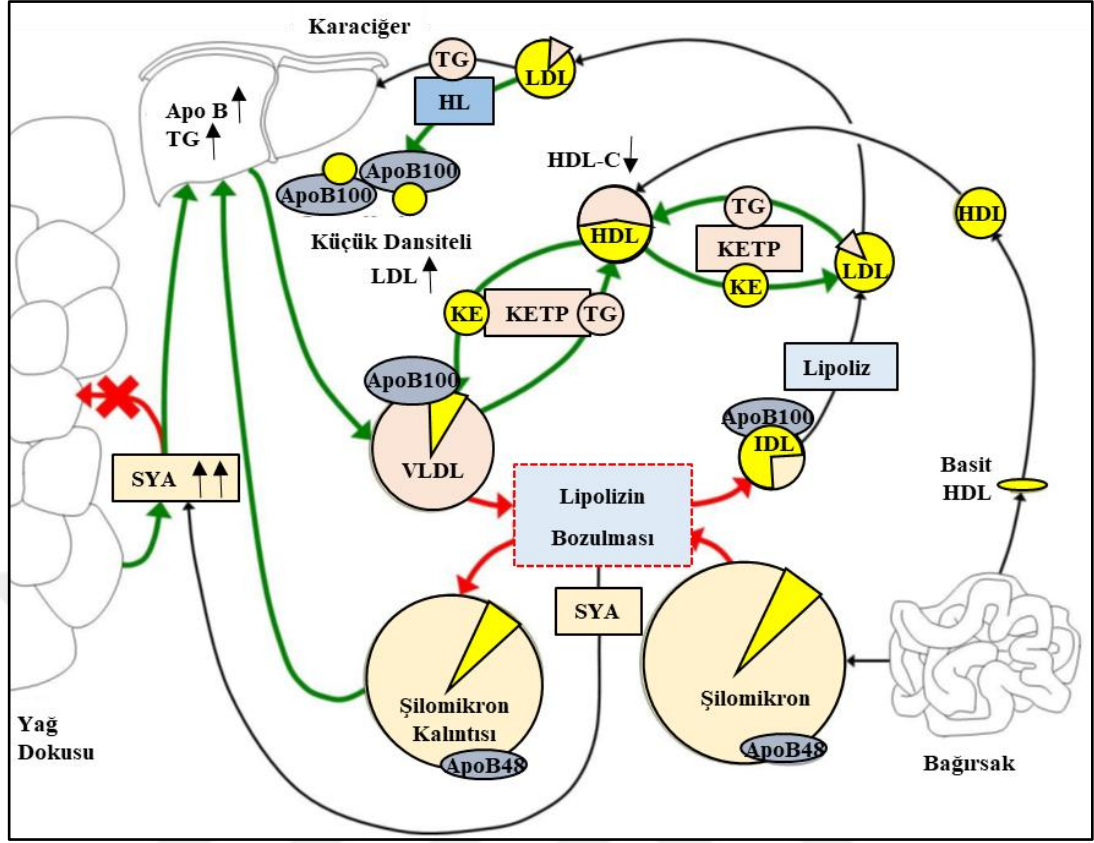
Şilomikron ve VLDL kalp, iskelet kası ve yağ dokusu için gerekli enerjinin kullanımı ve depolanması için önemli olan serbest yağ asitlerinin temel kaynağıdır. Trigliseritlerce zengin olan lipoproteinlerin yeterli oranda sentezi serbest yağ asitlerinin dolaşıma katılabilmesi için gereklidir (Goldberg ve ark., 2009).

Lipoliz süreciyle lipoprotein lipaz aracılığıyla şilomikronlar şilomikron kalıntılarına dönüşürken, VLDL daha yüksek oranda kolesterol içeren ara dansiteli

lipoproteine (IDL) dönüşmektedir. IDL'den benzer şekilde lipoprotein lipaz (LPL) aracılığıyla oluşturulan düşük dansiteli lipoprotein (LDL), IDL'e kıyasla daha zengin kolesterol içeriğine sahiptir ve LDL reseptörleri aracılığıyla karaciğere taşınmaktadır. LDL de hepatik lipazlar aracılığıyla daha ileriye yıkılabilir. (Ramasamy, 2014).

Diğer lipoproteinlerle karşılaştırıldığında, daha yüksek yoğunluklu ve düşük boyutlu olan, farklı formları bulunan yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) kolesterolün karaciğere taşınmasında önemli rol oynamaktadır. HDL, homeostazın sağlanmasında ve lipid metabolizmasında etkin olarak işlev görmektedir (Zhou ve ark., 2015).

Dislipidemi obeziteyle ilişkili olarak lipoproteinlerin aşırı üretimi ya da eksikliği sonucunda meydana gelen lipoprotein metabolizması bozukluğudur. LDL, kolesterol, trigliseritlerin düzeylerinin artması ve HDL düzeyinin azalması gibi etkilerin ortaya çıkmasıyla oluşmaktadır. Obeziteden kaynaklı dislipidemide, karaciğere serbest yağ asidinin iletiminin artışı, trigliseritlerin hepatik birikimine yol açarak hipertrigliseridemi oluşumuna neden olmaktadır. Trigliseritlerin karaciğerdeki artışı, VLDL ve şilomikronlar arasındaki lipoprotein lipaz rekabetine bağlı olarak şilomikronların lipolizinin azaltırken ve VLDL'in karaciğerdeki sentezinin artırmaktadır. Hipertrigliseridemi ayrıca, kolesterol ester taşıyıcı protein (KETP) aracılığıyla VLDL ile LDL ve HDL arasındaki trigliserit ve kolesterol ester transferini artırmaktadır. Bu durum HDL-C konsantrasyonunun azalmasına ve LDL'nin trigliserit içeriğinin artmasına yol açmaktadır. Trigliserit bakımından zengin LDL parçacıkları lipazlar aracılığıyla daha ileriye yıkılarak oksidatif özelliği nedeniyle aterosklerotik etkili, yavaş metabolize olan daha küçük LDL parçacıklarına dönüşebilirler (Ahn ve Kim, 2011; Bays ve ark., 2013; Klop ve ark., 2013; Singh ve ark., 2011).



Şekil 1.12. Obezitedeki lipoprotein metabolizması (HL: Hepatik Lipaz, KE: Kolesterol Esteri, KETP: Kolesterol Ester Taşıyıcı Protein, SYA: Serbest Yağ Asiti, TG: Trigliserit) (Klop ve ark., 2013)

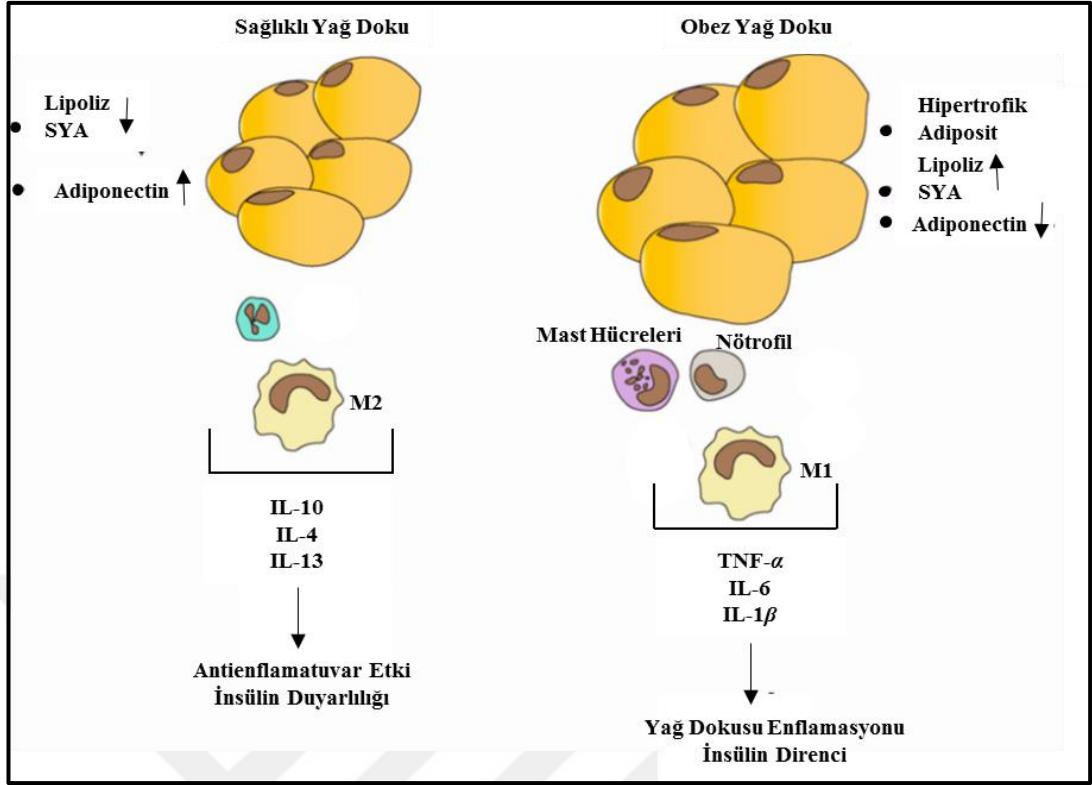
1.5.3 Obezite, İnsülin Direnci ve Enflamasyon İlişkisi

İnsülin direnci, serum glukoz seviyesinin normal düzeyde olmasına karşın insüline duyarlı iskelet kası, karaciğer ve beyaz yağ dokusu'nun insüline ve metabolik etkilerine karşı daha az duyarlı hale gelmesiyle başlamaktadır (Chen ve ark., 2015). İnsülin direnci kontrol altına alınmadığı takdirde glukoz toleransının bozulmasıyla Tip 2 diyabete neden olabilmektedir. Diyabet insülin direncinin görüldüğü hiperinsülinemi evresi, prediyabet ve diyabet olmak üç evrede incelenmektedir. Normal glukoz seviyesi ve yüksek insülin seviyesiyle karakterize hiperinsülinemi evresi kardiyovasküler rahatsızlıklar gibi birçok hastalıkla doğrudan ilişkilidir (Sun ve ark., 2008; Yang ve ark., 2016).

Birçok hastalıkla ilişkilendirilen insülin direnci insülin sinyal yolağındaki bir sorundan, mikrovasküler bir bozukluktan ya da enflamasyondan kaynaklanabilir. İnsülin direnci için obezitedeki temel risk faktörü, aşırı beslenmeyle ortaya çıkan kronik düşük dereceli enflamasyonun insülin duyarlılığını azaltmasıdır (Chen ve ark., 2015; Gregor ve Hotamisligil, 2011).

Kilo almaya bağlı olarak yağ dokusu hücreleri adipositlerde gözlemlenen boyutsal artış sitokin ve kemokin salgılanmasına, bağışıklık hücreleri infiltrasyonuna, yağ asiti metabolizmasında değişikliklere neden olmaktadır. Adipositlerdeki boyutsal artış, TNF- α , interlökin-1 β (IL-1 β) ve IL-6 gibi proenflamatuvar sitokinlerin artışına, leptin direncine, antienflamatuvar etkili adiponektinin düzeyinin azalmasına, T hücre infiltrasyonuna ve antienflamatuvar özellikli yağ dokusu makrofojlarının (M2), proenflamatuvar özellikli yağ dokusu makrofojlarına (M1) dönüşümüne neden olmaktadır. Obeziteden kaynaklı adipositlerdeki lipit seviyesindeki artış; c-Jun N-terminal kinaz (JNK) ve nükleer faktör kappa B (NF- κ B) sinyal yollarını aktive ederek benzer şekilde proenflamatuvar sitokinlerin üretimini artırarak artışına yol açmaktadır. Tüm bu etkiler obeziteden kaynaklı enflamasyonu tetiklemektedir (Chawla ve ark., 2015; Esser ve ark., 2014; McArdle ve ark., 2013; Samad ve Ruf, 2013).

Kronik enflamasyondan sorumlu temel proenflamatuvar sitokinlerden TNF- α adipositlerdeki lipolizi ve insülin reseptörü substratı-1 serin/treonin fosforilasyonunu arttırarak insülin direncine neden olmaktadır (Ilyas ve ark., 2017; Tahergorabi ve Khazaei ark., 2013); IL-1 β , β hücrelerinin insülin duyarlılığını azaltarak periferel dokularda ve makrofajlarda insülin sinyal yolağını olumsuz yönde etkileyerek insülin direncinin oluşumuna katkı sağlarlar (Chen ve ark., 2015; Greenberg ve Obin, 2006).



Şekil 1.13. Obezite, enflamasyon ve insülin direnci ilişkisi (Samad ve ark., 2013)

Makrofajların fagositik kapasitesini azaltarak, interferon γ üretimini baskılayarak ve NF- κ B sinyal yolağını inhibe ederek antienflamatuvar etki gösteren adipokinlerden adiponektin, glikojenez ve lipojenezi azaltarak ve glukoz kullanımı artırarak hepatik insülin direncini iyileştirir (Dias ve ark., 2018; Ellulu ve ark., 2015). Yağ dokusundan salgılanan adipokinlerden leptinin iştahı baskılayıcı ve enerji tüketimini artırıcı etkinliği bulunmaktadır. İnsülin direncinin ilerleyişinde leptinin rolü iştah ve enerji homeostazıyla doğrudan ilişkilidir. Leptinin iştahı baskılayıcı etkisine rağmen obez bireylerde leptin seviyesinin arttığı gözlemlenmiştir. Yapılan araştırmalar göstermiştir ki, obeziteyle birlikte leptin seviyesi artmasına rağmen leptinin etkili olamamasının sebebi obeziteyle birlikte gelişen leptin direncidir (Chen ve ark., 2015; Yadav ve ark., 2013).

1.5.4. Obezite Tedavisindeki Yaklaşımlar

Diyabet, hipertansiyon, osteoartrit ve kardiyavasküler rahatsızlıklar gibi bir çok rahatsızlıkla doğrudan ilişkili obezite, daha önce de belirtildiği gibi görülme sıklığında gözlenen dünya çapındaki hızlı artış sebebiyle küresel bir sağlık sorunu haline dönüşmüştür (Na ve ark., 2011; Kaila ve Raman, 2008). Küresel sağlık problemi olan obezitenin tedavisinde, diyet ve fiziksel aktivitenin artırılması gibi temel tedavi yaklaşımlarının yanısıra lipaz enzim inhibisyonu, iştahın baskılanması, enerji tüketiminin uyarılması, adiposit farklılaşmasının inhibisyonu, antienflamatuvar etki ve lipit metabolizmasının düzenlenmesi gibi etkilere yönelik terapötik yaklaşımlar bulunmaktadır (Lopez ve ark., 2002; Yun, 2010).

1.5.4.1. Lipaz Enzim İnhibisyonu

Pankreatik lipaz, diyetle alınan triaçilgliserolleri yağ asidi ve monoaçilgliserollere dönüşümünü sağlayan triaçilgliserollerin absorpsiyonunda anahtar bir enzimdir (Lowe, 2002). Diyetle alınan yağların emiliminin pankreatik lipazlar aracılığıyla gerçekleşmesi sebebiyle pankreatik lipaz inhibisyonu obezite için önerilen terapötik yaklaşımlardan biridir (Birari ve Bhutani, 2007). Pankreatik lipaz inhibitörü olarak günümüzde obezite tedavisinde kullanılan orlistatin, steatore, diyare şişkinlik ve fekal inkontinans gibi gastrointestinal yan etkileri bulunmaktadır (Bonamichi ve ark., 2018; Drew ve ark, 2007).

1.5.4.2. İştahın Baskılanması

İştahın baskılanması yoluyla vücut ağırlığının düzenlenmesi, birçok nörolojik ve hormonal süreçle ilişkilidir. Serotonin, histamin, dopamin ve reseptörlerinin aktiviteleri doyumluk hissi ile yakından ilişkili olması bu duruma kanıt olarak gösterilebilir. Bu reseptörlere yönelik tedavi yaklaşımlarından obezite tedavisinde faydalanılabilir (Chantre ve Lairon, 2002). Santral sinir sisteminde çeşitli

hipotalamik nöropeptitlerin düzeylerindeki veya iştahla ilgili monoamin yapısındaki nörotransmitterlerin seviyelerindeki değişiklikler iştahın baskılanmasına aracılık edebileceğinden obezite tedavisinde kullanılabilirler (Wynee ve ark., 2005).

1.5.4.3. Enerji Tüketiminin Uyarılması

Aşırı yağlanma, besin alımı ile enerji tüketimi arasındaki dengenin bozulmasından kaynaklanmaktadır. Kahverengi yağ dokusunda obezitedeki enerji dengesini kontrol eden UCP1 geni aracılığıyla enerji tüketiminin uyarılmasına yönelik yaklaşımlarından obezite tedavisinde yararlanılabilir (Yun, 2010).

1.5.4.4. Adiposit Farklılaşmasının İnhibisyonu

Obezite, yağ dokusu hücreleri adipositlerin boyutsal ve sayısal olarak artışı ile karakterizedir (Couillard ve ark., 2000). Adiposit sayısındaki artış preadipositlerin olgun adipositlere dönüşümünü kapsayan adiposit farklılaşma süreci ile ilişkilidir (Camp ve ark., 2002). Preadipositlerin olgun adipositlere farklılaşmasında bazı anahtar transkripsiyon faktörleri sorumludur (Farmer, 2006). PPAR- γ ve C/EBP- α anahtar transkripsiyon faktörlerinin görev aldığı adipojenez sürecinin baskılanması obezitenin tedavisinde ve önlenmesinde terapötik öneme sahiptir. (Feng ve ark., 2016; Kang ve ark., 2013 ve Wang ve ark., 2017;). PPAR- γ adipogenezis süreci için gereklidir ve bu süreçteki temel transkripsiyon faktörüdür. PPAR- γ eksikliğinde preadipositler olgun adipositlere farklılaşamazlar (Rosen ve ark., 2000). PPAR- γ , adipogenezde yer alan diğer hedef genlerin ekspresyonunu indükler. PPAR- γ ayrıca, PPAR- γ 'nın uyarıcı bölgesi üzerinden bağlanabilen C/EBP- α 'nın ekspresyonunu indüklemektedir (Tontonoz ve ark., 2008). C/EBP- α , yağ asidi bağlayıcı protein 4 (aP2), LPL ve yağ FAS gibi genlerin ekspresyonunu düzenleyerek adipositlerin terminal farklılaşmasında rol oynamaktadır (Kim ve ark., 2012; Kim ve ark., 2015; Moseti ve ark., 2016). Adipogenezisteki bir diğer transkripsiyon faktörü, SREB-1c, PPAR- γ ve C/EBP- α ekspresyonunu uyarmaktadır. SREBP-1c ayrıca yağ asidi

metabolizması için oldukça önemli, FAS ve LPL genlerinin ekspresyonunu düzenleyerek adipogenezis sürecine katkı sağlar (Kim ve ark., 1996; Miserez ve ark., 2002; Moseti ve ark., 2016; Stephens ve ark., 2012; Wang ve ark., 2017).

1.5.4.5. FAS Geninin Baskılanması

FAS asetil-koenzim A prekürsörlerinden uzun zincirli yağ asitlerinin biyosentezini katalizleyen anahtar bir lipojenik enzimdir (Boizard ve ark., 1998). Obezite FAS gen ekspresyonu artışına neden olmaktadır (Bluher ve ark., 2014). FAS geninin baskılanması, iştahı ve lipogenezisi azaltarak obezitede potansiyel bir tedavi yaklaşımı olabilir (Jayarathne ve ark., 2017, Lin ve ark., 2006 ve Loftus ve ark., 2000;).

1.5.4.6. Anti-enflamatuvar Yaklaşım

Proenflamatuvar ve antienflamatuvar sitokin ve adipokinlerin salgılanmasıyla ilgili sorunlardan kaynaklı obeziteyle birlikte gelişen kronik düşük dereceli enflamasyon, insülin direnci, kalp ve damar hastalıkları, solunum sistemi bozuklukları ve kanserin gelişme riskini artırır. Obezite ve obezite kaynaklı insülin direncinin tedavisinde obezite kaynaklı enflamasyonun giderilmesine yönelik antienflamatuvar yaklaşım etkili olabilir (Jayarathne ve ark., 2017, Sears, 2009 ve Sears ve Ricordi, 2010).

Bu çalışmanın amacı, *C. balikesirensis*, *C. nerimaniae*, *C. sommierii* ve *C. cephalotes*'in *in vivo* biyolojik aktivite çalışmalarındaki histopatolojik ve biyokimyasal analiz çalışmaları, adipojeniz sürecindeki anahtar transkripsiyon faktörlerinin ve FAS gen ekspresyon düzeylerinin belirlendiği PCR çalışmaları, *in vitro* lipaz enzim inhibisyonu rehberlendiğinde gerçekleştirilen biyolojik aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama çalışmaları ve YPSK çalışmaları aracılığıyla bitkilerin obezite tedavisindeki terapötik potansiyelini değerlendirmektir.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1.Bitki Materyali

2.1.1. Arazi Çalışmaları

C. balikesirense'nin topraküstü kısımları Balıkesir: Balıkesir-Edremit arası, Balya yol ayrımından Balya'ya doğru 4. km'den (200-300 m), 04.09.2017 tarihinde toplanmıştır. İlgili türün herbaryum örneği “Dirmenci 4934” kayıt numarasıyla Balıkesir Üniversitesi Necatibey Eğitim Fakültesi Herbaryumunda saklanmaktadır.



Şekil 2.1. *C. balikesirense* toplanma yerindeki genel görüntüsü, kapitulumu

C. nerimaniae'nin topraküstü kısımları Çanakkale: Çanakkale, Gökçeada, Gökçeada-Kuzulimanı arası 3-4. Km'den (50-100 m) makili alanlardan, 05.09.2017 tarihinde toplanmıştır (Dirmenci 4935). İlgili türün herbaryum örneği "Dirmenci 4935" kayıt numarasıyla Balıkesir Üniversitesi Necatibey Eğitim Fakültesi Herbaryumunda saklanmaktadır.



Şekil 2.2. *C. nerimaniae* toplanma yerindeki genel görüntüsü, kapitulumu

C. sommieri'nin topraküstü kısımları Gümüşhane: Gümüşhane, Gümüşhane-Kelkit arası 42-43. Km'den (1865 m, 40.25798 N 39.46346 E)'den 06.08.2017 tarihinde toplanmıştır.

İlgili türün herbaryum örneği “Dirmenci 4844 & Arabacı” kayıt numarasıyla Balıkesir Üniversitesi Necatibey Eğitim Fakültesi Herbaryumunda saklanmaktadır.



Şekil 2.3. *C. sommieri* toplanma yerindeki genel görünüşü, kapitulumu

C. cephalotes'in topraküstü kısımları Bayburt: Bayburt-Aşkale arası, Kop Dağı, Kopdağı şehitliği 1-2 km batısı'ndan (8115 ft., 40.02197 N 40.50446 E) 9.08.2017 tarihinde toplanmıştır (Dirmenci 4904 & Arabacı).

İlgili türün herbaryum örneği “Dirmenci 4904 & Arabacı” kayıt numarasıyla Balıkesir Üniversitesi Necatibey Eğitim Fakültesi Herbaryumunda saklanmaktadır.



Şekil 2.4. *C. cephalotes* toplanma yerindeki genel görüntüsü, kapitulumu

2.1.2. Bitkilerin Teşhisi, Kurutulması ve Öğütülmesi

Türlerin teşhisleri Prof. Dr. Tuncay DİRMENCİ ve Prof. Dr. Turan ARABACI tarafından gerçekleştirilmiştir.

Türlerin çiçekli topraküstü kısımları gölgede, hava akımı olan serin bir bölgede kurutulduktan sonra, değirmende öğütülüp toz haline getirilerek ekstraksiyon işlemlerinde kullanılmıştır.

2.2. *In vivo* Antibezite Aktivite Çalışmaları

2.2.1. Sıçanlara Uygulanan Ekstrelerin Hazırlanması

Kurutulmuş ve toz edilmiş *C. balikesirensense*'nin topraküstü kısımları (1020,0 g) çalkalayıcı su banyosunda 40°C'de metanol (2 L x 8 saat x 2 kez) ile ekstre edilmiş ve süzölmüştür. Süzöntöler birleştirilerek 40°C'de evaporatör yardımıyla kuruluğa kadar uçurulmuştur. Elde edilen 62,8 g ham metanol ekstresinin 20,0 g'ı *in vivo* biyolojik aktivite testleri için, 42,8 g'ı Biyolojik Aktivite Yönlendirmeli Fraksiyonlama Çalışmaları (BAYF) için kullanılmıştır.

Kurutulmuş ve toz edilmiş *C. nerimaniae*'nin topraküstü kısımları (1107,0 g) üç kısma ayrılarak (369,0 g) çalkalayıcı su banyosunda 40°C'de metanol (2 L x 8 saat x 2 kez) ile ekstre edilmiş ve süzölmüştür. Süzöntöler birleştirilerek 40°C'de evaporatör yardımıyla kuruluğa kadar uçurulmuştur. Elde edilen 101,4 g ham metanol ekstresinin 20,0 g'ı *in vivo* biyolojik aktivite testleri için, 81,1 g'ı BAYF için kullanılmıştır.

Kurutulmuş ve toz edilmiş *C. sommieri*'nin topraküstü kısımları (1218,0 g) üç kısma ayrılarak (406,0 g) çalkalayıcı su banyosunda 40°C'de metanol (2 L x 8 saat x 2 kez) ile ekstre edilmiş ve süzölmüştür. Süzöntöler birleştirilerek 40°C'de evaporatör yardımıyla kuruluğa kadar uçurulmuştur. Elde edilen 134,6 g ham metanol ekstresinin 20,0 g'ı *in vivo* biyolojik aktivite testleri için, 114,6 g'ı fitokimyasal analiz çalışmaları için ayrılmıştır.

Kurutulmuş ve toz edilmiş *Cirsium cephalotes* (1110,0 g) üç kısma ayrılarak (370,0 g) çalkalayıcı su banyosunda 40°C'de metanol (2 L x 8 saat x 2 kez) ile ekstre edilmiş ve süzölmüştür. Süzöntöler birleştirilerek 40°C'de evaporatör yardımıyla kuruluğa kadar uçurulmuştur. Elde edilen 70,9 g ham metanol ekstresinin 20,0 g'ı *in vivo* biyolojik aktivite testleri için, 50,9 g'ı BAYF için kullanılmıştır.

In vivo biyolojik aktivite testlerinde kullanılacak ekstre miktarı sıçanların ortalama ağırlığı 250 g kabul edilerek hesaplandıktan sonra, ekstre 200 mg/kg doza karşılık gelecek şekilde serum fizyolojik içerisinde çözülmüştür.

2.1.2. Sıçanlara Uygulanan Orlistat Karışımın Hazırlanması

In vivo biyolojik aktivite testlerinde kullanılacak orlistat miktarı sıçanların ortalama ağırlığı 250 g kabul edilerek hesaplandıktan sonra, orlistat 5 mg/kg doza karşılık gelecek şekilde serum fizyolojik içerisinde karıştırılmıştır.

2.2.3. *In vivo* Antiobezite Aktivite

2.2.3.1. Deney Hayvanları

Deney sırasında ağırlıkları 200-270 g arasında olan 56 adet Spraque Dawley tipi erkek sıçanlar kullanılmıştır. Ağırlık takibi haftalık periyotlar halinde yapılmıştır. Sıçanlar 22 ± 2 °C, 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık ortamda ve bireysel kafeslerde barındırılmıştır. Tablo 2.1’de belirtildiği gibi, sıçanlar eşit sayıda, 7 diyet grubuna ayrılmıştır (n= 8). İlgili çalışma KTÜ Deney Hayvanları Yerel Etik Kurul Başkanlığı 2012259-274 sayılı kararıyla onaylanmıştır (Ek-1).

Çizelge 2.1. *In vivo* antiobezite aktivite deney ve kontrol grupları

	Deney ve kontrol grupları	Hayvan adedi
Grup I	Standart Yem + Serum fizyolojik (SF ₁) 0,5 mL (Kontrol grubu)	8 adet
Grup II	Yüksek Yağlı Diyet Yemi + Serum fizyolojik (SF ₂) 0,5 mL (Negatif Kontrol Grubu)	8 adet
Grup III	Yüksek Yağlı Diyet Yemi + <i>C. balikesirensense</i> metanol ekstresi (200 mg/kg)	8 adet
Grup IV	Yüksek Yağlı Diyet Yemi + <i>C. nerimaniae</i> metanol ekstresi (200 mg/kg)	8 adet
Grup V	Yüksek Yağlı Diyet Yemi + <i>C. sommieri</i> metanol ekstresi (200 mg/kg)	8 adet
Grup VI	Yüksek Yağlı Diyet Yemi + <i>C. cephalotes</i> metanol ekstresi (200 mg/kg)	8 adet
Grup VII	Yüksek Yağlı Diyet Yemi + Orlistat (5 mg/kg) (Pozitif Kontrol Grubu)	8 adet
	Kullanılan toplam hayvan sayısı	56 adet

8 haftalık deney süresince hayvanlar temelde iki kısma ayrılmıştır. Birinci grup standart yemle beslenen sağlıklı sıçanlardan, 2-7 gruplardakiler ise yüksek yağlı diyet yemi (Dio Rodent Prufied Diet w/60% Energy From Fat-Blue, Katalog no: 58126 (58Y1), USA) ile beslenen sıçanlardan oluşturulmuştur. 1 haftalık adaptasyon süresi sonrasında, Grup I ve Grup II'ye deney süresince günde bir kez intragastrik gavaj uygulaması ile diğer gruplarda verilecek maddelerin hacmi ile eşit miktarda serum fizyolojik (SF) verilmiştir. Diğer yüksek yağlı diyet gruplarına 1 haftalık adaptasyon süresi sonrasında 56 günlük deney süresince günde bir kez Tablo 1'de belirtilen dozlarda, SF'de çözülen ekstre ve orlistat çözeltileri diğer gruplarla eşit hacimde intragastrik gavaj uygulaması ile verilmiştir. 57. günde deney sonlandırılmıştır.

2.2.3.2. Biyokimyasal Analiz Çalışmaları

8 haftalık süre sonunda sıçanların kanları alınarak ve kan şekeri ölçüm cihazı ile kan glukoz seviyesi ölçülmüştür. Serum analizleri için antikoagölansız tüpe alınan kan örnekleri oda sıcaklığında pıhtılaşması beklendikten sonra 1000 g'de 10 dakika santrifüjlenerek serumları elde edilmiş, elde edilen serum örneklerinde insülin, trigliserit, HDL, LDL, adiponektin, leptin, TNF- α , IL-1 β ve lipaz düzeyleri belirlenmiştir.

Sıçan serumlarındaki insülin (Catalog No: YHB1648Hu), trigliserit (Catalog No: YLA0576RA), HDL (Catalog No: E-EL-R0504), LDL (Catalog No: E-EL-R0579), adiponektin (Catalog No: E-EL-R0329), leptin (Catalog No: E-EL-R0582), TNF- α (Catalog No: E-EL-R0019), IL-1 β (Catalog No: E-EL-R0012) ve lipaz (Catalog No: SH0121) düzeyleri ticari kitler kullanılarak belirlenmiştir.

2.2.3.3. Histopatolojik Analiz Çalışmaları

Deney gruplarına ait yağ ve karaciğer dokuları çevre dokulardan izole edilerek çıkartılmış ve %10'luk formaldehit solüsyonu içerisine konularak tespit edilmiştir. Tespit edilen dokular daha sonra Thermo Scientific Excelsior™ AS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA USA) otomatik doku takip cihazında rutin histolojik doku takip işlemlerinden geçirilmiştir. Takip işlemi sonrasında dokular HistoCore Arcadia H ve HistoCore Arcadia C (Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Germany) gömme cihazında parafin içine gömülerek blok haline getirilmiştir. Ardından tam otomatik mikrotom (Leica RM 2255, Tokyo, Japan) ile 5 µm kalınlığında kesitler alınmış ve doku boyama cihazı ile hematoksilin eozin (Leica autostainer XL, Minnesota, USA) ile boyanarak kapatılmıştır.

Yağ dokusu histopatolojik değerlendirmeleri DP 71 (Olympus, Tokyo, Japan) kameralı dijital fotoğraf makinasına sahip ışık mikroskopunda (Olympus, BX51, Japan) yapılmış ve tüm preparatlar Analysis 5 Research (Olympus Soft Imaging Solution, Germany) software programı kullanılarak fotoğraflanarak adiposit çap ölçümleri de yine aynı program ile gerçekleştirilmiştir. Karaciğer dokusu histopatolojik değerlendirmeleri ise AxioCam MRc5 (Carl Zeiss, Göttingen, Germany) kameralı dijital fotoğraf makinasına sahip ışık mikroskopunda (Carl Zeiss, Axioplan 2, Jena, Germany) yapılmış ve tüm preparatlar AxioVision AC (Microscope Software for Materials Microscopy&Industrial Applications, USA) software programı kullanılarak fotoğraflanmış ve dijital ortama aktarılmıştır.

2.2.3.4. İstatistiksel Analiz Çalışmaları

Sıçanların haftalık ağırlıkları, haftalar arası ağırlık farkı ve haftalar arası % ağırlık değişimine, biyokimyasal parametrelerine ait veriler ve adiposit çapı değerleri ortalama±standart sapma olarak verilmiş ve grafiklerle ifade edilmiştir. Her grubun ortalamaları alınarak normal dağılıma uygunlukları Kolmogorov-Smirnov Testi ile kontrol edilmiştir. Değerlerinin karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. İkili grup karşılaştırma için ise Mann Whitney-U testi kullanılmıştır.

2.2.3.5. PCR Çalışmaları

Sıçanlardan alınan yağ dokuları RNA later solüsyonunda analiz sürecine kadar -80°C'de saklanmıştır. Hücrelerden RNA izolasyonu üreticinin yönlendirmesi doğrultusunda hazır kit kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Homojenize edilmiş dokulardan izole edilen RNA dan hareketle RT-PCR yöntemi ile cDNA elde edilmiştir. Elde edilen cDNA örnekleri kullanılarak ilgilenilen gen ürünlerinin ekspresyon düzeyleri Real-Time PCR (qRT-PCR) yöntemiyle saptanmıştır.

2.2.3.5.1. qRT-PCR Protokolü

Dokuların RNA'sı hücrelerden izole edilmiştir. İlk dizi cDNA örnekleri, RNA örneklerinden HyperScript First-Strand Synthesis kit kullanılarak revers transkripsiyon yöntemi ile sentezlenmiştir. Elde edilen cDNA'larda PCR yöntemi ile PPAR- γ , C/EBP- α anahtar transkripsiyon faktörleri, SREBP-1c ve FAS genlerinin ekspresyon düzeyleri saptanmıştır. Hazırlanan RNA örneklerinden cDNA sentezlendikten sonra qRT-PCR analizi Applied Biosystems® and StepOnePlus™ Real-Time PCR cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. qRT-PCR sonuçları incelenerek istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Real-time PCR analizi için bir internal house keeping gen (β -aktin) kullanılmıştır. RT-PCR tamamlandıktan sonra sonuçlar PCR sistemi içerisindeki software ile (comparative CT (ÄÄCT) metoduna göre analizi edilmiştir (Iwasa ve ark., 2014; Jang ve ark., 2017).

Çizelge 2.2. RT-PCR çalışmalarındaki genlerin primer dizileri (5'→3')

Gen	Öncü primer	Ters primer
β -Aktin	GTCGTACCACTGGCATTGTG	GCCATCTCCTGCTCAAAGTC
C/EBP- α	AGACATCAAGCGCCTACATCG	TGTAGGTGCATGGTGGTCTG
PPAR- γ	CCCTGGCAAACGATTGTAT	AATCCTTGGCCCTCTGAGAT
SREBP-1c	GCGCTACCGGTCTTCTATCA	TGCTGCCAAAAGACAAGGG
FAS	GATCCTGGAACGAGAACAC	GACTGTGGAACACGGTGGT

2.3. Biyolojik Aktivite Yönlendirmeli Fraksiyonlama Çalışmaları

Bu çalışma ile *C. balikesirense*, *C. nerimanaie*, *C. sommieri* ve *C. cephalotes* türlerinin antiobezite kapasitesinin araştırılması amaçlanmıştır. *In vivo* biyolojik aktivite çalışmaları ile araştırılan *Cirsium* türlerinin metanol ekstraktlarının obezite tedavisindeki önemi ortaya konmuştur. Bu çalışmalarla elde edilen ön bilgiler ışığında, araştırmanın daha ileriye taşınması, antiobezite etkiden sorumlu bileşiklerin keşfedilmesi veya olası sinerjik etkinin araştırılması amacıyla BAYF yapılmasına karar verilmiştir. Obezite tedavisindeki temel yaklaşımlardan biri lipaz enzim inhibisyonudur. Bu yaklaşımdan hareketle ve *in vivo* çalışmalarda negatif kontrol grubuyla kıyaslandığında ekstre uygulanan grupların sıçan serum lipaz düzeylerinin düşük olması, BAYF'ın *in vitro* lipaz inhibitör etki çalışmaları rehberliğinde yönlendirilmesine karar verilmiştir. Bu kapsamda BAYF ile öncelikle türlere ait metanol ekstraktlarının, etki gözlenen ekstrelerden hazırlanan alt fraksiyonların, etki gözlenen alt fraksiyonlardan çeşitli kromatografik yöntemlerle elde edilen diğer fraksiyonların lipaz inhibitör etkisi araştırılarak en etkili bileşiğin izolasyonu veya olası sinerjik etkinin araştırılması hedeflenmiştir.

2.3.1. Lipaz Enzim İnhibisyonu Değerlendirme Çalışmaları

Cirsium türlerinin topraküstü kısımlarının metanol ekstraktları ve metanol ekstraktlarından hareketle hazırlanan alt fraksiyonlar (kloroform, etil asetat ve arta kalan su) ve alt fraksiyonlardan hareketle BAYF sonrasında elde edilen diğer fraksiyonlar tampon çözelti ile (0.1 M Tris-HCl tamponu, pH=8.0) ile mikropiplardaki son konsantrasyonları 25, 50, 100, 200 ve 400 µg/mL olacak şekilde dilüe edilmiştir. Lipaz inhibisyon düzeyleri, substrat olarak *p*-nitro fenil butirat (*p*-NPB) (CAS:2635-84-9) kullanıldığı modifiye metodla gerçekleştirilmiştir (Bustanji ve ark., 2011; Jo ve ark., 2017 ve Zhang ve ark., 2008). Lipaz inhibitör etkili orlistat pozitif kontrol için kullanılmıştır. Orlistat tampon çözelti ile (0.1 M Tris-HCl tamponu, pH=8.0) mikropiplardaki son konsantrasyonları 6,25, 12,5, 25, 50 ve 100 µg/mL olacak şekilde dilüe edilmiştir. Örneklerin absorban ölçümleri 96

kuyucuklu mikrolak kullanılarak, spektrofotometre (SpectrostarNano-BMG LABTECH) yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

Deney prosedürü, mikrolaklar A, B, C ve D şeklinde kodlanarak tasarlanmıştır. Mikrolaklar, A, 90 µL enzim çözeltisi [(Crude porcine PL type II (Sigma, EC 3.1.1.3))-(200 unit/mL)], 5 µL substrat çözeltisi (10 mM p-NPB asetonitril çözeltisi); 5 µL tampon çözeltisi (0.1 M Tris-HCl tamponu, pH=8.0); B, 90 µL enzim çözeltisi [(Crude porcine PL type II (Sigma, EC 3.1.1.3))-(200 unit/mL)], 10 µL tampon çözeltisi (0.1 M Tris-HCl tamponu, pH=8.0); C, 90 µL enzim çözeltisi [(Crude porcine PL type II (Sigma, EC 3.1.1.3))-(200 unit/mL)], 5 µL örnek çözeltisi, 5 µL substrat çözeltisi (10 mM p-NPB asetonitril çözeltisi); D, 90 µL enzim çözeltisi [(Crude porcine PL type II (Sigma, EC 3.1.1.3)) -(200 unit/mL)], 5 µL örnek çözeltisi, 5 µL tampon çözeltisi (0.1 M Tris-HCl tamponu, pH=8.0) içeriklerinde tasarlanmıştır. Substrat çözeltileri içeren kuyucuklara substrat çözeltileri ilave edilmeden önce her bir mikrolak 37 °C'de 15 dk inkübatörde (Memmert) inkübasyona bırakılmıştır. Sonrasında ilgili kuyucuklara substrat çözeltileri ilave edilerek, her bir mikrolak yeniden 37 °C'de 15 dk inkübasyona tabi tutulmuştur. Mikrolaklar spektrofotometreye yerleştirilerek, örnekler ve kontrol numunesinin absorbanları 405 nm dalga boyunda okunmuştur. A, B, C ve D şeklinde kodlanan kuyucuklara ait absorban değerleri aşağıda belirtilen formülden yararlanarak lipaz enzim inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Her bir örneğe ait, her bir konsantrasyon 3 paralel olarak çalışılmıştır.

$$\% \text{ Pankreatik Lipaz Inhibisyon} = [(A-B)-(C-D)]/(A-B)*100$$

Deney sonucunda belirlenen % enzim inhibisyon değerleri ve ait olduğu konsantrasyonun logaritması (ordinat ve absis) şeklinde grafiğe geçirilerek ve oluşturulan grafik denkleminde örneklerin lipaz enzim üzerine olan IC₅₀ değerleri belirlenmiştir. Çalışılan doz aralığı dışında IC₅₀ değerine sahip örnekler, lipaz inhibitör etkili olarak değerlendirilmemiştir.

2.3.2. Etkili Türlerde Alt Fraksiyonların Hazırlanması

Cirsium türlerinin izolasyon çalışmaları için daha önce belirtilen şekilde elde edilen, çözücüsü evaporatörde (Heidolph) yoğunlaştırılan ham metanol ekstresine kısmi fraksiyonlandırılma işlemi uygulanarak, kloroform, etil asetat ve arta kalan su alt fraksiyonları elde edilmiştir.

Bitkisel materyale ait metanol ekstraktları su:metanol (9:1) çözücü sisteminin 300 mL'sinde süspande edilmiştir. Süspande karışım ayırma hunisinde kloroform (300 mL x 3) partitisyona tabi tutulmuş ve elde edilen kloroformlu fazların çözücüsünün evaporatörde yoğunlaştırılmasıyla kloroform alt fraksiyonu elde edilmiştir. Arta kalan sulu kısma ise benzer şekilde etil asetat ile (300 mL x 3) partitisyona tabi tutulmuş ve elde edilen etil asetat fazların çözücüsünün evaporatörde yoğunlaştırılmasıyla etil asetat alt fraksiyonu elde edilmiştir. Arta kalan sulu kısmın çözücüsünün yoğunlaştırılmasıyla ise arta kalan su alt fraksiyonunun eldesi gerçekleştirilmiştir.

2.3.3. Etkili Türlerde BAYF

2.3.3.1. BAYF Tekniğinde Kullanılan Kromatografik Yöntemler Hakkında Bilgiler

2.3.3.1.1. Kolon Kromatografisi Uygulamaları

İzolasyon çalışmaları süresince açık kolon kromatografisi uygulamalarından normal faz kolon kromatografisi, ters faz kolon kromatografisi ve sefadeks kolon kromatografisi uygulamalarından faydalanılmıştır.

Normal faz silika jel kolon kromatografisi

Miktarı ayırımı gerçekleştirilecek numunenin miktarına ve ayırımı gerçekleştirileceği kolon boyutlarına göre belirlenen uygun miktardaki silika jel (0.04-0.063 mm, Cas No: 7631-86-9, Merck), ayırımı için en uygun olduğu düşünülen çözücü ya da çözücü sistemleriyle süspande edildikten sonra alt ucuna pamuk yerleştirilen cam kolona aktarılmıştır. Bir miktar daha süspande için kullanılan çözücü ya da çözücü sistemi geçirilerek kolonda hava boşlukları kalmaması sağlanmıştır. Silika jelin kolonda sabitlendiğine karar verildikten sonra numune tatbik edilmiştir.

Sefadeks Kolon Kromatografisi

Miktarı numunenin miktarına ve ayırımı gerçekleştirileceği kolon boyutlarına göre belirlenen uygun miktarda sefadeks (Sephadex LH-20, Sigma-GE 17-0090-01) , uygun miktardaki çözücü (metanol) ile karıştırılıp bir süre bekletildikten sonra alt ucuna pamuk yerleştirilen cam kolona aktarılmıştır. Adsorban boyutunun kolonda sabit kaldığına ve adsorbanın kolona yerleştiğine karar verilinceye kadar başlangıç çözücüsü geçirilmeye devam edilmiştir. Kolondaki çözücü miktarı adsorbanın seviyesinin 1-2 mm yukarısındayken kolona numune tatbiğine geçilmiştir.

Ters faz silika jel kolon kromatografisi

Miktarı numunenin miktarına ve ayırımı gerçekleştirileceği kolon boyutlarına göre belirlenen uygun miktarda ters faz silika jel (LiChroprep RP-18, 25-40 μ m, Cas No: 108688-10-4, Merck) yeterli miktarda su ile karıştırılarak bir süre bekletilmiş ve sonrasında alt ucuna pamuk yerleştirilen cam kolona aktarılmıştır. Adsorbanın kolonda yerleşmesini ve suyun adsorban içerisinde dağılmasını sağlamak amacıyla vakum pompası ile kolona negatif basınç uygulanmıştır. Kolonun dengeye ulaştığına karar verildikten sonra çözücü miktarı adsorbanın seviyesinin 1-2 mm

yukarısından kolona numune tatbiğine geçilmiştir. Ters faz silikajel kolon uygulaması süresince vakum pompası (Millipore) ile negatif basınç sağlanmıştır.

Numunenin Kolona Tatbik Edilmesi

Açık kolon kromatografisi uygulamalarında numunelerin kolona tatbik edilmesinde çözücü yardımı ya da kuru tatbik yöntemlerinden yararlanılmıştır.

Çözücü yardımı ile tatbik yönteminden sefadeks ve ters faz silikajel kolon kromatografisi uygulamalarında yararlanılmıştır. Uygun miktardaki numune mümkün olan en az miktarda, başlangıç elüsyon sistemine ve adsorbanın içerdiği çözücü ya da çözücü sistemine uygun çözücü/çözücü sisteminde çözüldükten sonra cam pipet yardımı ile kolona uygulanmıştır. Uygulama sırasında adsorbanın üst yüzeyinin bozulmamasına dikkat edilmiştir. Numune tatbiği sonrasında başlangıç çözücü sisteminin geçirilmesi ile elüsyon sürdürülmüştür.

Kuru tatbik yönteminden normal faz silika jel kolon kromatografisi uygulamalarında yararlanılmıştır. Numune uygun çözücüde çözüldükten sonra miktarı numunenin miktarına göre belirlenen uygun miktardaki silika jel (0,063-0,2 mm, Cas No: 7631-86-9, Merck) ile karıştırılmıştır ve kurutulduktan sonra kuru haldeki numune ve silika jel karışımı, normal faz silikajel kolon uygulamasına uygun şekilde hazırlanan ve dengeye ulaştırılmış kolona aktarıldıktan sonra, uygun çözücü sistemi ile elüsyona başlanmıştır.

2.3.3.1.2. İnce Tabaka Kromatografisi Uygulamaları

İzolasyon çalışmalarında elde edilen fraksiyonların İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) yöntemiyle değerlendirilmesi için, silika jel kaplı hazır alüminyum plaklardan (TLC Silica gel 60 F₂₅₄, Merck) yararlanılmıştır.

Fraksiyonlar, cam pipet yardımıyla plağa uygun aralıklarla tatbik edildikten sonra uygun olan çözücü sisteminin yer aldığı çözücü tanklarında sürüklenmiştir. İTK analizlerinde 7:2:1 v/v/v oranındaki etil asetat:metanol:su çözücü sisteminden; 9:1, 8:2 ve 7:3 v/v oranlarındaki *n*-hekzan:etil asetat çözücü sistemlerinden; 90:10:1, 80:20:2 ve 70:30:3 v/v/v oranlarındaki kloroform:metanol:su çözücü sistemlerinden yararlanılmıştır.

Çözücü sistemlerinde sürükledikten sonra kurutulan plaklar, UV lamba altında 254 ve 366 nm dalga boyunda incelenmiştir. Plaklara revelatör olarak %1 vanilin:H₂SO₄ püskürtüldükten sonra sıcaklık uygulaması ile fraksiyonlarda gözlemlenen lekeler değerlendirilmiştir.

2.3.3.2. *C. balikesirens*e Üzerinde Gerçekleştirilen BAYF

BAYF sonucunda *C. balikesirens*e'nin alt fraksiyonları lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiş ve en etkili alt fraksiyonun arta kalan su alt fraksiyonu olduğu tespit edilmiştir.

Arta kalan su fraksiyonu üç kısma ayrılmış ve 13,9 g'ı suda süspande edildikten sonra ters faz silika jel'in %100 su ile şartlandırılmış kolonuna (2x27 cm) uygulanmıştır. Elüsyona 100 ml su ile başlanmış, daha sonra suyun azalan oranlarında (su:metanol 99:1→ 0:100) gradient elüsyon sürdürülmüştür. 10'ar ml toplanan 69 fraksiyon elde edilmiştir. Fraksiyonlar İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) plağına tatbik edilmiş ve etil asetat:metanol:su (7:2:1) çözücü sisteminde sürüklenmişlerdir. Benzer fraksiyonların birleştirilmesiyle oluşturulan 11 alt fraksiyon lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiş ve en etkili fraksiyonun CBS-RP Fr₃₅₋₃₆ şeklinde kodlanan 35-36. fraksiyonun olduğu tespit edilmiştir.

35-36. fraksiyonlar birleştirilmiş çözücü yoğunlaştırılmış (30,1 mg) ve en az miktardaki metanolla çözündürüldükten sonra Sefadex LH-20 kolona (2,5x15 cm) tatbik edilmiştir. Elüsyon %100 metanolla yapılmış ve 15 fraksiyon toplanmıştır.

Fraksiyonlar İTK plağına tatbik edilmiş ve etil asetat:metanol:su (7:2:1) çözücü sisteminde sürüklenmiştir. Benzer fraksiyonların birleştirilmesiyle oluşturulan 4 alt fraksiyon lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiş ve en etkili fraksiyonun CBS-SE Fr₄₋₅ şeklinde kodlanan 4-5. fraksiyonun olduğu tespit edilmiştir. İTK de tek leke verdiği tespit edilen bu fraksiyonların CBS-1 (12,3 mg) şeklinde kodlanarak yapı aydınlatma çalışmaları için spektroskopik analizinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.

2.3.3.2.1. *C. balikesirens*e Üzerinde Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları

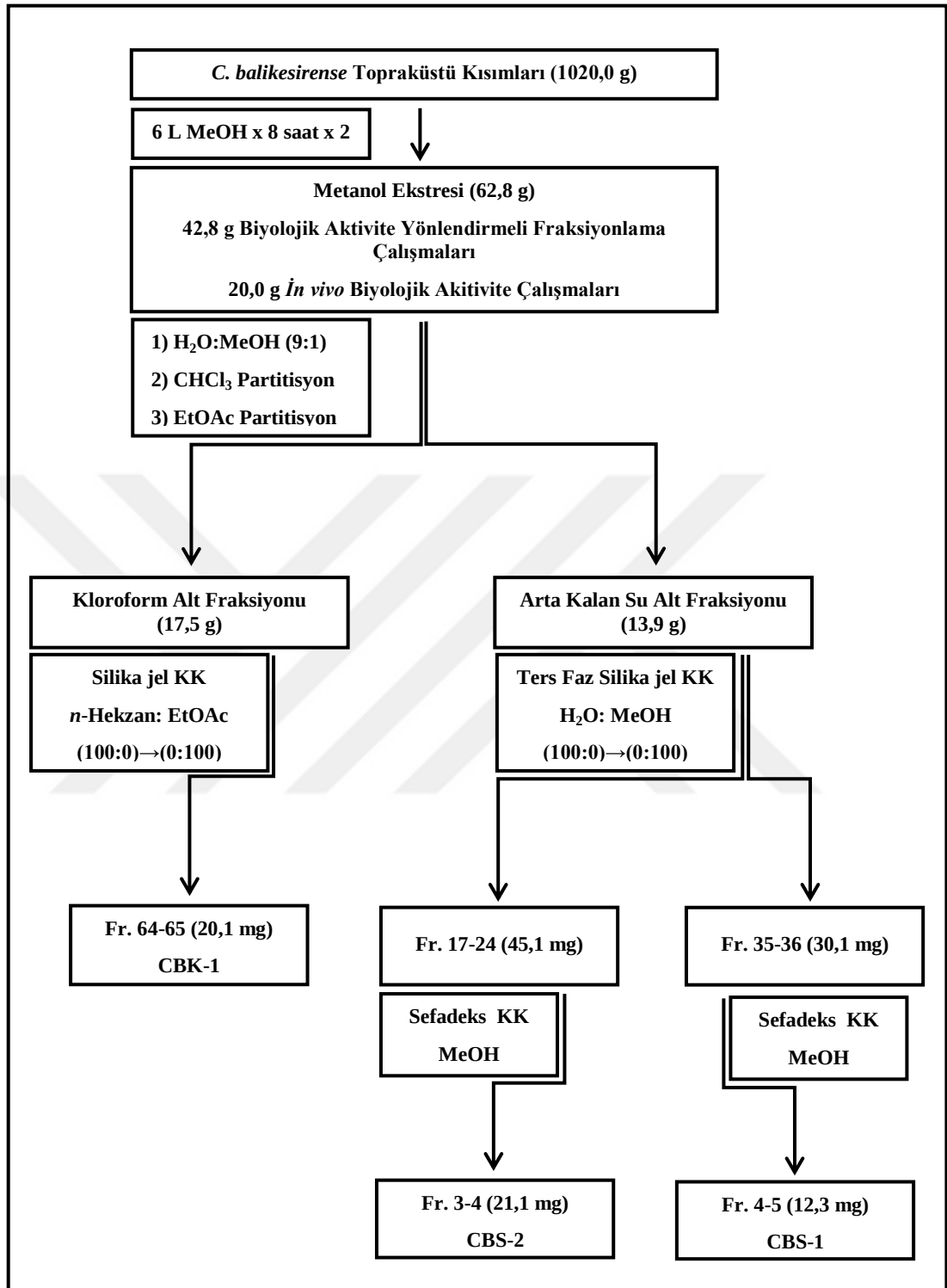
2.3.3.2.1.1 *C. balikesirens*e'nin Arta Kalan Su Alt Fraksiyonunda Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları

BAYF'da belirtildiği şekilde ters faz kolon kromatografisi uygulanan arta kalan su fazının 17-24. Fraksiyonları CBS-RP Fr₁₇₋₂₄ şeklinde kodlanarak lipaz inhibitör etkisi değerlendirilmiş. 17-24. Fraksiyonlar birleştirilerek yoğunlaştırılmış (45,1 mg) ve en az miktardaki metanolla çözündürülerek Sefadex LH-20 kolona (2,5x15 cm) uygulanmıştır. Elüsyon %100 metanolla yapılmış ve 15 fraksiyon toplanmıştır. Fraksiyonlar İTK plağına tatbik edilmiş ve etil asetat:metanol:su (7:2:1) çözücü sisteminde sürüklenmiştir. İTK'de tek leke verdiği tespit edilen 3-4. Fraksiyonlar birleştirilerek çözücüsü yoğunlaştırılmış ve CBS-2 (21,1 mg) şeklinde kodlanarak yapı aydınlatma çalışmaları için spektroskopik analizinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir. CBS-2 şeklinde kodlanan 3-4. fraksiyonlar ayrıca lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiştir.

2.3.3.2.1.2 *C. balikesirens*e'nin Kloroform Alt Fraksiyonunda Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları

Kloroform ekstresi (17,5 g), silika jel (90 g, 0.04-0.063 mm) ile %100 *n*-hekzan ile süspande edilen kolon kromatografisine uygulanmıştır. 17,5 g kloroform

ekstresi en az miktardaki kloroformda çözüldükten sonra 15 g silika jel (0.063-0.2 mm) ile karıştırılmış ve kloroform tamamen uzaklaşana kadar kurutulmuştur. Kuru haldeki silikajel ile karışmış numune kolona tatbik edilerek artan polaritedeki *n*-hekzan:etilasetat (100:0, 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 70:30, 50:50, 0:100) çözücü sistemleriyle gradient elüsyonu gerçekleştirilmiştir. Başlangıçtaki fraksiyonlar 50 ml şeklinde toplanmış ve sonrasında 15 ml'lik tüplere geçilerek, 93 fraksiyon elde edilmiştir. Fraksiyonlar İTK ile *n*-hekzan:etil asetat (9:1, 8:2, 7:3) çözücü sistemlerinde kontrol edilmiştir. İTK de tek leke verdiği tespit edilen 64-65. fraksiyonlar birleştirilerek çözücüsü yoğunlaştırılmış ve CBK-1 (20,1 mg) şeklinde kodlanarak yapı aydınlatma çalışmaları için spektroskopik analizinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir. CBK-1 şeklinde kodlanan 64-65. fraksiyonlar ayrıca lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiştir.



Şekil 2.5. *C. balikesirensis* izolasyon şeması

2.3.3.3. *C. nerimaniae* Üzerinde Gerçekleştirilen BAYF

BAYF sonucunda *C. nerimaniae*'nin alt fraksiyonları lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiş ve en etkili alt fraksiyonun arta kalan su alt fraksiyonu olduğu tespit edilmiştir.

Arta kalan su fraksiyonu üç kısma ayrılmış ve 12,7 g'ı suda süspande edildikten sonra ters faz silika jel'in %100 su ile şartlandırılmış kolonuna (2x27 cm) uygulanmıştır. Elüsyona 100 ml su ile başlanmış, daha sonra suyun azalan oranlarında (su:metanol 99:1→ 0:100) gradient elüsyon sürdürülmüştür. 10'ar ml toplanan 67 fraksiyon elde edilmiştir. Fraksiyonlar İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) plağına tatbik edilmiş ve etil asetat:metanol:su (7:2:1) çözücü sisteminde sürüklenmişlerdir. Benzer fraksiyonların birleştirilmesiyle oluşturulan 18 alt fraksiyon lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiş ve en etkili fraksiyonun CNS-RP Fr₅₇₋₅₈ şeklinde kodlanan 57-58. fraksiyonun olduğu tespit edilmiştir. İTK de tek leke verdiği tespit edilen bu fraksiyonların CNS-1 (25,4 mg) şeklinde kodlanarak yapı aydınlatma çalışmaları için spektroskopik analizinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.

2.3.3.3.1. *C. nerimaniae* Üzerinde Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları

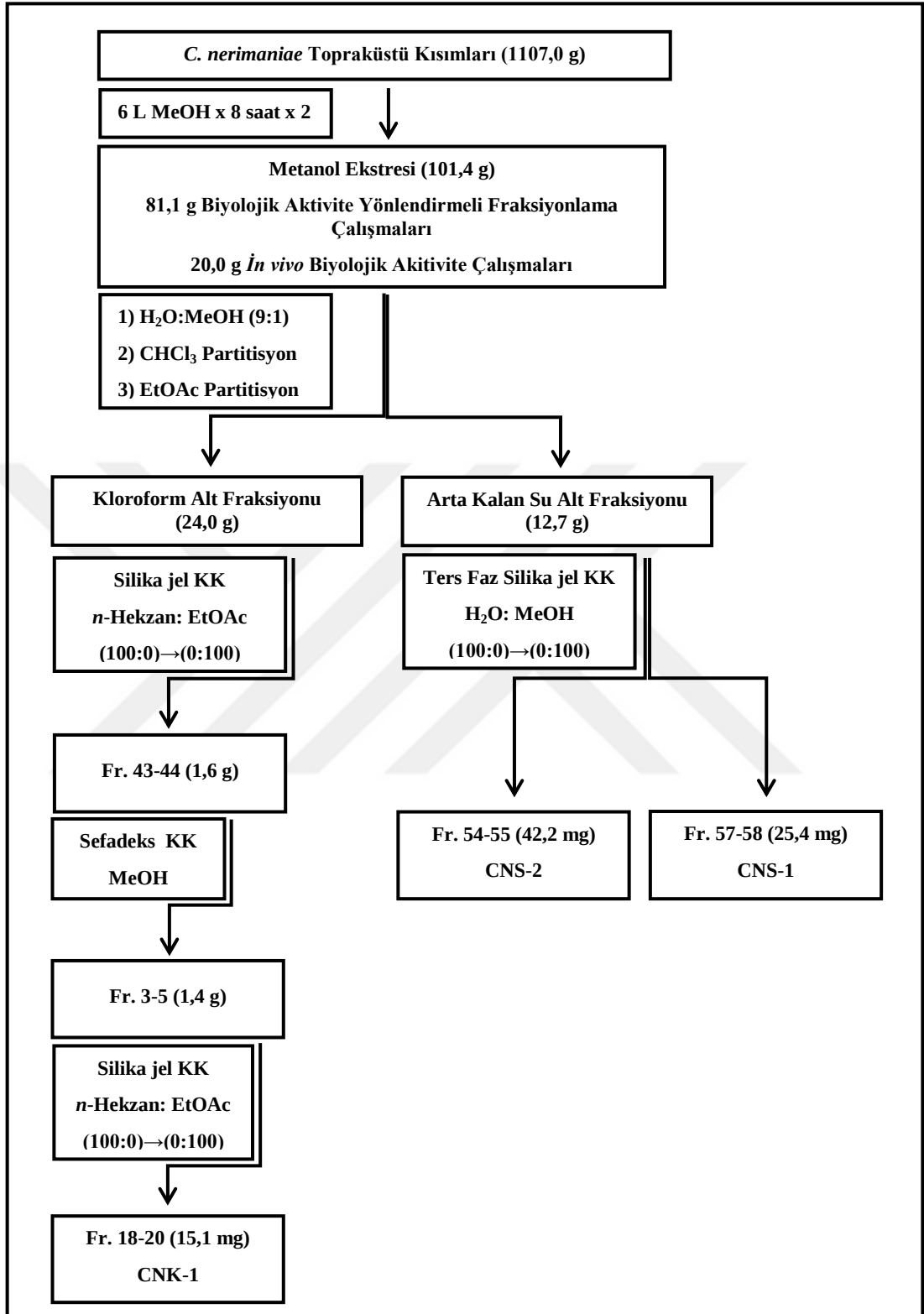
2.3.3.3.1.1 *C. nerimaniae*'nin Arta Kalan Su Alt Fraksiyonunda Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları

BAYF'da belirtildiği şekilde ters faz kolon kromatografisi uygulanan arta kalan su fazının 54-55. fraksiyonları CNS-RP Fr₅₄₋₅₅ şeklinde kodlanarak lipaz inhibitör etkisi değerlendirilmiş. İTK de tek leke verdiği tespit edilen 54-55. fraksiyonlar birleştirilerek çözücüsü yoğunlaştırılmış ve CNS-2 (42,2 mg) şeklinde kodlanarak yapı aydınlatma çalışmaları için spektroskopik analizinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.

2.3.3.3.1.2 *C. nerimaniae*'nin Kloroform Alt Fraksiyonunda Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları

Kloroform ekstresi (24,0 g), ön saflaştırma için silika jel (100 g, 0.04-0.063 mm) ile %100 *n*-hekzan ile süspande edilen kolon kromatografisine (5x20 cm) uygulanmıştır. Bu işlem için, 24,0 g kloroform ekstresi az miktardaki kloroformda çözüldükten sonra 20 g silika jel (0.063-0.2 mm) ile karıştırılmış ve kloroform tamamen uzaklaşana kadar kurutulmuştur. Kuru haldeki silikajel ile karışmış numune kolona tatbik edilerek artan polaritedeki *n*-hekzan:etil asetat (100:0, 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 70:30, 50:50, 0:100) çözücü sistemleriyle gradient elüsyonu gerçekleştirilmiştir. Başlangıçtaki fraksiyonlar 50 ml şeklinde toplanmış ve sonrasında 15 ml'lik tüplere geçilerek, 57 fraksiyon elde edilmiştir. Fraksiyonlar İTK ile *n*-hekzan:etil asetat (9:1, 8:2, 7:3) çözücü sistemlerinde kontrol edilmiştir.

43-44. fraksiyonlar birleştirilmiş ve çözücüsü uçurulmuş. 1,6 g olduğu tespit edilen fraksiyonlar en az miktardaki metanol ile çözülerek sefadeks kolona (2,5x15) tatbik edilmiş ve elüsyon %100 metanol ile gerçekleştirilmiştir. Toplam 12 fraksiyon toplanmıştır. Fraksiyonlar İTK ile etil *n*-hekzan:etil asetat (9:1, 8:2, 7:3) çözücü sistemlerinde kontrol edilmiş sonrasında 3-5. fraksiyonlar (1,4 g) silika jel (40 g, 0.04-0.063 mm) ile hazırlanmış ve %100 *n*-hekzan süspande edilmiş kolon kromatografisine (2x30 cm) uygulanmıştır. Bu işlem için, 1,4 g olan fraksiyon en az miktardaki kloroformda çözüldükten sonra 3 g silika jel (0.063-0.2 mm) ile karıştırılmış ve kloroform tamamen uzaklaşana kadar kurutulmuştur. Kuru haldeki numune kolona tatbik edilerek artan polaritedeki *n*-hekzan:etil asetat (100:0, 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 70:30, 50:50, 0:100) çözücü sistemleriyle gradient elüsyon gerçekleştirilmiştir. Fraksiyonlar 15 ml'lik tüplerde, 51 fraksiyon elde edilmiştir. Fraksiyonlar İTK ile etil *n*-hekzan:etil asetat (9:1, 8:2, 7:3) çözücü sistemlerinde kontrol edilmiştir. İTK'de tek leke verdiği tespit edilen 18-20. Fraksiyonlar birleştirilerek çözücüsü yoğunlaştırılmış ve CNK-1 (15,1 mg) şeklinde kodlanarak yapı aydınlatma çalışmaları için spektroskopik analizinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir. CNK-1 şeklinde kodlanan 18-20. fraksiyonlar ayrıca lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiştir.



Şekil 2.6. *C. nerimaniae* izolasyon şeması

2.3.3.4. *C. sommieri* Üzerinde Gerçekleştirilen BAYF

BAYF sonucunda *C. sommieri*'nin alt fraksiyonları lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiş ve en etkili alt fraksiyonun kloroform alt fraksiyonu olduğu tespit edilmiştir.

Kloroform alt fraksiyonu (25,8 g) silika jelin (100 g, 0.04-0.063 mm) %100 *n*-hekzan süspande edilmesiyle hazırlanan kolon kromatografisine (5x20 cm) uygulanmıştır. Bu işlem için, 25,8 g kloroform ekstresi en az miktardaki kloroformda çözüldükten sonra 20 g silika jel (0.063-0.2 mm) ile karıştırılmış ve kloroform tamamen uzaklaşana kadar kurutulmuştur. Kuru haldeki numune kolona tatbik edilerek artan polaritedeki *n*-hekzan:etil asetat (100:0, 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 70:30, 50:50, 0:100) çözücü sistemleri yardımıyla gradient elüsyon gerçekleştirilmiştir. 15 ml'lik tüplerde 119 fraksiyon elde edilmiştir. Fraksiyonlar İTK ile etil *n*-hekzan:etil asetat (9:1, 8:2, 7:3) çözücü sistemlerinde kontrol edilmiştir.

Benzer fraksiyonların birleştirilmesiyle oluşturulan 4 alt fraksiyon lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiş ve en etkili fraksiyonların CSK-NP1 Fr₈₆₋₁₀₉ şeklinde kodlanan 86-109. fraksiyonlarının olduğu tespit edilmiştir.

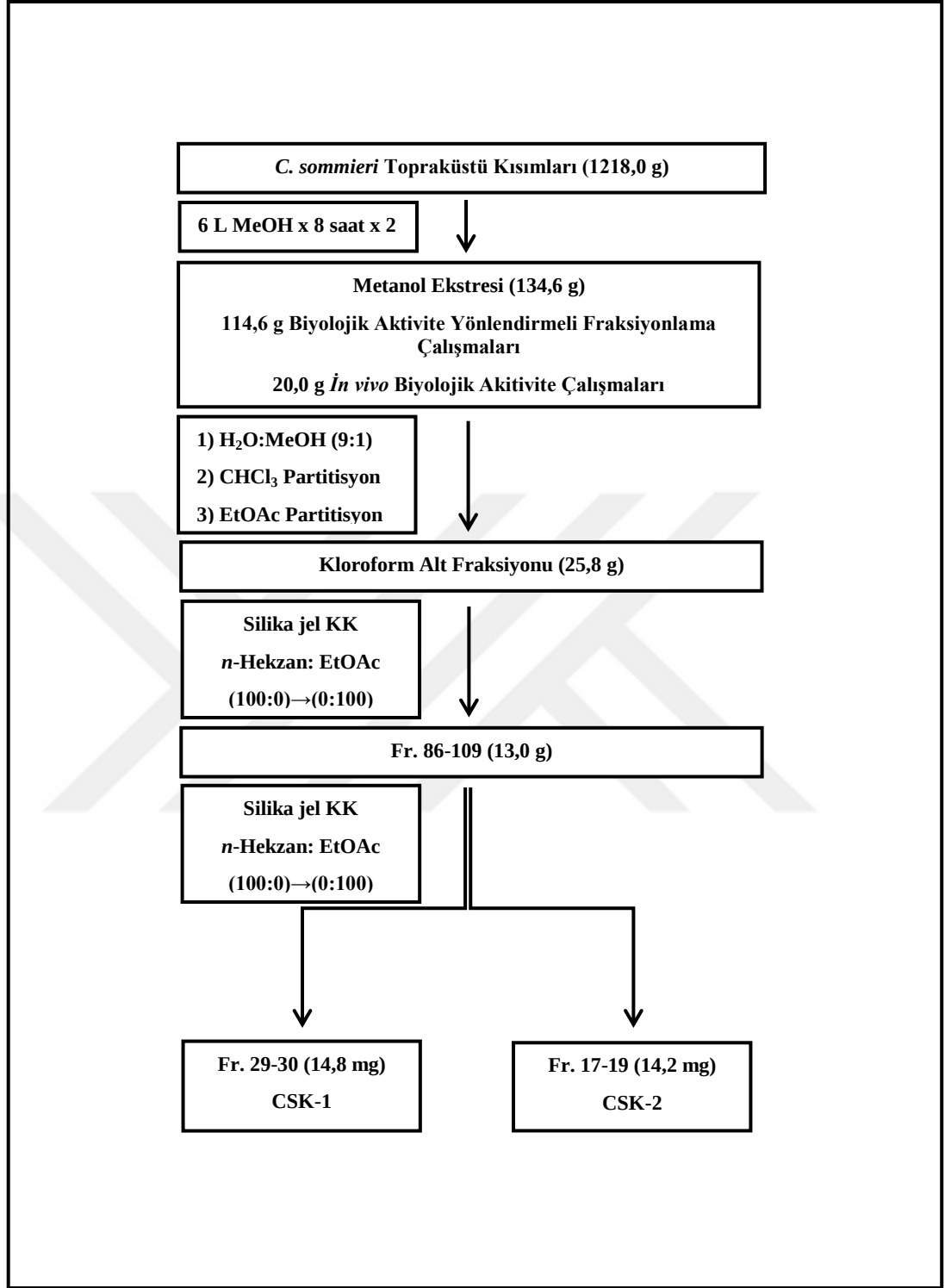
86-109. fraksiyonlar (13,0 g) birleştirilerek silika jel (50 g, 0.04-0.063 mm) ile hazırlanmış kolon kromatografisine uygulanmıştır. Bu işlem için, 13,0 g fraksiyon en az miktardaki kloroformda çözüldükten sonra 10 g silika jel (0.063-0.2 mm) ile karıştırılmış ve kloroform tamamen uzaklaşana kadar kurutulmuştur. Kuru haldeki numune kolona tatbik edilerek artan polaritedeki *n*-hekzan:etil asetat (100:0, 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 70:30, 50:50, 0:100) çözücü sistemleri ile gradient elüsyon gerçekleştirilmiştir. 15 mL'lik tüplerde 61 fraksiyon elde edilmiştir. Fraksiyonlar İTK ile etil *n*-hekzan:etil asetat (9:1, 8:2, 7:3) çözücü sistemlerinde kontrol edilmiştir. Benzer fraksiyonların birleştirilmesiyle oluşturulan 12 alt fraksiyon lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiş ve en etkili fraksiyonun CSK-NP2 Fr₂₉₋₃₀ şeklinde kodlanan 29-30. fraksiyonların olduğu tespit edilmiştir. İTK de tek leke

verdiği tespit edilen 29-30 fraksiyonların çözücüsü yoğunlaştırılmış ve CSK-1 (14,8 mg) şeklinde kodlanarak yapı aydınlatma çalışmaları için spektroskopik analizinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.

2.3.3.4.1. *C. sommieri* Üzerinde Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları

2.3.3.4.1.1 *C. sommieri*'nin Klorofom Alt Fraksiyonunda Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları

BAYF'da belirtildiği şekilde iki farklı normal faz kolon kromatografisi uygulanan kloroform alt fraksiyonunun 17-19. fraksiyonların ITK de tek leke verdiği tespit edilmiştir. 17-19. fraksiyonların çözücüsü yoğunlaştırılmış ve CSK-2 (14,2 mg) şeklinde kodlanarak yapı aydınlatma çalışmaları için spektroskopik analizinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir. 17-19. fraksiyonlar CSK-NP2 Fr₁₇₋₁₉ şeklinde kodlanarak ayrıca lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiştir.



Şekil 2.7. *C. sommieri* izolasyon şeması

2.3.3.5. *C. cephalotes* Üzerinde Gerçekleştirilen BAYF

BAYF sonucunda *C. cephalotes*'in alt fraksiyonları lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiş ve en etkili alt fraksiyonun arta kalan etilasetat alt fraksiyonu olduğu tespit edilmiştir.

Etilasetat alt fraksiyonu (2,7 g) en az miktardaki metanol ile çözülmüş ve Sefadex LH-20 kolona (2,5x15) tatbik edilmiştir. Elüsyon %100 metanolle yapılmış ve 14 fraksiyon toplanmıştır. Fraksiyonlar İTK plağına tatbik edilerek kloroform:metanol:su (90:10:1, 80:20:2, 70:30:3) çözücü sisteminde kontrol edilmişlerdir. Benzer fraksiyonların birleştirilmesiyle oluşturulan 4 alt fraksiyon lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiş ve en etkili fraksiyonların CCE-SE Fr₆₋₁₀ şeklinde kodlanan 6-10. fraksiyonlarının olduğu tespit edilmiştir.

6-10 fraksiyonlar (618,0 mg) en az miktardaki suda süspanse edilerek ters faz silika jel ile hazırlanmış kolona (2x27 cm) uygulanmıştır. Elüsyona su:metanol (90:10) çözücü sistemiyle başlanmış, daha sonra metanolün artan oranlarında (su:metanol 99:1 → 0:100) gradient elüsyona devam edilmiştir. 20'şer mL halinde toplanan 25 fraksiyon elde edilmiştir.

Fraksiyonlar İTK plağına tatbik edilerek kloroform:metanol:su (90:10:1, 80:20:2, 70:30:3) çözücü sisteminde sürüklenmiştir. Benzer fraksiyonların birleştirilmesiyle oluşturulan 6 alt fraksiyon lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiş ve en etkili fraksiyonların CCE-RP Fr₂₀₋₂₃ şeklinde kodlanan 20-23. fraksiyonlarının olduğu tespit edilmiştir. İTK de tek leke verdiği tespit edilen bu fraksiyonların CCE-1 (20,0 mg) şeklinde kodlanarak yapı aydınlatma çalışmaları için spektroskopik analizinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.

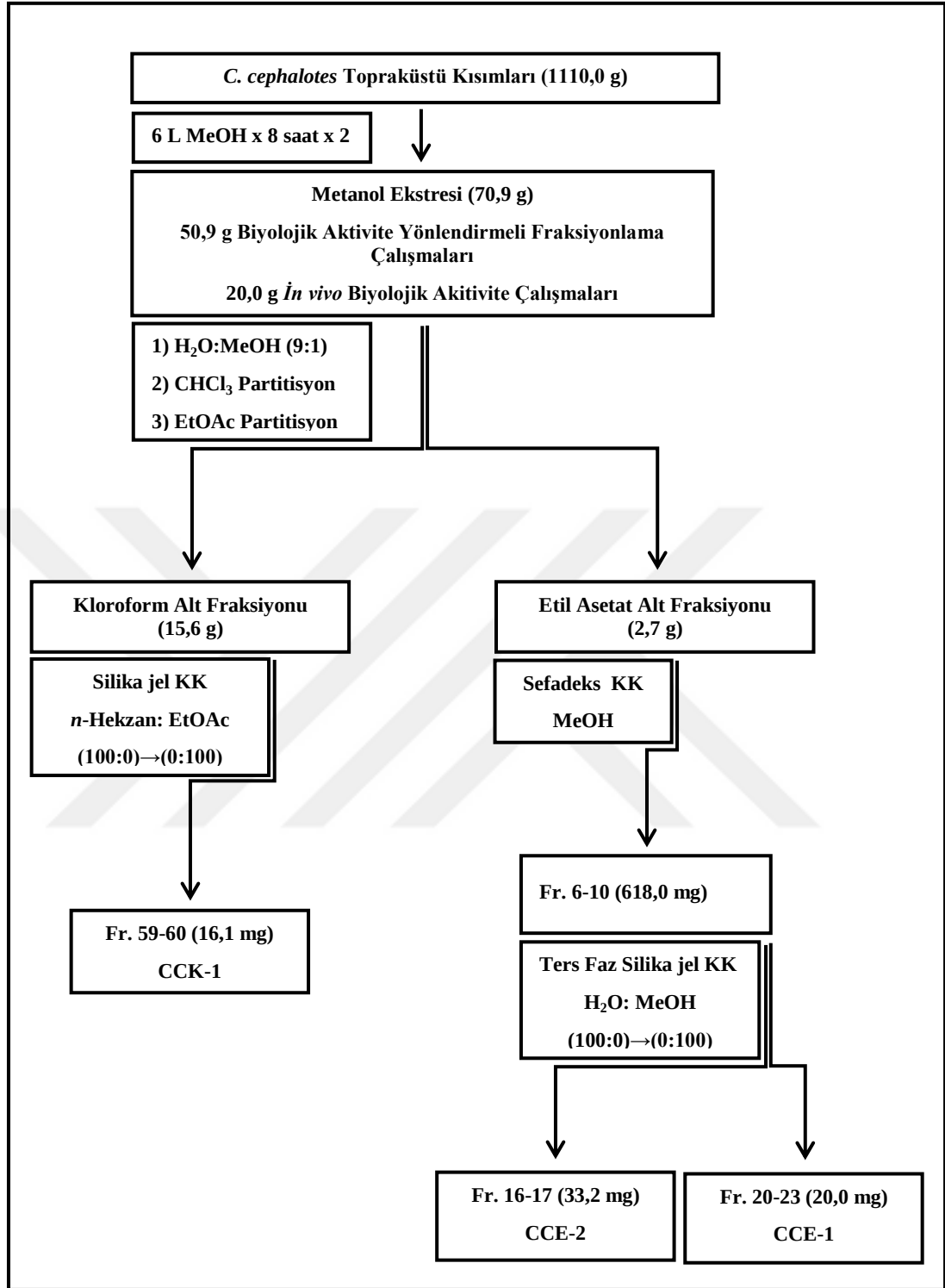
2.3.3.5.1. *C. cephalotes* Üzerinde Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları

2.3.3.5.1.1 *C. cephalotes*'in Etil Asetat Alt Fraksiyonunda Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları

BAYF'da belirtildiği şekilde sefadeks ve ters faz kolon kromatografisi uygulanan etil asetat alt fraksiyonunun ters falan kolon kromatografisi sonrasında elde edilen 16-17. fraksiyonları CCE-RP Fr₁₆₋₁₇ şeklinde kodlanarak lipaz inhibitör etkisi değerlendirilmiş. İTK'de tek leke verdiği tespit edilen 16-17. fraksiyonların çözücüsü yoğunlaştırılmış ve CCE-2 (33,2 mg) şeklinde kodlanarak yapı aydınlatma çalışmaları için spektroskopik analizinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.

2.3.3.5.1.2 *C. cephalotes*'in Kloroform Alt Fraksiyonunda Gerçekleştirilen Diğer İzolasyon Çalışmaları

Kloroform alt fraksiyonu (15,6 g), silika jel (100 g, 0.04-0.063 mm) ile hazırlanmış kolon kromatografisine (5x20 cm) uygulanmıştır. Bu işlem için, 15,6 g kloroform alt fraksiyonu en az miktardaki kloroformda çözüldükten sonra 13 g silika jel (0.063-0.2 mm) ile karıştırılmış ve kloroform tamamen uzaklaşana kadar kurutulmuştur. Kuru haldeki numune kolona tatbik edilerek artan polaritedeki *n*-hekzan:etil asetat (100:0, 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 70:30, 50:50, 0:100) çözücü sistemleriyle gradient elüsyon gerçekleştirilmiştir. Başlangıçtaki fraksiyonlar 50 ml şeklinde toplanmış ve sonrasında 15 mL'lik tüplere geçilerek, 78 fraksiyon elde edilmiştir. Fraksiyonlar İTK ile etil *n*-hekzan:etil asetat (9:1, 8:2, 7:3) çözücü sistemlerinde kontrol edilmiştir. İTK'da tek leke verdiği tespit edilen 59-60 numaralı fraksiyonların çözücüsü yoğunlaştırılmış ve CCK-1 (16,1 mg) şeklinde kodlanarak yapı aydınlatma çalışmaları için spektroskopik analizinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir. CCK-1 şeklinde kodlanan 59-60. fraksiyonlar ayrıca lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiştir.



Şekil 2.8. *C. cephalotes* izolasyon şeması

2.3.3.6. İzole Edilen Bileşiklerin Yapılarının Tayini

Bileşiklerin yapılarının tayinleri Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR) ve Kütle Spektroskopisi (KS) ile gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin dötero metanol (CD₃OD) ve dötero kloroform (CDCl₃) ile hazırlanan çözeltilerinin NMR spektrumları, Karadeniz Teknik Üniversitesi Merkez Labortuarı'nda bulunan Bruker Ascend 400 MHz NMR spektrometresi ile alınmıştır. Metanol ve kloroform içerisinde çözülen bileşiklerin kütle spektrumları, Waters Alliance ve Micromass ZQ cihazı ile Recep Tayip Erdoğan Üniversitesi'nde alınmıştır.

2.4. Çalışılan *Cirsium* Türlerinin YPSK Analizi

Çalışılan *Cirsium* türlerinin YPSK analizi, tarafımızdan validasyonu gerçekleştirilen yeni yöntemle gerçekleştirilmiştir (Korkmaz ve ark., 2019).

2.4.1 Standart ve Örnek Çözeltilerinin Hazırlanması

Geliştirilen YPSK yönteminde standart olarak literatür taramalarında *Cirsium* türlerinde olduğu tespit edilen ve etkilerinden dolayı obezite tedavisinde kullanıma potansiyeli olan benzoik asit, *p*-OH benzoik asit, kersetin, kumarik asit, sinapik asit, siringaldehit ve vanillik asit bileşikleri kullanılmıştır. Standartlara ait stok çözeltiler (100 µg/mL) hazırlandıktan sonra YPSK analizi öncesi 0,45 µm boyutundaki membran filtrelerden süzölmüştür. Kantitatif analizlerde kullanılmak üzere kalibrasyon eğrisi elde edilmesi için, standartlara ait stok çözeltisi, beş farklı konsantrasyon aralığında (5, 10, 25, 50, 100 µg/mL) seyreltilmiştir. Çalışılan *Cirsium* türlerine ait metanol ekstraktları 10 mg/mL ekstre, konsantrasyonunda olacak şekilde metanol (HPLC-Grade) ile hazırlanmış ve benzer şekilde YPSK analizi öncesi 0,45 µm boyutundaki membran filtrelerden süzölmüştür

2.4.2. YPSK Analizi Şartları

Zorbax marka C18 (150 x 4.6 mm, 5 µm) kolonunun kullanıldığı YPSK analizinde Shimadzu Corporation, LC 20AT, Kyoto, Japonya YPSK cihazından yararlanılmıştır. YPSK yöntemine ait akış hızı 1,5 ml/dk ve enjeksiyon hacmi 20 µL'dir. Analiz için, A çözeltisi: %100 metanol ve B çözeltisi: %2 asetik asit:su (pH 2,65) çözücü sistemleri kullanılmış olup, 0-3. dakika 20:80 (A çözeltisi:B çözeltisi); 4-6. dakika 30:70 (A çözeltisi:B çözeltisi); 7-9. dakika 40:60 (A çözeltisi:B çözeltisi); 10-11. dakika 45:55 (A çözeltisi:B çözeltisi); 12-13. dakika 50:50 (A çözeltisi:B çözeltisi); 14-15. dakika 60:40 (A çözeltisi:B çözeltisi) ve 16. dakika 80:20 (A çözeltisi:B çözeltisi) oranlarındaki gradient elüsyon programı uygulanmıştır. DAD dedektörü ile 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270 ve 280 nmde ölçümler gerçekleştirilmiştir.

2.4.3. YPSK Yönteminin Validasyonu

ICH klavuzu doğrultusunda geliştirilen YPSK yönteminin validasyonu doğruluk, doğrusalılık, kesinlik, LOD, LOQ ve seçicilik parametreleri üzerinden gerçekleştirilmiştir.

Doğruluğun değerlendirilmesi için standart karışımlara ait 5, 25 ve 50 µg/mL konsantrasyondaki çözeltiler yukarıda belirtilen YPSK analizi şartlarında üç kez sürüklenmiş ve bu sürüklenmeler sonrasında hesaplanan miktarlar, beklenen miktarlarla karşılaştırılarak belirlenen % Geri dönüşüm değerleri ortalama standart ± sapma olarak ifade edilmiştir. Doğrusallığın değerlendirilmesi için 5, 10, 25, 50 ve 100 µg/mL standart karışımı çözeltileri için yukarıda belirtilen YPSK analizi şartları beş kez uygulanmış ve pik alanları ve ilgili konsantrasyonlardan hareketle elde edilen kalibrasyon grafiğinin regresyon denklemi ve denkleme ait korelasyon katsayısı belirlenmiştir. Algılama ve nicelik sınırlarının (LOD ve LOQ) belirlenmesi için ise sinyal/gürültü yöntemi kullanılmıştır. Kesinliğin değerlendirilmesi için gün içi ve günler arası gerçekleştirilen YPSK analizlerinin, alıkonma sürelerinin ve % pik

alanlarının bağıl standart sapma değerleri belirlenmiştir. Pikler arasındaki ayırma gücü değerlendirilerek de yöntemin seçiciliği belirlenmiştir.

2.5. *In vitro* Sitotoksik Aktivite Tayini

2.5.1 Hücre Kültürü

3T3-L1 preadiposit hücreleri (ATCC, CL-173; USA) kültür besiyeri içerisinde (DMEM, %10 FBS, 100 U/ml penisilin, 100 µg/mL streptomisin) 37 °C’de, %5 CO₂’li ortamda 2 gün inkübe edilmiştir. Hücrelerin tutunma oranı %80’e ulaştığında besiyeri adipositlere farklılaştırma besiyeri (DMEM, %10 FBS, 0.5 mM 3-izobütil-1-metil ksantin, 0,5 µM deksametazon, 1,7 µM insülin) ile değiştirilmiş, 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. Sonrasında besiyeri, farklılaşma sonrası besiyeri ile (DMEM, %10 FBS, 1,7 µM insülin) değiştirilerek, 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. Hücrelerdeki değişim mikroskopik olarak değerlendirildikten sonra hücreler %10 FBS içeren DMEM besiyerinde, 2 gün inkübasyona bırakılmıştır (Du ve ark., 2016; Inafuku ve ark., 2013; Kim ve ark., 2016; Lee ve ark., 2016 ve Schmida ve ark., 2005).

2.5.2. Sitotoksik Aktivite

Türlerin metanol ekstraktlarının (50 µg/ ml, 100 µg/ ml) uygulandığı besiyerleri, farklılaşmış adiposit hücrelerinde 72 saat 37 °C’de inkübasyona bırakılmış, sitotoksik aktivite MTT yöntemi ile değerlendirilmiştir (Du ve ark., 2016; Inafuku ve ark., 2013; Kim ve ark., 2016; Lee ve ark., 2016 ve Schmida ve ark., 2005). MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür) bir tetrazolyum tuzu olup, canlı hücrelerin mitokondrilerinde süksinat-dehidrogenaz enzimine spesifiktir. Bu yöntemde, canlı hücrelerin mitokondrisinde yer alan süksinat-dehidrogenaz enzimi, MTT boyasının tetrazolium halkasını parçalayarak suda çözünmeyen formazan tuzları oluşturması prensibine dayanır. MTT yönteminin uygulaması için, hücreler 4

saat MTT boyasında bırakılmış ve her bir kuyucuğun 570 nm’de absorbanısı ölçülmüştür. İnhibitör içermeyen besiyerlerine ait kontrol grubunun canlılık oranı %100 kabul edilerek, ektstrelerin sitotoksik aktivitelerinin yüzde değerleri belirlenmiştir (Du ve ark., 2016; Inafuku ve ark., 2013; Kim ve ark., 2016 ve Schmida ve ark., 2005).



3. BULGULAR

3.1 *In vivo* Antiobezite Aktivite Çalışmalarına Yönelik Bulgular

3.1.1. Ağırlık, Ağırlık Farkı ve % Ağırlık Değişimine Ait Bulgular

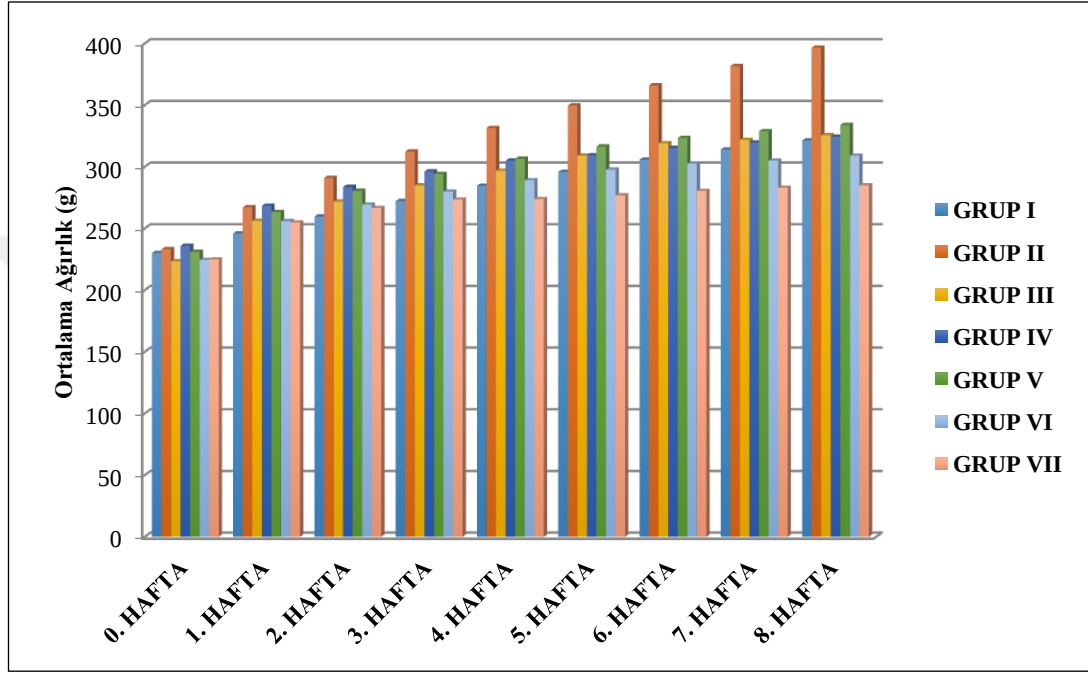
8 haftalık deney süresi sonunda elde edilen verilere göre Grup II (negatif kontrol grubu) ile karşılaştırıldığında, ağırlık ortalamasındaki en büyük azalma pozitif kontrol grubu olan Grup VII’de gözlenirken, Grup III’ün, Grup IV’ün, Grup V’in ve Grup VI’nın da ağırlık ortalamalarının azaldığı gözlenmiştir.

Çizelge 3.1. Grupların haftalara göre ağırlık ortalamaları

	Ortalama ağırlık (g) ± SS						
	GRUP I	GRUP II	GRUP III	GRUP IV	GRUP V	GRUP VI	GRUP VII
0. HAFTA	230,1 ± 10,30	233,2 ± 15,03	223,3 ± 9,26	235,9 ± 7,21	231,0 ± 15,38	224,4 ± 9,12	224,8 ± 6,24
1. HAFTA	245,9 ± 10,72	267,1 ± 16,67	256,1 ± 9,83	268,3 ± 6,21	263,2 ± 14,52	255,9 ± 10,69	254,8 ± 8,29
2. HAFTA	259,6 ± 10,73	291,0 ± 17,21	271,7 ± 9,55	283,6 ± 5,22	280,5 ± 13,56	269,2 ± 10,01	266,5 ± 8,62
3. HAFTA	272,1 ± 10,41	312,3 ± 18,39	284,8 ± 9,47	296,2 ± 6,08	294,0 ± 14,13	279,8 ± 8,78	273,4 ± 8,78
4. HAFTA	284,5 ± 10,53	331,4 ± 19,69	296,7 ± 8,06	304,9 ± 7,70	306,4 ± 16,01	289,0 ± 7,83	273,7 ± 10,38
5. HAFTA	295,9 ± 10,77	349,6 ± 19,70	309,0 ± 8,56	309,2 ± 5,17	316,4 ± 18,10	297,7 ± 7,02	276,8 ± 10,84
6. HAFTA	305,7 ± 10,84	365,9 ± 19,76	319,0 ± 10,54	315,2 ± 7,32	323,3 ± 19,68	302,4 ± 6,10	280,5 ± 11,01
7. HAFTA	314,0 ± 10,68	381,7 ± 18,81	321,8 ± 10,09	319,7 ± 7,66	328,7 ± 19,93	304,9 ± 6,30	282,9 ± 11,64
8. HAFTA	321,3 ± 10,69	396,4 ± 19,14	325,6 ± 9,43	324,4 ± 9,77	333,8 ± 20,55	308,9 ± 6,38	284,9 ± 12,10

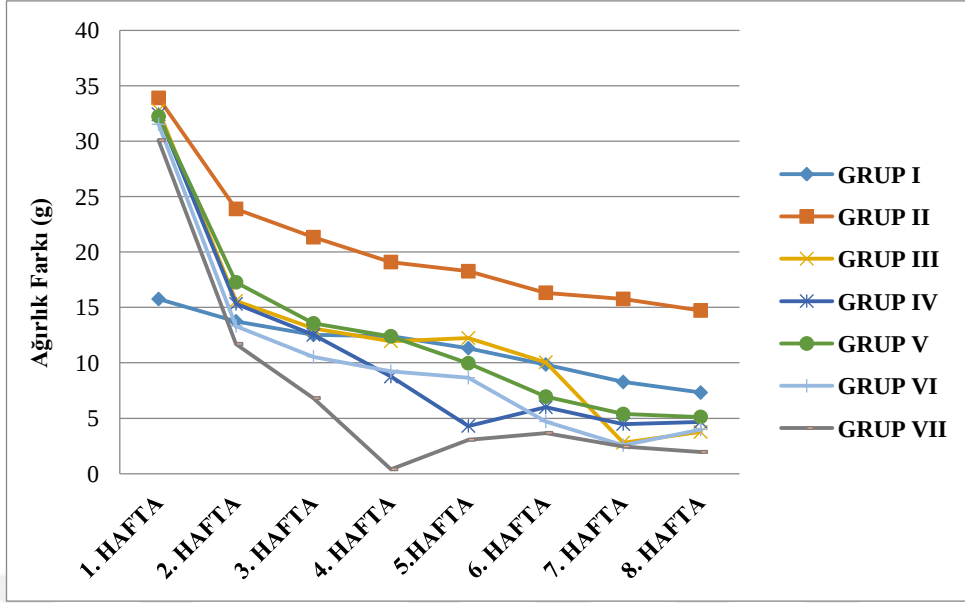
Grup I: Standart Yem + Serum fizyolojik (SF₁) 0,5 mL (Kontrol grubu); Grup II: Yüksek Yağlı Diyet Yemi + Serum fizyolojik (SF₂) 0,5 Ml (Negatif Kontrol Grubu); Grup III: Yüksek Yağlı Diyet Yemi + *C. balikesirens* metanol ekstresi (200 mg/kg); Grup IV: Yüksek Yağlı Diyet Yemi + *C. nerimaniae* metanol ekstresi (200 mg/kg); Grup V: Yüksek Yağlı Diyet Yemi + *C. sommieri* metanol ekstresi (200 mg/kg); Grup VI: Yüksek Yağlı Diyet Yemi + *C. cephalotes* metanol ekstresi (200 mg/kg); Grup VII: Yüksek Yağlı Diyet Yemi + Orlistat (5 mg/kg) (Pozitif Kontrol Grubu)

Ağırlık ortalaması verilerine göre 8 haftalık deney süresi sonunda Grup I (Kontrol Grubu)'in ortalama ağırlığın 321,3 g, Grup II (Obezite Grubu)'nin 396,4 g ve Grup VII (Pozitif Kontrol Grubu)'nin 284,9 g olduğu tespit edilmiştir. Türlerin metanol ekstralarının etkisinin incelendiği Grup III, Grup IV, Grup V ve Grup VI'nın ortalama ağırlıkları ise sırasıyla 325,6, 324,4, 333,8 ve 308,9 g olarak belirlenmiştir.



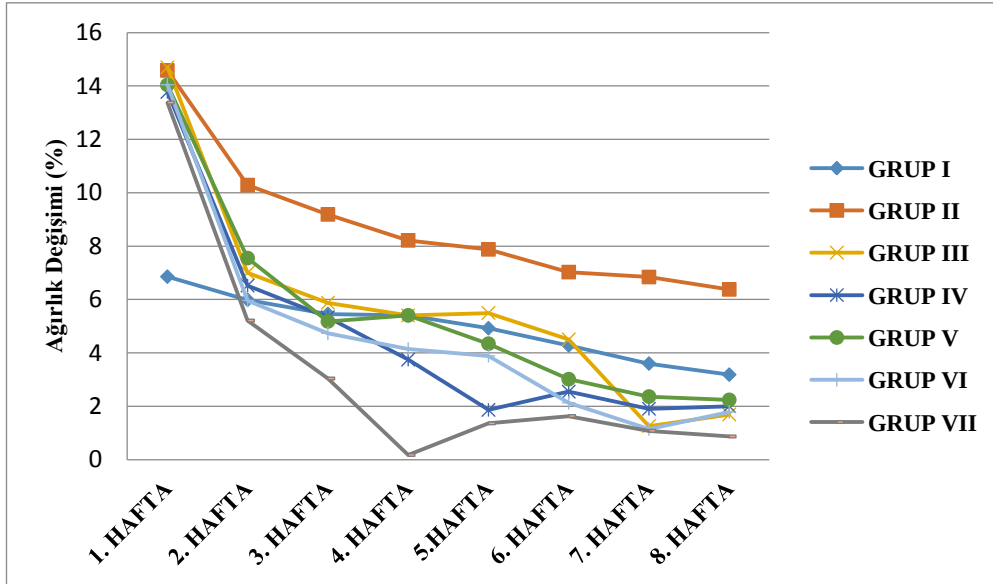
Şekil 3.1. Grupların haftalara göre ağırlık ortalamalarının şematik gösterimi (Grup I: Standart Yem + Serum fizyolojik 0,5 mL; Grup II: Yüksek Yağlı Diyet Yemi + Serum fizyolojik 0,5 mL; Grup III: Yüksek Yağlı Diyet Yemi + *C. balikesirense* metanol ekstresi (200 mg/kg); Grup IV: Yüksek Yağlı Diyet Yemi + *C. nerimaniae* metanol ekstresi (200 mg/kg); Grup V: Yüksek Yağlı Diyet Yemi + *C. sommieri* metanol ekstresi (200 mg/kg); Grup VI: Yüksek Yağlı Diyet Yemi + *C. cephalotes* metanol ekstresi (200 mg/kg); Grup VII: Yüksek Yağlı Diyet Yemi + Orlistat (5 mg/kg))

Ağırlık farkı verilerine göre Grup I'in aldığı toplam ağırlık miktarının ortalaması 91,16 g, Grup II'nin 163,25 g, Grup VII'nin 60,11 olduğu tespit edilmiştir. Türlerin topraküstü kısımlarının metanol ekstralarının etkisinin incelendiği Grup III, Grup IV, Grup V ve Grup VI için bu değerlerin sırasıyla 102,24, 88,48, 102,84 ve 84,51 g olduğu belirlenmiştir.



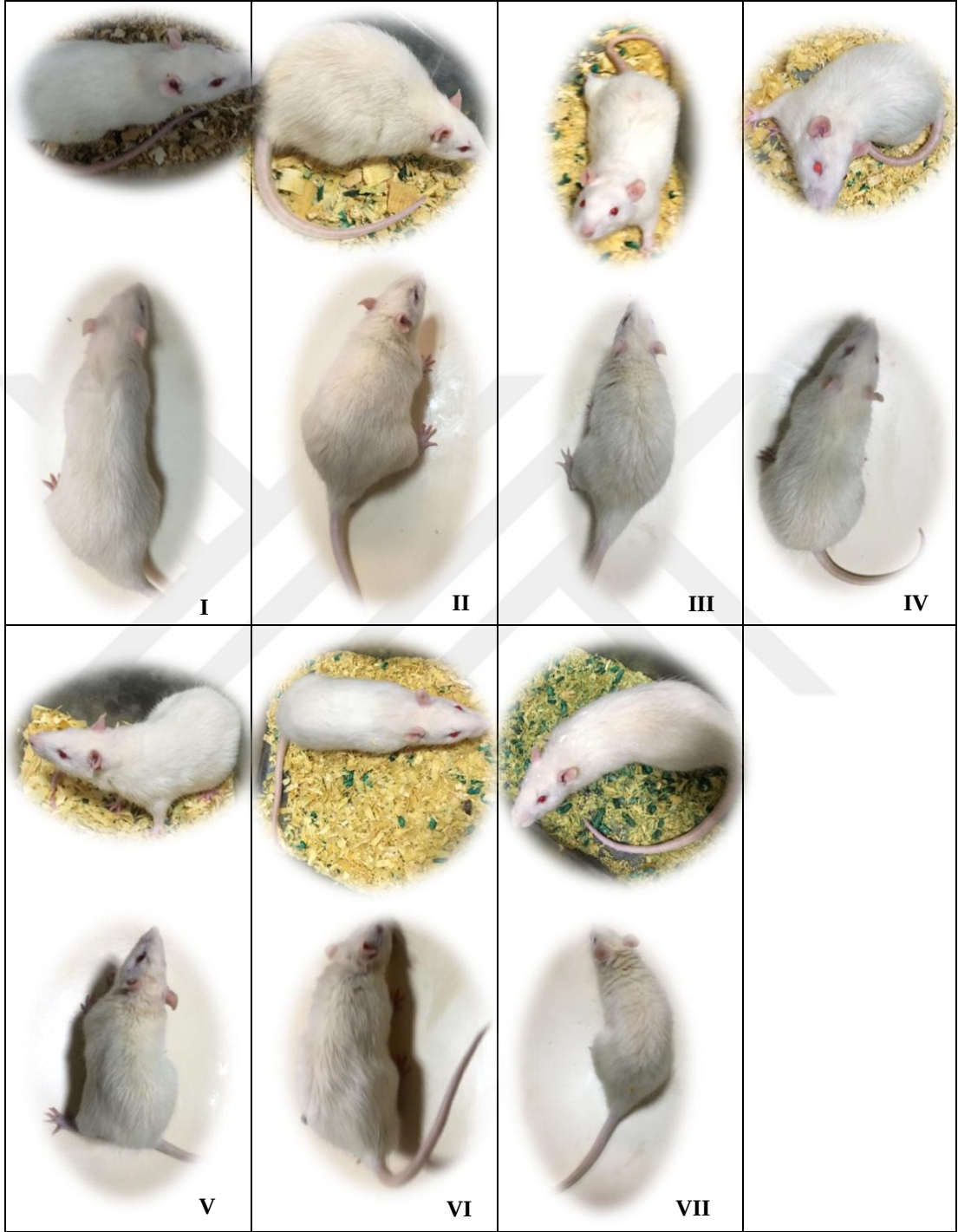
Şekil 3.2. Grupların haftalara göre aldıkları ağırlık miktarının şematik gösterimi

% Ağırlık değişimi verileri haftalara göre değerlendirildiğinde Grup VII için en düşük 0,17 olan % ağırlık değişimi 4. haftada, Grup III, Grup IV ve Grup VI için bu değerler sırasıyla %1,26, % 1,90 ve 1,15 oranlarında 7. haftada, Grup V için % 2,24 olan bu değer ise 8. haftada gözlemlenmiştir.



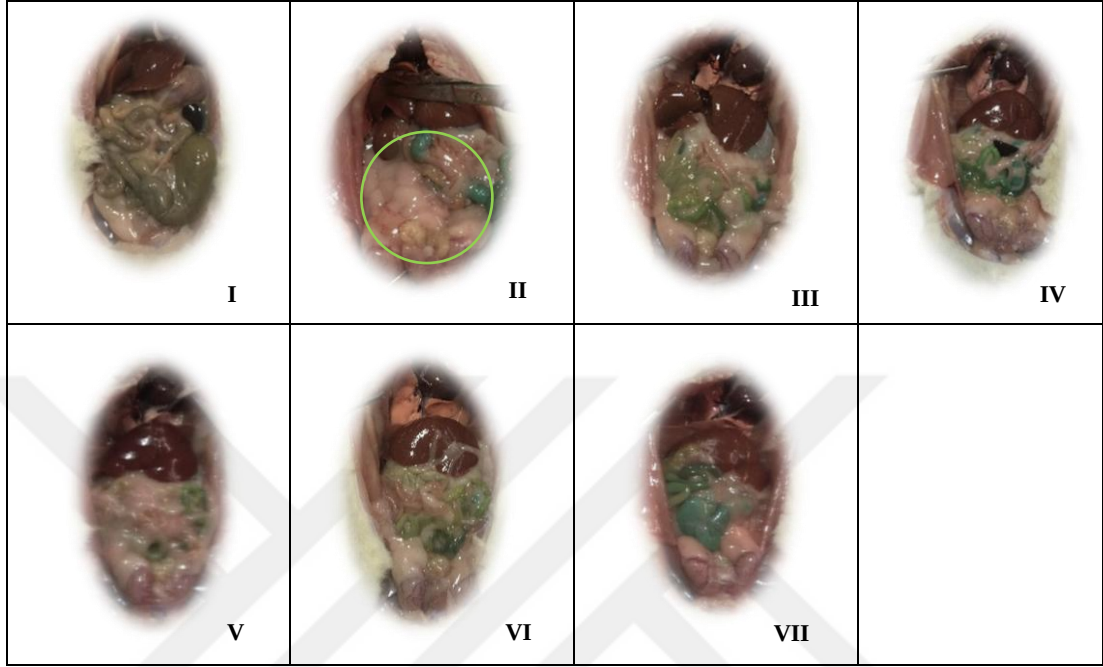
Şekil 3.3. Grupların haftalara göre % ağırlık değişiminin şematik gösterimi

8 haftalık deney süresi sonunda gruplar görsel olarak değerlendirildiğinde de obezite grubuna göre diğer gruplara ait sıçanların daha zayıf olduğu değerlendirildi.



Şekil 3.4. 8 haftalık deney süresi sonunda gruplara ait genel görüntü

Benzer şekilde deney süresi sonrasında karın içi yağ dokusunun genel görüntüsü değerlendirildiğinde obezite grubunun diğer gruplarla kıyaslandığında daha yüksek oranda karın içi yağı içerdiği gözlemlendi.



Şekil 3.5. 8 haftalık deney süresi sonunda gruplara ait karın içi yağ dokusu genel görüntüsü

Veriler ışığında kontrol grubu, negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında pozitif kontrol grubundan daha düşük oranda olmakla beraber türlerin metanol ekstraktlarına ait grupların vücut ağırlığını azalttığı tespit edilmiştir.

3.1.2. Biyokimyasal Analiz Çalışmalarına Yönelik Bulgular

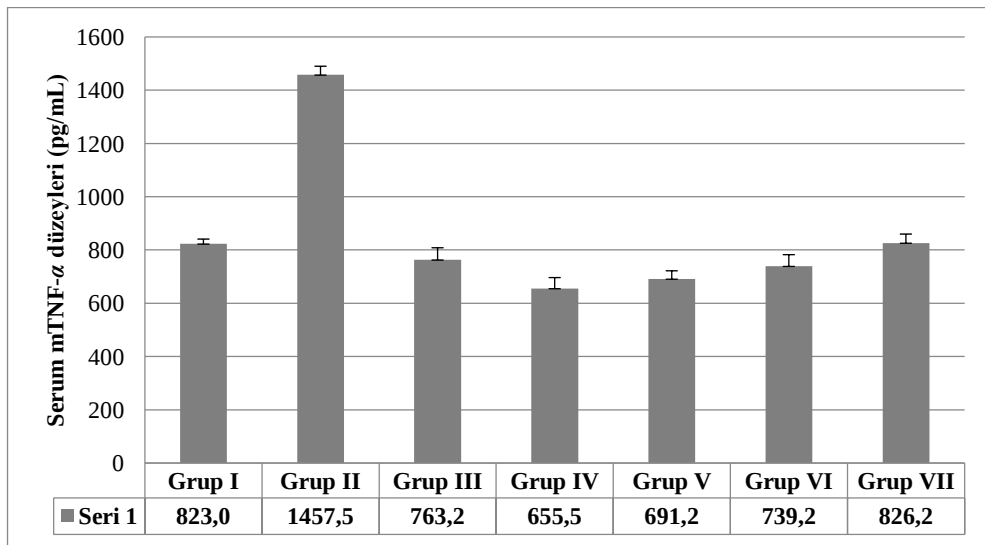
Obeziteyle birlikte gelişebilen dislipideminin değerlendirilmesi amacıyla biyokimyasal parametrelerden sıçan serum HDL, LDL ve trigliserit düzeyleri belirlenmiştir. Ayrıca yağ dokusundan salgılan obeziteyle ilişkili adiponektin ve leptin düzeyleri de değerlendirilmiştir. Negatif kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Grup II) türlerin metanol ekstresine ve pozitif kontrole ait gruplarda serum LDL,

trigliserit, leptin seviyeleri azalırken, HDL ve adiponektin düzeylerinde artış gözlenmiştir.

Çizelge 3.2. Gruplara ait bazı biyokimyasal parametrelerin değerleri

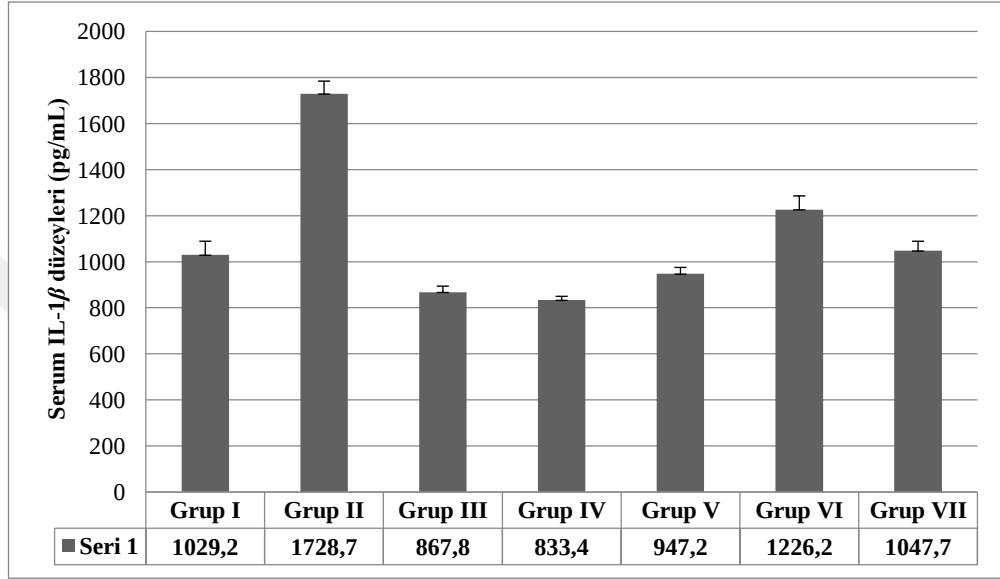
	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Trigliserit (mg/dL)	Adiponektin (ng/mL)	Leptin (ng/dL)
Grup I	90.49 ± 3.21	47.65 ± 1.56	73.87 ± 5.12	9.07 ± 1.17	1.70 ± 0.09
Grup II	64.26 ± 4.82	55.60 ± 3.17	124.86 ± 6.56	5.11 ± 0.98	4.09 ± 0.21
Grup III	76.92 ± 5.36	40.31 ± 3.19	94.05 ± 7.19	6.94 ± 1.99	2.32 ± 0.82
Grup IV	69.32 ± 3.92	29.72 ± 4.27	89.72 ± 6.18	9.14 ± 0.86	2.74 ± 0.91
Grup V	68.41 ± 2.78	34.79 ± 3.37	97.71 ± 3.89	5.43 ± 0.38	3.24 ± 0.45
Grup VI	94.97 ± 4.18	49.20 ± 2.82	104.50 ± 6.48	9.76 ± 1.86	2.59 ± 0.69
Grup VII	86.59 ± 2.83	44.03 ± 4.27	82.88 ± 4.69	9.34 ± 2.01	1.93 ± 0.71

Obeziteyle ilişkili kronik enflamasyonun değerlendirilmesi amacıyla sıçanların serum TNF- α ve IL-1 β düzeyleri belirlenmiştir. Ticari kitlerle belirlenen, sıçanların serum TNF- α düzeyleri değerlendirildiğinde, *C. nerimaniae* metanol ekstresi uygulanan (Grup IV) ve *C. sommieri* metanol ekstresi uygulanan (Grup V) gruplarda daha belirgin olmakla birlikte tüm gruplardaki serum TNF- α düzeyinin negatif kontrol grubuyla (Grup II) kıyaslandığında daha düşük oranda olduğu tespit edilmiştir.



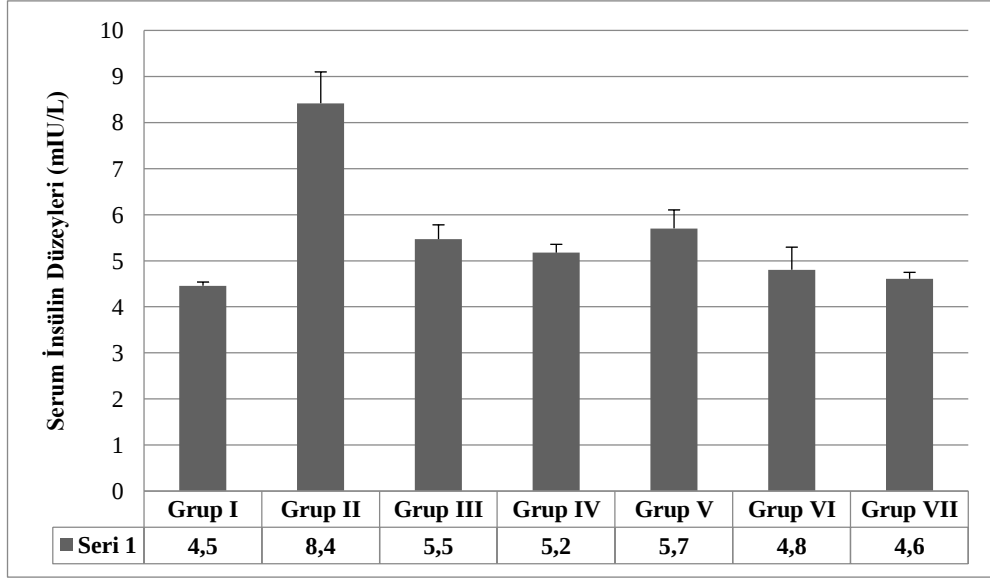
Şekil 3.6. Sıçan serum TNF- α düzeylerinin şematik gösterimi

Ticari kitlerle belirlenen, sıçanların serum IL-1 β düzeyleri incelendiğinde, *C. balikesirens* metanol ekstresi uygulanan (Grup III) ve *C. nerimaniae* metanol ekstresi uygulanan (Grup IV) gruplarda daha belirgin olmakla birlikte tüm gruplardaki serum IL-1 β düzeyinin negatif kontrol grubuyla (Grup II) kıyaslandığında daha düşük oranda olduğu değerlendirilmiştir.



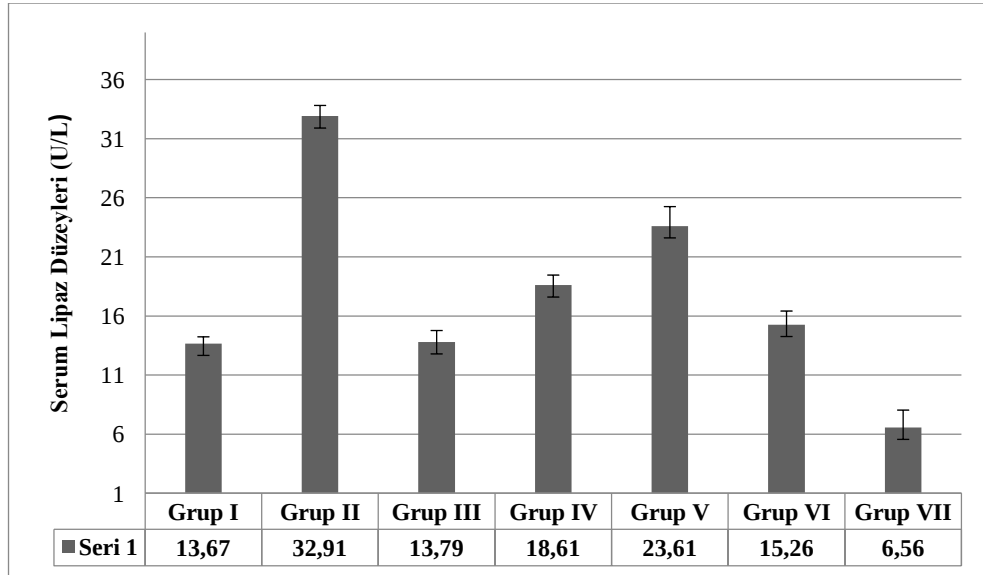
Şekil 3.7. Sıçan serum IL-1 β düzeylerinin şematik gösterimi

Obeziteyle ilişkili insülin direncinin belirlenmesi amacıyla sıçanların kan glukoz düzeyleri ve serum insülin düzeyleri değerlendirilmiştir. Glukoz ölçüm cihazıyla belirlenen kan glukoz seviyelerinde Grup I (158,6 mg/dl $\pm$ 4,03); Grup II (158,5 mg/dl $\pm$ 8,41); Grup III (158,3 mg/dl $\pm$ 8,06); Grup IV (158,0 mg/dl $\pm$ 8,32); Grup V (159,1 mg/dl $\pm$ 8,68); Grup VI (157,4 mg/dl $\pm$ 6,92) ve Grup VII (157,0 mg/dl $\pm$ 6,94) arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.



Şekil 3.8. Sıçan serum insülin düzeylerinin şematik gösterimi

Ticari kitlerle belirlenen, sıçanların serum insülin düzeyleri değerlendirildiğinde, orlistat uygulanan (Grup VII) ve *C. cephalotes* metanol ekstresi uygulanan (Grup VI) gruplarda daha belirgin olmakla birlikte tüm gruplardaki serum insülin düzeyinin negatif kontrol grubuyla (Grup II) kıyaslandığında daha düşük seviyede olduğu değerlendirilmiştir.



Şekil 3.9. Sıçan serum lipaz düzeyleri

Ticari kitlerle belirlenen, sıçanların serum lipaz düzeyleri karşılaştırıldığında, orlistat uygulaması (Grup VII) gerçekleştirilen grupta çok daha belirgin olmakla birlikte türlerin metanol ekstresinin uygulandığı gruplarda serum lipaz enzim düzeyinin negatif kontrol grubuyla (Grup II) kıyaslandığında daha düşük oranda olduğu değerlendirilmiştir.

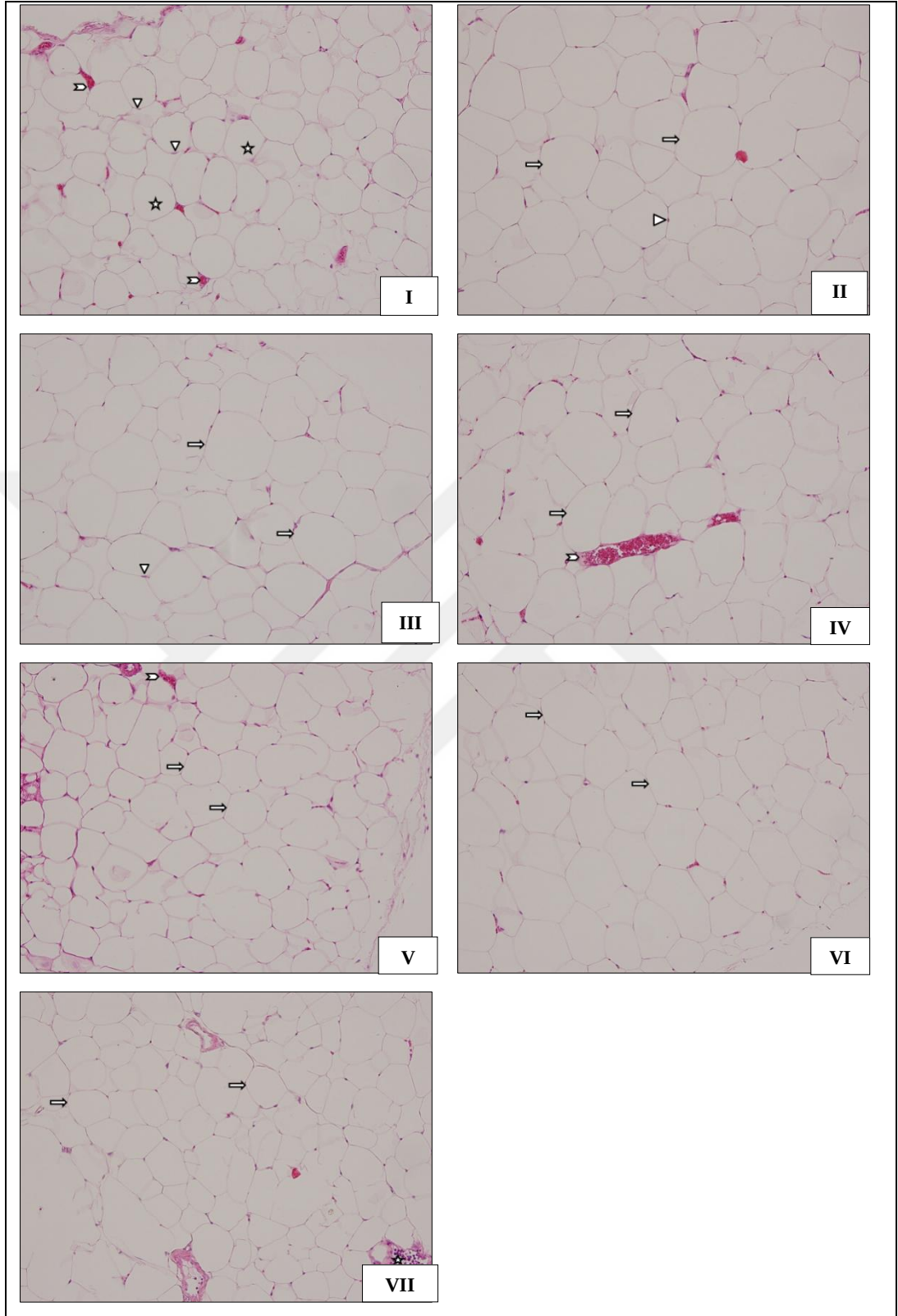
3.1.3. Histopatolojik Analiz Çalışmalarına Yönelik Bulgular

Sıçanların yağ dokusu üzerindeki histopatolojik analiz çalışmaları ile adipositlerin boyutsal olarak değerlendirilmiş ve obeziteyle ilişkili adiposit çapı değerleri belirlenmiştir.

Çizelge 3.3. Gruplara ait adiposit çapı değerleri

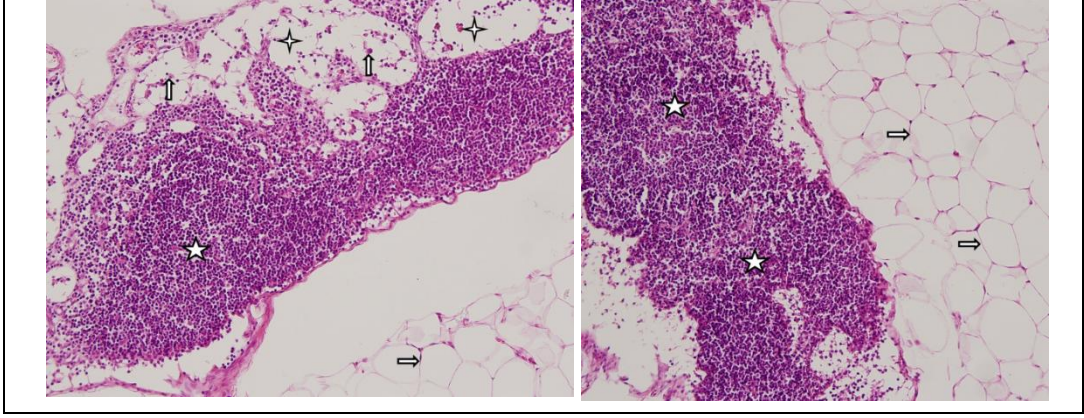
Adiposit Çapı (μm) $\pm$ SS						
Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V	Grup VI	Grup VII
22.88 $\pm$ 1.04	29.37 $\pm$ 0.89	26.49 $\pm$ 0.68	25.99 $\pm$ 0.68	25.83 $\pm$ 0.77	26.03 $\pm$ 0.95	26.61 $\pm$ 0.88

Negatif kontrol grubu (GrupII) ile karşılaştırıldığında ekstrele ve pozitif kontrole ait gruplarda adiposit çapı değerleri azalmıştır. Mikroskopik görüntülerde de Grup II'ye ait adiposit çaplarında artış gözlenmiş, diğer gruplar da ise kontrol grubuyla kıyaslandığında adiposit çaplarında artış gözlenirken, Grup II ile karşılaştırıldığında adiposit çapı daha az olan adiposit hücreleri çoğunluktadır.

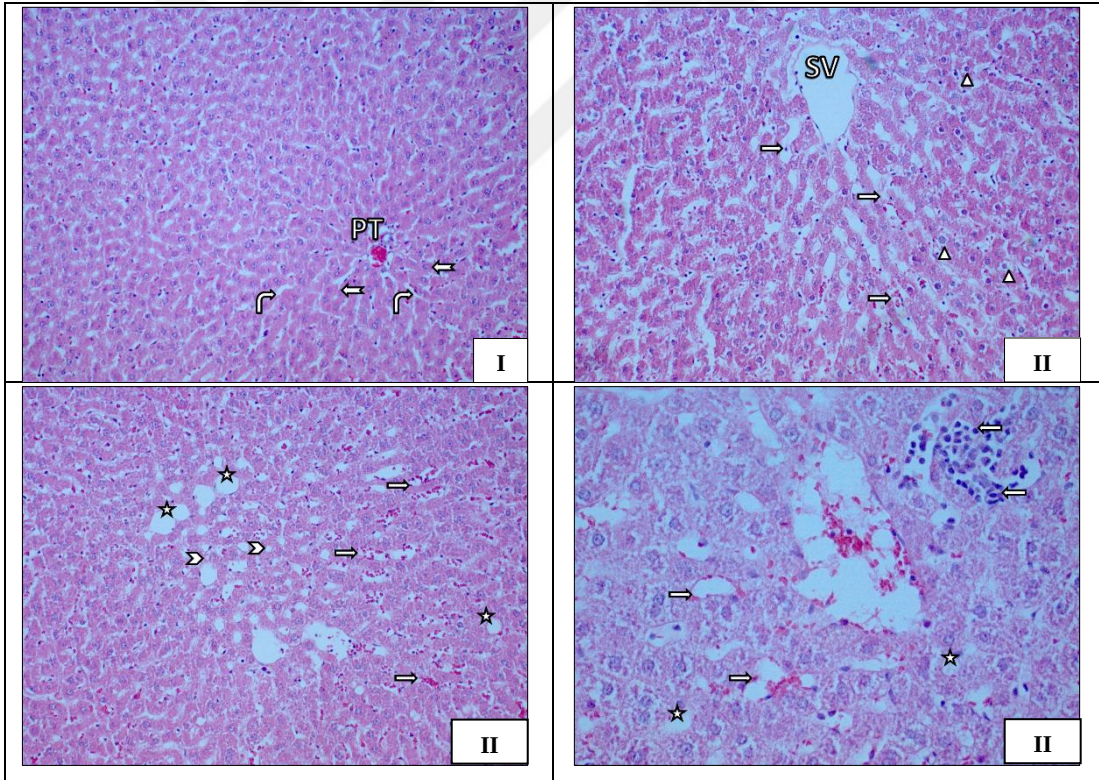


Şekil 3.10. Grupların adipositlerinin histopatolojik incelemesi (Adiposit (yıldız), adiposit nukleusu (ok başı), kan damarı (köşeli çift ayıraç); H&E, X400)

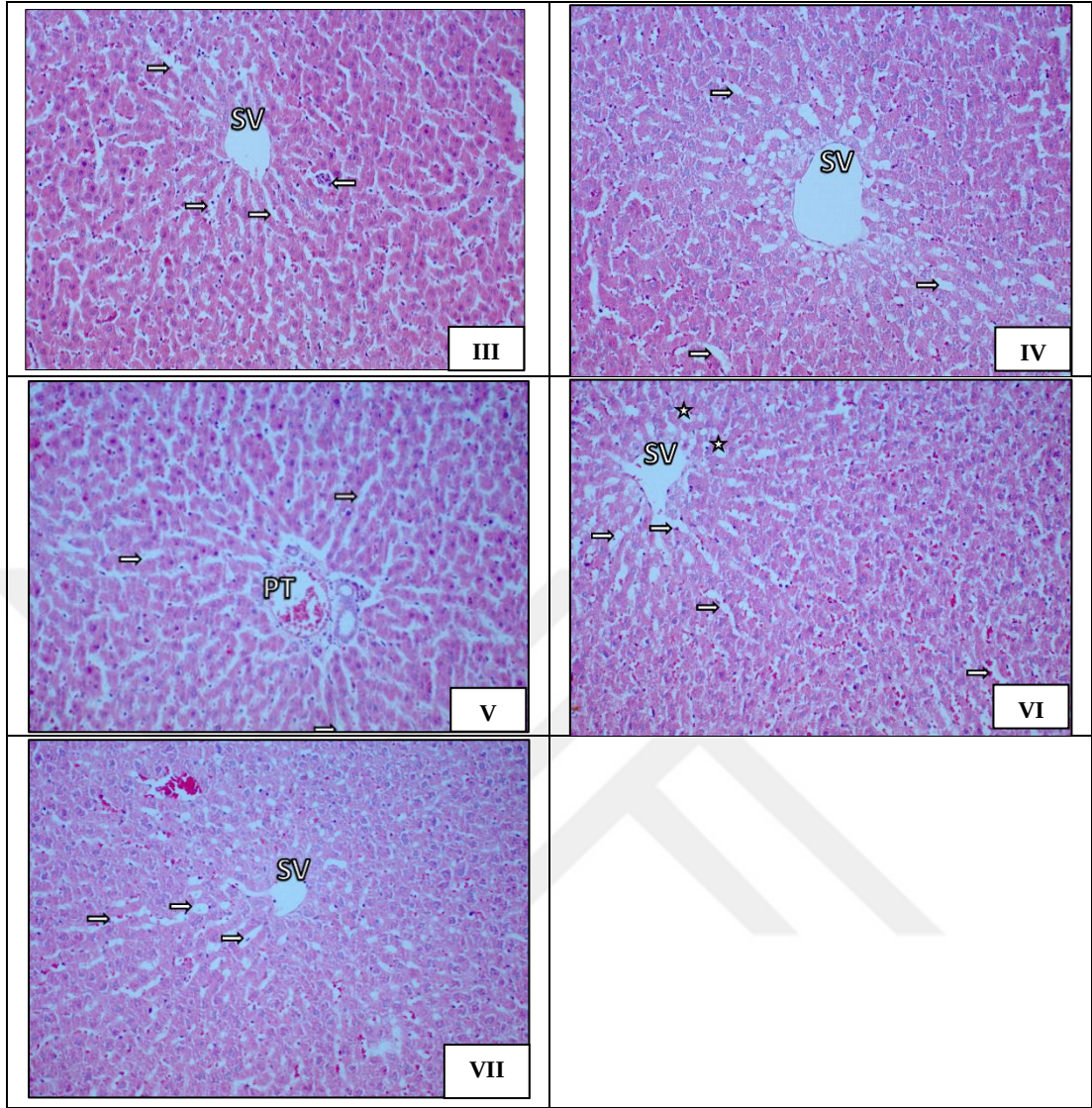
Ek olarak diğer gruplardan farklı olarak Grup II'de mononükleer hücre infiltrasyonu ve dejenere adiposit doku patolojik bulgularına rastlanmıştır.



Şekil 3.11. Grup II adipositlerinin histopatolojik incelemesi (Adiposit (sağ ok), mononükleer hücre infiltrasyonu (yıldız), dejenere adiposit doku (dört-nokta yıldız), Mast hücreleri (yukarı ok); H&E, X200)



Şekil 3.12. Grupların karaciğer dokularının histopatolojik incelemesi, (Hepatosit (çentikli sol ok), sinüzoid (sola bükülü ok), portal triad (PT), Hepatosellüler balonlaşma (ok başı), sinüzoidal dilatasyon (sağ ok), santral ven (SV), makroveziküler steatozis/makroveziküler lipid damlacıkları (yıldız), mikroveziküler lipid dejenerasyonu (köşeli çift ayıraç); makroveziküler steatozis/makroveziküler lipid damlacıkları (yıldız), mononükleer hücre infiltrasyonu (sol ok); H&E, X100.



Şekil 3.12. Devamı. Grupların karaciğer dokularının histopatolojik incelemesi, (Hepatosit (çentikli sol ok), sinüzoid (sola bükülü ok), portal triad (PT), Hepatosellüler balonlaşma (ok başı), sinüzoidal dilatasyon (sağ ok), santral ven (SV), makroveziküler steatozis/makroveziküler lipid damlacıkları (yıldız), mikroveziküler lipid dejenerasyonu (köşeli çift ayıraç); makroveziküler steatozis/makroveziküler lipid damlacıkları (yıldız), mononükleer hücre infiltrasyonu (sol ok); H&E, X100.

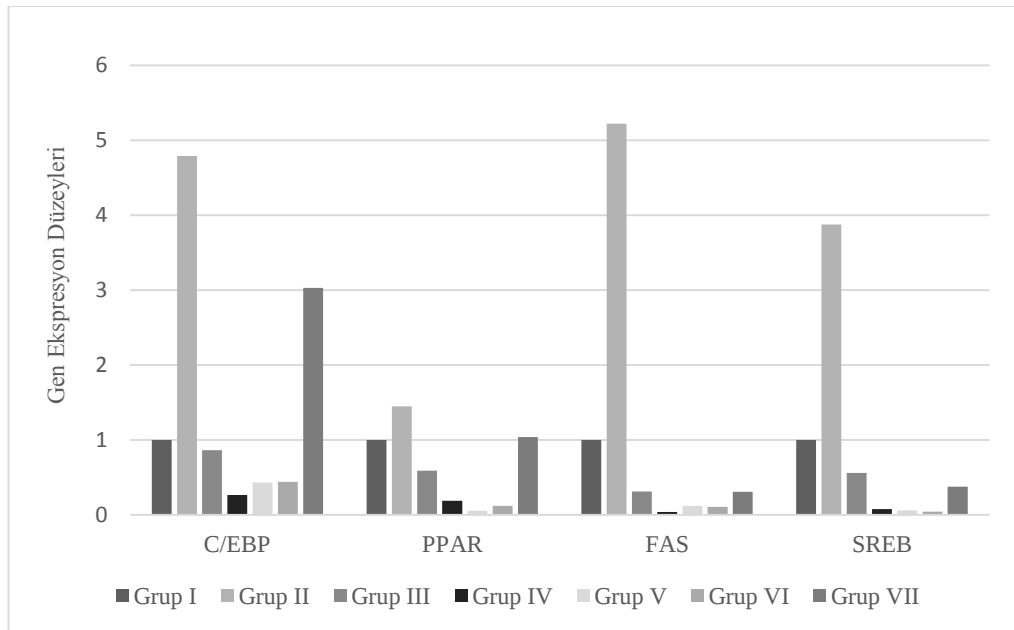
Grupların karaciğer dokusu histopatolojik incelemelerinde, negatif kontrol grubu olan Grup II'de, sinüzoidal dilatasyon ve hemoraji, makroveziküler steatozis ve makroveziküler lipid damlacıkları, hepatosellüler balonlaşma, mononükleer hücre infiltrasyonu ve mikroveziküler lipid dejenerasyonu bulgularına; Grup VI'da, sinüzoidal dilatasyon ve hemoraji, makroveziküler steatozis ve makroveziküler lipid damlacıkları bulgularına; Grup III, IV, V ve pozitif kontrol grubu Grup VII'de sinüzoidal dilatasyon bulgusuna rastlanmıştır.

3.1.4. İstatistiksel Analiz Çalışmalarına Yönelik Bulgular

Grupların ağırlık verileri, biyokimyasal parametreleri ve adiposit çapı değerlerinin istatistiksel analizlerden Kolmogorov-Smirnov Testi ile yapılan grupların normal dağılıma gösterdikleri tespit edilmiştir. Kruskal-Wallis testi ile yapılan analizlerde ise p değeri $\leq 0,01$ olarak belirlenmiş ve gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlılık olduğu tespit edilmiştir. İkili grup karşılaştırma için ise Mann Whitney-U testi kullanılmış, kontrol, negatif kontrol ve pozitif kontrol gruplarıyla diğer grupların ikili karşılaştırılmalarında p değeri $\leq 0,05$ olarak belirlenmiş ve ikili grup karşılaştırılmalarında istatistiksel açıdan anlamlılık olduğu tespit edilmiştir.

3.1.5. PCR Çalışmalarına Yönelik Bulgular

Türlerin metanol ekstralarının uygulandığı sıçanların yağ dokularında, qRT-PCR yöntemiyle belirlenen PPAR- γ , C/EBP- α , SREBP-1c ve FAS gen ekspresyonları üzerindeki ekstraların etkileri aşağıdaki şekilde ifade edilmiştir.



Şekil 3.13. Grupların yağ dokusu gen ekspresyon düzeyleri

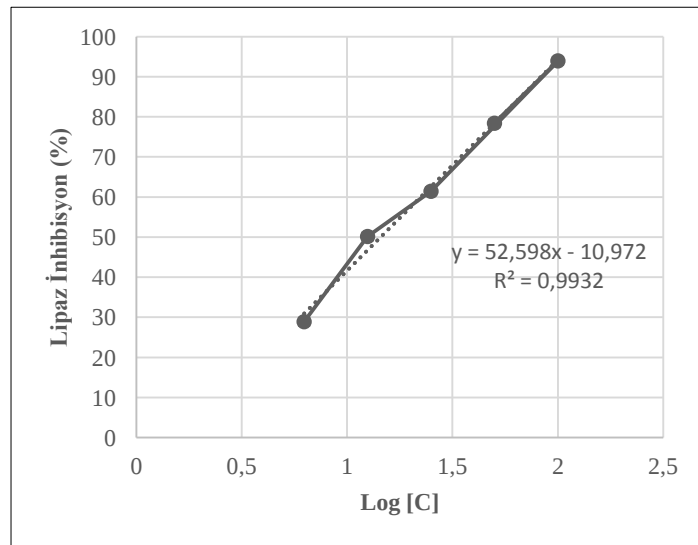
Neagatif kontrol grubuyla (Grup II) karşılaştırıldığında türlerin metanol ekstralarının uygulandığı gruplarda yağ dokusu PPAR- γ , C/EBP- α , SREBP-1c ve FAS gen ekspresyon düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir.

3.2. BAYF'na Yönelik Bulgular

3.2.1. Lipaz Enzim İnhibisyonu Değerlendirme Çalışmalarına Yönelik Bulgular

3.2.1.1. Türlerin Metanol Ekstreleri ve Alt Fraksiyonlarının Lipaz Enzim İnhibisyonu Değerlendirme Çalışmalarına Yönelik Bulguları

In vitro lipaz enzim inhibisyon çalışmaları sonrasında metanol ekstresi, metanol ekstresinden hareketle hazırlanan alt fraksiyonlara (kloroform, etil asetat ve arta kalan su) ve pozitif kontrol olarak kullanılan orlistata ait lipaz enzimi üzerine belirlenen IC₅₀ düzeyleri Çizelge 3.4'te belirtilmiştir. Orlistata ait % enzim inhibisyon değerleri ve ait olduğu konsantrasyonun logaritması şeklinde oluşturulan grafiğin doğrusal olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. Orlistatın % enzim inhibisyon değerleri ve ait olduğu konsantrasyonun logaritması şeklinde oluşturulan grafiği

Elde edilen verilere göre *C. balikesirens*'nin topraküstü kısımlarının metanol ektresinde (CBM), kloroform alt fraksiyonunda (CBK) ve arta kalan su alt fraksiyonunda (CBS) lipaz enzim inhibitör etki gözlenirken, etil asetat alt fraksiyonunda (CBE) lipaz enzim inhibitör etki gözlemlenmemiştir. *C. nerimaniae*'nin topraküstü kısımlarının metanol ektresinde (CNM), kloroform alt fraksiyonunda (CNK) ve arta kalan su alt fraksiyonunda (CNS) lipaz enzim inhibitör etki gözlenirken, etil asetat alt fraksiyonunda (CNE) lipaz enzim inhibitör etki gözlemlenmemiştir. *C. sommierii*'nin topraküstü kısımlarının metanol ektresinde (CSM) ve kloroform alt fraksiyonunda (CSK) lipaz enzim inhibitör etki gözlenirken, arta kalan su alt fraksiyonunda (CSS) ve etil asetat alt fraksiyonunda (CSE) lipaz enzim inhibitör etki gözlemlenmemiştir. *C. cephalotes*'in topraküstü kısımlarının metanol ektresinde (CCM), kloroform alt fraksiyonunda (CCK) ve etil asetat alt fraksiyonunda (CCE) lipaz enzim inhibitör etki gözlenirken, arta kalan su alt fraksiyonunda (CCS) lipaz enzim inhibitör etki gözlemlenmemiştir.

Çizelge 3.4. Türlerin ekstre ve alt fraksiyonlarının lipaz enzimi üzerine belirlenen IC₅₀ düzeyleri

	Lipaz Enzim İnhibisyonu (IC ₅₀ (µg/mL) ± SS)		Lipaz Enzim İnhibisyonu (IC ₅₀ (µg/mL) ± SS)
CBM	309,03 ± 4,26	CSM	315,72 ± 3,49
CBK	190,54 ± 2,12	CSK	177,82 ± 2,77
CBS	161,97 ± 2,44	CSS	-
CBE	-	CSE	-
CNM	325,39 ± 2,99	CCM	323,59 ± 6,99
CNK	234,42 ± 3,39	CCK	208,92 ± 5,81
CNS	173,78 ± 3,85	CCS	-
CNE	-	CCE	181,97 ± 2,03
Orlistat	14,42 ± 0,4556		

3.2.1.2. *C. balikesirens*e Lipaz Enzim İnhibisyonu Değerlendirme Çalışmalarına Yönelik Bulgular

C. balikesirens'nin BAYF'ın en yüksek aktivitenin gözlemlendiği arta kalan su alt fraksiyonu üzerinden yönlendirilmesine karar verilmiştir. Bu alt fraksiyona ters faz kolon kromatografisi uygulaması sonrasında elde edilen 69 fraksiyondan benzer karakterde olanları, İTK incelemelerinden sonra birleştirilmiştir. Birleştirmelerden sonra elde edilen 11 fraksiyon lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.5. CBS ters faz kolon kromatografisi sonrasında elde edilen fraksiyonların lipaz enzimi üzerine belirlenen IC₅₀ düzeyleri

	Lipaz Enzim İnhibisyonu (IC ₅₀ (µg/mL) ± SS)		Lipaz Enzim İnhibisyonu (IC ₅₀ (µg/mL) ± SS)
CBS-RP Fr ₁₋₁₀	-	CBS-RP Fr ₃₅₋₃₆	156,76 ± 2,8483
CBS-RP Fr ₁₁₋₁₄	-	CBS-RP Fr ₃₇₋₄₂	350,08 ± 6,3799
CBS-RP Fr ₁₅₋₁₆	-	CBS-RP Fr ₄₃₋₅₂	-
CBS-RP Fr ₁₇₋₂₄	187,62 ± 5,7471	CBS-RP Fr ₅₃₋₆₀	-
CBS-RP Fr ₂₅₋₃₂	-	CBS-RP Fr ₆₁₋₆₉	-
CBS-RP Fr ₃₃₋₃₄	211,14 ± 6,0910		

BAYF'ın, ters faz kolon kromatografisi sonrasında elde edilen fraksiyonlardan en yüksek lipaz inhibitör etki gözlenen CBS-RP Fr₃₅₋₃₆ şeklinde kodlanan 35-36. fraksiyonları üzerinden yönlendirilmesine karar verilmiştir. İlgili fraksiyonlara sefadeks kolon kromatografisi uygulanmış ve 15 alt fraksiyon elde edilmiştir. İTK incelemelerinden sonra benzer olan fraksiyonlar birleştirilmiş ve elde edilen 4 alt fraksiyon lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.6. CBS-RP Fr₃₅₋₃₆ sefadeks kolon kromatografisi sonrasında elde edilen fraksiyonların lipaz enzimi üzerine belirlenen IC₅₀ düzeyleri

	Lipaz Enzim İnhibisyonu (IC ₅₀ (µg/mL) ± SS)		Lipaz Enzim İnhibisyonu (IC ₅₀ (µg/mL) ± SS)
CBS-SE Fr ₁₋₃	-	CBS-SE Fr ₆₋₉	163,04 ± 4,6460
CBS-SE Fr ₄₋₅	114,81 ± 3,3881	CBS-SE Fr ₁₀₋₁₅	-

En yüksek lipaz inhibitör etki gösteren fraksiyon CBS-SE Fr₄₋₅ 'in İTK analizinde tek leke verdiği gözlemlenmiş ve CBS-1 şeklinde kodlanarak spektroskopik analizinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.

C. balikesirens'nin diğer izolasyon çalışmaları sonrasında İTK analizlerinde tek leke verdiği gözlemlenen CBS-2 ve CBK-1 kodu verilen iki bileşiğin spektroskopik analizinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir. Yapı aydınlatma çalışmaları sonrasında simidahuninin (CBS-2) ve ψ -taraksasterol (CBK-1) olduğu tespit edilmiş ve lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiş ve inhibitör etkileri ise sırasıyla 257,04 $\mu\text{g/ml} \pm 2,3341$ ve 124,25 $\mu\text{g/ml} \pm 1,1932$ olarak belirlenmiştir.

3.2.1.3. *C. nerimaniae* Lipaz Enzim İnhibisyonu Değerlendirme Çalışmalarına Yönelik Bulgular

C. nerimaniae'nin BAYF'in en yüksek aktivitenin gözlemlendiği arta kalan su alt fraksiyonu üzerinden yönlendirilmesine karar verilmiştir. Bu alt fraksiyona ters faz kolon kromatografisi uygulaması sonrasında elde edilen 67 fraksiyondan benzer karakterde olanları, İTK incelemelerinden sonra birleştirilmiştir. Birleştirmelerden sonra elde edilen 18 fraksiyon lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.7. CNS ters faz kolon kromatografisi sonrasında elde edilen fraksiyonların lipaz enzimi üzerine belirlenen IC₅₀ düzeyleri

	Lipaz Enzim İnhibisyonu (IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) $\pm$ SS)		Lipaz Enzim İnhibisyonu (IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) $\pm$ SS)
CNS-RP Fr ₁₋₇	-	CNS-RP Fr ₃₈₋₄₀	-
CNS-RP Fr ₈₋₁₂	258,28 $\pm$ 1,0581	CNS-RP Fr ₄₁₋₄₄	-
CNS-RP Fr ₁₃₋₁₇	288,40 $\pm$ 8,5973	CNS-RP Fr ₄₅₋₄₇	-
CNS-RP Fr ₁₈	251,52 $\pm$ 2,3287	CNS-RP Fr ₄₈₋₅₁	-
CNS-RP Fr ₁₉₋₂₂	283,86 $\pm$ 7,0657	CNS-RP Fr ₅₂₋₅₃	286,01 $\pm$ 6,2403
CNS-RP Fr ₂₃₋₂₈	-	CNS-RP Fr ₅₄₋₅₅	233,86 $\pm$ 5,7920
CNS-RP Fr ₂₉₋₃₁	251,18 $\pm$ 6,9271	CNS-RP Fr ₅₆	222,84 $\pm$ 2,0332
CNS-RP Fr ₃₂₋₃₄	342,67 $\pm$ 7,4781	CNS-RP Fr ₅₇₋₅₈	147,91 $\pm$ 5,4187
CNS-RP Fr ₃₅₋₃₇	-	CNS-RP Fr ₅₉₋₆₇	-

En yüksek lipaz inhibitör etki CNS-RP Fr₅₇₋₅₈'ın ITK analizinde tek leke verdiği gözlemlenmiş ve CNS-1 şeklinde kodlanarak spektroskopik analizinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.

C. nerimaniae'nin diğer izolasyon çalışmaları sonrasında ve ITK analizlerinde tek leke verdiği gözlemlenen CNS-2 ve CNK-1 kodu verilen iki bileşiğin spektroskopik analizinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir. Yapı aydınlatma çalışmaları sonrasında astragalin (CNS-2) ve ψ -taraksasterol (CNK-1) olduğu tespit edilmiş ve lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiş ve inhibitör etkileri sırasıyla 233,86 $\mu\text{g/ml} \pm 5,7920$ ve 124,25 $\mu\text{g/ml} \pm 1,1932$ olarak belirlenmiştir.

3.2.1.4. *C. sommieri* Lipaz Enzim İnhibisyonu Değerlendirme Çalışmalarına Yönelik Bulgular

C. sommieri'nin BAYF'ın en yüksek aktivitenin gözlemlendiği klorofom alt fraksiyonu üzerinden yönlendirilmesine karar verilmiştir. Bu alt fraksiyona ön ayırma işlemi için normal faz kolon kromatografisi uygulaması sonrasında elde edilen 119 fraksiyondan benzer karakterde olanları, ITK incelemelerinden sonra birleştirilmiştir. Birleştirmelerden sonra elde edilen 4 temel fraksiyon lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.8. CSK normal faz kolon kromatografisi sonrasında elde edilen fraksiyonların lipaz enzimi üzerine belirlenen IC₅₀ düzeyleri

	Lipaz Enzim İnhibisyonu (IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) $\pm$ SS)		Lipaz Enzim İnhibisyonu (IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) $\pm$ SS)
CSK-NP1 Fr ₁₋₆₇	-	CSK-NP1 Fr ₈₆₋₁₀₉	138,39 $\pm$ 2,3607
CSK-NP1 Fr ₆₈₋₈₅	-	CSK-NP1 Fr ₁₁₀₋₁₁₉	392,32 $\pm$ 3,4819

BAYF'ın, normal faz kolon kromatografisi sonrasında elde edilen fraksiyonlardan en yüksek lipaz inhibitör etki gözlenen CSK-NP1 Fr₈₆₋₁₀₉ şeklinde kodlanan 86-109. fraksiyonları üzerinden yönlendirilmesine karar verilmiştir. İlgili fraksiyonlara farklı koşullardaki ikinci bir normal faz kolon kromatografisi

uygulanmış ve 61 alt fraksiyon elde edilmiştir. İTK incelemelerinden sonra benzer olan fraksiyonlar birleştirilmiş ve elde edilen 12 alt fraksiyon lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.9. CSK-NP1 Fr₈₆₋₁₀₉ normal faz kolon kromatografisi sonrasında elde edilen fraksiyonların lipaz enzimi üzerine belirlenen IC₅₀ düzeyleri

	Lipaz Enzim İnhibisyonu (IC ₅₀ (µg/mL) ± SS)		Lipaz Enzim İnhibisyonu (IC ₅₀ (µg/mL) ± SS)
CSK-NP2 Fr ₁₋₁₀	-	CSK-NP2 Fr ₂₉₋₃₀	124,25 ± 1,1912
CSK-NP2 Fr ₁₀₋₁₄	272,45 ± 4,6530	CSK-NP2 Fr ₃₁₋₃₂	155,88 ± 2,4746
CSK-NP2 Fr ₁₅₋₁₆	249,80 ± 5,4689	CSK-NP2 Fr ₃₃₋₃₆	-
CSK-NP2 Fr ₁₇₋₁₉	167,94 ± 1,3239	CSK-NP2 Fr ₃₇₋₄₅	-
CSK-NP2 Fr ₂₀₋₂₅	198,43 ± 3,4689	CSK-NP2 Fr ₄₆₋₅₅	-
CSK-NP2 Fr ₂₆₋₂₈	186,74 ± 5,5545	CSK-NP2 Fr ₅₆₋₆₁	-

En yüksek lipaz inhibitör etki gösteren CSK-NP2 Fr₂₉₋₃₀'un İTK analizinde tek leke verdiği gözlemlenmiş ve CSK-1 şeklinde kodlanarak spektroskopik analizinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.

C. sommieri'nin izolasyon çalışmaları sonrasında ve İTK analizlerinde tek leke verdiği gözlemlenen CSK-2 kodu verilen farklı bir bileşiğin spektroskopik analizinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir. Yapı aydınlatma çalışmaları sonrasında lupeol olduğu tespit edilmiş ve lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiş ve inhibitör etkisi 167,94 µg/ml ± 1,3239 olarak belirlenmiştir.

3.2.1.5. *C. cephalotes* Lipaz Enzim İnhibisyonu Değerlendirme Çalışmalarına Yönelik Bulgular

C. cephalotes'in BAYF'ın en yüksek aktivitenin gözlemlendiği etil asetat alt fraksiyonu üzerinden yönlendirilmesine karar verilmiştir. Bu alt fraksiyona sefadeks kolon kromatografisi uygulaması sonrasında elde edilen 14 fraksiyondan benzer

karakterde olanları, İTK incelemelerinden sonra birleştirilmiştir. Birleştirmelerden sonra elde edilen 4 fraksiyon lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.10. CCE sefadeks kolon kromatografisi sonrasında elde edilen fraksiyonların lipaz enzimi üzerine belirlenen IC₅₀ düzeyleri

	Lipaz Enzim İnhibisyonu (IC ₅₀ (µg/mL) ± SS)		Lipaz Enzim İnhibisyonu (IC ₅₀ (µg/mL) ± SS)
CCE-SE Fr ₁₋₂	-	CCE-SE Fr ₆₋₁₀	215,44 ± 4,0786
CCE-SE Fr ₃₋₅	348,40 ± 11,0629	CCE-SE Fr ₁₁₋₁₄	310,13 ± 5,4271

BAYF'ın, sefadeks kolon kromatografisi sonrasında elde edilen fraksiyonlardan en yüksek lipaz inhibitör etki gözlenen CCE-SE Fr₆₋₁₀ şeklinde kodlanan 6-10. fraksiyonları üzerinden yönlendirilmesine karar verilmiştir. İlgili fraksiyonlara ters faz kolon kromatografisi uygulanmış ve 25 alt fraksiyon elde edilmiştir. İTK incelemelerinden sonra benzer olan fraksiyonlar birleştirilmiş ve elde edilen 6 alt fraksiyon lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.11. CCE-SE Fr₆₋₁₀'dan ters faz kolon kromatografisi sonrasında elde edilen fraksiyonların lipaz enzimi üzerine belirlenen IC₅₀ düzeyleri

	Lipaz Enzim İnhibisyonu (IC ₅₀ (µg/mL) ± SS)		Lipaz Enzim İnhibisyonu (IC ₅₀ (µg/mL) ± SS)
CCE-RP Fr ₀₋₁₃	-	CCE-RP Fr ₁₈₋₁₉	186,20 ± 6,9924
CCE-RP Fr ₁₄₋₁₅	-	CCE-RP Fr ₂₀₋₂₃	108,03 ± 5,2456
CCE-RP Fr ₁₆₋₁₇	147,91 ± 5,4187	CCE-RP Fr ₂₄₋₂₅	-

En yüksek lipaz inhibitör etkinin gözlemlendiği fraksiyon CCE-RP Fr₂₀₋₂₃'ün İTK analizinde tek leke verdiği gözlemlenmiş ve CCE-1 şeklinde kodlanarak spektroskopik analizinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.

C. cephalotes'nin diğer izolasyon çalışmaları sonrasında İTK analizlerinde tek leke verdiği gözlemlenen CCE-2 ve CCK-1 kodu verilen iki bileşiğin spektroskopik analizinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir. Yapı aydınlatma çalışmaları sonrasında afzelin (CCE-2) ve ψ -taraksasterol(CCK-1) ayrıca lipaz inhibitör etki

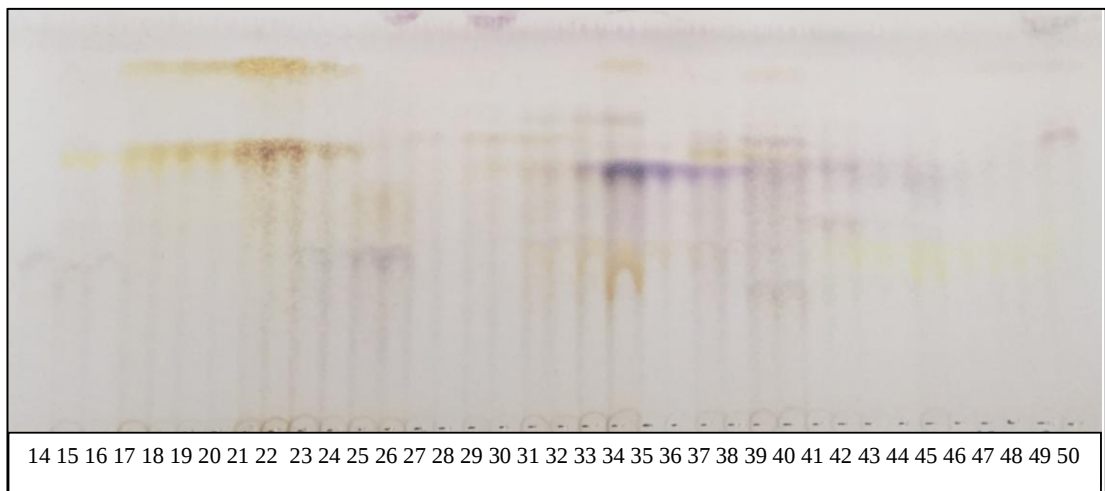
açısından değerlendirilmiş ve inhibitör etkileri sırasıyla $147,91 \mu\text{g/ml} \pm 5,4187$ ve $124,25 \mu\text{g/ml} \pm 1,1932$ olarak belirlenmiştir.

3.2.2. Lipaz Enzim İnhibisyonu Üzerine Etkili Türlerde İzolasyon Çalışmalarına Yönelik Bulgular

3.2.2.1. İTK Bulguları

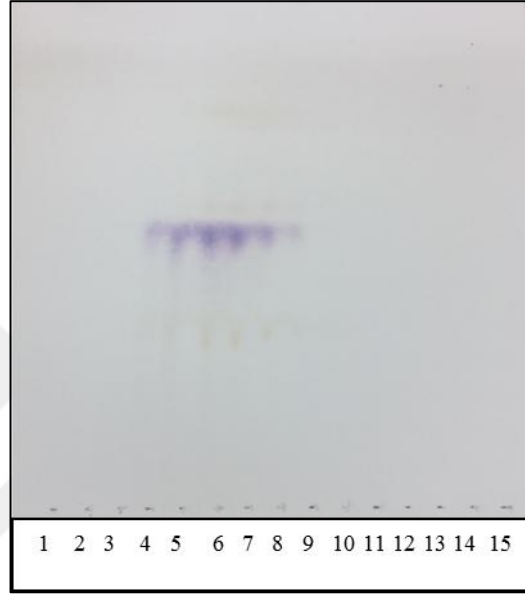
3.2.2.1.1. *C. balikesirens* İTK Bulguları

BAYF kapsamında arta kalan su alt fraksiyonundan ters faz kolon kromatografisi sonrasında elde edilen CBS-RP Fr₃₅₋₃₆ fraksiyonuna Sefadex LH-20 kolon uygulaması ile elde edilen en yüksek lipaz inhibitör etkinin gözlemlendiği İTK’de tek leke verdiği tespit edilen CBS-SE Fr₄₋₅ fraksiyonundan CBS-1 şeklinde kodlanan bileşik izole edilmiştir. Bitki üzerinde gerçekleştirilen diğer izolasyon çalışmaları kapsamında da daha önce belirtildiği gibi arta kalan su alt fraksiyonundan CBS-2; kloroform alt fraksiyonundan CBK-1 kodlu bileşikler izole edilmiştir.



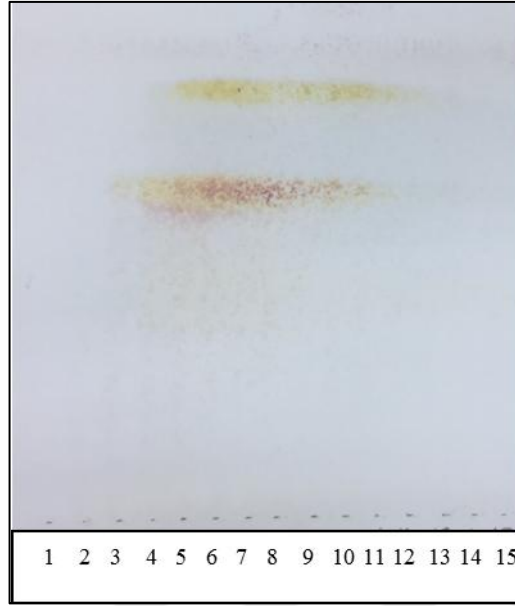
Şekil 3.15. BAYF için seçilen CBS-RP Fr₃₅₋₃₆’ı içeren etil asetat:metanol:su (7:2:1) solvan sistemindeki İTK görüntüsü

CBS-1 bileşiğinin İTK analizinde reaktif kullanmadan önce UV_{254} nm'de sönük zon şeklinde, UV_{366} nm'de mavi floresans, Vanilin/ H_2SO_4 reaktifi püskürttükten sonra mavi, $110^{\circ}C$ 'de 1-2 dk ısıtılınca mavi-mor renkli olduğu görülmüştür. CBS-1 bileşiği şekil 3.16'da belirtilen etil asetat:metanol:su (7:2:1) solvan sisteminde gerçekleştirilen İTK'inde yer alan 4-5. fraksiyonların birleştirilmesiyle elde edilmiştir.



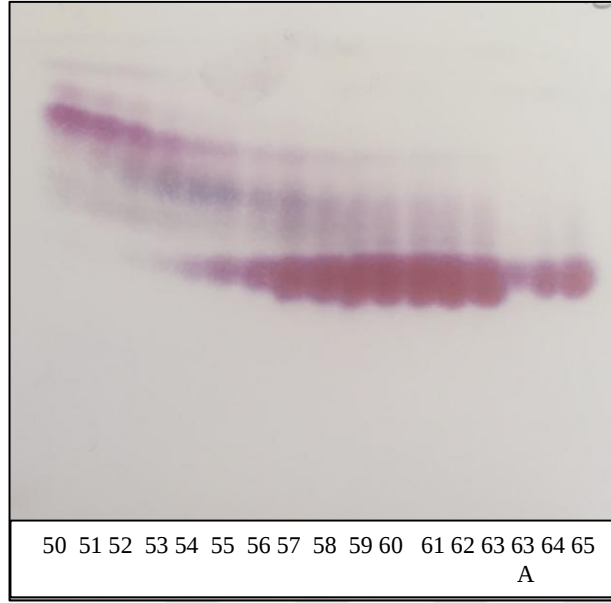
Şekil 3.16. CBS-1'in yer aldığı etil asetat:metanol:su (7:2:1) solvan sistemindeki İTK görüntüsü

Arta kalan su alt fraksiyonundan ters faz kolon kromatografisi sonrasında elde edilen CBS-RP Fr₁₇₋₂₄ fraksiyonuna Sefadex LH-20 kolon uygulaması ile 3-4. fraksiyondan elde edilen CBS-2 bileşiğinin İTK analizinde reaktif kullanmadan önce UV_{254} nm'de sönük zon şeklinde, UV_{366} nm'de mavi floresans, %1'lik vanilin/ H_2SO_4 reaktifi püskürttükten sonra $110^{\circ}C$ 'de 1-2 dk ısıtılınca sarı renkli olduğu görülmüştür. CBS-2 bileşiğine ait etilasetat:metanol:su (7:2:1) solvan sistemindeki 3-4. fraksiyonların İTK görüntüsü şekil 3.17'de belirtilmiştir.



Şekil 3.17. CBS-2'in yer aldığı etil asetat:metanol:su (7:2:1) solvan sistemindeki İTK görüntüsü

Kloroform alt fraksiyonundan normal faz kolon kromatografisi uygulaması ile 64-65. fraksiyondan elde edilen CBK-1 bileşiğinin bulunduğu fraksiyon İTK analizlerinde revelatör püskürtmeden önce gün ışığında, UV_{254} nm'de ve UV_{366} nm'de renksizdir. Vanilin/ H_2SO_4 reaktifi püskürttükten sonra $110^{\circ}C$ 'de 1-2 dk ısıtılınca pembe/mor renk gözlemlenmiştir. Kloroform alt fraksiyonundan izole edilen CBK-1 bileşiğine ait *n*-hekzan-etil asetat (8:2) solvan sistemindeki 64-65. fraksiyonların İTK görüntüsü şekil 3.19'da belirtilmiştir.

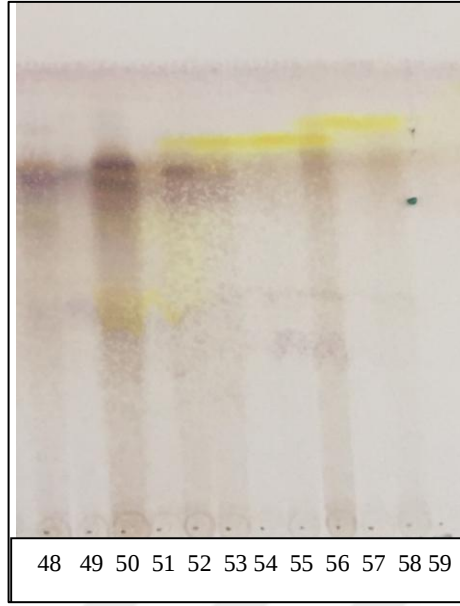


Şekil 3.18. CBK-1'in yer aldığı *n*-hekzan-etil asetat (8:2) solvan sistemindeki İTK görüntüsü

3.2.2.1.2. *C. nerimaniae* İTK Bulguları

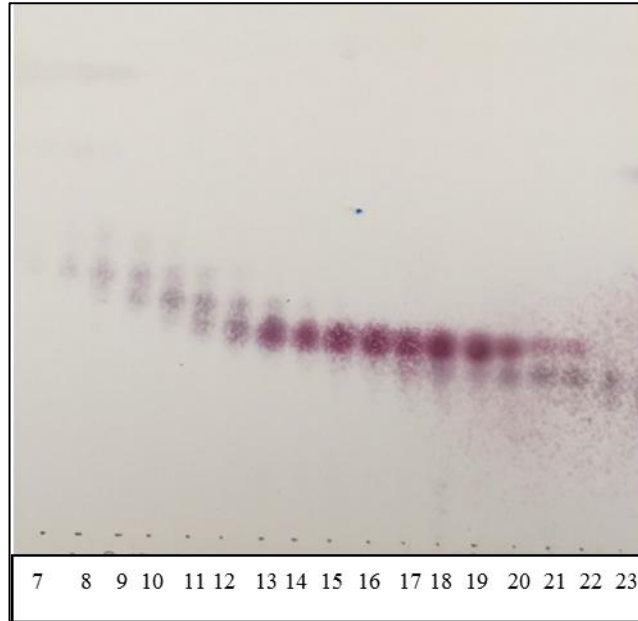
BAYF kapsamında arta kalan su alt fraksiyonundan ters faz kolon kromatografisi sonrasında elde edilen CNS-RP Fr₅₄₋₅₅ fraksiyonunun en yüksek lipaz inhibitör etkinin gözlemlendiği İTK'de tek leke verdiği tespit edilen CNS-1 şeklinde kodlanan izole bileşik olduğu belirlenmiştir. Bitki üzerinde gerçekleştirilen diğer izolasyon çalışmaları kapsamında da daha önce belirtildiği gibi arta kalan su alt fraksiyonundan CNS-RP Fr₅₇₋₅₈ fraksiyonunu ifade eden CNS-2; kloroform alt fraksiyonundan ise CNK-1 kodlu bileşikler izole edilmiştir.

57-58. fraksiyona ait CNS-1 bileşiğinin İTK analizinde reaktif kullanmadan önce UV₂₅₄ nm'de sönük zon şeklinde, UV₃₆₆ nm'de bordo, vanilin/H₂SO₄ reaktif püskürttükten sonra 110 °C'de ısıtılınca sarı olması maddenin flavonoit olabileceğini göstermiştir. 54-55. Fraksiyona ait CNS-2 bileşiği de benzer şekilde İTK analizinde UV₂₅₄ nm'de sönük zon şeklinde, UV₃₆₆ nm'de bordo, %1'lik vanilin/H₂SO₄ reaktif püskürttükten sonra 110 °C'de ısıtılınca sarı renkli olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 3.19. CNS-1 ve CNS-2'nin yer aldığı etil asetat:metanol:su (7:2:1) solvan sistemindeki İTK görüntüsü

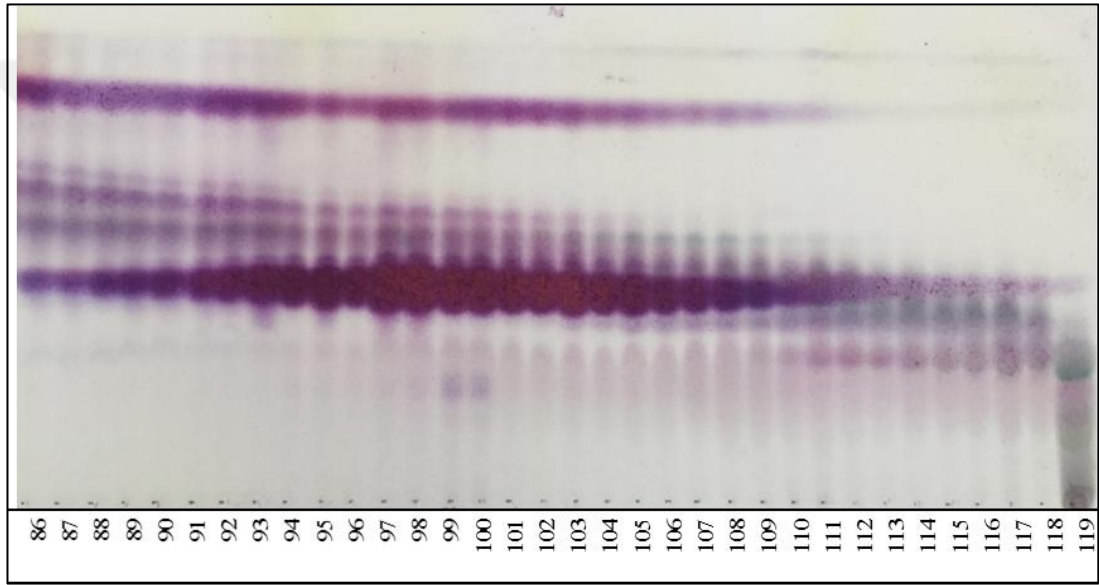
18-20. fraksiyona ait CNK-1 bileşiğinin İTK analizlerinde revelatör püskürtmeden önce gün ışığında, UV_{254} nm'de ve UV_{366} nm'de renksizdir. Vanilin/ H_2SO_4 reaktifi püskürttükten sonra $110^\circ C$ 'de 1-2 dk ısıtılınca pembe/mor renk gözlemlenmiştir.



Şekil 3.20. CNK-1'in yer aldığı *n*-hekzan-etil asetat (8:2) solvan sistemindeki İTK görüntüsü

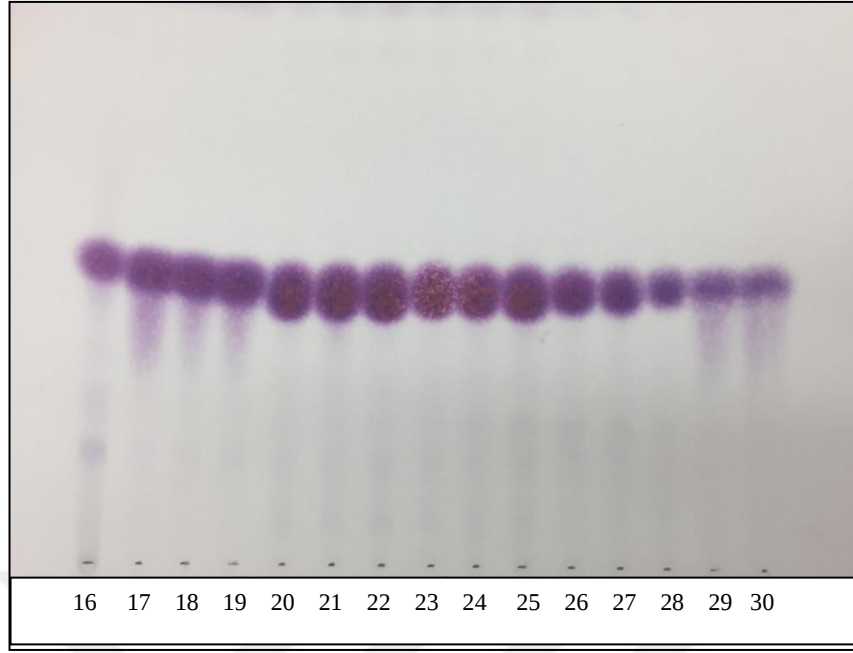
3.2.2.1.3. *C. sommieri* İTK Bulguları

BAYF kapsamında kloroform alt fraksiyonundan normal faz kolon kromatografisi sonrasında elde edilen CSK-NP1 Fr₈₆₋₁₀₉ fraksiyonuna şartları değiştirilen ikinci bir normal faz kolon kromatografisi uygulaması ile en yüksek lipaz inhibitör etkinin gözlendiği İTK'de tek leke verdiği tespit edilen CSK-1 şeklinde kodlanan bileşik izole edilmiştir. Bitki üzerinde gerçekleştirilen diğer izolasyon çalışmaları kapsamında kloroform alt fraksiyonundan CSK-2 bileşiği izole edilmiştir.



Şekil 3.21. BAYF için seçilen CSK-NP1 Fr₈₆₋₁₀₉'ı içeren *n*-hekzan: etil asetat (8:2) solvan sistemindeki İTK görüntüsü

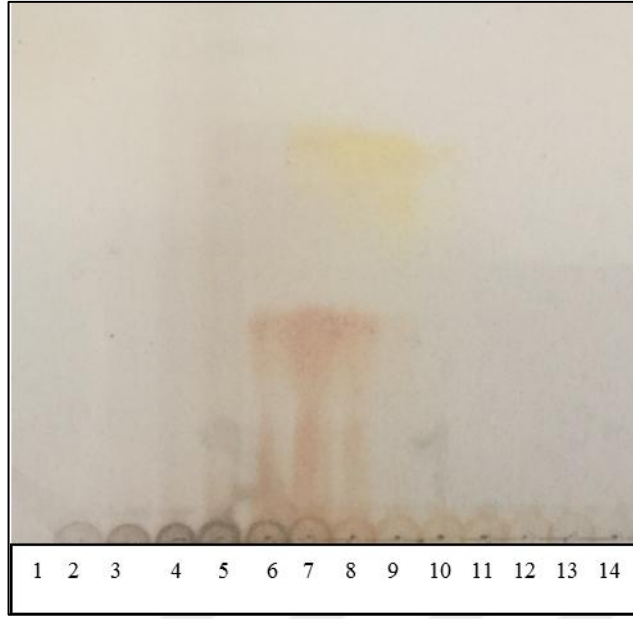
CSK-1, bileşiğinin bulunduğu 29-30. fraksiyon İTK analizlerinde revelatör püskürtmeden önce gün ışığında, UV₂₅₄ nm'de ve UV₃₆₆ nm'de renksizdir. Vanilin/H₂SO₄ reaktifi püskürttükten sonra 110°C'de 1-2 dk ısıtılınca pembe/mor renk gözlemlenmiştir. CSK-2, bileşiğini içeren 17-19. fraksiyonların İTK analizlerinde UV₂₅₄ nm'de ve UV₃₆₆ nm'de renksiz olduğu tespit edilmiştir. Vanilin/H₂SO₄ reaktifi püskürttükten sonra 110°C'de 1-2 dk ısıtılınca mor renk gözlemlenmiştir.



Şekil 3.22. CSK-1 ve CSK-2'nin yer aldığı *n*-hekzan: etil asetat (8:2) solvan sistemindeki İTK görüntüsü

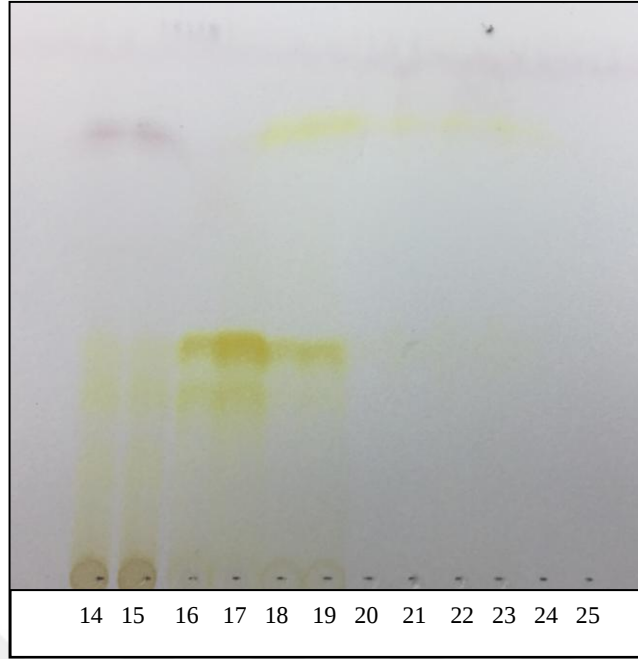
3.2.2.1.4. *C. cephalotes* İTK Bulguları

BAYF kapsamında etil asetat alt fraksiyonundan sefadeks kolon kromatografisi sonrasında elde edilen CCE-SE Fr₆₋₁₀ fraksiyonuna ters faz kolon uygulaması ile en yüksek lipaz inhibitör etkinin gözlendiği İTK'de tek leke verdiği tespit edilen CCE-1 şeklinde kodlanan bileşik izole edilmiştir. Bitki üzerinde gerçekleştirilen diğer izolasyon çalışmaları kapsamında da daha önce belirtildiği gibi etil asetat alt fraksiyonundan CCE-2; kloroform alt fraksiyonundan CCK-1 kodlu bileşikler izole edilmiştir.



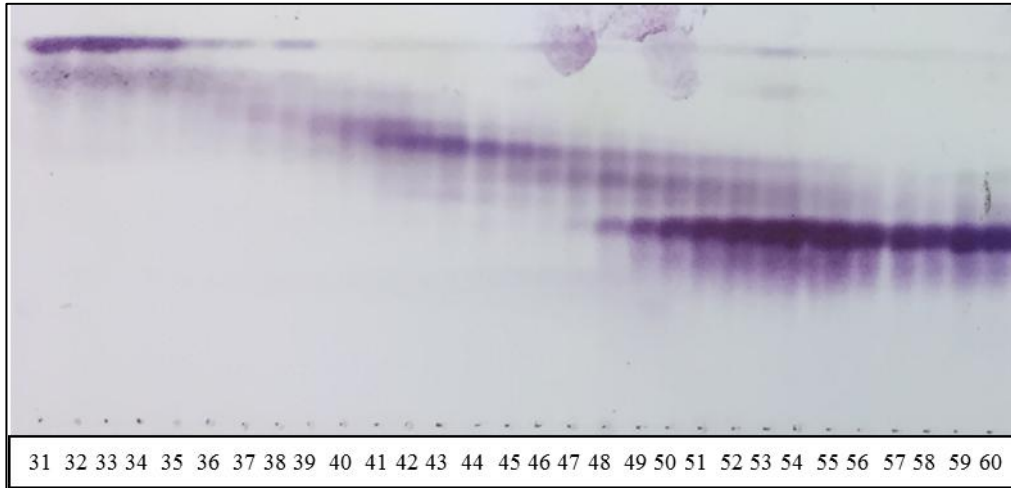
Şekil 3.23. BAYF için seçilen CCE-SE Fr₆₋₁₀'u içeren kloroform:metanol:su (80:20:2) solvan sistemindeki İTK görüntüsü

CCE-1 bileşimini içeren 20-23. fraksiyonların İTK analizlerinde belirteç püskürtmeden önce gün ışığında sarı renkli, UV₂₅₄ nm'de sönük zon şeklinde, UV₃₆₆ nm'de koyu mor renkli lekeler şeklinde ve Vanilin/H₂SO₄ reaktifi püskürtülüp ısıtıldığında sarı renkli olarak gözlenmiştir. CCE-2 bileşimini içeren 16-17. fraksiyonun İTK analizinde reaktif kullanmadan önce UV₂₅₄ nm'de sönük zon şeklinde, UV₃₆₆ nm'de koyu mor, %1'lik vanilin/H₂SO₄ reaktif püskürttükten sonra 110°C'de ısıtılınca sarı olması maddenin flavonoit olabileceğini göstermiştir.



Şekil 3.24. CCE-1 ve CCE-2'nin yer aldığı kloroform:metanol:su (80:20:2) solvan sistemindeki İTK görüntüsü

CCK-1, bileşiğinin bulunduğu 59-60. fraksiyonların İTK analizlerinde revelatör püskürtmeden önce gün ışığında, UV254 nm'de ve UV366 nm'de renksizdir. %1'lik vanilin/H₂SO₄ reaktifi püskürttükten sonra 110°C'de 1-2 dk ısıtılınca pembe/mor renk gözlemlenmiştir.



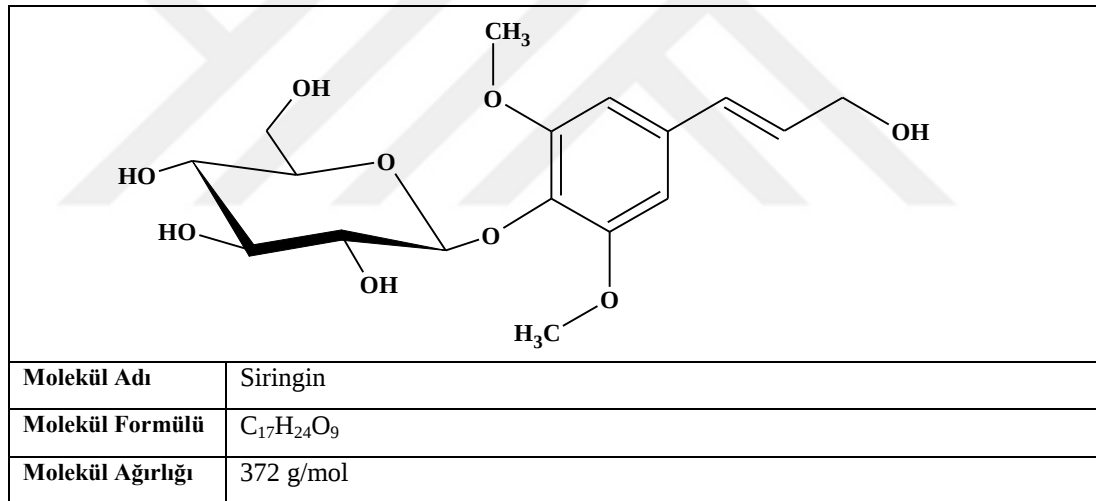
Şekil 3.25. CCK-1'in yer aldığı *n*-hekzan-etil asetat (8:2) solvan sistemindeki İTK görüntüsü

3.2.2.2. Spektroskopik Bulgular

3.2.2.2.1. *C. balikesirens* BAYF Spektroskopik Bulguları

Spektroskopik (^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve KS) yöntemler kullanılarak, *C. balikesirens*'nin toprak üstü kısmının arta kalan su alt fraksiyonundan saflaştırılan, **CBS-1** ve **CBS-2** olarak kodlanan, fenilpropanoit ve fenolik glikozit yapısındaki iki bileşiğin sırasıyla **siringin** ve **simidahurinin**, kloroform alt fraksiyonununundan elde edilen triterpenik yapılu maddenin **ψ -taraksasterol (CBK-1)** olduğu belirlenmiştir.

3.2.2.2.1.1 CBS-1 Bileşiğine Yönelik Spektroskopik Bulgular



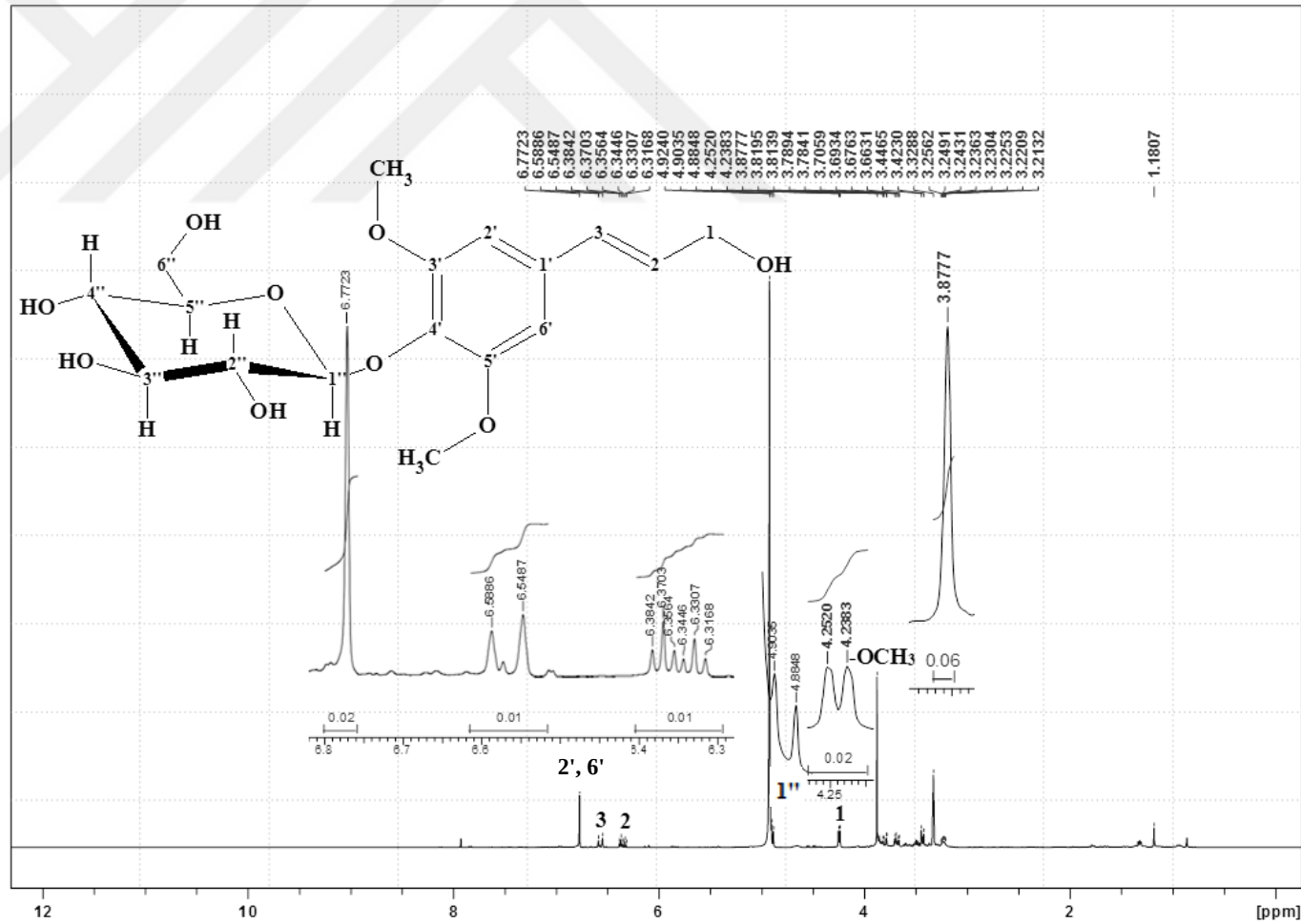
Şekil 3.26. CBS-1 bileşiğinin yapısına ait bulgular

Fenilpropanoit yapısındaki bileşiğin kütle spektrumu incelendiğinde, $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_9$ molekül formülüne sahip bileşiğin m/z : 371.05 $[\text{M}-\text{H}]^+$ piki gözlemlenmiştir. Bileşiğin ^1H -NMR spektrumuna bakıldığında $\delta=6.77$ ppm'deki singlet karakterindeki sinyalin H-2' ve H-6' protonlarına, $\delta=6.57$ ppm'deki dublet karakterindeki sinyalin H-3 protonuna, $\delta=6.35$ ppm'deki dubletin tripleti karakterindeki sinyalin H-2 protonuna, $\delta=4.25$ ppm'deki dublet karakterinde görülen sinyalin ise H-1 protonuna, $\delta=3.88$ ppm'deki singlet karakterindeki sinyalin metoksi protonlarına ait olduğu tespit edilmiştir. $\delta=4.89$ ppm'de görülen sinyalin glukozun

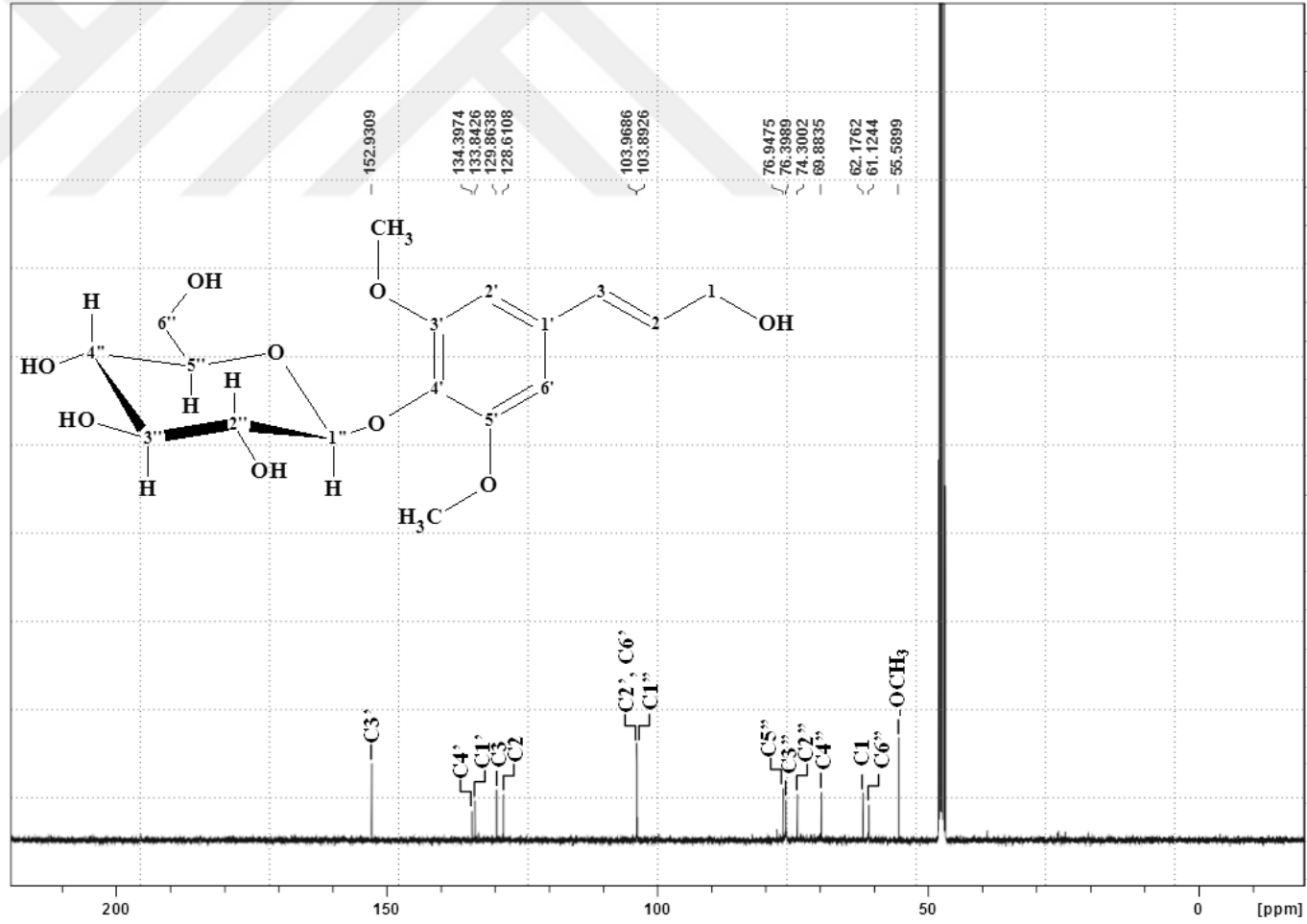
anomerik protonuna, $\delta=3.68$ ppm ve $\delta=3.80$ ppm'deki dubletin dubleti karakterindeki sinyallerin sırasıyla H-6a'' ve H-6b'' protonlarına, $\delta=3.23-3.44$ ppm'deki multiplet sinyaller ise glukozun diğer protonlarına (H-2'', H-3'', H-4'' ve H-5'') aittir. ^{13}C -NMR spektrumunda gözlenen 17 sinyalden 103.9 ppm'de gelen sinyal glukoz'un anomerik karbonuna, 62.2, 128.6 ve 129.9 ppm'de gelen sinyaller sırasıyla C1, C2 ve C3 karbonlarına aittir. CSB-1'e ait spektral değerler, literatürlerle de karşılaştırıldığında siringin yapısı ile uyumludur (Cis ve ark., 2002, Gohari ve ark., 2009 ve Krishnan ve ark., 2014).

Çizelge 3.12. CBS-1 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (Cis ve ark., 2002, Gohari ve ark., 2009 ve Krishnan ve ark., 2014)

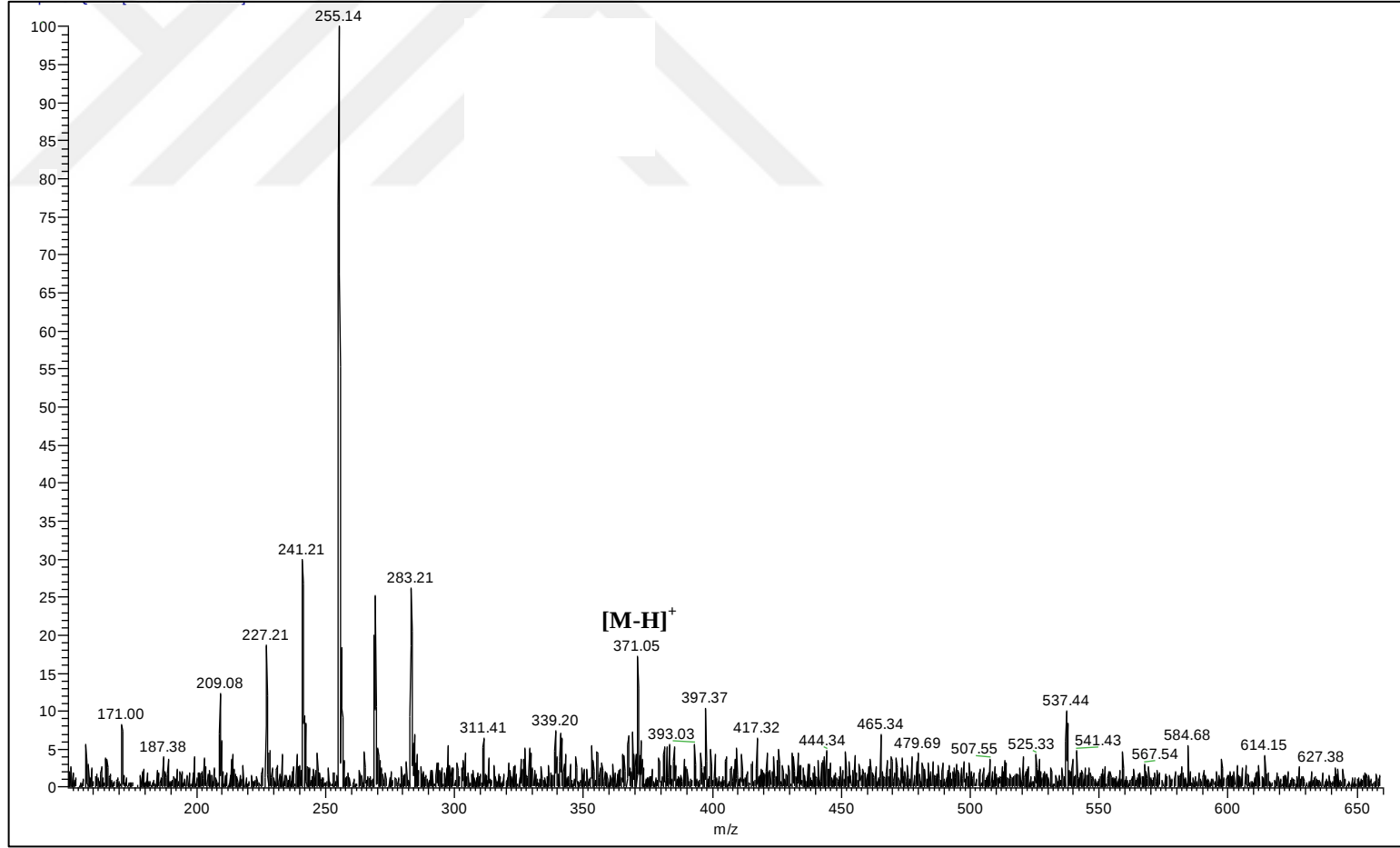
C/H	CBS-1 (Siringin)					
	$\delta^1\text{H}$ (CBS-1)	$\delta^1\text{H}$ (Lit.1)	$\delta^1\text{H}$ (Lit.2)	$\delta^{13}\text{C}$ (CBS-1)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.1)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.3)
1	4.25 (d, $J=5.5$ Hz)	4.21(dd, $J_1=5.6$ Hz, 1.5 Hz)	4.21 (dd, $J_1=5.6$ Hz, $J_2=1.2$ Hz)	62.2	64.0	63.4
2	6.35 (dt, $J_1=15.8$ Hz, $J_2=5.6$ Hz)	6.32 (dt, $J_1=15.8$ Hz, $J_2=5.6$ Hz)	6.35 (dt, $J_1=15.8$ Hz, $J_2=5.6$ Hz)	128.6	130.5	130.3
3	6.57 (d, $J=16.0$ Hz)	6.55 (d, $J=15.8$ Hz)	6.59 (d, $J=10.9$ Hz)	129.9	131.7	131.6
1'				133.8	136.3	-
2'	6.77 (s)	6.74 (s)	6.76 (s)	104.0	105.9	104.8
3'				152.9	154.7	154.4
4'				134.4	135.7	-
5'				152.9	154.7	154.4
6'	6.77 (s)	6.74 (s)	6.76 (s)	104.0	105.9	104.8
OCH ₃ -3'	3.88 (s)	3.85 (s)	3.87 (s)	55.6	57.4	57.0
OCH ₃ -5'	3.88 (s)	3.85 (s)	3.87 (s)	55.6	57.4	57.0
1''	4.89 (d, $J=7.5$ Hz)	4.86 (d, $J=7.6$ Hz)	4.85 (d, $J=7.5$ Hz)	103.9	105.8	106.0
2''	3.32-3.44 (m)	3.47 (dd, $J_1=9.5$, $J_2=7.6$ Hz)	3.33 (m)	74.3	76.0	71.0-78.7
3''	3.32-3.44 (m)	3.40 (m)	3.43 (m)	76.4	78.1	71.0-78.7
4''	3.32-3.44 (m)	3.40 (m)	3.50 (m)	69.9	71.6	71.0-78.7
5''	3.23 (m)	3.20 (m)	3.23 (m)	77.0	78.6	71.0-78.7
6a''	3.68 (dd, $J_1=12.0$ Hz, $J_2=5.1$ Hz)	3.65 (dd, $J_1=12.0$ Hz, $J_2=5.2$ Hz)	3.69 (dd, $J_1=12.0$ Hz, $J_2=5.2$ Hz)	61.1	63.0	62.2
6b''	3.80 (dd, $J_1=12.0$ Hz, $J_2=2.2$ Hz)	3.77 (dd, $J_1=12.0$ Hz, $J_2=2.3$ Hz)	3.81 (dd, $J_1=12.0$ Hz, $J_2=2.4$ Hz)	61.1	63.0	62.2



Şekil 3.27. CBS-1 Bileşiğinin ^1H -NMR Spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)

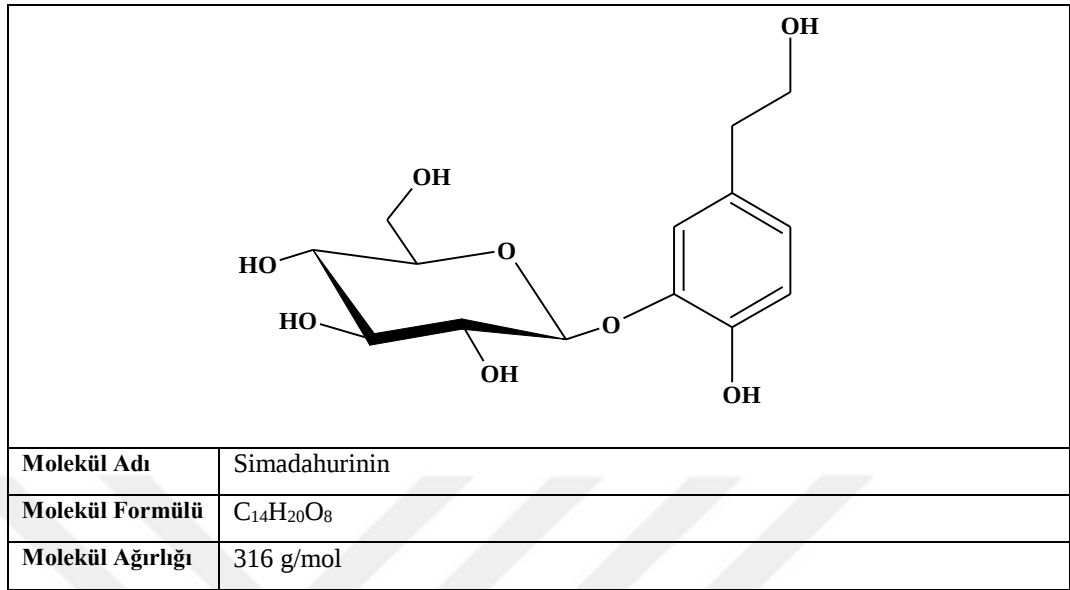


Şekil 3.28. CBS-1 Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)



Şekil 3.29. CBS-1 Bileşiğinin Kütle Spektrumu

3.2.2.2.1.2. CBS-2 Bileşiğine Yönelik Spektroskopik Bulgular



Şekil 2.30. CBS-2 bileşiğinin yapısına ait bulgular

Fenolik glikozit yapısındaki bileşğin kütle spektrumu incelendiğinde, C₁₄H₂₀O₈ molekül formülüne sahip bileşğin, m/z : 315.11 [M-H]⁺ temel piki gözlemlenmiştir.

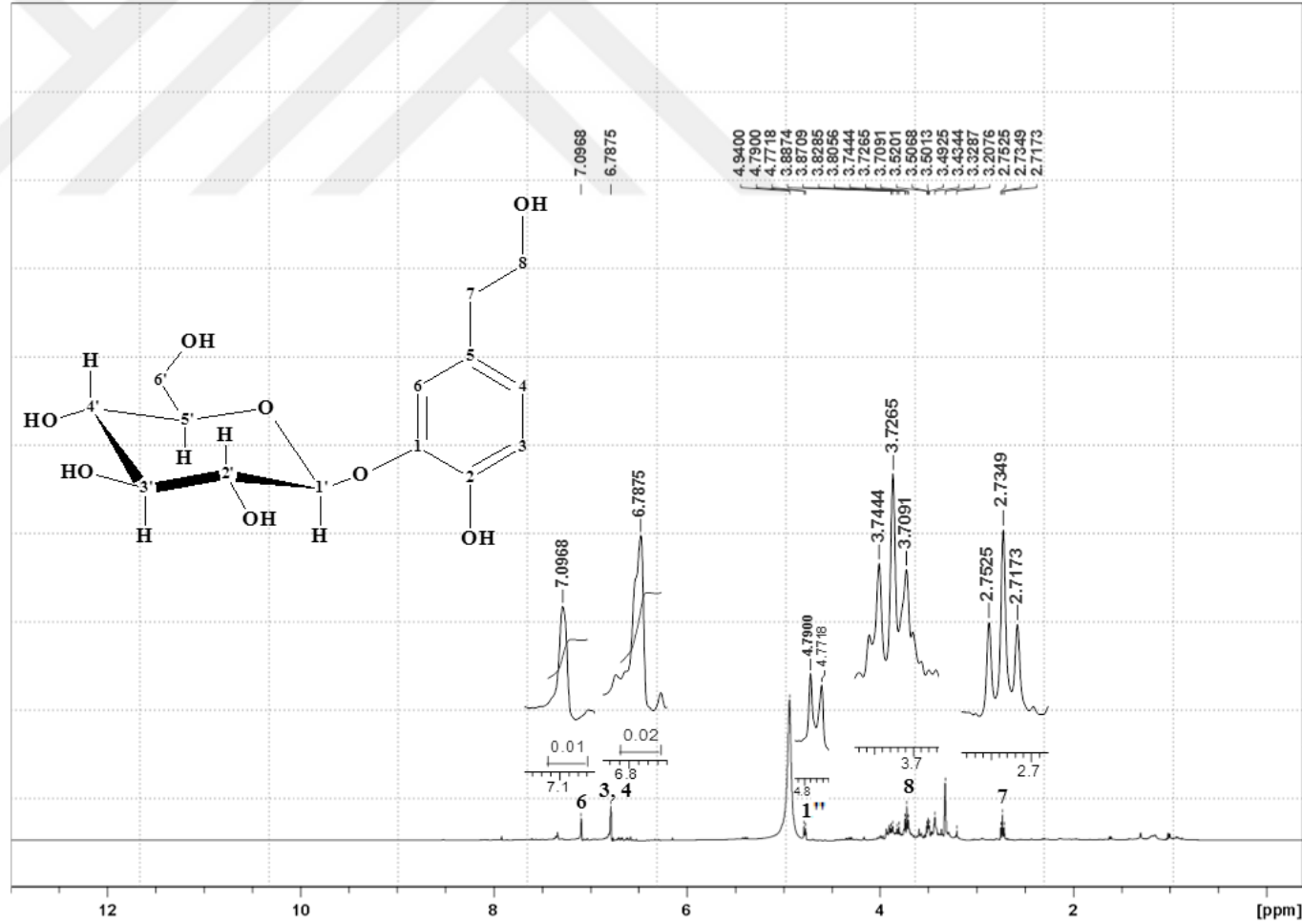
Bileşğin ¹H-NMR spektrumuna bakıldığında aromatik halkaya ait δ =7.10 ppm'deki sinyalin H-6 protonuna ve δ =6.79 ppm'deki sinyalin H-3 ve H-4 protonlarına ait olduğu tespit edilmiştir. δ =2.73 ppm'deki triplet karakterindeki sinyalin H-7 protonlarına, δ =3.73 ppm'deki triplet karakterindeki sinyalin ise H-8 protonlarına ait olduğu tespit edilmiştir. δ =4.78 ppm'deki dublet şeklinde görülen sinyalin glukozun anomerik protonu olan H-1' protonuna, δ =3.21-3.88 ppm'deki sinyallerin ise glukozun diğer protonlarına (H-2', H-3', H-4', H-5' ve H-6') ait olduğu tespit edilmiştir.

¹³C-NMR spektrumunda 14 adet sinyal gözlenmiştir. Bu sinyallerden 102.9 ppm'de gelen sinyal glukoz'un anomerik karbonuna aittir. 38.1 ve 63.0 ppm'de gelen sinyaller ise sırasıyla C7 ve C8 karbonlarına aittir. CBS-2'nin NMR ve kütle

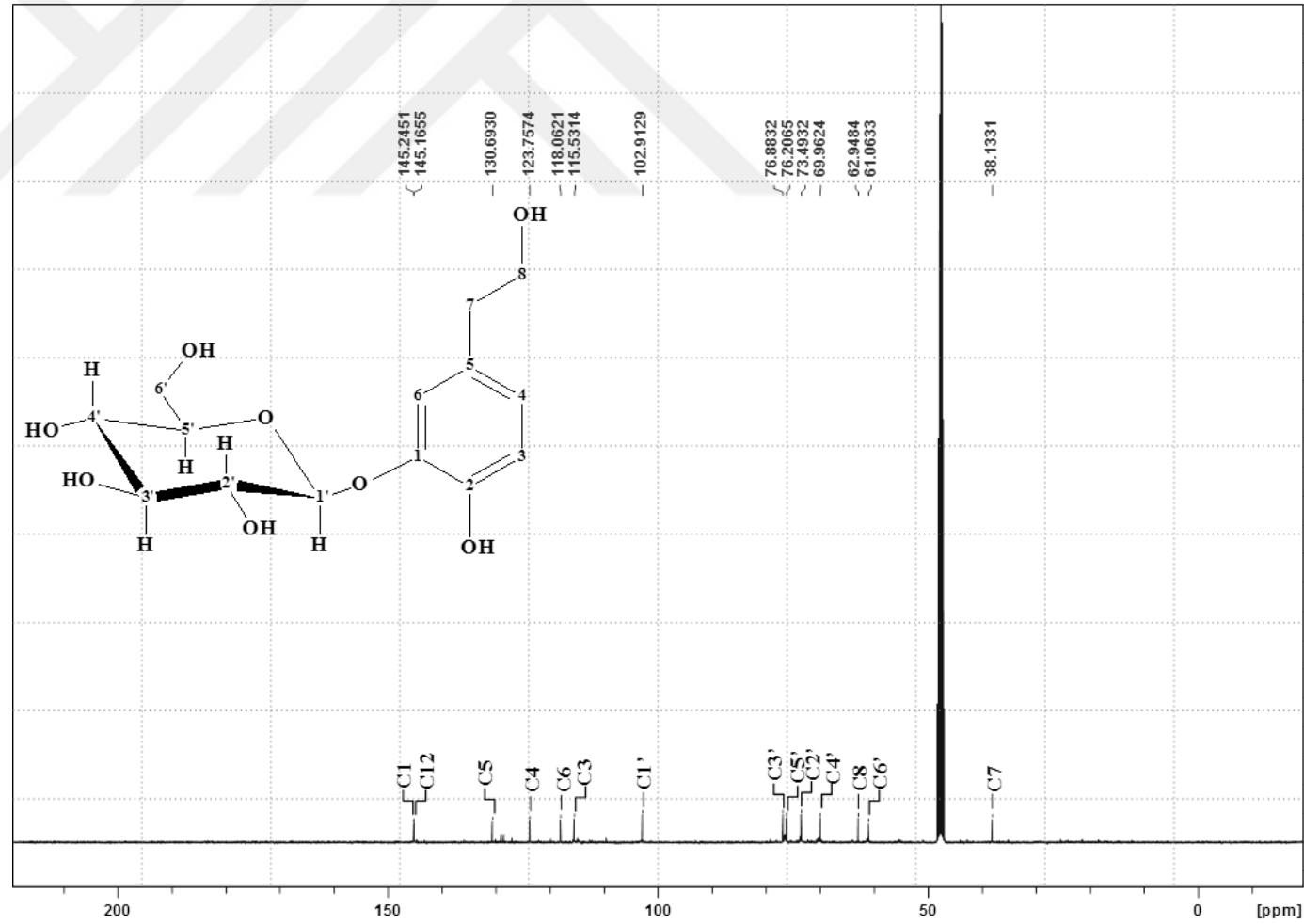
spekturumlarının spektral değerleri, literatürlerle de karşılaştırıldığında simidahurinin yapısı için uyumluluk göstermektedir (Abdel ve ark., 2008 ve Sugiyama ve ark., 1992).

Çizelge 2.13. CBS-2 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (Abdel ve ark., 2008 ve Sugiyama ve ark., 1992)

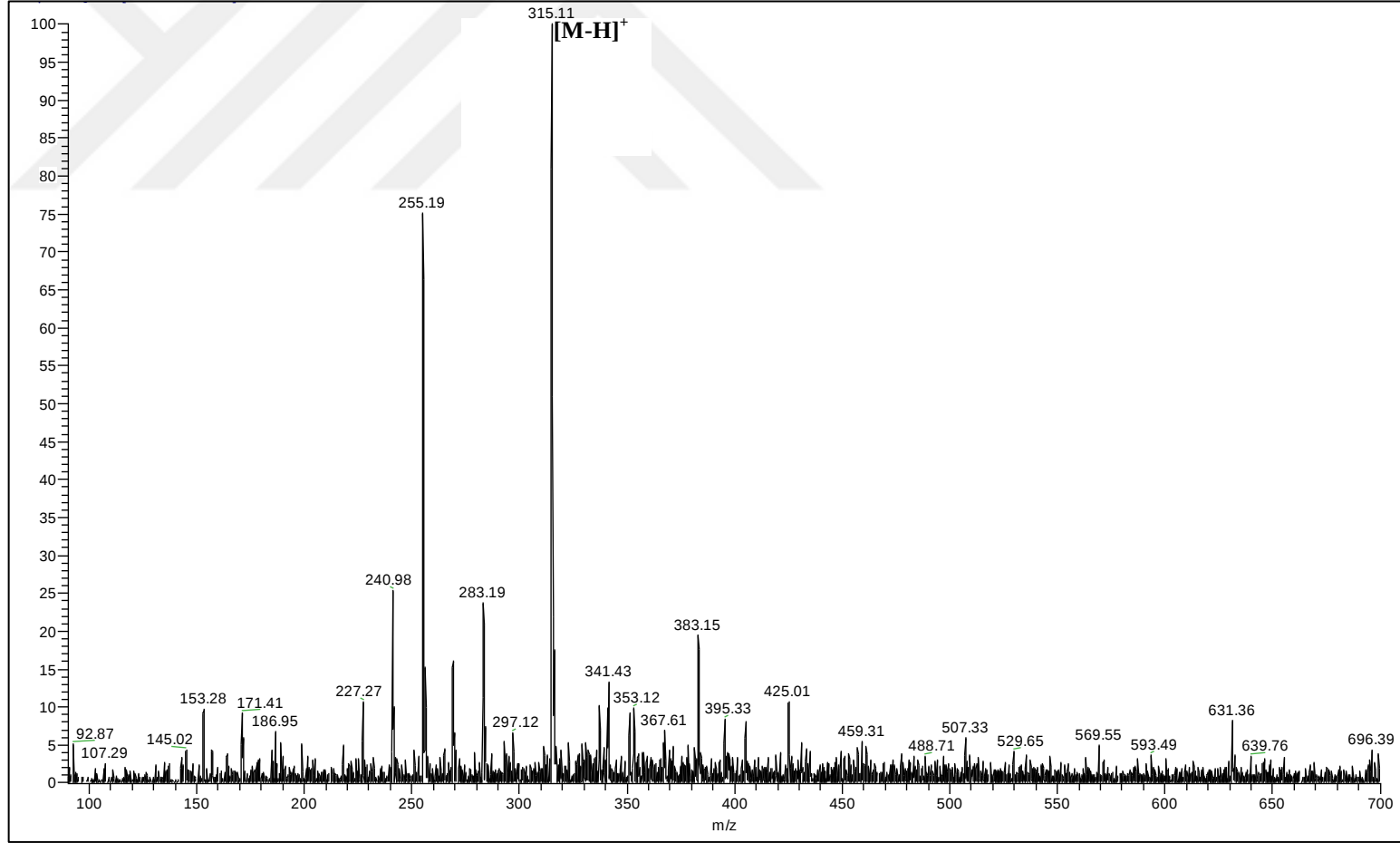
C/H	CBS-2 (Simidahurinin)				
	$\delta^1\text{H}$ (CBS-1)	$\delta^1\text{H}$ (Lit.1)	$\delta^{13}\text{C}$ (CBS-2)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.1)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.2)
1			145.3	146.8	145.3
2			145.2	146.6	148.4
3	6.79 (m)	6.75 (d, $J= 8.1$ Hz)	115.5	117.0	117.7
4	6.79 (m)	6.77 (d, $J= 8.1$ Hz)	123.8	125.2	121.4
5			130.7	132.1	136.4
6	7.10 (s)	7.07 (d, $J= 1.8$ Hz)	118.1	119.6	119.4
7	2.73 (t, $J= 7.0$ Hz)	2.71 (t, $J= 6.9$ Hz)	38.1	39.6	39.7
8	3.73 (t, $J= 7.1$ Hz)	3.70 (t, $J= 6.9$ Hz)	63.0	64.4	64.3
1'	4.78 (d, $J= 7.3$ Hz)	4.75 (d, $J= 7.7$ Hz)	102.9	104.5	104.8
2'	3.21-3.88 (m)		73.5	75.0	74.9
3'	3.21-3.88 (m)		76.9	78.4	77.7
4'	3.21-3.88 (m)		70.0	71.4	71.4
5'	3.21-3.88 (m)		76.2	77.5	78.3
6'	3.21-3.88 (m)		61.1	62.5	62.5



Şekil 3.31. CBS-2 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)

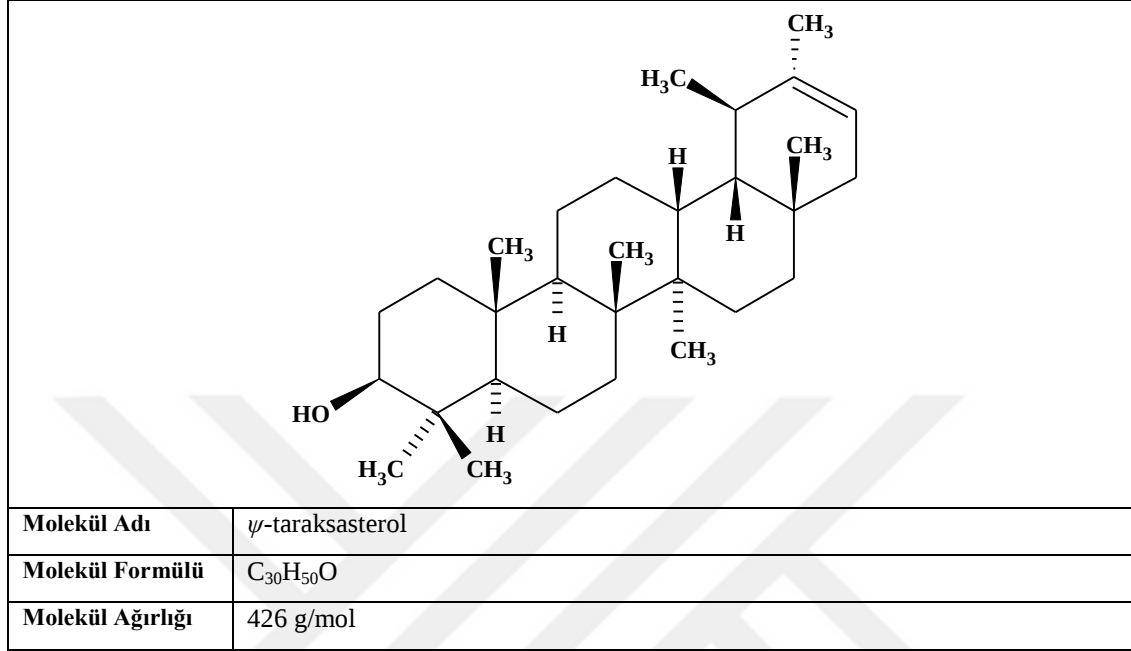


Şekil 3.32. CBS-2 bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumu (CD₃OD, 100 MHz)



Şekil 3.33. CBS-2 bileşiğinin kütle spektrumu

3.2.2.2.1.3. CBK-1 Bileşiğine Yönelik Spektroskopik Bulgular



Şekil 3.34. CBK-1 bileşiğinin yapısına ait bulgular

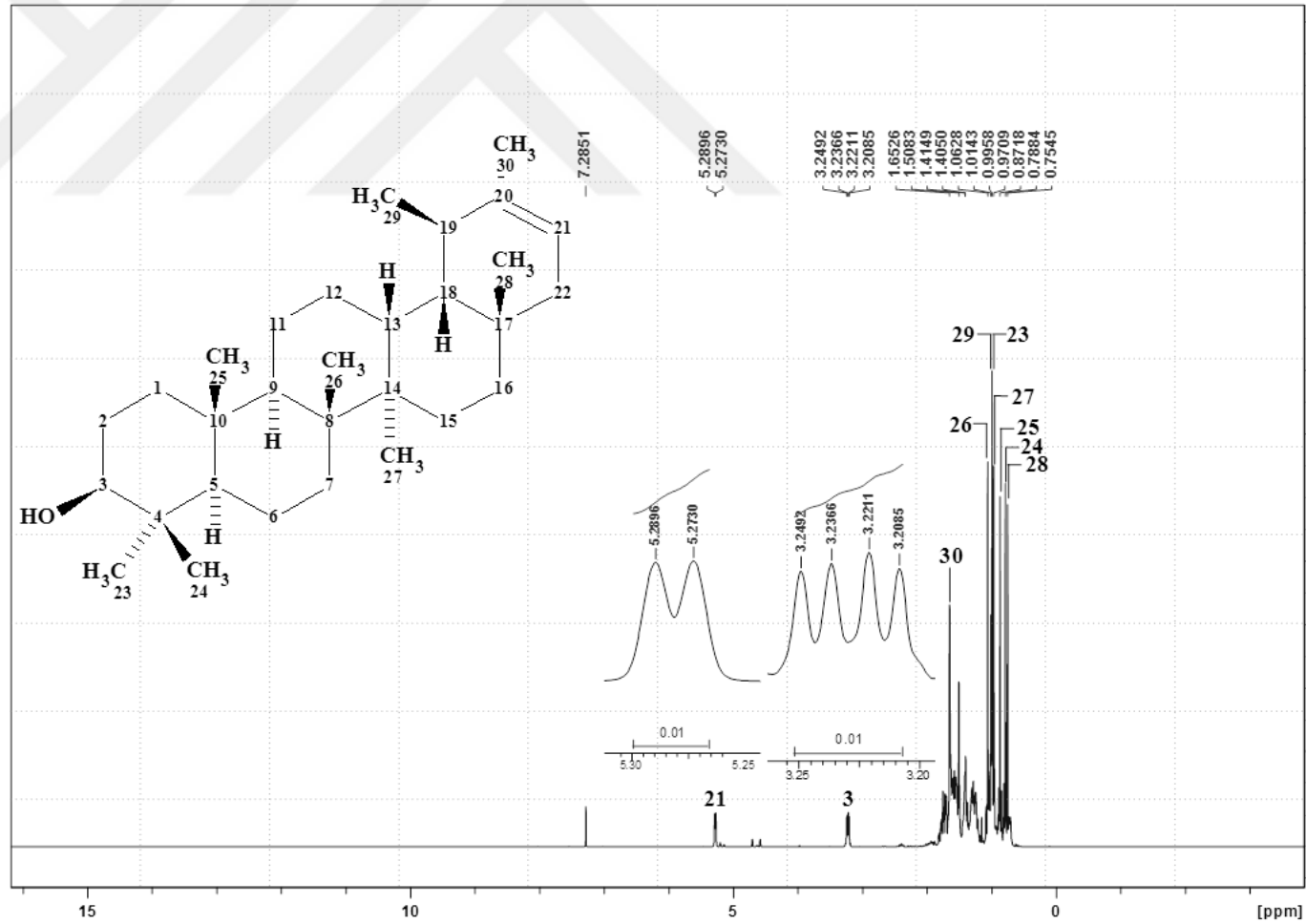
Triterpenik yapıdaki bileşiğin kütle spektrumu incelendiğinde, $C_{30}H_{50}O$ molekül formülüne sahip bileşiğin, m/z : 423.40 $[M-3H]^+$ piki gözlemlenmiştir. CBK-1 bileşiğinin 1H -NMR spektrumları incelendiğinde, $\delta=5.28$ ppm'de görülen dublet ve $\delta=3.23$ ppm'de görülen dubletin dubleti sinyalleri sırasıyla H-21 ve H-3'e atfedilmiştir. $\delta=1.00$ ppm (H-23), 0.79 ppm (H-24), 0.87 ppm (H-25), 1.06 ppm (H-26), 0.97 ppm (H-27), 0.76 ppm (H-28), 1.01 ppm (H-29) ve 1.65 ppm (H-30) sinyalleri ise metil gruplarına aittir.

^{13}C -NMR spektrumları incelendiğinde, 28.0 (C-23) ppm, 15.4 (C-24) ppm, 16.3 (C-25) ppm, 16.1 (C-26) ppm, 14.8 (C-27) ppm, 17.7 (C-28) ppm, 22.6 (C-29) ppm, 21.7 (C-30) ppm'de gelen sinyallerin metil gruplarına ait olduğu tespit edilmiştir. 79.0 ppm'de gelen sinyal C-3'e aittir. 139.9 (C-20) ppm ve 118.9 (C-21) ppm gözlenen sinyaller ise ψ -taraksasterol bileşiği için karakteristiktir.

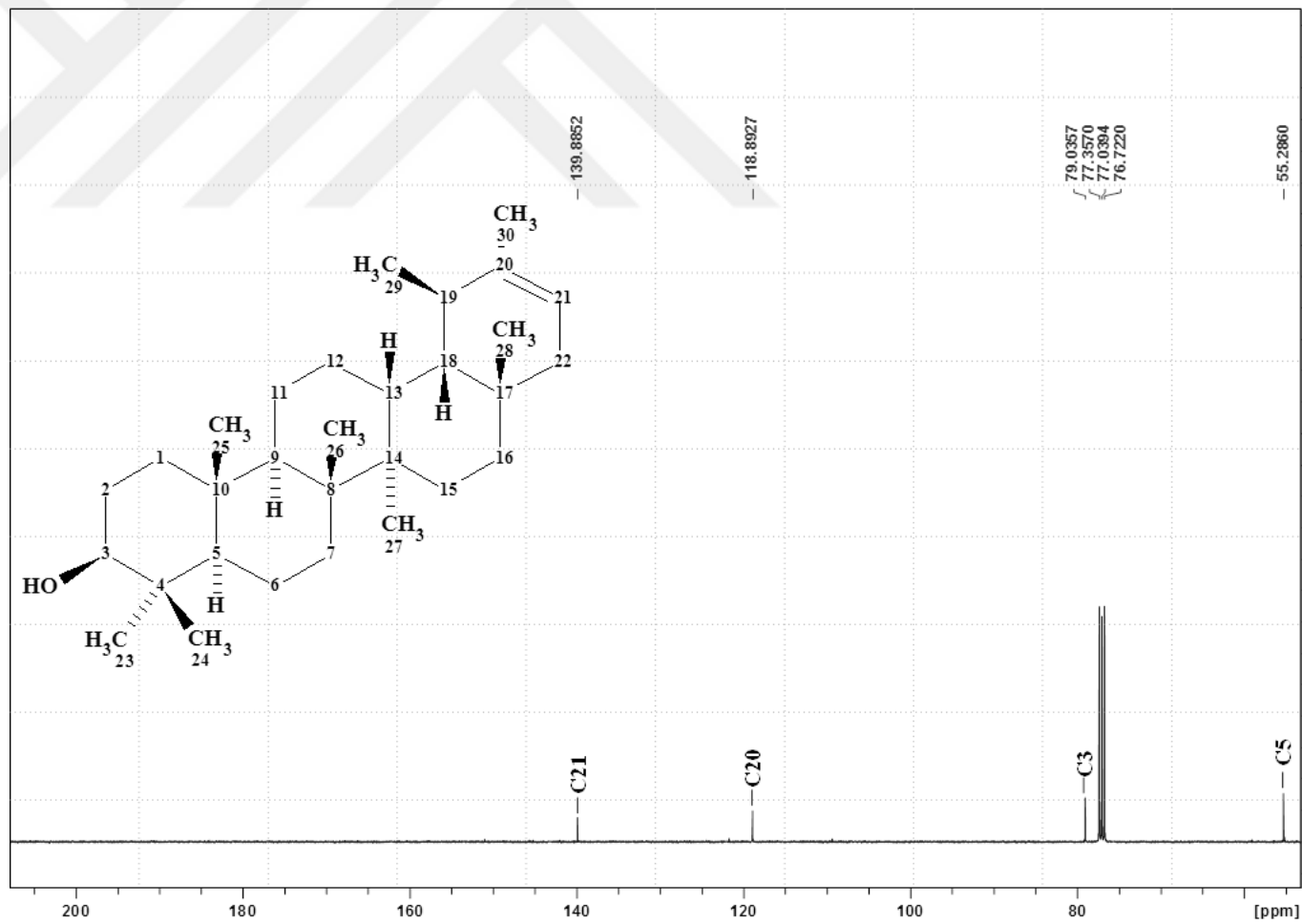
CBK-1'e ait NMR ve kütle spektrumlarındaki spektral değerler, literatürlerle de karşılaştırıldığında ψ -taraksasterol için uyumluluk göstermektedir (Li ve ark., 2012, Reynolds ve ark., 1986, ve Zitterl-Eglseer ve ark., 1997).

Çizelge 3.14. CBK-1 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (Li ve ark., 2012, Reynolds ve ark., 1986, ve Zitterl-Eglseer ve ark., 1997)

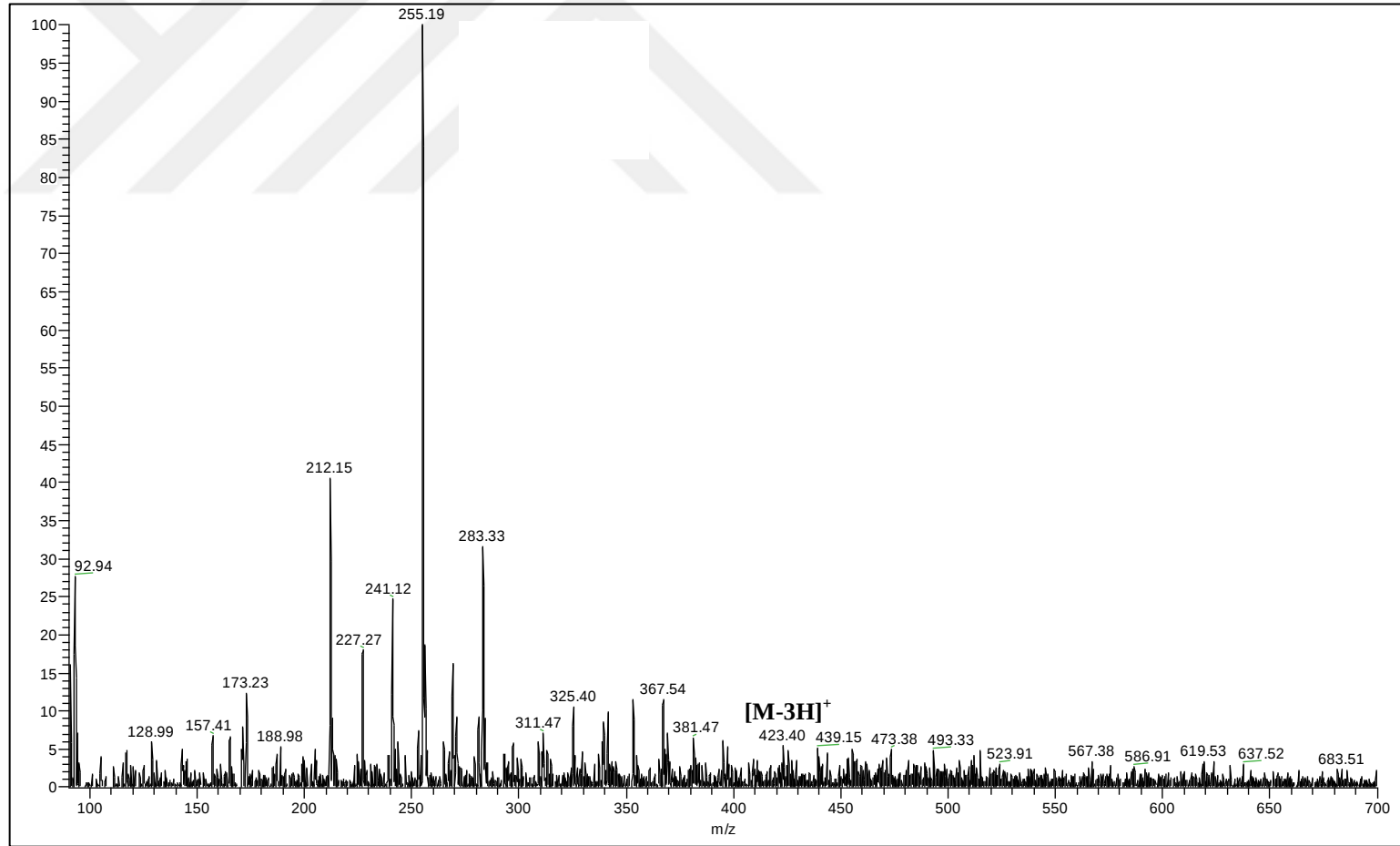
C/H	CBK-1 (ψ - Taraksasterol)					
	$\delta^1\text{H}$ (CBK-1)	$\delta^1\text{H}$ (Lit.1)	$\delta^1\text{H}$ (Lit.2)	$\delta^{13}\text{C}$ (CBK-1)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.1)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.3)
1	0.95-1.76 (m)		1.73 (d), 0.95 (t)	38.8	38.8	38.5
2	0.95-1.76 (m)		1.64 (d), 1.58 (q)	27.4	27.4	27.0
3	3.23 (dd, $J_1=11.2$ Hz, $J_2=5.0$ Hz)	3.21 (dd, $J_1=11.3$ Hz, $J_2=5.1$ Hz)	3.19 (dd)	79.0	79.0	78.1
4				38.9	38.9	38.5
5	0.95-1.76 (m)		0.70 (d)	55.3	55.3	55.0
6	0.95-1.76 (m)		1.52 (d), 1.38 (q)	18.3	18.3	17.9
7	0.95-1.76 (m)		1.41 (m), 1.37 (m)	34.2	34.3	33.9
8				41.1	41.1	41.1
9	0.95-1.76 (m)		1.30 (d)	50.4	50.5	50.4
10				37.1	37.1	36.7
11	0.95-1.76 (m)		1.58 (d), 1.26 (q)	21.6	21.6	21.1
12	0.95-1.76 (m)		1.62 (d), 1.23 (q)	27.6	27.7	27.2
13	0.95-1.76 (m)		1.61 (t)	39.2	39.2	38.8
14				42.2	42.1	41.8
15	0.95-1.76 (m)		1.78 (t), 1.01 (d)	27.0	27.1	26.4
16	0.95-1.76 (m)		1.31 (d), 1.21 (t)	36.7	36.7	36.5
17				34.4	34.4	34.0
18	0.95-1.76 (m)		1.04 (t)	48.7	48.7	48.4
19	0.95-1.76 (m)		1.57 (m)	36.3	36.3	35.9
20				139.9	139.9	139.4
21	5.28 (d, $J=6.6$ Hz)	5.26 (bd, $J=6.5$ Hz)	5.25 (d)	118.9	118.9	118.5
22	0.95-1.76 (m)		1.72 (d), 1.56 (d)	42.3	42.4	41.9
23	1.00 (s)	0.98 (s)	0.98 (s)	28.0	28.0	27.7
24	0.79 (s)	0.77 (s)	0.78 (s)	15.4	15.4	15.1
25	0.87 (s)	0.85 (s)	0.86 (s)	16.3	16.3	15.9
26	1.06 (s)	1.05 (s)	1.04 (s)	16.1	16.1	15.7
27	0.97 (s)	0.95 (s)	0.95 (s)	14.8	14.8	14.4
28	0.76 (s)	0.74 (s)	0.73 (s)	17.7	17.7	17.3
29	1.01 (bs)	0.99 (d, $J=6.5$)	0.99 (d)	22.6	22.6	22.1
30	1.65 (s)	1.63 (s)	1.64 (s)	21.7	21.6	21.2



Şekil 3.35. CBK-1 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (CDCl₃, 400 MHz)



Şekil 3.37. CBK-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)

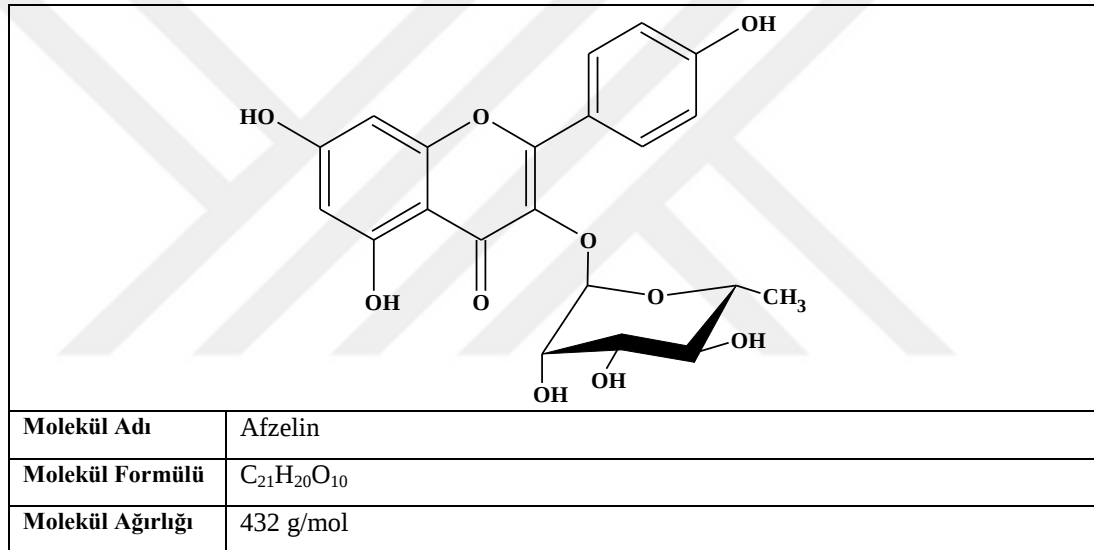


Şekil 3.38. CBK-1 bileşiğinin kütle spektrumu

3.2.2.2.2. *C. nerimaniae* BAYF Spektroskopik Bulguları

Spektroskopik (^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve KS) yöntemler kullanılarak, *C. nerimaniae*'nin topraküstü kısmının arta kalan su alt fraksiyonundan saflaştırılan, **CNS-1** ve **CNS-2** şeklinde kodlanan flavonol glikoziti yapısında iki bileşiğin sırasıyla **afzelin** ve **astragalin**, kloroform alt fraksiyonunundan elde edilen triterpenik yapılı bir bileşiğin ise **ψ -taraksasterol (CNK-1)** olduğu belirlenmiştir.

3.2.2.2.2.1. CNS-1 Bileşiğine Yönelik Spektroskopik Bulgular



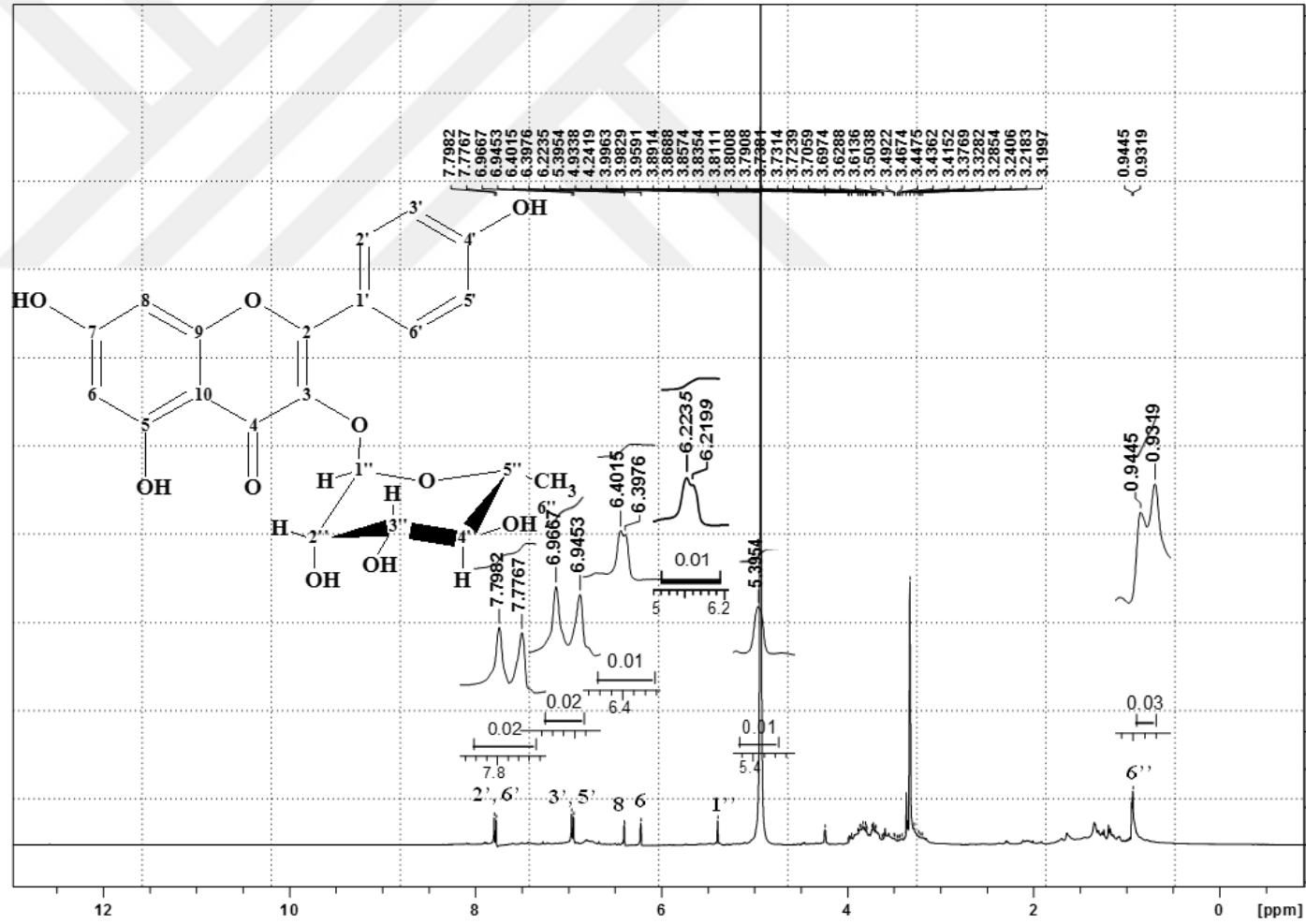
Şekil 3.39. CNS-1 bileşiğine ait yapısal bulgular

Flavonol glikoziti yapısındaki bileşiğin kütle spektrumu incelendiğinde, $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$ molekül formülüne sahip bileşiğin, m/z : 430.96 $[\text{M}-\text{H}]^+$ piki gözlemlenmiştir. Bileşiğin ^1H -NMR spektrumuna bakıldığında $\delta=7.79$ ppm'deki dublet karakterindeki sinyalin H-2' ve H-6' protonlarına, $\delta=6.96$ ppm'deki dublet karakterindeki sinyalin H-3' ve H-5' protonlarına, $\delta=6.22$ ve $\delta=6.38$ ppm'deki dublet karakterindeki sinyallerin ise sırasıyla H-6 ve H-8 protonlarına ait olduğu tespit edilmiştir. 5.40 ppm'deki sinyal ramnozün anomerik protonu olan H1" protonuna, $\delta=0.94$ ppm'deki sinyal ramnozün metil grubuna ait olan H6" protonlarına aittir. 3.41-4.24 ppm'deki sinyaller ise ramnozün diğer protonlarına (H-

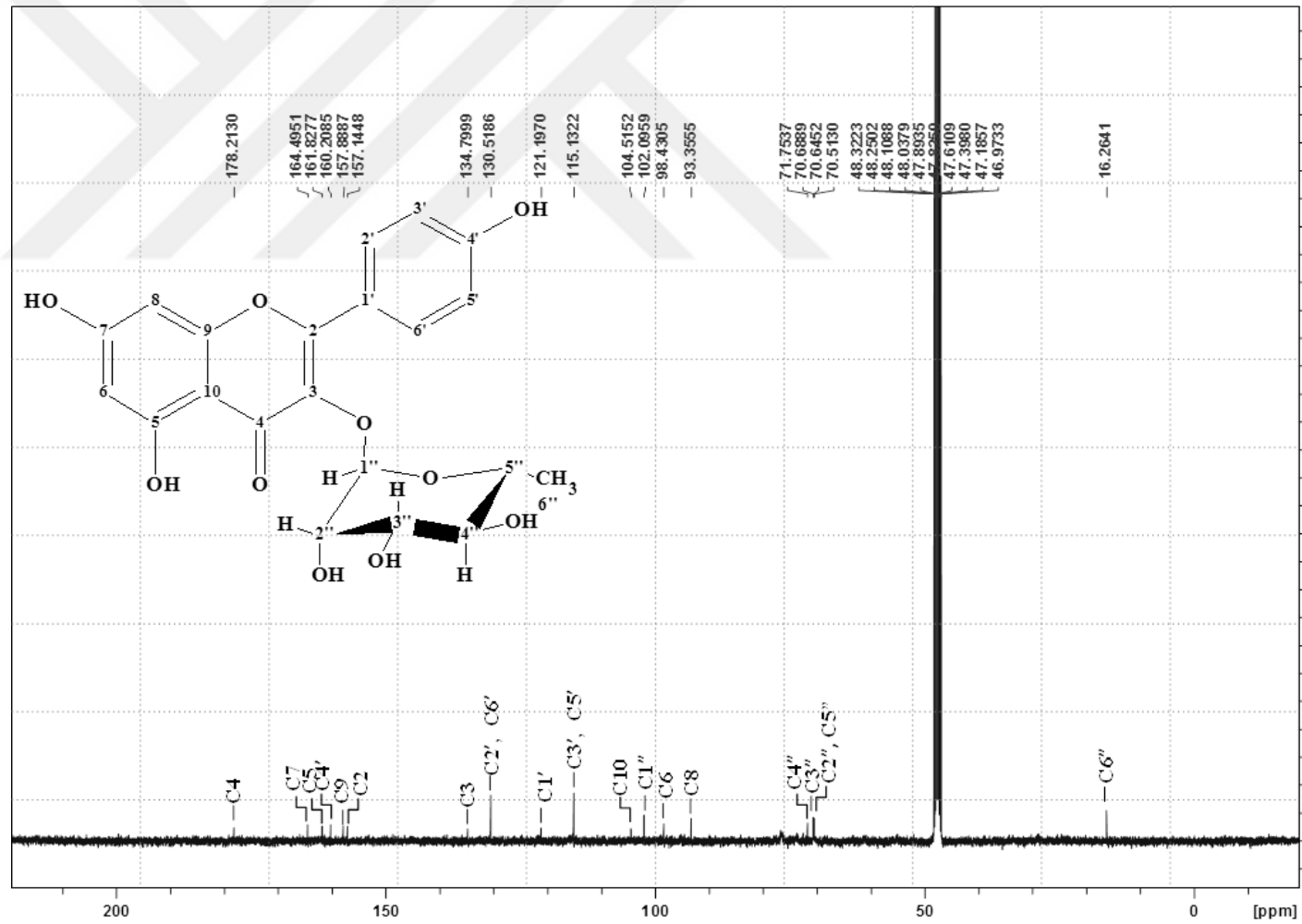
2", H-3", H-4" ve H-5") aittir. ^{13}C -NMR spektrumunda incelendiğinde 21 adet sinyal gözlenmiştir. 21 adet sinyalden 15'i flavanol iskeletine aittir. 6 adet karbon sinyali ise ramnoza aittir ve bu sinyallerden 102.1 ppm'de gelen sinyal ramnoz'un anomerik karbonuna atfedilmiştir. 16.3 ppm'de gelen sinyal ise ramnozun metil grubuna işaret etmektedir. CNS-1 bileşiğine ait NMR ve kütle spektroskopik bulguları literatürlerle de karşılaştırıldığında afzelin için uyumluluk göstermektedir (Lee ve ark., 2014; Sianturi ve ark., 2015 ve Zhang ve ark., 2014).

Çizelge 3.15. CNS-1 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (Lee ve ark., 2014 ve Zhang ve ark., 2014)

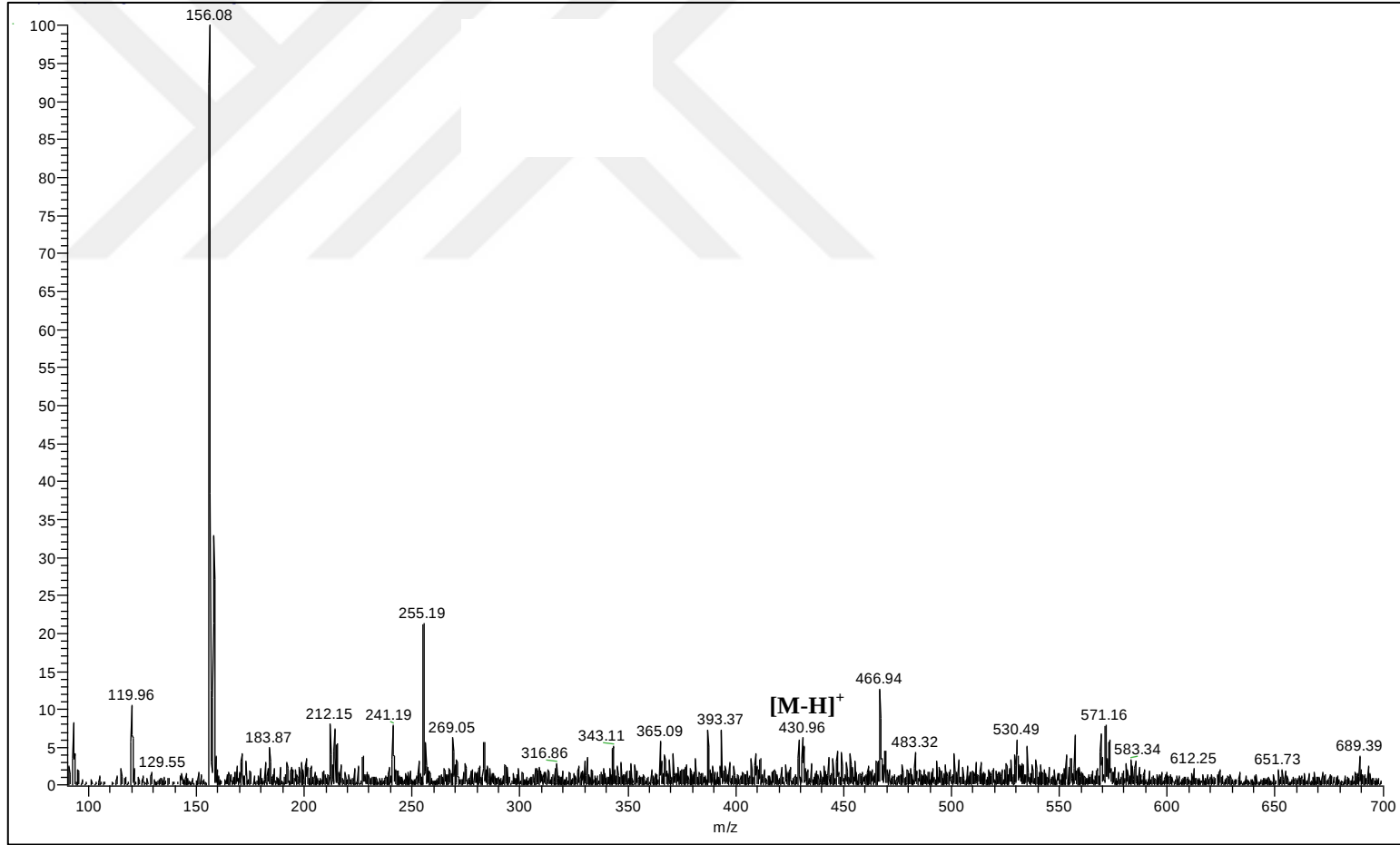
C/H	CNS-1 (Afzelin)				
	$\delta^1\text{H}$ (CNS-1)	$\delta^1\text{H}$ (Lit.1)	$\delta^{13}\text{C}$ (CNS-1)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.1)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.2)
2			157.2	158.6	157.0
3			134.8	136.2	134.7
4			178.2	179.4	178.2
5			161.8	163.2	161.8
6	6.22 (d, $J= 1.4$ Hz)	6.19 (d, $J= 2.4$ Hz)	98.4	100.1	99.1
7			164.5	166.6	164.7
8	6.40 (d, $J= 1.6$ Hz)	6.36 (d, $J= 2.2$ Hz)	93.4	94.9	94.2
9			157.9	159.2	157.7
10			104.5	105.7	104.6
1'			121.2	122.6	121.0
2'	7.79 (d, $J= 8.6$ Hz)	7.76 (d, $J= 8.8$ Hz)	130.5	131.9	131.1
3'	6.96 (d, $J= 8.6$ Hz)	6.93 (d, $J= 8.9$ Hz)	115.1	116.5	115.1
4'			160.2	161.6	160.5
5'	6.96 (d, $J= 8.6$ Hz)	6.93 (d, $J= 8.9$ Hz)	115.1	116.5	115.9
6'	7.79 (d, $J= 8.6$ Hz)	7.76 (d, $J= 8.8$ Hz)	130.5	131.9	131.1
1"	5.40 (bs)	5.36 (d, $J= 2.2$ Hz)	102.1	103.5	102.3
2"	3,41-4,24 (m)	4.21 (dd, $J_1= 1.7$ Hz, $J_2= 3.4$ Hz)	70.5	72.1	70.6
3"	3,41-4,24 (m)	3,71(m)	70.7	72.1	71.1
4"	3,41-4,24 (m)	3,60 (m)	71.8	73.1	71.6
5"	3,41-4,24 (m)	3,47 (m)	70.6	72.0	70.8
6"	0.94 (d, $J= 5.0$)	0.91 (d, $J= 5.6$)	16.3	17.7	17.9



Şekil 3.40. CNS-1 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (CD₃OD, 400 MHz)

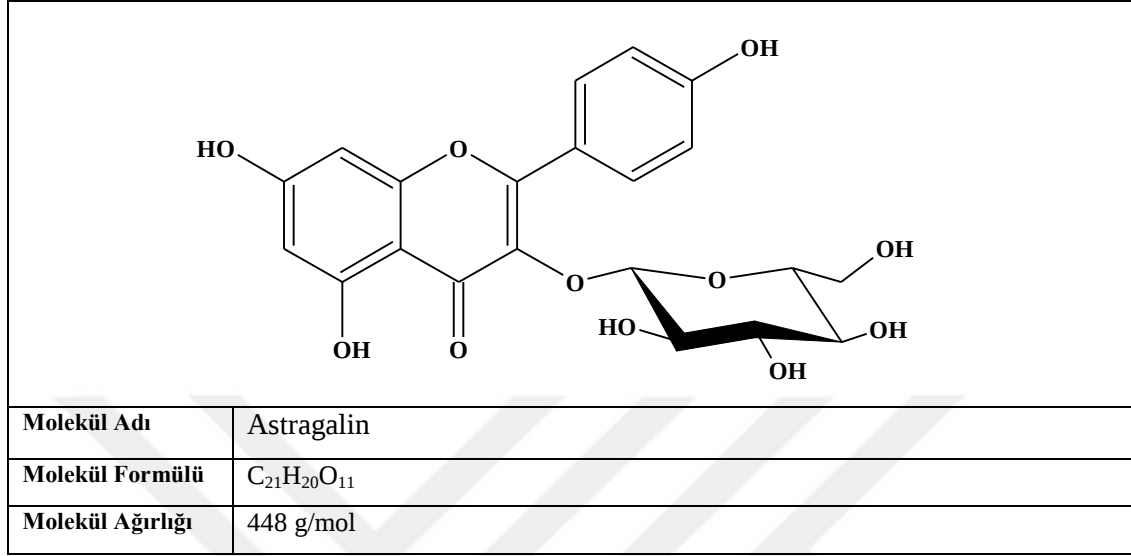


Şekil 3.41. CNS-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)



Şekil 3.42. CNS-1 bileşiğinin kütle spektrumu

3.2.2.2.2. CNS-2 Bileşiğine Yönelik Spektroskopik Bulgular



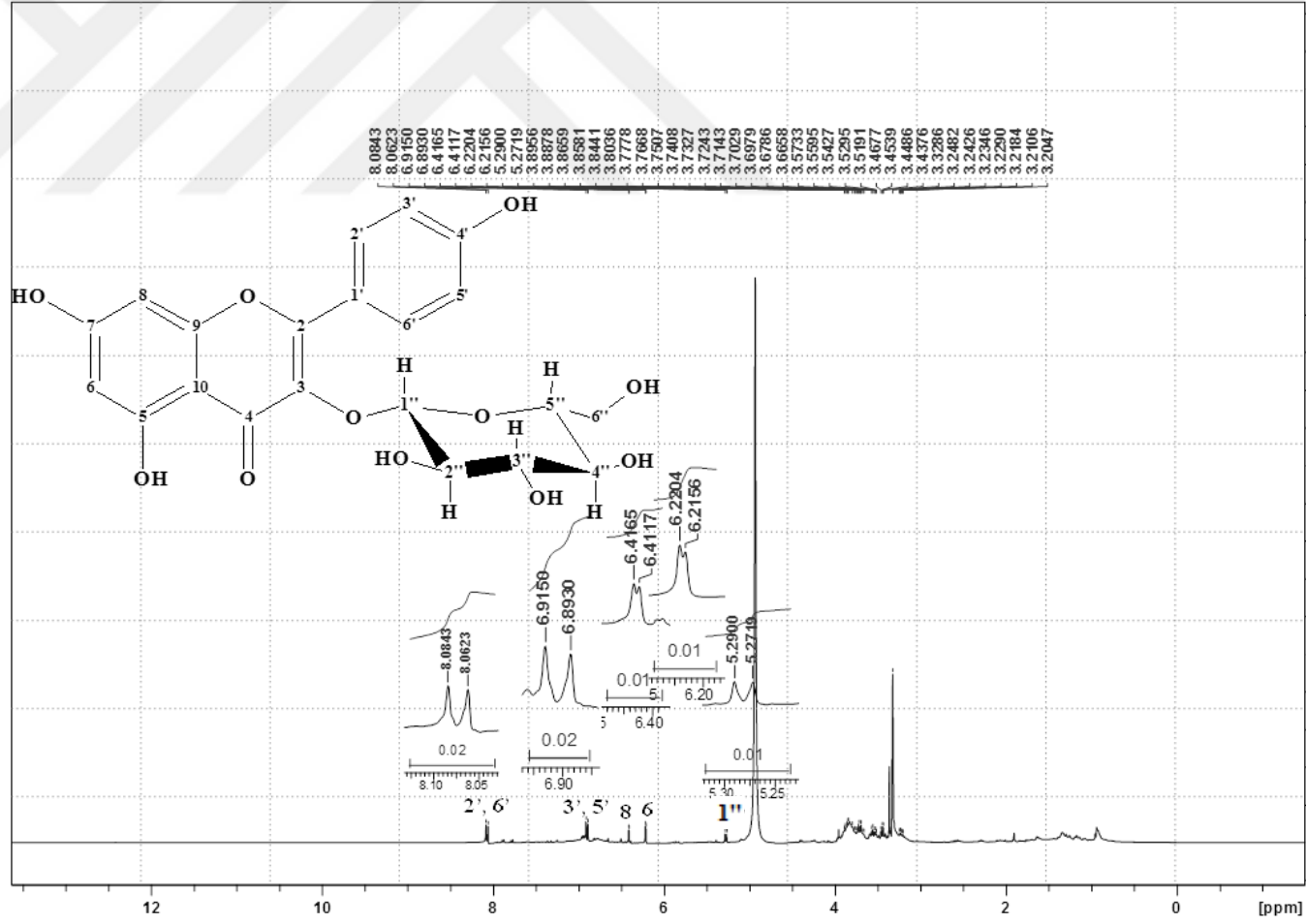
Şekil 3.43. CNS-2 bileşiğine ait yapısal bulgular

Flavonol glikoziti yapısındaki bileşiğin kütle spektrumu incelendiğinde, C₂₁H₂₀O₁₁ molekül formülüne sahip bileşiğin m/z : 447.31 [M-H]⁺ piki gözlemlenmiştir. Bileşiğin ¹H-NMR spektrumuna bakıldığında δ =8.07 ppm'deki dublet karakterindeki sinyalin H-2' ve H-6' protonlarına, δ =6.90 ppm'deki dublet karakterindeki sinyalin H-3' ve H-5' protonlarına, δ =6.22 ve δ =6.41 ppm'deki dublet karakterindeki sinyallerin ise sırasıyla H-6 ve H-8 protonlarına ait olduğu tespit edilmiştir. δ =5.28 ppm'deki sinyal glukozun anomerik protonu olan H1" protonuna, δ =3.20-3.89 ppm aralığındaki sinyaller ise glukozun diğer protonlarına (H-2", H-3", H-4" ve H-5") aittir.

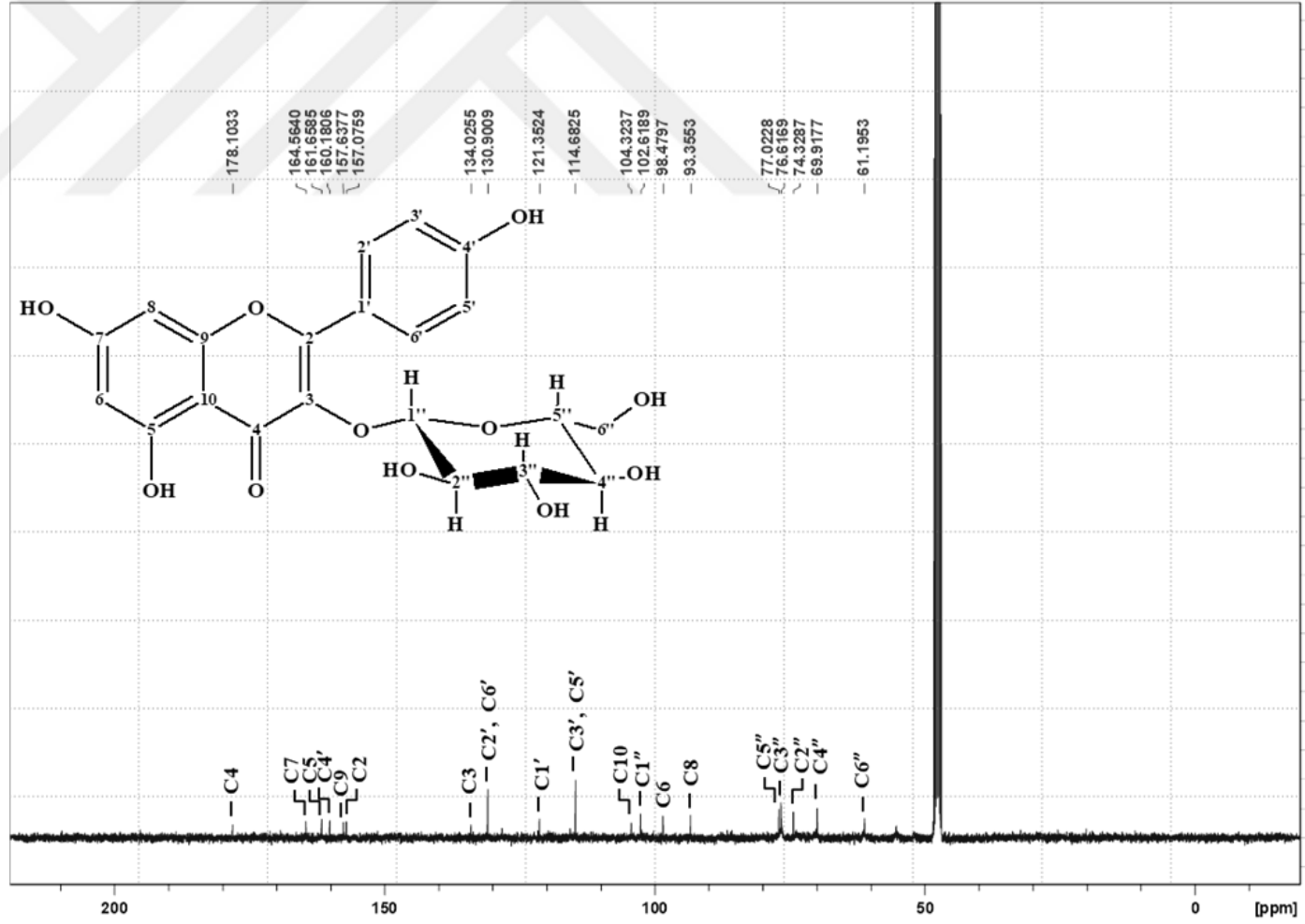
¹³C-NMR spektrumunda incelendiğinde 21 adet sinyal gözlenmiştir. 21 adet sinyalden 15'i flavonol iskeletine aittir. 6 adet karbon sinyali ise glukozu aittir ve bu sinyallerden 102.6 ppm'de gelen sinyal glukozun anomerik karbonuna atfedilmiştir. CNS-2 bileşiğine ait NMR ve kütle spektrumlarındaki spektral değerler literatürlerle karşılaştırıldığında astragalin için uyumluluk göstermektedir (Seo ve ark., 2016 ve Wei ve ark., 2011).

Çizelge 3.16. CNS-2 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (Seo ve ark., 2016 ve Wei ve ark., 2011)

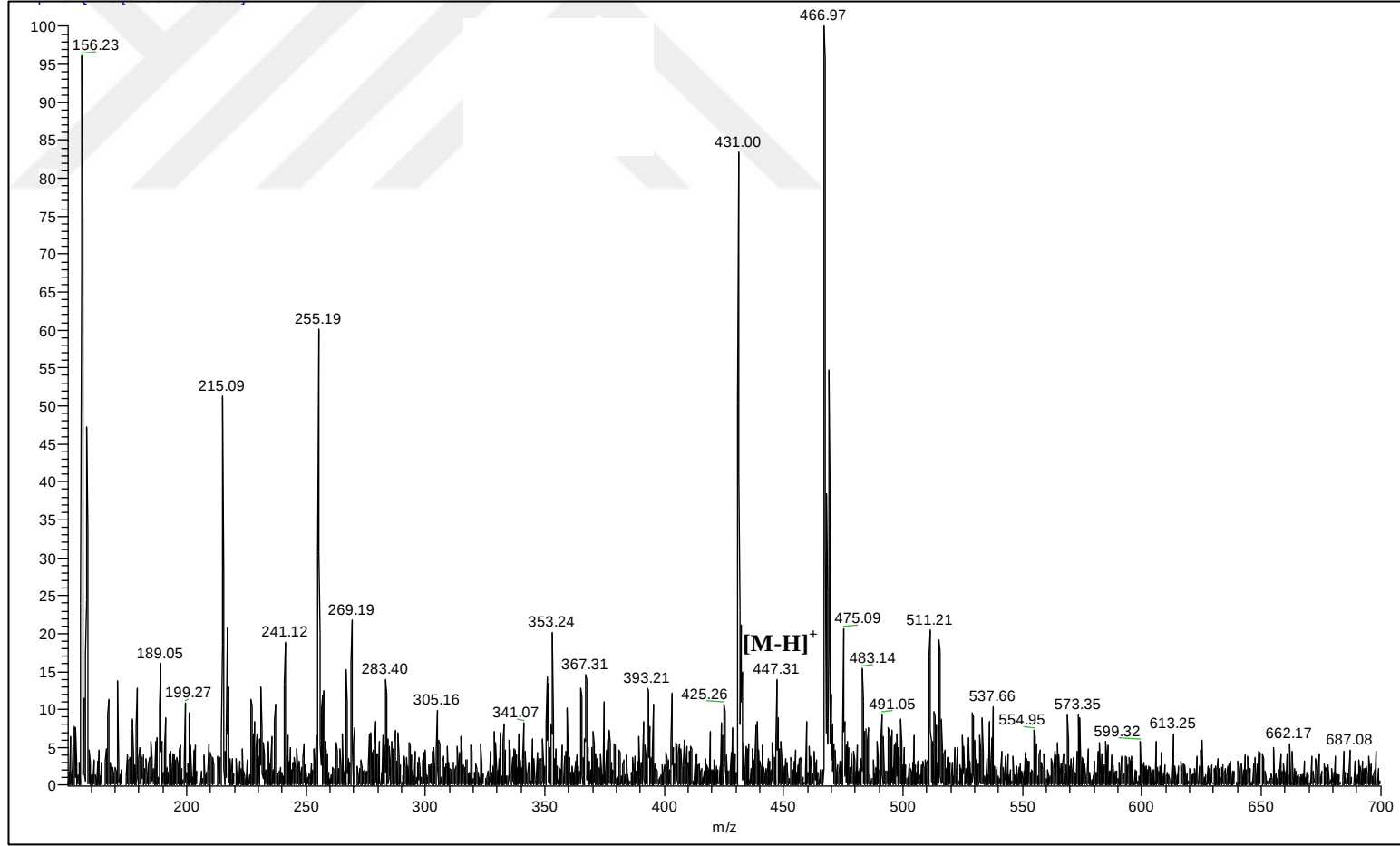
C/H	CNS-2 (Astragalin)				
	$\delta^1\text{H}$ (CNS-2)	$\delta^1\text{H}$ (Lit.1)	$\delta^{13}\text{C}$ (CNS-2)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.2)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.1)
2			157.1	158.0	156.7
3			134.0	135.3	133.7
4			178.1	179.2	177.9
5			161.7	162.7	161.7
6	6.22 (<i>d</i> , <i>J</i> = 1.9 Hz)	6.19 (<i>d</i> , <i>J</i> = 2.0 Hz)	98.5	99.8	99.1
7			164.6	165.7	164.6
8	6.41 (<i>d</i> , <i>J</i> = 1.9 Hz)	6.37 (<i>d</i> , <i>J</i> = 2.0 Hz)	93.4	94.8	94.1
9			157.6	158.8	156.8
10			104.3	105.6	104.5
1'			121.4	122.5	121.4
2'	8.07 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8.8 Hz)	8.05 (<i>d</i> , <i>J</i> = 9.2 Hz)	130.9	132.1	131.3
3'	6.90 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8.8 Hz)	6.89 (<i>d</i> , <i>J</i> = 9.2 Hz)	114.7	115.9	115.6
4'			160.2	161.2	160.4
5'	6.90 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8.8 Hz)	6.89 (<i>d</i> , <i>J</i> = 9.2 Hz)	114.7	115.9	115.6
6'	8.07 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8.8 Hz)	8.05 (<i>d</i> , <i>J</i> = 9.2 Hz)	130.9	132.1	131.3
1''	5.28 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7.2 Hz)	5.21 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7.6 Hz)	102.6	104.0	101.3
2''	3.20-3.89 (<i>m</i>)	3.43 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 8.4 Hz, <i>J</i> ₂ = 7.6 Hz)	74.3	75.6	74.7
3''	3.20-3.89 (<i>m</i>)	3.43 (overlapped)	76.6	78.0	76.9
4''	3.20-3.89 (<i>m</i>)	3.43 (overlapped)	69.9	71.2	70.4
5''	3.20-3.89 (<i>m</i>)	3.21 (<i>m</i>)	77.0	78.2	77.9
6''	3.20-3.89 (<i>m</i>)	3.69 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 12.0 Hz, <i>J</i> ₂ = 2.4 Hz) 3.53 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 12.0 Hz, <i>J</i> ₂ = 5.6 Hz)	61.2	62.4	61.3



Şekil 3.44. CNS-2 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)

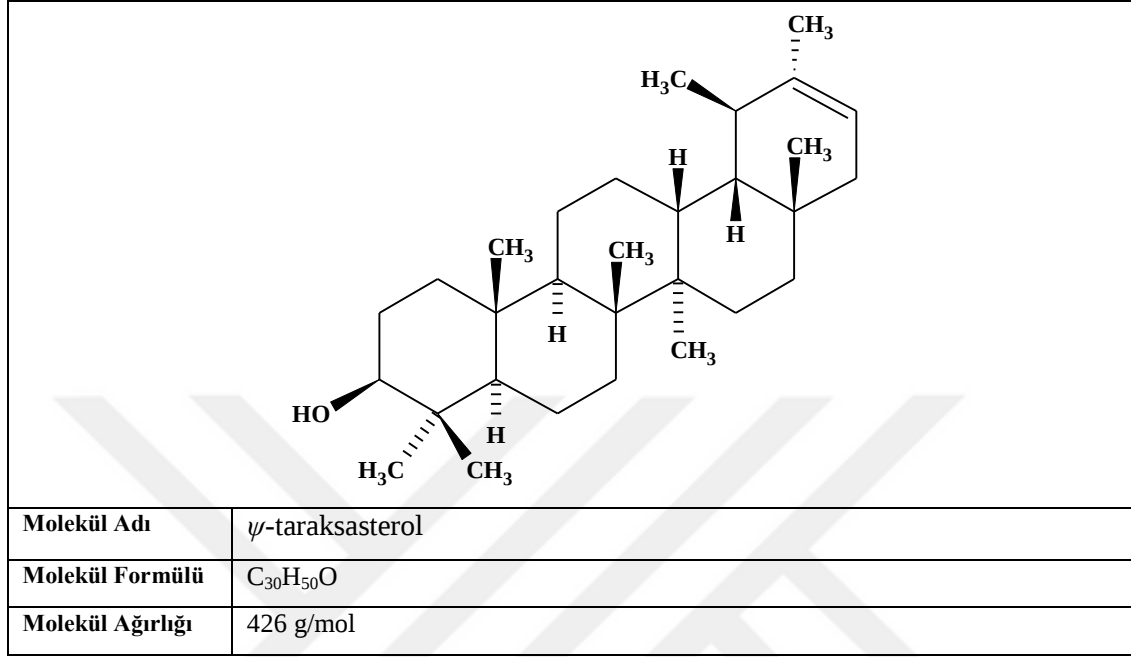


Şekil 3.45. CNS-2 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)



Şekil 3.46. CNS-2 bileşiğinin kütle spektrumu

3.2.2.2.3. CNK-1 Bileşiğine Yönelik Spektroskopik Bulgular



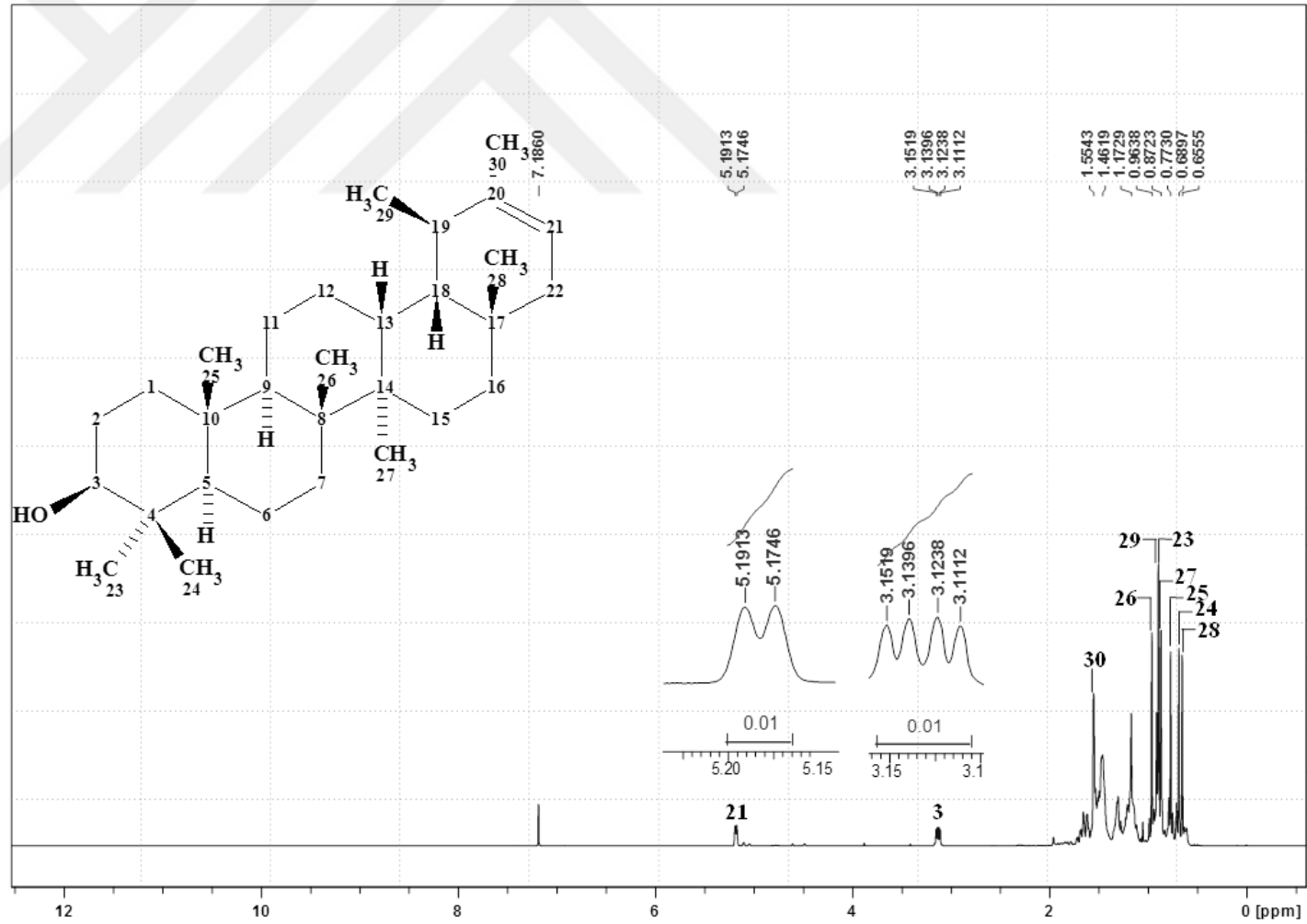
Şekil 3.47. CNK-1 bileşiğine ait yapısal bulgular

Triterpenik yapıdaki bileşiğin kütle spektrumu incelendiğinde, $C_{30}H_{50}O$ molekül formülüne sahip bileşiğin, m/z : 423.12 $[M-3H]^+$ piki gözlemlenmiştir. 1H -NMR spektrumları incelendiğinde, $\delta=3.13$ ppm'deki dubletin dubleti ve $\delta=5.18$ ppm'de görülen geniş dublet ve sinyaller sırasıyla H-3 ve H-21'e atfedilmiştir. $\delta=0.90$ ppm (H-23), 0.69 ppm (H-24), 0.77 ppm (H-25), 0.96 ppm (H-26), 0.87 ppm (H-27), 0.66 ppm (H-28), 0.90 ppm (H-29) ve 1.55 ppm (H-30) sinyalleri metil gruplarına aittir.

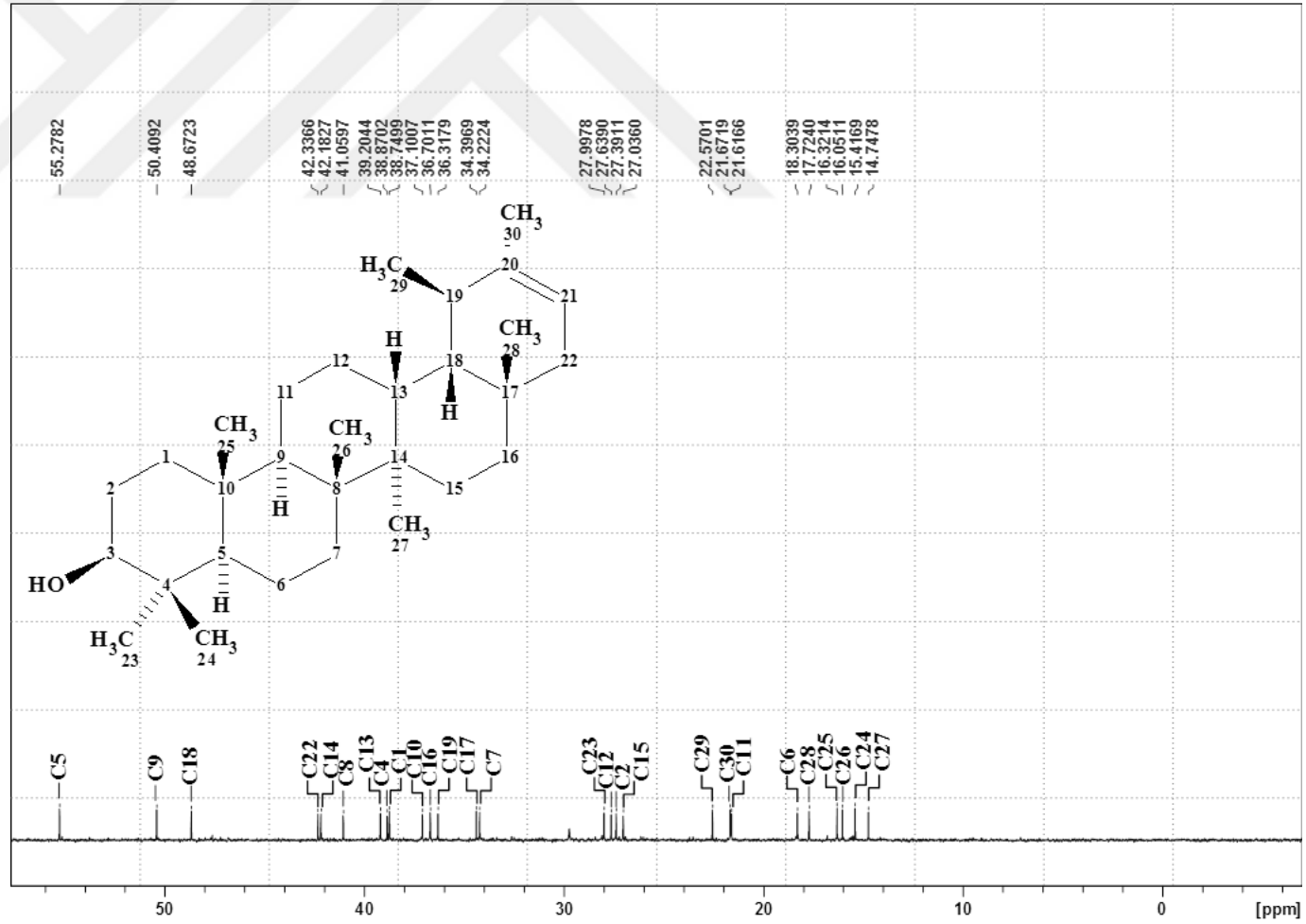
^{13}C -NMR spektrumları incelendiğinde, 28.0 (C-23) ppm, 15.4 (C-24) ppm, 16.3 (C-25) ppm, 16.1 (C-26) ppm, 14.8 (C-27) ppm, 17.7 (C-28) ppm, 22.6 (C-29) ppm, 21.7 (C-30) ppm'de gelen sinyallerin metil gruplarına ait olduğu tespit edilmiştir. 79.0 ppm'de gelen sinyal C-3'e aittir. 139.9 ppm'deki C-20 sinyali ve 118.9 ppm'deki C-21 sinyali ψ -taraksasterol için karakteristiktir. CNK-1 bileşiğine ait NMR ve kütle spektrumlarındaki spektral değerler literatürlerle de karşılaştırıldığında ψ -taraksasterol için uygunluk göstermektedir (Li ve ark., 2012, Reynolds ve ark., 1986, ve Zitterl-Eglseer ve ark., 1997).

Çizelge 3.17. CNK-1 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (Li ve ark., 2012, Reynolds ve ark., 1986, ve Zitterl-Eglseer ve ark., 1997)

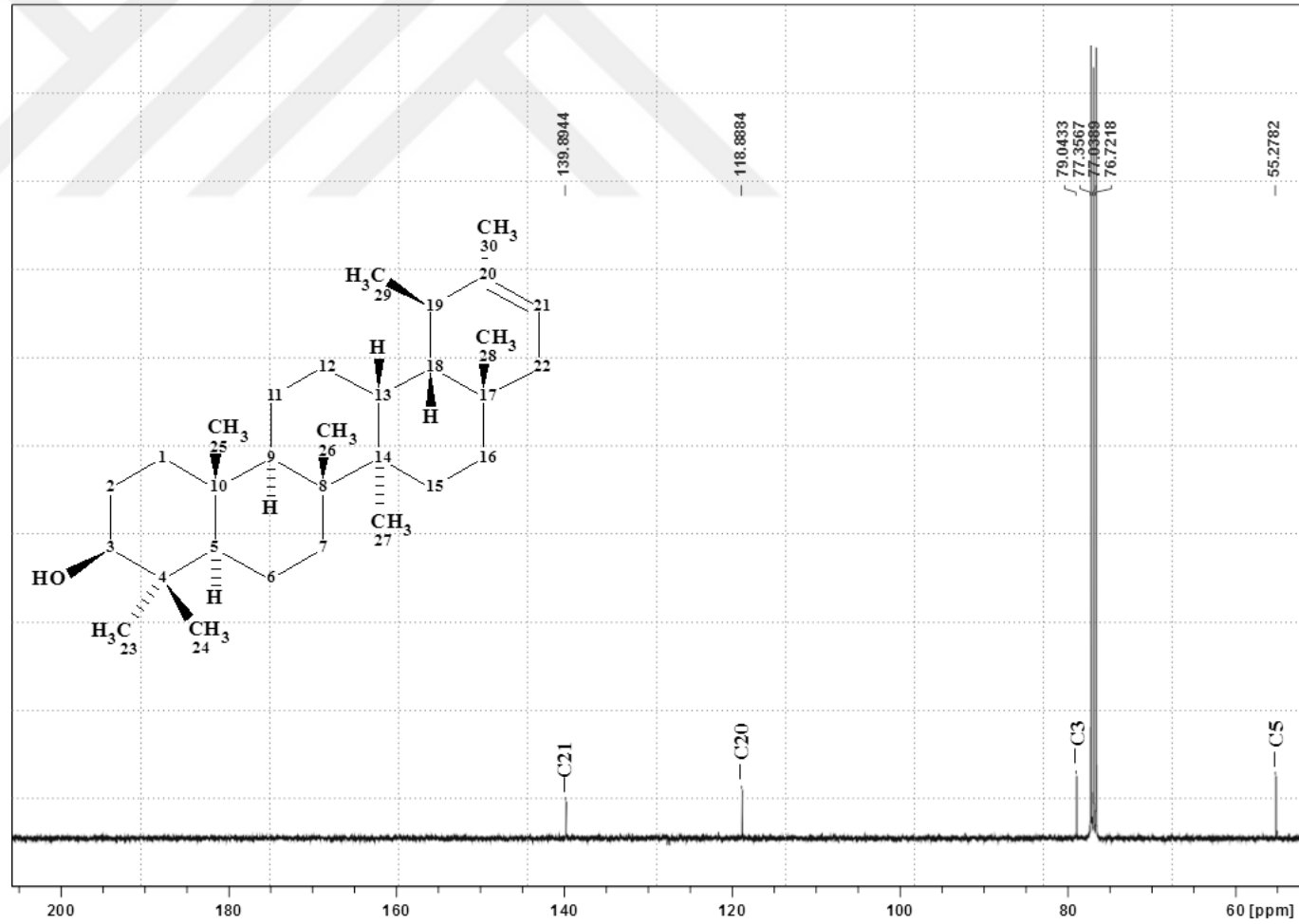
C/H	CNK-1 (ψ - Taraksasterol)					
	$\delta^1\text{H}$ (CNK-1)	$\delta^1\text{H}$ (Lit.1)	$\delta^1\text{H}$ (Lit.2)	$\delta^{13}\text{C}$ (CNK-1)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.1)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.3)
1	0.86-1.66 (<i>m</i>)		1.73 (<i>d</i>), 0.95 (<i>t</i>)	38.8	38.8	38.5
2	0.86-1.66 (<i>m</i>)		1.64 (<i>d</i>), 1.58 (<i>q</i>)	27.4	27.4	27.0
3	3.13 (<i>dd</i> , $J_1=5.0$ Hz, $J_2=11.0$ Hz)	3.21 (<i>dd</i> , $J_1=5.1$ Hz, $J_2=11.3$ Hz)	3.19 (<i>dd</i>)	79.0	79.0	78.1
4				38.9	38.9	38.5
5	0.86-1.66 (<i>m</i>)		0.70 (<i>d</i>)	55.3	55.3	55.0
6	0.86-1.66 (<i>m</i>)		1.52 (<i>d</i>), 1.38 (<i>q</i>)	18.3	18.3	17.9
7	0.86-1.66 (<i>m</i>)		1.41 (<i>m</i>), 1.37 (<i>m</i>)	34.2	34.3	33.9
8				41.1	41.1	41.1
9	0.86-1.66 (<i>m</i>)		1.30 (<i>d</i>)	50.4	50.5	50.4
10				37.1	37.1	36.7
11	0.86-1.66 (<i>m</i>)		1.58 (<i>d</i>), 1.26 (<i>q</i>)	21.6	21.6	21.1
12	0.86-1.66 (<i>m</i>)		1.62 (<i>d</i>), 1.23 (<i>q</i>)	27.6	27.7	27.2
13	0.86-1.66 (<i>m</i>)		1.61 (<i>t</i>)	39.2	39.2	38.8
14				42.2	42.1	41.8
15	0.86-1.66 (<i>m</i>)		1.78 (<i>t</i>), 1.01 (<i>d</i>)	27.0	27.1	26.4
16	0.86-1.66 (<i>m</i>)		1.31 (<i>d</i>), 1.21 (<i>t</i>)	36.7	36.7	36.5
17				34.4	34.4	34.0
18	0.86-1.66 (<i>m</i>)		1.04 (<i>t</i>)	48.7	48.7	48.4
19	0.86-1.66 (<i>m</i>)		1.57 (<i>m</i>)	36.3	36.3	35.9
20				139.9	139.9	139.4
21	5.18 (<i>d</i> , $J=6.7$ Hz)	5.26 (<i>bd</i> , $J=6.5$ Hz)	5.25 (<i>d</i>)	118.9	118.9	118.5
22	0.86-1.66 (<i>m</i>)		1.72 (<i>d</i>), 1.56 (<i>d</i>)	42.3	42.4	41.9
23	0.90 (<i>s</i>)	0.98 (<i>s</i>)	0.98 (<i>s</i>)	28.0	28.0	27.7
24	0.69 (<i>s</i>)	0.77 (<i>s</i>)	0.78 (<i>s</i>)	15.4	15.4	15.1
25	0.77 (<i>s</i>)	0.85 (<i>s</i>)	0.86 (<i>s</i>)	16.3	16.3	15.9
26	0.96 (<i>s</i>)	1.05 (<i>s</i>)	1.04 (<i>s</i>)	16.1	16.1	15.7
27	0.87 (<i>s</i>)	0.95 (<i>s</i>)	0.95 (<i>s</i>)	14.8	14.8	14.4
28	0.66 (<i>s</i>)	0.74 (<i>s</i>)	0.73 (<i>s</i>)	17.7	17.7	17.3
29	0.90 (<i>bs</i>)	0.99 (<i>d</i> , $J=6.5$)	0.99 (<i>d</i>)	22.6	22.6	22.1
30	1.55 (<i>s</i>)	1.63 (<i>s</i>)	1.64 (<i>s</i>)	21.7	21.6	21.2



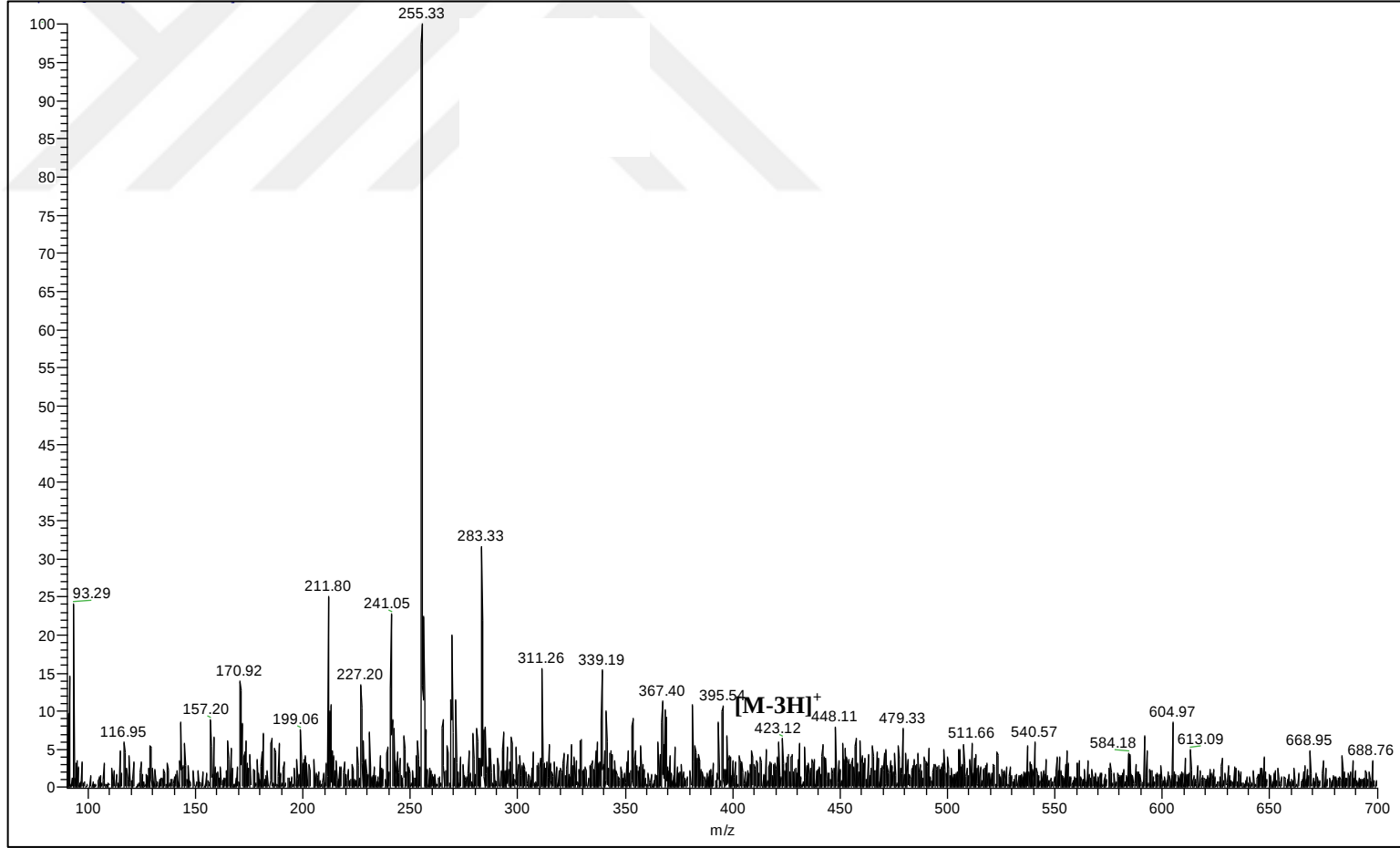
Şekil 3.48. CNK-1 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (CDCl₃, 400 MHz)



Şekil 3.49. CNK-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)



Şekil 3.50. CNK-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)

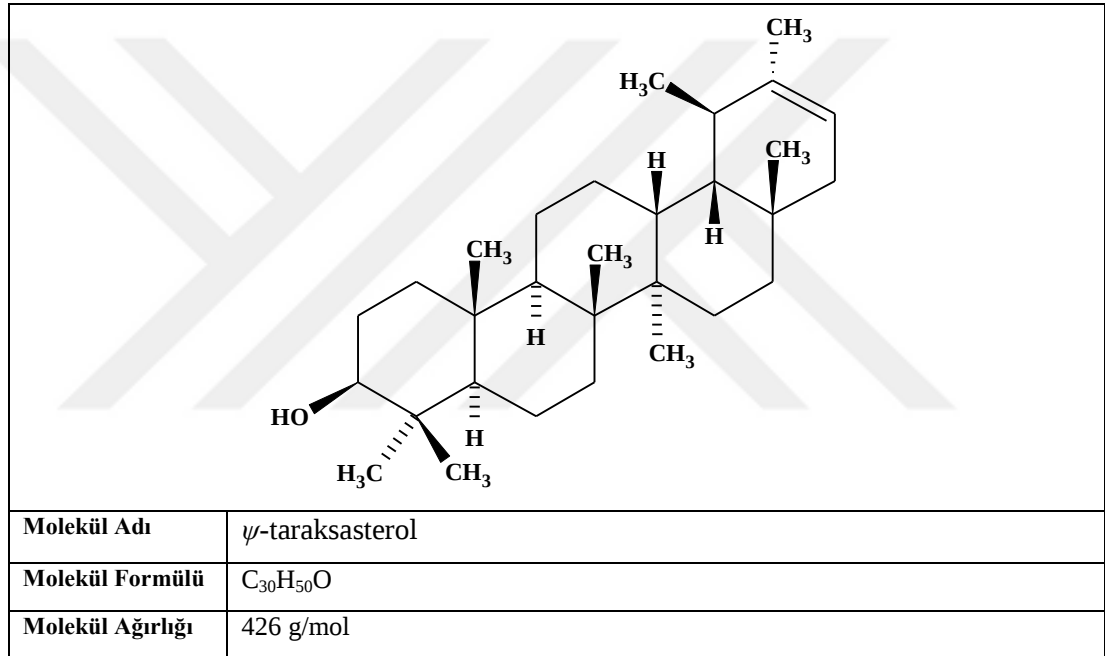


Şekil 3.51. CNK-1 bileşiğinin kütle spektrumu

3.2.2.2.3. *C. sommieri* BAYF Spektroskopik Bulguları

Spektroskopik (^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve KS) yöntemler kullanılarak, *C. sommieri*'nin toprak üstü kısmının kloroform alt fraksiyonunundan elde edilen CSK-1 ve CSK-2 olarak kodlanan triterpenik yapıli iki maddenin sırasıyla ψ -taraksasterol ve lupeol olduğu belirlenmiştir.

3.2.2.2.3.1. CSK-1 Bileşiğine Yönelik Spektroskopik Bulgular



Şekil 3.52. CSK-1 bileşiğine ait yapısal bulgular

Triterpenik yapıdaki bileşimin kütle spektrumu incelendiğinde, $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ molekül formülüne sahip bileşimin, m/z : 427.32 $[\text{M}+\text{H}]^+$ piki gözlemlenmiştir.

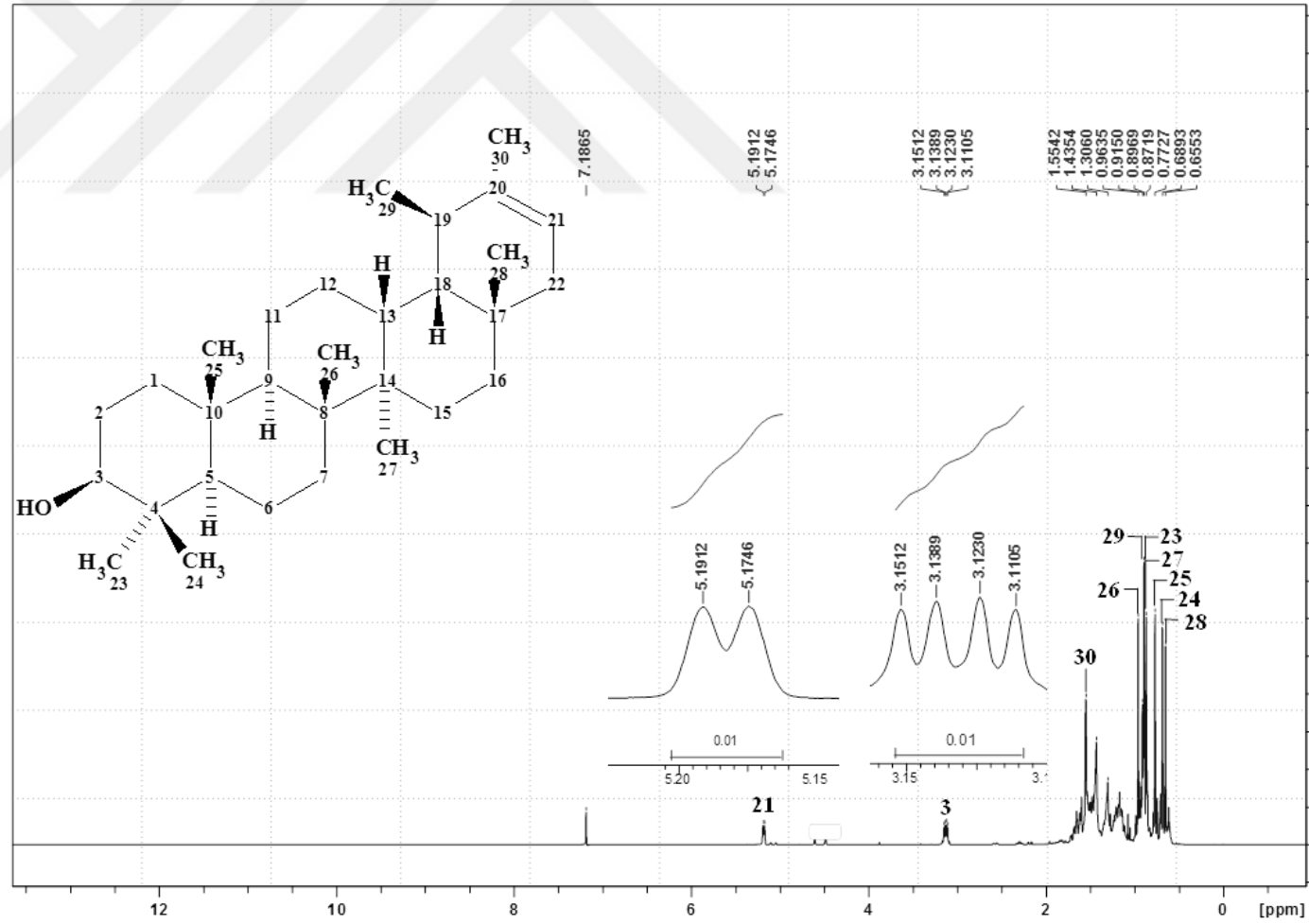
Çizelge 3.18. CSK-1 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (Li ve ark., 2012, Reynolds ve ark., 1986, ve Zitterl-Eglseer ve ark., 1997).

CSK-1 (ψ - Taraksasterol)						
C/H	$\delta^1\text{H}$ (CSK-1)	$\delta^1\text{H}$ (Lit.1)	$\delta^1\text{H}$ (Lit.2)	$\delta^{13}\text{C}$ (CSK-1)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.1)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.3)
1	0.86-1.66 (m)		1.73 (d), 0.95 (t)	38.8	38.8	38.5
2	0.86-1.66 (m)		1.64 (d), 1.58 (q)	27.4	27.4	27.0
3	3.13 (dd, $J_1=11.3$ Hz, $J_2=5.0$ Hz)	3.21 (dd, $J_1=11.3$ Hz, $J_2=5.1$ Hz)	3.19 (dd)	79.1	79.0	78.1
4				38.9	38.9	38.5
5	0.86-1.66 (m)		0.70 (d)	55.3	55.3	55.0
6	0.86-1.66 (m)		1.52 (d), 1.38 (q)	18.3	18.3	17.9
7	0.86-1.66 (m)		1.41 (m), 1.37 (m)	34.2	34.3	33.9
8				41.1	41.1	41.1
9	0.86-1.66 (m)		1.30 (d)	50.4	50.5	50.4
10				37.1	37.1	36.7
11	0.86-1.66 (m)		1.58 (d), 1.26 (q)	21.6	21.6	21.1
12	0.86-1.66 (m)		1.62 (d), 1.23 (q)	27.6	27.7	27.2
13	0.86-1.66 (m)		1.61 (t)	39.2	39.2	38.8
14				42.2	42.1	41.8
15	0.86-1.66 (m)		1.78 (t), 1.01 (d)	27.0	27.1	26.4
16	0.86-1.66 (m)		1.31 (d), 1.21 (t)	36.7	36.7	36.5
17				34.4	34.4	34.0
18	0.86-1.66 (m)		1.04 (t)	48.7	48.7	48.4
19	0.86-1.66 (m)		1.57 (m)	36.3	36.3	35.9
20				139.9	139.9	139.4
21	5.18 (d, $J=6.6$ Hz)	5.26 (bd, $J=6.5$ Hz)	5.25 (d)	118.9	118.9	118.5
22	0.86-1.66 (m)		1.72 (d), 1.56 (d)	42.3	42.4	41.9
23	0.90 (s)	0.98 (s)	0.98 (s)	28.0	28.0	27.7
24	0.69 (s)	0.77 (s)	0.78 (s)	15.4	15.4	15.1
25	0.77 (s)	0.85 (s)	0.86 (s)	16.3	16.3	15.9
26	0.96 (s)	1.05 (s)	1.04 (s)	16.1	16.1	15.7
27	0.87 (s)	0.95 (s)	0.95 (s)	14.8	14.8	14.4
28	0.66 (s)	0.74 (s)	0.73 (s)	17.7	17.7	17.3
29	0.91 (bs)	0.99 (d, $J=6.5$ Hz)	0.99 (d)	22.6	22.6	22.1
30	1.55 (s)	1.63 (s)	1.64 (s)	21.7	21.6	21.2

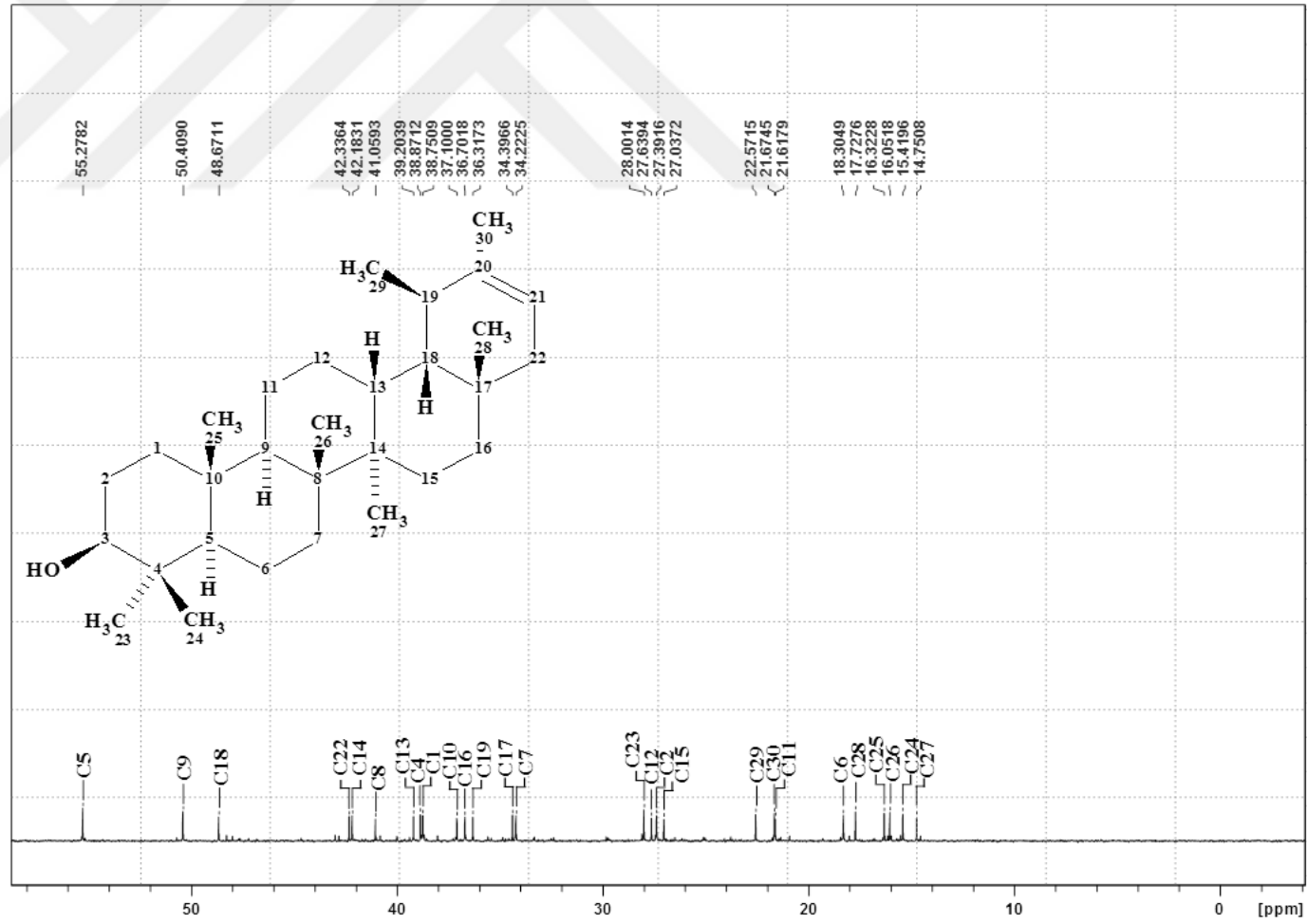
¹H-NMR spektrumları incelendiğinde, $\delta=5.18$ ppm'de görülen geniş dublet sinyal ve $\delta=3.13$ ppm'de görülen dubletin dubleti şeklindeki sinyaller sırasıyla H-21 ve H-3'e atfedilmiştir. $\delta=0.90$ ppm (H-23), 0.69 ppm (H-24), 0.77 ppm (H-25), 0.96 ppm (H-26), 0.87 ppm (H-27), 0.66 ppm (H-28), 0.91 ppm (H-29) ve 1.55 ppm (H-30) sinyalleri metil gruplarına aittir.

¹³C-NMR spektrumları incelendiğinde, 28.0 (C-23) ppm, 15.4 (C-24) ppm, 16.3 (C-25) ppm, 16.1 (C-26) ppm, 14.8 (C-27) ppm, 17.7 (C-28) ppm, 22.6 (C-29) ppm, 21.7 (C-30) ppm'de gelen sinyallerin metil grubunu işaret etmektedir. 79.1 ppm'de gelen sinyal C-3'e aittir. 139.9 (C-20) ppm ve 118.9 (C-21) ppm gelen sinyaller ise ψ -taraksasterol için karakteristiktir.

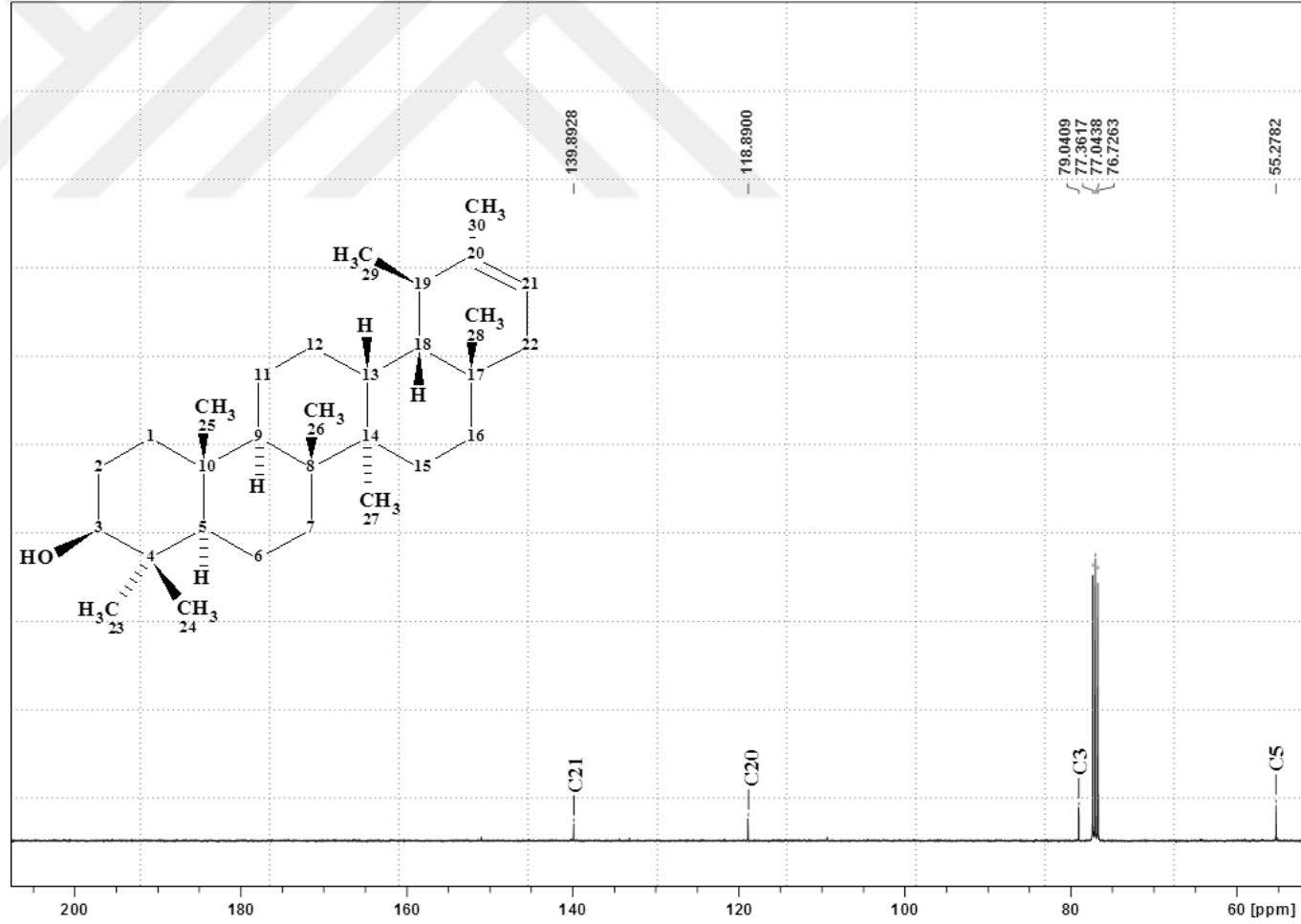
CSK-1 bileşiğine ait NMR ve kütle spektrumlarındaki spektral değerler, literatürlerle de karşılaştırıldığında ψ -taraksasterol için uygunluk göstermektedir (Li ve ark., 2012, Reynolds ve ark., 1986, ve Zitterl-Eglseer ve ark., 1997).



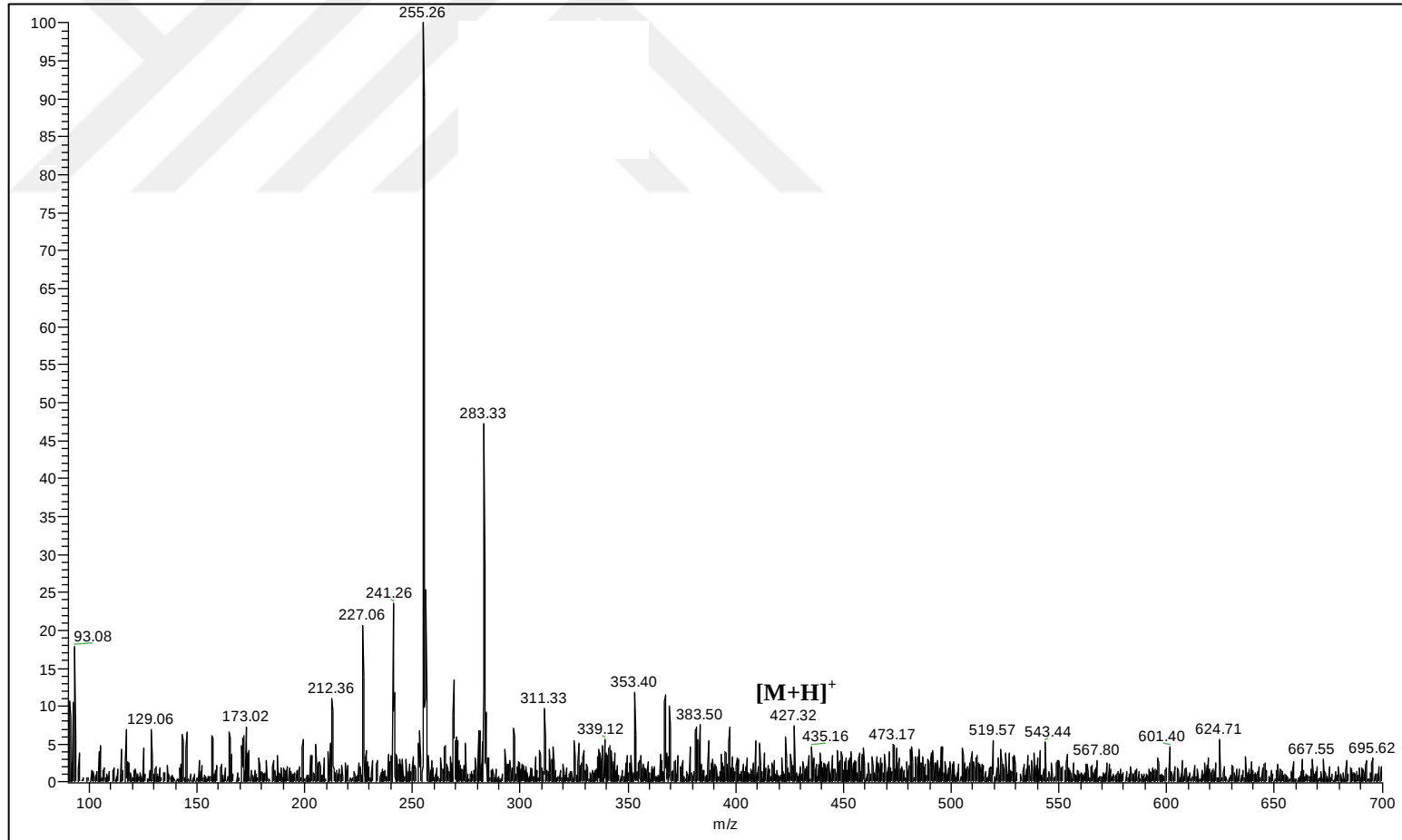
Şekil 3.53. CSK-1 bileşiğinin ^1H -NMR (CDCl₃, 400 MHz) spektrumu



Şekil 3.54. CSK-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl₃, 100 MHz)

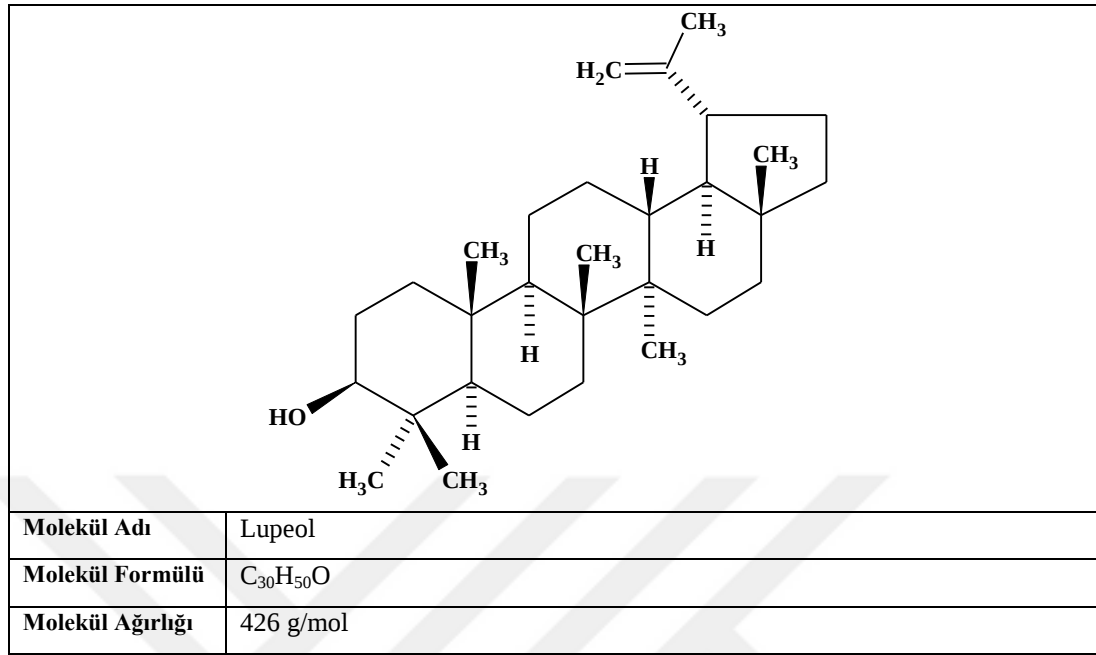


Şekil 3.55. CSK-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)



Şekil 3.56. CSK-1 bileşiğinin kütle spektrumu

3.2.2.2.3.2. CSK-2 Bileşiğine Yönelik Spektroskopik Bulgular



Şekil 3.57. CSK-2 bileşiğine ait yapısal bulgular

Triterpenik yapıdaki bileşiğin kütle spektrumu incelendiğinde, C₃₀H₅₀O molekül formülüne sahip bileşiğin, m/z : 425.51 [M-H]⁺ piki gözlemlenmiştir. ¹H-NMR spektrumları incelendiğinde δ =2.40 ppm'deki bir proton boyutunda sekstet sinyal lupeol'ün 19. konumdaki proton sinyali için karakteristiktir. Lupeol'ün 3. konumdaki protonu ise δ =3.21 ppm'de dubletin dubleti şeklinde sinyal vermektedir. 29. konumdaki olefinik protonlar ise δ =4.59 ppm ve δ =4.71 ppm'de sinyal vermektedir. 21. konumda bulunan protonlardan biri δ =1.93 ppm'de multipler sinyal vermektedir. δ =0.99 ppm (H-23), 0.78 ppm (H-24), 0.85 ppm (H-25), 1.05 ppm (H-26), 0.96 ppm (H-27), 0.81 ppm (H-28) ve 1.70 ppm (H-30) sinyalleri ise metil gruplarına aittir.

¹³C-NMR spektrumları incelendiğinde, 28.0 (C-23) ppm, 15.4 (C-24) ppm, 16.1 (C-25) ppm, 16.0 (C-26) ppm, 14.6 (C-27) ppm, 18.0 (C-28) ppm ve 19.3 (C-30) ppm'de gelen sinyallerin metil grubuna; 109.4 (C-29) ppm ve 151.0 (C-20) ppm'de gelen sinyaller ise ekzometilen grubuna atfedilmiştir. CSK-2 bileşiğine ait NMR ve kütle spektrumlarındaki spektral değerler, literatürlerle de

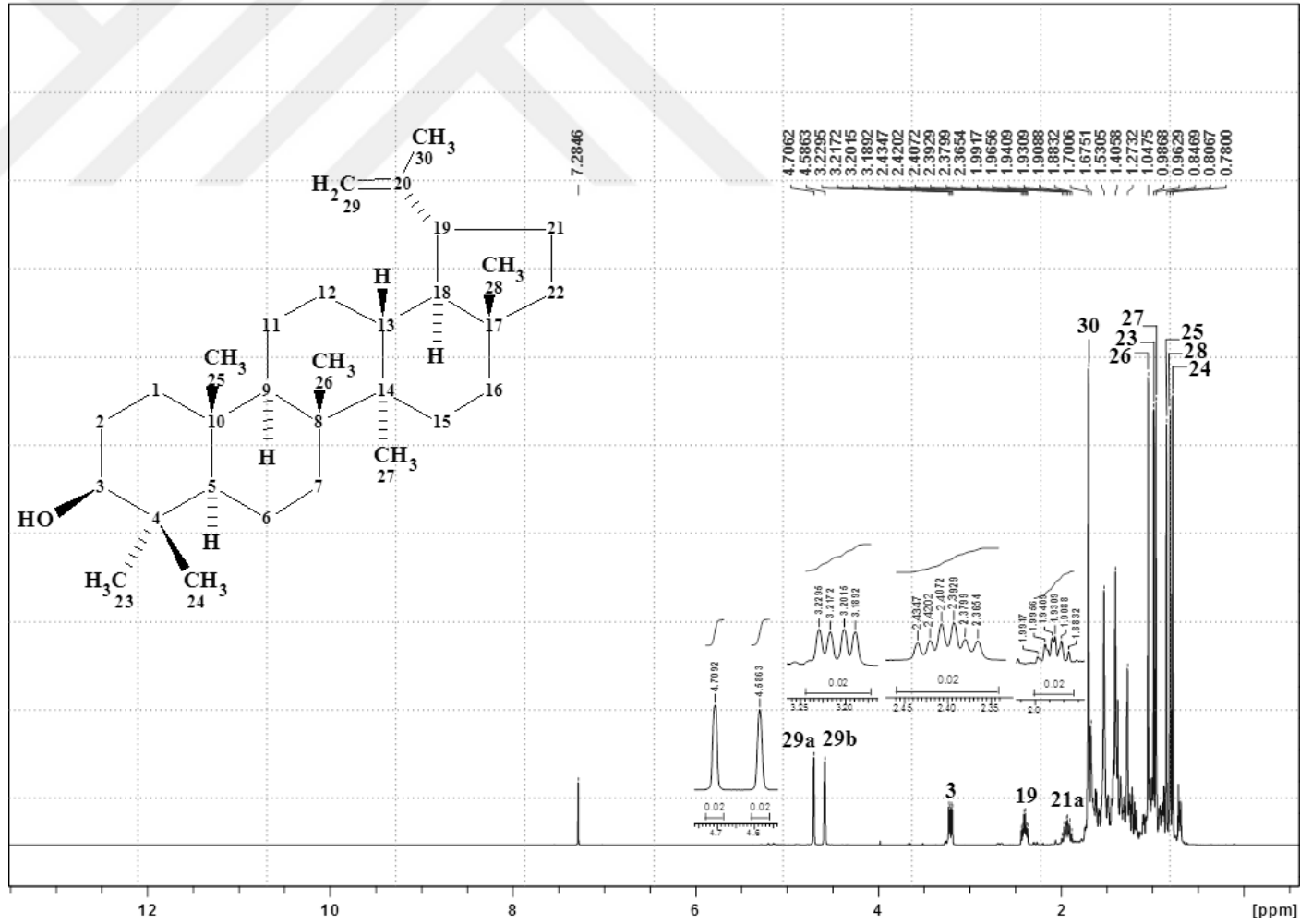
karşılaştırıldığında lupeol yapısı için uyumlu olduğu tespit edilmiştir (Abdullahi ve ark., 2013; Aratanechemuge ve ark., ve ark., 2004; Benabdelaziz ve ark., 2014 ve Silva ve ark., 2018).

Çizelge 3.19. CSK-2 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR Spektral Değerleri (Aratanechemuge ve ark., 2004; Benabdelaziz ve ark., 2014 ve Silva ve ark., 2018)

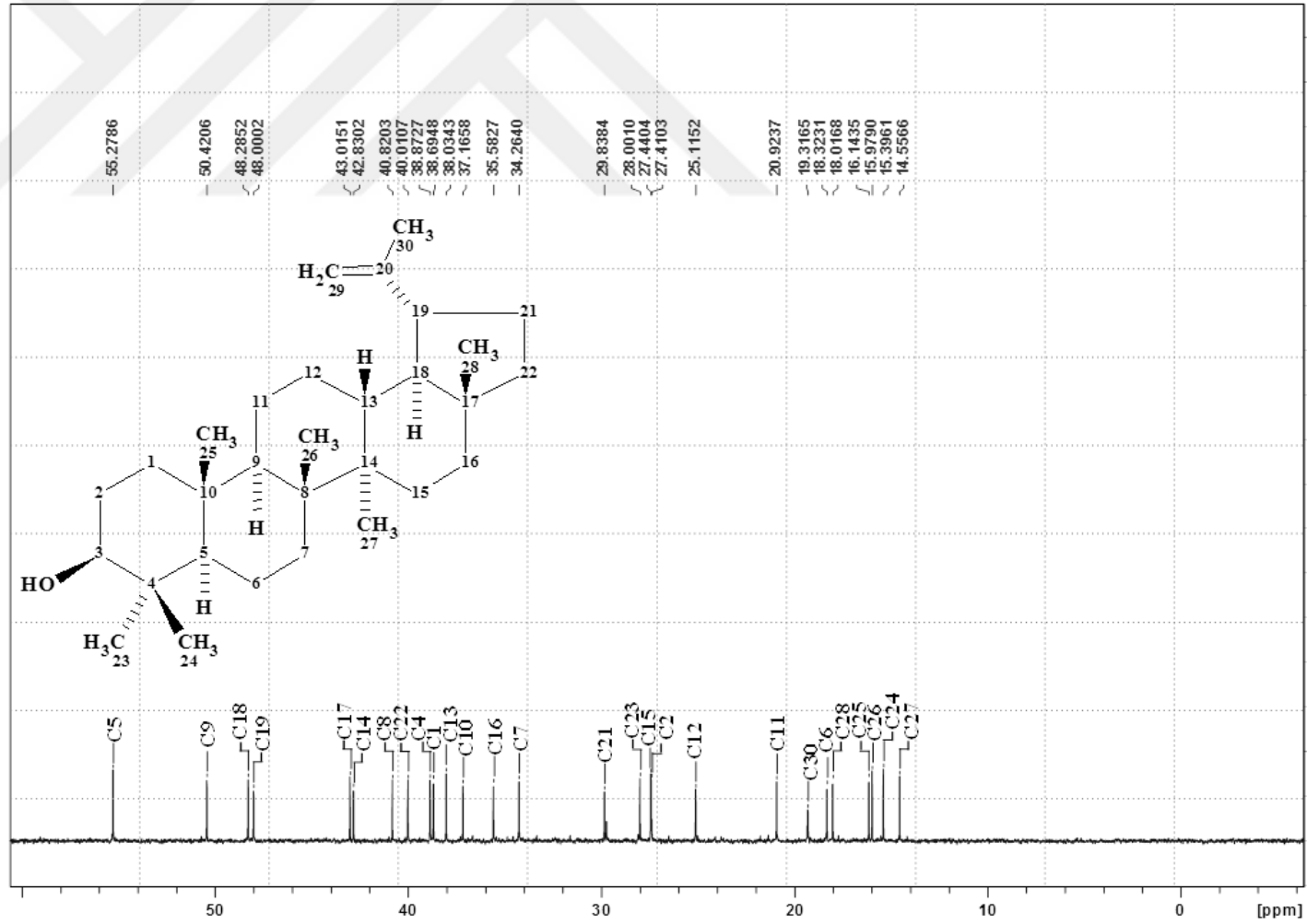
C/H	CSK-2 (Lupéol)					
	$\delta^1\text{H}$ (CSK-2)	$\delta^1\text{H}$ (Lit.1)	$\delta^1\text{H}$ (Lit.2)	$\delta^{13}\text{C}$ (CSK-2)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.2)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.3)
1	0,69-1,68 (m)	0.90 (m, H-1b) 1.65 (m, H-1a)	0.92 (m, H-1b) 1.69 (m, H-1a)	38.7	38.2	38.1
2	0,69-1,68 (m)	1.59 (m, H-2b) 1.67 (m, H-2a)	1.06 (m, H-2b) 1.61 (m, H-2a)	27.4	25.3	27.4
3	3.21 (dd, $J_1=11.2$ Hz, $J_2=4.9$ Hz)	3.20 (dd, $J_1=5.03$ Hz, $J_2=11.5$ Hz)	3.35 (dd, $J_1=12.5$ Hz, $J_2=5.0$ Hz)	79.0	79.1	79.1
4				38.9	38.9	38.7
5	0,69-1,68 (m)	0.68 (m)	0.73 (dd, $J_1=10.0$ Hz, $J_2=2.5$ Hz)	55.3	55.5	55.3
6	0,69-1,68 (m)	1.40 (m, H-6b) 1.50 (m, H-6a)	1.45 (m, H-6b) 1.55 (m, H-6a)	18.3	18.5	18.3
7	0,69-1,68 (m)	1.32 (m, H-7b) 1.42 (m, H-7a)	1.43 (m)	34.3	34.5	34.3
8				40.8	41.0	40.9
9	0,69-1,68 (m)	1.29 (m)	1.35 (m)	50.4	50.6	50.5
10				37.2	37.3	37.2
11	0,69-1,68 (m)	1.20 (m, H-11b) 1.40 (m, H-11a)	1.25 (m, H-11b) 1.48 (m, H-11a)	20.9	21.1	21.0
12	0,69-1,68 (m)	1.07 (m, H-12b) 1.68 (m, H-12a)	1.12 (m, H-12b) 1.72 (m, H-12a)	25.1	27.5	25.2
13	0,69-1,68 (m)	1.68 (m)	1.70 (m)	38.0	39.0	38.9
14				42.8	43.0	42.9
15	0,69-1,68 (m)	1.00 (m, H-15b) 1.68 (m, H-15a)	1.06 (m, H-15b) 1.61 (m, H-15a)	27.4	27.6	27.5
16	0,69-1,68 (m)	1.37 (m, H-16b) 1.48 (m, H-16a)	1.51 (m)	35.6	35.8	35.6
17				43.0	43.2	43.0
18	0,69-1,68 (m)	1.37 (m)	1.41 (m)	48.3	48.5	48.3

Çizelge 3.19. Devam. CSK-2 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR Spektral Değerleri (Aratanechemuge ve ark., 2004; Benabdelaziz ve ark., 2014 ve Silva ve ark., 2018)

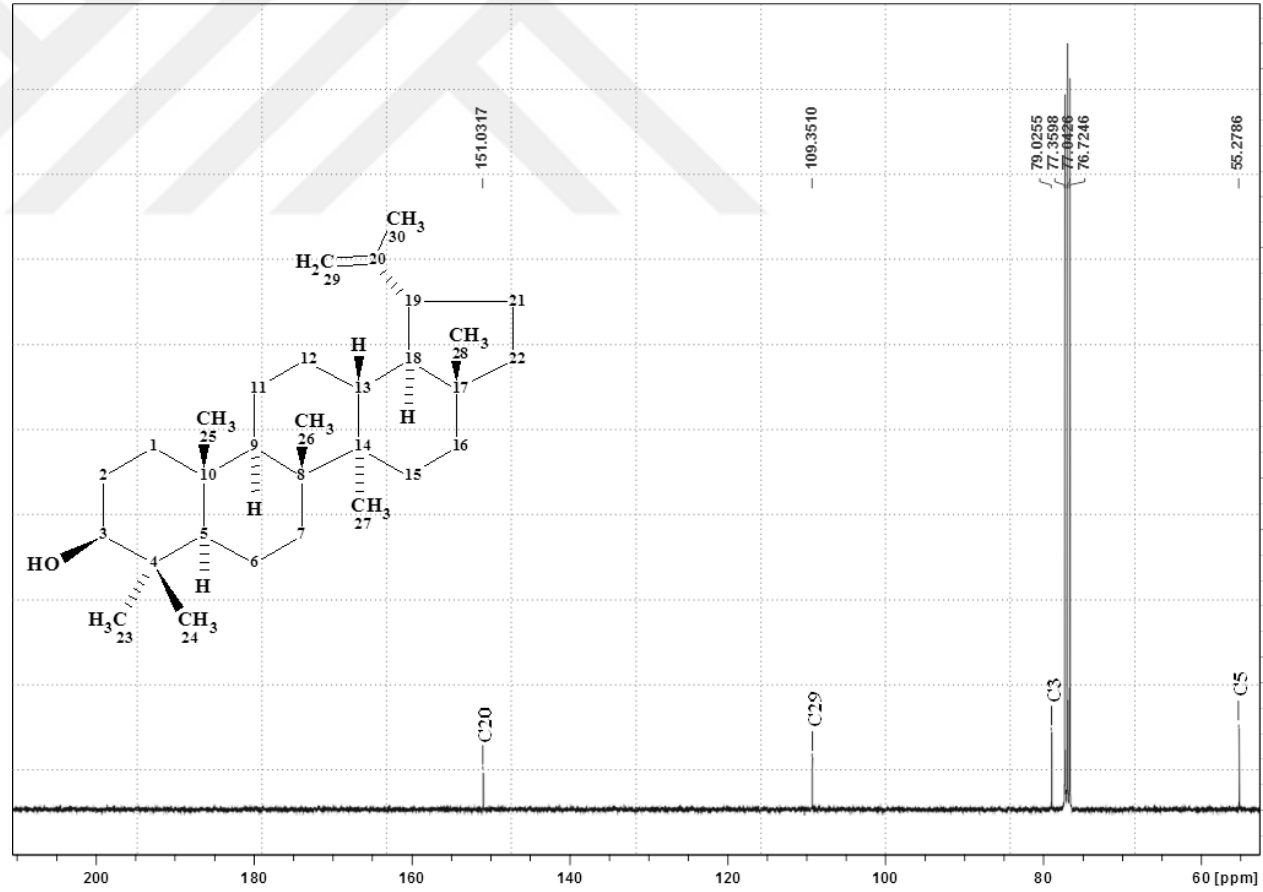
C/H	Lupeol					
	$\delta^1\text{H}$ (CSK-2)	$\delta^1\text{H}$ (Lit.1)	$\delta^1\text{H}$ (Lit.2)	$\delta^{13}\text{C}$ (CSK-2)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.1)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.3)
19	2.40 (<i>sextet</i> , $J_1=11.0$ Hz, $J_2=5.8$ Hz)	2.38 (<i>ddd</i> , $J_1=11.0$ Hz, $J_2=11.0$ Hz, $J_3=5.6$ Hz)	2.42 (<i>td</i> , $J_1=10.0$ Hz, $J_2=5.0$ Hz)	48.0	48.1	48.0
20				151.0	151.1	151.1
21	1.34 (<i>m</i> , H-21b) 1.93 (<i>m</i> , H-21a)	1.37 (<i>m</i> , H-21b) 1.92 (<i>m</i> , H-21a)	1.31 (<i>m</i> , H-21b) 1.97 (<i>m</i> , H-21a)	29.8	30.0	29.9
22		1.19 (<i>m</i> , H-22b) 1.37 (<i>m</i> , H-22a)	1.25 (<i>m</i> , H-22b) 1.43 (<i>m</i> , H-22a)	40.0	40.2	40.0
23	0.99 (<i>s</i>)	0.97 (<i>s</i>)	1.02 (<i>s</i>)	28.0	28.2	28.0
24	0.78 (<i>s</i>)	0.76 (<i>s</i>)	0.81 (<i>s</i>)	15.4	15.6	15.4
25	0.85 (<i>s</i>)	0.83 (<i>s</i>)	0.86 (<i>s</i>)	16.1	16.3	16.1
26	1.05 (<i>s</i>)	1.03 (<i>s</i>)	1.07 (<i>s</i>)	16.0	16.2	16.0
27	0.96 (<i>s</i>)	0.94 (<i>s</i>)	1.00 (<i>s</i>)	14.6	14.7	14.6
28	0.81 (<i>s</i>)	0.79 (<i>s</i>)	0.84 (<i>s</i>)	18.0	18.2	18.0
29	4.59 (29b, <i>bs</i>) 4.71 (29a, <i>bs</i>)	4.54 (29b, <i>bs</i>) 4.67 (29a, <i>bs</i>)	4.62 (29b, <i>d</i> , $J=0.3$ Hz) 4.75 (29a, <i>d</i> , $J=0.3$ Hz)	109.6	109.5	109.3
30	1.70 (<i>s</i>)	1.68 (<i>s</i>)	1.69 (<i>s</i>)	19.3	19.5	19.3



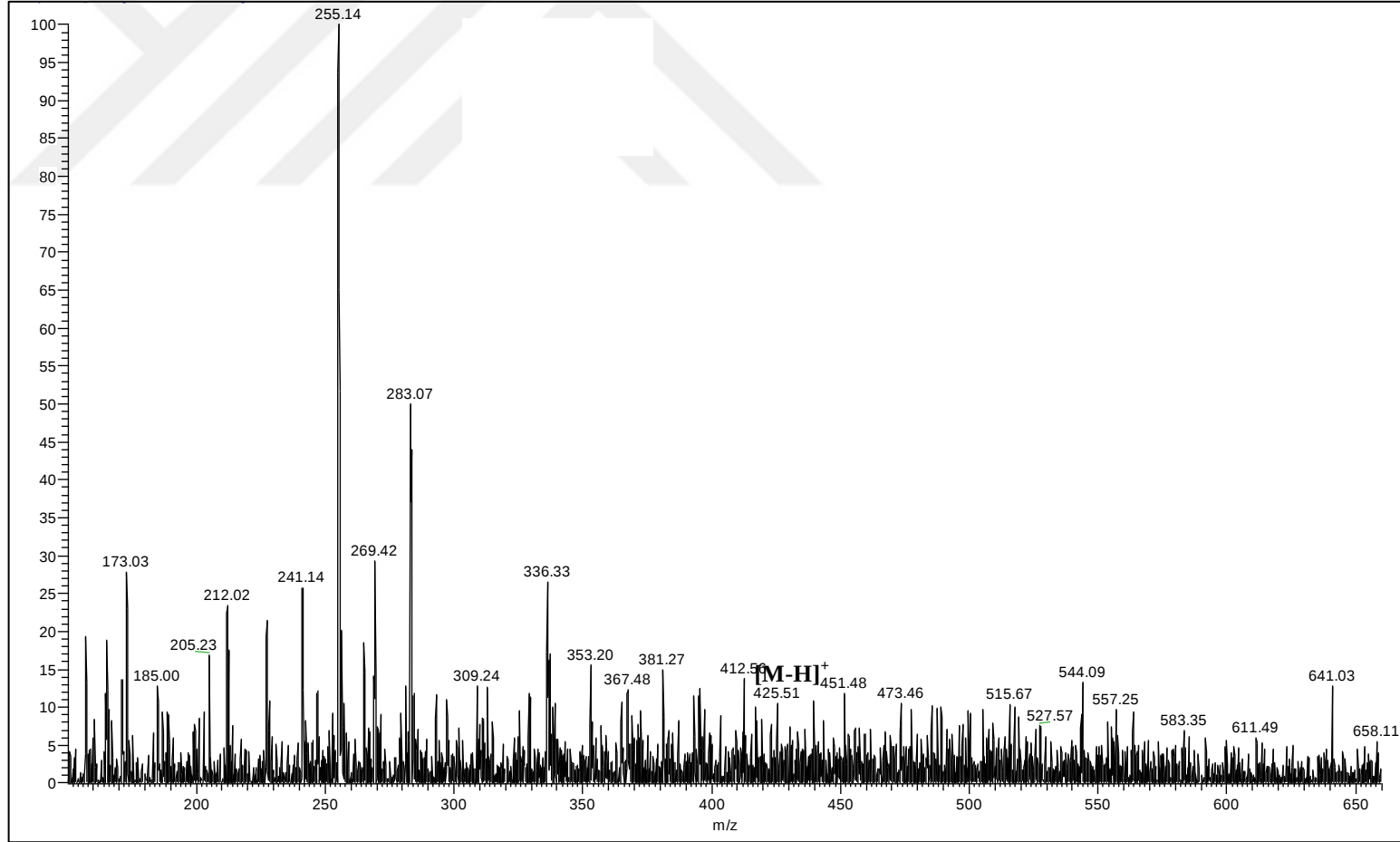
Şekil 3.58. CSK-2 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃, 400 MHz)



Şekil 3.59. CSK-2 bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumu (CDCl₃, 100 MHz)



Şekil 3.60. CSK-2 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)

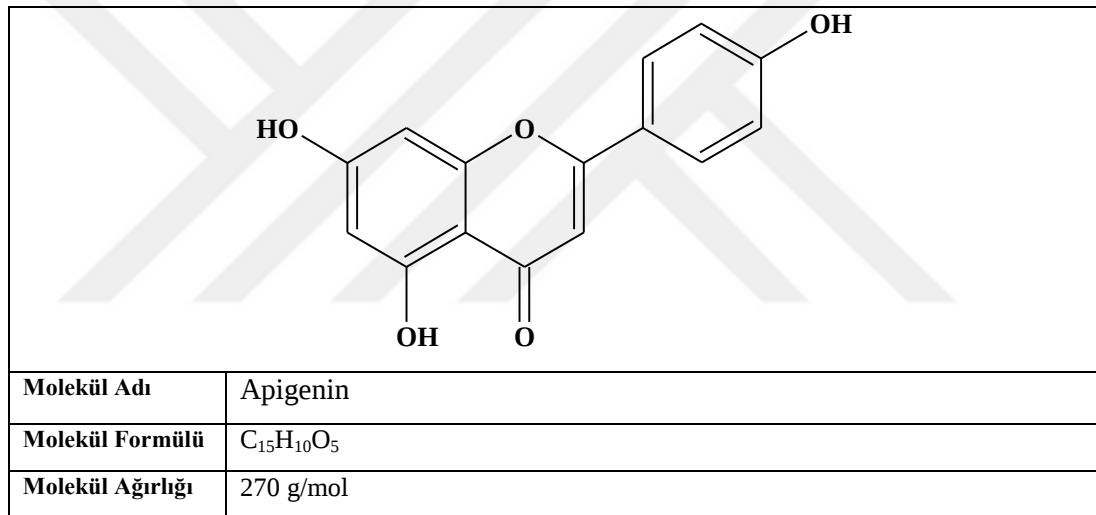


Şekil 3.61. CSK-2 bileşiğinin kütle spektrumu

3.2.2.2.4. *C. cephalotes* Spektroskopik Bulgular

Spektroskopik (^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve KS) yöntemler kullanılarak, *C. cephalotes*'in toprak üstü kısmının etil asetat alt fraksiyonundan saflaştırılan, **CCE-1** olarak kodlanan flavon yapısındaki bileşiğin **apigenin** ve **CCE-2** olarak kodlanan flavonol glikoziti yapısındaki bileşiğin **afzelin** olduğu ve kloroform alt fraksiyonunundan elde edilen triterpen yapısındaki bileşiğin ise **ψ -taraksasterol** (**CCK-1**) olduğu belirlenmiştir.

3.2.2.2.4.1. CCE-1 Bileşiğine Yönelik Spektroskopik Bulgular



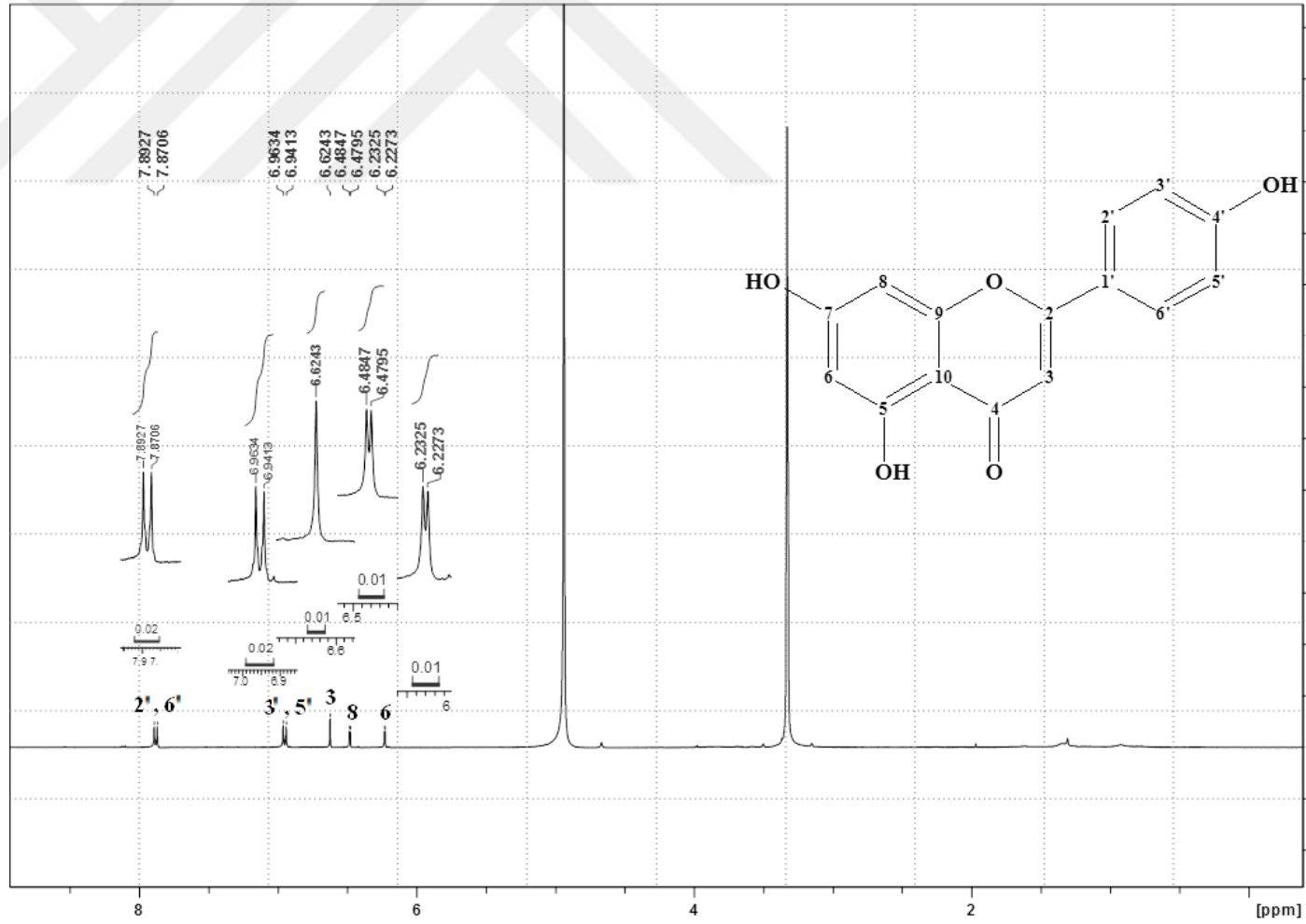
Şekil 3.62. CCE-1 bileşiğine ait yapısal bulgular

Flavon yapısındaki bileşiğin kütle spektrumu incelendiğinde, $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$ molekül formülüne sahip bileşiğin, m/z : 269.07 $[\text{M}-\text{H}]^+$ temel piki gözlemlenmiştir. Bileşiğin ^1H -NMR spektrumuna bakıldığında $\delta=7.88$ ppm'deki dublet karakterindeki sinyalin H-2' ve H-6'protonlarına, $\delta=6.95$ ppm'deki dublet karakterindeki sinyalin H-3' ve H-5' protonlarına, $\delta=6.48$ ve $\delta=6.23$ ppm'deki dublet karakterindeki sinyallerin ise sırasıyla H-8 ve H-6 protonlarına ait olduğu tespit edilmiştir. $\delta=6.62$ ppm'deki singlet karakterindeki sinyal ise apigeninin H3 protonuna atfedilmiştir.

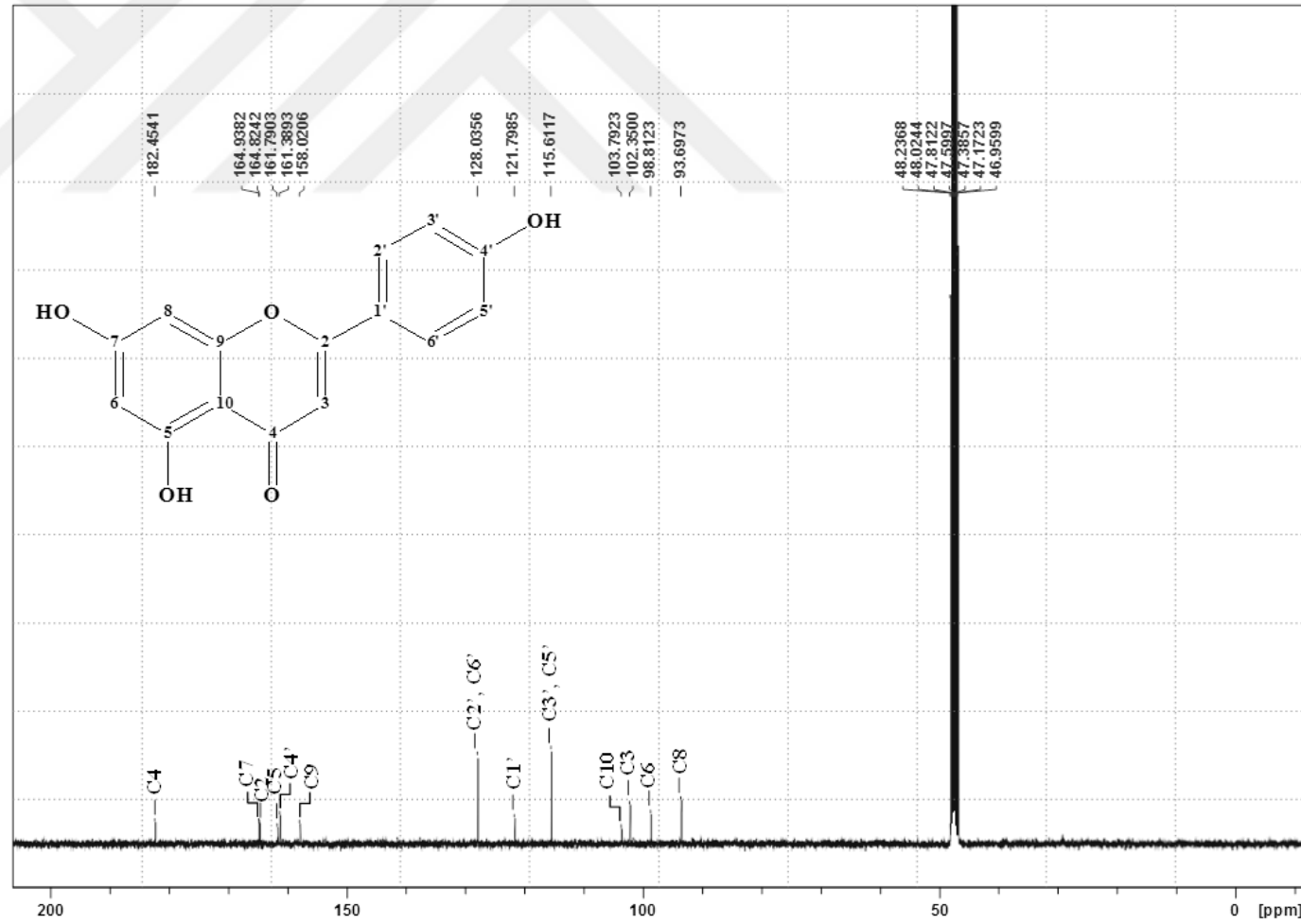
^{13}C -NMR spektrumunda incelendiğinde gözlemlenen 15 adet sinyalin ve 102.4 ppm'de gelen C3 karbonuna atfedilen sinyalin varlığı bileşiğin flavon iskeleti içerdiğini göstermektedir. CCE-1 bileşiğine ait NMR ve kütle spektroskopik bulguları literatürlerle de karşılaştırıldığında flavon yapısındaki apigenin için uyumluluk göstermektedir (Fajriah ve ark., 2016 ve Silva ve ark., 2015).

Çizelge 3.20. CCE-1 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (Fajriah ve ark., 2016 ve Silva ve ark., 2015)

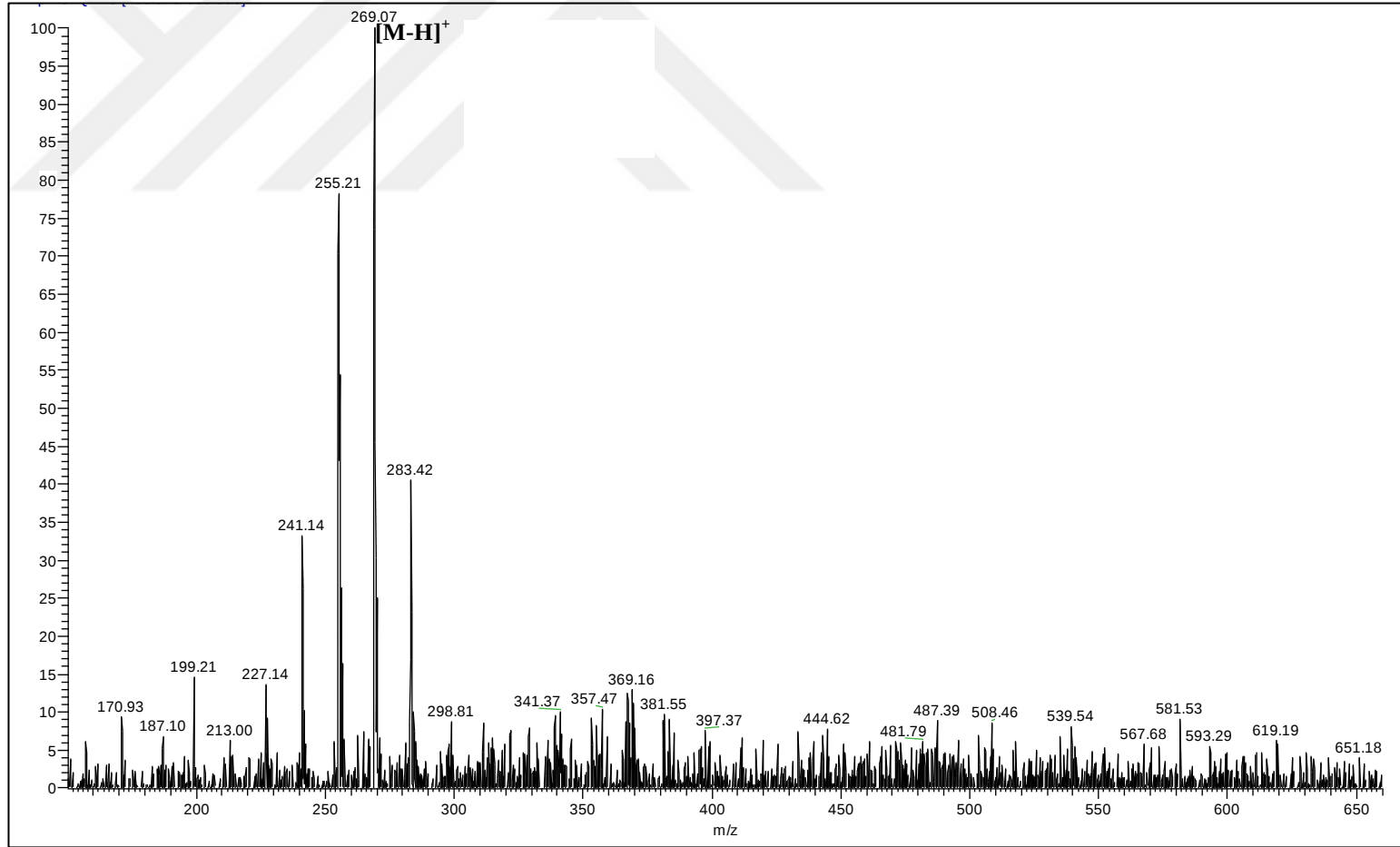
C/H	CCE-1 (Apigenin)				
	$\delta^1\text{H}$ (CCE-1)	$\delta^1\text{H}$ (Lit.1)	$\delta^{13}\text{C}$ (CCE-1)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.1)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.2)
2			164.8	166.3	163.7
3	6.62 (s)	6.60 (s)	102.4	102.9	102.8
4			182.5	183.9	181.7
5			161.8	163.2	161.3
6	6.23 (d, $J= 2.1$ Hz)	6.21 (d, $J= 2.1$ Hz)	98.8	100.2	98.7
7			165.0	166.1	164.6
8	6.48 (d, $J= 2.1$ Hz)	6.46 (d, $J= 2.1$ Hz)	93.7	95.0	94.1
9			158.0	159.5	157.4
10			103.7	105.3	103.6
1'			121.8	123.3	121.2
2'	7.88 (d, $J= 8.8$ Hz)	7.85 (d, $J= 8.9$ Hz)	128.0	129.6	128.5
3'	6.95 (d, $J= 8.8$ Hz)	6.93 (d, $J= 8.9$ Hz)	115.6	117.1	116.0
4'			161.4	162.7	161.5
5'	6.95 (d, $J= 8.8$ Hz)	6.93 (d, $J= 8.9$ Hz)	115.6	117.1	116.0
6'	7.88 (d, $J= 8.8$ Hz)	7.85 (d, $J= 8.9$ Hz)	128.0	129.6	128.5



Şekil 3.63. CCE-1 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)

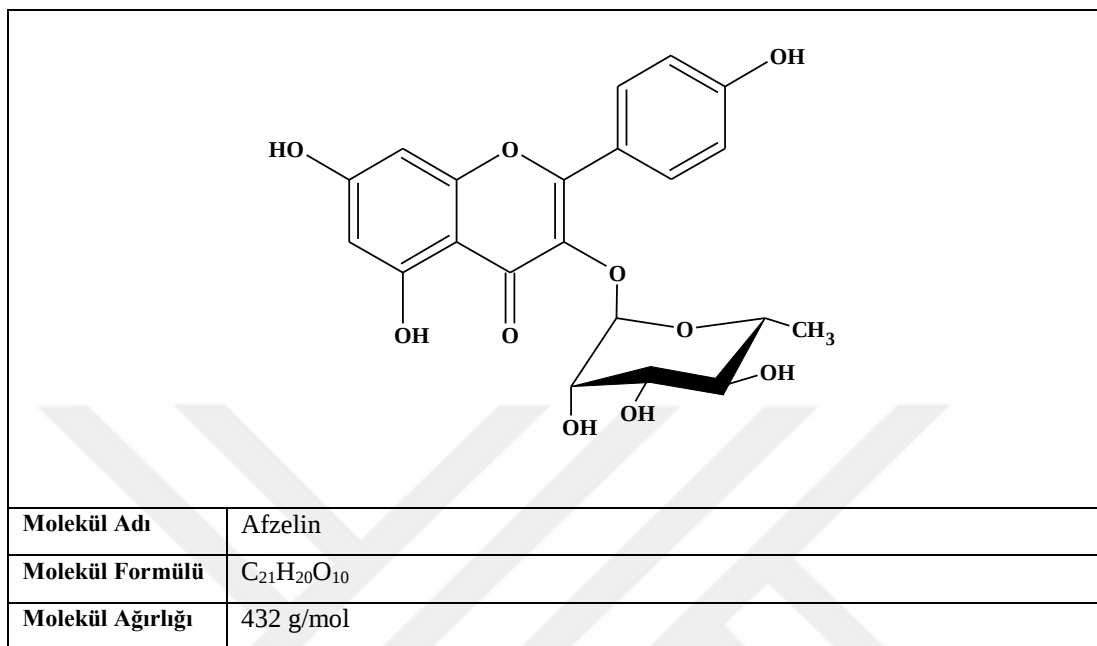


Şekil 3.64. CCE-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)



Şekil 3.65. CCE-1 bileşiğinin kütle spektrumu

3.2.2.2.4.2. CCE-2 Bileşiğine Yönelik Spektroskopik Bulgular



Şekil 2.66. CCE-2 bileşiğine ait yapısal bulgular

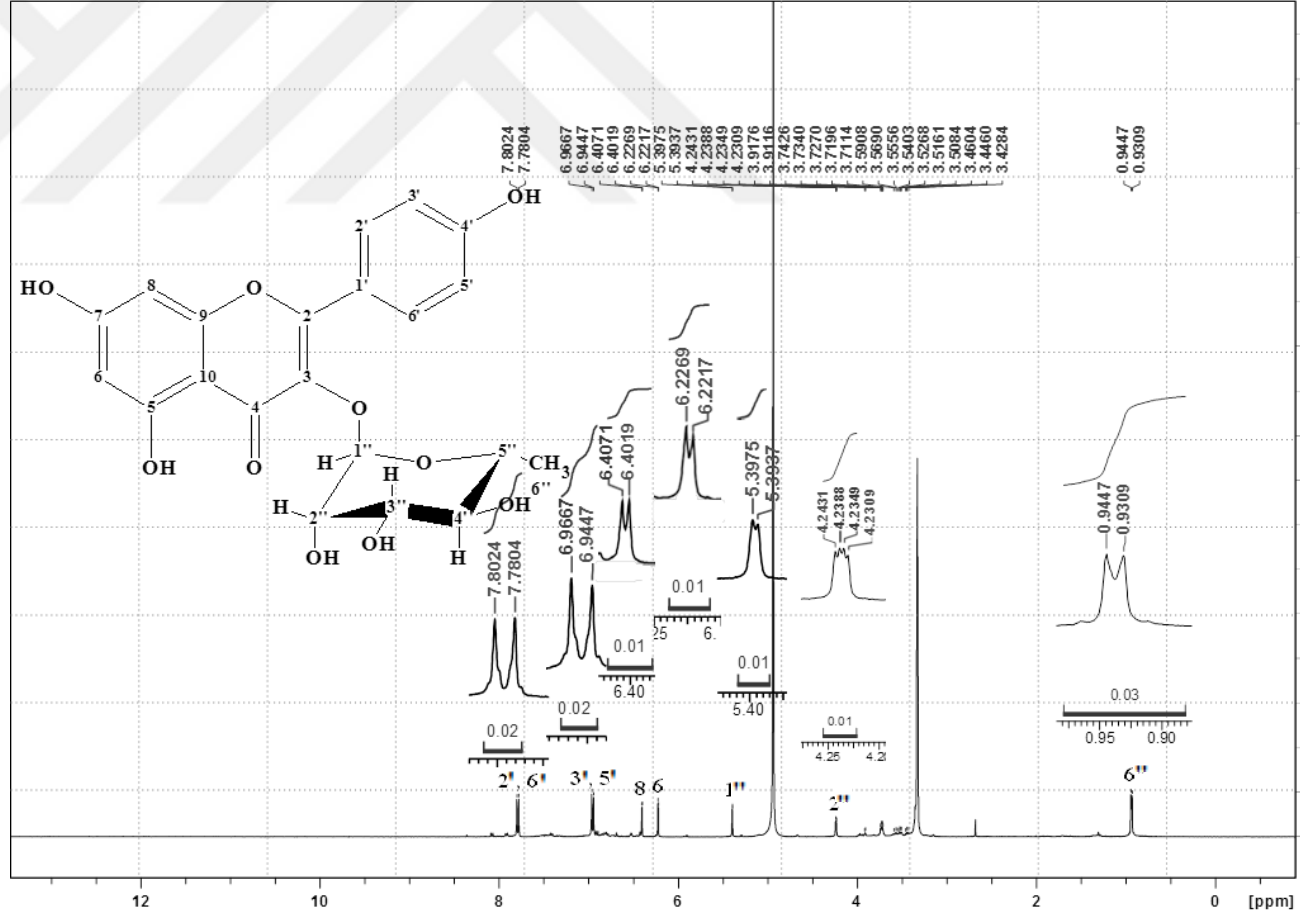
Flavonol glikoziti yapısındaki bileşiğin kütle spekturumu incelendiğinde, C₂₁H₂₀O₁₀ molekül formülüne sahip bileşiğin m/z : 431.24 [M-H]⁺ temel piki gözlemlenmiştir. Bileşiğin ¹H-NMR spektrumuna bakıldığında $\delta=7.79$ ppm'deki dublet karakterindeki sinyalin H-2' ve H-6' protonlarına, $\delta=6.96$ ppm'deki dublet karakterindeki sinyalin H-3' ve H-5' protonlarına, $\delta=6.40$ ve $\delta=6.22$ ppm'deki dublet karakterindeki sinyallerin ise sırasıyla H-8 ve H-6 protonlarına ait olduğu tespit edilmiştir. $\delta=5.40$ ppm'deki sinyal ramnozün anomerik protonu olan H1" protonuna, $\delta=0.94$ ppm'deki sinyal ramnozün metil grubuna işaret eden H6" protonlarına aittir. $\delta=4.24$ ppm'deki dubletin dubleti karakterindeki sinyal ramnozün H-2" protonuna, $\delta=3.42-3.91$ ppm aralığındaki sinyaller ise ramnozün diğer protonlarına (H-3", H-4" ve H-5") aittir.

¹³C-NMR spektrumunda incelendiğinde 21 adet sinyal gözlenmiştir. 21 adet sinyalden 15'i flavonol iskeletine aittir. 6 adet karbon sinyali ise ramnoza aittir ve bu sinyallerden 102.1 ppm'de gelen sinyal ramnozün anomerik karbonuna atfedilmiştir. 16.3 ppm'de gelen sinyal ise ramnozün metil grubuna işaret etmektedir.

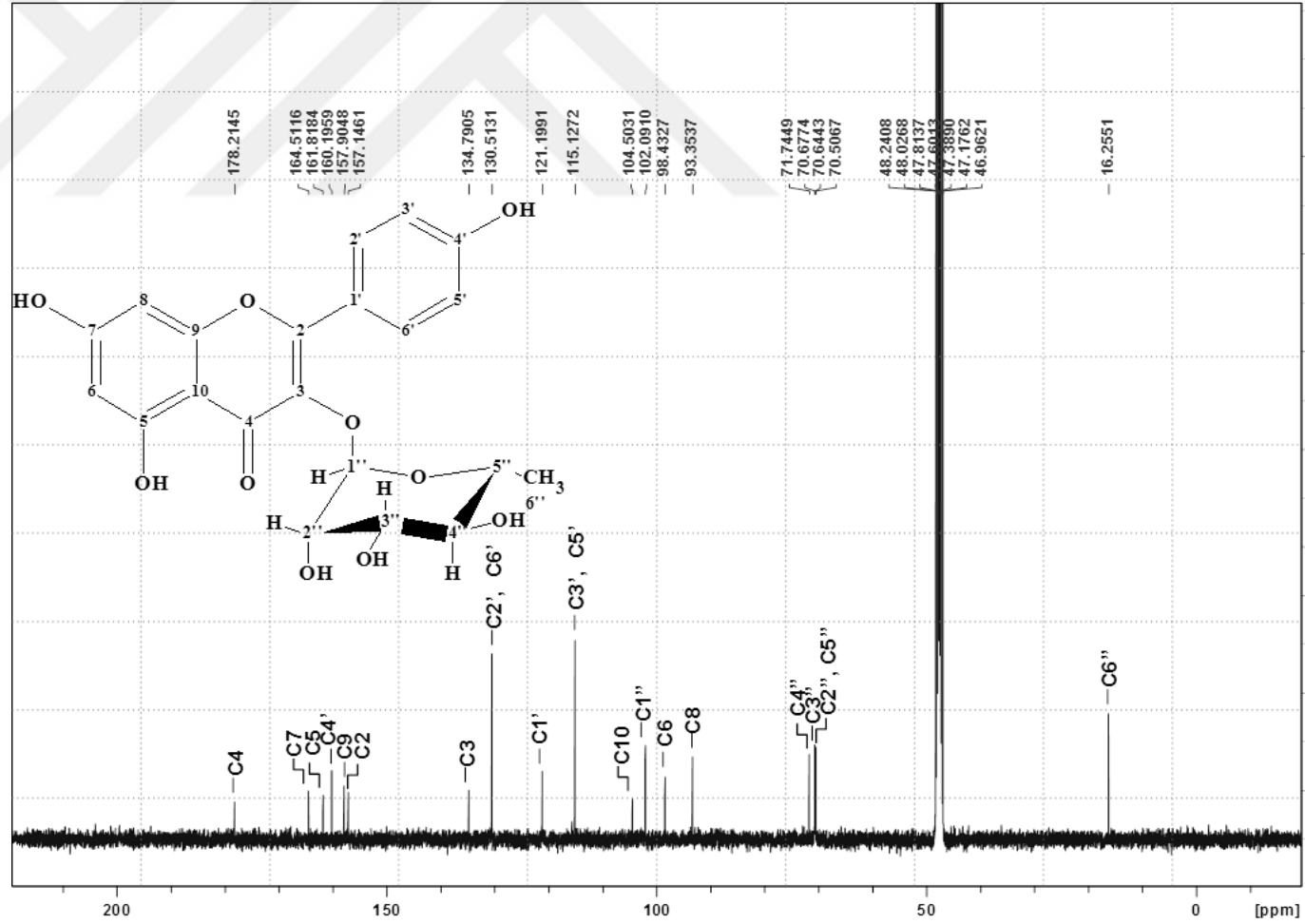
CCE-2 bileşiğine ait NMR ve kütle spektrumlarının spektral değerleri, literatürlerle de karşılaştırıldığında afzelin için uyumluluk göstermektedir (Lee ve ark., 2014; Sianturi ve ark., 2015 ve Zhang ve ark., 2014).

Çizelge 3.21. CCE-2 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektral değerleri (Lee ve ark., 2014 ve Zhang ve ark., 2014)

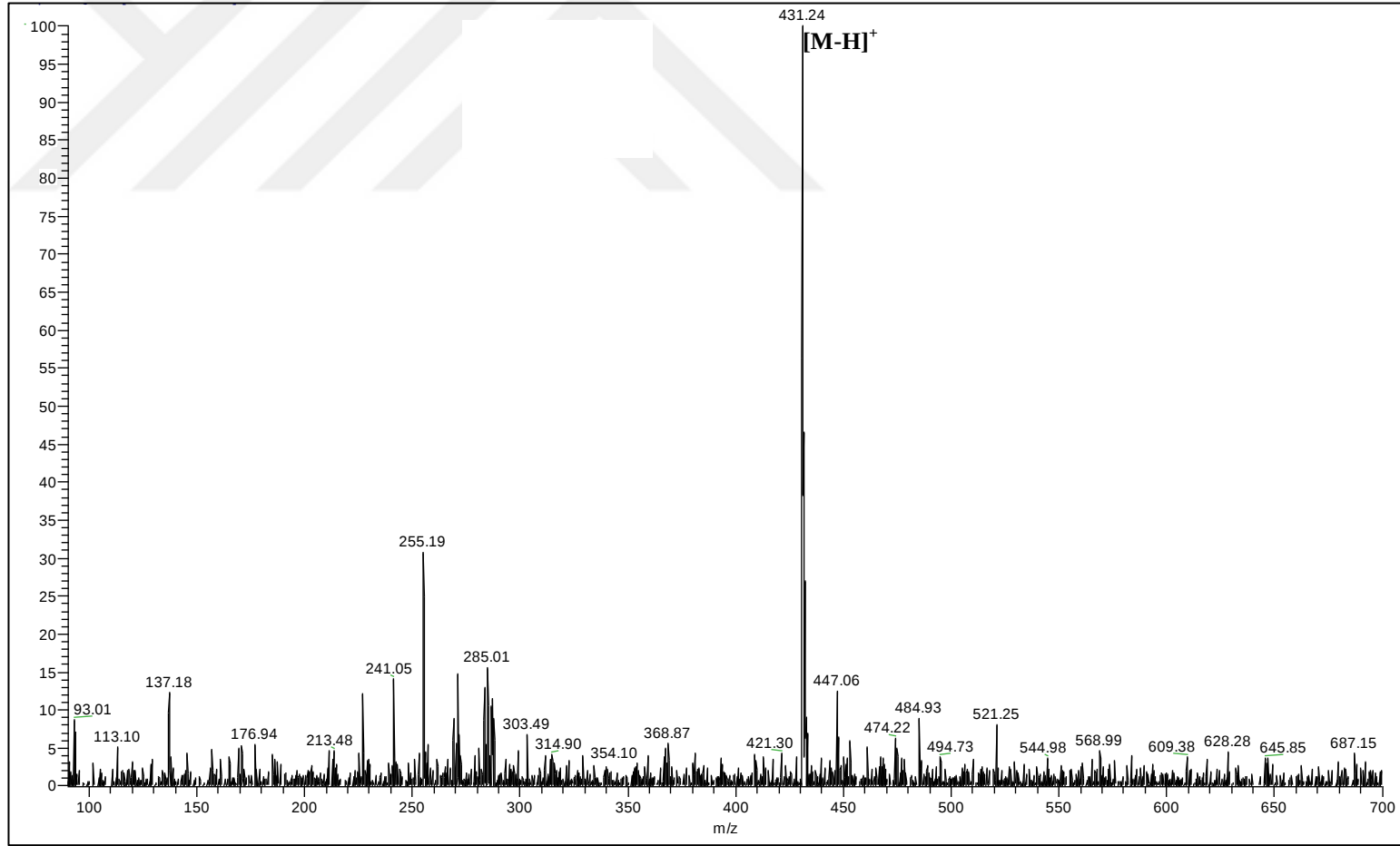
C/H	Afzelin				
	¹ H (CCE-2)	¹ H (Lit.1)	¹³ C (CCE-2)	¹³ C (Lit.1)	¹³ C (Lit.2)
2			157.1	158.6	157.0
3			134.8	136.2	134.7
4			178.2	179.4	178.2
5			161.8	163.2	161.8
6	6.22 (d, J= 2.1 Hz)	6.19 (d, J= 2.4 Hz)	98.4	100.1	99.1
7			164.5	166.6	164.7
8	6.40 (d, J= 2.1 Hz)	6.36 (d, J= 2.2 Hz)	93.4	94.9	94.2
9			157.9	159.2	157.7
10			104.5	105.7	104.6
1'			121.2	122.6	121.0
2'	7.79 (d, J= 8.8 Hz)	7.76 (d, J= 8.8 Hz)	130.5	131.9	131.1
3'	6.96 (d, J= 8.8 Hz)	6.93 (d, J= 8.9 Hz)	115.1	116.5	115.1
4'			160.2	161.6	160.5
5'	6.96 (d, J= 8.8 Hz)	6.93 (d, J= 8.9 Hz)	115.1	116.5	115.9
6'	7.79 (d, J= 8.8 Hz)	7.76 (d, J= 8.8 Hz)	130.5	131.9	131.1
1''	5.40 (d, J= 1.5 Hz)	5.36 (d, J= 2.2 Hz)	102.1	103.5	102.3
2''	4,24 (dd, J ₁ = 1.7 Hz, J ₂ = 3.2 Hz)	4,21 (dd, J ₁ = 1.7 Hz, J ₂ = 3.4 Hz)	70.5	72.1	70.6
3''	3,42-3,91 (m)	3,71(m)	70.7	72.1	71.1
4''	3,42-3,91 (m)	3,60 (m)	71.8	73.1	71.6
5''	3,42-3,91 (m)	3,47 (m)	70.6	72.0	70.8
6''	0.94 (d, J= 5.5)	0.91 (d, J= 5.6)	16.3	17.7	17.9



Şekil 3.67. CCE-2 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu (CD₃OD, 400 MHz)

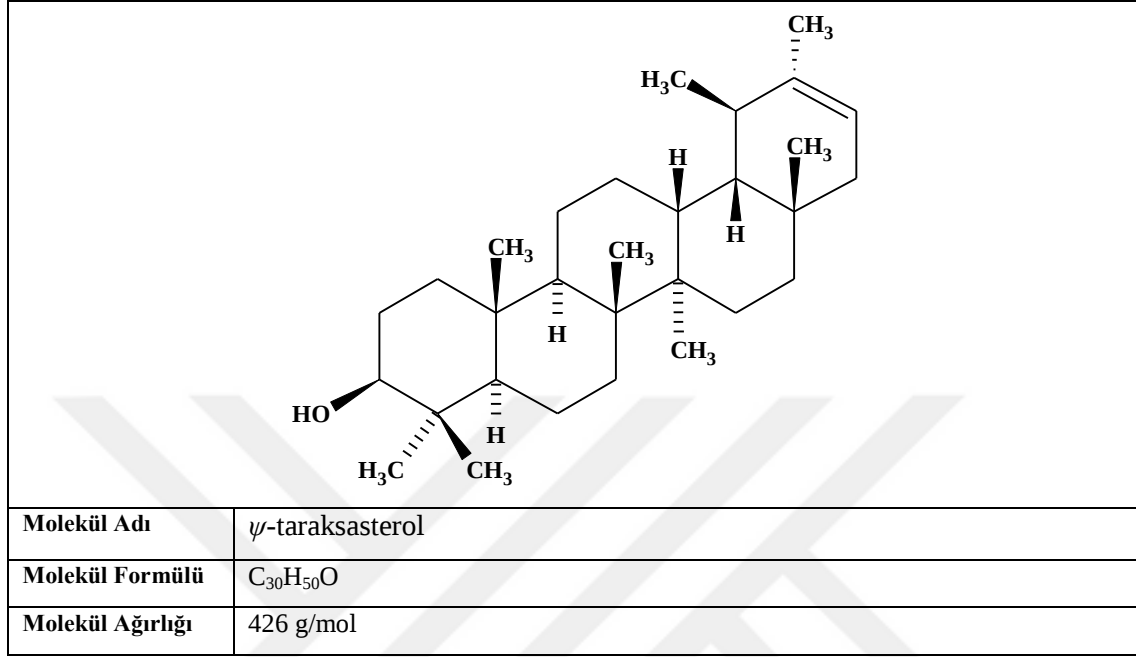


Şekil 3.68. CCE-2 bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)



Şekil 3.69. CCE-2 bileşiğinin kütle spektrumu

3.2.2.2.4.3. CCK-1 Bileşiğine Yönelik Spektroskopik Bulgular



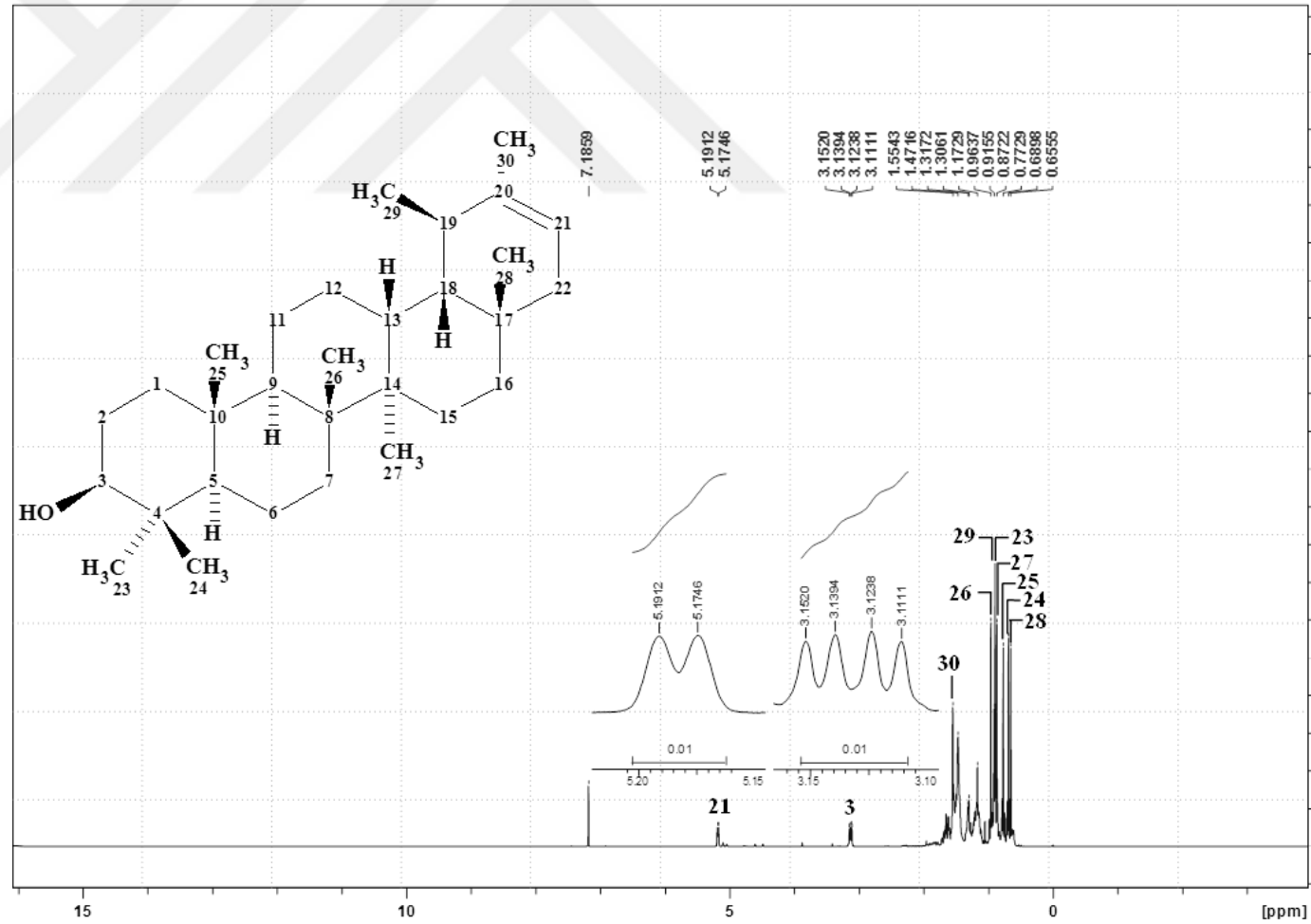
Şekil 3.70. CCK-1 bileşiğine ait yapısal bulgular

Triterpenik yapısındaki bileşiğin kütle spektrumu incelendiğinde, $C_{30}H_{50}O$ molekül formülüne sahip bileşiğin, m/z : 427.12 $[M+H]^+$ piki gözlemlenmiştir. CCK-1 bileşiğinin 1H -NMR spektrumu değerlendirildiğinde, $\delta=5.18$ ppm'de görülen dublet ve $\delta=3.13$ ppm'de görülen dubletin dubleti sinyalleri sırasıyla H-21 ile H-3'e atfedilmiştir. $\delta=0.92$ ppm (H-23), 0.69 ppm (H-24), 0.77 ppm (H-25), 0.96 ppm (H-26), 0.87 ppm (H-27), 0.66 ppm (H-28), 0.92 ppm (H-29) ve 1.55 ppm (H-30) sinyalleri metil gruplarına aittir.

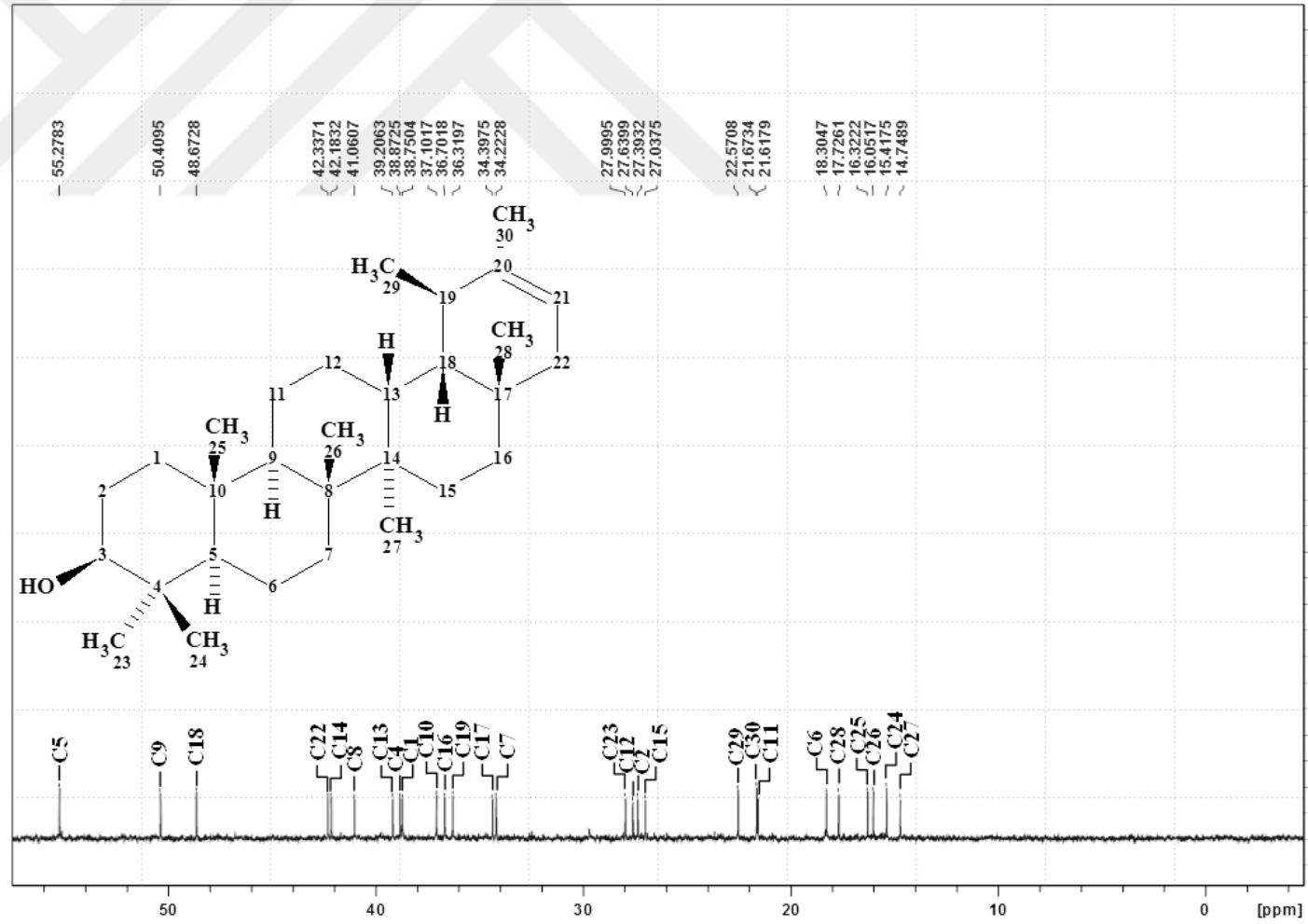
^{13}C -NMR spektrumu değerlendirildiğinde ise 28.0 (C-23) ppm, 15.4 (C-24) ppm, 16.3 (C-25) ppm, 16.1 (C-26) ppm, 14.7 (C-27) ppm, 17.7 (C-28) ppm, 22.6 (C-29) ppm, 21.7 (C-30) ppm'de gelen sinyallerin metil gruplarına ait olduğu tespit edilmiştir. 79.1 ppm'de gelen sinyal C-3'e aittir. 139.9 (C-20) ppm ve 118.9 (C-21) ppm'de gelen sinyaller ise ψ -taraksasterol'e özgü sinyallerdir. CCK-1 bileşiğine ait NMR ve kütle spektrumlarındaki spektral değerler literatürlerle de karşılaştırıldığında ψ -taraksasterol için uyumluluk göstermektedir (Li ve ark., 2012, Reynolds ve ark., 1986, ve Zitterl-Eglseer ve ark., 1997).

Çizelge 3.22. CCK-1 bileşiğinin literatürle karşılaştırılmalı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (Li ve ark., 2012, Reynolds ve ark., 1986, ve Zitterl-Eglseer ve ark., 1997)

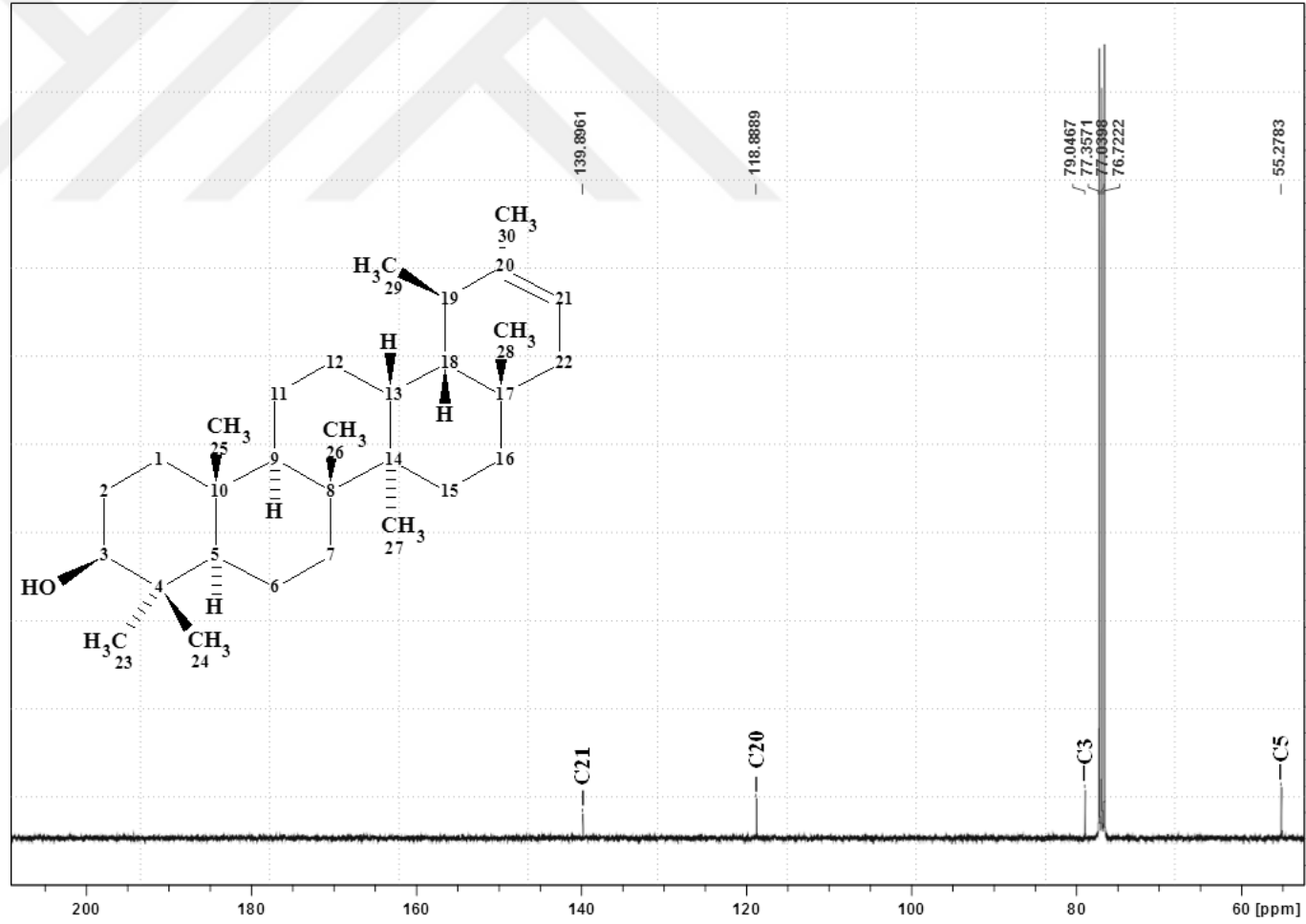
C/H	ψ - Taraksasterol					
	$\delta^1\text{H}$ (CCK-1)	$\delta^1\text{H}$ (Lit.1)	$\delta^1\text{H}$ (Lit.2)	$\delta^{13}\text{C}$ (CCK-1)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.1)	$\delta^{13}\text{C}$ (Lit.3)
1	0.83-1.66 (m)		1.73 (d), 0.95 (t)	38.8	38.8	38.5
2	0.83-1.66 (m)		1.64 (d), 1.58 (q)	27.4	27.4	27.0
3	3.13 (dd, $J_1=11.3$ Hz, $J_2=5.1$ Hz)	3.21 (dd, $J_1=11.3$ Hz, $J_2=5.1$ Hz)	3.19 (dd)	79.1	79.0	78.1
4				38.9	38.9	38.5
5	0.83-1.66 (m)		0.70 (d)	55.3	55.3	55.0
6	0.83-1.66 (m)		1.52 (d), 1.38 (q)	18.3	18.3	17.9
7	0.83-1.66 (m)		1.41 (m), 1.37 (m)	34.2	34.3	33.9
8				41.1	41.1	41.1
9	0.83-1.66 (m)		1.30 (d)	50.4	50.5	50.4
10				37.1	37.1	36.7
11	0.83-1.66 (m)		1.58 (d), 1.26 (q)	21.6	21.6	21.1
12	0.83-1.66 (m)		1.62 (d), 1.23 (q)	27.6	27.7	27.2
13	0.83-1.66 (m)		1.61 (t)	39.2	39.2	38.8
14				42.2	42.1	41.8
15	0.83-1.66 (m)		1.78 (t), 1.01 (d)	27.0	27.1	26.4
16	0.83-1.66 (m)		1.31 (d), 1.21 (t)	36.7	36.7	36.5
17				34.4	34.4	34.0
18	0.83-1.66 (m)		1.04 (t)	48.7	48.7	48.4
19	0.83-1.66 (m)		1.57 (m)	36.3	36.3	35.9
20				139.9	139.9	139.4
21	5.18 (d, $J=6.6$ Hz)	5.26 (bd, $J=6.5$)	5.25 (d)	118.9	118.9	118.5
22	0.83-1.66 (m)		1.72 (d), 1.56 (d)	42.3	42.4	41.9
23	0.92 (s)	0.98 (s)	0.98 (s)	28.0	28.0	27.7
24	0.69 (s)	0.77 (s)	0.78 (s)	15.4	15.4	15.1
25	0.77 (s)	0.85 (s)	0.86 (s)	16.3	16.3	15.9
26	0.96 (s)	1.05 (s)	1.04 (s)	16.1	16.1	15.7
27	0.87 (s)	0.95 (s)	0.95 (s)	14.7	14.8	14.4
28	0.66 (s)	0.74 (s)	0.73 (s)	17.7	17.7	17.3
29	0.92 (bs)	0.99 (d, $J=6.5$)	0.99 (d)	22.6	22.6	22.1
30	1.55 (s)	1.63 (s)	1.64 (s)	21.7	21.6	21.2



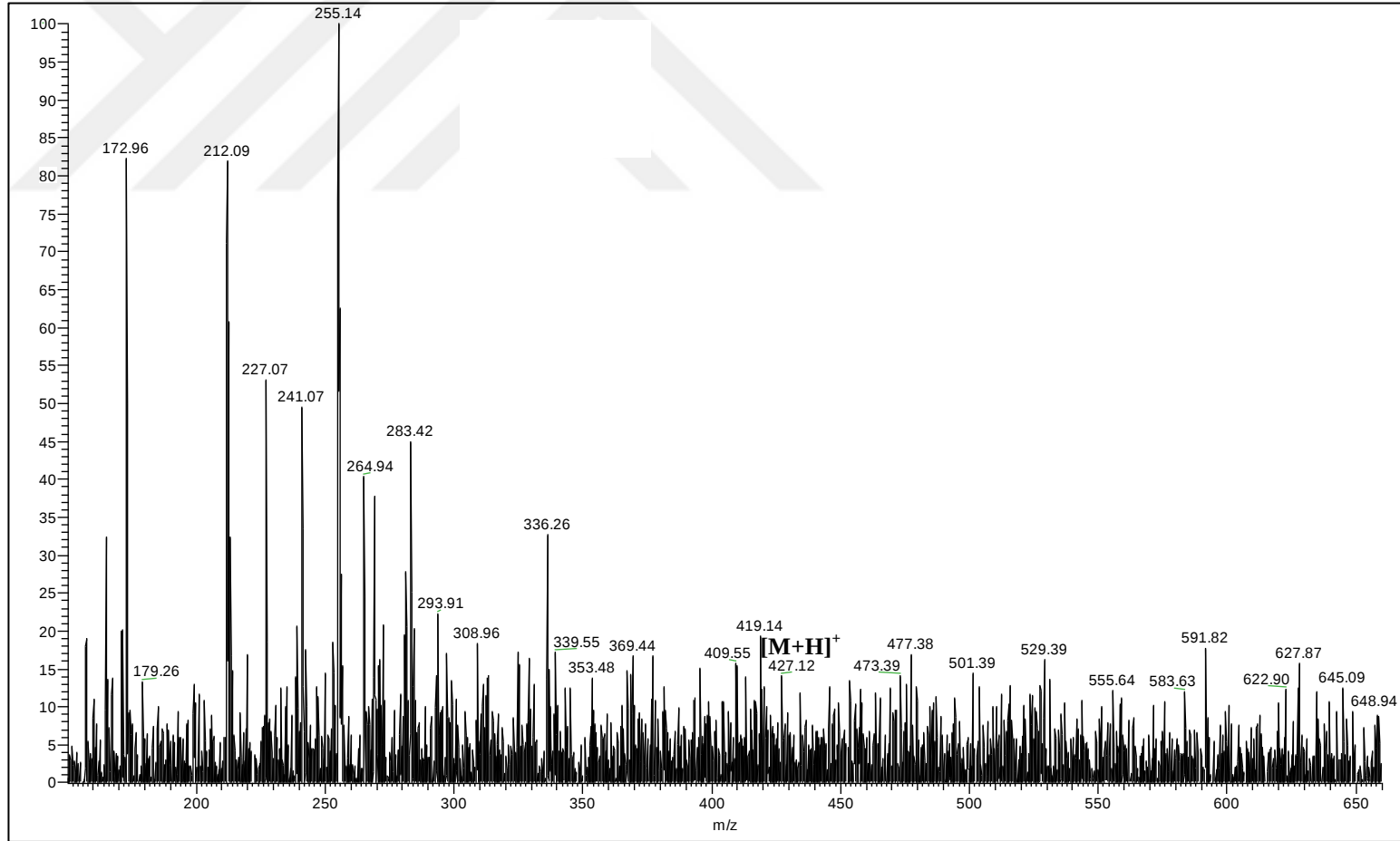
Şekil 3.71. CCK-1 bileşiğinin ^1H -NMR Spektrumu (CDCl₃, 400 MHz)



Şekil 3.72. CCK-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)



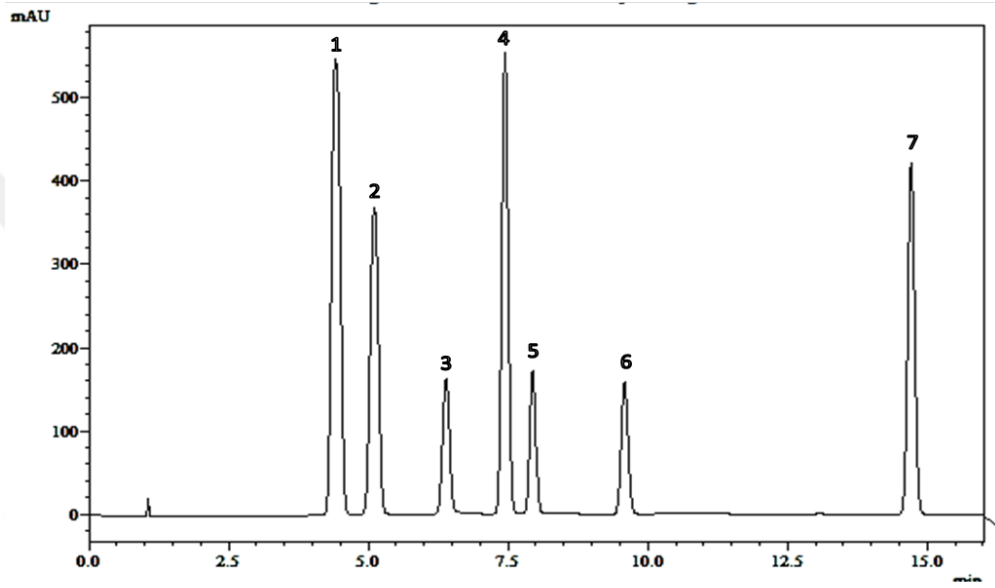
Şekil 3.73. CCK-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)



Şekil 3.74. CCK-1 bileşiğinin kütle spektrumu

3.3. YPSK Çalışmalarına Yönelik Bulgular

Çalışmada tayini yapılan standartlar, *p*-hidroksibenzoik asit, vanilik asit, siringaldehit, kumarik asit, sinapik asit, benzoik asit ve kersetin'dir. Bu 7 adet bileşiğin kolonda ayrımını sağlamak için çeşitli denemeler yapılmış ve uygun gradient program belirlenmiştir. Belirtilen fenolik maddeler yüksek çözünürlükle ayrılmıştır (Şekil 2).



Şekil 3.75. Standartlarının YPSK kromatogramı. Piklerin tanımlanması: 1. *p*-OH benzoik asit, 2. vanilik asit, 3. siringaldehit, 4. kumarik asit, 5. sinapik asit, 6. benzoik asit, 7. kersetin

3.3.1. YPSK Yöntem Validasyonuna Yönelik Bulgular

Oluşturulan ve validasyonu gerçekleştirilen metodun doğrusallık parametresine ait %95-100 kabul edilebilir korelasyon katsayısı değerleri ilgili metotta 0,9985-0,9998 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.23). Kesinlik parametresi için alıkonma zamanları ve % Alana yönelik bağıl standart sapma (%BSS) değerlerinin 2'nin altında olması bu parametre açısından da yöntemin uygunluğunu göstermektedir (Çizelge 3.24). Doğruluk parametresinin tekrarlanabilirlik açısından % Geri Kazanımın standart sapma değerleri 1,97'nin altında bulunmuştur (Çizelge 3.24).

Çizelge 3.23. Standartların alıkonma zamanları ve YPSK yöntemine ait bazı validasyon parametrelerinin değerleri

	Fenolik bileşikler	Alıkonma Zamanı (dakika)	Standart Denklemini	Korelasyon Katsayısı (r)	LOD (µg/ml)	LOQ (µg/ml)
1	<i>p</i> -OH Benzoik asit	4,411	$y = 56,637x + 70148$	0,9998	0,05	0,17
2	Vanilik Asit	5,102	$y = 38,098x + 25387$	0,9994	0,08	0,26
3	Siringaldehit	6,383	$y = 15,237x + 18310$	0,9985	0,20	0,66
4	Kumarik Asit	7,437	$y = 44,407x - 7600,9$	0,9999	0,07	0,22
5	Sinapik asit	7,947	$y = 12,877x - 2206,2$	0,9998	0,25	0,78
6	Benzoik asit	9,588	$y = 14,099x - 934,87$	0,9998	0,23	0,71
7	Kersetin	14,720	$y = 37,337x - 35711$	0,9998	0,09	0,27

Çizelge 3.24. YPSK yöntemine ait bazı validasyon parametrelerinin değerleri

		RT Kesinlik (% BSS)		% Alan Kesinlik (% BSS)		% Geri kazanım (ort ± SS)		
	Fenolik bileşikler	Gün içi	Günler arası	Gün içi	Günler arası	5 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL
1	<i>p</i> -OH Benzoik asit	0,14	0,18	0,62	0,79	101,0±0,76	99,9±0,56	99,5±0,52
2	Vanilik Asit	0,12	0,21	0,51	0,82	100,7±0,27	100,2±1,04	102,1±2,05
3	Siringaldehit	0,05	0,16	0,44	0,50	100,2±1,04	102,6±1,41	99,6±1,75
4	Kumarik Asit	0,02	0,04	0,26	0,78	99,33±1,97	102,9±1,03	99,5±0,21
5	Sinapik asit	0,16	0,41	0,65	0,98	102,33±1,95	98,9±0,98	98,3±0,15
6	Benzoik asit	0,05	0,10	0,36	0,64	102,2±0,21	98,8±0,57	98,2±0,92
7	Kersetin	0,02	0,07	0,27	1,19	98,9±0,46	99,7±0,69	100,4±0,5

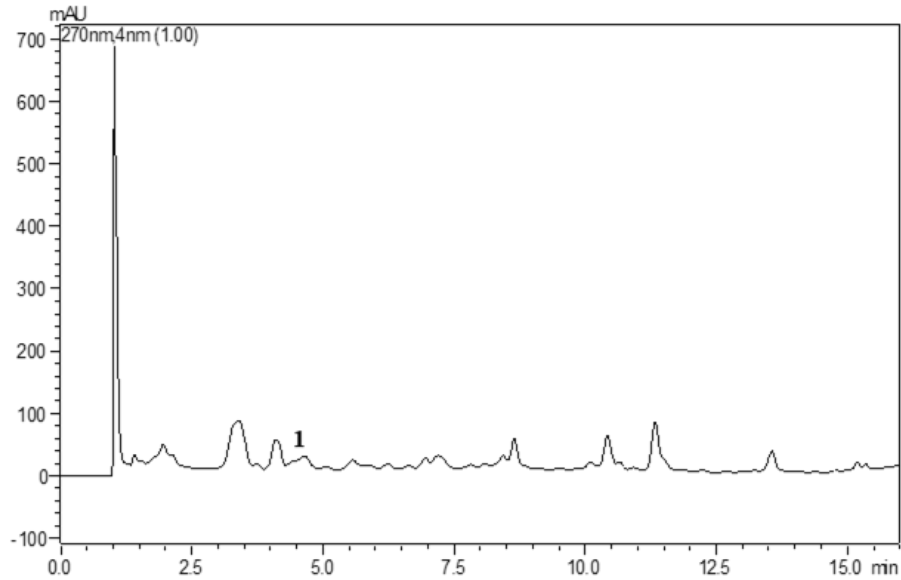
3.3.1. *Cirsium* Türlerinin YPSK Analizleri

Cirsium türlerinden hareketle hazırlanan örnek çözeltileri aynı metotla 3 kez sürüklenmiş ve kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak ilgili standartlar açısından türlerin kantitatif analizleri gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.25. *Cirsium* türlerinin fenolik bileşikler ve benzoik asit içerikleri

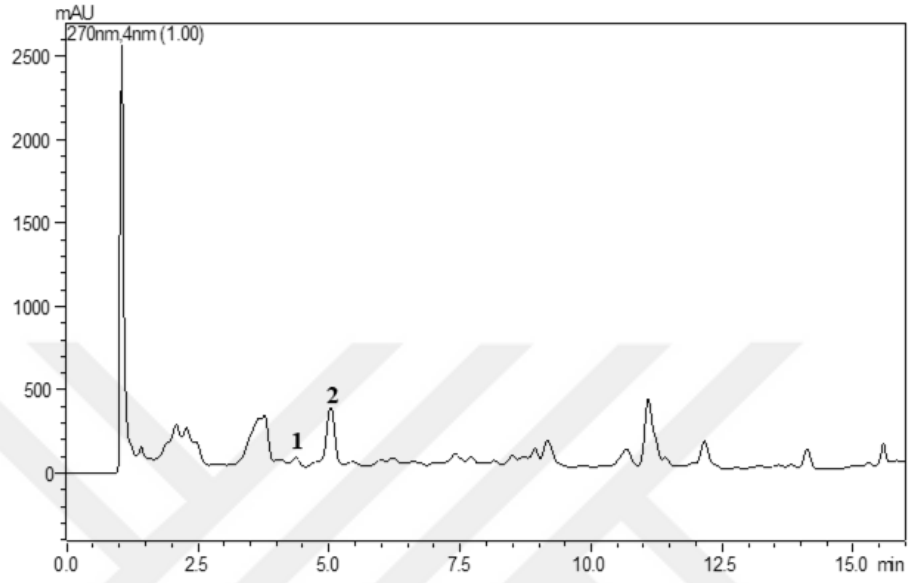
Tür Adı	<i>p</i> -OH Benzoik Asit	Vanilik Asit	Siringaldehit	Kumarik Asit	Sinapik Asit	Benzoik Asit	Kersetin
mg/g ekstre							
<i>C. balikesirense</i>	1,25	-	-	-	-	-	-
<i>C. nerimaniae</i>	1,91	15,23	-	-	-	-	-
<i>C. sommieri</i>	-	-	-	-	-	-	2,29
<i>C. cephalotes</i>	4,69	6,18	-	-	-	-	2,86

C. balikesirense metanol ekstresinin YPSK çalışması sonucunda gerçekleştirilen kantitatif analizinde 1,25 mg/g *p*-OH benzoik asit içerdiği tespit edilmiştir.



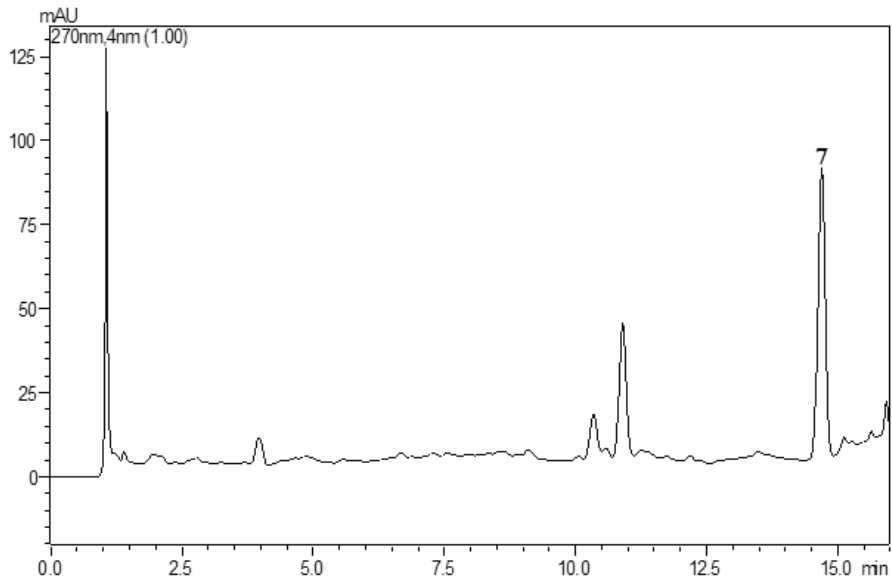
Şekil 3.76. *C. balikesirense* metanol ekstresi YPSK Kromatogramı

C. nerimaniae metanol ekstresinin YPSK çalışması sonucunda gerçekleştirilen kantitatif analizinde 1,91 mg/g *p*-OH benzoik asit ve 15,23 mg/g vanilik asit içerdiği tespit edilmiştir.



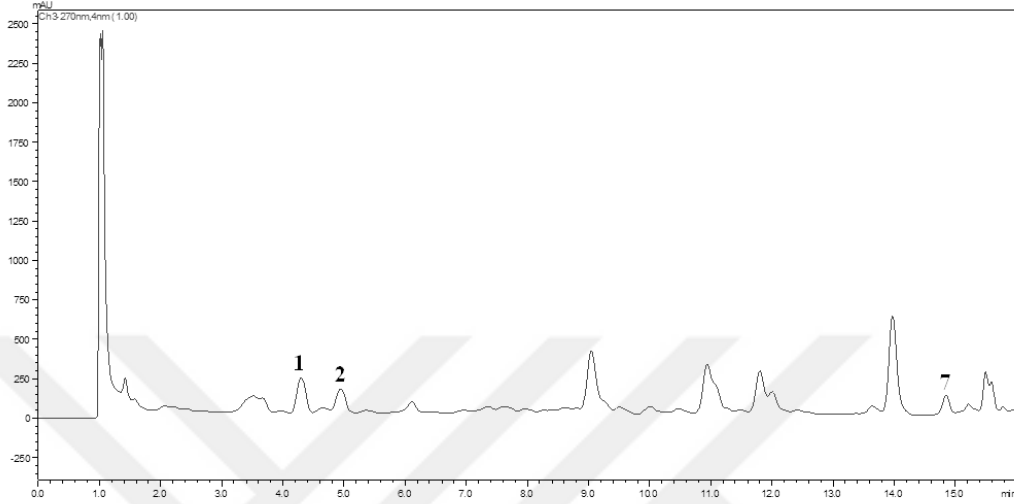
Şekil 3.77. *C. nerimaniae* metanol ekstresi YPSK Kromatogramı

C. sommieri metanol ekstresinin YPSK çalışması sonucunda gerçekleştirilen kantitatif analizinde 2,29 mg/g kersetin içerdiği tespit edilmiştir.



Şekil 3.78. *C. sommieri* metanol ekstresi YPSK Kromatogramı

C. cephalotes metanol ektresinin YPSK çalışması sonucunda gerçekleştirilen kantitatif analizinde 4,69 mg/g *p*-OH benzoik asit, 6,18 mg/g valinik asit ve 2,86 mg/g kersetin içerdiği tespit edilmiştir.

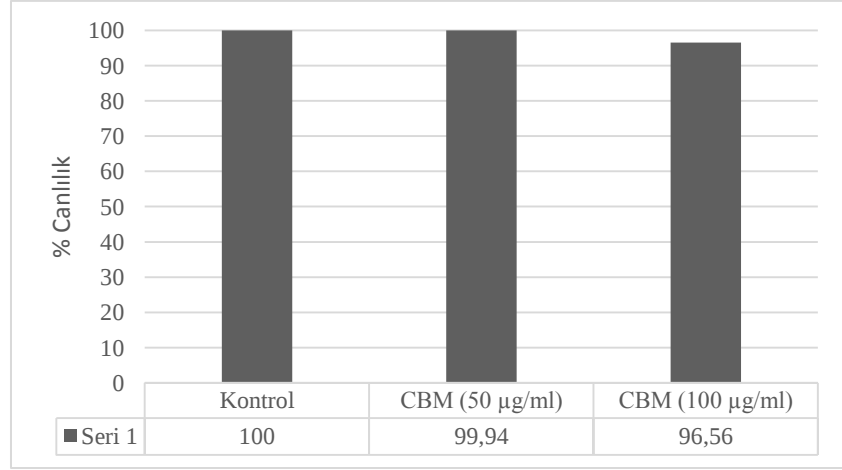


Şekil 3.79. *C. cephalotes* metanol ekstresi YPSK Kromatogramı

3.4. *In vitro* Sitotoksik Aktivite Çalışmalarına Yönelik Bulgular

3.4.1 *C. balikesirense*'nin Adipositlerdeki Sitotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi

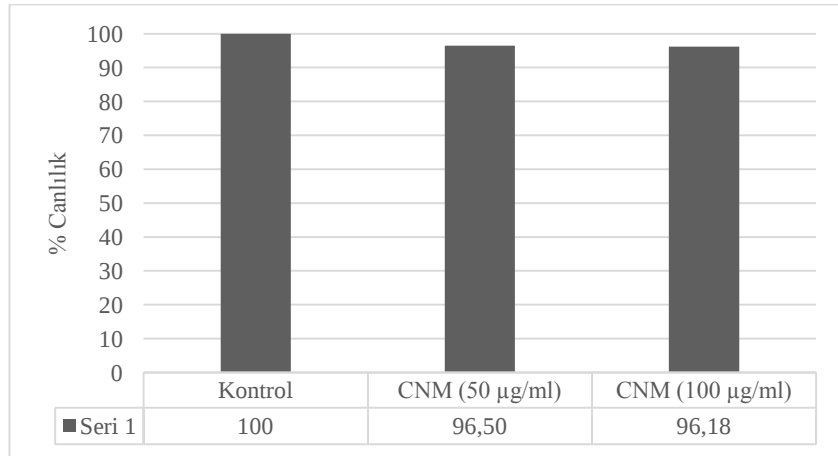
Cirsium balikesirense için MTT yöntemiyle adiposit hücrelerinde belirlenen sitotoksik aktivite tayinleri aşağıdaki grafiklerle belirtilmiştir. *C. balikesirense* metanol ektresinde anlamlı bir sitotoksik etki gözlenmemiştir.



Şekil 3.80. *C. balikesirenses* metanol ekstresi (CBM) sitotoksik aktivite değerleri

3.4.2 *C. nerimaniae*'nin Adipositlerdeki Sitotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi

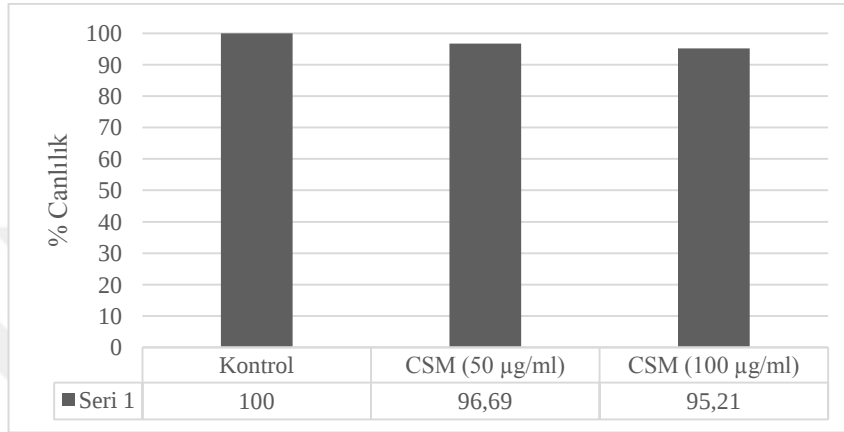
C. nerimaniae için MTT yöntemiyle adiposit hücrelerinde belirlenen sitotoksik aktivite tayinleri aşağıdaki grafiklerle belirtilmiştir. *C. nerimaniae* metanol ekstresinde anlamlı bir sitotoksik etki gözlenmemiştir.



Şekil 3.81. *C. nerimaniae* metanol ekstresi (CNM) sitotoksik aktivite değerleri

3.4.3 *C. sommieri*'nin Adipositlerdeki Sitotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi

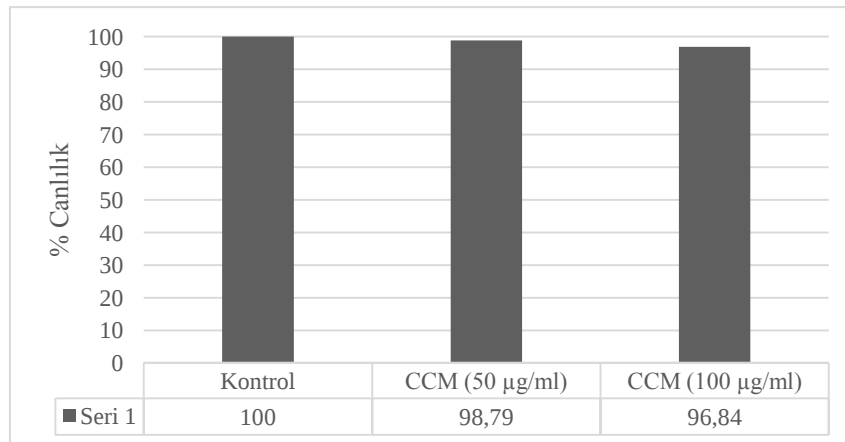
C. sommieri için MTT yöntemiyle adiposit hücrelerinde belirlenen sitotoksik aktivite tayinleri aşağıdaki grafiklerle belirtilmiştir. *C. sommieri* metanol ekstresinde anlamlı bir sitotoksik etki gözlenmemiştir.



Şekil 3.82. *C. sommieri* metanol ekstresi (CSM) sitotoksik aktivite değerler

3.4.4 *C. cephalotes*'in Adipositlerdeki Sitotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi

C. cephalotes için MTT yöntemiyle adiposit hücrelerinde belirlenen sitotoksik aktivite tayinleri aşağıdaki grafiklerle belirtilmiştir. *C. cephalotes* metanol ekstresinde anlamlı bir sitotoksik etki gözlenmemiştir.



Şekil 3.83. *C. cephalotes* metanol ekstresi (CCM) sitotoksik aktivite değerleri

4. TARTIŞMA

Obezite görülme sıklığı hızla artış gösteren, dünya çapında ciddi ve kronik bir sağlık problemidir. Kötü beslenme alışkanlıkları, hareketsiz yaşam tarzı, sosyoekonomik etkiler gibi çevresel faktörler ve bazı genetik bozukluklar sonucunda oluşabilen obezite, vücutta anormal ya da aşırı yağ birikimi olarak tanımlanmaktadır. Obezite doğrudan veya dolaylı olarak insan sağlığını tehdit eden birçok rahatsızlıkla ilişkilidir. Obezite ile ilişkili Tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı gibi birçok hastalığa bağlı komplikasyonlar hızla artmaya devam etmektedir (Akar ve ark., 2017; Kopelman ve ark., 2000; McArdle ve ark., 2013 ve Mokhad ve ark., 2003).

Doğal kaynaklı ürünler lipit absorpsiyonunu azaltmak, enerji tüketimini artırmak, adipositlerin farklılaşmasını ve çoğalmasını azaltmak, lipojenezi baskılamak gibi birçok mekanizmayla antiobezite etki oluşturmaktadırlar. Bununla birlikte, güvenli ve etkili antiobezite ilaçların geliştirilmesinde büyük öneme sahip doğal kaynaklı ürünlerin obezite tedavisindeki potansiyeli konusundaki çalışmalar tam olarak amacına ulaşamamıştır (Patra ve ark., 2015 ve Yun ve ark., 2010).

Tez kapsamında *Cirsium balikesirense*, *C. nerimaniae*, *C. sommieri* ve *C. cephalotes* metanol ekstrelerinin obezite tedavisindeki potansiyeli araştırılmıştır. Bu kapsamda antiobezite etkinin belirlenmesi için yürüttüğümüz yüksek yağlı diyetle obezite oluşturulan sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen *in vivo* deneyler sıklıkla kullanılmaktadır (Lee ve ark., 2015; Patra ve ark., 2015; Thompson ve ark., 1999). Tez çalışmaları, 8 haftalık deney süresi sonunda çalışılan bitkilerin metanol ekstrelerinin ve pozitif kontrol olarak kullanılan orlistat uygulamasının, obezite oluşturulan negatif kontrol grubuyla kıyaslandığında sıçanların vücut ağırlığını azaltarak obeziteye karşı etkili olduğunu göstermiştir.

Obezite, yağ dokusu hücreleri adipositlerinin boyutsal ve sayısal olarak artışı ile karakterizedir (Couillard ve ark., 2000). *In vivo* biyolojik aktivite çalışmaları kapsamında yağ dokusunda gerçekleştirilen histopatolojik analizlerin sonucunda

incelenen *Cirsium* türlerinin metanol ekstraktları ve orlistat grubu karşılaştırıldığında adiposit çaplarında azalma meydana getirmesi, bu türlerin yağ dokusundaki antiobezite etkisini ortaya koymuştur.

Obezitenin karaciğerdeki lipit ve enerji metabolizmasında yarattığı değişiklikler karaciğerde bazı histopatolojik değişimlere neden olmaktadır. Obeziteyle beraber artan hepatosellüler yağ damlacıkları, mikroveziküler ve makroveziküler vakuollerin oluşumu ile beraber steatoz tablosu ortaya çıkmaktadır. Histopatolojik tablonun ilerleyişiyle oluşan mononükleer hücre infiltrasyonu ve hepatositlerdeki balonlaşma gibi bulgular ise siroza giden bir süreçte neden olmaktadır (Goodman, 2014 ve Sonsuz, 2007). *In vivo* biyolojik aktivite çalışmalarındaki karaciğer dokularındaki histopatolojik analizlerde, obezite oluşturulan grupta steatoz ve sonrasında gelişen mononükleer hücre infiltrasyonu, hepatosellüler balonlaşma ve mikroveziküler lipit dejenerasyonu gibi obeziteden kaynaklı bulgulara rastlanmıştır. Pozitif kontrol grubunun ve ekstraktlara ait grupların, yüksek yağlı diyet sonrasında gelişen histopatolojik değişimleri negatif kontrol grubuyla kıyaslandığında daha iyiye gittiği görülmüştür.

Obezite plazma trigliserit, total kolesterol, LDL seviyelerinde artışa, HDL seviyesinde ise azalmaya neden olmaktadır (Després ve ark., 1989 ve Ozdoğan ve ark., 2015). Leptin ve adiponektin yağ dokusundan salgılanan, iştahın düzenlenmesinde, enerji harcanmasında, glukoz ve lipit metabolizmasının düzenlenmesinde metabolik ve endokrin fonksiyonu olan iki önemli hormondur (Erhardt ve ark., 2014). Obezitede leptin direnci oluşumu sebebiyle leptin düzeyi artarken, adiponektin düzeyi azalmaktadır (Daniel ve ark., 2013 ve Inafuku ve ark., 2013). *In vivo* biyolojik aktivite çalışmaları kapsamındaki sıçan serumlarında yaptığımız biyokimyasal incelemeler sonucunda, obez grup ile karşılaştırıldığında çalışılan *Cirsium* türlerinin metanol ekstraktları ve orlistat uygulaması serum LDL, trigliserit ve leptin seviyelerini azaltırken, HDL ve adiponektin düzeylerinde arttırdığı gözlenmiştir. Bu durum bitkilerin, obeziteden kaynaklı dislipidemiye iyileştirici yönde etki ettiği, leptin ve adiponektin seviyelerindeki düzenleyici etkisinden dolayı da leptin direncinden ve adiponektin düzeyinin azalmasından

kaynaklı obezitedeki olumsuz etkilerin azaltılabileceği yönünde değerlendirilmektedir.

İnsülin direnci ve bozulmuş insülin sekresyonu, Tip 2 diyabet ve bozulmuş glukoz toleransındaki temel patojenezdir. İnsülin direnci diyabetik hastalarda kan şekeri düzeyi anormallikleri ortaya çıkmadan önce gelişebilir. Tip 2 diyabet süreci hiperinsülinemi, prediyabet ve diyabet olmak üzere üç farklı evreden oluşmaktadır. İnsülin direnci normalden, bozulmuş ve diyabetik glukoz toleransına geçişte temel faktördür. Pankreatik beta hücreleri yeterli insülini ürettiğinde kan şekeri normal olarak muhafaza edilebilmektedir. Bununla birlikte, beta hücreleri insülin direncini telafi edecek yeterli insülini üretmediğinde, kan şekeri seviyesi kaçınılmaz olarak yükselmektedir (Chen ve ark., 2015; Group, 2000; Kim ve Reaven, 2008; Sun ve ark., 2008 ve Yang ve ark., 2016). Bu nedenle obeziteden kaynaklı olası insülin direncinin değerlendirilmesi amacıyla, *in vivo* biyolojik aktivite çalışmaları kapsamında biyokimyasal parametrelerden sıçanların kan glukoz ve serum insülin seviyeleri de incelenmiştir. Analizler sonucunda negatif kontrol, kontrol, türlerin metanol eksterelerinin ve orlistanın uygulandığı hayvan gruplarının glukoz düzeylerinde anlamlı bir fark gözlemlenmezken, kontrol grubuyla kıyaslandığında obez grubun serum insülin düzeylerinin anlamlı oranda arttığı değerlendirilmiştir. Bu durum yüksek yağlı diyet uygulaması ile obezite oluşturulan grubun aynı zamanda diyabetin hiperinsülinemi evresinde olabileceği görüşünü doğurmuştur. Bitkilerin metanol ekstreleri ve orlistat uygulaması gerçekleştirilen gruplar ile obez grup karşılaştırıldığında serum insülin düzeylerinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu durum incelenen bitkilerin obeziteden kaynaklı olası insülin direncini iyileştirebileceği yorumunu doğurmuştur.

Obezite, insülin direncinin oluşmasına neden olan kronik inflamasyonla ilişkilidir. Bozulan lipid metabolizması, dolaşımdaki serbest yağ asitlerini artırır ve bu durum enflamatuvar sinyal yolağının başlamasına neden olur. Enflamatuvar sinyalin oluşmasıyla IL-6, TNF- α ve IL-1 β gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasının artışı patolojik durumu şiddetlendirerek insülin sinyal yolağının bozulmasına neden olur. Benzer şekilde yağ dokusunun fonksiyonunun bozulması karaciğer ve iskelet kasındaki glukoz hemostazına zarar verir ve bu durum sistemik

insülin direncinin oluşması ve sonrasında Tip 2 diyabet ile sonuçlanır. Bu nedenle antienflamatuvar tedavi yaklaşımları obezite ve obeziteyle ilişkili hastalıklarda etkili olabilme potansiyeline sahiptir (Chawla ve ark., 2015 ve McArdle ve ark., 2013). Obez farelerde TNF- α 'nın antikorlarla etkisizleştirilmesi sonucu insülin direncinde düzelme gözlenmiştir (Ryden ve ark., 2007). IL-1 β reseptörü antagonistleri Tip 2 diyabetli hastalarda glisemiye ve β hücrelerindeki insülin sekresyonunu iyileştirmiştir (Larsen ve ark., 2007). Bu yaklaşımdan hareketle *in vivo* biyoaktivite çalışmaları kapsamında, grupların serum TNF- α ve IL-1 β belirlenmiş ve incelenen türlerin metanol ekstraktları ve orlistat uygulaması gerçekleştirilen gruplarda, obez grupla karşılaştırıldığında serum TNF- α ve IL-1 β düzeylerinin daha düşük seviyede olduğu belirlenmiştir. Bu durum bitkilerin sahip olduğu potansiyel antienflamatuvar etkinin, obeziteden kaynaklı insülin direncini azaltabileceğini düşündürmüştür.

Yağ dokusu gelişimi sırasında, üç ana transkripsiyon faktörü PPAR- γ , C/EBP- α ve SREBP-1c görev almaktadır (Patra ve ark., 2015). Asetil-CoA prekürsörlerinden uzun zincirli yağ asitlerinin biyosentezini katalizleyen anahtar bir lipojenik enzim olan FAS'ın gen ekspresyonu obeziteyle birlikte artmaktadır (Blüher., 2014 ve Boizard., 1998). Sözü edilen transkripsiyon faktörlerinin ve FAS gen ekspresyonunun baskılanması antiobezite etki oluşturmaktadır (Loftus ve ark., 2000 ve Yun ve ark., 2010). RT-PCR çalışmaları ile, *Cirsium* türlerinin metanol ekstraktlarının sıçan yağ dokusundaki ilgili gen ekspresyon düzeyleri değerlendirilmiş ve adipojenездеki bazı anahtar transkripsiyon faktörlerinden PPAR- γ , C/EBP- α , SREBP-1c ve ayrıca FAS gen ekspresyon düzeylerinin azalttığı tespit edilmiştir.

Konuya farklı bir mekanizma açısından yaklaşıldığında; pankreatik lipaz, pankreastan sentezlenen ve salınan, trigliseritlerinin sindirimini katalize eden, lipolitik bir enzimdir. Triasilgliserollerin absorpsiyonunda ve triasilgliserollerin yağ asidi ve monoasilgliserollere hidrolizinde önemli bir role sahiptir (Lowe., 2002). Obezitede besin maddelerinin sindirim ve emilim inhibitörleri, gastrointestinal mekanizmayla enerji alımını azaltan önemli tedavi stratejilerindendir. Obeziteye karşı etkili bileşiklerin geliştirilmesinde diyetle alınan lipidlerin sindiriminin ve absorpsiyonunun inhibisyonunu sağlayan pankreatik lipaz inhibitörlerinden faydalanılmaktadır (Seyedan ve ark., 2015). Sıçan serum lipaz düzeylerine yönelik

gerçekleştirilen tez kapsamındaki diğer bir çalışmada, obez grubun kontrol grubuyla karşılaştırıldığında lipaz seviyesinin yüksek olduğu ve türlerin metanol ekstreleri uygulamasının, negatif kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, orlistat uygulmasına oranla daha düşük seviyede olmakla birlikte serum lipaz seviyesini azalttığı tespit edilmiştir.

In vivo biyolojik aktivite çalışmaları ile incelenen *Cirsium* türlerinin metanol ekstrelerinin obezite tedavisindeki önemine yönelik ön bilgiler ışığında, araştırmanın daha ileriye taşınması, antiobezite etkiden sorumlu bileşiklerin keşfedilmesi veya olası sinerjik etkinin araştırılması amacıyla BAYF gerçekleştirilmiştir. BAYF, *in vivo* çalışmalarda negatif kontrol grubuyla kıyaslandığında ekstre uygulanan grupların sıçan serum lipaz düzeylerinin düşük düzeyde olması ön bilgisiyle de desteklenerek, obezite tedavisindeki temel yaklaşımlardan biri olan lipaz enzim inhibisyonuna yönelik *in vitro* çalışmalar rehberliğinde gerçekleştirilmiştir. BAYF kapsamında *in vitro* çalışmalarla türlerin lipaz enzimi üzerindeki etkinliğini belirlenmiş, incelenen tüm türlerin metanol ekstrelerinin ve bazı alt fraksiyonlarının lipaz enzim inhibitör etkileri saptanarak lipaz inhibitör etkisi ortaya konmuştur. Etkili alt fraksiyonlardan İnce Tabaka Kromatografisi, Normal Faz Kolon Kromatografisi, Ters Faz Kolon Kromatografisi ve Sefadeks Kolon Kromatografisi gibi kromatografik yöntemler kullanılarak izolasyon çalışmaları sürdürülmüş kromatografik yöntemlerle elde edilen her bir fraksiyon için lipaz inhibitör etki değerlendirilmiştir.

C. balikesirensense üzerinde gerçekleştirilen BAYF ile lipaz inhibitör etki yönünden en etkili alt fraksiyonun arta kalan su alt fraksiyonu olduğu tespit edilmiştir. Bu alt fraksiyondan hareketle sürdürülen BAYF çalışmaları ile izole edilen ve spektroskopik yöntemlerle yapısı aydınlatılan fenil propanoit yapısındaki **siringinin** bu tür için en yüksek lipaz inhibitör etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Arta kalan su alt fraksiyonunda sürdürülen diğer izolasyon çalışmalarında ise fenolik glikozit yapısında **simadahurinin** bileşiği izole edilmiştir. Arta kalan su alt fraksiyonundan daha düşük olmakla birlikte lipaz inhibitör etki gözlenen kloroform alt fraksiyonundan ise triterpenoit yapısındaki **ψ -taraksasterol** izole edilmiştir.

C. nerimaniae üzerinde gerçekleştirilen BAYF ile lipaz inhibitör etki yönünden en etkili alt fraksiyonun arta kalan su alt fraksiyonu olduğu tespit edilmiştir. Bu alt fraksiyondan hareketle sürdürülen BAYF çalışmaları ile izole edilen ve spektroskopik yöntemlerle yapısı aydınlatılan flavonol glikoziti yapısındaki **afzelinin** bu tür için en yüksek lipaz inhibitör etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Arta kalan su alt fraksiyonunda sürdürülen diğer izolasyon çalışmalarında ise flavonol glikoziti yapısındaki **astragalin** bileşiği izole edilmiştir. Arta kalan su alt fraksiyonundan daha düşük olmakla birlikte lipaz inhibitör etki gözlenen kloroform alt fraksiyonundan ise *C. balikesirensis*'ye benzer şekilde triterpenoit yapısındaki **ψ -taraksasterol** izole edilmiştir.

C. sommierii üzerinde gerçekleştirilen BAYF ile lipaz inhibitör etki yönünden tek etkili alt fraksiyonun kloroform alt fraksiyonu olduğu tespit edilmiştir. Bu alt fraksiyondan hareketle sürdürülen BAYF çalışmaları ile izole edilen ve spektroskopik yöntemlerle yapısı aydınlatılan triterpenoit yapısındaki **ψ -taraksasterolün** bu tür için en yüksek lipaz inhibitör etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Kloroform alt fraksiyonunda sürdürülen diğer izolasyon çalışmalarında ise triterpenoit yapısındaki bir diğer bileşik **lupeol** izole edilmiştir.

C. cephalotes üzerinde gerçekleştirilen BAYF ile lipaz inhibitör etki yönünden en etkili alt fraksiyonun etil asetat alt fraksiyonu olduğu tespit edilmiştir. Bu alt fraksiyondan hareketle sürdürülen BAYF çalışmaları ile izole edilen ve spektroskopik yöntemlerle yapısı aydınlatılan flavon yapısındaki **apigeninin** bu tür için en yüksek lipaz inhibitör etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Etil asetat alt fraksiyonunda sürdürülen diğer izolasyon çalışmalarında ise flavonol glikoziti yapısındaki **afzelin** bileşiği izole edilmiştir. Etil asetat fraksiyonundan daha düşük olmakla birlikte lipaz inhibitör etki gözlenen kloroform alt fraksiyonundan ise incelenen diğer türlerle benzer şekilde triterpenoit yapısındaki **ψ -taraksasterol** izole edilmiştir.

İzole edilen bileşiklerin her biri yukarıda da bahsedildiği gibi lipaz inhibitör etki açısından değerlendirilmiş ve bu bileşikler içerisinde en yüksek lipaz inhibitör etkili bileşiğin apigenin olduğu tespit edilmiştir.

Cirsium türleri üzerinden daha önce gerçekleştirilen fitokimyasal çalışmalarda ψ -taraksasterolün, *C. henryi*, *C. olearaceum* ve *C. setosum*'dan; lupeolün, *C. scabrum*, *C. setosum*, *C. canum*, *C. carolinianum*, *C. hypoleucum* ve *C. vallis-demonii*'den; apigeninin *C. japonicum* var. *maackii*, *C. nipponicum*, *C. palustre*, *C. rhinoceros*, *C. rivulare*, *C. setosum*, *C. sipyleum*, *C. syriacum* ve *C. henryi*'den; astragalinin, *C. canum*, *C. palustre* ve *C. sipyleum*'dan; afzelinin *C. syriacum*, *C. sipyleum* ve *C. tenoreanum*'dan; siringinin, *Cirsium japonicum*, *C. leucopsis*, *C. rivulare* ve *C. setidens*'ten izole edildiği ortaya konmuştur (Aboul-Ela ve ark., 2002; Boğa ve ark., 2014; Chen ve ark., 2007; Chen ve ark., 2010; Deliorman-Orhan ve ark., 2007; Feng ve ark., 2012; Feng ve ark., 2012; Han ve ark., 2008; Jeong ve ark., 2018; Jung ve ark., 2017; Lee ve ark., 1994; Lee ve Lee, 2005; Lee ve Lee, 2005; Li ve ark., 2012; Loizzo ve ark., 2004; Mao ve ark., 2016; Nazaruk ve Galicka, 2014; Nazaruk ve Gudej, 2003; Nazaruk, 2009; Nazaruk, 2009; Sahli ve ark., 2017; Statti ve ark., 1997; Strawa ve ark., 2016; Zhi ve ark., 2003 ve Zhou ve ark., 2007). BAYF çalışmaları ile saflaştırılan simidahuninin ise *Cirsium* cinsinden ilk kez izole edilmiştir.

C. sommieri'nin metanol ekstresinden hareketle hazırlanan kloroform alt fraksiyonundan izole edilen lupeol, antiartritik, antimikrobiyal, antiprotozal, antikanser, antidiyabetik, kardiyoprotektif, antienflamatuvar, cilt koruyucu, hepatoprotektif ve nöroprotektif etkilidir. *In vivo* ve *in vitro* araştırmalar sonucunda lupeolün, protein tirozin fosfotaz 1β , α -amilaz ve α -glukozidaz inhibitör etki gibi mekanizmalarla antidiyabetik etki gösterdiği ispatlanmıştır. *In vivo* çalışmalarda ise lupeol trigliserit ve kolesterol seviyelerini azaltarak dislipidemi tablosunu iyileştirmiş ve kardiyoprotektif etki sağlamıştır. Lupeolün antienflamatuvar etkisinin araştırıldığı fareler üzerinde yapılan bir çalışmada da 12-O-tetradekanoilforbol-13-asetat (TPA) indüklü enflamasyonda, miyeloperoksidaz düzeylerini düşürmüş böylece hücre infiltrasyonunun azalmasıyla antienflamatuvar etkinin oluşmasına neden olmuştur. Yapılan başka bir çalışmada ise lupeol, lipopolisakkarit indüklü makrofajlarda TNF- α ve IL- 1β proenflamatuvar sitokin düzeylerini azaltarak antienflamatuvar yanıtın oluşmasına neden olmuştur. Oral lupeol uygulaması, artritik farelerde CD4 ve CD8+T hücrelerinde ve sitokinlerin seviyelerinde anlamlı düşüşe neden olarak

antienflamatuvar yanıt oluşturmuştur. Sonuç olarak, lupeol enflamasyonla ilişkili TNF- α , IL-1 β , PGE2, miyeloperoksidaz, makrofajlar ve T lenfositleri aracılığıyla antienflamatuvar etki oluşturmaktadır (Patil., 2018; Saleem ve ark., 2009 ve Siddique ve Saleem., 2011).

*C. balikesirens*e, *C. nerimaniae*, *C. sommier*i ve *C. cephalotes*'in metanol ekstresinden hareketle hazırlanan kloroform alt fraksiyonundan izole edilen ψ -taraksterol'ün TPA indüklü enflamasyonda antienflamatuvar etki gösterdiği saptanmıştır (Akihisa ve ark., 1996).

*C. balikesirens*e'nin metanol ekstresinden hareketle hazırlanan arta kalan su alt fraksiyonundan izole edilen siringin antioksidan, nöroprotektif, antiölser, antidiyabetik ve antienflamatuvar etkilere sahiptir. Siringin karragen indüklü sıçanlarda, pençe ödemi seviyesini azaltarak antienflamatuvar yanıtın oluşmasına neden olmuştur. Siringin ayrıca lipoksijenaz indüklü RAW264.7 hücrelerinde TNF- α üretimini ve CD8+T çoğalmasını inhibe ederek immunomodölör etkinin oluşmasına neden olmuştur. Streptozotosin indüklü diabetik sıçanlarda siringin glukoz kullanımını artırarak ve kan glukoz seviyelerini düşürerek antidiyabetik etki oluşturmuştur. Siringin aynı zamanda kalp hipertrofinin ilerlemesini azaltarak bu yönde terapötik bir etki oluşturmaktadır (Li ve ark., 2017 ve US ve ark., 2015).

*C. balikesirens*e'nin metanol ekstresinden hareketle hazırlanan arta kalan su alt fraksiyonundan ise simidahurinin izole edilmiştir. Simidahurinin temel iskeletini oluşturan hidroksitrozol, sıçanlarda karragen indüklü enflamasyonda enflamasyon ve ağrıyı azaltmıştır. Antienflamatuvar etkisinin proenflamatuvar sitokinlerin üretimini baskılayarak gerçekleştirdiği ispatlanmıştır. Hidroksitrozol iskeletinin antienflamatuvar etkisinin yanısıra kardiyoprotektif etkiye de sahip olduğu kanıtlanmıştır (Aydar ve ark., 2017 ve Wu ve ark., 2018).

C. cephalotes'in metanol ekstresinden hareketle hazırlanan etil asetat alt fraksiyonundan izole edilen apigenin de antikanser, antitümör, antioksidan, antiviral, antienflamatuvar, antidiyabetik, antiobezite ve kardiyoprotektif etkilere sahiptir. Apigenin ayrıca Alzheimer ve Parkinson'da da terapötik potansiyele sahiptir.

Apigenin α -glukozidaz inhibitör etkisi nedeniyle, insülin sekresyonunu artırarak ve reaktif oksijen radikallerinin hücrel hasarını nötralize ederek antidiyabetik etki oluşturmaktadır. Apigenin nitrikoksit üretimini azaltmakta olup COX inhibisyonuna katkı sağlamaktadır. Apigenin COX-2 aktivasyonunu sağlayan NF- κ B yolağını inhibe ederek aynı zamanda TNF- α gibi enflamasyondan sorumlu bazı stokinlerin düzeyini azaltmaktadır. Apigeninin enflamasyon sürecindeki bu etkileri antienflamatuvar etki oluşturmasıyla sonuçlanmaktadır. Apigenin anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü etkisiyle kan basıncını düşürmektedir. Apigenin hipertansif sıçanlarda kalp hipertrofisini ve anormal miyokardiyal glukolipit metabobolizmasını iyileştirmiştir. Benzer şekilde kardiyomiyopatinin indüklendiği diyabetik farelerde kardiyoprotektif etki oluşturmuştur (Ali ve ark., 2017; Salehi ve ark., 2019 ve Zhou ve ark., 2017). Apigenin lipaz inhibitör ve antiadipojenik etkileri ile de obezite tedavisinde terapötik potansiyele sahiptir (Guo ve ark., 2016 ve Ono ve Fujimori., 2011).

C. nerimaniae'nin metanol ekstresinden hareketle hazırlanan arta kalan su alt fraksiyonundan ve *C. cephalotes*'in metanol ekstresinden hareketle hazırlanan etil asetat alt fraksiyonundan izole edilen afzelin, α -amilaz ve α -glukozidaz inhibitör etkisi sebebiyle antidiyabetik etkiye sahiptir (Torres-Naranjo ve ark., 2016). Afzelin nitrikoksit üretimini azaltarak ve NF- κ B yolağını inhibe ederek antienflamatuvar etki oluşturmaktadır (Rho ve ark., 2011). Afzelin sahip olduğu lipaz inhibitör etkisi ile obeziteye karşı etki oluşturmaktadır (Ado ve ark., 2013).

C. nerimaniae'nin metanol ekstresinden hareketle hazırlanan arta kalan su alt fraksiyonundan izole edilen astragalin, antienflamatuvar, antioksidan, nöroprotektif, antikanser, antidiyabetik, antiülser, antiobezite, hepatoprotektif ve kardiyoprotektif etkiye sahiptir. Astragalin, afzelinle benzer şekilde NF- κ B yolağını inhibe ederek antienflamatuvar etki oluşturmaktadır. Astragalin, kardiyak hasarlı sıçanlarda intraselüler oksidatif stres ve apoptozisi azaltarak kardiyoprotektif etki oluşturmuştur. Astragalin adiposit farklılaşmasını azaltarak ve hipolipidemik etki sağlayarak antiobezite etki oluşturmaktadır (Riaz ve ark., 2018; Wang ve ark., 2015 ve Zang ve ark., 2015).

Tez kapsamında *Cirsium* türlerinin metanol ekstralarının fitokimyasal profili YPSK ile incelenmiş olup, benzoik asit, *p*-OH benzoik asit, kersetin, kumarik asit, sinapik asit, siringaldehit ve vanillik asit bileşiklerinin kantitatif tayinleri gerçekleştirilmiştir. Vanilik asit yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda inflamasyon oluşuma karşı protektif etki gösterirken, insülin direncine bağlı hiperinsülinemi, hiperglisemi ve hiperlipidemiye karşı iyileştirici etki sağlamıştır (Chang ve ark., 2015). *p*-Kumarik asit ve sinapik asit obez farelerde TNF- α gibi pro-inflamatuvar adipokinlerin düzeyini azaltarak ve adiponektin gibi anti-enflamatuvar sitokinlerin seviyesini artırarak obeziteyi ve obeziteye bağlı komplikasyonları azaltmıştır (Alam ve ark., 2016). Siringaldehit diyabetik sıçanlarda kaslarda GLUT-4 taşıyıcı ve mRNA seviyelerini artırarak hiperglisemiye azaltmıştır (Kuo ve ark., 2014). Benzoik asit türevi bileşikler streptozotosin indüklü diyabetik sıçanlarda plazma insülin, glukoz, LDL ve trigliserit seviyelerini normal seviyelere ulaşmasını sağlayarak lipid metabolizmasında ve diyabetik tabloda düzelme sağlamıştır (Gayathri ve Kannabiran., 2009). Kersetin lipid seviyelerini düşürücü ve glukoz hemostazını iyileştirici etkisiyle diyabet ve obezite tedavisinde kullanılabilir potansiyeline sahiptir (Arias ve ark., 2014). Antiobezite tedavisinde kullanılabilirliği açısından belirlenen standartlardan *p*-OH benzoik asit, *C. balikesirensense*, *C. nerimaniae* ve *C. cephalotes* metanol ekstralarında; vanilik asit *C. nerimaniae* ve *C. cephalotes* metanol ekstralarında; kersetin, *C. sommieri* ve *C. cephalotes* metanol ekstralarında tespit edilmiştir.

Cirsium ismi yunanca “şişmiş damarlar” anlamındaki “khirsos” isminden türetilmiştir. Tournefort, Dioscorides’e atıfta bulunarak, *Cirsium* türlerinin damar hastalıklarının tedavisinde kullanıldığını belirtmektedir (Yıldız ve ark., 2016). *Cirsium* cinsi, uzun yıllardır halk arasında obeziteyle ilişkilendirilebilir anti-enflamatuvar, diüretik ve venoaktif etkilerinden dolayı kullanılmaktadır (Lee ve ark., 2015; Thompson ve ark., 1999).

Tez bulguları değerlendirildiğinde, *Cirsium* türlerinin vücut ağırlığını azaltarak, obeziteyle ilişkili biyokimyasal parametreleri iyileştirerek ve adiposit çaplarında azalma meydana getirerek, adipojeniz sürecindeki bazı anahtar transkripsiyon faktörlerinin ve FAS gen ekspresyonlarını azaltarak obeziteye karşı

etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca lipaz inhibitör etki tarama çalışmalarıyla gerçekleştirilen BAYF sonucunda izole edilen ve lipaz inhibitör etkisi belirlenen yukarıda bahsedilen bileşiklerin de güçlü antienflamatuvar aktivitelerinin yanısıra andiyabetik ve kardiyoprotektif etkileri bulunmaktadır.

Cirsium türlerinin halk arasındaki geleneksel kullanımlarıyla da uyumlu olarak, tez kapsamındaki türlerin obeziteye karşı etkisinin olası mekanizmaları, tezde bahsedilen birbiriyle yakından ilişkili etkiler ile doğrudan ya da dolaylı olarak ilişkilendirilmektedir.



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Tez çalışması ile *Cirsium balikesirense*, *C. nerimaniae*, *C. sommieri* ve *C. cephalotes* topraküstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstrelerinin yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlardaki antiobezite aktivitesi değerlendirilmiş ve obeziteye karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Biyokimyasal parametreler değerlendirildiğinde ise ekstrelerin obeziteden kaynaklı dislipidemiye iyileştirdiği gözlenmiştir. Ekstrelerin insülin direnci ile karakterize insülin düzeyleri ve Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α), İnterlökin 1 Beta (IL-1 β) proenflamatuvar sitokinlerinin düzeyleri üzerindeki etkinliğini belirlenmiş ve türlerin TNF- α ve IL-1 β seviyelerini azaltarak antienflamatuvar etkili olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte obez grupta glukoz seviyesi normal düzeydeyken, insülin düzeyinde gözlenen artış obez grubun diyabetin hiperinsülinemi evresinde olduğunu göstermiştir. *Cirsium* türlerine ait grupların obez grupla kıyaslanması sonucu insülin seviyesinin azaldığı ve olası insülin direncini azalttığı sonucuna ulaşılmıştır. Sıçan yağ dokularındaki PPAR- γ , C/EBP- α ve SREBP-1c anahtar transkripsiyon faktörlerinin ve FAS gen ekspresyonları üzerindeki etkileri de değerlendirmiş olup RT-PCR çalışmalarıyla bahsedilen genlerin düzeylerini azalttığı tespit edilmiştir. MTT yöntemiyle adipositlerdeki sitotoksik etki belirlenmiş ve incelenen türlerin metanol ekstrelerinin adipositlerde anlamlı bir sitotoksik etki göstermediği tespit edilmiştir.

In vitro lipaz inhibitör çalışmalarıyla yönlendirilen BAYF kapsamında triterpenoit yapısındaki lupeol ve ψ -taraksasterol; fenolik glikozit yapısında siringin ve simidaurinin; flavon yapısında apigenin; flavonol glikoziti yapısında afzelin ve astragalin izole edilmiştir. BAYF kapsamında en yüksek lipaz inhibitör etki gösteren bileşiğin apigenin olduğu tespit edilmiştir.

Proje sonucunda elde edilen veriler ile incelenen türlerin obezite ve komplikasyonlarının tedavisindeki terapötik potansiyeli ile bu potansiyelin altında yatan olası temel mekanizmalar aydınlatılmıştır. Bundan sonraki gerçekleştirilebilecek klinik çalışmalar ve toksikolojik analizlerle, tez kapsamındaki

Cirsium türlerinin küresel bir sağlık problemi olan obezite tedavisindeki terapötik etkinliği daha ileri noktaya taşınabilir. Disiplinlerarası işbirlikleriyle ileri formülasyon ve standardizasyon çalışmalarıyla da türlerin antiobezite tedavisindeki kullanılışlarının daha etkin ve güvenilir olması için araştırmalar yapılabilir.



ÖZET

Bazı *Cirsium* Mill. (Asteraceae) Türleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar

Bu çalışmada, küresel ölçekte ciddi sağlık problemlerine ve ekonomik kayıplara neden olan obezitenin tedavisinde bazı *Cirsium* türlerinin fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları ile terapötik değerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Cirsium türleri ülkemizde 32'si endemik olmak üzere 67 tür ve 79 takson ile temsil edilmektedir ve uzun yıllardır ülkemizde ve tüm dünyada geleneksel olarak kullanılmaktadır. Antiinflamatuvar, diüretik ve venoaktif amaçlı geleneksel kullanımları olması bitkilerin obezitede etkili olabileceğini düşündürmüştür. Bu çalışma üçü endemik, dört *Cirsium* türü (*C. balikesirense*, *C. nerimaniae*, *C. sommieri* ve *C. cephalotes*) üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Çalışma kapsamında, sağlıklı sıçanlarda ve yüksek yağlı diyet ile obezite oluşturulan sıçanlarda bazı *Cirsium* türlerinin topraküstü kısımlarının kuru metanol ekstraktlarının antiobezite etkisi değerlendirmiş, bu etkinin olası mekanizmaları ortaya konmuş, biyolojik aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama çalışmaları ve YPSK analizi gerçekleştirilmiştir. *In vivo* çalışmalar sonunda, antiobezite etkiyi değerlendirmek için, sıçanların her hafta vücut ağırlıkları ölçülmüş, ayrıca biyokimyasal ve histopatolojik analizler gerçekleştirilmiştir. Antiobezite etkinin olası mekanizmalarının araştırılması için, RT-PCR analizi ile sıçan yağ dokularında, adipojenetik bazı anahtar transkripsiyon faktörlerinin ve yağ asidi sentaz geninin gen ekspresyon düzeyleri belirlenmiş, ayrıca lipaz enzimi düzeyleri, obezitedeki insülin direnci ile karakterize olan insülin ve bazı proenflamatuvar sitokinlerin düzeyleri değerlendirilmiştir. Biyolojik aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama çalışmaları ise *in vitro* lipaz enzim inhibitör etki rehberliğinde gerçekleştirilmiştir. *Cirsium* türlerinin ham metanol ekstraktlarının lipaz inhibitör etkisinin ortaya konması ile, metanol ekstresinden hareketle hazırlanan kloroform, etil asetat ve arta kalan su alt fraksiyonlarının ve lipaz inhibitör etkili alt fraksiyonlardan kromatografik çalışmalar sonunda elde edilen diğer fraksiyonların lipaz enzim inhibisyonları değerlendirilmiştir. Biyolojik aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama çalışmaları sonucunda elde edilen bileşikler çeşitli kromatografik yöntemler (İnce Tabaka Kromatografisi, Normal Faz Silika Jel kolon kromatografisi, Ters Faz Silika Jel Kolon Kromatografisi, Sefadeks Kolon Kromatografisi) kullanılarak saflaştırılmıştır. Saf bileşiklerin yapıları, çeşitli spektroskopik teknikler (^1H NMR, ^{13}C NMR ve KS) kullanılarak belirlenmiştir. YPSK çalışmaları ile türlerdeki antiobezite etkili bazı bileşiklerin kantitatif tayini gerçekleştirilmiştir.

In vivo antiobezite aktivite çalışmaları sonucunda, ekstraktların ve pozitif kontrol olarak kullanılan orlistatin sıçanların vücut ağırlığını azalttığı tespit edilmiştir. Negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekstrakt ve pozitif kontrole ait gruplarda serum LDL, trigliserit, leptin seviyeleri azalırken, HDL ve adiponektin düzeylerinde artış gözlenmiştir. Yağ dokusunda yapılan histopatolojik çalışmalarda ekstrakt ve orlistat adiposit çaplarında azalma meydana getirmiştir. Sıçan yağ dokularında gerçekleştirilen RT-PCR çalışmaları sonucunda, *Cirsium* türlerinin, adipojenetik bazı anahtar transkripsiyon faktörleri (PPAR- γ , C / EBP- α , SREBP-1c) ve yağ asidi sentaz geni (FAS) düzeylerini azalttığı tespit edilmiştir. Biyokimyasal çalışmalar sonucunda ilgili türlerin serum lipaz ve TNF- α , IL-1 β seviyelerini azalttığı belirlenmiştir.

Biyolojik aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama çalışmaları sonucunda, antiobezite etkili türlerden *C. balikesirense*'den fenil propanoit (siringin), fenolik glikozit (simidaurinin) ve triterpenoit (ψ -taraksasterol) yapısında; *C. nerimaniae*'den, flavonol

glikoziti (astragalin ve afzelin) ve triterpenoit (ψ -taraksasterol) yapısında; *C. sommieri*'den triterpenoit (lupeol ve ψ -taraksasterol) yapısında; *C. cephalotes*'den flavon (apigenin), flavonol glikoziti (afzelin) ve triterpenoit (ψ -taraksasterol) yapısında bileşikler izole edilmiştir. Saflaştırılan bileşiklerden apigeninin en yüksek lipaz inhibitör etkiye sahip olduğu değerlendirilmiştir. YPSK analizi çalışmaları sonucunda, türlerde *p*-OH benzoik asit, vanilik asit ve kersetin tespit edilmiştir.

Sonuçlar değerlendirildiğinde, projede yer alan *Cirsium* türlerinin topraküstü kısımlarının metanol ekstraktlerinin obeziteye karşı etkili olduğunu göstermiştir. Bu nedenle geleneksel kullanımı ile uyumlu olarak *Cirsium* türleri obezite ve komplikasyonları için potansiyel doğal ilaç kaynağı olabileceği öngörülmektedir. Bununla birlikte, *Cirsium* türlerinin bu küresel sağlık problemi için terapötik amaçlı kullanımı için, ileri araştırmalar ve klinik çalışmalar gerektirmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antiobezite etki, Asteraceae, Biyoaktivite Yönlendirmeli Fraksiyonlama, *Cirsium*, YPSK.



SUMMARY

Pharmacognosic Studies on Some *Cirsium* Mill. (Asteraceae) species

The aim of this study is to research therapeutic value of some *Cirsium* species for the treatment of obesity which is cause of serious health problems and economic cost, globally.

Cirsium (Asteraceae) genus is represented by 67 species (79 taxon, 32 endemic) in Turkey and have been used traditionally in Turkey and in the world. Among of traditional uses, anti-inflammatory, diuretics and venoactive effect may be related with potential usage of the plant for treatment of the obesity. 4 *Cirsium* species which of them 3 are endemic (*C. balikesirense*, *C. nerimaniae*, *C. sommieri* and *C. cephalotes*) were selected for the studies.

In the scope the study, antiobesity effect of the methanolic extracts of the aerial parts of some *Cirsium* species in normal and High Fat Diet Feed induced obese rats was investigated, the possible mechanisms of antiobesity activity were clarified, biological activity guided fractionation studies from the active species were carried out and HPLC analysis were performed. To interpret antiobesity activity, body weights of the rats was measured per week, also biochemical and histopathological analysis were carried out at the end of *in vivo* studies. To reveal the possible mechanisms of antiobesity activity, the gene expression level of some key transcription factors in adipogenesis and fatty acid synthase via RT-PCR analysis were detected, the levels of lipase enzyme were determined and levels of insulin and some proinflammatory cytokines related insulin resistance were detected. Biological activity guided fractionation studies were performed via *in vitro* lipase enzyme inhibition effect guidance. Chloroform, ethyl acetate and remaining water fraction were obtained from effective crude methanol extracts. Effective subfractions and fractions obtained from chromatographic analysis were evaluated according to lipase enzyme inhibition. Active compounds were purified using various chromatographic methods (Thin Layer Chromatography, Normal Phase Silica Gel column chromatography, Reverse Phase Silica Gel Column Chromatography, Sephadex Column Chromatography) in chloroform, ethyl acetate and remaining water subfractions. The structures of the pure compounds were determined by various spectroscopic methods (^1H NMR, ^{13}C NMR and MS). Quantitative determination of some compounds possessed antiobesity effect were carried out via HPLC analysis.

Oral administration of the extracts and positive control orlistat reduced body weight. Moreover, the treatments were resulted in increased serum HDL, adiponectin and decreased in LDL, TG and leptin. Also, the treatments were resulted in decreased in adipocytes size. According to RT-PCR analysis, *Cirsium* species were reduced the levels of key transcription factors in adipogenesis (PPAR- γ , C/EBP- α SREBP-1c) and FAS. Biochemical studies were showed that the species were decreased the levels of lipase, TNF- α and IL-1 β .

As a results of biological activity guided fractionation studies, a phenyl propanoid (syringin), a phenolic glycoside (cimidahurin) and a triterpenoid (ψ -taraxasterol) were isolated from *C. balikesirense*. Two flavonol glycosides (astragalin and afzelin) and a triterpenoids (ψ -taraxasterol) were isolated from *C. nerimaniae*. Two triterpenoids (lupeol and ψ -taraxasterol) were isolated from *C. sommieri*. A flavon (apigenin), a flavonol glycosides (afzelin) and a triterpenoids (ψ -taraxasterol) were isolated from *C. cephalotes*. Apigenin were found to have the most potent inhibitory activity on lipase enzyme. As a results of HPLC analysis, *p*-OH benzoic acid, vanillic acid and quercetin were determined for the species.

Consequently, the methanolic extracts of the aerial parts of some *Cirsium* species were effective for obesity. *Cirsium* species may be natural source for the treatment of obesity and its complications accordance with traditional uses. However, further investigations and clinical trials are required for therapeutic effect of *Cirsium* species for the global health problem.

Keywords: Antiobesity Effect, Asteraceae, Biological Activity Guided Fractionation, *Cirsium*, HPLC



KAYNAKLAR

- ABDEL-KADER MS, AL-TAWEEL AM, EL-DEEB KS (2008). Bioactivity guided phytochemical study of *Clematis hirsuta* growing in Saudi Arabia. *Natural Product Sciences*, **14**: 56-62.
- ABDULLAHI SM, MUSA AM, ABDULLAHI, MI, SULE MI, SANI YM (2013). Isolation of lupeol from the Stem-bark of *Lonchocarpus sericeus* (Papilionaceae). *Scholars Academic Journal of Biosciences*, **1**: 18-19.
- ABOUL-ELA MA, ABDUL-GHANI MM, EL-FIKY FK, EL-LAKANY AM, MEKKY HM, GHAZY NM (2002). Chemical constituents of *Cirsium syriacum* and *Cichorium intybus* (Asteraceae) growing in Egypt Alexandria. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **16**: 152-156.
- ADO M, ABAS F, MOHAMMED A, GHAZALI H (2013). Anti-and pro-lipase activity of selected medicinal, herbal and aquatic plants, and structure elucidation of an anti-lipase compound. *Molecules*, **18**: 14651-14669.
- AHN MJ, HUR SJ, KIM EH, LEE SH, SHIN JS, KIM MK, KIM DS (2014). Scopoletin from *Cirsium setidens* increases melanin synthesis via CREB phosphorylation in B16F10 cells. *The Korean Journal of Physiology and Pharmacology*, **18**: 307-311.
- AHN N, KIM K (2016). High-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) in cardiovascular disease: effect of exercise training. *Integrative medicine research*, **5**: 212-215.
- AKIHISA T, YASUKAWA K, OINUMA H, KASAHARA Y, YAMANOUCHI S, TAKIDO M, KUMAKI K, TAMURA T (1996). Triterpene alcohols from the flowers of Compositae and their anti-inflammatory effects. *Phytochemistry*, **43**: 1255-1260.
- AKTAR N, QURESHI NK, FERDOUS HS (2017). Obesity: A Review of Pathogenesis and Management Strategies in Adult. *Delta Medical College Journal*, **5**: 35-48.
- AKYÜZ, TUFAN. *Centaurea pseudoscabiosa* Boiss. ve Buhse (Asteraceae) tür kompleksi ve yakın ilişkili taksonların akrabalık ilişkilerinin belirlenmesi (2016). PhD Thesis. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- ALAM MA, SUBHAN N, HOSSAIN H, HOSSAIN M, REZA HM, RAHMAN MM, ULLAH MO (2016). Hydroxycinnamic acid derivatives: a potential class

of natural compounds for the management of lipid metabolism and obesity. *Nutrition and Metabolism*, **13**: 27-40.

ALI F, RAHUL NF, JYOTI S, SIDDIQUE Y H (2017). Health functionality of apigenin: A review. *International Journal of Food Properties*, **20**: 1197-1238.

ARABACI T, DIRMENCI T (2011). *Cirsium yildizianum* (Asteraceae: Cynareae), a new species from East Anatolia, Turkey. *Annales Botanici Fennici*, **48**: 503-507.

ARATANECEMUGE Y, HIBASAMI H, SANPIN K, KATSUZAKI H, IMAI K, KOMIYA T (2004). Induction of apoptosis by lupeol isolated from mokumen (*Gossampinus malabarica* L. Merr) in human promyelotic leukemia HL-60 cells. *Oncology Reports*, **11**: 289-292.

ARIAS N, MACARULLA MT, AGUIRRE L, MARTINEZ-CASTANO MG, PORTILLO MP (2014). Quercetin can reduce insulin resistance without decreasing adipose tissue and skeletal muscle fat accumulation. *Genes and Nutrition*, **9**: 361.

AYDAR AY, ÖNER TÖ, ÜÇÖK EF (2017). Effects of hydroxytyrosol on human health, *EC Nutrition*, **11**: 147-157.

AYTAC Z, DUMAN H, EKİCİ M (2016). Two new *Achillea* L.(Asteraceae) species from Turkey. *Turkish Journal of Botany*, **40**: 373-379.

BAYS HE, TOTH PP, KRIS-ETHERTO PM, ABATE N, ARONNE LJ, BROWN WV, SAMUEL VT (2013). Obesity, adiposity, and dyslipidemia: a consensus statement from the National Lipid Association. *Journal of clinical lipidology*, **7**: 304-383.

BENABDELAZIZ I, HABA H, LAVAUD C, BENKHALED M (2014). Triterpenoids and flavonoid from *Scorzonera undulata* ssp. *alexandrina*. *International Journal of Chemical and Biochemical Science*, **5**: 1-5.

BIRARI RB, BHUTANI K (2007). Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. *Drug Discovery Today*, **12**: 879-889.

BLUHER M, KLOTING N, WUEEST S, SCHOENLE EJ, SCHON MR, DIETRICH A, FASSHAUER M, STUMVOLL M, KONRAD D (2014). Fas and FasL expression in human adipose tissue is related to obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes, *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **99**: 36-44.

- BOGA M, YILMAZ PK, CEBE DB, FATİMA M, SIDDIQUI BS, KOLAK U (2014). Chemical constituents and biological activities of *Cirsium leucopsis*, *C. sipyleum*, and *C. eriophorum*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, **69**: 381-390.
- BOHLMANN F, ABRAHAM WR (1981). Apotaxene epoxide from *Cirsium hypoleucum*, *Phytochemistry*, **20**: 855-866.
- BOIZARD M, LIEPVRE X, LEMARCHAND P, FOUFELLE F, FERRÉ P, DUGAIL I. 1998. Obesity-related Overexpression of Fatty-acid Synthase Gene in Adipose Tissue Involves Sterol Regulatory Element-binding Protein Transcription Factors, *The American Society for Biochemistry and Molecular Biology*, **273**: 29164-291171.
- BOLDIZSAR I, KRASZNI M, TOTTH F, TOTTH G, SOLYOMVARY A, NOSZAL B, ZARAY G, MOLNAR-PERL I (2012). The role of harmonized, gas and liquid chromatography mass spectrometry in the discovery of the neolignan balanophonin in the fruit wall of *Cirsium vulgare*, *Journal of Chromatography A*, **1264**: 143-147
- BONAMICHI B, PARENTE EB, BONAMICHI R, BELTZHOVER R, LEE J, SALLES JEN (2018). The Challenge of Obesity: A Review of Approved Drugs and New. *Journal of Obesity & Eating Disorders*, **4**: 1-10.
- BORAWSKA MH, CZECHOWSKA SK, MARKIEWICZ R, SOCHA K, NAZARUK J, PAŁKA J, ISIDOROV VA (2010). Enhancement of antibacterial effects of extracts from *Cirsium* species using sodium picolinate and estimation of their toxicity, *Natural Product Research*, **24**: 554-561.
- BRACCA AB, KAUFMAN TS (2008). An alternative and convenient synthesis of oct-7-enal, a naturally-occurring aldehyde isolated from the Japanese thistle *Cirsium dipsacolepis*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **19**: 1125-1128.
- BUSTANJI Y, AL-MASRI IM, MOHAMMAD M, HUDAIB M, TAWAHA K, TARAZI H, ALKHATIB HS (2011). Pancreatic lipase inhibition activity of trilactone terpenes of *Ginkgo biloba*. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 26(4), 453-459.
- CAMP HS, REN D, LEFF T (2002). Review: Adipogenesis and fat-cell function in obesity and diabetes. *Trends in Molecular Medicine*, **8**: 442-447.
- CAO Q, CHEN J (2010). Studies on the chemical constituents of *Cirsium segetum*. *Yaoxue Shijian Zazhi*, **28**: 271-273.

- CHANG WC, WU JSB, CHEN CW, KUO PL, CHIEN HM, WANG YT, SHEN SC. (2015). Protective effect of vanillic acid against hyperinsulinemia, hyperglycemia and hyperlipidemia via alleviating hepatic insulin resistance and inflammation in High-Fat Diet (HFD)-fed rats. *Nutrients*, **7**: 9946-9959.
- CHANTRE P, LAIRON D (2002). Recent findings of green tea extract AR25 (Exolise) and its activity for the treatment of obesity. *Phytomedicine*, **9**: 3-8.
- CHAWLA A, NGUYEN KD, GOH YS (2011). Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease. *Nature Reviews Immunology*, **11**: 738-761.
- CHEN G, LI X, SHI L, ZHANG S (2007). Chemical constituents from *Cirsium pendulum* Fisch. ex DC. *Zhongyaocai*, **30**: 291-294
- CHEN L, CHEN R, WANG H, LIANG F (2015). Mechanisms linking inflammation to insulin resistance. *International Journal of Endocrinology*, **2015**: 1-9.
- CHEN Y, YI J, DEJI LQ (2010). Study on quality standard of Tibetan medicine *Cirsium esculentum*, *Zhongchengyao*, **32**: 1377-1379.
- CHO BY, LEE JH, KIM JM, CHOI SI, JUNG TD, CHOI SH, RA MJ, KIM SY, KANG IJ, HAN KC, LEE OH (2017). Effect of *Cirsium setidens* Nakai extract on high-fat diet-induced obesity in C57BL/6J mice. *The FASEB Journal*, **31**: lb468-lb468.
- CHOI HS (2015). Chemical Composition of the Essential Oil from *Cirsium setidens*, a Korean Medicinal Plant. *Analytical Chemistry Letters*, **5**: 94-102.
- CIS J, NOWAK G, HOROSZKIEWICZ-HASSAN M, KISIEL W (2002). Syringinin some species of the subtribe *Centaureinae* of the Asteraceae, **72**: 105-107.
- COUILLARD C, MAURIEGE P, IMBEAULT P, PRUD'HOMME D, NADEAU A, TREMBLAY A, BOUCHARD C, DESPRES JP (2000). Hyperleptinemia is more closely associated with adipose cell hypertrophy than with adipose tissue hyperplasia. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, **24**: 782-788.
- DANIEL, CB, DREW S, DANIEL ZEVE, JONATHAN MG (2013). The developmental origins of adipose tissue. *Development*, **140**: 3939-3949.
- DAVIS PH, PARRIS SB (1975). *Cirsium* Mill. In: Davis PH, editor. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Vol. 5. Edinburgh, UK: Edinburgh University Press, pp. 370-386.

- DEHJURIAN A, LARI J, MOTAVALLIZADEHKAKHKY A (2018). Identification and quantitative analysis of quercetin and luteolin polyphenol in methanolic extracts of *Cirsium arvense* with HPLC. *Bulgarian Chemical Communications*, **50**: 285– 289.
- DELIORMAN-ORHAN D, ERGUN F, YEŞİLADA E, TSUCHIYA K, TAKAISHI Y, KAWAZOE K (2007). Antioxidant activity of two flavonol glycosides from *Cirsium hypoleucum* DC. through bioassay-guided fractionation, *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, **4**: 1-14.
- DESPRÉS JP, MOORJANI S, TREMBLAY A, FERLAND M, LUPIN PJ, NADEAU A, BOUCHARD C. (1989). Relation of high plasma triglyceride levels associated with obesity and regional adipose tissue distribution to plasma lipoprotein-lipid composition in premenopausal women, *Clinical and Investigative Medicine*, **12**: 374-380.
- DIAS S, PAREDES S, RIBEIRO L (2018). Drugs involved in dyslipidemia and obesity treatment: focus on adipose tissue. *International journal of endocrinology*, **2018**: 1-21.
- DREW BS, DIXON AF, DIXON J B (2007). Obesity management: update on orlistat. *Vascular Health and Risk Management*, **3**: 817.
- DU D, JIN T, XING ZH, HU LQ, LONG D, LI S, GONG M (2016). One new linear C14 polyacetylene glucoside with antiadipogenic activities on 3T3-L1 cells from the capitula of *Coreopsis tinctoria*. *Journal of Asian Natural Products Research*, **18**: 784-790.
- DUMAN H, TUGAY O, DIRMENCI T, ERTUĞRUL K (2017). A new species of *Cirsium* sect. *Epitrachys* (Asteraceae: Cardueae) from the south of Turkey. *Turkish Journal of Botany*, **41**: 375-382.
- DUTTA CP, RAY LPK, ROY DN (1972). Taraxasterol and its derivatives from *Cirsium arvense*, *Phytochemistry*, **11**: 2267-2269.
- ELLULU MS, PATİMAH I, KHAZAAİ H, RAHMAT A, ABED Y (2017). Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications. *Archives of Medical Science*, **13**: 851.
- ERHARDT E, FORAITA R, PIGEOT I, BARBA G, VEIDEBAUM T, TORNARITIS M, MICHELS N, EIBEN G, AHRENS W, MORENO LA, KOVÁCS E, MOLNÁR D (2014). Reference values for leptin and adiponectin in children below the age of 10 based on the IDEFICS cohort. *International Journal of Obesity*, **38**: 32-38.

- ESSER N, LEGRAND-POELS S, PIETTE J, SCHEEN AJ, PAQUOT N (2014). Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes research and clinical practice*, 105: 141-150.
- FAJRIAH S, MEGAWATI M, DARMAWAN A (2016). Apigenin, an anticancer active compound isolated from *Macaranga gigantifolia* leaves. *Journal of Tropical Life Science*, 6: 7-9.
- FARMER SR (2006). Transcriptional control of adipocyte formation. *Cell Metabolism*, 4: 263–273.
- FENG S, REUSS L, WANG Y (2016). Potential of natural products in the inhibition of adipogenesis through regulation of PPAR γ expression and/or its transcriptional activity. *Molecules*, 21: 1278-1297.
- FENG Z, YANG Y, JIANG J, ZHANG P (2012). Chemical constituents from *Cirsium setosum*. *Zhongguo Shiyang Fangjixue Zazhi*, 18: 87-89.
- GANZERA M, POECHER A, STUPPNER H (2005). Differentiation of *Cirsium japonicum* and *C. setosum* by TLC and HPLC-MS. *Phytochem Analysis*, 16: 205-209.
- GAO T, YAO H, SONG J, ZHU Y, LIU C, CHEN S (2010). Evaluating the feasibility of using candidate DNA barcodes in discriminating species of the large Asteraceae family. *BMC Evolutionary Biology*, 10: 324-331.
- GAYATHRI M, KANNABIRAN K (2009). Antidiabetic activity of 2-hydroxy 4-methoxy benzoic acid isolated from the roots of *Hemidesmus indicus* on streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Diabetes and Metabolism*, 17: 53-57.
- GOHARI AR, SAEIDNIA S, MOGHADAM M, GHOLAMREZA A, HADJIAKHOONDI A (2009). Phytochemical and chemotaxonomic investigation of *Stelleropsis Iranica*. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3: 3423-3427.
- GOLDBERG IJ, ECKEL RH, ABUMRAD NA (2009). Regulation of fatty acid uptake into tissues: lipoprotein lipase-and CD36-mediated pathways. *Journal of Lipid Research*, 50: 86-90.
- GOODMAN ZD (2014). The impact of obesity on liver histology. *Clinical Liver Disease*, 18:33-40.

- GREENBERG AS, OBIN MS (2006). Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **83**: 461-465.
- GREGOR MF, HOTAMISLIGIL GS (2011). Inflammatory mechanisms in obesity. *Annual Review of Immunology*, **29**: 415-445.
- GROOP L (2000). Pathogenesis of type 2 diabetes: the relative contribution of insulin resistance and impaired insulin secretion. *International Journal of Clinical Practice*, **113**: 3-13.
- GUARRERA PM (2005). Traditional phytotherapy in Central Italy (Marche, Abruzzo, and Latium). *Fitoterapia*, **76**: 1-25.
- GUO X, LIU J, CAI S, WANG O, JI B (2016). Synergistic interactions of apigenin, naringin, quercetin and emodin on inhibition of 3T3-L1 preadipocyte differentiation and pancreas lipase activity. *Obesity Research and Clinical Practice*, **10**: 327-339.
- HAN B, LI N, LI X (2008). Isolation and identification of chemical constituents from *Cirsium setosum* (Willd.)MB. *Shenyang Yaoke Daxue Xuebao*, **25**: 793-795.
- HAN HS, SHIN JS, LEE SB, PARK JC, LEE KT (2018). Cirsimarín, a flavone glucoside from the aerial part of *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* (Regel) Kitam. ex Ohwi, suppresses the JAK/STAT and IRF-3 signaling pathway in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Chemico-biological Interactions*, **293**: 38-47.
- HERMAN PPJ (2000). Die familie Asteraceae: 'n Algemene oorsig. *Suid-Afrikaanse Tydskrif vir Natuurwetenskap en Tegnologie*, **19**: 66-67.
- HOU K, XU J, ZHANG T (2010). Advance in studies on chemical constituents in medicinal plants of *Cirsium* Mill. and their pharmacological effects. *Zhongcaoyao*, **41**: 6-9.
- HRUBY A, HU FB (2015). The epidemiology of obesity: a big picture. *Pharmacoeconomics*, **33**: 673-689.
- ILYAS MN, AB A, AL-HATAMLEH MAI, AL-SHAJRAWI OM, ARIF TM, SIMBAK N. Rising Trends of Obesity in Malaysia; Role of Inflammation and Inflammatory Markers in Obesity Related Insulin Resistance: A Nuclear Factor Kappa B (Nfkb) Perspective. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, **109**: 135-148.

- INAFUKU M, NUGARA RN, KAMIYAMA Y, FUTENMA I, INAFUKU A, OKU H (2013). *Cirsium brevicaule* A. Gray leaf inhibits adipogenesis in 3T3-L1 cells and C57BL/6 mice. *Lipids in Health and Disease*, **12**: 124-133.
- IWASA K, HAYASHI S, FUJISHIRO T, KANZAKI N, HASHIMOTO S, SAKATA S, CHINZEI N, NISHIYAMA T, KURODA R, KUROSAKA M (2014). PTEN Regulates Matrix Synthesis in Adult Human Chondrocytes under Oxidative Stress. *Journal of Orthopaedic Research*, **32**: 231-237.
- IWASHINA T, KAMENOSONO K, UENO T (1999). Hispidulin and nepetin 4'-glucosides from *Cirsium oligophyllum*. *Phytochemistry*, **51**, 1109-1111.
- JANG YS, LIM SS, KIM JH, LEE J, KIM CH (2017). Anti-obesity effect of *Solidago virgaurea* var. *gigantea* extract through regulation of adipogenesis and lipogenesis pathways in high-fat diet-induced obese mice (C57BL/6N). *Food and Nutrition Research*, **61**: 1-12.
- JAYARATHNE S, KOBOZIEV I, PARK OH, OLDEWAGE-THERON W, SHEN CL, MOUSTAID-MOUSSA N (2017). Anti-inflammatory and anti-obesity properties of food bioactive components: Effects on adipose tissue. *Preventive Nutrition and Food Science*, **22**: 251.
- JEONG DM, JUNG HA, CHOI JS (2008). Comparative antioxidant activity and HPLC profiles of some selected Korean thistles. *Archives of Pharmacal Research*, **31**: 28-33.
- JEONG GH, PARK EK, KIM TH (2018). New anti-glycative flavonoids from *Cirsium setidens* with potent radical scavenging activities. *Phytochemistry Letters*, **26**: 115-119.
- JIANG H, YONG-HAI M, LIU Y, QIU-HONG W, BING-YOU Y, CHANG L, KUANG HX (2013). A new megastigmane glycoside from the aerial parts of *Cirsium setosum*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, **11**: 534-537.
- JIANG X, FAN C, YE W (2006). Study on chemical components in the roots of *Cirsium japonicum* DC. *Zhongcaoyao*, **37**: 510-512.
- JO YH, KIM SB, LIU Q, DO SG, HWANG BY, LEE MK (2017). Comparison of pancreatic lipase inhibitory isoflavonoids from unripe and ripe fruits of *Cudrania tricuspidata*. *Plos One*, **12**: 1-14.
- JUNG HA, ABDUL QA, BYUN JS, JOUNG EJ, GWON WG, LEE MS, KIM HY, CHOI JS (2017). Protective effects of flavonoids isolated from Korean milk thistle *Cirsium japonicum* var. *maackii* (Maxim.) Matsum on tert-butyl

- hydroperoxide-induced hepatotoxicity in HepG2 cells. *Journal of Ethnopharmacology*, **209**: 62-72.
- JUNG HA, KIM YS, CHOI JS (2009). Quantitative HPLC analysis of two key flavonoids and inhibitory activities against aldose reductase from different parts of the Korean thistle, *Cirsium maackii*. *Food and Chemical Toxicology*, **47**: 2790-2797.
- KAILA B, RAMAN M (2008). Obesity: a review of pathogenesis and management strategies. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, **22**: 61-68.
- KANG JW, NAM D, KIM KH, HUH J, LEE J (2013). Effect of Gambisan on the Inhibition of Adipogenesis in 3T3-L1 Adipocytes. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, **2013**: 1- 11.
- KHAN A, KHAN ZUH, WAN P, CHEN Y, KONG DD, HENG M, TAHIR K, KHAN AU, NAZIR S, KHAN S U (2014). *In vitro* potential antimicrobial activities of medicinal plants, *Cirsium arvense* and *Cirsium japonicum*. *African Journal of Plant Science*, **8**: 84-91.
- KHAN ZU, KHAN S, CHEN Y, WAN P (2013). *In vitro* antimicrobial activity of the chemical constituents of *Cirsium arvense* (L), Scop. *Journal of Medicinal Plants Research*, **7**: 1894-1898.
- KHAN ZUH, ALI F, KHAN SU, ALI I (2011). Phytochemical study on the constituents from *Cirsium arvense*. *Mediterranean Journal of Chemistry*, **1**: 64-69.
- KIM GS, PARK HJ, WOO JH, KIM MK, KOH PO, MIN W, CHO JH (2012). *Citrus aurantium* flavonoids inhibit adipogenesis through the Akt signaling pathway in 3T3-L1 cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **12**: 31-41.
- KIM JB, SPIEGELMAN BM (1996). ADD1/SREBP1 promotes adipocyte differentiation and gene expression linked to fatty acid metabolism, *Genes and Development*, **10**: 1096–1107.
- KIM SH, REAVEN GM (2008). Insulin resistance and hyperinsulinemia: you can't have one without the other. *Diabetes care*, **31**: 1433-1438.
- KIM YM, KIM IH, CHOI JW, LEE MK, NAM TJ (2015). The anti-obesity effects of a tuna peptide on 3T3-L1 adipocytes are mediated by the inhibition of the expression of lipogenic and adipogenic genes and by the activation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *International Journal of Molecular Medicine*, **36**: 327-334.

- KİM MO, RYU HW, CHOİ JH, SON TH, OH SR, LEE HS (2016). Anti-Obesity effects of spiramycin *in vitro* and *in vivo*. *Plos One*, **11**: 1- 15.
- KLOP B, ELTE J, CABEZAS M (2013). Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients*, **5**: 1218-1240.
- KLOP B, WOUTER JUKEMA J, RABELINK TJ, CASTRO CABEZAS M (2012). A physician's guide for the management of hypertriglyceridemia: the etiology of hypertriglyceridemia determines treatment strategy. *Panminerva medica*, **54**: 91-103.
- KOPELMAN PG (2000). Obesity as a medical problem. *Nature*, **404**: 635–643.
- KORKMAZ N, SENER SO, KANBOLAT S, BADEM M, ALIYAZICIOĞLU R, ABUDAYYAK M, OZGEN U (2019). Investigation of antioxidant, cytotoxic, tyrosinase inhibitory activities, and phenolic profiles of Green, White, and Black Teas. *Turkish Journal of Biochemistry*, **44**: 1-37.
- KOZYRA M, BIERNASIUK A, MALM A, CHOWANIEC M (2015). Chemical compositions and antibacterial activity of extracts obtained from the inflorescences of *Cirsium canum* (L.) All. *Natural Product Research*, **29**: 2059-2063.
- KOZYRA M, GLOWNIAK K (2013). Phenolic acids in extracts obtained from the flowering herbs of *Cirsium vulgare* (Savi) Ten growing in Poland. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, **82**: 325-329.
- KRISHNAN SSC, SUBRAMANIAN IP, SUBRAMANIAN SP (2014). Isolation, characterization of syringin, phenylpropanoid glycoside from *Musa paradisiaca* tepal extract and evaluation of its antidiabetic effect in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomedicine and Preventive Nutrition*, **4**: 105-111.
- KRZYSZTOFIK B, LUDWICZAK RS (1970). Triterpenes and sterols of *Cirsium olaraceum*. *Herba Hungarica*, **9**: 99-104.
- KUO SC, CHUNG HH, HUANG CH, CHENG JT (2014). Decrease of hyperglycemia by syringaldehyde in diabetic rats. *Hormone and Metabolic Research*, **46**: 8-13.
- LARSEN CM, FAULENBACH M, VAAG A, VOLUND A, EHSES JA, SEİFERT B, MANDRUP-POULSEN T, DONATH, MY (2007). Interleukin-1–receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*, **356**: 1517-1526.

- LEE DS, KIM KS, LI B, CHOI HG (2012). Anti-inflammatory effect of the *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* 70% ethanolic extract in RAW264.7 cells by heme oxygenase-1 expression. *Korean Journal of Pharmacognosy*, **43**: 39 -45.
- LEE HB, KWAK JH, ZEE OP, YOO SJ (1994). Flavonoids from *Cirsium rhinoceros*, *Archives of Pharmacal Research*, **17**: 273-280.
- LEE J, RODRIGUEZ JP, LEE KH, PARK JY, KANG KS, HAHM DH, HUH CK, LEE SC, LEE S (2017). Determination of flavonoids from *Cirsium japonicum* var. *maackii* and their inhibitory activities against aldose reductase. *Applied Biological Chemistry*, **60**: 487-496.
- LEE JH, CHOI SI, LEE YS, KIM GH (2008). Antioxidant and anti-inflammatory activities of ethanol extract from leaves of *Cirsium japonicum*. *Food Science and Biotechnology*, **17**: 38-45.
- LEE JH, LEE KR (2005). Phytochemical constituents of *Cirsium nipponicum* (MAX.) Makino. *Saengyak Hakhoechi*, **36**: 145-150.
- LEE S, SO YJ, SHIN M, CHO J, LEE J (2014). Antibacterial effects of afzelin isolated from *Cornus macrophylla* on *Pseudomonas aeruginosa*, a leading cause of illness in immunocompromised individuals. *Molecules*, **19**: 3173-3180.
- LEE SG, SIAW JA, KANG HW (2016). Stimulatory effects of cinnamon extract (*Cinnamomum cassia*) during the initiation stage of 3T3-L1 adipocyte differentiation. *Foods*, **5**: 83-101.
- LEE SJ, Korean Folk Medicine, Seoul National University Press, Seoul, 1966, pp. 145-146.
- LEE WB, KWON HC, CHO OR, LEE KC, CHOI SU, BAEK NI, LEE KR (2002). Phytochemical constituents of *Cirsium setidens* Nakai and their cytotoxicity against human cancer cell lines. *Archives of Pharmacal Research*, **25**: 628-635.
- LEE YJ, KIM DB, LEE J, CHO JH, KIM B, CHOI HS, LEE BY, LEE OH (2013). Antioxidant activity and anti-adipogenic effects of wild herbs mainly cultivated in Korea. *Molecules*, **18**: 12937-12950.
- LEE YJ, LEE JH, KIM YH, KIM JH, YU SY, KIM DB, LEE BY (2015). Assessment of the pectolinarin content and the radical scavenging-linked antiobesity activity of *Cirsium setidens* Nakai extracts. *Food Science and Biotechnology*, **24**: 2235-2243.

- LI F, ZHANG N, WU Q, YUAN Y, YANG Z, ZHOU M, TANG Q (2017). Syringin prevents cardiac hypertrophy induced by pressure overload through the attenuation of autophagy. *International Journal of Molecular Medicine*, **39**: 199-207.
- LI L, SUN Z, SHANG X, LI J, WANG R, ZHU J (2012). Triterpene compounds from *Cirsium setosum*. *Zhongguo Zhong*, **37**: 951-955.
- LIM H, SON KH, CHANG HW, BAE K, KANG SS, KIM HP (2008). Anti-inflammatory activity of pectolinarigenin and pectolinarin isolated from *Cirsium chanroenicum*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **31**: 2063-2067.
- LIN JK, LIN-SHIAU SY (2006). Mechanisms of hypolipidemic and anti-obesity effects of tea and tea polyphenols. *Molecular Nutrition and Food Research*, **50**: 211-217.
- LIU S, ZHANG J, LI D, LIU W, LUO X, ZHANG R, LI L, ZHAO J (2007). Anticancer activity and quantitative analysis of flavone of *Cirsium japonicum* DC. *Natural Product Research*, **21**: 915-922.
- LIU Y, TIAN X, GOU L, SUN L, LING X, YIN X (2013). Luteolin attenuates diabetes-associated cognitive decline in rats. *Brain Research Bulletin*, **94**: 23-29.
- LOFTUS TM, JAWORSKY DE, FREHYWOT CL, TOWNSEND CA, RONNETT GV, LANE MD (2000). Reduced food intake and body weight in mice treated with fatty acid synthase inhibitors. *Science*, **288**: 2379-2381.
- LOIZZO MR, STATTI GA, TUNDIS R, CONFORTI F, MENICHINI F (2004). Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Cirsium tenoreanum*. *Fitoterapia*, **75**: 577-580.
- LÓPEZ JA, REMESAR X, FOZ M, ALEMANY M (2002). Pharmacological approaches for the treatment of obesity. *Drugs*, **62**: 915-944.
- LOWE ME (2002). The triglyceride lipases of the pancreas. *Journal of Lipid Research*, **43**: 2007-2016.
- LU M, KONG Q, XU X, LU H, LU Z, YU W, GUO R (2014). Pectolinarigenin flavonoid compound from *Cirsium japonicum* with potential anti-proliferation activity in MCF-7 breast cancer cell. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **13**: 225-228.

- LU M, XU X, LU H, LU Z, XU B, TAN C, KONG Q (2016). Evaluation of Anti-tumor and Chemoresistance-lowering Effects of Pectolinarigenin from *Cirsium japonicum* Fisch ex DC in Breast Cancer. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **15**: 547-553.
- LU Y, DUAN S, PAN J, YU P (2009). Phytochemical investigation of *Cirsium japonicum* DC, *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa*, **21**: 563-565.
- LUAN N, WEI WD, WANG A, WU XL, QI Y, LI JJ, JIAN-QUAN Z, SHANG XY (2016). Four new taraxastane-type triterpenoic acids from *Cirsium setosum*. *Journal of Asian Natural Products Research*, **18**: 1015-1023.
- MA Q, JIANG JG, ZHANG XM, ZHU W (2018). Identification of luteolin 7-O- β -D-glucuronide from *Cirsium japonicum* and its anti-inflammatory mechanism. *Journal of Functional Foods*, **46**: 521-528.
- MAO RH, ZHONG ZH, WU WM, LIU Y, RUAN HL (2016). Chemical constituents from stems and leaves of *Cirsium henryi*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, **47**: 2236-2240.
- MCARDLE MA, FINUCANE OM, CONNAUGHTON RM, MCMORROW AM, ROCHE HM (2013). Mechanisms of obesity-induced inflammation and insulin resistance: insights into the emerging role of nutritional strategies. *Frontiers in Endocrinology*, **4**: 52-75.
- MISEREZ AR, MULLER PY, SPANIOL V (2002). Indinavir inhibits sterol-regulatory element-binding protein-1c-dependent lipoprotein lipase and fatty acid synthase gene activations. *AIDS*, **12**: 1587-1594.
- MIYAZAWA M, YAMAFUJI C, KUROSE K, ISHIKAWA Y (2003). Volatile components of the rhizomes of *Cirsium japonicum* DC. *Flavour and Fragrance Journal*, **18**: 15-17.
- MOKDAD AH, FORD ES, BOWMAN BA, DIETZ WH, VINICOR F, BALES VS (2003). Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors. *JAMA*, **289**: 76-79.
- MORI S, SATOU M, KANAZAWA S, YOSHIZUKA N, HASE T, TOKIMITSU TY, NISHIZAW Y, YADA T (2009). Body fat mass reduction and up-regulation of uncoupling protein by novel lipolysis-promoting plant extract. *International Journal of Biological Sciences*, **5**: 311-318.
- MOSETI D, REGASSA A, WOO KYUN K (2016). Molecular Regulation of Adipogenesis and Potential Anti-Adipogenic Bioactive Molecules. *International Journal of Molecular Sciences*, **17**: 1-24.

- NA YM, PARK HA, KANG JH, CHO YG, KIM KW, IM HY, KIM YN, LEE SH (2011). Obesity, obesity related disease, and disability. *Korean Journal of Family Medicine*, **32**: 412-422.
- NAKASUGI T, NAKASHIMA M, KOMAI K (2003). Antimutagens in *Cirsium maritimum*. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, **10**: 19-28.
- NAZARUK J (2009). Flavonoid compounds from *Cirsium palustre* (L.) Scop. flower heads. *Biochemical Systematics and Ecology*, **37**: 525-527.
- NAZARUK J, CZECHOWSKA SK, MARKIEWICZ R, BORAWSKA MH (2008). Polyphenolic compounds and *in vitro* antimicrobial and antioxidant activity of aqueous extracts from leaves of some *Cirsium* species. *Natural Product Research*, **22**: 1583-1588.
- NAZARUK J, GALICKA A (2014). The influence of selected flavonoids from the leaves of *Cirsium palustre* (L.) Scop. on collagen expression in human skin fibroblasts. *Phytotherapy Research*, **28**: 1399-1405.
- NAZARUK J, GUDEJ J (2003). Flavonoid compounds from the flowers of *Cirsium rivulare* (Jacq.), All. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, **60**: 87-89.
- NAZARUK J, JAKONIUK P (2005). Flavonoid composition and antimicrobial activity of *Cirsium rivulare* (Jacq.) All. Flowers. *Journal of Ethnopharmacology*, **102**: 208-212.
- NAZARUK J, SZOKA L (2009). The qualitative and quantitative analysis of phenolic acids and flavonoids in *Cirsium* spp. *Herba Polonica Journal*, **55**: 32-37.
- NAZARUK J, WAJS-BONIKOWSKA A, BONIKOWSKI R (2012). Components and antioxidant activity of fruits of *Cirsium palustre* and *C. rivulare*. *Chemistry of Natural Compounds*, **48**: 8-10.
- NGUYEN TT, CUONG T, HUNG T, LEE J, NA M, SON J, JUNG H, FANG Z, WOO M, CHOI J (2011). Simultaneous determination of bioactive flavonoids in some selected Korean thistles by high-performance liquid chromatography. *Archives of Pharmacal Research*, **34**: 455-461.
- NUGROHO A, KIM M, LIM S, CHOI J, CHOI JS, PARK H (2011). Validation of high-performance liquid chromatography analysis on phenolic substances of *Cirsium setidens* and sedative effect of pectolinarin as the active principle. *Natural Product Sciences*, **17**: 342-349.

- ONO M, FUJIMORI K (2011). Antiadipogenic effect of dietary apigenin through activation of AMPK in 3T3-L1 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **59**: 13346-13352.
- OZDOĞAN E, OZDOĞAN O, ALTUNOĞLU EG, KÖKSAL AR (2015). Tip 2 Diyabet Hastalarında Kan Lipid Düzeylerinin Hba1c ve Obezite ile İlişkisi. *Şişli Etfal Hastanesi Tıp Bülteni*, **49**: 248-254.
- PARK JC, HUR JM, PARK JG, KİM SC, PARK JR, CHOI SH, CHOI JW (2004). Effects of methanol extract of *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* and its principle, hispidulin-7-O-neohesperidoside on hepatic alcohol-metabolizing enzymes and lipid peroxidation in ethanol-treated rats. *Phytotherapy Research*, **18**: 19-24.
- PARK JC, LEE JH, CHOI JS (1995). A flavone diglycoside from *Cirsium japonicum* var. *ussuriense*. *Phytochemistry*, **39**: 261-262.
- PATIL P (2018). A review on Lupeol: Superficial triterpenoid from horticulture crops. *IJCS*, **6**: 3301-3305.
- PATRA S, NITHYA S, SRINITHYA B, MEENAKSHI SM (2015). Review of Medicinal Plants for Anti-Obesity Activity. *Translational Biomedicine*, **6**: 3-21.
- PENA JBI, KIM CA, LEE HL, YOON SY, KIM HJ, HONG EY, KIM GH, RYU JH, LEE YS, KIM KM (2014). Luteolin mediates the antidepressant-like effects of *Cirsium japonicum* in mice, possibly through modulation of the GABAA receptor, *Archives of Pharmacal Research*, **37**: 263-269.
- PENG-CHENG LIN, LIN-LIN JI, ZHONG XJ, JIN-JIE LI, XIN W, SHANG XY, SHENG L (2019). Taraxastane-type triterpenoids from the medicinal and edible plant *Cirsium setosum*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, **17**: 22-26.
- PEREZ GRM, RAMÍREZ LME, VARGAS SR (2001). Effect of *Cirsium pascuarens* on blood glucose levels of normoglycaemic and alloxan-diabetic mice. *Phytotherapy research*, **15**: 552-554.
- RAMASAMY I (2014). Recent advances in physiological lipoprotein metabolism. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, **52**: 1695-1727.
- REYNOLDS WF, MCLEAN S, POPLAWSKI J (1986). Total assignment of ^{13}C and ^1H spectra of three isomeric triterpenol derivatives by 2D NMR: an investigation of the potential utility of ^1H chemical shifts in structural investigations of complex natural products. *Tetrahedron*, **42**: 3419-3428.

- RHO HS, GHIMERAY AK, YOO DS, AHN SM, KWON SS, LEE KH, CHO JY (2011). Kaempferol and kaempferol rhamnosides with depigmenting and anti-inflammatory properties. *Molecules*, **16**: 3338-3344.
- RIAZ A, RASUL A, HUSSAIN G, ZAHOR MK, JABEEN F, SUBHANI Z, SELAMOGLU Z (2018). Astragalin: a bioactive phytochemical with potential therapeutic activities. *Advances in Pharmacological Sciences*, **2018**: 1-15.
- RODRIGUEZ JP, LEE YK, WOO DG, SHIM JS, GERALDINO PJL, JACINTO SD, LEE S (2018). Flavonoids from *Cirsium japonicum* var. *maackii* pappus as inhibitors of aldose reductase and their simultaneous determination. *Chemical Papers*, **72**: 81-88.
- ROSEN ED, WALKEY CJ, PUIGSERVER P, SPIEGELMAN BM (2000). Transcriptional regulation of adipogenesis. *Genes and Development*, **14**: 1293–1307.
- RYDEN M, ARNER P (2007). Tumour necrosis factor- α in human adipose tissue - from signalling mechanisms to clinical implications. *Journal of Internal Medicine*, **4**: 431-438.
- SABUDAK T, GULEN D, ORAK HH, OZER M, CALISKAN H, CABI E (2017). Free radical scavenging capacity and antibacterial activity of Wild *Cirsium creticum* from Turkey. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, **51**: S359-S362.
- SAHLI R, RIVIÈRE C, DUFLOER C, BEAUFAY C, NEUT C, BERO J, HENNEBELLE T, ROUMY V, KSOURI R, QUETIN-LECLERCQ J, SAHPAZ S (2017). Antiproliferative and antibacterial activities of *Cirsium scabrum* from Tunisia. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2017**: 1-9.
- SALEEM M (2009). Lupeol, a novel anti-inflammatory and anti-cancer dietary triterpene. *Cancer Letters*, **285**: 109-115.
- SALEHI BAHARE, VENDITTI ALESSANDRO, SHARIFI-RAD MEHDI, KREGIEL DOROTA, SHARIFI-RAD JAVAD, DURAZZO ALESSANDRA, LUCARINI MASSIMO, SANTINI ANTONELLO, SOUTO ELIANA, NOVELLINO ETTORRE, ANTOLAK HUBERT, AZZINI ELENA, SETZER WILLIAM, MARTINS NATALIA (2019). The Therapeutic Potential of Apigenin. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**: 1305-1331.
- SAMAD F, RUF W (2013). Inflammation, obesity, and thrombosis. *Blood*, **122**: 3415-3422.

- SCHMIDA B, RIPPMBANN JF, TADAYYONA M, HAMILTONA BS (2005). Inhibition of fatty acid synthase prevents preadipocyte differentiation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **328**: 1073–1082.
- SEARS B (2009). Anti-inflammatory diets for obesity and diabetes. *Journal of the American College of Nutrition*, **28**: 482-491.
- SEARS B, RICORDI C (2010). Anti-inflammatory nutrition as a pharmacological approach to treat obesity. *Journal of obesity*, **2011**: 1-14.
- SEO KH, JUNG JW, THI NN, LEE YH, BAEK NI (2016). Flavonoid glycosides from the flowers of *Pulsatilla koreana* Nakai. *Natural Product Sciences*, **22**: 41-45.
- SEYEDAN A, ALSHAWSH MA, ALSHAGGA MA, KOOSHA S, MOHAMED Z (2015). Medicinal Plants and Their Inhibitory Activities against Pancreatic Lipase: A Review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015: 1-13.
- SEZİK E, YESİLADA E, TABATA M, HONDA G, TAKAISHI Y, FUJITA T, TANAKA T, TAKEDA Y (1997). Traditional medicine in Turkey VIII. Folk medicine in East Anatolia; Erzurum, Erzincan, Agri, Kars, Igdir Provinces. *Economic Botany*, **51**: 195-211.
- SHARMA HK, CHHANGTE L, DOLUI AK (2001). Traditional medicinal plants in Mizoram, India. *Fitoterapia*, **72**: 146-161.
- SIANTURI J, PURNAMASARI M, MAYANTI T, HARNETI D, SUPRATMAN U, AWANG K, HAYASHI H (2015). Flavonoid compounds from the bark of *Aglaia eximia* (Meliaceae). *Makara Journal of Science*, **19**: 7-12.
- SIDDIQUE HR, SALEEM M (2011). Beneficial health effects of lupeol triterpene: a review of preclinical studies. *Life Sciences*, **88**: 285-293.
- SILVA ATM, MAGALHÃES CG, DUARTE LP, MUSSEL WDN, RUZ ALTG, SHIOZAWA L, CARLVALHO JE, TRINDADE IC, VIEIRA-FILHO SA (2018). Lupeol and its esters: NMR, powder XRD data and *in vitro* evaluation of cancer cell growth. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **53**: 1-10.
- SINGH AK, SINGH SK, SINGH N, AGRAWAL N, GOPAL K (2011). Obesity and dyslipidemia. *International Journal Of Biological and Medical Research*, **2**: 824-8.
- SILVA LAL, FAQUETI LG, REGINATTO FH, DOS SANTOS ADC, BARISON A, BIAVATTI MW (2015). Phytochemical analysis of *Vernonanthura*

tweedieana and a validated UPLC-PDA method for the quantification of eriodictyol. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **25**: 375-381.

SÓLYOMVÁRY A, TÓTH G, KOMJÁTI B, HORVÁTH P, KRASZNI M, NOSZÁL B, BOLDIZSÁR I (2015). Identification and isolation of new neolignan and sesqueneolignan species: Their acid-catalyzed ring closure and specific accumulation in the fruit wall of *Cirsium eriophorum* (L.) Scop. *Process Biochemistry*, **50**: 853-858.

SONSUZ A (2007). Nonalkolik karaciğer yağlanması. *İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri*, **58**: 91-98.

SOUMYANATH A (2005). Traditional medicines for modern times: antidiabetic plants. *CRC Press*.60-61.

STATTI G, MENICHINI F, DELLE MF (1997). Constituents of *Cirsium vallis-demonii*, *Fitoterapia*, **68**: 472.

STEPHENS JM (2012). The fat controller: adipocyte development. *Plos Biology*, **10**: 1-3.

STRAWA J, WAJS-BONIKOWSKA A, LESZCZYŃSKA K, ŚCIEPUK M, NAZARUK J (2016). Chemical composition and antioxidant, antibacterial activity of *Cirsium rivulare* (Jacq) All. roots. *Natural Product Research*, **30**: 2730-2733.

SUGIYAMA M, KIKUCHI M (1992). Studies on the constituents of *Osmanthus species*. X. Structures of phenolic glucosides from the leaves of *Osmanthus asiaticus* Nakai. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **40**: 325-326.

SUN Z, LI L, YUAN Z, WANG A, LI J, SHANG X (2012). Isolation, purification and structural elucidation of steroids from *Cirsium setosum* (Willd.) MB. *Shipin Kexue*, **33**: 124-127.

SWINBURN BA, SACKS G, HALL KD, MCPHERSON K, FINEGOOD DT, MOODIE ML, GORTMAKER SL (2011). The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. *The Lancet*, **378**: 804-814.

SZOKOL-BORSODI L, SÓLYOMVÁRY A, MOLNAR-PERL I, BOLDIZSÁR I (2012). Optimum yields of dibenzylbutyrolactone-type lignans from cynareae fruits, during their ripening, germination and enzymatic hydrolysis processes, determined by on-line chromatographic methods. *Phytochemical Analysis*, **23**: 598-603

- TAHERGORABI Z, KHAZAEI M (2013). The relationship between inflammatory markers, angiogenesis, and obesity. *Arya Atherosclerosis*, **9**: 247-253.
- TAKANO S, KAWAMINAMI S (1988). Cyperenyl acetate and cyperenal from *Cirsium dipsacolepis*. *Phytochemistry*, **27**: 1197-1199.
- THOMPSON D, EDELSBERG J, COLDITZ GA (1999). Lifetime health and economic consequence of obesity. *Archives of Internal Medicine*, **159**: 2177-2183.
- TONTONOZ P, SPIEGELMAN BM (2008). Fat and beyond: The diverse biology of PPAR γ . *Annual Review of Biochemistry*, **77**: 289–312.
- TORRES-NARANJO M, SUÁREZ A, GILARDONI G, CARTUCHE L, FLORES P, MOROCHO V (2016). Chemical constituents of *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn (Polygonaceae) and its in vitro α -amilase and α -glucosidase inhibitory activities. *Molecules*, **21**: 1461.
- TREMMEL M, GERDTHAM UG, NILSSON P, SAHA S (2017). Economic burden of obesity: a systematic literature review. *International Journal Of Environmental Research and Public Health*, **14**: 435-453.
- US MR, ZIN T, ABDURAZAK M, ADO-AHMAD B (2015). Chemistry and pharmacology of syringin, a novel bioglycoside: A review. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, **8**: 20-25.
- WAGLE A, SEONG SH, JOUNG EJ, KIM HR, JUNG HA, CHOI JS (2018). Discovery of a highly potent tyrosinase inhibitor, luteolin 5-O- β -D-glucopyranoside, isolated from *Cirsium japonicum* var. *maackii* (maxim.) Matsum., Korean Thistle: kinetics and computational molecular docking simulation. *ACS Omega*, **3**: 17236-17245.
- WAGLE A, SEONG SH, SHRESTHA S, JUNG HA, CHOI JS (2019). Korean Thistle *Cirsium japonicum* var. *maackii* (Maxim.) Matsum: A potential dietary supplement against diabetes and alzheimer's disease. *Molecules*, **24**: 649-668.
- WALESIUK A, NAZARUK J, BRASZKO JJ (2010). Pro-cognitive effects of *Cirsium rivulare* extracts in rats. *Journal of ethnopharmacology*, **129**: 261-266.
- WANG Y, TANG C, ZHANG H (2015). Hepatoprotective effects of kaempferol 3-O-rutinoside and kaempferol 3-O-glucoside from *Carthamus tinctorius* L. on CCl₄-induced oxidative liver injury in mice. *Journal of Food and Drug Analysis*, **23**: 310-317.

- WANG Z, KIM JH, JANG YS, KIM CH, LEE JY, LIM SS (2017). Anti-obesity effect of *Solidago virgaurea* var. *gigantea* extract through regulation of adipogenesis and lipogenesis pathways in high-fat diet-induced obese mice (C57BL/6N). *Food and Nutrition Research*, **61**: 1-12.
- WEI Y, XIE Q, FISHER D, SUTHERLAND IA (2011). Separation of patuletin-3-O-glucoside, astragalin, quercetin, kaempferol and isorhamnetin from *Flaveria bidentis* (L.) Kuntze by elution-pump-out high-performance counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, **1218**: 6206-6211.
- WU LX, XU YY, YANG ZJ, FENG Q (2018). Hydroxytyrosol and olive leaf extract exert cardioprotective effects by inhibiting GRP78 and CHOP expression. *Journal of Biomedical Research*, **32**: 371-379.
- WU TS, KUOH CS, JEN SI (1981). Constituents of Formosan folk medicine, VIII. Flavonoids of the leaves of *Cirsium albescens*, *C. japonicum* var. *australe*, *C. kawakamii* f. *variegatum* and *C. hosogawa*. *Taiwan Yaoxue Zazhi*, **32**: 88-90.
- WYNNE K, STANLEY S, MCGOWAN B, BLOOM S (2005). Appetite control. *Journal of Endocrinology*, **184**: 291-318.
- YADAV A, KATARIA MA, SAINI V, YADAV A (2013). Role of leptin and adiponectin in insulin resistance. *Clinica Chimica Acta*, **417**: 80-84.
- YANG G, Lİ C, GONG Y, FANG F, TIAN H, LI J, CHENG X (2016). Assessment of insulin resistance in subjects with normal glucose tolerance, hyperinsulinemia with normal blood glucose tolerance, impaired glucose tolerance, and newly diagnosed type 2 diabetes (prediabetes insulin resistance research). *Journal of Diabetes Research*, **2016**: 1-11.
- YESİLADA E, SEZİK E, HONDA G, TAKAISHI Y, TAKEDA Y, TANAKA T (1999). Traditional medicine in Turkey IX. folk medicine in north-west anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, **64**:195–210.
- YEŞİLADA E, HONDA G, SEZİK E, TABATA M, FUJITA T, TANAKA T, TAKEDA Y, TAKAISHI Y (1995). Traditional medicine in Turkey. V. folk medicine in the inner Taurus Mountains. *Journal of Ethnopharmacology*, **46**: 133-152.
- YILDIZ B, ARABACI T, DİRMENCİ T (2013). Two new species of *Cirsium* (Asteraceae) and notes on allies from Turkey. *Turkish Journal of Botany*, **37**: 1045-1054.

- YILDIZ B, ARABACI T, DİRMENCİ T, KÖSTEKÇİ S. (2016). A taxonomic revision of the genus *Cirsium* Mill. sect. *Cirsium* (Asteraceae: Cardueae) in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, **40**: 514-530.
- YIM S, KIM HJ, LEE I (2003). A polyacetylene and flavonoids from *Cirsium rhinoceros*. *Archives of Pharmacal Research*, **26**: 128-131.
- YIN J, HEO SI, WANG MH (2008). Antioxidant and antidiabetic activities of extracts from *Cirsium japonicum* roots, *Nutrition Research and Practice*, **2**: 247-251.
- YOO YM, NAM JH, KIM MY, CHOI J, PARK HJ (2008). Pectolinarin and pectolinarigenin of *Cirsium setidens* prevent the hepatic injury in rats caused by D-galactosamine via an antioxidant mechanism, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **31**: 760-764.
- YUN JW (2010). Possible anti-obesity therapeutics from nature—A review. *Phytochemistry*, **71**: 1625-1641.
- ZANG Y, ZHANG L, IGARASHI K, YU C (2015). The anti-obesity and anti-diabetic effects of kaempferol glycosides from unripe soybean leaves in high-fat-diet mice. *Food and Function*, **6**: 834-841.
- ZHANG J, KANG MJ, KIM MJ, KIM ME, SONG JH, LEE YM, KIM JI (2008). Pancreatic lipase inhibitory activity of *Taraxacum officinale* in vitro and in vivo. *Nutrition Research and Practice*, **2**: 200-203.
- ZHANG Y, RUAN H, ZHANG Y, Pİ H, WU J. 2010. Studies on the chemical constituents of *Cirsium henryi*. *Natural Product Research and Development*, **22**: 58-59.
- ZHANG Y, WANG D, YANG L, ZHOU D, ZHANG J (2014). Purification and characterization of flavonoids from the leaves of *Zanthoxylum bungeanum* and correlation between their structure and antioxidant activity. *PloS One*, **9**: 1-11.
- ZHI F, KONG LY, PENG SX (2003). Studies on the chemical constituents of *Cirsium japonicum* DC. *Acta Pharmaceutica Sinica*, **38**: 442-447.
- ZHOU L, LI C, GAO L, WANG A (2015). High-density lipoprotein synthesis and metabolism. *Molecular Medicine Reports*, **12**: 4015-4021.
- ZHOU Q, CHEN L, LIU ZP, DENG QY (2007). Studies on chemical components of *Cirsium segestum*. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, **30**: 45-47.

ZHOU X, WANG F, ZHOU R, SONG X, XIE M (2017). Apigenin: A current review on its beneficial biological activities. *Journal of Food Biochemistry*, **41**: 1-14.

ZITTERL-EGLESEER K, SOSA S, JURENITSCH J, SCHUBERT-ZSILAVECZ M, DELLA LOGGIA R, TUBARO A, BERTOLDI M, FRANZ C (1997). Anti-oedematous activities of the main triterpendiol esters of marigold (*Calendula officinalis* L.). *Journal of ethnopharmacology*, **57**: 139-144.



EKLER

EK-1. Etik Kurul Onay Belgesi



T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
KTÜ HAYVAN DENEYLERİ
YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI

Sayı : 53488718 - 274
Konu: Onay Belgesi

03/05/2017

Sayın, Prof. Dr. Ufuk ÖZGEN
Mesleki Eczacılık Bölümü Öğretim Üyesi,

“Sıçanlarda Bazı *Cirsium* Türlerinin Topraküstü Kısımlarının Antiobezite Etkisinin Araştırılması” başlık ve 2017/11 protokol numaralı çalışma önerisi Kurulumuzca incelenmiş olup; yürürlükteki etik ilke ve kurallara uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinize ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr.Ahmet AYAR
Hayvan Deneyleti Etik Kurul Başkanı

Ek: 1 adet onay belgesi

61080 – Trabzon / TÜRKİYE

Tel: +90 (462) 377 5403

Faks: +90(462)325 2270

Elektronik Ağ: www.ktu.edu.tr

Ayrıntılı Bilgi İçin İrtibat
Şerafettin YILMAZ
e posta: i
serafettinyilmaz@ktu.edu.tr



ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Sıla Özlem ŞENER
Uyruğu : T.C
Doğum yeri ve tarihi : 08.07.1988 – Ünye/ORDU
Medeni hali : Bekar
E-Posta : silashener@ktu.edu.tr

II- Eğitimi

2012-2014 Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakognozi Anabilim Dalı (Yüksek Lisans Eğitimi)
2006-2011 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (Lisans Eğitimi)
2002-2006 Ordu/Ünye Mehmet Refik Güven Anadolu Öğretmen Lisesi (Lise Eğitimi)

Yabancı Dili: İngilizce

III- Ünvanları

2014-Bilim uzmanı

2011-Eczacı

IV- Mesleki Deneyimi

2012-2019 Araştırma Görevlisi (KTÜ Eczacılık Fak. Farmakognozi ABD)

V- Üye Olduğu Kuruluşlar

Trabzon Eczacı Odası

VI- Bilimsel İlgi Alanları

1- SCI, SCI-Expanded ve ESCI Kapsamındaki Yayınlar

1. Korkmaz N, Şener SO, Kanbolat Ş, Badem M, Aliyazicioğlu R, Abudayyak M, Ozgen U. (2019). Investigation of antioxidant, cytotoxic, tyrosinase inhibitory activities, and phenolic profiles of Green, White, and Black Teas. Turkish Journal of Biochemistry, 44: 1-37.
2. Korkmaz N, Sener SO, Balturk N, Kanbolat S, Badem M, Aliyazicioglu R, Ozgen U, Kandemir A, Karaoglu SA. (2019). Determination of phenolic contents by HPLC, and antioxidant, antimicrobial, antityrosinase, and anticholinesterase activities of *Psephellus huber-morathii*. Journal of Pharmaceutical Research International, 26: 1-10.
3. Kanbolat Ş, Korkmaz N, Şener SÖ, Badem M, Ulaş Çolak N, Abudayyak M, Aliyazicioglu R, Ozgen U, Kandemir A, Karaoglu SA. (2018). Antioxidant, antimicrobial, cytotoxic, anticholinesterase, antityrosinase activities and characterisation of volatile compounds of *Verbascum oocarpum* by SPME and GC-FID/MS. Journal of Pharmaceutical Research International, 24: 1-12.
4. Badem M, Korkmaz N, Sener SO, Kanbolat S, Ozgen U, Sevgi S, Aliyazicioğlu R, Coskun, M. (2018). Biological screening of traditional medicinal plants from villages of Akkuş (Ordu) in Turkey on the effects of tyrosinase. Journal of Pharmaceutical Research International, 25: 1-10.
5. Aliyazicioğlu R, Demir S, Badem M, Şener SÖ, Korkmaz N, Ayazoglu Demir E (2017). Antioxidant, antigenotoxic, antimicrobial activities and phytochemical analysis of *Dianthus carmelitarum*. Records of Natural Products 11: 270-284.

2- Diğer Hakemli Dergilerdeki Yayınlar

1. Şener SÖ, Özgen U, Saltan-İşcan G, Korkmaz N, Kanbolat Ş, Badem M, Dirmenci T, Arabaci T, Aliyazicioğlu R (2018). Antiobesity activity of some *Cirsium* species (Özet Bildiri). *Pharmaceutical Regulatory Affairs*, 7:55.
2. Şener SÖ, Korkmaz N, Kanbolat Ş, Badem M, Aliyazicioğlu R, Özgen U, et al. (2018). *Clinopodium vulgare* L. subsp. *vulgare* ekstresinin antioksidan, antimikrobial, tirozinaz inhibitor aktiviteleri ve RP-HPLC ile fenolik bileşiklerinin araştırılması. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8:230-238.
3. Özgen U, Şener SÖ, Badem M, Seçinti, H, Hatipoğlu SD, Gören AC, Kazaz C, Palaska, E. *Asperula taurina* subsp. *Caucasica*'nın toprak üstü kısımlarının YPSK, Fitokimyasal, Antikolinesteraz ve Antioksidan Profillerinin Değerlendirilmesi. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 42:1-13.
4. Aliyazicioğlu R, Akkaya Ş, Korkmaz N, Şener SÖ, Badem M, Özgen U, et al. (2017). *Onobrychis oxyodonta*'nın topraküstü kısmında antioksidan, antimikrobiyal ve tirozinaz inhibitör aktivitesi. *Fırat Tıp Dergisi*, 31:25-31.
5. Aliyazicioğlu R, Korkmaz N, Akkaya Ş, Şener SÖ, Badem M, Alpay Karaoğlu Ş, Eyüboğlu OE (2016). Phenolic components, antioxidant and antimicrobial activities of *Centranthus longiflorus* L. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences* 3: 80-87.
6. Akkaya S, Badem M, Şener SÖ, Korkmaz N, Aliyazicioğlu R (2016). Antioxidant activity and phenolic profiles with HPLC of *Consolida orientalis*. *International Journal of Current Research* 8: 43735-43738.
7. Korkmaz N, Şener SÖ, Badem M, Akkaya Ş, Aliyazicioğlu R (2016). HPLC profiles of phenolic compounds and antioxidant activity of *Echium vulgare* growing in Turkey. *International Journal of Recent Scientific Research* 7: 14425-14429.

3-Kitap Bölüm Yazarlığı

1. Badem M, Şener SÖ, Kanbolat Ş, Korkmaz N, Ulaş Çolak N, Özgen U, et al. (2018). Examination of *Echium plantagineum* of essential oil content and antimicrobial properties. in: Current Academic Studies in Pharmacy Sciences- Duran, N, Eds, IVPE, Cetinje, 9-14.
2. Korkmaz N, Kanbolat Ş, Şener SÖ, Badem M, Aliyazicioğlu R, Özgen U. (2018). Evaluation of tyrosinase and cholinesterase inhibitor activities of *Lallemantia canescens* growing in Erzincan. in: Current Academic Studies in Pharmacy Sciences- Duran, N, Eds, IVPE, Cetinje, 15-20.
3. Özgen U, Badem M, Şener SÖ. (2017). *Clematis chinensis* FFD Monograflari Bitkiler ve Etkileri- Demirezer Ö, Ersöz T, Saraçoğlu İ, Şener B, Köroğlu A, Yalçın FN, Ed, Akademisyen Kitabevi, Ankara, 281-286.
4. Özgen U, Şener SÖ, Emiroğlu Ş (2017). *Bupleurum falcatum* FFD Monograflari Bitkiler ve Etkileri- Demirezer Ö, Ersöz T, Saraçoğlu İ, Şener B, Köroğlu A, Yalçın FN, Ed, Akademisyen Kitabevi, Ankara, 193-198.
5. Özgen U, Şener SÖ (2017). *Thymus vulgaris/Thymus serpyllum-Thymus zygis* FFD Monograflari Bitkiler ve Etkileri- Demirezer Ö, Ersöz T, Saraçoğlu İ, Şener B, Köroğlu A, Yalçın FN, Ed, Akademisyen Kitabevi, Ankara, 1029-1042.
6. Özgen U, Şener SÖ (2017). *Rheum officinale-Rheum palmatum* (RAVENT) FFD Monograflari Bitkiler ve Etkileri- Demirezer Ö, Ersöz T, Saraçoğlu İ, Şener B, Köroğlu A, Yalçın FN, Ed, Akademisyen Kitabevi, Ankara, 1029-1042.

4-Ulusal ve Uluslararası Poster Sunum Listesi

1. Aliyazicioğlu R, Kanbolat Ş, Özgen U, Şener SÖ, Badem M, Korkmaz N, et al. (2018). Cholinesterase inhibition and antimicrobial activity of *Hesperis matronalis* subsp. *matronalis*. International Symposium of Medicinal and Aromatic Plants, İzmir, Türkiye, 353-353
2. Aliyazicioğlu R, Özgen U, Korkmaz N, Kanbolat Ş Şener SÖ, Badem M, et al. (2018). A study on volatiles, in vitro anticholinesterase inhibitor and

- antimicrobial activity of endemic *Allium tuncelianum*. International Symposium of Medicinal and Aromatic Plants, İzmir, Türkiye, 107.
3. Aliyazicioğlu R, Özgen U, Korkmaz N, Kanbolat Ş Şener SÖ, Badem M, et al. (2018). A study on volatiles, in vitro anticholinesterase inhibitor and antimicrobial activity of endemic *Allium tuncelianum*. International Symposium of Medicinal and Aromatic Plants, İzmir, Türkiye, 214-218.
 4. Kanbolat Ş, Şener SÖ, Badem M, Ulaş Çolak N, Korkmaz N, Özgen U, et al. (2018). Investigation of tyrosinase inhibitory activity, antimicrobial capacity and volatile compounds of *Origanum vulgare*. International Symposium of Medicinal and Aromatic Plants, İzmir, Türkiye, 358-358.
 5. Özgen U, Aliyazicioğlu R, Badem M, Korkmaz N, Kanbolat Ş, Şener SÖ, et al. (2018). Investigation of cholinesterase inhibition and antimicrobial activity of *Vicia cracca* subsp. *cracca*. International Symposium of Medicinal and Aromatic Plants, İzmir, Türkiye, 357-357.
 6. Badem M, Korkmaz N, Ulaş Çolak N, Kanbolat Ş, Şener SÖ, Aliyazicioğlu R, et al. (2018). Investigation of acetylcholinesterase inhibitor activity, antimicrobial capacity and volatile compounds of *Alcea calvertii*, International Symposium of Medicinal and Aromatic Plants, İzmir, Türkiye, 356-35.
 7. Kanbolat Ş, Badem M, Korkmaz N, Şener SÖ, Ulaş Çolak N, Özgen U, et al. (2018). Evaluation of anticholinesterase inhibitory activity and volatile compound of *Jurinea brevicaulis*. International Symposium of Medicinal and Aromatic Plants, İzmir, Türkiye, 355-355.
 8. Ulaş Çolak N, Korkmaz N, Kanbolat Ş, Şener SÖ, Badem M, Aliyazicioğlu R, et al. (2018). Determination of antimicrobial, antityrosinase activities, and volatile compounds of *Hypericum scabrum*. International Symposium of Medicinal and Aromatic Plants, İzmir, Türkiye, 354-354.
 9. Özgen U, Aliyazicioğlu R, Şener SÖ, Badem M, Korkmaz N Kanbolat Ş, et al. (2018). Phytochemical studies of *Cirsium trachylepis* and antioxidant and cytotoxic activity of isolated compounds. International Symposium of Medicinal and Aromatic Plants, İzmir, Türkiye, 106-106.

10. Şener SÖ, Özgen U, Saltan HG, Korkmaz N, Kanbolat Ş, Badem M, et al. (2018). Antiobesity activity of some *Circium* species. 15th Annual European Pharma Congress, Frankfurt, Almanya, 50-50.
11. Korkmaz N, Şener SÖ, Kanbolat Ş, Badem M, Aliyazicioğlu R, Özdemir Nath E, et al. (2018). The wound healing activity of *Pilosella hoppeana* subsp. *testimonialis* in rat. 15th Annual European Pharma Congress, Frankfurt, Almanya, 50-50.
12. Şener SÖ, Badem M, Korkmaz N, Kanbolat Ş, Aliyazicioğlu R, Özgen U. (2018). A novel high performance liquid chromatography method to obtain the fingerprint chromatogram of *Pilosella hoppeana*. International Congress on Applied Biological Science, Eskişehir, Türkiye, 50-50.
13. Korkmaz N, Kanbolat Ş, Şener SÖ., Badem M, Ulaş Çolak N, Aliyazicioğlu R, et al. (2018). Determination of tyrosinase inhibitory activity and volatile compounds of *Pilosella hoppeana*. 7th International Congress on Molecular Biology and Biotechnology, Konya, Türkiye, 214-214.
14. Korkmaz N, Akkaya Ş, Şener SÖ, Badem M, Aliyazicioğlu R, Özgen U. (2017). Investigation of antioxidant activity and tyrosinase, cholinesterase inhibition of *Capparis ovata*. 28. Ulusal Biyokimya Kongresi International Biochemistry Congress -2017 /28 th National Biochemistry Congress, Erzurum, Türkiye, 320-320.
15. Aliyazicioğlu R, Özgen U, Akkaya Ş, Şener SÖ., Korkmaz N, Badem M. (2017). Examination of antioxidant and tyrosinase inhibitor activities of *Euphorbia rigida*. İVEK 3rd International Convention Of Pharmaceuticals And Pharmacies, İstanbul, Türkiye, 468-468.
16. Aliyazicioğlu R, Özgen U, Şener SÖ, Korkmaz N, Akkaya Ş, Badem M, et al. (2017). Antioxidant capacity of aerial parts of *Isatis cappadocica*. İVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies, İstanbul, Türkiye, 475-475.
17. Şener SÖ, Akkaya Ş, Korkmaz N, Özgen U, Aliyazicioğlu R, Badem M. (2017). Investigation of antioxidant and tyrosinase inhibitor activities of *Scutellaria orientalis*. İVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies, İstanbul, Türkiye, 486-486

18. Korkmaz N, Şener SÖ, Akkaya Ş, Aliyazicioğlu R, Özgen U, Badem M. (2017). Evaluation of the antioxidant activity of *Primula vulgaris* water extract on the kidney of methotrexate-induced testicular damaged in rats. İVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies, İstanbul, Türkiye, 478-478
19. Badem M, Korkmaz N, Şener SÖ, Akkaya Ş, Aliyazicioğlu R, Özgen U, et al. (2017). Antioxidant activity studies of aerial parts of three *Barbarea* species. İVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies, İstanbul, Türkiye, 479-479.
20. Özgen U, Aliyazicioğlu R, Akkaya Ş, Şener SÖ, Korkmaz N, Badem M. (2017). Determination of antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of the aerial part of *Myosotis alpestris*. İVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies, İstanbul, Türkiye, 485-485.
21. Akkaya Ş, Şener SÖ, Korkmaz N, Özgen U, Aliyazicioğlu R, Badem M. (2017). The antioxidant effects of *Primula vulgaris* L. on the liver of methotrexate-induced testicular damaged in rats. İVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies, İstanbul, Türkiye, 481-481.
22. Özgen U, Aliyazicioğlu R, Korkmaz N, Akkaya Ş, Şener SÖ, Badem M. (2017). Evaluation of antioxidant and tyrosinase inhibitor activity of *Chamaecytisus hirsutus*. İVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies, İstanbul, Türkiye, 483-483.
23. Badem M, Şener SÖ, Korkmaz N, Akkaya Ş, Aliyazicioğlu R, Özgen U. (2017). Investigation of cholinesterase enzyme inhibition activity of 3 *Barbarea* species. 3rd International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development - DRD 2017, Erzurum, Türkiye, 85-85.
24. Şener SÖ, Badem M, Akkaya Ş, Korkmaz N, Özgen U, Aliyazicioğlu R. (2017). Examination of inhibition of anticholinesterase enzyme of *Calystagia* growing in two different regions. 3rd International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development - DRD 2017, Erzurum, Türkiye, 138-138.
25. Şener SÖ, Özgen U, Badem M, Korkmaz N, Akkaya Ş, Aliyazicioğlu R. (2017). Antidiabetic and antioxidant effect of the aerial parts of *Lysimachia verticillaris* and its isolated phenolic compounds in streptozotocin-induced diabetic rats. 3rd

- International Conference on Natural Products Utilization, Bansko, Bulgaristan, 306-306.
26. Özgen U, Emiroğlu Ş, Korkmaz N, Akkaya Ş, Şener SÖ, Badem M. Phytochemical studies on the aerial parts of *Cirsium dirmilense*. (2017). 3rd International Conference on Natural Products Utilization, Bansko, Bulgaristan, 275-275.
 27. Badem M, Özgen U, Şener SÖ, Korkmaz N, Sevgi S, Akkaya Ş, et al. (2017). Ethnobotanical and ethnomedicinal studies on the villages of Akkuş District (Ordu, Turkey). 3rd International Conference on Natural Products Utilization, Bansko, Bulgaristan, 100-100.
 28. Aliyazicioğlu R, Lermi M, Abudayyak M, Şener SÖ, Korkmaz N, Akkaya Ş, et al. (2017). Evaluation the cytotoxicity of aerial parts of *Isatis cappadocica* subsp. *alyssifolia*. International Symposium on Medicinal Aromatic and Dye Plants, Malatya, Türkiye, 361-361.
 29. Badem M, Akkaya Ş, Korkmaz N, Şener SÖ, Özgen U, Aliyazicioğlu R, et al. (2017). Tyrosinase inhibitor activity of aerial parts of *Psephellus hubar-morathii*. Uluslararası Tıbbi, Aromatik ve Boya Bitkileri Sempozyumu, Malatya, Türkiye, 562-562.
 30. Korkmaz N, Şener SÖ, Badem M, Akkaya Ş, Aliyazicioğlu R, Özgen U, et al. (2017). The effect of tyrosinase inhibitor of aerial parts of *Verbascum oocarpum*. Uluslararası Tıbbi, Aromatik ve Boya Bitkileri Sempozyumu, Malatya, Türkiye, 273-273.
 31. Şener SÖ, Badem M, Akkaya Ş, Korkmaz N, Özgen U, Aliyazicioğlu R, et al. (2017). Antioxidant activity of aerial parts of *Verbascum oocarpum*. Uluslararası Tıbbi, Aromatik ve Boya Bitkileri Sempozyumu, Malatya, Türkiye, 499-499.
 32. Akkaya Ş, Korkmaz N, Şener SÖ, Badem M, Aliyazicioğlu R, Özgen U, et al. (2017). The assessment in terms of antioxidant capacity of *Psephellus hubar-morathii*, Uluslararası Tıbbi, Aromatik ve Boya Bitkileri Sempozyumu, Malatya, Türkiye 248-248.
 33. Akkaya Ş, Korkmaz N, Badem M, Şener SÖ, Özgen U, Aliyazicioğlu R. (2017). Akkuş'da yetişen Polygonaceae familyasına ait 3 türün tirozinaz enzimine etkisinin incelenmesi. 28. Ulusal Biyokimya Kongresi International

- Biochemistry Congress – 2017 /28th National Biochemistry Congress, Erzurum, Türkiye, 321-321.
34. Aliyazicioğlu R, Özgen U, Akkaya Ş, Badem M, Şener SÖ, Korkmaz N (2017). The effects on tyrosinase enzyme of three Rosaceae species growing in Akkuş (Ordu). 2nd International Gazi Pharma Symposium Series (GPSS-2017), Ankara, Türkiye, 344-344.
35. Özgen U, Aliyazicioğlu R, Korkmaz N, Şener SÖ, Badem M, Akkaya Ş (2017). The effects on tyrosinase enzyme of three Asteraceae species growing in Akkuş (Ordu). 2nd International Gazi Pharma Symposium Series (GPSS-2017), Ankara, Türkiye, 343-343.
36. Aliyazicioğlu R, Korkmaz N, Badem M, Şener SÖ, Akkaya Ş, Özgen U (2016). The assessment of *Centaurea carduiformis* in terms of phenolic compounds and antioxidant capacity. 4th International Bahçeşehir University (BAU) Drug Design Congress, İstanbul, Türkiye, 231-231.
37. Özgen U, Aliyazicioğlu R, Badem M, Şener SÖ, Akkaya Ş, Korkmaz N (2016). Antimicrobial and tyrosinase inhibitor activity of *Consolida orientalis* (Gay) Schrod. 4th International Bahçeşehir University (BAU) Drug Design Congress, İstanbul, Türkiye, 254-254.
38. Özgen U, Aliyazicioğlu R, Şener SÖ, Badem M, Korkmaz N, Akkaya Ş (2016). Antioxidant activity of aerial parts of *Parantucellia latifolia*. 4th International Bahçeşehir University (BAU) Drug Design Congress, İstanbul, Türkiye, 255-255.
39. Özgen U, Aliyazicioğlu R, Şener SÖ, Badem M, Yildirim S, Ulaş N (2015). HPLC fingerprint analysis and quantification of phenolic compounds in some endemic *Cirsium* Species. International Symposium on Pharmaceutical Sciences, Ankara, Türkiye, 389-390.
40. Güven L, Şener SÖ, Badem M, Özgen U, Seçen H (2015). Phytochemical studies on the roots of *Rosa pimpinellifolia*. International Symposium on Pharmaceutical Sciences, Ankara, Türkiye, 391-391.
41. Çetin A, Yılmaz İ, Bindak S, Badem M (2015). The investigation of wound healing effect of Theranekron® in rats. International Symposium on Pharmaceutical Sciences, Ankara, Türkiye, 421-421.

42. Şener SÖ, Badem M, Güven L, Özgen U (2015). Determination of ascorbic acid and catechin in root and fruits of *Rosa pimpinellifolia* by HPLC. International Symposium on Pharmaceutical Sciences, Ankara, Türkiye, 387-388.
43. Aliyazicioğlu R, Eyüpoğlu OE, Özgen U, Badem M, Şener SÖ, Yıldırımış S (2015). Antioksidant activity of *Echium vulgare*. International Symposium on Pharmaceutical Sciences, Ankara, Türkiye, 328-329.
44. Aliyazicioğlu R, Eyüpoğlu OE, Özgen U, Badem M, Şener SÖ, Yıldırımış S (2015). Antimicrobial activity and characterisation of volatile compounds of *Echium vulgare* by SPME and GC-FID/MS. International Symposium on Pharmaceutical Sciences, Ankara, Türkiye, 327-328.
45. Aliyazicioğlu R, Eyüpoğlu OE, Şener SÖ, Badem M, Özgen U, Yıldırımış S (2015). Antioxidant, antimicrobial activity and characterisation of phenolic compounds of *Teucrium orientale* var. *glabrescens*. International Symposium on Pharmaceutical Sciences, Ankara, Türkiye, 230-231.
46. Şener SÖ, Badem M, Özgen U, Çelebi İH (2015). İki *Thymus* türünün uçucu yağının tirozinaz inhibitör aktivite çalışmaları. 2. İVEK Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi, İstanbul, Türkiye, 100-100.
47. Aliyazicioğlu R, Badem M, Şener SÖ, Özgen U, Yıldırımış S, Karaoğlu ŞA (2015). *Dorycnium pentaphyllum* subsp. *herbaceum* üzerinde antimikrobiyal, antioksidan aktivite çalışmaları ve fenolik bileşiklerin karakterizasyonu. 2. İVEK Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi, İstanbul, Türkiye, 287-287.
48. Aliyazicioğlu R, Aliyazicioğlu Y, Eyüpoğlu OE, Şener SÖ, Badem M, Özgen U (2015). *Dianthus carmelitarum*'un uçucu bileşenleri ve antioksidan, antimikrobiyal aktivitesi. XXVII. Ulusal Biyokimya Kongresi, Antalya, Türkiye, 76-76.
49. Aliyazicioğlu R, Eyüpoğlu OE, Şener SÖ, Badem M, Özgen U, Yıldırımış S (2015). *Teucrium orientale* var. *glabrescens*'in uçucu bileşenlerinin analizi. XXVII. Ulusal Biyokimya Kongresi, Antalya, Türkiye, 77-77.
50. Emiroğlu Ş, Geniş H, Özgen U, Şener SÖ, Korkmaz N, Badem M (2016). *Cirsium dirmilense* üzerinde fitokimyasal çalışmalar ve tirozinaz inhibitör aktivite çalışmaları. XXII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Trabzon, Türkiye, 236-236.

51. Şener SÖ, Badem M, Korkmaz N, Özgen U, Dirmenci T (2016). Bazi endemik *Cirsium* türlerinin tirozinaz enzimi üzerine etkileri. XXII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Trabzon, Türkiye, 238-238.
52. Seçkin G, Babadağ D, Özgen U, Badem M, Şener SÖ, Korkmaz N (2016). *Cirsium aytatchii* üzerinde fitokimyasal çalışmalar ve tirozinaz enzimine etkileri. XXII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Trabzon, Türkiye, 237-237.
53. Abanoz ME, Tuğcu Ö, Özgen U, Korkmaz N, Badem M, Şener SÖ (2016). *Cirsium polunii* üzerinde fitokimyasal çalışmalar ve tirozinaz enzimine etkileri. XXII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Trabzon, Türkiye, 235-235.
54. Özgen U, Hribová P, Şener SÖ (2014). *Lysimachia verticillaris*'den Fenolik Bileşikler. XXI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Kayseri, TÜRKİYE, 8.
55. Özgen U, Şener SÖ, Šmejkal K, Václavík J., Švajdlenka E., Gören AC, et al. (2014). Bazı *Lysimachia* Ekstrelerinin Antiüreaz Aktiviteleri, XXI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Kayseri, TÜRKİYE, 94.

VII-Bilimsel Etkinlikleri

1-Burslar

Tübitak Yurtiçi Doktora Bursu, Türkiye Bilimsel Ve Teknolojik Araştırma Kurumu, 2015

Yükseköğretim Kurumu Yüksek Lisans Yurtdışı Araştırma Bursu, Yükseköğretim Kurumu, 2013

ERASMUS Öğrenim Hareketiliği Bursu, Avrupa Birliği Eğitim ve Gençlik Programları Merkezi Başkanlığı, 2010

2-Projeler

1. Türkiye'nin Endemik *Cirsium* Mill. (Asteraceae) Türleri Üzerinde Fitokimyasal ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları, TÜBİTAK Projesi, 116Z475, Bursiyer, Gerçekleştirme Görevlisi, Devam Ediyor
2. *Eryngium billardieri* Bitki Ekstrelerinin Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi, BAP 06, 7710, Araştırmacı, Devam Ediyor
3. *Echinophora chrysantha* Bitkisinin Antioksidan Enzim ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılarak Farmasötik Alanda Kullanılabilirliğinin İrdelenmesi, BAP 06, 7809, Araştırmacı, Devam Ediyor
4. Deneysel Modelde *Hypericum perforatum*'un Amikasin Nefropatisinden Koruyucu Etkisi Var Mıdır? BAP 02, TSA-2018-7309, Araştırmacı, 2019
5. Sıçanlarda Bazı *Cirsium* Türlerinin Topraküstü Kısımlarının Antiobezite Etkisinin Araştırılması, BAP 01, TSA-2017-6866, Araştırmacı, 2018
6. Sıçanlarda Oluşturulan Yara Modelinde *Pilosella hoppeana* subsp *testimonialis* Bitki Ekstresinin Biyolojik Aktivitesi, BAP01, TSA-2017-6865, Araştırmacı, 2018
7. *Onobrychis oxyodonto* Boiss Bitkisinin Antioksidan, Antimikrobiyal Enzim Aktivitesinin İncelenmesi, BAP 02, THD-2017-5899, Araştırmacı, 2018.
8. Bazı *Barbarea* Türleri Üzerinde Biyolojik Aktivite Çalışmaları ve Fitokimyasal Çalışmalar, BAP 02, THD-2018-7353, Araştırmacı, 2018
9. Akkuş/ORDU ve Köylerinde Bulunan Bitkilerin Etnobotanik ve Etnomedikal Özelliklerin Belirlenmesi ve Halk İlacı Olarak Kullanılan Türlerin Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi, BAP 06, TYL-2016-5619, Araştırmacı, 2017
10. *Centaurea carduiformis*'in Biyolojik aktivitesinin İncelenmesi ve HPLC ile Analizi, BAP 02, THD-2016-5702, Araştırmacı, 2017
11. Sıçanlarda Streptozosin ile Oluşturulan Diyabette *Lysimachia verticillaris*'in Topraküstü Kısımlarının ve Bu Bitkiden İzole Edilen Gallik asit, Mirsetin 3-O- α ramnopiranozit, Kersetin 3-O- β glukopiranozit Bileşiklerinin Antidiyabetik ve Antioksidan Etkisinin Araştırılması, BAP 02, THD-2015-5339, Araştırmacı, 2016

12. *Aethionema diastrophis*'in Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi HPLC ile Karakterizasyonu ve Biyolojik Değerinin İncelenmesi, BAP 02, THD-2016-5581, Araştırmacı, 2016

2-Seminer

1. Kozmetik Preparatlardaki Doğal Ürünler (Yüksek Lisans Semineri, 2013)
2. *Cirsium* Türleri Üzerindeki Fitokimyasal ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları (Doktora Semineri, 2017)

VIII-Diğer Bilgiler

1-Sertifika, Eğitim ve Kurslar

1. Eğiticilerin Eğitimi Sertifikası, Karadeniz Teknik Üniversitesi, 2018
2. Uygulamalı Hücre Kültürü ve Toksisite Analizi Kursu, Atlas Biyoteknoloji, 2016
3. Akademik Düzeyde Araştırma Projesi Hazırlama Eğitimi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, 2015
4. Bitki Islahında Mutasyon ve İlgili Biyoteknolojik Teknikler Eğitimi, Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, 2015
5. Biyolojik Aktivite Çalıştay, Farmakognozi ve Fitoterapi Derneği, 2015
6. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, 2013

2-Katkıda Bulunan Bilimsel Toplantılar

1. XXII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Düzenleme Komitesi Üyesi, 2016