T.C.

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

Infundibulicybe geotropa (Bull.) Harmaja ve *Tricholoma scalpturatum* (Fr.) Quél. MANTAR TÜRLERİNİN SİTOTOKSİK VE TİMİDİN FOSFORİLAZ İNHİBİSYON AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ, BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİNİN İZOLASYONU VE YAPILARININ AYDINLATILMASI

CANSEL ÇAKIR

DOKTORA TEZİ

MAYIS 2025

MUĞLA

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

TEZ ONAYI

CANSEL ÇAKIR tarafından hazırlanan ***Infundibulicybe geotropa* (Bull.) Harmaja ve *Tricholoma scalpturatum* (Fr.) Quél. MANTAR TÜRLERININ SİTOTOKSİK VE TİMİDİN FOSFORİLAZ İNHİBİSYON AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ, BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİNİN İZOLASYONU VE YAPILARININ AYDINLATILMASI** başlıklı tezinin, 30/05/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda doktora derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

TEZ SINAV JURİSİ

Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK **(Danışman)** İmza:

Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla _____

Prof. Dr. Bekir SALİH **(Jüri Başkanı)** İmza:

Fizikokimya Anabilim Dalı,
Hacettepe Üniversitesi, Ankara _____

Prof. Dr. Mehmet Emin DURU **(Üye)** İmza:

Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla _____

Prof. Dr. Abdulselam ERTAŞ **(Üye)** İmza:

Analitik Kimya Anabilim Dalı,
Dicle Üniversitesi, Diyarbakır _____

Prof. Dr. Şevki ARSLAN **(Üye)** İmza:

Biyoloji Anabilim Dalı,
Pamukkale Üniversitesi, Denizli _____

ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI

Prof. Dr. Mehmet UĞURLU İmza:

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

Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK İmza:

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

Savunma Tarihi: 30/05/2025

ETİK BEYAN METNİ

Kendi gerçekleştirdiğim araştırmanın bir sonucu olan ve Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazılan "*Infundibulicybe geotropa* (Bull.) Harmaja ve *Tricholoma scalpturatum* (Fr.) Quél. MANTAR TÜRLERİNİN SİTOTOKSİK VE TİMİDİN FOSFORİLAZ İNHİBİSYON AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ, BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİNİN İZOLASYONU VE YAPILARININ AYDINLATILMASI" başlıklı bu doktora tezinin planlanmasından yazımına kadar tüm süreçlerde etik ilkelere bağlı kaldığımı, tezime ilişkin bilgi ve belgeleri akademik ve bilimsel etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, tezimde kullandığım tüm görsel ve yazılı materyallerin kaynağını gösterdiğimi, yararlandığım eserlerin tümünün kaynaklar bölümünde yer aldığını ve tezde yapay zekâ (YZ) araçlarının kullanımına dair açıklamaların aşağıda belirttiğim şekilde olduğunu beyan ederim.

YAPAY ZEKÂ (YZ) KULLANIMINA DAİR BEYANNAME *

1. Tez çalışmasının hiçbir bölümünde YZ araçlarının kullanılmadığı durumlarda aşağıdaki beyan istenir.

   [√] Bu tez çalışması kapsamında herhangi bir YZ aracı kullanmadığımı beyan ederim.

2. Tez çalışmasında YZ araçlarının kullanıldığı durumlarda aşağıdaki beyan istenir.

   [ ] **Tezin bazı bölümlerini düzenlemek için aşağıdaki tabloda belirtiğim bölümlerde YZ aracı kullandığımı beyan ederim. Kullandığım YZ araç (lar)ının isimleri, versiyonları, erişim tarihleri, çalışmanın hangi aşamasında kullanıldığı ve bağlantıları tezin "Yapay Zekâ (YZ) Kullanım Yöntemi" başlığıyla Yöntem kısmında verilmiştir. Ayrıca tezde aşağıda beyan etiğim bölümlerde YZ kullanımı uygun atıf ve kaynak gösterimi ile de belirtilmiştir.**

YZ KULLANIMINA DAİR BEYANAME *(Her maddeyi okuyun ve kabul ettiğinize dair yandaki kutucuklara tik işareti bırakın**)*	
Tezin özet bölümünün gözden geçirilmesinde kullanılmıştır.	
Literatür taraması ve ilgili kaynakların bulunmasında kullanılmıştır.	
Araştırma hipotezi /hipotezlerin belirlenmesinde kullanılmıştır.	
Örneklem büyüklüğü tespiti/güç analizi hesaplamasında kullanılmıştır.	
Veri toplamada kullanılmıştır.	
Veri depolamada kullanılmıştır.	
Verilerin istatistiksel analizi, görselleştirilmesi veya yorumlanmasında kullanılmıştır.	
Kaynakların istenen formata uygun düzenlenmesinde ve doğrulanmasında kullanılmıştır.	
Dilbilgisi ve yazım kontrolünde kullanılmıştır.	
Akademik metinlerin çevirisi veya yabancı dilde ifadelerin kontrolü için kullanılmıştır.	
Tez başlığının belirlenmesi veya şekillendirilmesinde kullanılmıştır.	
Araştırma sorularının belirlenmesi veya optimize edilmesinde kullanılmıştır.	
Tablo, şekil veya grafik oluşturulmasında kullanılmıştır.	
İntihal ve benzerlik oranlarının kontrol edilmesinde kullanılmıştır.	
Anket veya mülakat sorularının oluşturulmasında kullanılmıştır.	
Diğer kullanımlar (açıklayınız)…….	

30/05/2025

Cansel ÇAKIR

BEYAN METNİ

(Toplumsal Katkı / Sürdürülebilir Kalkınma)

Doktora tezi olarak sunduğum "*Infundibulicybe geotropa* (Bull.) Harmaja ve *Tricholoma scalpturatum* (Fr.) Quél. MANTAR TÜRLERİNİN SİTOTOKSİK VE TİMİDİN FOSFORİLAZ İNHİBİSYON AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ, BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİNİN İZOLASYONU VE YAPILARININ AYDINLATILMASI" başlıklı çalışmanın kapsamında yer alan Toplumsal Katkı ve Sürdürülebilir Kalkınma Temel Amaçları aşağıdaki tablolarda yer alan ilgili kısımlar işaretlenerek gösterilmiştir.

TOPLUMSAL KATKI *(Her maddeyi okuyun ve uygun kutucuklara tik işareti bırakın**)*	
Toplumun Öncelikli İhtiyaçlarının Belirlenmesi ve Analizi	
Topluma Katkı Sağlayan Bilimsel Araştırma ve Geliştirme Çalışmaları	√
Toplum İçin Eğitim, Bilgilendirme ve Farkındalık Çalışmaları	
Toplumun Öncelikli Sorunlarına Yönelik Bilimsel ve Yenilikçi Çözümler	
Toplum İçin Kamu, Özel Sektör ve Sivil Toplum Kuruluşları Gibi Paydaşlarla İş Birliği	
Yerel, Ulusal ve Küresel Tarihi ve Kültürel Değerlere Katkı	
Toplum Yararına Yürütülen Sosyal Sorumluluk ve Kültürel Etkinlikler	
Diğer (açıklayınız)……..	

*** Birden fazla işaretleme yapılabilir.*

SÜRDÜRÜLEBİLİR KALKINMA TEMEL AMAÇLARI *(Her maddeyi okuyun ve uygun kutucuklara tik işareti bırakın**)*	
Amaç 1: Yoksulluğa Son	
Amaç 2: Açlığa Son	
Amaç 3: Sağlık ve Kaliteli Yaşam	√
Amaç 4: Nitelikli Eğitim	
Amaç 5: Toplumsal Cinsiyet Eşitliği	
Amaç 6: Temiz Su ve Sanitasyon	
Amaç 7: Erişilebilir ve Temiz Enerji	
Amaç 8: İnsana Yakışır İş ve Ekonomik Büyüme	
Amaç 9: Sanayi, Yenilikçilik ve altyapı	
Amaç 10: Eşitsizliklerin Azaltılması	
Amaç 11: Sürdürülebilir Şehirler ve Topluluklar	
Amaç 12: Sorumlu Üretim ve Tüketim	
Amaç 13: İklim Eylemi	
Amaç 14: Sudaki Yaşam	
Amaç 15: Karasal Yaşam	
Amaç 16: Barış, Adalet ve Güçlü Kurumlar	
Amaç 17: Amaçlar İçin Ortaklıklar	
Diğer (açıklayınız)…….	

*** Birden fazla işaretleme yapılabilir.*

30/05/2025

Cansel ÇAKIR

ÖZET

Infundibulicybe geotropa (Bull.) Harmaja ve *Tricholoma scalpturatum* (Fr.) Quél. MANTAR TÜRLERİNİN SİTOTOKSİK VE TİMİDİN FOSFORİLAZ İNHİBİSYON AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ, BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİNİN İZOLASYONU VE YAPILARININ AYDINLATILMASI

Cansel ÇAKIR

Doktora Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK

Mayıs 2025, 422 sayfa

Mantarlar, bağışıklık sistemini düzenleyici ve antikanser etkili polisakkaritler ile triterpenoidler gibi biyoaktif bileşikler içermeleri nedeniyle günümüzde önemli bir araştırma alanı haline gelmiştir. Artan kanser vakaları ve ilaç direnci sorunları, mantarlardan elde edilebilecek yeni biyoaktif bileşiklerin keşfinin geliştirilmesine yönelik bilimsel ilgiyi giderek artırmaktadır. Bu çalışmada Ülkemizde doğal olarak yetişen yenilebilir *Infundibulicybe geotropa* (Bull.) Harmaja ve *Tricholoma scalpturatum* (Fr.) Quél. türlerinden biyoaktif maddelerin izolasyonu ve bu bileşiklerin yapılarının aydınlatılması amaçlanmıştır. Ekstrelerin ve saflaştırılan bileşiklerin kolon (Caco-2), meme (MCF-7), akciğer (H1299) ve prostat (LnCap) kanser hücre hatlarında sitotoksik aktiviteleri, böbrek (HEK293) sağlıklı hücre hatlarına karşı toksisiteleri, üç farklı yaklaşımla apoptoz analizleri ve timidin fosforilaz inhibisyon aktiviteleri yapıldı.

Ankara'dan toplanan *I. geotropa* ve *T. scalpturatum* mantarları uygun koşullarda kurutulduktan sonra oda sıcaklığında gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemleri, artan polariteye sahip çözücülerle (petrol eteri, aseton, metanol ve su) yapıldı. Sulu ekstraktlar etanol ile çöktürülerek HWEP (etanol ile çöken) ve HWES (etanolde çözünen) fraksiyonlarına ayrıldı. Ekstrelerin sitotoksik aktiviteleri insan kolon (Caco-2), meme (MCF-7), akciğer (H1299) ve prostat (LnCaP) kanser hücre hatları ile sağlıklı böbrek hücre hattı (HEK293) üzerinde MTT metodu ile incelendi. Apoptoz analizleri, Annexin-V/PI boyama ve gen/protein ekspresyon analizleriyle gerçekleştirildi. Ayrıca, ekstrelerin antioksidan aktiviteleri (ABTS katyon radikali giderim, CUPRAC indirgeme kapasitesi, DPPH serbest radikali giderim ve β-karoten-linoleik asit), antikolinesteraz (asetilkolinesteraz/bütirilkolinesteraz) ve antidiyabetik (α-amilaz ve α-glukosidaz) aktiviteleri ile timidin fosforilaz (TP) inhibisyon aktiviteleri çalışıldı.

Antioksidan aktiviteye ilişkin bulgulara göre özellikle iki mantar türünün metanol ve aseton ekstrelerinin orta düzeyde radikal giderimi ve indirgeme kapasitesi gösterdiği belirlendi. *I. geotropa*'nın metanol ekstresi, ABTS katyon radikali giderimi aktivitesinde (IC_{50} =75.03 µg/mL) en iyi antioksidan etkiyi gösterdi. Enzim inhibisyon analizlerinde, timidin fosforilaz inhibisyonu açısından özellikle *I. geotropa* petrol eteri ekstresi (% inh = %74,9 inhibisyon) ve *T. scalpturatum* aseton ekstresi (% inh = %54,8 inhibisyon) yüksek aktivite gösterdi. Sitotoksik etki analizlerinde, hem *T. scalpturatum* hem de *I. geotropa*'nın petrol eteri ve aseton ekstreleri dört kanser hücre hattında farklı sitotoksik aktivite gösterdi. Özellikle *T. scalpturatum*'un aseton ekstresi Caco-2 hücre hattına karşı (EC_{50} =46,86 µg/mL) en yüksek aktiviteyi sergiledi. Aynı şekilde, *I. geotropa*'nın petrol eteri ekstresi LnCap hücre hattında (EC_{50} =63,19 µg/mL) kayda değer aktivite gösterdi. Mantar ekstreleri ve fraksiyonlarının HEK293 sağlıklı hücre hattına karşı toksik olmadığı belirlendi. Apoptoz analizleri üç farklı yaklaşımla incelendi. Annexin-V/propidyum iyodür (PI) boyama yöntemi ile yapılan analizlerde, seçilen mantar ekstrelerinin Caco-2 ve MCF-7 hücrelerinde apoptotik hücre oranında anlamlı bir artışa neden olduğu belirlendi. Gen ekspresyon analizlerinde pro-apoptotik genlerin (BAX, kaspaz 3, kaspaz 8, kaspaz 9) ekspresyon seviyelerinde artış, anti-apoptotik BCL-2 geninde ise azalma saptandı.

Biyoaktif bileşenlerin izolasyonu sitotoksik aktivite sonuçlarına göre EC_{50} değeri hesaplanabilen *I. geotropa* ve *T. scalpturatum* mantarının aseton ekstreleri ile fraksiyonları kolon kromatografisi (Prep. Recycle-HPLC, preparatif ince tabaka gibi) ayırma yöntemleri kullanılarak toplamda **36** madde saflaştırıldı ve yapıları NMR, GC-MS ve kütle spektrometrisi yöntemleriyle belirlendi. Spektroskopik analizlerin ardından elde edilen veriler, yapı benzerlikleri dikkate alınarak değerlendirildiğinde toplam **23** farklı bileşiğin tanımlandığı anlaşılmıştır. *T. scalpturatum* aseton ekstresinden, etil oleat (**1, 2**), **(**ergosta-7,24(28)-dien-3*β*-ol (**3**), ergesterol peroksit (**4, 12, 17**), *N*-(1,3,4-trihidroksikosan-2-*il)* dokosanamid (**5**), palmitik asit, oleik asit karışımı (**6**), oleik asit (**7**), 3*β*-hidroksi ergosterol-5-en (**8**), ergosta-5,22-dien 3*β*-ol (**9, 10**), ergosta-5,22-dien-*il*-tetradekanoat (**11**), 3,4-dihidroksi benzaldehit (**13**), 4-(*3,4*-dihidroksifenil)-3-büten-2-on (**14, 15**), *trans* sinnamik asit (**16**), palmitik asit (**18**), serevisterol (**19**), 5*α*,9*α*-epoksiergosta-7,22-dien-3*β*,6*β*-diol (**20**), *N*-[3-hidroksi, 9-metil-1-glukopiranozil, aykosa-4,8-dienil]-2-hidroksi hekzadesenamit (**21**), *I. geotropa* aseton ekstresinden, ergesterol peroksit (**22, 23, 33**), ergosta-5,22-dien-*il*-monokosanoat (**24**), ergosta-5,22-dien-*il*-oktanat (**25**), ergosta-4,6,8(14)-22-tetraen-3-on (**26, 27**), ergosta-5,22-dien 3*β*-ol (**28**), urasil (**29**), oleik asit (**30, 31**), miristik asit (**32**), 2,3-dihidroksipropil-1-oleat (**34**), 5*α*,6*α*-epoksiergosta-7,22-dien-3*β*,6*β*-diol (**35**), serevisterol (**36**) elde edilen maddelerdir. Spektroskopik yöntemlerle yapısal tanımlamaları yapılan bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri, tez kapsamında kullanılan kanser hücre hatları üzerinde uygulanan *in vitro* biyolojik testlerle değerlendirildi.

Anahtar Kelimeler: *Infundibulicybe geotropa* (Bull.) Harmaja, *Tricholoma scalpturatum* (Fr.) Quél., İzolasyon, Spektroskopi, Yapı tayini, Antioksidan aktivite, Enzim ve timidin fosforilaz inhibisyon akivitesi, Sitotoksik aktivite.

ABSTRACT

DETERMINATION OF CYTOTOXIC AND THYMIDINE PHOSPHORYLASE INHIBITION ACTIVITIES, ISOLATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS AND ELUCIDATION OF THEIR STRUCTURES FROM THE MUSHROOM SPECIES *Infundibulicybe geotropa* (Bull.) Harmaja and *Tricholoma scalpturatum* (Fr.) Quél.

Cansel ÇAKIR

Ph.D. Thesis

Institute of Science

Department of Chemistry

Advisor: Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK

May 2025, 422 pages

Mushrooms have become an important research area today due to their content of bioactive compounds, such as polysaccharides and triterpenoids, which have immunomodulatory and anticancer effects. Increasing cancer cases and drug resistance problems are gradually growing scientific interest in the development of new bioactive compounds from mushrooms. In this study, it was aimed to isolate bioactive compounds from the edible species *Infundibulicybe geotropa* (Bull.) Harmaja and *Tricholoma scalpturatum* (Fr.) Quél., which naturally grow in our country, and to elucidate the structures of these compounds. The cytotoxic activities of the extracts and purified compounds were tested on colon (Caco-2), breast (MCF-7), lung (H1299), and prostate (LnCap) cancer cell lines; their toxicities against kidney (HEK293) healthy cell lines; apoptosis analyses with three different approaches, and thymidine phosphorylase inhibition activities were studied.

The *I. geotropa* and *T. scalpturatum* mushrooms collected from Ankara were dried under appropriate conditions, and extraction processes at room temperature were carried out with solvents of increasing polarity (petroleum ether, acetone, methanol, and water). Aqueous extracts were precipitated with ethanol and separated into HWEP (precipitated with ethanol) and HWES (dissolved in ethanol) fractions. The cytotoxic activities of the extracts were examined by the MTT method on human colon (Caco-2), breast (MCF-7), lung (H1299), and prostate (LnCaP) cancer cell lines and healthy kidney cell line (HEK293). Apoptosis analyses were performed with Annexin-V/PI staining and gene/protein expression analyses. In addition, the antioxidant activities (ABTS cation radical scavenging, CUPRAC reducing capacity, DPPH free radical scavenging, and β-carotene-linoleic acid), anticholinesterase (acetylcholinesterase/ butyrylcholinesterase), antidiabetic (α-amylase and α-glucosidase) activities, and thymidine phosphorylase (TP) inhibition activities of the extracts were studied.

According to the findings related to antioxidant activity, especially the methanol and acetone extracts of both mushroom species showed moderate radical scavenging and reducing capacity. The methanol extract of *I. geotropa* showed the best antioxidant effect in ABTS cation radical scavenging activity (IC_{50} = 75.03 µg/mL). In enzyme inhibition analyses, *I. geotropa* petroleum ether extract (% inh = 74.9% inhibition) and *T. scalpturatum* acetone extract (% inh = 54.8% inhibition) showed high activity in terms of thymidine phosphorylase inhibition. In cytotoxic effect analyses, both petroleum ether and acetone extracts of *T. scalpturatum* and *I. geotropa* showed different cytotoxic activities on four cancer cell lines. Especially, the acetone extract of *T. scalpturatum* exhibited the highest activity against the Caco-2 cell line (EC_{50} = 46.86 µg/mL). Similarly, the petroleum ether extract of *I. geotropa* showed significant activity in the LnCap cell line (EC_{50} = 63.19 µg/mL). It was determined that the mushroom extracts and fractions were not toxic to the HEK293 healthy cell line. Apoptosis analyses were examined with three different approaches. In the analyses performed by the Annexin-V/propidium iodide (PI) staining method, it was determined that the selected mushroom extracts caused a significant increase in the rate of apoptotic cells in Caco-2 and MCF-7 cells. In gene expression analyses, an increase in the expression levels of pro-apoptotic genes (BAX, caspase 3, caspase 8, caspase 9) and a decrease in the anti-apoptotic BCL-2 gene were detected.

The isolation of bioactive components was carried out using acetone extracts and fractions of *I. geotropa* and *T. scalpturatum* mushrooms, for which EC_{50} values could be calculated according to cytotoxic activity results, by using separation methods such as column chromatography (Prep. Recycle-HPLC, preparative thin layer chromatography); a total of 36 substances were purified and their structures were determined by NMR, GC-MS, and mass spectrometry methods. After spectroscopic analyses, it was understood that a total of 23 different compounds were identified based on structural similarities. From *T. scalpturatum* acetone extract, ethyl oleate (**1**, **2**), ergosta-7,24(28)-dien-3*β*-ol (**3**), ergosterol peroxide (**4**, **12**, **17**), *N*-(1,3,4-trihydroxycosan-2-yl) docosanamide (**5**), palmitic acid and oleic acid mixture (**6**), oleic acid (**7**), 3*β*-hydroxy ergosterol-5-en (**8**), ergosta-5,22-dien 3*β*-ol (**9**, **10**), ergosta-5,22-dienyl-tetradecanoate (**11**), 3,4-dihydroxy benzaldehyde (**13**), 4-(3,4-dihydroxyphenyl)-3-buten-2-one (**14**, **15**), trans cinnamic acid (**16**), palmitic acid (**18**), cerevisterol (**19**), 5*α*,9*α*-epoxyergosta-7,22-dien-3*β*,6*β*-diol (**20**), *N*-[3-hydroxy, 9-methyl-1-glucopyranosyl, eicosa-4,8-dienyl]-2-hydroxy hexadecenamide (**21**); from *I. geotropa* acetone extract, ergosterol peroxide (**22**, **23**, **33**), ergosta-5,22-dienyl-monocosanoate (**24**), ergosta-5,22-dienyl-octanoate (**25**), ergosta-4,6,8(14)-22-tetraen-3-one (**26**, **27**), ergosta-5,22-dien 3*β*-ol (**28**), uracil (**29**), oleic acid (**30**, **31**), myristic acid (**32**), 2,3-dihydroxypropyl-1-oleate (**34**), 5*α*,6*α*-epoxyergosta-7,22-dien-3*β*,6*β*-diol (**35**), cerevisterol (**36**) were obtained. The cytotoxic activities of the compounds structurally identified by spectroscopic methods were evaluated with *in vitro* biological tests applied to cancer cell lines used in the thesis.

Keywords: *Infundibulicybe geotropa* (Bull.) Harmaja, *Tricholoma scalpturatum* (Fr.) Quél., Isolation, Spectroscopy, Structural elucidation, Antioxidant activity, Enzyme and thymidine phosphorylase inhibition activity, Cytotoxic activity

Kendime…

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında, ülkemizde doğal olarak yetişen *Infundibulicybe geotropa* ve *Tricholoma scalpturatum* yenilebilir mantarlarının içerdiği bileşiklerin sitotoksik aktivite kontrollü izolasyonları, karakterizasyonları ve bu bileşiklerin çeşitli kanser hücre hatları üzerindeki potansiyel etkilerinin araştırılması yapıldı. Artan kanser vakaları ve ilaç direnci sorunları, yeni doğal kaynaklı antikanser bileşiklerin araştırılmasını gerektirmektedir. Elde edilen ekstreler ve saf bileşikler, sitotoksik, apoptotik, ve antioksidan aktiviteleri kapsamlı *in vitro* testlerle değerlendirildi.

Bilgi, tecrübe ve bilimsel rehberliğiyle yolumu aydınlatan; anlayışı, sabrı, özverisi ve desteğiyle yalnızca akademik değil, insani anlamda da bana yol gösteren; zor zamanlarımda cesaret veren ve her zaman yanımda olduğunu hissettiren, öğrencisi olmaktan onur duyduğum çok kıymetli danışmanım ***Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK***'e,

Tezimin ilerleyişine katkı sağlayan Tez İzleme Komitesi üyeleri sayın hocalarım ***Prof. Dr. Mehmet Emin DURU*** ve ***Prof. Dr. Abdülselam ERTAŞ***'a,

Tezimde hücre kültürü çalışmalarımı gerçekleştirmemde destek veren sayın ***Prof. Dr. Şevki ARSLAN***'a ve ayrıca ***Dr.Öğr. Üyesi Doğukan MUTLU*** ve **Amine Hafiz ABDULSELAM**'a,

Tez çalışmam süresince yardımını esirgemeyen, özveri ve desteğiyle hep yanımda olan, emeğini ve gönlünü esirgemeyen değerli arkadaşım ***Yüksek Kimyager Kübra TUNA***'ya,

Bu akademik yolculukta bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım değerli hocalarım ***Dr. Öğr. Üyesi Bihter ŞAHİN, Doç. Dr. Yusuf SICAK*** ve ***Öğr. Gör. Dr. Özge TOKUL ÖLMEZ*** laboratuvar çalışmaları sırasında yardımcı olan çalışma arkadaşlarım, ***Dilaycan ÇAM'a*** teşekkürü borç bilirim.

Yanımda olup desteğini esirgemeyen ***Ayşe Ezgi Akkaya, Dr. Sabiha DEMİRCİ CENGİZ, Talshyn BERDESH, Ar. Gör. Fatih AKÇAKAYA, Dr. Selçuk KÜÇÜKAYDIN*** ve ***Dr. Meltem TAŞ KÜÇÜKAYDIN***'a,

Hayatım boyunca maddi ve manevi fedakârlıklarıyla daima yanımda olan, sevgileri, sabırları ve destekleriyle bugünlere gelmemi sağlayan; her koşulda yanımda olup bana inanan ve güvenen çok kıymetli annem ***Ayşe ÇAKIR***, babam ***Mehmet Akif ÇAKIR*** ve abim ***Ümit ÇAKIR***'a; bana her zaman inancını ve güvenini hissettiren sevgili yengem ***Bengül ÇAKIR***'a; bu hayatta bana halalık duygusunu tattıran, varlığıyla bana güç ve ilham veren, her zorlukta kendisinden aldığım güçle yoluma devam etmemi sağlayan, evlat sevgisini kalbime kazıyan sevgili yeğenim ***Beril ÇAKIR***'a en derin şükranlarımı ve minnetimi sunarım.

Doktora eğitimim süresince **YÖK 100/2000 Doktora Projesi** 'Doğal Ürünler ve Kozmetik' alanında gerçekleştirilmesi amacıyla bursiyer statüsünde desteklenmeme olanak sağlayan Yüksek Öğretim Kurumu (YÖK) ve TÜBİTAK (Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu) 2211/A Programına teşekkürlerimi sunarım. Bu tez çalışması 1001-Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı (TÜBİTAK) **121Z551** numaralı proje tarafından maddi olarak desteklenmiştir. Bu değerli katkılarından dolayı TÜBİTAK'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ ..... **x**
İÇİNDEKİLER ..... **xi**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **xvii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **xx**
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **xxxi**
1. GİRİŞ **1**
1.1. *Tricholoma scalpturatum* (Fr.) Quél. 6
1.1.1. Botanik bilgiler: Makroskobik ve mikroskobik özellikler 6
1.2. *Infundibulicybe geotropa* (Bull.) harmaja 8
1.2.1. Makroskobik ve mikroskobik özellikler 8
1.3. Mantarların Halk Arasında Kullanımı 9
1.3.1. Literatürde *Tricholoma* mantar türleri ve antioksidan aktiviteye dair yapılan çalışmalar 11
1.4. Mantar Türleri Üzerine Yapılan Çalışmalar 12
1.4.1. *Tricholoma* türleri ile ilgili literatür araştırmaları 15
1.4.1.1. *Tricholoma* türleri ile ilgili antiinflamatuvar aktiviteye dair yapılan çalışmalalar 18
1.4.1.2. *Tricholoma* türlerinden elde edilen sekonder metabolitlere dair yapılan çalışmalar 18
1.4.2. *Tricholoma scalpturatum* türü ile ilgili literatür araştırmaları 20
1.4.3. *Infundibulicybe geotropa* türü ile ilgili literatür araştırmaları 20
1.4.3.1. *Infundibulicybe geotropa* türü üzerine yapılan biyolojik aktivite çalışmalar 21
1.4.3.2. *Infundibulicybe geotropa* türü üzerine yapılan izolasyon çalışmaları 23
1.5. Terpenler 24
1.6. Steroidler 27
1.6.1. Steroid glikozitleri 31
1.7. Fenolik Maddeler 31
1.7.1. Fenolik maddelerin antioksidan aktiviteleri 32
1.7.2. Fenolik maddelerin tanınması, analiz yöntemleri ve izolasyonu 33
1.7.3. Mantar türlerinden elde edilen fenolik maddeler 33

1.8. Antioksidanlar 34
1.9. Sitotoksik Maddeler 35
1.9.1. Antikanser ajanlar olarak mantar terpenoidleri 36
1.9.2. Antikanser ajanlar olarak mantar steroidleri, fenoller ve diyet lifleri 37
2. MALZEME VE YÖNTEM 38
2.1. Mantarların Toplanması ve Teşhisleri 38
2.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler 40
2.2.1. Kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler 40
2.2.2. Kullanılan çözeltiler 41
2.2.2.1. İnce tabaka kromatografisinde kullanılan belirteçler 41
2.2.2.2. *β*-Karoten renk açılımı yönteminde kullanılan çözelti 41
2.2.2.3. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi yönteminde kullanılan çözelti 41
2.2.2.4. ABTS $^{+\bullet}$ giderim aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler . 42
2.2.2.5. CUPRAC yönteminde (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) kullanılan çözeltiler 42
2.2.2.6. Antikolinesteraz aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler .. 42
2.2.2.7. *α*-Amilaz inhibisyon aktivite belirleme yönteminde kullanılan çözeltiler 43
2.2.2.8. *α*-Glukozidaz inhibisyon aktivite belirleme yönteminde kullanılan çözeltiler 43
2.2.2.9. Timidin fosforilaz (TP) inhibisyonu aktivite yönteminde kullanılan çözeltiler 44
2.3. Kullanılan Aletler ve Laboratuvar Malzemeleri 44
2.4. Mantarların Ekstraksiyonu ve Fraksiyonlandırma İşlemleri 46
2.4.1. Ekstrelerin hazırlanması 46
2.5. Hücre Kültürü Çalışmaları ve Sitotoksisitenin Belirlenmesi 48
2.5.1. Hücre kültürüne örneklerin uygulanması 48
2.5.2. Apoptoz analizleri 48
2.5.2.1. Western blot analizleri 48
2.5.2.2. Apoptozda görev alan genlerin mRNA düzeyinde ekspresyonlarının analizi 49
2.5.2.3. Floresans hücre sayıcı ile apoptozun belirlenmesi 50
2.6. Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi 51
2.6.1. *β*-karoten-linoleik asit renk açılımı yöntemi 51
2.6.2. DPPH serbest radikal giderim aktivite yöntemi 52

2.6.3. ABTS katyon radikal giderim aktivitesi yöntemi 52
2.6.4. CUPRAC aktivite yöntemi (Bakır (II) indirgeme gücü) 52
2.7. Antikolinesteraz Aktivitelerinin Belirlenmesi 53
2.7.1. AChE inhibisyon aktivite yöntemi 53
2.7.2. Bütirilkolinesteraz (BChE) inhibisyon aktivite yöntemi 53
2.8. Antidiyabetik Aktivitelerinin Belirlenmesi 53
2.8.1. α-Amilaz inhibisyon aktivite yöntemi 53
2.8.2. α-Glukosidaz inhibisyon aktivite yöntemi 54
2.9. Timidin fosforilaz (TP) inhibisyon aktivite yöntemi 54
2.10. Kromatografik Yöntemler 56
2.10.1. Kolon kromatografisi 56
2.10.2. İnce tabaka kromatografisi 57
2.10.3. Preperatif HPLC-UV-RI 57
2.10.3.1. Preparatif gradient HPLC çalışma şartları 58
2.10.3.2. İzokratik preparatif HPLC çalışma şartları 59
2.10.4. GC-MS kullanılarak yapılan tanımlamalar 59
2.10.4.1. Hidroliz işlemlerinin yapılması 59
2.10.4.2.Sililleme işlemlerinin yapılması 60
2.11. Spektroskopik Yöntemler 60
2.11.1. Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi 60
2.11.2. Kütle spektroskopisi 60
2.12. İstatistiksel Analiz 61
3. BULGULAR VE İRDELEME 62
3.1. Ekstraksiyon Sonuçları 62
3.2. Ekstrelerin Sitotoksik Aktivite Sonuçları 62
3.2.1. *T. scalpturatum* ekstrelerinin sitotoksik aktivite sonuçları 62
3.2.2. *I. geotropa* ekstrelerinin sitotoksik aktivite sonuçları 66
3.3. Apoptoz Çalışmaları 70
3.3.1. Floresan hücre sayıcı ile apoptoz analizleri 70
3.3.2. Apoptozda görev alan genlerin mRNA düzeyinde ekspresyonlarının analizinin sonuçları: Toplam RNA izolasyonu 74
3.3.2.1. Toplam RNA'nın spektrofotometrik analizi 74
3.3.2.2. Agaroz jel elektroforezi kullanarak toplam RNA'nın görüntülenmesi 74
3.3.2.3. cDNA sentezi 75

3.3.2.4. Gerçek zamanlı PZR analizleri 75
3.3.2.5. Protein ekspresyon düzeylerinin analizi 81
3.3.3. Western-Blot analizleri..... 87
3.4. Timidin Fosforilaz (TP); İnhibisyonu Aktivitesi Sonuçları 91
3.5. Ekstrelerinin Antioksidan Aktivite Sonuçları 92
3.5.1. *β*-Karoten renk açılım yöntemi sonuçları (lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi) 92
3.5.2. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi sonuçları 93
3.5.3. ABTS katyon radikal giderimi aktivitesi sonuçları 94
3.5.4. Cu (II) indirgeme; kapasitesi (CUPRAC); yöntemi sonuçları 95
3.6. Ekstrelerinin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları 95
3.6.1. AChE inhibisyonu aktivitesi sonuçları 95
3.6.2. BChE inhibisyonu aktivitesi sonuçları 96
3.7. Ekstrelerinin Antidiyabetik Aktivite Sonuçları 97
3.7.1. *α*-amilaz inhibisyonu aktivitesi sonuçları 97
3.7.2. *α*-glukosidaz inhibisyonu aktivitesi sonuçları 97
3.8. *T. scalpturatum*'un Aseton; Ekstresinden Madde; İzolasyon Çalışmaları... 98
3.8.1. *T. scalpturatum*'un aseton ekstresinin fraksiyonlandırılması..... 98
3.8.2. *T.scalpturatum*'un aseton; ekstresinin fraksiyonlarının sitok aktiviti 99
3.9. *T. scalpturatum*'un aseton ekstresinin biyoaktif fraksiyonlarından maddelerin saflaştırılması 112
3.9.1. TS.As.3 biyoaktif fraksiyonunun alt fraksiyonlara ayrılması 112
3.9.2. TS.As.3 biyoaktif fraksiyonundan elde edilen saf maddelerin yapı tayini 116
3.9.2.1. TS.As.3.1 (**1**) = Etil oleat 116
3.9.2.2. TS.As.3.2 (**2**) = Etil oleat 123
3.9.2.3. TS.As.3.3 (**3**) = Ergosta-7,24(28)-dien 3*β*-ol 126
3.9.2.4. TS.As.3.4(**4**) = Ergesterol peroksit 134
3.9.2.5. TS.As.3.5 (**5**) =*N*-(1,3,4-trihidroksikosan-2-il)dokosanamid 142
3.9.2.6. TS.As.3.6 (**6**) = Oleik asit, Palmitik asit 153
3.9.2.7. TS.As.3.7 (**7**) = Oleik asit 158
3.9.2.8. TS.As.3.8 (**8**) = 3*β*-hidroksi ergosterol-5-en 162
3.9.2.9. TS.As.3.9.(9) = Ergosta-5,22-dien 3*β*-ol 166
3.9.2.10. TS.As.3.10 (**10**) = Ergosta-5,22-dien 3*β*-ol 175
3.9.2.11. TS.As.3.11 (**11**) = Ergosta-5,22 dienil 3-*O*-*β*-tetradekanoat 178

3.9.3. TS.As.4 biyoaktif fraksiyonunun alt fraksiyonlara ayrılması 188
3.9.4. TS.As.4 biyoaktif fraksiyonundan elde edilen saf maddelerin yapı tayini 190
3.9.4.1. TS.As.4.1 (**12**) = Ergesterol peroksit 190
3.9.4.2. TS.As.4.2 (**13**) = 3,4-dihidroksi benzaldehit 199
3.9.4.3. TS.As.4.3 (**14**) = 4-(3,4-Dihidroksifenil)-3-büten-2-on 207
3.9.4.4. TS.As.4.4 (**15**) = 4-(3,4-Dihidroksifenil)-3-büten-2-on 215
3.9.4.5. TS.As.4.5 (**16**) = *trans* sinnamik asit 218
3.9.4.6. TS.As.4G.6 (**17**) = Ergesterol peroksit 226
3.9.4.7. TS.As.4.7 (**18**) = Tetradekanoik asit 228
3.9.5. TS.As.7 biyoaktif fraksiyonundan saf maddelerin elde edilmesi 231
3.9.6. TS.As.7 biyoaktif fraksiyonundan elde edilen saf maddelerin yapı tayin 232
3.9.6.1. TS.As.7.1 (**19**) = Serevisterol 232
3.9.6.2. TS.As.7.2 (**20**) = 5α,9α-epoksi ergosta-7,22-dien 3β,6β - diol 241
3.9.7. TS.As.8 biyoaktif fraksiyonundan saf maddelerin elde edilmesi 249
3.9.8. TS.As.8 biyoaktif fraksiyonundan elde edilen saf maddelerin yapı tayin 250
3.9.8.1. TS.As.8.1 (**21**) = *N*-[3-hidroksi, 9-metil-1-glukopiranozil,; aykosa-4,8-dienil]-2-hidroksi hekzadesenamit 250
3.10. *I. geotropa*'nın Aseton Ekstresinden Madde İzolasyon Çalışmaları 259
3.10.1. *I. geotropa*'nın aseton ekstresinin fraksiyonlandırılması 259
3.10.2. *I. geotropa*'nın aseton ekstresinin fraksiyonlarının sitotoksik aktivi 260
3.11. *I. geotropa*'nın aseton ekstresinin biyoaktif fraksiyonlarından maddelerin saflaştırılması 271
3.11.1. IG.As.3 biyoaktif fraksiyonunun alt fraksiyonlara ayrılması 271
3.11.2. IG.As.3 biyoaktif fraksiyonundan elde edilen saf madd.yapı tayini 274
3.11.2.1. IG.As.3.1 (**22**) = Ergesterol peroksit 274
3.11.2.2. IG.As.3.2 (**23**) = Ergesterol peroksit 276
3.11.2.3. IG.As.3.3 (**24**) = Ergosta-5,22-dien-il-monokosanoat 278
3.11.2.4. IG.As.3.4 (**25**) = Ergosta-5,22-dien 3β-ol-oktanat 288
3.11.2.5. IG.As.3.5 (**26**) = Ergosta-4,6,8(14)-22-tetraen-3-on 293
3.11.2.6. IG.As.3.6 (**27**) = Ergosta-4,6,8(14)-22-tetraen-3-on 297
3.11.2.7. IG.As.3.7 (**28**) = Ergosta-5,22-dien 3β-ol 305
3.11.2.8. IG.As.3.8 (**29**) = Urasil 308

3.11.2.9. IG.As.3.9 (**30**) = Oleik asit 311
3.11.2.10. IG.As.3.10 (**31**) = Oleik asit 315
3.11.2.11. IG.As.3.11 (**32**) = Miristik asit 317
3.11.2.12. IG.As.3.12 (**33**) = Ergesterol peroksit 320
3.11.2.13. IG.As.3.13 (**34**) = 2,3-dihidroksipropil -1-oleat 321
3.11.3. IG.As.4 biyoaktif fraksiyonunun alt fraksiyonlara ayrılması 329
3.11.4. IG.As.4 biyoaktif fraksiyonunun elde edilen saf maddelerin yapı tayini 331
3.11.4.1. IG.As.4.1 ve IG.As.4. 2 (**35**) = 5*α*,6*α*-epoksi ergosta-7,22-dien, 3*β*-ol 331
3.11.4.2. IG.As.4.3 ve IG.As.4.4 (**36**) = Serevisterol 341
3.12. *I. geotropa* ve *T. scalpturatum*'dan Elde Edilen; Saf Maddelerin Sitotoksik Aktivite; Test Sonuçları 350
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 361
5. KAYNAKLAR 369
6. ÖZGEÇMİŞ 413

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Terpenlerin sınıflandırılması 24

Çizelge 1.2. Tetrasiklik triterpenlerin yapısı 27

Çizelge 2.1. *Infundibulicybe geotropa* ve *Tricholoma scalpturatum* mantarlarının kuru miktarları 38

Çizelge 2.2. Mantar türlerinin ekstre kodları 39

Çizelge 2.3. Apoptoz ilişkili genlerin primer dizileri 50

Çizelge 2.4. Timidin fosforilaz inhibisyon aktivitesi çalışma çizelgesi 55

Çizelge 2.5. Preparatif Gradient HPLC cihazı analiz şartları 58

Çizelge 2.6. GC-MS sililleme analiz şartları 60

Çizelge 3.1. *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* ekstrelerinin kodları ve verimleri 62

Çizelge 3.2. *T. scalpturatum* mantarı ekstrelerinin 24 saatlik uygulama sonrasında hücre canlılığı üzerine etkisi ve EC_{50} konsantrasyonları 63

Çizelge 3.3. *I. geotropa* mantarı ekstrelerinin 24 saatlik uygulama sonrasında hücre canlılığı üzerine etkisi ve EC_{50} konsantrasyonları 67

Çizelge 3.4. *I. geotropa* ve *T. scalpturatum* mantarının ekstrelerinin timidin fosforilaz inhibisyon aktivite sonuçları 92

Çizelge 3.5. *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* mantarı ekstrelerinin β-karoten renk açılım yöntemi aktivite sonuçları 93

Çizelge 3.6. *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* mantarı ekstrelerinin DPPH serbest radikal giderim aktivite sonuçları 94

Çizelge 3.7. *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* mantarı ekstrelerinin ABTS katyon radikal giderimi aktivite sonuçları 94

Çizelge 3.8. *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* mantarı ekstrelerinin Cu (II) indirgeme kapasitesi aktivite sonuçları 95

Çizelge 3.9. *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* mantarı ekstrelerinin antikolinesteraz aktivite sonuçları 96

Çizelge 3.10. *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* mantarı ekstrelerinin antidiyabetik aktivite sonuçları 98

Çizelge 3.11. *T. scalpturatum* aseton ekstrelerinin; miktarları; ve verimleri 99

Çizelge 3.12. *T. scalpturatum* mantarının aseton ekstresinin (TS.As) fraksiyonlarının sitotoksik aktiviteleri 100

Çizelge 3.13. TS.As.3 biyoaktif fraksiyonunun miktarları ve verimleri 113

Çizelge 3.14. TS.As.3.1 (**1**)'in NMR spektral değerleri 117

Çizelge 3.15. TS.As.3.2 (**2**)'nin NMR spektral değerleri 124

Çizelge 3.16. TS.As.3.3 (**3**)'ün NMR spektral değerleri 127
Çizelge 3.17. TS.As.3.4 (**4**)'ün NMR spektral değerleri 135
Çizelge 3.18. TS.As.3.5 (**5**)'in NMR spektral değerleri 144
Çizelge 3.19. TS.As.3.6 (**6**)'nın NMR spektral değerleri 154
Çizelge 3.20. TS.As.3.7 (**7**)'nin NMR spektral değerleri 159
Çizelge 3.21. TS.As.3.8 (**8**)'in NMR spektral değerleri 163
Çizelge 3.22. TS.As.3.9 (**9**)'un NMR spektral değerleri 167
Çizelge 3.23. TS.As.3.10 (**10**)'nun NMR spektral değerleri 176
Çizelge 3.24. TS.As.3.11 (**11**)'in NMR spektral değerleri 180
Çizelge 3.25. TS.As.4.1 (**12**)'in NMR spektral değerleri 192
Çizelge 3.26. TS.As.4.2 (**13**)'nin NMR spektral değerleri 200
Çizelge 3.27. TS.As.4.3 (**14**)'ün NMR spektral değerleri 208
Çizelge 3.28. TS.As.4.4 (**15**)'ün NMR spektral değerleri 216
Çizelge 3.29. TS.As.4.5 (**16**)'in NMR spektral değerleri 219
Çizelge 3.30. TS.As.4G.6 (**17**)'nın NMR spektral değerleri 227
Çizelge 3.31. TS.As.4.7 (**18**)'nin NMR spektral değerleri 228
Çizelge 3.32. TS.As.7.1 (**19**)'in NMR spektral değerleri 234
Çizelge 3.33. TS.As.7.2 (**20**)'nin NMR spektral değerleri 242
Çizelge 3.34. TS.As.8.1 (**21**)'in NMR spektral değerleri 252
Çizelge 3.35. *I. geotropa* aseton ekstrelerinin miktarları ve verimleri 259
Çizelge 3.36. *I. geotropa*'nın aseton ekstresinin fraksiyonlarının sitoto aktivit.. 260
Çizelge 3.37. IG.As.3.1 (**22**)'in NMR spektral değerleri 275
Çizelge 3.38. IG.As.3.2 (**23**)'nin NMR spektral değerleri 277
Çizelge 3.39. IG.As.3.3 (**24**)'ün NMR spektral değerleri 280
Çizelge 3.40. IG.As.3.4 (**25**)'ün NMR spektral değerleri 289
Çizelge 3.41. IG.As.3.5 (**26**)'in NMR spektral değerleri 294
Çizelge 3.42. IG.As.3.6 (**27**)'nın NMR spektral değerleri 298
Çizelge 3.43. IG.As.3.7 (**28**)'nin NMR spektral değerleri 306
Çizelge 3.44. IG.As.3.8 (**29**)'in NMR spektral değerleri 308
Çizelge 3. 45. IG.As.3.9 (**30**)'un NMR spektral değerleri 312
Çizelge 3.46. IG.As.3.10 (**31**)'nun NMR spektral değerleri 315
Çizelge 3.47. IG.As.3.11 (**32**)'in NMR spektral değerleri 317
Çizelge 3.48. IG.As.3.13 (**34**)'ün NMR spektral değerleri 322
Çizelge 3.49. IG.As.4.1 ve 2 (**35**)'nin NMR spektral değerleri..... 333

Çizelge 3.50. IG.As.4.3 ve 4 (**36**)'ün NMR spektral değerleri..... 343

Çizelge 4.1. Tez çalışmasında *Tricholoma scalpturatum* ve *Infundibulicybe geotropa* mantarlarının aseton ekstresinden izole edilen bileşiklerin yapısı, adları ve sitotoksik aktivitelerinin sonuçları …….364

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. *T. scalpturatum* (Fr.) Quél 7

Şekil 1.2. *T. scalpturatum* (Fr.) Quél sporları 7

Şekil 1.3. *I. geotropa* (Bull.) Harmaja 8

Şekil 1.4. *I. geotropa* (Bull.) Harmaja sporları 9

Şekil 1.5. Terpenlerin biyosentezi 26

Şekil 1.6. Steroidlerin iskelet yapısı 28

Şekil 1.7. Ergosterol yapısı 30

Şekil 1.8. Ergosterol peroksit yapısı 30

Şekil 1.9. Steroid glikozit yapısı 31

Şekil 2.1. *I. geotropa* ve *T. scalpturatum* mantarlarının ekstraksiyon şeması 47

Şekil 2.2. Timidin fosforilaz (TP) enzimi, inorganik fosfat varlığında timidinin timine ve 2-deoksi-a-D-riboz-1-fosfata geri dönüşümlü fosforolizini katalize etmesi 55

Şekil 2.3. 200 µg/mL konsantrasyondaki örnek ekstresinin timidin inhibisyon aktivitesi kromatogramı 56

Şekil 3.1. *T. scalpturatum* mantarı ekstrelerinin insan embriyonik böbrek (HEK293) hücre canlılığı üzerine etkileri 64

Şekil 3.2. *T. scalpturatum* mantarı ekstrelerinin insan akciğer kanseri (H1299) hücre canlılığı üzerine etkileri 64

Şekil 3.3. *T. scalpturatum mantarı* ekstrelerinin insan prostat kanseri (LnCap) hücre canlılığı üzerine etkileri 65

Şekil 3.4. *T. scalpturatum* mantarı ekstrelerinin insan kolon kanseri (Caco-2) hücre canlılığı üzerine etkileri 65

Şekil 3.5. *T. scalpturatum* mantarı ekstrelerinin insan meme kanseri (MCF-7) hücre canlılığı üzerine etkileri 66

Şekil 3.6. *I. geotropa mantarı* ekstrelerinin insan embriyonik böbrek (HEK293) hücre canlılığı üzerine etkileri 67

Şekil 3.7. *I. geotropa* mantarı ekstrelerinin insan akciğer kanseri (H1299) hücre canlılığı üzerine etkileri 68

Şekil 3.8. *I. geotropa* mantarı ekstrelerinin insan prostat kanseri (LnCap) hücre canlılığı üzerine etkileri 68

Şekil 3.9. *I. geotropa* mantarı ekstrelerinin insan kolon kanseri (Caco-2) hücre canlılığı üzerine etkileri 69

Şekil 3.10. *I. geotropa* mantarı ekstrelerinin insan meme kanseri (MCF-7) hücre canlılığı üzerine etkileri 69

Şekil 3.11. Paklitaksel (10 mg/20 mL)'in farklı konsantrasyonlarda meme kanseri (MCF-7), insan akciğer (H1299), prostat (LnCap) ve kolon (Caco-2) ve hücre canlılığı üzerine etkileri 70

Şekil 3.12. Mantar ekstrelerinin insan akciğer (H1299) hücre hattında canlı, ölü ve apoptotik yüzde grafiği 71

Şekil 3.13. Mantar ekstrelerinin insan prostat (LnCap) hücre hattında canlı, ölü ve apoptotik yüzde grafiği 72

Şekil 3.14. Mantar ekstrelerinin insan kolon (Caco-2) hücre hattında canlı, ölü ve apoptotik yüzde grafiği 72

Şekil 3.15. Mantar ekstrelerinin insan meme (MCF-7) hücre hattında canlı, ölü ve apoptotik yüzde grafiği 73

Şekil 3.16. Hücre hatlarından elde edilen Toplam RNA'nın %1'lik agaroz jel elektroforezi. 74

Şekil 3.17. Hücre hatlarından elde edilen Toplam RNA'nın %1'lik agaroz jel elektroforezi..... 75

Şekil 3.18. *T. scalpturatum* petrol eteri ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında LnCap hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi 76

Şekil 3.19. *T. scalpturatum* aseton ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında LnCap hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi. 76

Şekil 3.20. *T. scalpturatum* aseton ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında H1299 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi 77

Şekil 3.21. *T. scalpturatum* aseton ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında Caco-2 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi 77

Şekil 3.22. *I. geotropa* petrol eteri ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında H1299 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi 78

Şekil 3.23. *I. geotropa* aseton ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında H1299 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi 78

Şekil 3.24. *I. geotropa* petrol eteri ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında LnCap hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi 79

Şekil 3.25. *I. geotropa* aseton ekstresinin EC_{50} dozu uygulanması sonrasında LnCap hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi 79

Şekil 3.26. *I. geotropa* petrol eteri ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında Caco-2 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi 80

Şekil 3.27. *I. geotropa* aseton ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında Caco-2 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi 80

Şekil 3.28. *I. geotropa* petrol eteri ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında MCF-7 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi 81

Şekil 3.29. *I. geotropa* aseton ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında MCF-7 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi 81

Şekil 3.30. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu; uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında BCL-2 protein seviyelerine etkisi 82

Şekil 3.31. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu; uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında BAX protein seviyelerine etkisi 82

Şekil 3.32. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu; uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında Kaspaz 3 protein seviyelerine etkisi 83

Şekil 3.33. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu; uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında Kaspaz 8 protein seviyelerine etkisi 83

Şekil 3.34. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu; uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında Kaspaz 9 protein seviyelerine etkisi 84

Şekil 3.35. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu; uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında BCL-2 protein seviyelerine etkisi 84

Şekil 3.36. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu; uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında BAX protein seviyelerine etkisi 85

Şekil 3.37. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu; uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında Kaspaz 3 protein seviyelerine etkisi 85

Şekil 3.38. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu; uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında Kaspaz 8 protein seviyelerine etkisi 86

Şekil 3.39. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu; uygulamasının MCF-7 ve H1299 ve hücre hattında Kaspaz 9 protein seviyelerine etkisi 86

Şekil 3.40. Mantar ekstrelerinin; EC_{50} dozu uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında GAPDH protein seviyesine etkisi. 87

Şekil 3.41. Mantar ekstrelerinin; EC_{50} dozu uygulamasının LnCap ve Caco-2 *hücre hattı*nda apoptoz yolaklarında görev alan BCL-2 protein seviyesine etkisi 87

Şekil 3.42. Mantar ekstrelerinin; EC_{50} dozu uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan BAX protein seviyesine .. 88

Şekil 3.43. Mantar ekstrelerinin; EC_{50} dozu uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3 protein seviyesine etkisi 88

Şekil 3.44. Mantar ekstrelerinin; EC_{50} dozu uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 8 protein seviyesine etkisi 88

Şekil 3.45. Mantar ekstrelerinin; EC_{50} dozu uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 9 protein seviyesine etkisi 88

Şekil 3.46. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında GAPDH protein seviyesine etkisi. 89

Şekil 3.47. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında apoptoz; yolaklarında görev alan BCL-2 protein seviyesine etkisi. 89

Şekil 3.48. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında apoptoz; yolaklarında görev alan BAX protein seviyesine etkisi 89

Şekil 3.49. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında apoptoz; yolaklarında görev alan Kaspaz 3 protein seviyesine etkisi. 90

Şekil 3.50. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında apoptoz; yolaklarında görev alan Kaspaz 8 protein seviyesine etkisi. 90

Şekil 3.51. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında apoptoz; yolaklarında görev alan Kaspaz 9 protein seviyesine etkisi 90

Şekil 3.52. Apoptozun içsel ve dışsal yolakları 91

Şekil 3.53. *T. scalpturatum* mantarının aseton ekstresinin (TS.As) fraksiyonlarının sitotoksik aktiviteleri TS.As.1 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri 101

Şekil 3.54. TS.As.2 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri 102

Şekil 3.55. TS.As.3 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri 103

Şekil 3.56. TS.As.4 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri 104

Şekil 3.57. TS.As.5 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri 105

Şekil 3.58. TS.As.7 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri 106

Şekil 3.59. TS.As.8 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri 107

Şekil 3.60. TS.As.9 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri 108

Şekil 3.61. TS.As.10 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki Etkileri 109

Şekil 3.62. TS.As.11 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri 110

Şekil 3.63. TS.As.12 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki Etkileri 111
Şekil 3.64. TS.As.3 alt fraksiyonundan saf maddelerinin (1-11) izolasyonu 115
Şekil 3.65. TS.As.3.1 (**1**)'in yapısı 116
Şekil 3.66. TS.As.3.1 (**1**)'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)..... 118
Şekil 3.67. TS.As.3.1 (**1**)'in APT spektrumu ($CDCl_3$, 125 MHz)..... 119
Şekil 3.68. TS.As.3.1 (**1**)'in HMBC spektrumu 120
Şekil 3.69. TS.As.3.1 (**1**)'in kütle spektrumu 121
Şekil 3.70. TS.As.3.1 (**1**) 'nin GC-MS kromatogramı ve kütle spektrumu..... 122
Şekil 3.71. TS.As.3.2 (**2**)'nin yapısı 123
Şekil 3.72. TS.As.3.1 (**1**) ile TS.As.3.2 (**2**) ($CDCl_3$, 500 MHz) ^{1}H-NMR spektrumlarının karşılaştırılması 125
Şekil 3.73. TS.As.3.3 (**3**)'ün yapısı 126
Şekil 3.74. TS.As.3.3 (**3**)'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 600 MHz)..... 128
Şekil 3.75. TS.As.3.3 (**3**)'ün APT spektrumu ($CDCl_3$, 150 MHz)..... 129
Şekil 3.76. TS.As.3.3 (**3**)'ün COSY spektrumu 130
Şekil 3. 77. TS.As.3.3 (**3**)'ün HSQC spektrumu 131
Şekil 3.78. TS.As.3.3 (**3**)'ün HMBC spektrumu 132
Şekil 3.79. TS.As.3.3 (**3**)'ün kütle spektrumu 133
Şekil 3.80. TS.As.3.4 (**4**)'ün yapısı 134
Şekil 3. 81. TS.As.3.4 (**4**)'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 600 MHz)..... 136
Şekil 3 82. TS.As.3.4 (**4**)'ün APT spektrumu ($CDCl_3$, 150 MHz)..... 137
Şekil 3.83. TS.As.3.4 (**4**)'ün COSY spektrumu 138
Şekil 3.84. TS.As.3.4 (**4**)'ün HSQC spektrumu 139
Şekil 3.85. TS.As.3.4 (**4**)'ün HMBC spektrumu 140
Şekil 3.86. TS.As.3.4 (**4**)'ün kütle spektrumu 141
Şekil 3.87. TS.As.3.5 (**5**)'in yapısı 142
Şekil 3.88. TS.As.3.5 (**5**)'in ^{1}H-NMR spektrumu (CD_3OD+$CDCl_3$, 600 MHz) 145
Şekil 3.89. TS.As.3.5 (**5**)'in ^{13}C-NMR spektrumu (CD_3OD+$CDCl_3$, 150 MHz)146
Şekil 3.90. TS.As.3.5 (**5**)'in DEPT135 spektrumu 147
Şekil 3.91. TS.As.3.5 (**5**)'in COSY spektrumu 148
Şekil 3.92. TS.As.3.5 (**5**)'in HSQC spektrumu 149
Şekil 3.93. TS.As.3.5 (**5**)'in HMBC spektrumu 150
Şekil 3. 94. TS.As.3.5 (**5**)'in ESI^{+}-TOF-kütle spektrumu 151
Şekil 3.95. TS.As.3.5 (**5**)'in kütle spektrumu (Docosanamide)..... 152

Şekil 3.96. TS.As.3.6 (**6**)'nın yapısı 153
Şekil 3.97. TS.As.3.6 (**6**)'nın ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)..... 155
Şekil 3.98. TS.As.3.6 (**6**)'nın GC-MS kromatogramı (palmitik asit= 27,99.dk) ve kütle spektrumu 156
Şekil 3.99. TS.As.3.6 (**6**)'nın GC-MS kromatogramında (oleik asit= 31,24.dk) ve kütle spektrumu 157
Şekil 3.100. TS.As.3.7 (**7**)'nin yapısı 158
Şekil 3.101. TS.As.3.7 (**7**)'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)..... 160
Şekil 3.102. S.As.3.7 (**7**)'nin GC-MS kromatogramı (Oleik asit= 31,48.dk) ve kütle spektrumu 161
Şekil 3.103. TS.As.3.8 (**8**)'in yapısı 162
Şekil 3.104. TS.As.3.8 (**8**)'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)..... 164
Şekil 3.105. TS.As.3.8 (**8**)'in kütle spektrumu 165
Şekil 3.106. TS.As.3.9.(**9**)'un yapısı 166
Şekil 3.107. TS.As.3.9.(**9**)'un ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)..... 168
Şekil 3.108. TS.As.3.9.(**9**)'un ^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 125 MHz)..... 169
Şekil 3.109. TS.As.3.9.(**9**)'un DEPT spektrumu 170
Şekil 3.110. TS.As.3.9.(**9**)'un COSY spektrumu 171
Şekil 3.111. TS.As.3.9.(**9**)'un HSQC spektrumu 172
Şekil 3.112. TS.As.3.9.(**9**)'un HMBC spektrumu 173
Şekil 3.113. TS.As.3.9.(**9**)'un kütle spektrumu 174
Şekil 3.114. TS.As.3.10 (**10**)'un yapısı 175
Şekil 3.115. TS.As.3.9 (**9**) ile TS.As.3.10 (**10**)'nun ^{1}H-NMR spektrumlarının karşılaştırılması ($CDCl_3$, 500 MHz) 177
Şekil 3.116. TS.As.3.11 (**11**)'in yapısı 178
Şekil 3.117. TS.As.3.11 (**11**)'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 600 MHz)..... 181
Şekil 3.118. TS.As.3.11 (**11**)'in APT spektrumu ($CDCl_3$, 150 MHz)..... 182
Şekil 3.119. TS.As.3.11 (**11**)'in COSY spektrumu 183
Şekil 3.120. TS.As.3.11 (**11**)'in HSQC spektrumu 184
Şekil 3.121. TS.As.3.11 (**11**)'in HMBC spektrumu 185
Şekil 3.122. TS.As.3.11 (**11**)'in kütle spektrumu 186
Şekil 3.123. TS.As.3.11 (**11**)'in hidrolizinden elde edilen GC-MS kromatogramı ve kütle spektrumu 187
Şekil 3.124. TS.As.4 alt fraksiyonundan saf maddelerinin (**1**-**7**) izolasyonu 189
Şekil 3.125. TS.As.4.1 (**12**)'in yapısı 190
Şekil 3.126. TS.As.4.1 (**12**)'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 600 MHz)..... 193

Şekil 3.127. TS.As.4.1 (**12**)'in APT spektrumu ($CDCl_3$, 150 MHz) 194
Şekil 3.128. TS.As.4.1 (**12**)'in COSY spektrumu 195
Şekil 3.129. TS.As.4.1 (**12**)'in HSQC spektrumu 196
Şekil 3.130. TS.As.4.1 (**12**)'in HMBC spektrumu 197
Şekil 3.131. TS.As.4.1 (**12**)'in ESI^+-TOF kütle spektrumu 198
Şekil 3.132. TS.As.4.2 (**13**)'nin yapısı 199
Şekil 3.133. TS.As.4.2 (**13**)'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 600 MHz) 201
Şekil 3.134. TS.As.4.2 (**13**)'nin ^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 150 MHz) 202
Şekil 3.135. TS.As.4.2 (**13**)'nin COSY spektrumu 203
Şekil 3.136. TS.As.4.2 (**13**)'nin HSQC spektrumu 204
Şekil 3.137. TS.As.4.2 (**13**)'nin HMBC spektrumu 205
Şekil 3.138. TS.As.4.2 (**13**)'nin kütle spektrumu 206
Şekil 3.139. TS.As.4.3 (**14**)'ün yapısı 207
Şekil 3.140. TS.As.4.3 (**14**)'ün ^{1}H-NMR spektrumu (CD_3OD, 600 MHz) 209
Şekil 3.141. TS.As.4.3 (**14**)'ün ^{13}C-NMR spektrumu (CD_3OD, 150 MHz) 210
Şekil 3.142. TS.As.4.3 (**14**)'ün COSY spektrumu 211
Şekil 3.143. TS.As.4.3 (**14**)'ün HSQC spektrumu 212
Şekil 3.144. TS.As.4.3 (**14**)'ün HMBC spektrumu 213
Şekil 3.145. TS.As.4.3 (**14**)'ün ESI^--TOF kütle spektrumu 214
Şekil 3.146. TS.As.4.4 (**15**)'ün yapısı 215
Şekil 3.147. TS.As.4.3 (**14**) ve TS.As.4.4 (**15**)'in ^{1}H-NMR spektrumlarının karşılaştırılması (CD_3OD, 600 MHz) 217
Şekil 3.148. TS.As.4.5 (**16**)'in yapısı 218
Şekil 3.149. TS.As.4.5 (**16**)'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz) 220
Şekil 3.150. TS.As.4.5 (**16**)'in APT spektrumu ($CDCl_3$, 125 MHz) 221
Şekil 3.151. TS.As.4.5 (**16**)'in COSY spektrumu 222
Şekil 3.152. TS.As.4.5 (**16**)'in HSQC spektrumu 223
Şekil 3.153. TS.As.4.5 (**16**)'in HMBC spektrumu 224
Şekil 3.154. TS.As.4.5 (**16**)'in ESI^--TOF kütle spektrumu 225
Şekil 3.155. TS.As.4G.6 (**17**)'nın yapısı 226
Şekil 3.156. TS.As.4.7 (**18**)'nin yapısı 228
Şekil 3.157. TS.As.4.7 (**18**)'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz) 229
Şekil 3.158. TS.As.4.7 (**18**)'nin silillenmiş GC-MS kromatogramıvekütle spekt 230
Şekil 3.159. TS.As.7 alt fraksiyonundan saf bileşiklerin (**1**-**2**) izolasyon şeması 231
Şekil 3.160. TS.As.7.1 (**19**)'in yapısı 232

Şekil 3.161. TS.As.7.1 (**19**)'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$+CD_3OD, 500 MHz)..... 235
Şekil 3.162. TS.As.7.1 (**19**)'in ^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$+CD_3OD, 125 MHz)..... 236
Şekil 3.163. TS.As.7.1 (**19**)'in COSY spektrumu 237
Şekil 3.164. TS.As.7.1 (**19**)'in HSQC spektrumu 238
Şekil 3.165. TS.As.7.1 (**19**)'in HMBC spektrumu 239
Şekil 3.166. TS.As.7.1 (**19**)'in ESI^+-TOF kütle spektrumu..... 240
Şekil 3.167. TS.As.7.2 (**20**)'nin yapısı 241
Şekil 3.168. TS.As.7.2 (**20**)'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$+CD_3OD, 500 MHz)..... 243
Şekil 3.169. TS.As.7.2 (**20**)'nin ^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$+CD_3OD, 125 MHz)..... 244
Şekil 3.170. TS.As.7.2 (**20**)'nin COSY spektrumu 245
Şekil 3.171. TS.As.7.2 (**20**)'nin HSQC spektrumu 246
Şekil 3.172. TS.As.7.2 (**20**)'nin HMBC spektrumu 247
Şekil 3.173. TS.As.7.2 (**20**)'nin ESI^+-TOF kütle spektrumu..... 248
Şekil 3.174. TS.As.8 alt fraksiyonundan saf bileşiğinin (**1**) izolasyon şeması..... 249
Şekil 3.175. TS.As.8.1 (**21**)'in yapısı 250
Şekil 3.176. TS.As.8.1 (**21**)'in ^{1}H-NMR; spektrumu ($CDCl_3$+CD_3OD, 500 MHz)..... 253
Şekil 3.177. TS.As.8.1 (**21**)'in APT spektrumu ($CDCl_3$+CD_3OD, 125 MHz)..... 254
Şekil 3.178. TS.As.8.1 (**21**)'in COSY spektrumu 255
Şekil 3.179. TS.As.8.1 (**21**)'in HSQC spektrumu 256
Şekil 3.180. TS.As.8.1 (**21**)'in HMBC spektrumu 257
Şekil 3.181. TS.As.8.1 (**21**)'in ESI^+-TOF kütle spektrumu..... 258
Şekil 3.182. IG.As.1 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri 261
Şekil 3.183. IG.As.2 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri 262
Şekil 3.184. IG.As.3 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri 263
Şekil 3.185. IG.As.4 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri 264
Şekil 3.186. IG.As.5 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri 265
Şekil 3.187. IG.As.6 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri 266

Şekil 3.188. IG.As.7 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri 267
Şekil 3.189. IG.As.8 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri 268
Şekil 3.190. IG.As.9 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri 269
Şekil 3.191. IG.As.10 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri 270
Şekil 3.192. IG.As.3 alt fraksiyonundan saf bileşiklerin (**1**-**14**) izolasyonu şeması 273
Şekil 3.193. IG.As.3.1 (**22**)'in yapısı 274
Şekil 3.194. IG.As.3.2 (**23**)'nin yapısı 276
Şekil 3.195. IG.As.3.3 (**24**)'ün yapısı 278
Şekil 3.196. IG.As.3.3 (**24**)'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 600 MHz) 281
Şekil 3.197. IG.As.3.3 (**24**)'ün ^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 150 MHz) 282
Şekil 3.198. IG.As.3.3 (**24**)'ün COSY spektrumu 283
Şekil 3.199. IG.As.3.3 (**24**)'ün HSQC spektrumu 284
Şekil 3.200. IG.As.3.3 (**24**)'ün HMBC spektrumu 285
Şekil 3.201. IG.As.3.3 (**24**)'ün ESI^{+}-TOF kütle spektrumu 286
Şekil 3.202. IG.As.3.3 (**24**)'ün hidrolizinin silillenmiş GC-MS kromatogramı ve kütle spektrumu 287
Şekil 3.203. IG.As.3.4 (**25**)'ün yapısı 288
Şekil 3.204. IG.As.3.4 (**25**)'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz) 290
Şekil 3.205. IG.As.3.4 (**25**)'ün ^{1}H-NMR spektrumu (0-1,5 ppm aralığı) 291
Şekil 3.206. IG.As.3.4 (**25**)'ün hidrolizinin silillenmiş GC-MS kromatogramı ve kütle spektrumu 292
Şekil 3.207. IG.As.3.5 (**26**)'in yapısı 293
Şekil 3.208. IG.As.3.5 (**26**) ve IG.As.3.6 (**27**)'nin ^{1}H-NMR spektrumlarının karşılaştırılması 295
Şekil 3.209. IG.As.3.5 (**26**) ve IG.As.3.6 (**27**)'nin ^{1}H-NMR spektrumlarının karşılaştırılması (0-2,5 ppm arası) 296
Şekil 3.210. IG.As.3.6 (**27**)'nın yapısı 297
Şekil 3.211. IG.As.3.6 (**27**)'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz) 299
Şekil 3.212. IG.As.3.6 (**27**)'nin APT spektrumu ($CDCl_3$, 125 MHz) 300
Şekil 3.213. IG.As.3.6 (**27**)'nin COSY spektrumu 301
Şekil 3.214. IG.As.3.6 (**27**)'nin HSQC spektrumu 302
Şekil 3.215. IG.As.3.6 (**27**)'nin HMBC spektrumu 303

Şekil 3.216. IG.As.3.6 (**27**)'nin ESI^+-TOF kütle spektrumu 304
Şekil 3.217. IG.As.3.7 (**28**)'nin yapısı 305
Şekil 3.218. IG.As.3.7 (**28**)'nin ^1H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz) 307
Şekil 3.219. IG.As.3.8 (**29**)'in yapısı 308
Şekil 3.220. IG.As.3.8 (**29**)'in ^1H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz) 309
Şekil 3.221. IG.As.3.8 (**29**)'in ESI^--TOF kütle spektrumu 310
Şekil 3.222. IG.As.3.9 (**30**)'un yapısı 311
Şekil 3.223. IG.As.3.9 (**30**)'un ^1H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz) 313
Şekil 3.224. IG.As.3.9 (**30**)'un GC-MS kromatogramı (Oleik asit= 31,48.dk) ve kütle spektrumu 314
Şekil 3.225. IG.As.3.10 (**31**)'nun yapısı 315
Şekil 3.226. IG.As.3.9 (**30**) ve IG.As.3.10 (**31**)'nun ^1H-NMR spektrumlarının karşılaştırılması 316
Şekil 3.227. IG.As.3.11 (**32**)'in yapısı 317
Şekil 3.228. IG.As.3.11 (**32**)'in ^1H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz) 318
Şekil 3.229. IG.As.3.11 (**32**)'in hidrolizinin silillenmiş GC-MS kromatogramı ve kütle spektrumu 319
Şekil 3.230. IG.As.3.12 (**33**)'nin yapısı 320
Şekil 3.231. IG.As.3.13 (**34**)'ün yapısı 321
Şekil 3.232. IG.As.3.13 (**34**)'ün ^1H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz) 323
Şekil 3.233. IG.As.3.13 (**34**)'ün ^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 125 MHz) 324
Şekil 3.234. IG.As.3.13 (**34**)'ün COSY spektrumu 325
Şekil 3.235. IG.As.3.13 (**34**)'ün HSQC spektrumu 326
Şekil 3.236. IG.As.3.13 (**34**)'ün HMBC spektrumu 327
Şekil 3.237. IG.As.3.13 (**34**)'ün ESI^+-TOF kütle spektrumu 328
Şekil 3.238. IG.As.4 alt fraksiyonundan saf bileşiklerin (**1**-**4**) izolasyonu şeması 330
Şekil 3.239. IG.As.4.1 ve IG.As.4.2 (**35**)'nin yapısı 331
Şekil 3.240. IG.As.4.1 ve 2 (**35**)'nin ^1H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz) ... 334
Şekil 3.241. IG.As.4.1 ve 2 (**35**)'nin BB spektrumu ($CDCl_3$, 125 MHz) 335
Şekil 3.242. IG.As.4.1 ve 2 (**35**)'nin DEPT135 spektrumu 336
Şekil 3.243. IG.As.4.1 ve 2 (**35**)'nin COSY spektrumu 337
Şekil 3.244. IG.As.4.1 ve 2 (**35**)'nin HSQC spektrumu 338
Şekil 3.245. IG.As.4.1 ve 2 (**35**)'nin HMBC spektrumu 339
Şekil 3.246. IG.As.4.1 ve IG.As.4.2 (**35**)'nin ESI^+-TOF kütle spektrumu 340
Şekil 3.247. IG.As.4.3 ve 4 (**36**)'ün yapısı 341

Şekil 3.248. IG.As.4.3 ve 4 (**36**)'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)..... 344
Şekil 3.249. IG.As.4.3 ve 4 (**36**)'ün APT spektrumu ($CDCl_3$, 125 MHz)..... 345
Şekil 3.250. IG.As.4.3 ve 4 (**36**)'ün COSY spektrumu..... 346
Şekil 3.251. IG.As.4.3 ve 4 (**36**)'ün HSQC spektrumu..... 347
Şekil 3.252. IG.As.4.3 ve 4 (**36**)'ün HMBC spektrumu..... 348
Şekil 3.253. IG.As.4.3-4 (**36**)'ün ESI^{+}-TOF kütle spektrumu..... 349
Şekil 3.254. TS.As.3.1 (**1**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 350
Şekil 3.255. TS.As.3.3 (**3**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 351
Şekil 3.256. TS.As.3.5 (**5**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 351
Şekil 3.257. TS.As.3.6 (**6**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 352
Şekil 3.258. TS.As.3.7 (**7**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 352
Şekil 3.259. TS.As.3.8 (**8**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 353
Şekil 3.260. TS.As.3.9 (**9**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 353
Şekil 3.261. TS.As.3.11 (**11**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 354
Şekil 3.262. TS.As.4.2 (**13**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 354
Şekil 3.263. TS.As.4.3 (**14**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 355
Şekil 3.264. TS.As.4.5 (**16**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 355
Şekil 3.265. TS.As.7.2 (**20**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 356
Şekil 3. 266. TS.As.8.1 (**21**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 356
Şekil 3. 267. IG.As.3.3 (**24**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 357
Şekil 3. 268. IG.As.3.4 (**25**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 357
Şekil 3. 269. IG.As.3.6 (**27**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 358
Şekil 3. 270. IG.As.3.8 (**29**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 358
Şekil 3. 271. IG.As.3.11 (**32**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 359
Şekil 3. 272. IG.As.3.12 (**33**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 359
Şekil 3. 273. IG.As.3.13 (**34**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 360
Şekil 3. 274. IG.As.4.4 (**36**) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları..... 360

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BTS	2,2-Azinobis (3-etilbenzotrazolin-6-sülfonat)
AChE	Asetilkolinesteraz
APT	Bağlanmış proton testi
ATP	Adenozintrifosfat
APS	Amonyum persülfat
BChE	Bütirilkolinesteraz
BHA	Bütillenmiş hidroksi anisol
BSA	Sığır serum albümini
cDNA	Komplementer DNA
COSY	Korelasyon spektroskopisi
CaCo-2	Kolon Kanseri Hücre hattı
CUPRAC	Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi
Da	Dalton
DAD	Diode array dedektör
DTNB	5,5'- dithiobis (2-nitro-benzoik asit)
DEPT	Polarizasyon transferi ile distorsiyonsuz geliştirme
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
EC_{50}	Hücrelerin %50'sini öldüren etkilin konsantrasyon miktarı
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EI-MS	Elektron impakt kütle spektroskopisi
FDA	A.B.D. Gıda ve İlaç Dairesi
FID	Alev İyonlaştırma Dedekörü
FRAP	Demir (III) indirgeme antioksidan kapasitesi
GAPDH	Gliseraldehit 3-fosfat dehidrojenaz
GC	Gaz Kromatografisi
GC/MS	Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi
HEK293	Böbrek Sağlıklı Hücre Hattına
HMBC	Heteronükleer çoklu bağ korelasyonu
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

HSQC	Heteronükleer tek kuantum korelasyonu
H1299	Akciğer Kanseri Hücre Hattı
IARC	Kanser Araştırma Ajansı
IC_{50}	Etkili inhibisyon konsantrasyonunun yarısı
EC_{50}	Yarı maksimal etkili konsantrasyon
IR	İnfrared spektroskopisi
İTK	İnce tabaka kromatografisi
LnCap	Prostat Kanseri Hücre Hattı
nm	Nanometre
MCF-7	Meme Kanseri Hücre Hattı
MTT	3-(4,5- dimetiltiazoş-2-yl)-2,5-difenil tetrazolium bromid
mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
ESI-TOF-MS	Elektrosprey uçuş zamanlı kütle spektrometrisi
EI-MS	Elektron iyonizasyon kütle spekroskopisi
NO	Nitrik oksit
TOC	α-Tokoferol
TS	*Tricholoma scalpturatum*
TS.PE	*Tricholoma scalpturatum* petrol eteri ekstresi
TS.As	*Tricholoma scalpturatum* aseton ekstresi
IG	*Infundibulicybe geotropa*
IG.PE	*Infundibulicybe geotropa* petrol eteri ekstresi
IG.As	*Infundibulicybe geotropa* aseton ekstresi
ROS	Reaktif oksijen türleri
UV	Ultraviyole
VOC	Uçucu Organik Bileşik
WST-1	Hücre Canlılığı ve Proliferasyon Deneyi

1. GİRİŞ

Mantarlar, belirgin ve gözle görülebilir meyve gövdeleriyle makrofungiler sınıfında yer almakta olup, özellikle Basidiomycota ve Ascomycota'ya ait türlerin meyve gövdeleri "mantar" olarak adlandırılmaktadır. Bu organizmalar, spor üreterek yaşam döngülerini sürdürür; sporların çimlenmesiyle oluşan miselyum, daha sonra primordium olarak adlandırılan yapıları üretir ve bu yapılar, olgunlaşarak yeni bir mantar haline gelir. Bu süreç, mantarların biyolojik döngüsünün temelini oluşturur (Ren vd, 2012; Venditti vd, 2017).

Tarihsel süreçte mantarlar, yalnızca bir besin kaynağı olarak değil, aynı zamanda şifalı özellikleri ile geleneksel tıpta da önemli bir yer edinmiştir. Özellikle Doğu tıbbında geniş bir kullanım geçmişine sahip olan mantarlar, birçok farmasötik preparatta değerli bileşenler olarak yer almaktadır. Mantarların, doğru dozlarda kullanıldığında herhangi bir ciddi yan etki göstermeden sağlık açısından faydalı etkiler sunduğu bilinmektedir (Vibala vd, 2019; De Cianni vd, 2023; Paloi vd, 2023). Dahası, mantarlar, biyoaktif bileşikler açısından zengin bir kaynak oluşturarak modern tıp için keşfedilmemiş büyük bir potansiyel sunmaktadır. Örneğin, antitümör özelliklere sahip bileşiklerin keşfi, mantar metabolitlerinin farmakolojik önemini artırmıştır (Hoshi vd, 2005; Mutlu vd, 2022; Ullah vd, 2022; Kaplaner vd, 2023; Çam vd, 2024).

Dünya üzerinde yaklaşık 140.000 mantar türünün bulunduğu tahmin edilmekte olup, bunların yalnızca %10'u bilimsel olarak tanımlanmıştır (Mattila vd, 2000; Losoya-Sifuentes vd, 2025). Bu çeşitlilik, mantarların biyokimyasal bileşenlerinin incelenmesi açısından önemli fırsatlar sunmaktadır. Mantarlar, %85-95 oranında su içeriğiyle birlikte, karbonhidrat (%35-70), protein (%15-34,7), yağ (<%10), mineral (%6-10,9), nükleik asit (%3-8) ve vitaminler gibi temel besin öğeleri bakımından zengin bir bileşenler bakımından zengindir. Düşük kalori içeriği, yüksek protein oranı, esansiyel amino asitler, doymamış yağ asitleri, mineraller ve vitaminler ile mantarlar, besleyici ve sağlık teşvik edici bir gıda olarak değerlendirilmektedir (Venditti vd, 2017; Zhou vd, 2024).

Son yıllarda, mantarlardan elde edilen sekonder metabolitlerin tedavi edici özellikleri üzerine yapılan çalışmalar artış göstermiştir. Farmakolojik araştırmalar, bu sekonder metabolitlerin antibakteriyel, antiviral, antiinflamatuar, antioksidan, antitümör ve bağışıklık sistemini güçlendirici özelliklere sahip olduğunu ortaya koymuştur (Ullah vd, 2022; Kaplaner vd, 2023).

Tarih boyunca mantarlar hem besin kaynağı hem de tıbbi amaçlarla insan yaşamının birçok alanında önemli bir rol oynamıştır. Beslenme ve tedavi arasındaki sınırları bulanıklaştıran bu çift yönlü kullanım, mantarların yenilebilirlik ve tıbbi özellikler açısından birbirine yakın bir ilişki sergilemesine neden olmuştur. Bu durum, mantarların gıda olarak tüketimi ile tıbbi uygulamaları arasındaki farkın daha az belirgin hale gelmesini sağlamıştır (Mattila vd, 2000; Ren vd, 2012).

*Lentinula edodes (*Shiitake) mantarından elde edilen lentinan, bağışıklık sistemini modüle eden ve tümör büyümesini baskılayan etkileriyle dikkat çeken bir polisakkarit olarak tanımlanmaktadır (Wasser, 2011). Benzer şekilde, *Ganoderma lucidum* mantarından (Reishi) izole edilen triterpenoidler, kanser hücrelerinde programlanmış hücre ölümü (apoptoz) mekanizmasını tetikleyerek antitümör etkiler sergilemektedir (Lindequist vd, 2005). Mantarların farmakolojik özellikleri yalnızca antitümör etkileri ile sınırlı kalmayıp, aynı zamanda antibakteriyel ve antiviral özellikler de göstermektedir. Örneğin, *Penicillium* türlerinden üretilen penisilin, mantar kaynaklı antibiyotiklerin en bilinen örneklerinden biridir (Patel ve Goyal, 2012). Bunun yanı sıra, mantar polisakkaritlerinden türetilen çeşitli bileşikler, hepatit ve HIV gibi viral enfeksiyonların tedavisinde umut verici sonuçlar sunmaktadır (Kim vd, 2008).

Mantarların düşük yağ, yüksek protein ve zengin vitamin içeriği ile sağlıklı bir kimyasal bileşime sahip olması, onları yalnızca lezzetli bir besin değil, aynı zamanda sağlık bakımı, diyetsel terapi ve tıbbi tedavi alanlarında önemli bir kaynak haline getirmiştir. Düşük glisemik indeksleri, düşük sodyum seviyeleri ve yüksek fosfor ile potasyum içerikleri sayesinde mantarlar, geniş bir diyet ve tıbbi uygulama alanında kullanılmaktadır (Ren vd, 2012; Liu vd, 2014; Zhou vd, 2024). Örneğin, *Pleurotus ostreatus* (istiridye mantarı) düşük yağ içeriği ve yüksek protein oranıyla, obezite ve metabolik bozuklukların yönetiminde etkili bir diyet bileşeni olarak öne çıkmaktadır (Kalač, 2013; Sánchez, 2017). Mantarların düşük glisemik indeksleri de diyabet hastalarının diyetlerinde güvenli bir seçenek olmasını sağlamaktadır. Tüm bu

özellikler, mantarların hem tedavi edici hem de beslenme destekleyici fonksiyonlarını vurgulamakta ve tıbbi alandaki değerlerini arttırmaktadır (Doğan vd, 2012; Şen vd, 2012; Kalmış vd, 2011; Kaya vd, 2011).

Kanser, dünya genelinde ülkemizde de en önemli sağlık sorunlarından biridir. Kanser, kalp-damar hastalıklarından sonra ölümle sonuçlanan hastalıklarda ikinci sırada yer almmaktadır (Jeitler vd, 2020; Panda vd, 2022). Türkiye'de, kanser hastalıklarına bağlı ölüm oranı %29 olarak bildirilmiş olup, bu oran dünya genelindeki oranlarla benzerlik göstermektedir. Kadınlarda meme kanseri, erkeklerde ise akciğer kanseri yaygın olarak görülmektedir (Cancer.org, WHO 2024). Globocan 2022 verilerine göre, akciğer (%12,4), meme (%11,5), kolorektal (%9,6), prostat (%7,3) ve mide (%4,8) en sık görülen kanser türleri olarak rapor edilmiştir. Bu beş kanser türü, tüm yeni kanser vakalarının yaklaşık %45'ini oluşturmaktadır. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) ve Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2022 yılı ortak raporlarına göre dünyada 20 milyon kanser vakası bulunduğu rapor edilmiş olup bunların 9,7 milyonu ölümle sonuçlanmaktadır. WHO-IARC, 2022 raporuna göre akciğer (%18,7), kolorektal (%9,3), karaciğer (%7,8), meme (%6,9) ve mide (%6,8) kanser nedeniyle en sık ölümle sonuçlanan türleri olarak rapor edilmiştir. 75 yaşına kadar kanser görülme riski erkeklerde %21,8, kadınlarda ise %18,5'dir. Erkeklerde akciğer (%2,2) kanserinden sonra ikinci en sık görülen kanser türü kolon (%1,9) kanseridir Hem kadınlarda hem de erkeklerde sıkça görülen bir diğer kanser türü akciğer ve kolon kanseridir (WHO-IARC, 2022, Cancer; https://www.who.int/news-room/ fact-sheets/detail/cancer; assessed on 1 January 2022; Global Burden of Disease Cancer Collaboration vd, 2017).

Kanser tedavisinde sıklıkla cerrahi yöntemler ve kemoterapötik ilaçlar kullanılmakla birlikte, bu yöntemlerin özellikle ileri evre kanserlerde sınırlı bir başarı sağladığı bilinmektedir. Cerrahi müdahaleler genellikle kanser hastalığının yalnızca ilgili organda sınırlı olduğu durumlarda etkili olmaktadır. Ancak metastaz tedavinin etkinliğini sınırlayan temel faktörlerden biridir.

Metastaz, kanserin tedavisini zorlaştıran en önemli süreçlerden biri olup kanserin diğer organlara yayılmasıdır. Metastaz, tedavi etkinliğini ciddi ölçüde sınırlayan bir süreç olup, kontrol altına alınması durumunda tedavi başarısının artabileceği bilinmektedir (Miller vd, 2019). Metastaz, primer tümörün bulunduğu bölgeden ayrılan kanser

hücrelerinin kan dolaşımı, lenfatik sistem veya doğrudan yayılma yoluyla vücudun uzak bölgelerine taşınması ve burada ikincil tümör odakları oluşturmasıyla gerçekleşir (Gupta ve Massagué, 2006). Bu süreçte kanser hücreleri, öncelikle primer tümörden ayrılarak çevre dokuları istila eder, ardından kan ve lenf damarlarına girerek dolaşıma katılır. Hedef dokulara ulaştıklarında, damar dışına çıkarak (extravasasyon) yeni bir tümör kolonisi oluştururlar (Chaffer ve Weinberg, 2011). Metastaz süreci, kanserin agresifliğini artırmakta ve tedaviye olan yanıtı zorlaştırmaktadır.

Türkiye'de metastatik kanser vakaları, kanserle mücadelede en büyük zorluklardan birini oluşturmaktadır. Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu'nun raporlarına göre, tanı alan kanser hastalarının %40-50'sinde metastaz tespit edilmektedir (Demain vd, 2010; Miller vd, 2019). Akciğer, meme ve kolon kanserleri, Türkiye'de metastazın en sık görüldüğü kanser türleridir. Özellikle akciğer kanserinde metastaz oranı oldukça yüksektir ve hastaların %50'sinden fazlasında metastaz tanı anında tespit edilmektedir (TC. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 2017). Kadınlarda en sık metastaz yapan kanser türü meme kanseri olup, bu tür kanser sıklıkla kemik, akciğer, karaciğer ve beyine yayılmaktadır. Erkeklerde ise prostat kanseri, genellikle kemik metastazına yol açmaktadır (Globocan, 2020). Metastaz kanser kaynaklı ölümlerin yaklaşık %90'ından sorumlu olduğu bildirilmektedir (WHO, 2020). Metastatik kanser, yalnızca hastalığın ilerlemesini hızlandırmakla kalmayıp tedavi seçeneklerini de büyük ölçüde sınırlandırmaktadır. Örneğin, metastatik akciğer kanseri hastalarında 5 yıllık sağkalım oranı %5'in altındadır (Siegel vd, 2020). Bu nedenle metastazın erken tespit edilmesi ve etkin bir şekilde kontrol altına alınması, tedavi başarısı açısından hayati bir öneme sahiptir.

Metastaz tedavisinde kullanılan yöntemlerin etkinliğini artırmak için yenilikçi tedavi yaklaşımlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Son yıllarda, immünoterapiler ve hedefe yönelik tedaviler gibi modern yaklaşımlar metastazın kontrolünde umut vadetmektedir. Özellikle immünoterapi, bağışıklık sisteminin kansere karşı yanıtını arttırarak metastatik hücrelerin yok edilmesini hedeflemekte ve bu alandaki gelişmelerle hastaların yaşam süresini uzatma potansiyeli taşımaktadır (Topalian vd, 2016). Bu nedenle hem Türkiye'de hem de dünya genelinde metastatik kanserlerin erken teşhisine ve etkili tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine yönelik araştırmaların

arttırılması, kanser ile mücadelede başarı oranlarını yükseltecek önemli bir adım olacaktır.

Kanser tedavisinde alternatif çözümler arayışında, mantarlar günümüzde dikkat çeken biyolojik kaynaklardan biri haline gelmiştir Mantarlar, bağışıklık sistemini güçlendiren (immünomodülatör) ve kanser önleyici özelliklere sahip biyoaktif bileşenler içermektedir. Yenilebilir mantarlardan izole edilen lektinler, polisakkarit-protein kompleksleri, polisakkaritler, polisakkarit-peptitler, fenolik bileşikler, triterpenoidler gibi biyoaktif maddeler, antiviral, antibakteriyel, antiinflamatuar, antikanser, antioksidan, antitümör, antifungal ve kolesterol düşürücü aktiviteler sergilemektedir (Öztürk vd, 2015). Örneğin, *Ganoderma lucidum*'dan izole edilen (krestin) kanser ilacı, Japonya ekonomisine ciddi ölçüde katkı sunmaktadır (Mizuno, 1999; Chang ve Buswell, 1999; Moradali vd, 2007).

Son 30 yılda yapılan araştırmalar, kansere karşı etkili olmaları nedeniyle ticari olarak üretilen ve satışa sunulan mantar türlerinin sayısını artırmıştır. Reishi (*Ganoderma lucidum*), shiitake (*Lentinula edodes*), maitake (*Grifola frondosa*), kavak mantarı (*Pleurotus ostreatus*), pioppino mantarı (*Agrocybe aegerita*), aslan yelesi (*Hericium erinaceus*) ve matsutake (*Tricholoma matsutake*) bu mantar türlerinden bazılarıdır. Ayrıca, *Cordyceps, Clitocybe, Boletus badius, Calvatia utriformis, Flammulina velutipes* ve *Albatrellus confluens* gibi mantar türleri üzerine alınmış 1000'den fazla patent bulunmaktadır (Yassin ve Wasser, 2006; Hasan vd, 2022; De Luca vd, 2024). Mantarların biyoaktif özellikleri arasında immünomodülatör (Kwon vd, 2012; Wang vd, 2012b; Kim vd, 2010; Ooi ve Vincent, 2001) ve antitümör (Çam vd, 2024; Kaplaner vd, 2023; Mutlu vd, 2022; Ullah vd, 2022) etkilerin yanı sıra antiviral, antimikrobiyal (Ragupathi vd, 2018; Smolskaite vd, 2015; Kaya vd, 2011, Kang vd, 2011), antimutajenik, antihipertansif, antiinflamatuar ve antialerjik ve antioksidan etkiler yer almaktadır. Bu nedenle mantarlar hem doğal ürünler hem de besin takviyeleri olarak çeşitli formülasyonlarla üretilmekte ve sağlık sektöründe yaygın olarak kullanılmaktadır (Zhang vd, 2007; Tel-Çayan vd, 2015; Kaplaner vd, 2023).

Mantarların yüksek tıbbi potansiyelleri nedeniyle son yıllarda bu organizmalardan biyoaktif bileşiklerin izolasyonu, araştırmacılar tarafından ilgiyle ele alınan bir konu haline gelmiştir. Bu kapsamda mantarlardan başlıca; polisakkaritler (Mutlu vd, 2022;

Khursheed vd, 2020), polisakkarit-peptit ve polisakkarit-protein kompleksleri, triterpenoidler (Liu vd, 2014) ile fenolik bileşikler izole edilmiştir.

Ülkemizde ve dünyada kanser vakalarının her geçen gün artış göstermesi, bu mantar türleri üzerine yapılan araştırmaların hız kazanmasına neden olmaktadır. Özellikle, bu çalışmada incelenmesi planlanan mantar türlerinin kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktiviteden sorumlu biyoaktif bileşiklerinin yeterince araştırılmamış olması ve kanserin artan prevalansı, bu araştırmayı gerçekleştirmeye yöneltmiştir.

Bu doktora tez çalışması ile ülkemizde doğal olarak yayılış gösteren *Infundibulicybe geotropa* (Bull.) Harmaja ve *Tricholoma scalpturatum* (Fr.) Quél. mantarınların meme (MCF-7), akciğer (H1299), kolon (CaCo-2) ve prostat (LNCaP) kanser hücre hatlarına karşı sitotoksiteleri ve böbrek (HEK293) sağlıklı hücre hattına karşı toksisiteleri MTT metoduyla araştırılması amaçlanmaktadır. Buna ilaveten elde edilen ekstrelerin üç farklı yaklaşımla apoptoz analizleri ve timidin fosforilaz inhibisyon aktiviteleri belirlenmesi de amaçlandı. Bu sonuçlara dayanarak sitotoksisiteden sorumlu bileşiklerin kromatografik yöntemlerle saflaştırılması, saf bileşiklerin yapılarının NMR, UV, MS ve IR spektroskopik teknikleri kullanılarak aydınlatılması ve yapıları aydınlatılan saf maddelerin sitotoksisitelerinin araştırılması hedeflendi.

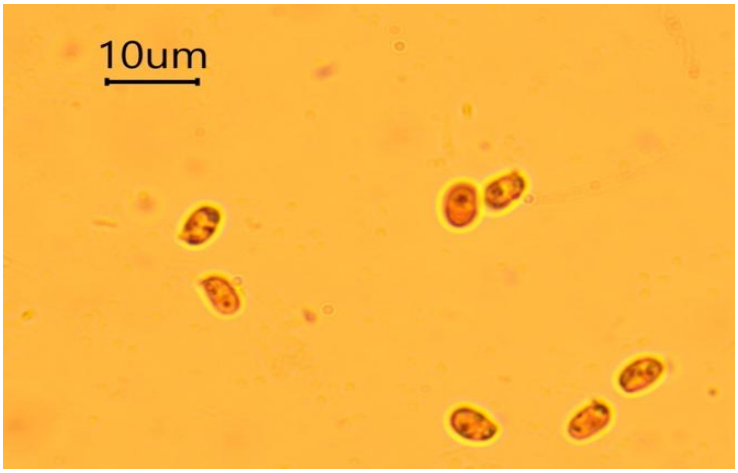
1.1. *Tricholoma scalpturatum* (Fr.) Quél.

1.1.1. Botanik bilgiler: Makroskobik ve mikroskobik özellikler

Tricholoma scalpturatum Tricholomataceae familyasına ait, saprofitik bir yaşam tarzı sergileyerek topraktaki organik maddeleri ayrıştıran çeşitli habitatlarda yetişen bir mantar türüdür.

Şekil 1.1. *T. scalpturatum* (Fr.) Quél

Şapka 30-60 mm çapında, gençken dış bükey, gelişme ilerledikçe düzleşir ve şapka merkezinde hafifçe bir tümsek oluşur. Şapka yüzeyi krem-bej ve üzerinde ince, gri-kahverengi fibrilli pullar bulunur. Lameller sık, başlangıçta beyaz veya grimsi beyaz, daha sonra sarımsı bir ton alır. Sap 40-50 mm uzunluğunda ve 8-10 mm çapında, beyazımsı veya soluk gri, genellikle silindir şeklinde, bazen tabana doğru kalınlaşır. Etli yapı beyaz ve incedir. Tadı ve kokusu unsudur. Spor baskısı beyazdır. Basidiumlar 20-25 × 6-7 µm, dört sporlu ve çomak şeklindedir. Sporlar 5-6 × 3-3,5 µm, eliptik ve inamiloittir. Sistidyumlar bulunmamaktadır. Şapka dokusu kutis, hifler 6-7 µm kalınlığındadır (Stevenson, 1964; Clitocybe marginella. (2025). *Wikipedia*. Erişim: 18.03.2025).



Şekil 1.2. *T. scalpturatum* (Fr.) Quél sporları

T. scalpturatum yaz ve sonbahar aylarında genellikle yaprak döken ve konifer ormanlarında ve parklarda yetişir.

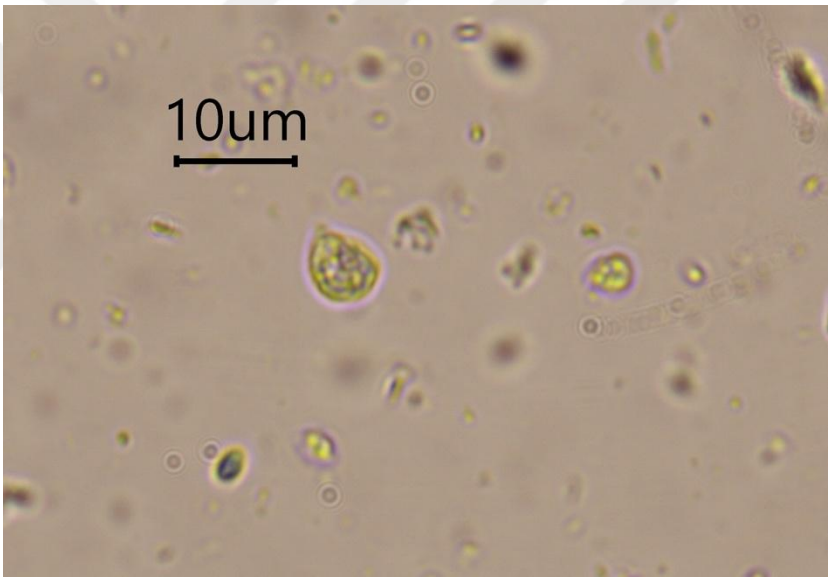
1.2. *Infundibulicybe geotropa* (Bull.) harmaja

1.2.1. Makroskobik ve mikroskobik özellikler

Infundibulicybe geotropa eski adıyla *Clitocybe geotropa*, Tricholomataceae familyasına ait bir makrofungus türüdür. Hafif aromatik kokusu ve tatlımsı tadıyla yenilebilir bir tür olan *Infundibulicybe geotropa*, yüksek protein, mineral (potasyum, fosfor) ve vitamin içeriğiyle dikkat çeker. Aynı zamanda antioksidan özelliklere sahip biyoaktif bileşikler içerir. Avrupa, Kuzey Amerika ve Asya'da yaygın olarak bulunur ve Türkiye'de de doğal yayılım gösterir (Sevindik vd, 2020; Karadeniz vd, 2024; *Infundibulicybe geotropa*. (2025, Ocak). Wikipedia. Erişim tarihi: [15.03.2025]).

Şekil 1.3. *I. geotropa* (Bull.) Harmaja

Şapka 60-180 mm çapında, huni şeklinde ve genellikle merkez bölgesi tümsekli, şapka kenarları şapka kenarları içe doğru kıvrıktır. Şapka yüzeyi ince ve sıkı yünsü tüylerle kaplı, krem-bej veya krem-kahverengi tonlardadır. Lameller sık, krem-bej tonlarda, sap üzerinde doğru ilerlemiş durumdadır. Sap 70-120 uzunluğunda ve 20-30 mm çapında, şapkayla aynı renkte, silindir veya ters çomak şeklinde, genellikle tabana doğru kalınlaşır. Etli yapı beyaz, şapka merkezinde kalın ve kenarlara doğru incelir. Tadı ve kokusu acı bademi andırır. Spor baskısı kremsidir. Basidiumlar 40-45 × 7-8 µm, dört sporlu ve çomak şeklindedir. Sporlar 9,5-11 × 7-9,5 µm, subgloboz, pürüzsüz ve inamiloittir. Sistidyumlar bulunmamaktadır. Şapka dokusu kutis, hifler 3-6 µm kalınlığındadır (https://www.first-nature.com/fungi/clitocybe-geotropa.php?utm_source).



Şekil 1.4. *I. geotropa* (Bull.) Harmaja sporları

I. geotropa sonbahar aylarında genellikle yaprak döken, daha nadir olarak ise konifer ormanlarında yetişir.

1.3. Mantarların Halk Arasında Kullanımı

Mantarlar, insanlık tarihinde hem besin kaynağı hem de tıbbi bir ürün olarak önemli bir yer edinmiştir. Çok eski zamanlardan itibaren bilinen mantarlar, Sümer

efsanelerinde "tanrıların yiyeceği" olarak anılmış ve 4000 yıl öncesine ait kil tabletlerde bile tüketildiklerine dair kayıtlar bulunmuştur (Black vd, 1998; Shavit vd, 2008). Tarihsel kaynaklarda M.Ö. 1500'lü yıllarda trüf mantarlarının Libya'da yetiştiği ve 'misu' adıyla tanındığı, Theophrastos tarafından bildirilmiştir. Bu dönemde, kök, dal, yaprak gibi tipik bitki özelliklerine sahip olmadan yüksek ekonomik değere sahip oldukları ifade edilmiştir (Shavit, 2014; Bonito, 2013).

Mantarların halk tıbbında kullanımı, gıda olarak tüketimi insanlık tarihi kadar eskiye dayanır (Tong vd, 2009). Özellikle Asya'da gıda olarak tüketilen mantarların (ör. *Lentinus edodes* ve *Tremella fuciformis*) iki bin yıldan uzun bir süredir toksik olmayan tıbbi özellikleri nedeniyle kullanıldığı bilinmektedir (Zhang vd, 2007). Artan dünya nüfusu ile birlikte mantar tüketimi dengeli beslenme açısından önem kazanmıştır (Ünal vd, 1996; Çağlarırmak vd, 2002). Ayrıca mantarların A ve C vitaminleri ile *β*-karoten gibi antioksidan bileşenler taşıdığı ve koruyucu etkiler sağladığı rapor edilmiştir (Murcia vd, 2002).

Antik dönemlerde mantarlar hem dini hem de kültürel öneme sahip oldukları bilinmektedir. Örneğin, Romalılar mantarları tanrıların besini olarak görürken, Mısırlılar mantarları tanrı Osiris'in bir hediyesi olarak kabul etmiştir. Çin'de ise mantarlar, hayatın iksiri olarak düşünülmüş ve Çin tıbbında sinir zayıflığı, baş ağrısı, uykusuzluk gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmıştır (Erol, 2013).

Bilimsel çalışmalar da mantarların kan basıncı, kolesterol ve kan şekeri seviyelerini düşürebileceğini göstermektedir (Hobbs, 1995). Bununla birlikte, bazı mantar türlerinin (ör. *Ganoderma lucidum*) burun kuruluğu, bulantı ve kusma gibi yan etkiler gösterebileceği bildirilmiştir (Öztürk vd, 2015).

Günümüzde mantarlar hem doğal ortamdan toplanarak hem de kültür ortamında yetiştirilerek tüketilmektedir. Doğal türler arasında yer alan *Pleurotus* spp, *Auricularia* spp ve *Lentinus edodes* yerel halk tarafından tercih edilirken, kültüre alınmış türlerden *Agaricus bisporus*, genellikle bilinçli tüketicilerin ilgi odağı olmuştur (Diez vd, 2001). Japonya ve Çin'de mantarlar, besleyici değerleri kadar tıbbi özellikleri nedeniyle de değer görmektedir (Zhang vd, 2007).

1.3.1. Literatürde *Tricholoma* mantar türleri ve antioksidan aktiviteye dair yapılan çalışmalar

Tricholoma türlerinden gıda endüstrisinde, nitrit radikalini uzaklaştıran, antioksidan ve antihipertansiyon etkili bir preparat üretilmiştir (Kwon vd, 2010). Aynı şekilde, bu mantarın toksisiteyi azaltmak ve çeşitli hastalıkların önlenmesine katkı sağlamak amacıyla kullanıldığı bir yöntem de geliştirilmiş ve patenti alınmıştır. Bu çalışmada, mantardan elde edilen panaksitriol gibi bileşiklerin nörotropik hastalıklar ve kansere karşı potansiyel etkiler sunduğu belirtilmiştir (Danishefsky vd, 2010).

T. matsutake mantarından antioksidan etkili polisakkaritlerin elde edilmesine yönelik bir optimizasyon çalışmasında, farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılmıştır. Bu çalışmada elde edilen polisakkaritlerin bileşimleri ve molekül ağırlıkları detaylı olarak analiz edilmiş, oksijen radikal absorbans kapasite (ORAC) ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir (You vd, 2013) ve çeşitli özelliklere sahip polisakkaritler elde edilmiştir (Ding vd, 2010; Tong vd, 2013). *T. matsutake* mantarından izole edilen polisakkaritlerin kimyasal yapıları aydınlatılmış ve bu bileşiklerin antioksidan aktiviteleri ve sitotoksik (PC12) etkileri incelenmiştir (Ding vd, 2010; Lim vd, 2007). Bu çalışmalar, *T. matsutake* mantarının biyolojik olarak aktif polisakkaritler açısından önemli bir kaynak olduğunu göstermektedir. *T. fracticum'un* antioksidan aktivite çalışmaları mevcuttur (Tel vd, 2012). *T. fracticum'un* sekonder metabolitleri izole edilerek antiinflamatuvar, antioksidan ve sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Antioksidan aktivite testlerinde, özellikle fumarik asit ve cerebroside B yüksek radikal giderme kapasitesi sergilemiştir (Erol, E., 2018, Doktora tezi, 273s.).

T. caligatum mantarının farklı ekstreleri üzerinde yapılan bir çalışmada, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteler incelenmiş ve mantarın yüksek antioksidan potansiyele sahip olduğu ifade edilmiştir (Smolskaite vd, 2015). *T. caligatum* üzerine yapılan çalışmada, mantarın sekonder metabolitleri izole edilerek antioksidan, antiinflamatuvar ve sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Antioksidan aktivite testlerinde, özellikle lascivol türevleri ve cerebroside B yüksek radikal giderme kapasitesi göstermiştir (Erol, E., 2018, Doktora tezi, 273s.). *T. anatolicum* üzerine yapılan çalışmada, mantardan anatoluin A (1) ve anatoluin B (2) olmak üzere iki yeni ergostanoid bileşiği izole edilmiştir. Çalışmada, antioksidan aktiviteler ABTS radikal giderme (IC_{50}: 98,6 ± 1,9 μg/mL) ve lipid peroksidasyon inhibisyonu (IC_{50}: 68,1 ± 1,2

µg/mL) testleri ile değerlendirilmiş, en iyi aktivitenin metanol ekstresinde olduğu belirlenmiştir (Kaplaner vd, 2023).

T. giganteum mantar ekstrelerinin antioksidan (Mau vd, 2002; Chatterjee vd, 2011), immunomodülatör ve antitümör (Ooi ve Vincent, 2001) aktiviteleri detaylı araştırılmıştır. *T. lobayense* türünden izole edilen TLH-3 kodu verilen polisakkaritin NO üretimini arttırdığı, TNF-*α* sekresyonu gösterdiği ve dolayısıyla yapılan diğer çalışmalarla birlikte TLH-3 polisakkaritinin immunomodulatör ajan olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Zhang vd, 2018a). TLH-3 kodlu polisakkaritin antioksidan ve antiaging aktivitelerinin olduğu rapor edilmiştir (Ding vd, 2016). Aynı polisakkarit farelerde oksidatif stresin neden olduğu erken yaşlanmaya karşı etkili olduğu görülmüştür (Pan vd, 2018).

T. monogolicum türü üzerine yapılan bir çalışmada AIDS ile oksidatif stres araştırılmış ve AIDS tedavisinde antioksidanların önemli bir rol oynayabileceği vurgulanmıştır. Bu mantarın hemolizinasyon aktivitesinin %39 olduğu tespit edilmiş ve bu özelliğin AIDS hastalığının tedavisinde kullanılma potansiyeli tartışılmıştır (Jiang vd, 2011).

T. acerbum'un da dahil olduğu çalışmada tokoferol miktarları, yağ asidi ve şeker içerikleri belirlenmiş; ayrıca antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir (Barros vd, 2008). Portekiz'de yetişen *T. portentosum* mantarının antioksidan aktivitesi incelenmiştir (Ferreira vd, 2007). *T. nudum* türü, güçlü antioksidan aktiviteye sahip olması, aminoasitler, vitaminler ve diğer besinsel özellikler açısından zengin içeriğiyle dikkat çekmekte olup, fareler üzerinde yapılan toksisite testlerinde zararsız olduğu bildirilmiştir (Bell vd, 1958). Ülkemizde gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise, Tricholomaceae familyasına ait mantar türlerinde antioksidan aktivite, çeşitli enzimler kullanılarak incelenmiştir (Ersel ve Cavas, 2008).

1.4. Mantar Türleri Üzerine Yapılan Çalışmalar

Bugüne kadar yapılan çalışmalar, mantar ekstrelerinin çeşitli biyolojik aktiviteler sergilediğini ortaya koymuştur. Bu aktiviteler arasında antioksidan, antitümör, antiviral, antibakteriyel, antifungal, antiinflamatuar etkiler ile bağışıklık sistemini düzenleyici (immunomodülatör) ve kolesterol düşürücü özellikler dikkat çekmektedir

(Wang vd, 2000; Mau vd, 2004; Mercan vd, 2006; Gezer vd, 2006; Jayakumar vd, 2006, Jayakumar vd, 2007; Türkoğlu vd, 2007; Regina vd, 2008; Öztürk vd, 2011). Özellikle Amerika Birleşik Devletleri, İsrail, Japonya ve Çin gibi ülkelerde, mantarların bileşenlerinin detaylı şekilde incelendiği çalışmalar bulunmaktadır (Wasser vd, 1997; Hernández vd, 2003; Gao vd, 2003; Moradali vd, 2007; Regina vd, 2008; Tong vd, 2009). Mantar türlerinden izole edilen polisakkaritler (Mutlu vd, 2022; Khursheed vd, 2020), lektin, polisakkarit-peptitler (Sadi vd, 2015), fenolik ve flavonoid, polisakkarit-protein kompleksleri ve lanostan tipi triterpenoid ve seskiterpen bileşiklerin (Luo vd, 2009; Kim vd, 2010; Xu vd, 2010; Sezgin vd, 2020; Gilardoni vd, 2023; Zhou vd, 2024) önemli bir kısmının antikanser (Kaplaner vd, 2023; Mutlu vd, 2022; Ullah vd, 2022), antioksidan (Kaplaner vd, 2023; Ragupathi vd, 2018; Smolskaite vd, 2015) ve immunomodülatör (Kwon vd, 2012; Wang vd, 2012b; Kim vd, 2010; Ooi ve Vincent, 2001) etkiler sergilediği ortaya konmuştur

Son yıllarda yapılan araştırmalar, tedavisi henüz tam olarak mümkün olmayan kanser gibi hastalıklar için mantarların umut vadeden birer doğal kaynak olduğunu göstermektedir. Bu durum, mantarların sadece besin olarak değil, aynı zamanda tedavi ajanı olarak da değerlendirilmelerine yol açmıştır. Özellikle gelişmiş ülkelerde, mantarlardan çeşitli biyolojik aktiviteler sergileyen bileşenlerin tespiti ve detaylı analizi üzerine yoğun çalışmalar gerçekleştirilmektedir.

Ülkemizde mantarlar üzerine yapılan araştırmaların büyük bir kısmı, onların besinsel özelliklerini veya bu mantarlardan elde edilen ekstrelerin tıbbi aktivitelerini belirlemeye odaklanmıştır.

Polisakkaritler, mantarların majör bileşenleri arasında yer almakta ve oldukça çeşitli kimyasal yapılara sahiptir. α-glukanları içeren polisakkaritler, α-manno-β-glukanlı heteroglukanlar ve hetero-β-glukanlar, farklı bileşimleri içermektedirler. Özellikle polisakkaritler (β-glukanlar sınıfı), immunomodulatör, antitümör, antioksidan ve antiinflamatuvar aktivite gösteren önemli yapılardır (Pires vd, 2013; Ruthes vd, 2013; Ding vd, 2015; Öztürk vd, 2015; Cheng vd, 2019, Su vd, 2019). *Infundicibulicybe* (syn: *Clytocybe*) ve *Tricholoma* türlerinden izole edilmiş ve yapısı aydınlatılmış polisakkarit yapılı biyoaktif bileşikler bulunmaktadır. *Clytocybe maxima* türünden izole edilen eksopolisakkaritler ile *Clytocybe gigantea* türünden izole edilen CEP kodu verilen polisakkaritler farelerde antitümör aktivite gösterdikleri belirlenmiştir (Wang

vd, 2006; Hu vd, 2015). *Tricholoma matsutake*'den antioksidan (Ding vd, 2010) ve akciğer (A549) ve insan hepatoma (HepG2) kanser hücrelerine karşı etkili polisakkaritler izole edilip yapıları aydınlatılmıştır (You vd, 2013). *Tricholoma matsutake*'den elde edilen polisakkaritin 5-florourasil ile kullanılmasıyla farelerde yapılan çalışmada kan kanserine karşı etkili olduğu görülmüştür (Ren vd, 2014).

Pleurotus pulmonarius'dan (Gutiérrez vd, 1996) ile mannogalaktoglukan; *Grifola frondosa*'dan mannoksiloglukan (Zhuang vd, 1994) ve *β*-glukan türevleri; *Agaricus blazei*'den ise glukomannan, riboglukan ve farklı *β*-glukan formları izole edilmiş ve bu polisakkaritlerin biyolojik aktiviteleri aydınlatılmıştır (Mizuno, 1999). Bu çeşitlilik, mantarların hem besin hem de farmasötik değerlerini anlamak açısından önemli bir kaynak sunduğunu göstermektedir

*Lentinula edodes (*Shiitake), Çin ve Japonya'da "hayat iksiri" olarak bilinir ve damar sertliği ve beyin kanamaları gibi birçok hastalığın önlenmesinde ve antitümör aktivitesine sahip olması nedeniyle kanser tedavisi araştırmalara konu olmuştur (Takashi, 1995; Morales vd, 2020). Özellikle yapısında bulunan 'lentinan' adlı polisakkaritin, tümörlerin gelişimini durdurabilmesi nedeniyle Shiitake'yi kemoterapi sırasında hastaların gıda olarak tüketmeleri önerilmektedir ve bu durum mantara olan ilgiyi artırmıştır (Chihara vd, 1970). Japonya'da Shiitake'den bazı mide hastalıklarının tedavisinde kullanılan pepsin ve tripsin gibi 50 kadar enzim elde edilmiştir.

Lezzetli tadı, yüksek protein, karbonhidrat, mineral ve vitamin içeriği ile dikkat çeken ve düşük yağ oranı ile bilinen *Pleurotus ostreatus*, ticari açıdan önemli bir yenilebilir mantar türüdür ve genellikle "istridye mantarı" olarak adlandırılır (Hernandez vd, 2003; Kalmış vd, 2008). Bu mantar türü, yüksek konsantrasyonlarda aspartik asit, sistin ve metionin içerdiği (Mattila vd, 2002) ve antioksidan aktivite, bağışıklık sistemini düzenleme (immunomodülatör), antiviral, antiinflamatuar, antibakteriyel ve kolesterol düşürücü etkileri gibi birçok tıbbi faydasıyla dünya genelinde tanınmaktadır (Wang vd, 2000; Jayakumar vd, 2006; 2007; Regina vd, 2008).

Triterpenoidler ve seskiterpenler ise biyolojik aktiviteleri ve tedavi edici özelliklerinden dolayı mantarların önemli diğer temel terpenik bileşiklerindendir (Sezgin vd, 2020; Gilardoni vd, 2023; Zhou vd, 2024). Bazı triterpenoid yapısında olan ve *Ganoderma lucidum*'dan izole edilen ganodermik asit, applanoksidik asit, ganoderal, ganoderol, lusidon, ganoderik asit, ganoderenik asit, ganodermanondiol ve

ganodermanontriol gibi triterpenlerin immunomodulatör ve sitotoksik gibi çok farklı biyoaktiviteleri göstermesi nedeniyle diğer mantarlarda da triterpenlerin araştırılması hızlanmıştır (Öztürk vd, 2015).

1.4.1. *Tricholoma* türleri ile ilgili literatür araştırmaları

Tricholoma matsutake ve Tricholoma giganteum mantarları, virüslere karşı doğal ürünlerle birlikte kullanıldığında bağışıklık sistemini güçlendirdiği, antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklere sahip kozmetik ürünlerin hazırlanmasında değerlendirildiği belirtilmiştir (Mau vd, 2002; Jang vd, 2008; Kang vd, 2011; Kang vd, 2012; Kwon vd, 2012). *T. matsutake* mantarı, çeşitli alanlarda (ilaç, kozmetik, gıda) doğal bir antioksidan olarak değerlendirildiği çalışmalar rapor edilmiştir (Kobayashi, 1998). *T. matsutake*'nin de kullanıldığı başka çalışmada, antiinflamatuar etkili fraksiyonlar ile ergotiyonein adlı antioksidan bileşiğini içeren yeni preparatlar geliştirilmiş ve bu kapsamda patent tescil edilmiştir (Ito ve Harada, 2010). *Tricholoma matsutake* mantarının kültüründen antidiyabetik, hipoglisemik, antioksidan ve immunostimülan etkiler gösteren 20.000 Da ağırlığa sahip fukoidan polisakkariti geliştirilmiştir (Wang vd, 2012b).

Ergothionein gibi önemli bileşiklerin *Tricholoma* türlerinden elde edilmesiyle çeşitli patentler geliştirilmiştir (Osawa vd, 2008). Ayrıca *T. matsutake* mantarı kullanılarak antioksidan ve antikanser etkili karışımlar hazırlanmış ve bu karışımlar da patente konu olmuştur (Kwon, 2006). Bu durum, *Tricholoma* türlerinin tıbbi ve kozmetik alanda yüksek değer taşıdığını ve bu nedenle patentlenmeye uygun olduklarını göstermektedir.

T. anatolicum mantarının besinsel değerleri (toplam yağ, protein ve toplam karbonhidrat miktarları, nem ve kül) detaylı bir şekilde incelenmiştir (Kalmış vd, 2011). Ayrıca, mantarın mineral ve ağır metal içerikleri de değerlendirilmiş olup, toplamda sekiz farklı metalin konsantrasyonları araştırılmıştır (Kalmış vd, 2011). *T. anatolicum* mantarının atomik absorbsiyon cihazı kullanılarak makro metaller ile eser elementlerinin miktarları belirlenmiştir (Kaya vd, 2011). Başka çalışmada, ICP-AES cihazı ile Mn, Fe, K, Na ve P gibi elementlerin miktarları analiz edilmiştir (Doğan vd, 2012). *T. anatolicum* üzerine yapılan çalışmada, mantardan anatoluin A (1) ve anatoluin B (2) olmak üzere iki yeni ergostanoid bileşiği izole edilmiştir. Sitotoksik

aktivite testlerinde, özellikle anatoluin A (IC_{50}: 20,5 ± 1,5 µg/mL, MCF-7; 14,3 ± 1,7 µg/mL, HeLa) ve anatoluin B (IC_{50}: 19,3 ± 1,2 µg/mL, H1299) bileşiklerinin belirli kanser hücre hatlarında güçlü sitotoksik etki gösterdiği, ancak sağlıklı fibroblast hücre hatlarına (L929 ve PDF) karşı toksik olmadığı tespit edilmiştir (Kaplaner vd, 2023).

T. imbricatum mantarına yönelik çalışmada, 26 farklı mantar türü arasında yer alan bu türün GC-MS cihazı kullanılarak, kokuya katkı sağlayan bileşenleri analiz edilmiştir (Fons vd, 2006; Talou vd, 2000). *T. imbricatum* türünün besin bileşiminin ortaya çıkarılmasına yönelik çalışmalar kapsamında, mineral, ağır metal ve vitamin içeriklerinin analiz edildiği çeşitli araştırmalar yapılmıştır (Sesli ve Tüzen, 2006; Sesli, 2007). Buna ek olarak, *T. imbricatum* mantarın makro besinsel özelliklerini incelemiş; şeker bileşenlerinin nitel ve nicel analizlerinin yanısıra, yağ asitlerinin detaylı bileşimi GC-MS ve HPLC yöntemleri ile belirlenmiştir (Heleno vd, 2009b). *T. imbricatum* ve *T. focale*'nin yağ asidi bileşimi ve antioksidan özellikleri belirlenmiştir. Yağ asitleri GC ve GC-MS ile analiz edilmiş olup antioksidan aktiviteleri (DPPH, ABTS, CUPRAC, *β*-karoten-linoleik asit ve metal şelatlama) test edilmiştir. Hekzan ekstresinde sekiz yağ asidi belirlenmiş ve oleik asit sırasıyla %46,4 ve %35,0 ile başlıca yağ asidi olmuştur. Palmitik asit (%12,8 ve %5,12) ve lineloik asit (%28,2 ve %31,0) de yüksek miktarlarda tespit edilmiştir. $DPPH^{\cdot}$ ve $ABTS^{\cdot+}$ radikal giderme analizlerinde aktivite, *T. imbricatum*'un metanol ekstresi için IC_{50}: 0,12±0,01 mg/mL, *T. focale* için sırasıyla IC_{50}: 0,8±0,01 ve IC_{50}: 0,21±0,01 mg/mL hesaplanmıştır. *T. focale*'nin tüm ekstrelerinde *β*-karoten linoleik asit analizinde iyi aktivite göstermiştir, *T. imbricatum*'un hekzan ekstresinin *β*-karoten linoleik asit potansiyele sahip olduğu yapılan çalışmada rapor edilmiştir (Kaplaner vd, 2017).

Kuzey Portekiz'den toplanan *T. ustale* üzerinde yapılan bir çalışmada, bu mantarın antioksidan aktivitesini incelemiş ve ayrıca şeker, yağ, askorbik asit, fenolik bileşikler ile tokoferol miktarlarını tespit etmişlerdir (Reis vd, 2011). Portekiz'de yetişen yenilebilir mantar türleri olan *T. atrosquamosum* ve *T. sulphureum* mantarlarının *α*-tokoferol ile fenolik bileşiklerin (sinnamik asit, protokateşik ve *p*-kumarik) miktar tayinleri gerçekleştirilmiştir (Heleno vd, 2009; Vaz vd, 2010).

Yenilebilir mantar *Tricholoma caligatum*'un kimyasal bileşenleri incelemiş ve bu bileşenlerin antiinflamatuar özellikleri araştırılmıştır. Çalışmada, mantardan iki yeni bileşik (8-demethoxylascivol ve 8-*epi*-lascivol) ve altı bilinen bileşik izole edilmiştir.

Bileşiklerin NF-κB ve iNOS üzerindeki etkileri değerlendirilmiş ve özellikle ergosterol ve ergosterol peroksit bileşiklerinin güçlü antiinflamatuar aktivite gösterdiği bulunmuştur. Sonuçlar, *T. caligatum*'un potansiyel bir antiinflamatuar ajan kaynağı olabileceğini göstermektedir (Erol vd, 2020). *Tricholoma* türlerinden olan *Tricholoma mongolicum* türünün polisakkaritlerinin antioksidan ve insan serviks kanser hücrelerine karşı (HeLa) antiproliferatif aktiviteyi doza bağlı olarak gösterdiği rapor edilmiştir (Wang vd, 2015; You vd, 2014). Aynı türün lektinlerinin immunomodulatör ve antitümör etkili oldukları ortaya konmuştur (Wang vd, 1996).

Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda *T. lobayense, T. giganteum, T. matsutake, T. mongolicum* ve *T. portento*sum gibi *Tricholoma* türlerinin içerdikleri polisakkarit, seskiterpen, lektinler, fenolik bileşikler, *β*-D-glukanlar ve diğer terpenoid sınıfı bileşikler nedeniyle antibakteriyal, antifungal, sitotoksik, antitümör, antiinflamatuvar, insektisidan, nematosidal, antioksidan gibi çeşitli terapötik etkileri bulunmuştur (Ragupathi vd, 2018; Mattila vd, 2001). *T. equestre* türünün bazı gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı yüksek antimikrobiyal aktivite (Ragupathi vd, 2018), akciğer kanser hücre hattına (A549) karşı yüksek proinflamatuvar aktivite (Muszyńska vd, 2018) gösterdiği belirlenmiştir. *T. pardinum* türünden elde edilen pardinol A-H isimli yeni lanostan tipi triterpenlerin NO üretimini inhibe ettikleri ve HL-60 (insan miyeloid lösemi), SMMC-7721 (insan hepatoselüler), A549, MCF-7, SV-480 (kolon) kanser hücre hatlarına karşı yüksek sitotoksik aktivite gösterdikleri rapor edilmiştir (Zhang vd, 2018b). *T. caligatum* üzerine yapılan çalışmada, mantarın sekonder metabolitleri izole edilerek antioksidan, antiinflamatuvar ve sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Sitotoksisite testlerinde, mantarın çeşitli ekstrelerinin H1299 (akciğer kanseri) ve MCF-7 hücre hatları üzerinde güçlü toksik etki gösterdiği, ancak fibroblast hücrelerine daha az zarar verdiği gözlemlenmiştir. Gerçek zamanlı hücre proliferasyonu ve apoptoz analizleri, bazı bileşiklerin kanser hücrelerinde programlanmış hücre ölümünü teşvik ettiğini ortaya koymuştur (Erol, E., 2018, Doktora tezi, 273s.). *T. fracticum*'un sekonder metabolitleri izole edilerek antiinflamatuvar, antioksidan ve sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiştir (Erol, E., 2018, Doktora tezi, 273s.). *T. fracticum* mantarı ile yapılan çalışmada elde edilen ekstrelerin ağır metal içerikleri, mineral ve antimikrobiyal aktivitesi tespit edilmiştir (Yamaç vd, 2006; Kaya vd, 2011).

1.4.1.1. Tricholoma türleri ile ilgili antiinflamatuvar aktiviteye dair yapılan çalışmalalar

T. matsutake mantarından elde edilen ekstraktların deri üzerinde antiinflamatuvar etkiler gösterdiğini ve bu nedenle yaşlanma karşıtı ajan olarak kullanılabileceğini ortaya koymuş; ayrıca kozmetik sektöründeki potansiyelini incelemişlerdir (Kang vd, 2011) *T. matsutake* ve *Ganoderma* ekstraktların antiinflamatuvar, güçlü antioksidan ve beyazlatıcı etkiler içeren bir kozmetik formülasyonları içeren çlışmalar da mevcuttur. (Jang vd, 2008).

Zaveri (1998) ise, *T. matsutake* ekstraktı içeren bir dermatolojik ürün geliştirmiş; bu formülasyonun ciltteki hasarların onarımında, koyulaşmanın önlenmesinde ve enflamasyonun giderilmesinde oldukça etkili olduğunu rapor etmiştir. Bununla birlikte, Matsunaga vd. (2007), tarafından yapılan bir çalışmada, *T. matsutake* mantarının miselleri ve aktif bileşenlerinden elde edilen ekstraktların, kanser hastalarında ağrı kesici ve antiinflamatuvar bir ajan olarak başarıyla kullanıldığı bildirilmiştir. *T. caligatum* üzerine yapılan çalışmada, mantarın sekonder metabolitleri izole edilerek antioksidan, antiinflamatuvar ve sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Antiinflamatuvar analizlerde, ergosterol (7,5 µg/mL), ergosterol peroksit (4,5 µg/mL) ve trametenolik asit (14,0 µg/mL) bileşiklerinin iNOS inhibisyonu sağladığı, ancak yalnızca ergosterolün NF-κB inhibisyonu gösterdiği belirlenmiştir (Erol, E., 2018, Doktora tezi, 273s.).

T. fracticum üzerine yapılan çalışmada, mantarın sekonder metabolitleri izole edilerek antioksidan, antiinflamatuvar ve sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Antiinflamatuvar analizlerde, ergosterol (16,0 µg/mL), ergosterol peroksit (4,5 µg/mL), trametenolik asit (14,0 µg/mL) ve Len II (12,0 µg/mL) bileşiklerinin iNOS inhibisyonu gösterdiği, ancak NF-κB inhibisyonu açısından yalnızca ergosterolün etkili olduğu belirlenmiştir (Erol, E., 2018, Doktora tezi, 273s.).

1.4.1.2. Tricholoma türlerinden elde edilen sekonder metabolitlere dair yapılan çalışmalar

Tricholoma türleriyle gerçekleştirilen fitokimyasal incelemelerde; fenolik monoterpenoidler (Sakai vd, 2005; Kawagishi vd, 2004), diterpenler (Benevelli vd,

1995; Tsukamoto vd, 2003), triterpenler (De Bernardi vd, 1991; Yoshikawa vd, 2004), polioksitlenmiş steroidler (Ohnuma vd, 2006), geranil siklohekzenonlar ve çeşitli indol türevleri (Garlaschelli vd, 1995) gibi sekonder metabolitler içerdiği yapılan araştırmalarda belirtilmiştir (Zhang vd, 2009).

Portekiz'de yetişen *Tricholoma acerbum* türünden, HPLC-DAD-ESI/MS sistemi kullanılarak protokateşik ve *p*-kumarik asit içerikleri analiz edilmiştir (Barros vd, 2009).

Dünya çapında en değerli mantar türlerinden biri olan "Pine-mushroom" (*Tricholoma matsutake* Sing.), özellikle uçucu bileşenleri ve aromatik özellikleriyle öne çıkmaktadır (Cho vd, 2008). Cho ve arkadaşları, bu mantarın sap ve şapka kısımlarındaki uçucu bileşenleri detaylı bir şekilde analiz etmişlerdir (Cho vd, 2006; Cho vd, 2008). Mantarın sap ve şapka kısmında (1-okten-3-*ol*, metil sinnamat, [*E*]-2-okten-1-*ol*, [*E*]-linalol oksit ve 3-oktanol, 1-okten-3-*ol*, linalol, metil sinnamat, [*E*]-2-okten-1-*ol*) baskın bileşenler yer almaktadır (Cho vd, 2008). *T. fracticum*'dan diterpenler (triçaurantin ve 6-*O*-asetil türevi) izole edilmiştir (Knops vd, 1995). *T. caligatum* üzerine yapılan çalışmada, mantarın sekonder metabolitleri izole edilerek antioksidan, antiinflamatuvar ve sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Petrol eteri, aseton ve metanol ekstrelerinden ergosterol, 5*α*,6*α*-epoksi-ergosta-7,22-dien-3*β*-ol, trametenolik asit, ergosterol peroksit, 8-demetoksilasvicol, cerebroside B, lasvicol, 8-*epi*-lascivol, (4'*R*)-caligalactam, (4'*S*)-caligalactam, fenilalanin ve *α*-*D*-glukopiranoz gibi bileşikler izole edilmiştir (Erol, E., 2018, Doktora tezi, 273s.) *T. fracticum* üzerine yapılan çalışmada, mantarın sekonder metabolitleri izole edilerek antioksidan, antiinflamatuvar ve sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Aseton ve metanol ekstrelerinden 5*α*,6*α*-epoksi-ergosta-7,22-dien-3*β*-*ol*, üridin, adenosin, fumarik asit, Len II, cerebroside B ve ergosterol gibi bileşikler izole edilmiştir (Erol, E., 2018, Doktora tezi, 273s.). *T. anatolicum* üzerine yapılan çalışmada, mantardan anatoluin A (1) ve anatoluin B (2) olmak üzere iki yeni ergostanoid bileşiği izole edilmiştir. Ayrıca 5α,6α-epoksi-ergosta-7,22-dien-3*β*-*ol* (3), ergosterol endoperoksit (4) ve ergosterol (5) gibi bilinen bileşikler de elde edilmiştir (Kaplaner vd, 2023).

1.4.2. *Tricholoma scalpturatum* türü ile ilgili literatür araştırmaları

T. scalpturatum mantarının ağır metal metal içerikleri çalışılımıştır (Vetter, 1999; Soylak vd, 2005). *T. scalpturatum* mantarının antioksidan aktivitesi ekstre düzeyinde çalışılmıştır (Sezgin vd, 2020). Literatürde 1994 yılında her ikisi de aynı grup tarafından yapılan iki adet izolasyon çalışması bulunmaktadır (Pang ve Sterner, 1994; Pang vd, 1994). Pang ve Sterner, (1994), tarafından yapılan çalışmada İsveç'ten toplanan *T. scalpturatum* mantarı fiziksel olarak yaralanmıştır. Bu yaralama ile oluşan bileşikler, mantarı kurutmadan elde edilmiş ve 7-hidroksi-7'-metoksi peratonin B (3 mg) ve 7,7'-dimetoksi-peratonin B (13 mg) maddeleri izole edilmiştir. Pang vd. (1994), tarafından yapılan diğer çalışmada da İsveç'ten toplanan mantar yine fiziksel olarak yaralanmış ve yaralamayla oluşan bileşikler mantar kurutulmadan organik çözücüye alınmıştır. Bu çalışmadan da scalpturan (2 mg) ve saponaceolide (4 mg) maddeleri izole edilmiştir. İzolasyonla ilgili son iki makale mantarın fiziksel yaralanmasına verdiği tepki neticesinde mantarın enzimatik olarak oluşturduğu metabolitleri araştırmak amacıyla yapılmıştır.

T. scalpturatum türü üzerine literatürlerde herhangi bir kanser hücre hattına karşı sitotoksik aktivite çalışması bulunmamaktadır. Ayrıca, Pang vd. (1994) tarafından gerçekleştirilen her iki çalışmada da biyolojik aktivite analizine yer verilmemiş olup, sitotoksik aktivite kontrollü bir çalışma da bulunmamaktadır.

1.4.3. *Infundibulicybe geotropa* türü ile ilgili literatür araştırmaları

I. geotropa türü yenilebilir mantarların besinsel özellikleri (toplam kül, nem oranı, protein, yağ ve karbonhidrat içeriği) detaylı bir şekilde incelenmiştir (Palazzolo vd, 2012). Yapılan literatür incelemesinde, bu türün de dahil olduğu farklı makro mantarların metal ve ağır metal içerikleri üzerine yoğunlaşan araştırmalar sıklıkla karşımıza çıkmaktadır (Campos ve Tejera, 2011; Sarıkürkcü vd, 2010; Yağız vd, 2008; Yamaç vd, 2007; Cocchi vd, 2006; Stankevičienė, 2000; Stankevičienė, 2004; Falandysz vd, 2000; Stijve ve Bourqui, 1991; Quinche, 1983). *I. geotropa* tür mantarları hidrojen siyanür ve inorganik bromür miktarlarının tespitine yönelik çalışmalar da yapılmıştır (Stijve ve De-Meijer, 1999; Stijve vd, 1998). Türkiye'nin on dört ilindeki kirlenmemiş bölgelerden toplanan toplam yetmiş üç yabani yenilebilir

mantar türünde ağır metal bileşimleri, X-ışını floresan spektrometrisi kullanılarak analiz edilmiştir**.** *I. geotropa'*nın Pb için hesaplanan kanserojen risk değeri kabul edilemez risk aralığında bulunmuştur (Turhan vd, 2024).

I. geotropa türü üzerine yapılan çalışmalarda, 1992 yılında GC-MS cihazı kullanılarak ergosterol içerikleri, serbest amino asitler ve yağ asitleri detaylı bir şekilde analiz edilmiştir (Senatore, 1992). Bu türün ergosterol miktarının analizine odaklanan daha erken bir çalışma ise 1976 yılında gerçekleştirilmiştir (Regerat vd, 1976). Ayrıca, 1983 ve 1984 yıllarında yapılan araştırmalarda, GC-MS yöntemiyle *I. geotropa* ve bazı diğer mantar türlerindeki serbest şeker ve organik asit içerikleri değerlendirilmiştir (Yoshida vd, 1983; Yoshida vd, 1984).

1.4.3.1. Infundibulicybe geotropa türü üzerine yapılan biyolojik aktivite çalışmalar

Antimikrobiyal aktiviteler bağlamında, *I. geotropa*'nın dahil olduğu 94 makro mantar türü üzerinde yapılan bir araştırmada, protein ekstrelerinin *Ralstonia solanacearum* patojenine karşı etkili olduğu belirlenmiştir (Erjavec vd, 2016). Ayrıca, bu mantardan izole edilen 30.000 Da molekül ağırlığındaki bir proteinin antiinflamatuvar etkiler sergilediği rapor edilmiştir (Liu vd, 1988). Bununla birlikte, *I. geotropa* türünün ekstreleri üzerinde yapılan çeşitli deneylerde, hem antimikrobiyal (Yamaç ve Bilgili, 2006; Kalyoncu ve Oskay, 2008; Altuner ve Akata, 2010) hem de antioksidan (Kolaylı vd, 2012; Sevindik vd, 2020) aktiviteler ortaya konmuştur. Araştırmalar, bu türün orta seviyede antioksidan aktiviteye sahip olduğunu (Sarıkürkcü vd, 2010; Kalyoncu vd, 2010; Kolaylı vd, 2012), buna karşın yüksek düzeyde antimikrobiyal aktivite sergilediğini göstermektedir (Yamaç ve Bilgili, 2006; Kalyoncu ve Oskay, 2008; Venturini vd, 2008; Altuner ve Akata, 2010).

I. geotropa mantarının aseton ekstresi, HeLa (rahim ağzı kanseri), PC3 (prostat kanseri), A549 (akciğer kanseri), K562 (kronik miyelojen lösemi) ve MRC-5 (akciğer fibroblast) hücre hatları üzerinde test edilmiştir (Kosanić vd, 2020).

I. geotropa'nın meme kanseri hücre hattı (MDA-MB-231) karşı, etanol ve metanol ekstrelerinin üzerindeki sitotoksik etkileri, Trypan Blue analizi ile değerlendirilmiştir. Toplam fenolik içerikleri, etanol ve metanol ekstrelerinde sırasıyla 217,15±0,02 mg CE/g ve 138,39±0,01 mg CE/g**;** toplam flavonoit içerik ise sırasıyla 152,28±0,03

mgCE/g ve 111,95±0,02 mg CE/g olarak belirlenmiştir. Metanol ekstreleri, incelenen konsantrasyon aralığında **(**50-400 µg/mL) MDA-MB-231 hücre hattı üzerinde sitotoksitite görülmezken; etanol ekstreleri, 400 µg/mL (%51,5), 200 µg/mL (%17,9) ve 100 µg/mL (%6,6) konsantrasyonlarında anlamlı düzeyde sitotoksik etki göstermiştir. *I. geotropa* türünün, MDA-MB-231 hücre hattı üzerinde potansiyel bir antikanser ajan adayı olabileceği bildirilmiştir (Altınsoy vd, 2017).

Clitocybe nebularis ve I. geotropa mantarlarından elde edilen etanol ekstrelerinin fenolik içerikleri, antioksidan, antiproliferatif, antimikrobiyal ve antibiyofilm aktiviteleri incelenmiştir. UPLC ve FTIR analizleri ile elde edilen sonuçlara göre, her iki ekstrenin yüksek düzeyde fenolik bileşikler **(**kateşin, mirisetin, kuersetin, rutin, gallik asit, vanilik asit**)** içerdiği tespit edilmiştir. *C. nebularis* ekstresi, DPPH radikallerinin %79'unu, *I. geotropa* ekstresi ise %78'ini nötralize etmiştir. *C. nebularis* ekstresi, tüm konsantrasyonlarda aldos redüktazı %30–80 oranında inhibe etmiş ve HT-29 ile MCF-7 hücre hatlarında umut verici antiproliferatif aktivite göstermiştir. Ayrıca, *C. nebularis* ve *I. geotropa* ekstrelerinin çoklu ilaca dirençli gram-pozitif bakteriler üzerinde inhibitör etkileri olduğu ve biyofilm üretimini etkili bir şekilde engellediği tespit edilmiştir (Dizeci vd, 2021).

42 mantar türünden elde edilen ekstrelerin *Salmonella infantis* üzerindeki antimikrobiyal ve antibiyofilm aktiviteleri büyüme eğrisi analiziyle değerlendirilmiştir. *I. geotropa* ve *I. gibba* ekstrelerinde her iki aktivite de tespit edilmiş, antimikrobiyal etkinin protein açısından zengin fraksiyonlara ve *L*-amino asit oksidaz aktivitesine bağlı olduğu belirlenmiştir. Antibiyofilm etkili bileşiklerin tanımlanması ise ileri çalışmalara bırakılmıştır. Bu yöntem, Salmonella'ya karşı yeni antimikrobiyal ve antibiyofilm ajanların hızlı taranması ve saflaştırılması için etkili bir yaklaşım sunmaktadır (Sterniša vd, 2022). Yeni yapılan bir çalışmada ise Basidiomycota familyasına ait, aralarında *I. geotropa*'nın da bulunduğu dört doğal mantar türünün etanol ekstreleri, antioksidan, antimikrobiyal, antibiyofilm ve sitotoksik aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir. Mantar ekstrelerinin, *Enterococcus faecalis ve Staphylococcus aureus* üzerinde düşük düzeyde antimikrobiyal aktivite gösterdiği, ancak test edilen mikroorganizmalar üzerinde %24,6 ile %80,5 arasında değişen oranlarda biyofilm önleyici aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Işik vd, 2024).

Türkiye'nin Tokat ve Sivas illerinde yaygın olarak tüketilen aralarında *I. geotropa*'nın da bulunduğu altı yenilebilir mantar türlerinin metanol ekstraktlarının kimyasal içerikleri, antioksidan, antibakteriyel, enzim inhibisyonu ve DNA koruma aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bunun yanı sıra, bu mantarların bazı kimyasal bileşikler ve kritik metabolik enzimler üzerindeki etkileri, *in vitro* deneyler ve moleküler docking çalışmaları ile mekanistik düzeyde incelenmiştir. Elde edilen bulgular, yenilebilir mantar türlerinin biyoaktif bileşikler açısından zengin olduğunu ve çok yönlü biyolojik aktiviteler sergilediğini göstermiştir. Bu özellikler, söz konusu mantar türlerinin oksidatif stresin yönetimi, patojenlere karşı korunma ve metabolik hastalıkların tedavisi gibi çeşitli farmakolojik ve biyoteknolojik uygulamalarda doğal bir kaynak olarak değerlendirilebileceğini göstermiştir (Bayram vd, 2024).

Farklı karbon kaynaklarının üç ektomikorizal makromantar türünün miselyal büyümesi üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla aralarında *I. geotropa*'nın da bulunduğu üç tür için karşılaştırmalı bir analiz yapılmıştır (Akata vd, 2012).

1.4.3.2. Infundibulicybe geotropa türü üzerine yapılan izolasyon çalışmaları

I. geotropa mantarından izole edilen *L*-amino-asit oksidaz enzimi üzerinde yapılan araştırmalarda, bu enzimin sitotoksik ve apoptoz indükleyici aktiviteleri (Pislar vd, 2016) ile antibakteriyel etkileri (Sabotič vd, 2020) değerlendirilmiştir. Sitotoksik aktivite gösteren mantarların LC-MS/MS yöntemiyle piceatanol içeriklerini belirlemiş, ancak bu çalışmaya *I. geotropa* türü dahil edilmemiştir (Vasdekis vd, 2018).

I. geotropa türünün sinonimi olan (syn: *Clitocybe geotropa*) üzerine yapılan tek izolasyon çalışması, 1986 yılında Fogedal vd. (1986), tarafından yayımlanmıştır. Bu araştırmada, *Clitocybe geotropa* türünden yalnızca bir bileşik izole edilmiş olup, bu maddenin glikosfingolipid sınıfına ait olduğu belirlenmiştir. İzole edilen bileşik, *N*-2'-hidroksidekanoil-1-*O*-*β*-*D*-glukopiranozil-9-metil-4,8-*D*-eritro-sfingadienin olarak adlandırılmış ve yapısı bu şekilde önerilmiştir (Fogedal vd, 1986). Ancak, bu çalışma kapsamında herhangi bir biyoaktivite analizi gerçekleştirilmemiş, sitotoksik aktiviteye yönelik bir planlama veya uygulama yapılmamıştır.

1.5. Terpenler

Terpenler, doğal kaynaklı en yaygın ikincil metabolitler arasında yer alan, yapısal açıdan çeşitlilik gösteren büyük bir bileşik grubu olup; bitki dokularında (organik asit esterleri, glikozit, proteinlerle konjugat) bulunurlar. Yalnızca hidrojen ve karbon içeren terpenlerin yanı sıra, aldehit, karboksilik asit, alkol ve keton, gibi oksijenli fonksiyonel gruplar taşıyan türevleri de yaygındır. Oksijen taşıyan bu tür terpenler "terpenoidler" olarak adlandırılır (Kanwal vd, 2022; Liv d, 2023; Wang vd, 2024; Zhou vd, 2025).

Karbon atomu sayılarına göre değişiklik gösteren terpenler, izopren birimlerinin bir araya gelmesiyle oluşan sekonder metabolit grubudur. Sınıflandırılmaları, sahip oldukları izopren birimi sayısına göre yapılır (Wang vd, 2024) (Çizelge 1.1).

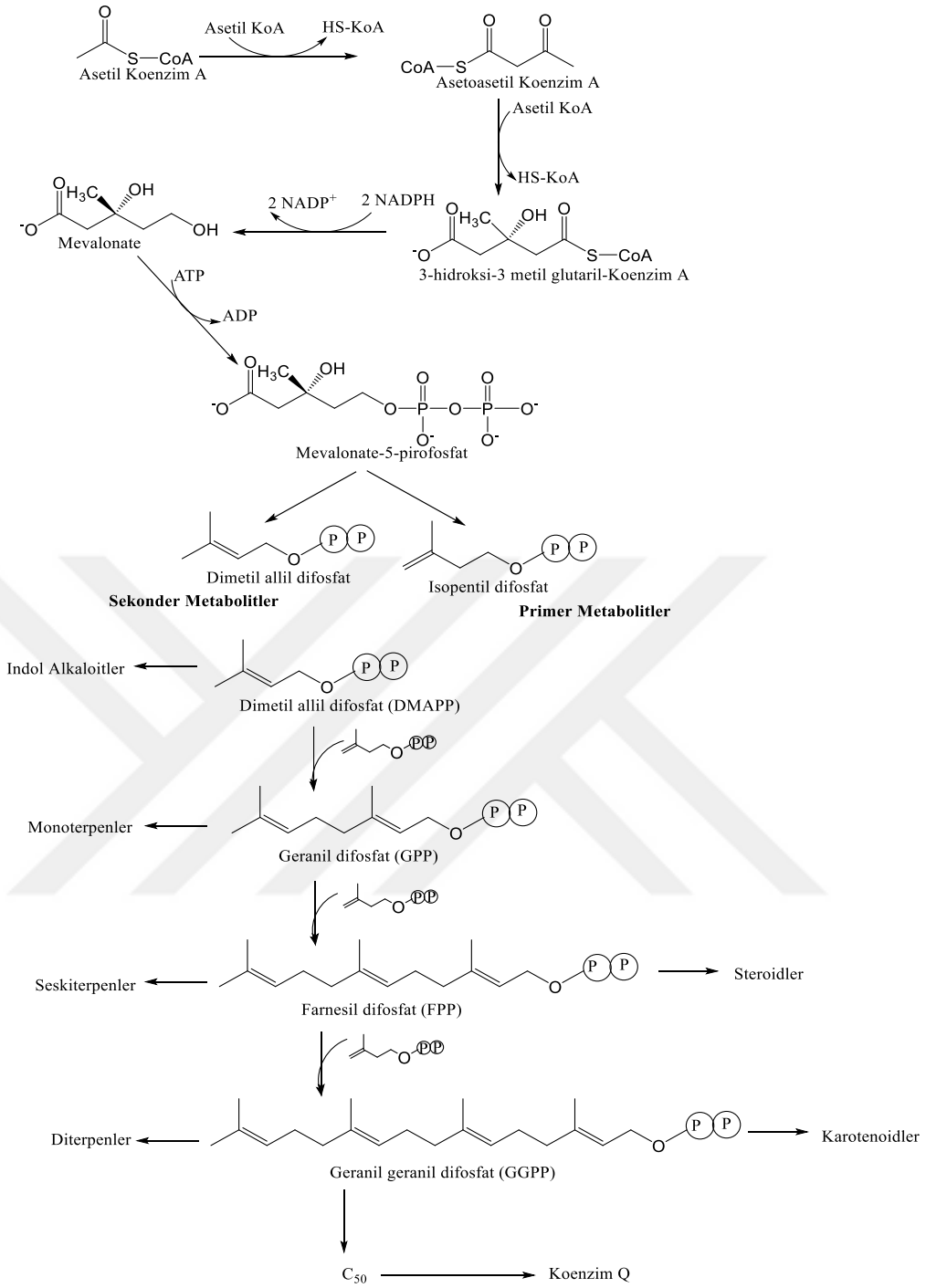
Çizelge 1.1. Terpenlerin sınıflandırılması

İzopren sayısı	Karbon Sayısı	Sınıfı
1	5 C	Hemiterpenler
2	10 C	Monoterpenoidler
3	15 C	Seskiterpenoidler
4	20 C	Diterpenoidler
6	30 C	Triterpenoidler
8	40 C	Tetraterpenoidler (Karotenoitler)
n	Cn	Poliizoprenler

Yapısında izopren birimi bulunduran bileşikler, "izoprenoid" olarak adlandırılır. Bu terim, izoprene benzeyen anlamına gelir. İzopren birimlerinin sentezi, mevalonik asit yoluyla gerçekleşir (Tedder vd, 1972). Mevalonik asit, iki molekül adenozintrifosfat (ATP) kullanılarak fosforlanır ve mevalonik asit-5-pirofosfat dönüşür. Tersiyer hidroksil grubu olan mevalonik asit-5-pirofosfatın fosforlanmasıyla başlayan reaksiyonlar dizisinde, dekarboksilasyon ve dehidrasyon yoluyla izopentenil pirofosfat sentezlenir. İzopentenil pirofosfat, izomerizasyon yoluyla dimetilallil pirofosfata dönüşerek geranil pirofosfat (GPP) oluşur ve GPP, monoterpenlerin biyosentezinde temel bir yapı taşıdır (Geissman ve Crout, 1969). GPP, izopentenil pirofosfat ile tekrar kondenzasyona girerek farnesil pirofosfat (FPP) oluşturur. FPP, seskiterpenlerin sentezinde geçiş bileşiği olarak görev yapar. FPP'nin, izopentenil

pirofosfat ile bir kez daha kondenzasyonu, geranil-geranil pirofosfat (GGPP) oluşumuna yol açar. GGPP, diterpenlerin ve karotenoidlerin öncüsü olarak biyosentetik süreçlerde yer alır.

İzopentenil, geranil ve FPP moleküllerinin farklı kombinasyonlarda kondenzasyonu, daha kompleks terpen yapılarını oluşturur. Örneğin, triterpenler, iki FPP molekülünün kondenzasyonu ile karotenoidler ise iki GGPP molekülünün kondenzasyonu ile meydana gelir. Terpenlerin biyosentezi ve farklı sınıflarının oluşumu Şekil 1.5.'te ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

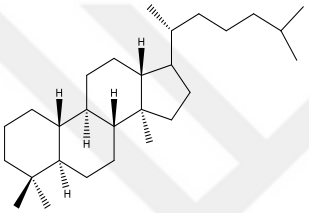
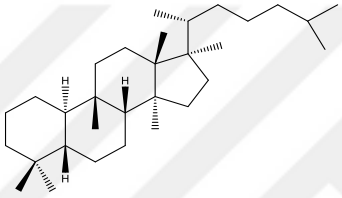
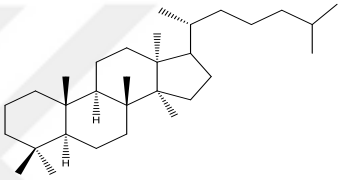
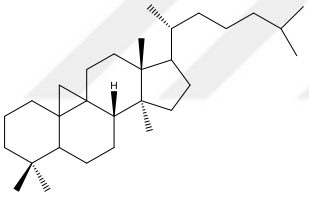
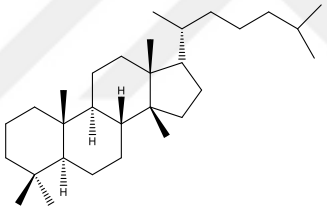
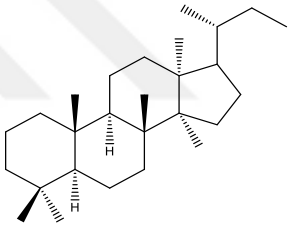
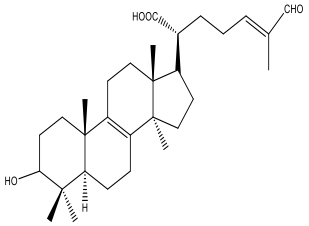
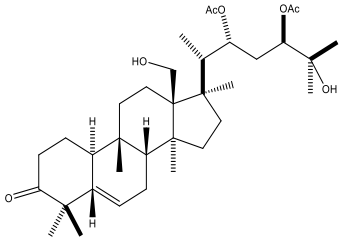
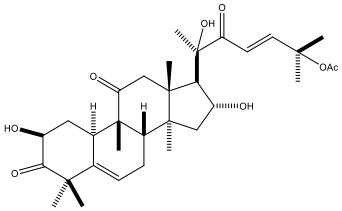


Şekil 1.5. Terpenlerin biyosentezi

Triterpenler, altı izopren biriminin birleşmesiyle oluşan ve otuz karbon atomundan meydana gelen bir iskelete sahip doğal bileşiklerdir. Bu bileşikler bitkilerde serbest halde ya da farklı moleküllere bağlı olarak bulunabilirler. Triterpenler, halkalarında bulunan fonksiyonel gruplara ve halka sayısına bağlı olarak çeşitli alt gruplara ayrılır (Dzubak vd, 2022; Liu, 2020).

Halka sayısına göre triterpenler genel olarak trisiklik, tetrasiklik ve pentasiklik yapılar olmak üzere üç sınıfa ayrılmaktadır (Dzubak vd, 2022). Tetrasiklik triterpenler arasında dammaran, lanostan, sikloartenan, kukurbitan, tirukallan ve meliakan yapısal tipleri bulunur. Pentasiklik triterpenler ise oleanan, ursan, lupan ve friedelan tiplerini içerir (Çizelge 1.2). Bu bileşikler çoğunlukla yapılarında alkol, aldehit ve karboksilik asit grupları gibi çeşitli fonksiyonel gruplar barındıran kompleks yapılar olup, biyokimyasal mekanizmalarının anlaşılması ve farmakolojik potansiyellerinin değerlendirilmesi açısından önemli bir araştırma alanı oluşturmaktadır (Croteau, 2000).

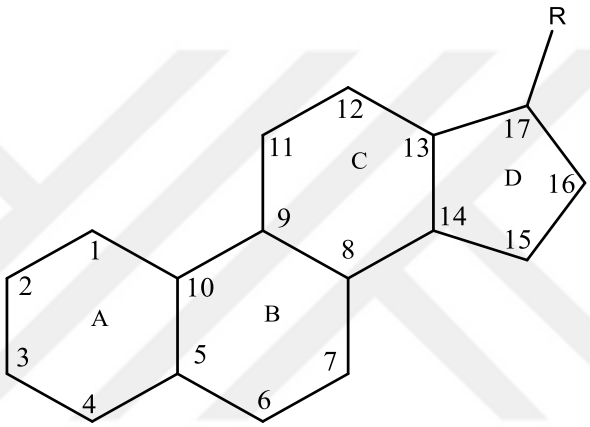
Çizelge 1.2. Tetrasiklik triterpenlerin yapısı

		
Dammaren	Kukurbitan	*Lanostan*
		
Sikloartan	*Tirucallan*	Meliacan
		
24(E)-3β-hydroxylanosta-8,24-dien-26-al-21-oleic acid	*Leukopaksillon A*	Kukurbitacin B

1.6. Steroidler

Steroidler; bitkiler, hayvanlar, mantarlar ve algler dahil olmak üzere çok çeşitli canlı organizmalarda yaygın olarak bulunan ve yaşamsal işlevlerde önemli rol oynayan bileşiklerdir (Nes, 2011). Bu grupta safra asitleri, D vitamini, kolesterol, adrenal

korteks hormonları ve cinsiyet hormonları gibi biyolojik açıdan kritik moleküller yer almaktadır (Johnson ve Lee, 2024). Steroidler, siklopentanoperhidrofenantren halkası olarak adlandırılan steran halkası yapısını içerir ve genellikle 27 veya 29 karbon atomundan oluşan bir iskelet yapısına sahiptir. Sterollerin kimyasal yapısı ise polisiklik alkoller olarak tanımlanır (Rossi, 2023; Smith vd, 2025). Steroidlerin yapısında; 10. ve 13. karbon atomlarına bağlanmış metil grupları, 3. pozisyonda bir hidroksil grubu ile 17. karbon atomuna bağlı dallı ya da düz zincirli, doymuş veya doymamış bir yan zincir yer alır. Bu bileşikler genellikle polar çözücülerde düşük çözünürlük gösterirken, apolar veya yağ bazlı çözücülerde kolayca çözünürler (Hess, 1975; Hanson, 1972; Dewieck, 2002; Taşan, 2008; Patel vd, 2023).



Şekil 1.6. Steroidlerin iskelet yapısı

Kolesterol, tüm hayvansal dokularda bulunan steroidal yapıların en önemlilerinden biridir. Steroidlerin iskeletini oluşturur; ancak bu yapının yan zincirinde gerçekleşen yapısal değişiklikler sayesinde kardiyoaktif glikozitler, steroller, steroidal saponinler, kortikosteroidler ve cinsiyet hormonları gibi biyolojik açıdan önemli pek çok doğal bileşik meydana gelir (Taşan, 2008; Nes, 2011).

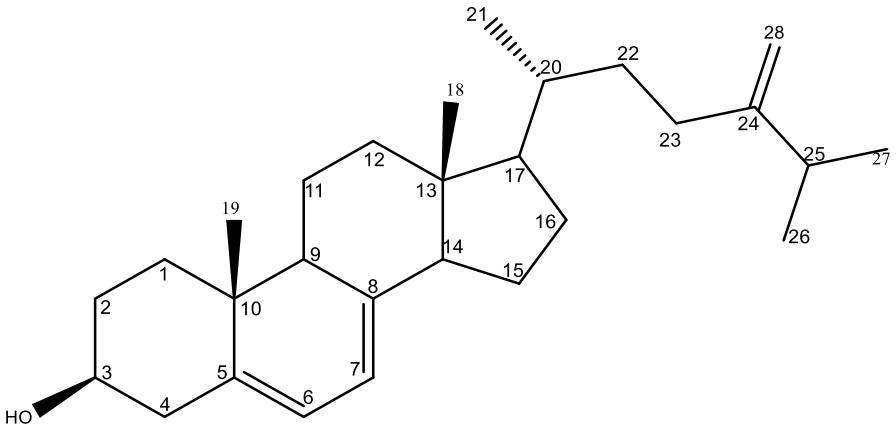
Kromatografik yöntemler (kolon kromatografisi, ince tabaka kromatografisi (İTK) ve HPLC) steroidlerin izolasyonu gerçekleştirilir. Yapı tayininde UV spektroskopisi sınırlı bilgi sağlasa da, IR spektroskopisinde 3000-3500 cm^{-1} aralığında hidroksil grupları, 2850-2900 cm^{-1} aralığında alifatik C-H grupları ise karakteristik absorpsiyon bantları vermektedir. Steroidlerin yapısının tam olarak aydınlatılmasında, NMR gibi ileri spektroskopik yöntemler kritik öneme sahiptir. ^{1}H-NMR spektrumunda metil gruplarına ait karakteristik pikler belirlenirken, ^{13}C NMR ile karbon iskeleti hakkında detaylı bilgi elde edilmektedir. 2D NMR teknikleri ise atomlar arası etkileşimlerin tam

olarak belirlenmesini sağlar. Bu yöntemlerle öngörülen yapı, kütle spektrometrisi (MS) ile doğrulanarak steroidlerin kesin yapısı karakterize edilmektedir (Öztürk vd, 2015; Duru ve Tel Çayan, 2015).

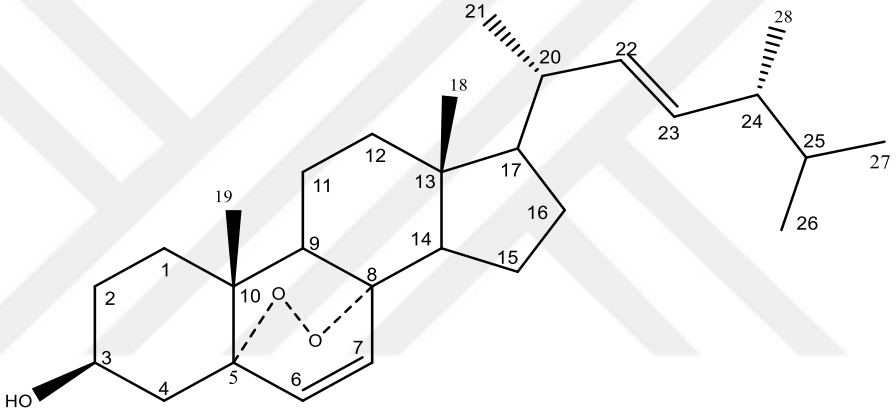
Mantarlar, fitosterollere ve kolesterole yapısal olarak benzeyen steroid bileşikleri içermektedir. Mantarlarda bulunan en önemli steroidler, ergosterol ve türevleridir. Ergosterolün varlığı ve miktarı, çevresel koşulların yanı sıra mantarların yapısal özellikleri, yaşı, sporlanma durumu, hif gelişimi ve olgunlaşma seviyesi gibi büyüme faktörlerinden etkilenmektedir (Ward vd, 2023; Micó vd, 2024).

Ergosterol, serbest ve esterlenmiş ergosterol olmak üzere mantarlarda iki ana formda bulunur. Ergosterol esterleri, sitosolik lipid partiküllerinin hidrofobik çekirdeklerinde depolanır ve steroid homeostazisinin düzenlenmesinde önemli bir işlev üstlenirler (Lee vd, 2024); hücre zarının bütünlüğünde, akışkanlığı ve geçirgenliğinde, serbest ergosterol kritik bir rol oynamaktadır (Choy vd, 2023; Wang vd, 2025

Ergosterol, ultraviyole (UV) ışığın 280–320 nm dalga boyu aralığında maruz bırakıldığında fotoliz yoluyla previtamin D_2'ye dönüşür; ardından bu yapı spontan bir izomerizasyonla biyolojik açıdan önemli olan vitamin D_2'yi oluşturur. Ergosterol ve türevleri yalnızca bu biyokimyasal dönüşümle değil, aynı zamanda antioksidan (Dekanskivd, 2025), antiinflamatuvar (Liv d, 2024) ve antihiperlipidemik (Al-Azzawi vd, 2021) aktiviteleri ile de dikkat çekmektedir (Franks vd, 2022). Ayrıca, bu bileşiklerin mantarların ve bitkilerin patojenlere karşı direncini artırdığı rapor edilmiştir. Ergosterolün bir türevi olan ergosterol peroksit, özellikle potansiyel bir antikanser ajanı olarak öne çıkmaktadır. Bu özellikleri nedeniyle ergosterol ve türevleri, farmasötik ve biyolojik araştırmalarda önemli bir yere sahiptir. (Villares vd, 2012; Villares vd, 2014). Ergosterol (Şekil 1.7) ve ergosterol peroksit (Şekil 1.8) mantarlardan elde edilen en önemli steroitlerdir.



Şekil 1.7. Ergosterol yapısı



Şekil 1.8. Ergosterol peroksit yapısı

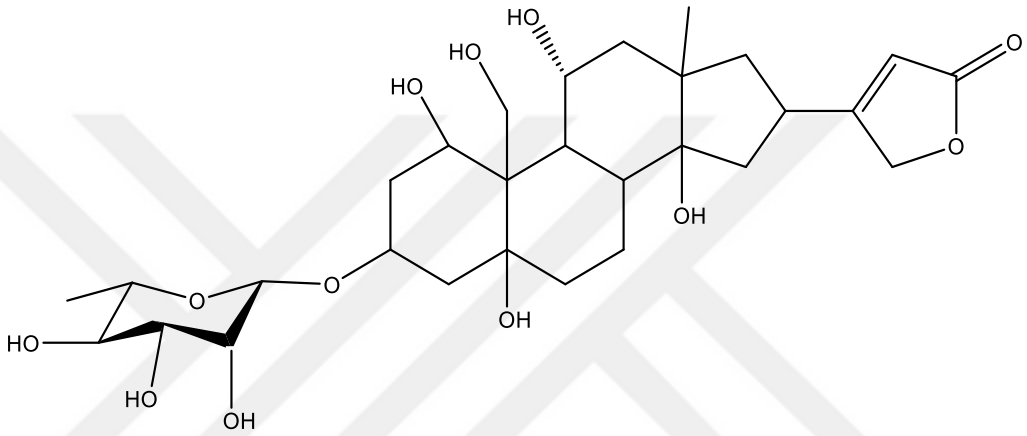
Mantar kaynaklı hidroperoksitler, nadir yapılar arasında yer alır. Mantarlar, terpenoid peroksitleri ve steroid içeren önemli miktarda peroksit üretme kapasitesine sahiptirler ve antikanser aktivite gösterirler (Quang ve Bach, 2008).

Bugüne kadar, mantarlardan çok sayıda triterpen yapısında bileşik izole edilmiştir. Çoğunlukla lanostan iskeletine sahip olan bu triterpenlerin, çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu tespit edilmiştir. Literatürde, bu bileşiklerin antibakteriyel, antikanser, antikandidal, antikolinesteraz, antikomplement, antileishmanial, antiinflamatuar, antiinvaziv, antimalaryal, antioksidan, antitüberküler, antiviral ve sitotoksik aktiviteler gösterdiği rapor edilmiştir (Gao vd, 2003; Türkoğlu, 2007; Kaplaner vd, 2023; Duru ve Tel Çayan, 2015). Ayrıca, özellikle lanostan tipi triterpenlerin potansiyel antikanser ajanları olarak değerlendirilebileceği çeşitli bilimsel çalışmalarla ortaya konulmuştur (Gao vd, 2003; Mutlu vd, 2022; Ullah vd,

2022). Bu bulgular, mantar kökenli triterpenlerin farmakolojik potansiyellerini ortaya çıkarmakta ve ilaç geliştirme süreçlerinde önemli bir rol oynayabileceklerini göstermektedir.

1.6.1. Steroid glikozitleri

En iyi bilinen örnekler kalp glikozitleridir (Şekil 1.9). Bu bileşiklerin aglikon kısmı steroit ya da triterpen iskeletinden oluşabilir (Öztürk vd, 2008). Steroit yapılı (oubain) glikozitlerdir



Şekil 1.9. Steroid glikozit yapısı

1.7. Fenolik Maddeler

Fenolik bileşikler, aromatik halka taşıyan ve bu halkaya bağlı bir ya da daha fazla hidroksil grubu içeren doğal maddelerdir. Yapısal çeşitlilikleri oldukça geniştir; basit fenollerden çok sayıda fenol grubuna sahip polimerik yapılara kadar uzanır. Bu nedenle, bu bileşikler genellikle "polifenoller" adıyla da anılır (Balasundram vd, 2006). Polifenoller, aromatik yapılarındaki hidroksil gruplarının sayısı ve bu grupları bağlayan moleküler yapılarına göre sınıflandırılır. Flavonoidler, taninler, lignanlar, fenolik asitler, fenolik alkoller, stilbenler, kurkuminoidler, gallokateşinler, antosiyanidinler ve kumarin gibi farklı bitkisel kaynaklı doğal ürünler arasında en kapsamlı incelenen bileşik sınıfıdır.

Fenolik asitler iki ana gruba ayrılır: hidroksibenzoik asitler (C6-C1) ve hidroksisinnamik asitler (C6-C3). *p*-hidroksibenzoik asit, gallik asit, şiringik asit,

protokateşik asit, vanilik asit ve hidroksibenzoik asit grubunda yer alırken; ferulik asit, sinapik asit, kafeik asit ve *p*-kumarik asit ise hidroksisinnamik asitlerin en bilinen örneklerindendir (Naczk vd, 2022; Shahidi vd, 2023; Kumar vd, 2024).

1.7.1. Fenolik maddelerin antioksidan aktiviteleri

Fenolik bileşikler, doğada yaygın olarak bulunan ve güçlü antioksidan özelliklere sahip bileşiklerdir. Bu etkilerini, yapılarında bulunan hidroksil gruplarının hidrojen verici özelliği sayesinde, reaktif azot ve oksijen türleriyle etkileşime girerek serbest radikal oluşum döngüsünü engellemeleriyle gösterirler. Ayrıca, bazı metal iyonları ile şelat kompleksi oluşturabilmeleri ve lipoksijenaz gibi enzimleri inhibe etmeleri de antioksidan aktivitelerine katkı sağlamaktadır (Gulcin, 2024).

Proteinlerle olan etkileşimleri de dikkate değerdir; çünkü fenolik hidroksil grupları hidrojen bağları oluşturabilirken, aromatik halkaları da hidrofobik etkileşimlere imkân tanır. Bu sayede, oksidatif stresle ilişkili bazı enzimlerin aktivitesini baskılayarak koruyucu etki oluştururlar (Pereira vd, 2009; Kruk vd, 2022).

Fenolik bileşikler yalnızca biyolojik etkileriyle değil, aynı zamanda gıdalardaki duyusal özellikleri (tat, aroma, renk) şekillendirmedeki rolleriyle de önem taşır. Bitkisel kaynaklı pek çok gıda ürününün lezzeti ve kokusu, içerdiği uçucu fenoller aracılığıyla oluşur. Bu uçucu bileşikler, yüksek alkollerin hidrolizi veya maya ve laktik asit bakterilerinin metabolik aktiviteleri sonucunda meydana gelebilir. Ayrıca, flavonoidler gibi bazı fenolik bileşikler doğal pigment olarak işlev görerek, özellikle sebze ve meyvelerdeki renk oluşumuna katkı sağlar (Ribeiro vd, 2023).

Fenolik bileşiklerle ilgili yapılan çok sayıda çalışmada, bu maddelerin antikanser, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antiülser gibi çeşitli farmakolojik etkiler sergilediği belirtilmiştir (Cirillo vd, 2022; Javed vd, 2023; Sun vd, 2023; Ghodsi vd, 2024). Ayrıca, bu bileşiklerin düzenli tüketiminin koroner kalp hastalıkları riskini azaltabileceği, hipertansiyona bağlı damar hasarını iyileştirebileceği ve yaşlanmaya bağlı bilişsel bozulmaları geciktirebileceği bildirilmektedir. Beyin sinapslarında oluşabilecek plaklara karşı koruyucu etkileri ve kılcal damar hasarlarını önleyici özellikleri de literatürde yer almaktadır (Llewellyn vd, 2023). Bununla birlikte, yüksek dozda alındıklarında fenolik bileşiklerin toksik etkiler gösterebildiği ve bazı kanser

türleriyle ilişkilendirilebileceği de rapor edilmiştir. Ancak kontrollü ve dengeli tüketimle birlikte bu bileşiklerin vücutta savunma sistemlerini destekleyerek toksisite riskini azalttığı ve koruyucu etkiler sağladığı belirtilmektedir (Yıldız ve Baysal, 2003).

1.7.2. Fenolik maddelerin tanınması, analiz yöntemleri ve izolasyonu

Fenolik bileşiklerin sağlık üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle doğal ürünlerden izolasyonları ve analizleri önem kazanmıştır. Bileşik grubuna bağlı olarak izolasyonlarında etil asetat, aseton, etanol veya metanol çözeltileri tercih edilir. Fenollerin tanımlanmasında %1'lik demir klorür çözeltisi ile renk değişimi (mavi, yeşil, siyah) gözlenir. Bu yöntem, potasyum ferrisiyanür ile modifiye edilerek günümüzde de fenolik bileşiklerin tanınmasında kullanılmaktadır (Xiao, 2020; Harborne, 2023). Aromatik yapıları nedeniyle UV bölgede güçlü absorbans gösteren bu bileşikler, spektrofotometrik yöntemlerle kantitatif olarak analiz edilebilmektedir (Harborne, 2023).

1.7.3. Mantar türlerinden elde edilen fenolik maddeler

Son yıllarda, fenolik bileşiklerin biyolojik aktivitelerine yönelik birçok araştırma makalesi yayımlanmıştır. Yapılarında bulunan hidroksil gruplarından kaynaklı, reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türlerinin (RNS) zararlı etkilerini ortadan kaldırmada son derece etkili antioksidanlar olarak tanımlanmaktadır (Duru ve Tel-Çayan, 2015). Bunun yanı sıra fenolik bileşiklerin, kanser, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, ateroskleroz, Parkinson ve Alzheimer gibi rahatsızlıkların ilerlemesini yavaşlatabileceği ya da geciktirebileceğine dair çalışmalar da bulunmaktadır (Miniati, 2007). Polifenoller açısından zengin diyetlerin düzenli tüketilmesi, karsinogenezi ve mutajenez inhibe etme potansiyeline sahip olduğu tespit edilmiştir (Tanaka vd, 1998).

Pistacia atlantica üzerinde yetişen *Inonotus hispidus*'dan doğal antioksidan ajanlar olarak kullanılan fenolik bileşikler (hispidin, hispolon ve metil 5-(3,4-dihidroksifenil)-3-hidroksipenta-2,4-dienoat) izole edilmiştir (Yousfi vd, 2009). *Inonutus obliquus'un* Alaska'dan toplanan örneklerinden 3,4-dihidroksibenzalaseton ve 2,5-dihidroksibenzaldehit bileşikleri izole edilmiş ve bu maddelerin radikal giderme kapasitelerinin oldukça yüksek olduğunu belirlenmiştir (Kim vd, 2011). Başka bir

çalışmada *P. niger* türünden azotlu terfenil türevi (peloldodin) bileşik izole edilmiştir (Fang vd, 2010).

G. adspersum mantarından 16 farklı fenolik bileşik (2,4-dihidroksibenzoik asit, elajik asit, ferulik asit, fumarik asit kafeik asit ve rosmarinik asit) elde edilmişir (Tel-Çayan, 2015a). Çin ve Sırbistan'dan toplanan *G. lucidum* örneklerininde benzer şekilde aynı türe ait olmasına rağmen bölgesel farklılıktan kaynaklı fenolik içeriği farklılık göstermiştir (Stojkovic vd, 2014). Ultra hızlı sıvı kromatografi yöntemi kullanılan çalışmada Sırbistan örneklerinde okzalik malik asit, kinik asit, sitrik asit, protokateşik asit, fumarik asit, *p*-kumarik asit ve sinnamik asit belirlenirken; Çin örneklerinde malik asit, protokateşik asit, okzalik asit, kinik asit, *p*-kumarik asit ve *p*-hidroksibenzoik asit tespit edilmiştir. *G. lucidum* mantarından başka bir çalışmada, gallik asit, rutin, klorojenik asit, sinnamik asit ve vanilin gibi bileşikler HPLC-DAD yöntemiyle belirlenmiştir (Sheikh vd, 2014).

1.8. Antioksidanlar

Lipitler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler hem vücudumuzda hem de tükettiğimiz besinlerde oksidasyona uğrayarak zararlı olabilecek çeşitli oksidasyon ürünleri oluşturabilir (Papas, 1996). Süreç genellikle temel sorumluları reaktif oksijen ve azot türleri olan "Oksidatif Stres" olarak adlandırılır (Aruoma ve Cuppett, 1997).

Azot türleri ve reaktif oksijen insan vücudunda farklı mekanizmalarla oluşabilir:

1. Hücrelerin normal solunum süreçleri sırasında yan ürün olarak bu reaktif türler meydana gelir.

2. Hidrojen peroksit ve süperoksit ve seviyeleri, bazı biyomoleküllerin (örneğin sitokrom P450, adrenalin, tetrahidrofolat, dopamin ve elektron taşıma zincirlerinin belirli bileşenleri) oksijenle doğrudan oksidasyonu sonucu artış gösterebilir (Halliwell, 1994).

3. Radyasyona maruz kalma, yüksek enerjili elektromanyetik ışınların suyu ayrıştırarak hidroksil radikali oluşturmasıyla sonuçlanabilir (Von Sonntag, 1987).

Ayrıca, bağışıklık sisteminin koruyucu hücreleri olan fagositler (örneğin nötrofiller, monositler, makrofajlar ve eozinofiller), yabancı organizmaları yok etmek amacıyla

süperoksit ve hidrojen peroksit üretir. Ancak, bu savunma mekanizmasının aşırı aktive olması, doku hasarına yol açarak romatoid artrit ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi rahatsızlıklara neden olabilir (Moncada vd, 1991; Anggärd, 1994).

Reaktif azot ve oksijen türleri, DNA bazlarında hasar oluşturarak mutasyonlara neden olabilir. DNA hasarı genellikle $O_2^{\bullet -}$, $OH^{\bullet}$ (Takeuchi vd, 1994) ve $ONOO^-$ (Floyd vd, 1988) gibi moleküllerden kaynaklanır ve bu durum kanserin en önemli nedenlerinden biri olarak kabul edilir (Guyton ve Kensler, 1993; Yermilov vd, 1995).

Antioksidanlar oksidatif stresin olumsuz etkilerini azaltmada önemli rol oynar. Doğal antioksidanlar arasında bitkisel fenolik bileşikler (tokoferoller, fenolik asitler, flavonoitler), azotlu bileşikler (aminler, alkaloitler, klorofil türevleri) ile karotenoidler ve organik asitler bulunur (Hudson, 1990). Ayrıca lizin, sistein, metiyonin, triptofan histidin gibi amino asitler ile sülfür bakımından zengin tiyoredoksin proteini de (Buchanan vd, 1994) güçlü antioksidan özellikler sergiler (Larson, 1988).

Öte yandan, sentetik antioksidanlar gıda bozulmasını önlemek ve raf ömrünü uzatmak amacıyla yaygın şekilde kullanılmaktadır. Günümüzde BHT (bütillenmiş hidroksitoluen), BHA (bütillenmiş hidroksianisol), TBHQ (*t*-bütilhidrokinon) ve PG (propil gallat) en sık tercih edilen sentetik antioksidanlardır. Ancak, bu maddelerin ve yan ürünlerinin bazı hastalıklara neden olabileceğini gösteren araştırmalar mevcuttur (da Silva vd, 2022; Wang vd, 2023; Alsherif, vd, 2023; Chen vd, 2024). Bu nedenle, sentetik antioksidanların yerine geçebilecek doğal kaynaklı yeni antioksidanların geliştirilmesine yönelik çalışmalar giderek önem kazanmakta ve bu alandaki araştırmalar artış göstermektedir (Lankanayaka vd, 2025)

1.9. Sitotoksik Maddeler

Kanser, dünya genelinde önde gelen ölüm nedenleri arasında yer almaktadır (Jeitler vd, 2020; Panda vd, 2022). Erkeklerde kansere bağlı ölümlerin en yaygın nedeni akciğer kanseri iken, kadınlarda meme kanseridir (Cancer; https://www.who.int/news-room/ fact-sheets/detail/cancer; assessed on 1 January 2022; Global Burden of Disease Cancer Collaboration vd, 2017). Bu durum genetik, UV, radyasyon ve kimyasal kirleticiler gibi risk faktörlerindeki farklılıklar, tanı-tespit uygulamaları ve tedavi seçeneklerindeki çeşitlilik gibi etmenlerle açıklanmaktadır. Geleneksel kanser tedavi

yöntemleri arasında cerrahi müdahale, kemoterapi ve radyoterapi yer almakla birlikte, bu yaklaşımlar ciddi yan etkilere, yüksek maliyetlere ve sınırlı tedavi edici etkinliğe sahip olabilmektedir (Cho, 2010). Bu nedenle, özellikle bitkiler ve mantarlar gibi doğal kaynaklardan elde edilen ürünlerin kanser tedavisindeki potansiyeli giderek artan bir ilgi odağı haline gelmiştir (Mattila vd, 2000; Reis vd, 2017).

Tıbbi özellikleri sayesinde son yıllarda mantarlar, fonksiyonel ilaç ve gıda geliştirme alanında büyük bir öneme sahip olmuştur. Yapılan istatistiksel analizlere göre, dünyada yaklaşık 3.000 yenilebilir mantar türü bulunmakta ve bunlardan yaklaşık 700'ü tıbbi değere sahiptir (Kalac, 2012). Yenilebilir mantarlar, yalnızca besleyici içerikleriyle değil, aynı zamanda terapötik potansiyelleriyle de dikkat çekmektedir (Roupas vd, 2012). Mantarlar (*Boletus, Inonotus, Ganoderma, Pleurotus, Armillaria* ve *Grifola* gibi) antitümör, hipokolesterolemik, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antiviral, antidiyabetik etkileri nedeniyle uzun süredir tıbbi gıda olarak değerlendirilmektedir (Zhang vd, 2019).

Mantarların terapötik etkileri, içerdikleri fenolik bileşikler, terpenoidler, steroidler, polisakkaritler, protein kompleksleri, glukanlar, lektinler ve diyet lifleri gibi çeşitli biyoaktif bileşenlerden kaynaklanmaktadır (Singh vd, 2014). Bu bileşenlerin, özellikle antikanser (Figueiredo ve Régis, 2017) ve immünomodülatör özelliklere (Ivanova vd, 2014; Kozarski vd, 2011) sahip olduğu yapılan birçok çalışmayla kanıtlanmıştır. Antikanser etkilerine ilişkin ilk bilimsel çalışmalar 1957 yılında gerçekleştirilmiş olup, kanseri hücre hattı üzerindeki etkileri rapor edilmiştir (Lucas vd, 1957). Bu öncü araştırmadan bu yana, farklı mantar türlerinden elde edilen polisakkaritlerin antitümör özellikleri yoğun bir şekilde araştırılmıştır (Wang vd, 2004; Jiang ve Sliva, 2010). Benzer şekilde, immünomodülatör etkileri ile öne çıkan glukanlar ve terpenoidler farklı ağaç türlerinde yaşayan mantarlardan (*Trametes, Fomes, Ganoderma, Phellinus, Schyzophillum, Fomitopsis, Inonotus)* izole edilebilmektedir (Rodrigues vd, 2011).

1.9.1. Antikanser ajanlar olarak mantar terpenoidleri

Terpenoidler, mantarlardan elde edilen ve sitotoksik özellikler sergileyen bir diğer bileşik grubudur. *Ganoderma lucidum* (reishi) mantarından izole edilen triterpenoidler, hücre döngüsünü G1 fazında durdurarak veya apoptozu tetikleyerek kanser hücrelerinde sitotoksik etkiler göstermiştir. Örneğin, illudin S gibi

triterpenoidler, DNA replikasyonunu durdurarak hücre ölümüne yol açar. Ancak, doğal halleri toksik olabileceğinden, illudin S'nin yarı sentetik türevleri klinik kullanım için daha uygun hale getirilmiştir (Liv d, 2013; Ivanova vd, 2014).

1.9.2. Antikanser ajanlar olarak mantar steroidleri, fenoller ve diyet lifleri

Mantar kaynaklı steroidler ve fenoller de sitotoksik aktivite göstermektedir. Ergosterol peroksit gibi steroidler, seçici olarak kanser hücrelerinin büyümesini baskılar. Ayrıca, fenoller antioksidan özellikleri ile kansere karşı koruyucu etkiler sergileyebilir (Ivanova vd, 2014; Zhou, 2025).

Diyet lifleri ise ağır metaller ve serbest radikaller gibi kanserojen maddeleri bağlayarak dolaylı yoldan kansere karşı koruma sağlar. Mantar hücre duvarında bulunan kitin ve polisakkaritler, bu tür koruyucu etkilerin temelini oluşturur (Ivanova vd, 2014; Hasan ve Abdulhadi, 2023).

2. MALZEME VE YÖNTEM

2.1. Mantarların Toplanması ve Teşhisleri

Tez kapsamında çalışılan iki tür *Infundibulicybe geotropa* (Bull.) Harmaja ve *Tricholoma scalpturatum* (Fr.) Quél. Ankara yöresinden, doğal habitatlarından Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Botanik Anabilim Dalı Prof. Dr. Ilgaz AKATA tarafından toplandı (Çizelge 2.1.). Mantarların teşhisleri aşağıda belirtilen mikroskobik, kimyasal ayıraç ve morfolojik tepkimelerine göre özellikleri tespit edilerek ve teşhis kitaplarından yararlanılarak makrofungusların türleri teşhis edildi. Mantar örnekleri Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Herbaryumu'nda saklanmaktadır.

Çizelge 2.1. *Infundibulicybe geotropa* ve *Tricholoma scalpturatum* mantarlarının kuru miktarları

Mantar Türü	Mantar Miktarı	Herbaryum Numarası	Toplanma Alanı
Infundibulicybe geotropa (Bull.) Harmaja	1242 g	ANK Akata 8489	Türkiye-Ankara, Ankara Üniversitesi Beşevler 10. Yıl Kampüsü, meşe ağacı altı, 870 m, 39° 56' N, 32° 50' E, 23.09.2021
Tricholoma scalpturatum (Fr.) Quél	495 g	ANK Akata 8421	Türkiye-Ankara, Ankara Üniversitesi Beşevler 10. Yıl Kampüsü, meşe ağacı altı, 870 m, 39° 56' N, 32° 50' E, 23.09.2021

Makrofungusların sistematiğinde genellikle familyaların bazen de genusların ayrımında spor baskısı önemli bir kriter oluşturmaktadır. Bu yüzden mantar örneklerinin öncelikle spor baskıları alındı; yüzeylerinin düz veya pürüzlü oluşu, boyutu, spor şekli, rengi, siğil ve apikulus taşıyıp taşımadığı gibi özellikleri ile hiflerin konumları, gibi mikroskobik özellikleri belirlendi

Mikroskobik çalışmalarda kullanılan ayıraçlar potasyum hidroksit, anilin mavisi, konsantre sülfirik asit, melzer ayıracı, amonyum hidroksit, kongo kırmızısı,

makroskobik çalışmalarda kullanılanlar ise sodyum hidroksit, potasyum hidroksit, nitrik asit, anilin ve sülfovanilindir.

Makrofungus örneklerinin teşhisinde stereo ve binoküler mikroskoplardan yararlanılmıştır. Sporların incelenmesi amacıyla, himenyum tabakasından alınan ince kesitler lam üzerine yerleştirilmiş ve potasyum hidroksit (%2, %3, %5), %10'luk amonyum hidroksit, %5'lik Melzer ayıracı veya kongo kırmızısı çözeltisi kullanılarak preparatlar hazırlanmıştır. Sporların en ve boy ölçümleri mikrometrik oküler ile gerçekleştirilmiş; 10–20 ölçüm yapılarak en küçük ve en büyük değerler arasındaki aralık belirlenmiş ve bu sayede spor boyutları saptanmıştır. Ayrıca sporların şekli, rengi, çeper kalınlığı, yüzey morfolojisi, por yapısı, çeşitli kimyasal ayıraçlara verdikleri tepkiler ve askus ya da bazidyum üzerinde taşınan spor sayıları gibi özellikler tanımlamada kriter olarak kaydedilmiştir. Bununla birlikte, himenyum bölgesindeki bazidyum ve sistit gibi yapılar ile şapka dokusunu oluşturan hiflerin morfolojik özellikleri de incelenmiştir.

Mantar örnekleri kurutulduktan sonra tartıldı ve çalışmaya tamamı dâhil edildi. Tez çalışmasında kullanılan mantar türlerinin ekstraksiyon eldesi ile ekstre kodları Çizelge 2.2.'de verilmektedir.

Çizelge 2.2. Mantar türlerinin ekstre kodları

Tür	Metot	Çözücü	Numune Formu	Analiz Kodu
Infundibulicybe geotropa Harmaja (Bull.)	Maserasyon	Petrol eteri	Ekstre	IG.PE
		Aseton		IG.As
		Metanol		IG.MeOH
		Sıcak Su		IG.HWES
		Sıcak Su		IG.HWEP
	İnfüzyon	Su		IG.D.inf
		Su		IG.İ.HWES
		Su		IG.İ.HWEP
Tricholoma scalpturatum (Fr.) Quél.	Maserasyon	Petrol eteri	Ekstre	TS.PE
		Aseton		TS.As
		Metanol		TS.MeOH
		Sıcak Su		TS.HWES
		Sıcak Su		TS.HWEP
	İnfüzyon	Su		TS.D.inf
		Su		TS.İ.HWES
		Su		TS.İ.HWEP

2.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler

Tüm kimyasal ve çözücüler analitik saflıkta olup tez kapsamında çalışılan mantar türlerinin ekstraksiyonunda, sitotoksik aktivite, antioksidan, antikolinesteraz, antidiyabetik ve timididin fosforilaz inhibisyon aktivitelerinde kullanılan kimyasallar ve çözeltiler aşağıda detaylandırılmıştır.

2.2.1. Kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler

α-tokoferol, *β*-karoten, linoleik asit sigma şirketinden; asetonitril Carlo Erba şirketinden; Folin Ciocalteu Reaktifi, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), ve bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) Fluka şirketinden; 5,5'-ditiyobis(2-nitro-benzoik asit) (DTNB), yılan balığından asetilkolinesteraz [AChE, Type-VI-S, EC 3.1.1.7, 425.84 U/mg], asetiltiyokolin iyodür (AcI), at serumundan bütirilkolinesteraz [BChE, EC 3.1.1.8, 11.4 U/mg], bütiriltiyokolin klorür (BuCI), sodyum karbonat, sodyum klorür, potasyum hidrojen ftalat, demir klorür, amonyum asetat, ABTS, alüminyum nitrat, potasyum asetat, sodyum karbonat, ferene, bakır klorür, neokuprin, Tween-40 [polioksietilen sorbitan monopalmitat], sodyum dihidrojen fosfat, hidroklorik asit, sodyum dihidrojen fosfat, *p*-nitrofenil-*α*-*D*-glukopiranosil, porcine pancreas *α*-amilaz, *Saccharomyces cerevisiae α*-glukosidaz, lugol, timidin, timidin fosforilaz enzimi ve trikloroasetik asit (TCA), pirokatekol, $CHCI_3$, asetik asit, petrol eteri, hekzan, aseton, metanol, dimetilsülfoksit, diklormetan, Merck şirketinden $Ce(SO_4)_2.4H_2O$, %10'luk H_2SO_4 ve potasyum hidroksit, konsantre sülfirik asit, anilin mavisi, amonyum hidroksit, sodyum hidroksit, kongo kırmızısı, potasyum hidroksit, nitrik asit, anilin ve sülfovanilin Merck şirketinden, tripton (CDH 91079-40-2), Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Sigma D1145), sodyum klorür (NaCl, Sigma 7647-14-5), maya ekstresi (NEOGEN MC001), agar (Liofilchem 611001), etanol (%99,8 Sigma 51976), metanol (%99,8 Sigma 322415), agaroz (Biomax 9012-36-6), Bakteriyolojik Pepton (Oxoid LP0037), gliserol (Merck 56-81-5), tris base (Sigma 77-86-1), kristal viyole (Merck 548-62-9), Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (PBS, Biowest L0616), Fetal Sığır Serumu (FBS, Biowest S1810), proteaz inhibitör kokteyli (BioVision K271-500), Dimetil sülfoksit (DMSO, Carlo Erba 445106), RPMI-1640 (Sigma R8758), penisilin (Capricorn PS-B), Tripsin-EDTA (%0,25 Sigma T3924), susuz piridin, *L*-

glutamin (Gibco 25030081), Tripan mavisi (Biological Industries 2041813), Annexin-V/propidyum iyodür (PI), tripsin EDTA, bis(trimetisilil)trifloroasetamit, C7-C30 hidrokarbon karışımı standardı, pentadekan standardı, paklitaksel, MTT [3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliyum bromür], primer antikorlar (Caspase 3, 8, 9), BCL-2, BAX, Na-EDTA (pH 7,5), %1,15 KCl, alkalin fosfataz taşıyan ikincil antikorlar, bişişonik asit, TBST solüsyonu, substrat çözeltisi (Tris-HCl, pH 8,80, sodyum klorür, $MgCl_2$, $ZnCl_2$, dietanolamin, nitrobluetetrazolyum, fenazinmetasülfat ve bromokloroindoilfosfat), cDNA, kilogreen master mix, β-aktin, hidrojen peroksit.

2.2.2. Kullanılan çözeltiler

2.2.2.1. İnce tabaka kromatografisinde kullanılan belirteçler

Serik sülfat belirtecinin hazırlanması: $Ce(SO_4)_2.4H_2O$ katısından 2,0 g /100 mL %10'luk H_2SO_4'de çözülerek hazırlandı. Belirteç, pulvarizatör kullanılarak uygun çözücü sisteminde yürütülen ince tabaka plaklarına püskürtüldü. Belirteç püskürtüldükten sonra 105°C'de etüvde lekeler oluşuncaya kadar bekletildi.

2.2.2.2. β-Karoten renk açılımı yönteminde kullanılan çözelti

β-karoten reaktifinin hazırlanması: *β*-karoten 0,5 mg /1 mL $CHCI_3$'da çözüldü. 20 µL lineloik ve 200 mg Tween-40 hazırlanan çözeltiye eklendi ve iyice karıştırıldı. Döner buharlaştırıcı ile $CHCI_3$ uçuruldu ve üzerine 50 mL oksijene doyurulmuş saf su eklendi ve kuvvetlice karıştırıldı.

2.2.2.3. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi yönteminde kullanılan çözelti

0,1 mM DPPH çözeltisinin hazırlanması: DPPH 3,94 mg/100 mL MeOH'de hazırlandı.

2.2.2.4. ABTS $^{+\bullet}$ giderim aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler

7,0 mM $ABTS^{+\bullet}$ hazırlanması: ABTS 19,2 mg/5 mL suda çözüldü. Üzerine son konsantrasyon 2,45 mM olacak şekilde $K_2S_2O_8$ eklendi, karıştırıldı ve 12-16 saat oda sıcaklığında bekletildi.

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

10 mM Cu(II) çözeltisinin hazırlanması: 0,1705 g $CuCl_2.2H_2O$, 100 mL deiyonize suda çözüldü.

1,0 M pH=7,0 NH_4Ac tamponunun hazırlanması: 7,708 g NH_4Ac, 100 mL deiyonize suda çözüldü.

7,5 mM neokuprin çözeltisinin hazırlanması: 0,039 g neokuprin, 25 mL %96'lık EtOH'de çözüldü.

2.2.2.6. Antikolinesteraz aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler

0,1 M fosfat tamponu hazırlanması: 8,89 g $Na_2HPO_4.2H_2O$ tartıldı. Bir miktar saf su ile çözüldü hacmi 500 mL'ye tamamlandı. 1,56 g $NaH_2PO_4.2H_2O$ tartıldı ve 100 mL'lik balon jojeye konuldu. Bir miktar saf su ile çözülerek 100 mL'ye tamamlandı.

0,1 M pH=8,0 tamponu hazırlanması: Fosfat tamponu için hazırlanan 0,1 M'lık $Na_2HPO_4.2H_2O$'den 94,7 mL, 0,1 M'lık $NaH_2PO_4.2H_2O$'den de 5,3 mL alındı. pH metre ile pH'ı kontrol edildi ve 200 mL'ye seyreltildi.

0,1 M pH=7,0 tamponu hazırlanması: Fosfat tamponu için hazırlanan 0,1 M'lık $Na_2HPO_4.2H_2O$'den 61 mL, 0,1 M' lık $NaH_2PO_4.2H_2O$'den de 39 mL alındı. pH metre ile pH'ı kontrol edildi ve 200 mL'ye seyreltildi.

DTNB çözeltisinin hazırlanması: 16,0 mg DTNB, pH=7,0 tamponunda çözüldü. Ayrı bir deney tüpünde 7,5 mg $NaHCO_3$ 1 mL pH=7,0 tamponunda çözüldü. İkisi karıştırıldı ve pH=7,0 tamponuyla 4 mL'ye seyreltildi.

0,71 mM AcI hazırlanması: 16,0 mg AcI tartılarak 4,0 mL deiyonize suda çözüldü.

0,2 mM BuCI hazırlanması: 4,0 mg BuCI tartılarak 4,0 mL deiyonize suda çözüldü.

AChE enziminin hazırlanması: 0,2 mg AChE, 4,0 mL pH=8 fosfat tamponunda çözüldü.

BChE enziminin hazırlanması: 0,2 mg BChE, 1,0 mL pH=8,0 fosfat tamponunda çözüldü.

2.2.2.7. α-Amilaz inhibisyon aktivite belirleme yönteminde kullanılan çözeltiler

20 mM Fosfat tamponunun hazırlanması: Stok çözeltiler için, 0,712 g $Na_2HPO_4.2H_2O$, deiyonize su yardımıyla çözünerek toplam hacim 200 mL'ye tamamlandı. 0,624 g $NaH_2PO_4.2H_2O$, deiyonize su yardımıyla çözünerek toplam hacim 200 mL'ye tamamlandı.

6,0 mM NaCl hazırlanması: 70,2 mg NaCI, deiyonize su yardımıyla çözünerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

20 mM pH=6,9, 6,0 mM NaCI içeren fosfat tamponu hazırlamak için, stok 0,1 M NaH_2PO_4'den 45 mL, stok 0,1M Na_2HPO_4'den de 55 mL alındı ve pH kontrolüyle son hacim 6 mM NaCI çözeltisi ile 200 mL ye seyreltildi.

50 µL %0,05'lik nişasta çözeltisi hazırlanması: 50 mg nişasta 20 mM pH=6,9, 6,0 mM NaCI içeren fosfat tamponu yardımıyla çözünerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

1 M HCl hazırlanması: 0,85 mL %37 HCI, deiyonize su yardımıyla toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

α-amilaz enziminin hazırlanması: 1 mg α-amilaz, 1 mL 20 mM pH=6,9 fosfat tamponu 6 mM NaCI'da çözüldü.

2.2.2.8. α-Glukozidaz inhibisyon aktivite belirleme yönteminde kullanılan çözeltiler

10 mM fosfat tamponunun hazırlanması: Stok çözeltiler için, 0,356 g $Na_2HPO_4.2H_2O$, deiyonize su yardımıyla çözünerek toplam hacim 200 mL'ye tamamlandı. 0,312 g $NaH_2PO_4.2H_2O$, deiyonize su yardımıyla çözünerek toplam hacim 200 mL'ye tamamlandı.

10,0 mM pH=6,9 fosfat tamponunun hazırlanması: stok NaH_2PO_4'den 45 mL, stok Na_2HPO_4'den de 55 mL alındı ve pH kontrolüyle son hacim 200 mL ye seyreltildi.

10,0 mM pH=6,0 fosfat tamponunun hazırlanması: stok NaH_2PO_4'den 86,75 mL, stok Na_2HPO_4'den de 13,25 mL alındı ve pH kontrolüyle son hacim 200 mL ye seyreltildi.

25 µL 0,5 mM 4-nitrophenyl-*α*-*D*-glukopiranozil (*p*-NPG): 1,51 mg *p*-NPG 10 mL 10 mM pH=6,9 fosfat tamponunda çözüldü.

0,1 M 90 µL sodyum karbonat hazırlanması: 1,06 g Na_2CO_3 deiyonize su yardımıyla toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

α-Glukozidaz enziminin hazırlanması: 1 mg *α*-glukozidaz, 1 mL 10 mM pH=6,0 fosfat tamponunda çözüldü.

2.2.2.9. Timidin fosforilaz (TP) inhibisyonu aktivite yönteminde kullanılan çözeltiler

0,1 M Fosfat tamponu hazırlanması: Stok çözeltiler için, 8,89 g $Na_2HPO_4.2H_2O$ tartıldı. Hacmi 500 mL'ye tamamlandı. 1,56 g $NaH_2PO_4.2H_2O$ tartıldı ve ultra saf su ile çözülerek 100 mL'lik hacme tamamlandı.

0,1 M ve pH=7,0 fosfat tamponu hazırlamak için: Hazırlanan stoktan 0,1 M'lık Na_2HPO_4'den 61 mL, 0,1 M'lık NaH_2PO_4'den de 39 mL alınarak, pH metre ile pH kontrol edildi. Hacmi 200 mL'ye tamamlandı.

3,0 mM Timidin çözeltisinin hazırlanması: 2,13 mg timidin, 5 mL pH=7,0 fosfat tamponunda çözüldü.

0,025 U Timidin Fosforilaz enziminin (TP) hazırlanması: 4µL timidin fosforilaz enzimi, 600 µL pH=7,0 fosfat tamponunda çözüldü.

0,5 M Trikloroasetik asit (TCA) çözeltisinin hazırlanması: 816,9 mg trikloroasetik asit, 10 mL suda çözüldü.

2.3. Kullanılan Aletler ve Laboratuvar Malzemeleri

Döner buharlaştırıcı (Heidolph Laborata 4000 Efficient Rotary Evaporator)
Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC-DAD) (Shimadzu)

Liyofilizatör, UV lamba (Kamag)

Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi Cihazı (GC/MS) (Varian 2100T)

He tüpü (GC grade, %99,999), Azot ve Oksijen Tüpleri

Elektrosprey uçuş zamanlı kütle spektrometrisi (ESI-TOF-MS)

Nükleer Manyetik Rezonans Cihazı (NMR), (Bruker Avance, 500 MHz ve 600 MHz (Cryo-cooled Problu), Gazi Üniversitesi)

Preperatif HPLC (Geri Dönüşümlü Preperatif HPLC, JNI, Japan Analytical Industry Co., Ltd.).

Manyetik Karıştırıcı (Heidolph MR 3001, Almanya)

Elisa Reader (SpectraMAx, 384PC^{340}, Moleculer Device)

Ultraviyole Spektrofometresi (Shimadzu UV–1601)

Ultrasonik banyo (Çalışkan Lab-ULT4030)

pH-metre (Thermo)

Hassas terazi (Sartorius CPA225D)

Ultra saf su cihazı (Adrona Crystal, Ex-1101)

Etüv (Binder ED115, Tuttinger-Almanya)

Silika jel adsorban (Merck-7734), Floresanslı ince tabaka (Merck-5554),

CO_2 İnkübatörü (Nüve EC160),

Santrifüj (Zentrifugen Mikro 200R),

-80^{o}C Derin Dondurucu (Nüve DF290)

Biyogüvenlik Kabini (Nüve MN 120),

Otoklav (Nüve OT40L)

Dikey Jel Sistemi (OmniPAGE, Cleaver Scientific)

Jel Görüntüleme Cihazı (gelLite, Cleaver Scientific)

Yatay Jel Elektroforez Sistemi (Major Science ME20)

Güç Kaynağı (Major Science MP-30V)

Floresan Hücre Sayıcı (Arthur, NanoEntek)

Take 3 NanoDrop Aparatı (Epoch, BioTek)

Çalkalamalı İnkübatör (Comecta WY-100)

Vorteks (Dragon Lab MX-F), Sonikatör (BANDELIN SonoPlus HD 2070)

Stereo ve Binoküler Mikroskop, Işık Mikroskobu (Olympus CX21), Floresan Mikroskobu (Olympus BX53F),

Gerçek Zamanlı-PZR Sistemi StepOnePlus (Applied Biosystems, Thermo),

PCR (Optimus 96G),

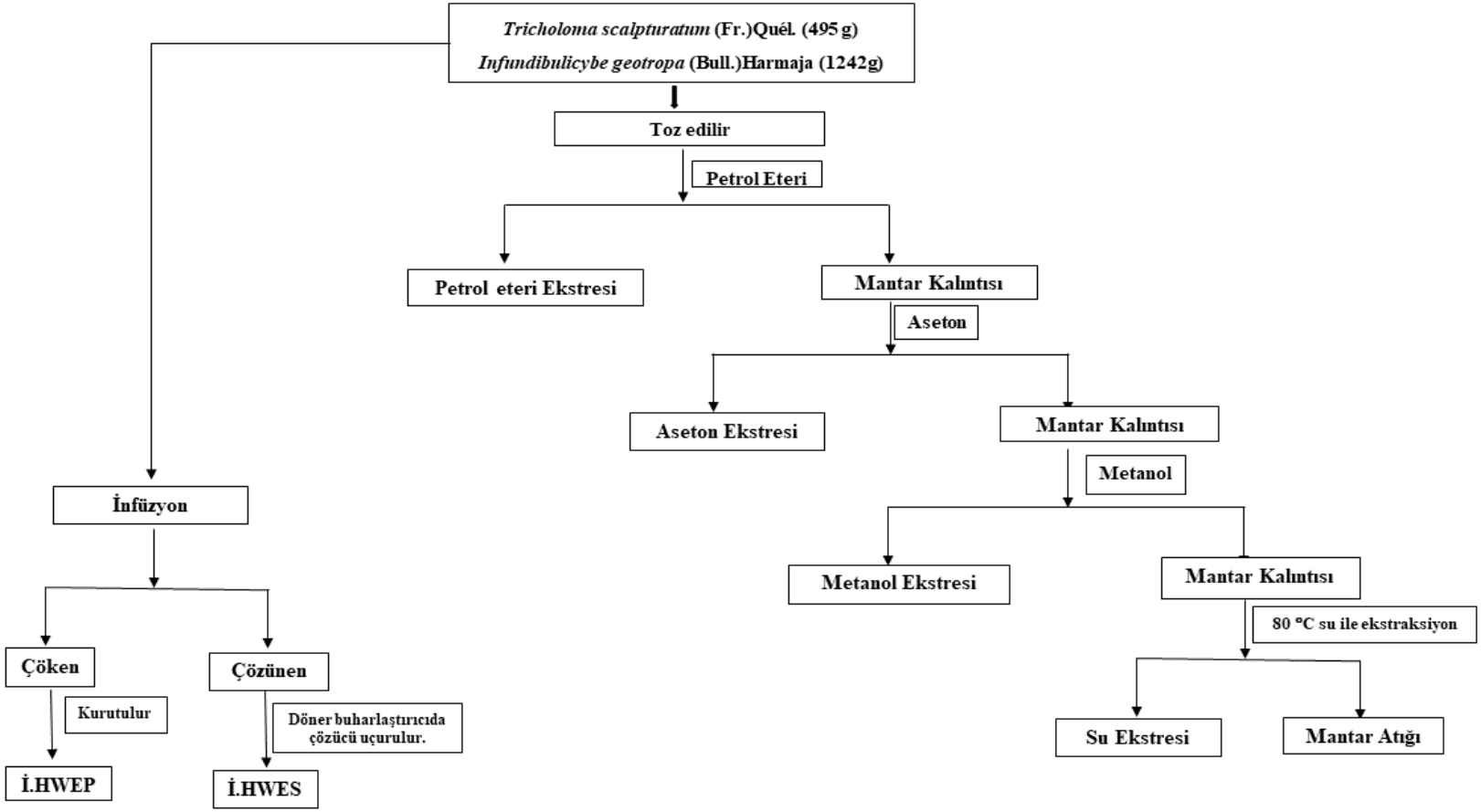
2.4. Mantarların Ekstraksiyonu ve Fraksiyonlandırma İşlemleri

2.4.1. Ekstrelerin hazırlanması

Toplanan mantarlar 4°C'de meyve kurutucusunda kurutulduktan sonra 495 g kuru *Tricholoma scalpturatum* ve 1242 g kuru *Infundibulicybe geotropa* elde edildi.

Kurutulan mantar örnekleri sırasıyla petrol eteri, aseton, metanol çözücüleri ile oda koşullarında (24 saat x 9 kez) ekstraksiyonları yapıldı. Elde edilen petrol eteri, aseton ve MeOH ekstrelerinin çözücüleri döner buharlaştırıcıda buharlaştırıldıktan sonra, her bir çözücüye ait ham ekstreler elde edildi. MeOH ekstresi alınan mantar kalıntıları kurutulduktan sonra 80ºC sıcak su ile ekstre edildi. Su ekstresi süzüldükten sonra, süzüntünün üzerine hacimce 3 kat fazla EtOH eklenerek molekül ağırlığı yüksek olan polisakkaritlerin çökmesi sağlandı. Çökelek santrifüjlenerek alındı ve alkolde çöken polisakkaritlere "HWEP" kodu verildi. Çökelek santrifüj ile ayrıldıktan sonra, supernatant bulunan etanol [EtOH:su, (3:1) karışımı] döner buharlaştırıcı ile uzaklaştırıldı. Bu yöntemle elde edilen alkolde çözünen polisakkaritlere "HWES" kodu verildi. Kurutulan mantar örnekleri küçük parçalara ayrıldıktan sonra üzerine doğrudan sıcak su eklenerek infüzyon yapıldı. Filtre kağıdından süzüldükten sonra çöken kısma "İ.HWEP" kodu; döner buharlaştırıcıda çözücü uçurulduktan sonra kalan kısmına "İ.HWES" kodu verildi. Şekil 2.1.'de mantarların ekstraksiyon yöntemi verilmektedir. Ekstrelerin verimi aşağıdaki formüle (2.1) göre hesaplandı.

$$\%\text{Verim} = \frac{\text{Ekstre miktarı (g)}}{\text{Mantar miktarı (g)}} \text{ x } 100 \qquad (2.1)$$



Şekil 2.1. *I. geotropa* ve *T. scalpturatum* mantarlarının ekstraksiyon şeması

2.5. Hücre Kültürü Çalışmaları ve Sitotoksisitenin Belirlenmesi

2.5.1. Hücre kültürüne örneklerin uygulanması

Çalışma boyunca kullanılacak olan mantarların petrol eteri, aseton, MeOH ve su ekstreleri (HWEP, HWES, İ.HWEP ve İ.HWES) ve fraksiyonlarının sitotoksik etkileri insan meme (MCF-7), kolon kanseri (CaCo-2), akciğer (H1299) ve prostat (LnCap), ve hücre hatlarında belirlendi. İnsan embriyonik böbrek (HEK293) hücre hattı ise kontrol olarak kullanıldı. Tüm hücreler 37°C, %5 CO_2 ve %95 nem koşullarında ve %10 fetal sığır serumu (FBS) içeren DMEM veya RPMI besi ortamı içerisinde inkübatör içinde çoğaltıldı. Örneklerin hücreler üzerindeki sitotoksik aktivitesi MTT [3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliyum bromür] metodu kullanılarak *belirlendi. Kısaca, 0,2 mikronluk filtrelerden geçirilerek steril hale getirilen* örneklerin 5 farklı (15,625; 31,25; 62,5; 125 ve 250 µL/mL) konsantrasyonları 96 kuyucuklu plakalarda daha önceden ekilen hücrelere (her kuyucukta 2.5-5 x 10^3 hücre) 24 saat boyunca uygulandı. Test edilen örneklerle hacimce aynı orandan çözücüsü ile muamele edilmiş hücreler kontrol olarak kullanıldı. Ayrıca paklitaksel pozitif kontrol olarak sitotoksite deneylerinde kullanıldı. 24 saat sonunda besi yeri uzaklaştırılarak, yeni besiyeri ve MTT solüsyonu eklendi ve 4 saat 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Metabolik aktivite sonucunda oluşan formazon kristallerinin DMSO içinde çözülmesi sonunda oluşan renk, 590 nm'de mikroplaka okuyucuda ölçüldü. Elde edilen değerler kullanılarak hücrelerin yarısını öldüren konsantrasyon olan EC_{50} değerleri hesaplandı (Şahin vd, 2021; Şen vd, 2015).

2.5.2. Apoptoz analizleri

Ekstrelerin apoptotik etkilerinin belirlenmesi amacıyla aşağıda verilen üç farklı yaklaşımla apoptoz analizleri gerçekleştirildi.

2.5.2.1. Western blot analizleri

Yüksek sitotoksik etki gösteren ekstrelerin apoptotik etkilerinin olup olmadığının belirlenmesi amacıyla apoptoz mekanizmasında görev alan proteinlerin seviyelerinde

meydana gelen değişimleri belirlemek için western-blot tekniği kullanıldı. Bu kapsamda apoptoz yolağında rol aldığı bilinen BCL-2, kaspazlar (Kaspaz 3, 8, 9) ve BAX gibi proteinlerin ekspresyonları test edilen ekstraktrların uygulanması sonrasında araştırıldı. GAPDH 24 saat boyunca EC_{50} yarı maksimal etkili konsantrasyonları ile muamele edilen hücreler proteaz inhibitörü, Na-EDTA (pH 7,5) ve %1,15 KCl içeren homojenizasyon solusyonunda sonike edilerek parçalandı. Toplanan örnekler farklı eppendorf tüplere alındı ve bişişonik asit metotu ile protein miktarları tayin edildi. Toplanan hücre lizatları (50-75 µg protein) SDS-Poliakrilamit Jel Elektroforez (SDS-PAJE) yöntemi ile ayrıştırılarak nitroselüloz membrana Panther Semidry Electroblotter Model HEP-3 kullanılarak transfer edildi. Transfer sonunda membran çıkarılıp yağsız süt tozu içeren bloklama çözeltisi ile muamele edildi. Bir saat sonunda, membran önce primer antikorlar (Kaspaz 3, 8, 9, BAX, BCL-2) ve daha sonra alkalin fosfataz taşıyan ikincil antikorlarla inkübe edildi. Antikor ile muamele edilmiş membranlar, 3 kez TBST solüsyonu ile yıkandıktan sonra, protein bantları substrat çözeltisi (NaCl, Tris-HCl, pH 8,80, $MgCl_2$, dietanolamin, $ZnCl_2$, fenazinmetasülfat, nitrobluetetrazolyum ve bromokloroindoilfosfat) eklenmesiyle görünür hale getirildi. Oluşan bantlarının yoğunlukları Scion Image Analyzer ImageJ ile densitometrik olarak tayin edildi. İnternal standart olarak *β*-aktin kullanıldı (Arınç vd, 2007).

2.5.2.2. Apoptozda görev alan genlerin mRNA düzeyinde ekspresyonlarının analizi

Apoptozda görev aldığı bilinen ve bir önceki kısımda isimleri verilen genlerin (caspase 3, 8, 9, BAX, BCL-2) mRNA düzeylerinin uygulamalar sonucunda nasıl değiştiğinin belirlenmesi amacıyla ekstrelerle muamele edilmiş ve kontrol; hücrelerinde üretici firmanın önerdiği protokol doğrultusunda Analytic; Jena RNA izolasyon kiti kullanılarak total RNA izole edildi. İzole; edilen RNA'ların kalitesi A260/280 oranına ve agaroz jel elekroforez ile belirlendi. İzole edilen RNA'lardan cDNA dönüşümü cDNA; sentez kiti kullanılarak gerçekleştirildi. Elde; edilen cDNA'lar uygulamalar sonucunda mRNA seviyelerindeki değişimler gerçek zamanlı PZR ile belirlendi. Bu amaçla yukarıda verilen genlere ait uygun primer dizileri GenBank/EMBL veri; bankaları kullanılarak belirlendi (Çizelge 2.3). Gerçek zamanlı PZR için, 2,0 µL cDNA, 10 µL "kilogreen master mix", primerler ve steril su içeren

karışımın (toplam hacim 20 µL) karıştırılarak cihaza yerleştirildi. Her bir gen için uygun yapışma sıcaklıkları kullanılarak PZR; gerçekleştirildi. PZR sonunda elde edilen Ct değerlerine; göre analizleri yapılarak mRNA seviyelerindeki değişimler ortaya konuldu. İnternal; standart olarak β-aktin, kullanıldı (Özgün-Acar vd, 2016).

Çizelge 2.3. Apoptoz ilişkili genlerin primer dizileri

İsim	Primer Sekansı (5'→3')
BaxF	AGAGGATGATTGCCGCCGT
BaxR	CAACCACCCTGGTCTTGGATC
Bcl-2F	TGCACCTGACGCCCTTCAC
Bcl-2R	AGACAGCCAGGAGAAATCAAACAG
Kaspaz3F	GCA GCA AAC CTC AGG GAA AC
Kaspaz3R	TGTCGG CAT ACT GTT TCA GCA
Kaspaz8F	TCTGGAGCATCTGCTGTCTG
Kaspaz8R	CCTGCCTGGTGTCTGAAGTT
Kaspaz9F	GGCTGTCTACGGCACAGATGGA
Kaspaz9R	CTGGCTCGGGGTTACTGCCAG
β-actinF	CTGCTTGCTGATCCACATCTG
β-actinR	TCCTCCTGAGCGCAAGTACTC

2.5.2.3. Floresans hücre sayıcı ile apoptozun belirlenmesi

Ekstrelerin apoptotik etkilerinin belirlenmesine yönelik bir diğer yaklaşımda floresans imaj sitometri cihazı kullanıldı. Bu amaçla, kontrol ve kanser hücreleri her bir kuyucuğa $2{,}5\times10^5$ hücre olacak şekilde 6 kuyucuklu plakalara ekildi ve 24 saat süreyle inkübatörde bekletilerek hücrelerin yüzeye tutunmaları sağlandı. Ardından hücrelere, ekstrelerin EC_{50} konsantrasyonları uygulandı ve 24 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. Pozitif kontrol olarak hidrojen peroksit kullanıldı. Süre sonunda hücreler tripsin yardımıyla toplandı ve Annexin bağlanma tamponu içinde süspanse edildi. Boyama işlemi için Annexin-V ve propidyum iyodür (PI) boyaları eklendi; örnekler karanlık ortamda yaklaşık 30 dakika inkübe edildi. İşlem sonunda hazırlanan örnekler Arthur floresans imaj sitometri cihazına yüklenerek analiz edildi. Böylece, uygulanan mantar ekstrelerinin kanser hücreleri üzerindeki apoptotik etkileri tespit edildi (Yong vd, 2014).

2.6. Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

Mantar ekstreleri EtOH ve DMSO'da çözünüp örneklerin farklı (500; 1000; 2000 ve 4000 ug/mL) konsantrasyonlardaki stok çözeltileri hazırlandı. Negatif kontrol olarak DMSO ve EtOH kullanıldı. Standart olarak α-tokoferol ve BHA kullanıldı.

2.6.1. β-karoten-linoleik asit renk açılımı yöntemi

Ekstrelerin antioksidan aktiviteleri, linoleik asit oksidasyonu sonucu oluşan konjuge dien hidroperoksitlerin inhibisyonuna dayanan β-karoten–linoleik asit yöntemi kullanılarak belirlendi (Miller, 1971; Deveci vd, 2023). Reaksiyon sonucu β-karotenin sarı renginde meydana gelen azalma, 470 nm dalga boyunda UV-spektrofotometre ile ölçüldü. Farklı konsantrasyonlardaki 40 µL stok örnek çözeltilerine, 160 µL β-karoten çözeltisi ilave edilerek emülsiyon oluşturuldu ve bu karışım mikroplakalara aktarıldıktan hemen sonra başlangıç absorbansı (t=0) 490 nm'de kaydedildi. Ardından mikroplakalar 45 °C'de inkübasyona bırakıldı ve kontrolde β-karoten renginin kaybolmasına kadar (yaklaşık 120 dakika boyunca, her 30 dakikada bir) ölçümler tekrarlandı. β-karotenin renk açılım oranı (R), formül 2.2 kullanılarak hesaplandı.

$$R = \frac{\ln(\frac{a}{b})}{t} \qquad (2.2)$$

ln: doğal logaritma, a: başlangıç absorbansı, b: inkübasyon bitimindeki son absorbans, t: inkübasyon süresi (dk)

Antioksidan Aktivite (AA) aşağıdaki formüle (2.3) göre hesaplandı:

$$\text{Lipid Peroksidasyonu İnhibisyon (\% inhibisyon)} = \frac{R_{Kontrol} - R_{Örnek}}{R_{Kontrol}} \text{x100} \qquad (2.3)$$

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

2.6.2. DPPH serbest radikal giderim aktivite yöntemi

Mantar ekstrelerin serbest radikal giderim aktiviteleri DPPH serbest radikali kullanılarak tespit edildi (Blois, 1958). Farklı konsantrasyonlardaki 40 µL stok örnek çözeltilere, 160 µL DPPH çözeltisi ilave edildi. Numunelerin 25°C'de 30 dk. inkübasyonunun ardından 517 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbans ölçümü yapıldı. Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki formüle (2.4) göre hesaplandı:

$$\text{DPPH Giderim Aktivitesi (\% İnhibisyon)} = \frac{A_{Kontrol} - A_{\text{Örnek}}}{A_{Kontrol}} \text{x100} \quad (2.4)$$

$A_{Kontrol}$, kontrolün absorbansı; $A_{Örnek}$ ise örneğin absorbansıdır.

2.6.3. ABTS katyon radikal giderim aktivitesi yöntemi

Mantar ekstrelerinin katyon radikal giderim aktiviteleri ABTS katyon radikali kullanılarak tespit edildi (Re vd, 1989). Farklı konsantrasyonlardaki 40 µL stok örnek çözeltilere 160 µL ABTS çözeltisi ilavesinin ardından numunelerin 734 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbans ölçümü yapıldı. Katyon radikal giderim aktivitesi aşağıdaki formüle (2.5) göre hesaplandı:

$$\text{ABTS Giderim Aktivitesi (\% İnhibisyon)} = \frac{A_{Kontrol} - A_{\text{Örnek}}}{A_{Kontrol}} \text{x100} \quad (2.5)$$

2.6.4. CUPRAC aktivite yöntemi (Bakır (II) indirgeme gücü)

Mantar ekstrelerinin Cu (II) indirgeme kapasiteleri, Apak vd. (2004) metoduna tarafından bildirilen yöntem esas alınarak belirlendi. Her bir örnekten farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış stok çözeltilerden 40 µL alınarak, üzerine 60 µL pH 7,0 amonyum asetat tamponu ve 100 µL neokuprin-Cu (II) reaktifi ilave edildi. Hazırlanan karışımlar 25 °C'de 1 saat bekletildi. Ardından absorbans ölçümleri 450 nm dalga boyunda spektrofotometrede yapıldı (Öztürk vd, 2007).

2.7. Antikolinesteraz Aktivitelerinin Belirlenmesi

Ellman vd. (1961) metodu kullanılarak ekstrelerin antikolinesteraz aktivitesi belirlendi Her iki test için negatif kontrol olarak EtOH ve pozitif kontrol olarak galantamin kullanıldı.

2.7.1. AChE inhibisyon aktivite yöntemi

Yılan balığından enzim olarak elde edilen asetilkolinesteraz (AChE), substrat olarak asetilkolin iyodür (AcI) ve enzim aktivitesinin ölçümünde 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) kullanıldı. Her bir kuyucuğa sırasıyla 160 µL 0,1 M, pH 8,0 fosfat tamponu, 10 µL farklı konsantrasyonlardaki mantar ekstre çözeltileri ve 10 µL AChE çözeltisi ilave edilerek ilk absorbans değerleri alındı. Plaka oda sıcaklığında 15 dakika inkübasyona bırakıldı. Sürenin sonunda, her kuyucuğa 10 µL DTNB çözeltisi ve ardından 10 µL AcI çözeltisi eklenir eklenmez, 412 nm dalga boyunda 10 dakika süreyle kinetik absorbans ölçümü yapıldı.

2.7.2. Bütirilkolinesteraz (BChE) inhibisyon aktivite yöntemi

At serumundan enzim olarak elde edilen bütirilkolinesteraz (BChE), substrat olarak bütirilkolin iyodür (BuCI) ve aktivitenin tespiti için sarı renkli 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) kullanıldı. Her bir kuyucuğa sırasıyla 160 µL 0,1 M, pH 8,0 fosfat tamponu, 10 µL farklı konsantrasyonlardaki ekstre çözeltileri ve 10 µL BChE çözeltisi ilave edilerek ilk ölçümler alındı. Mikroplaka oda sıcaklığında 15 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından, her bir kuyucuğa 10 µL DTNB ve 10 µL BuCI çözeltileri eklenir eklenmez 412 nm dalga boyunda 10 dakika süresince kinetik absorbans ölçümleri gerçekleştirildi.

2.8. Antidiyabetik Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.8.1. *α*-Amilaz inhibisyon aktivite yöntemi

Enzim olarak porcine pancreas'dan elde edilen *α*-amilaz, substrat olarak nişasta, aktivitenin ölçümü için ise lugol kullanıldı. 25 µL farklı konsantrasyonlarda stok

mantar ekstrelerinin üzerine 25 µL *α*-amilaz ilave edildikten sonra 10 dk. 37°C'de inkübasyona bırakılıp, üzerine 50 µL nişasta çözeltisi eklenerek yine 10 dk. 37°C'de inkübasyona bırakıldı. 25 µL 0,1 M HCl ile 100 µL lugol çözeltisi ilave edildikten sonra 565 nm'de absorbans ölçümü yapıldı (Quan vd, 2019). Standart madde olarak akarboz kullanıldı.

2.8.2. *α*-Glukosidaz inhibisyon aktivite yöntemi

Enzim olarak *Saccharomyces cerevisiae*'dan elde edilen *α*-glukosidaz, substrat olarak *p*-nitrofenil-*α*-*D*-glukopiranosil (*p*-NPG) kullanıldı. 50 µL 10mM pH:6,9 fosfat tamponu, 25 µL 0,5 mM *p*-NPG birlikte çözülür. Üzerine 10 µL farklı konsantrasyonlarda stok mantar ekstreleri eklendi. 25 µL *α*- glukosidaz çözeltisi ilave edildikten sonra 20 dk. 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Son olarak da üzerine 90 µL 0,1 M Na_2CO_3 çözeltisi eklenerek 400 nm'de absorbans ölçümü yapıldı (Kim vd, 2010). Standart madde olarak akarboz kullanıldı.

2.9. Timidin fosforilaz (TP) inhibisyon aktivite yöntemi

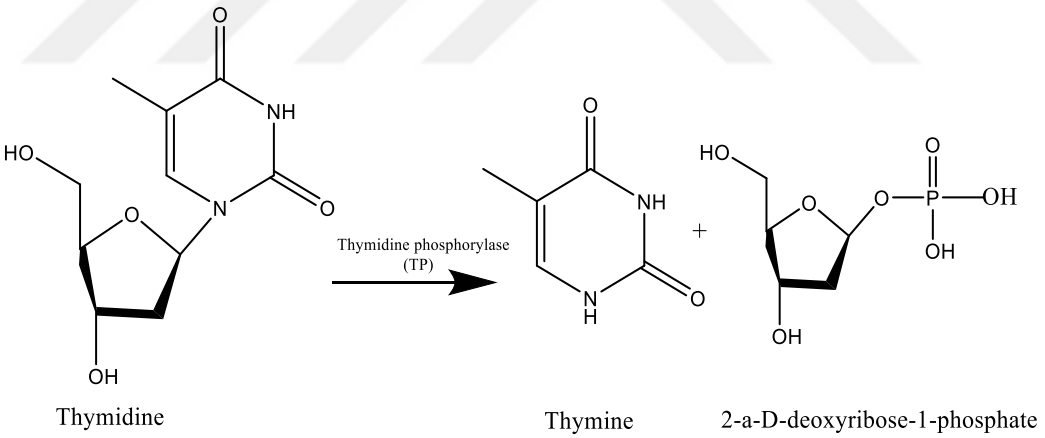
Ekstrelerin ve infüzyonların timidin fosforilaz inhibisyon aktivitesi, HPLC-DAD cihazı kullanılarak belirlendi (Hill vd, 1997; Mohamed vd, 2014). Enzim olarak timidin fosforilaz, substrat olarak timidin kullanıldı. Mikroplaka üzerindeki her kuyucuğa sırasıyla 120 µL 100 mM (pH 7,0) fosfat tamponu, 5 µL farklı konsantrasyonlarda örnek, 30 µL timidin fosforilaz enzimi (0,025 U/well) eklendi. Numuneler 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. Ardından her kuyucuğa 20 µL 3,0 mM timidin çözeltisi ilave edilerek 5 dakika karıştırıldı. Daha sonra 25 µL 0,5 M trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi eklenerek reaksiyon durduruldu (Çizelge 2.4). Hazırlanan numuneler 300 µL'lik viallere alınarak ODS-C18 (25 mm x 4,6 mm, 5 µm) kolonu takılı HPLC-DAD cihazında, 0.9 mL/dk akış hızı ve 35°C kolon sıcaklığında analiz edildi. Mobil faz olarak 100 mM fosfat tamponu (pH 7,0) ve metanol kullanıldı. Elüsyon, gradient programı ile yürütüldü ve analizler 267 nm'de değerlendirildi.

Ekstrelerin inhibisyonları timidinin miktarının azalmasından aşağıdaki formül (2.6) kullanılarak hesaplandı. Örneğin yerine çözücüsünün konulduğu bir deney de

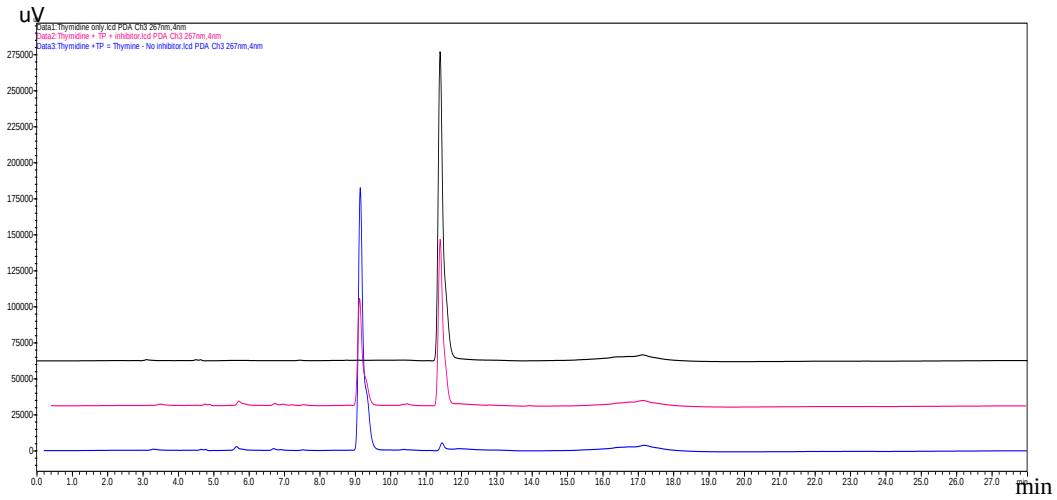
yapılarak $A_{kontrol}$ olarak etiketlendi. Son deneme hiç inhibitör olmadığı durumda 5 dk'da ne kadar timidinin timine dönüştüğünü anlamak için test edildi (Şekil 2.2) (Bronckaers vd, 2009; Deves vd, 2014). İnhibitör varlığında $A_{kontrol}$'ün altında bir alan elde edilirse, örneğin inhibisyondan ziyade aktive edici bir özelliğinin olabileceği değerlendirildi.

Çizelge 2.4. Timidin fosforilaz inhibisyon aktivitesi çalışma çizelgesi

	$A_{kontrol\ (timidin)}$	$A_{inhibitör}$	$A_{örnek\ *}$	A_{timin}
Fosfat tamponu (100 mM pH=7,0)	150 µL	170 µL	120 µL	120 µL
İnhibitör	5 µL DMSO	5 µL	5 µL	5 µL DMSO
Timidin fosforilaz enzimi (0,025 U/well)	-	-	30 µL	30 µL
Timidin (3,0 mM)	20 µL	-	20 µL	20 µL
Trikloroasetik asit (TCA) (0,5 M)	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL



Şekil 2.2. Timidin fosforilaz (TP) enzimi, inorganik fosfat varlığında timidinin timine ve 2-deoksi-a-D-riboz-1-fosfata geri dönüşümlü fosforolizini katalize etmesi (Bronckaers vd, 2009; Deves vd, 2014)



Şekil 2.3. 200 µg/mL konsantrasyondaki örnek ekstresinin timidin inhibisyon aktivitesi kromatogramı (TP: Timidin fosforilaz; timin: 8,75 dk: ve timidin: 11,3 dk.)

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{A_{\text{örnek}}}{A_{\text{timidin}}} x100 \qquad (2.6)$$

$A_{örnek}$: İnhibitörün ve enzimin varlığında timidinin alanı (Kromatogramda kırmızı *t: 11,3 dk.*); $A_{Timidin}$: enzimsiz ve inhibitörsüz ortamda timidinin alanı (kromatogramda siyah *t: 11,3 dk.*). $A_{Kontrol}$: enzimin varlığında ve inhibitörsüz ortamda timidinin alanı (kromatogramda mavi *t=11.3 dk.*).

2.10. Kromatografik Yöntemler

2.10.1. Kolon kromatografisi

Sitotoksik aktivite gösteren ekstreleri fraksiyonlandırmak ve bu fraksiyonlardan saf maddeler elde etmek için kolon kromatografisinde silika jel kullanıldı. Ekstreler uygun çözücüde çözülerek adsorban ile karıştırılıp oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Kuruyan karışım ekstre miktarına uygun olarak seçilmiş ve boyunun 2/3 oranında silika jel ile doldurulmuş kolonun üst kısmına paketleme yöntemiyle yerleştirildi.

Elüsyona %100 petrol eteri ile başlanarak %5'lik oranlarda $CHCI_3$ artırıldı ve %100 $CHCI_3$'a ulaşıldı. Devamında %100 $CHCI_3$ ile yıkanan aynı kolon %5'lik oranlarda aseton artırılarak %100 aseton olana kadar devam edildi. Akabinde, %100 aseton ile

yıkanan aynı kolon %10'luk oranlarda MeOH artırılarak %100 MeOH olana kadar devam edildi. %100 MeOH'e ulaşınca elüsyona son verildi. İTK kullanılarak benzer fraksiyonlar birleştirildi. Çözücü sistemi olarak, uygun oranlarda hekzan:$CHCI_3$ (50:50), hekzan:etil asetat (60:40); $CHCI_3$:aseton (70:30); $CHCI_3$:MeOH (90:10); $CHCI_3$:toluen:MeOH (10:15:2) karışımları ve polariteye göre uygun karışımlar kullanıldı. Adsorban olarak normal faz silika jel ve floresans katılmış ince tabaka (Merck-5554) kullanıldı. Saflaştırma için preparatif Recycle Preperatif HPLC kullanıldı.

2.10.2. İnce tabaka kromatografisi

Silika jel kaplı hazır İTK plakları (20 × 20 cm) kullanılarak, sitotoksik aktivite gösteren ekstrelerden kolon kromatografisiyle elde edilen fraksiyonlar karşılaştırıldı. Maddelerin saflaştırılmasında preparatif ince tabaka kromatografisi uygulandı.

2.10.3. Preperatif HPLC-UV-RI

Petrol eteri ve aseton ekstrelerinin içeriğindeki maddelerin ayrılması, kolon kromatografisi yöntemiyle gerçekleştirildi ve fraksiyonların saflaştırma işlemi, ince tabaka kromatografisi ile fraksiyonlarda 3-4 bileşik içerdiği tespit edilene kadar devam edildi. Alt fraksiyonların ayrılmasında, gerektiğinde hem gradient Recycle Preperatif HPLC hem de izokrotik Recycle Preperatif HPLC yöntemlerinden faydalanıldı. Gradient Recycle Preperatif HPLC 'de 50 µm partikül çapına sahip silika kolon (250 mm x 20 mm) kullanılırken son temizliklerin yapıldığı izokrotik Recycle Preperatif HPLC 'de 10 µm partikül çapına sahip silika kolon (250 mm x 20 mm) kullanıldı. 3-4 bileşik içeren ayrılabileceğini düşündüğümüz fraksiyonlardan 50 mg tartılıp, kolon şartlarındaki çözücüsü ile çözdükten sonra Preperatif HPLC cihazına enjekte edildi. Bileşenlerin ayrılma süreleri dikkate alındı ve birbirinden ayrılan maddeler cihazdan alındı.

İzokrotik Recycle Preperatif HPLC-UV-RI izokrotik çözücü sistemi hekzan:etil asetat (75:25) seçildi. Akış hızı kromatogramdaki rezolusyona göre dakikada 5 mL olarak ve dedektör 254 nm olarak ayarlandı, UV aktif olmayan maddeler ise sadece RI dedektörde izlendi.

Gradient Recycle Preperatif HPLC -DAD'a gradient çözücü sistemi hekzan:etil asetat artan oranları seçildi. Akış hızı kromatogramdaki rezolusyona göre dakikada 5 mL olarak ve dedektörde dalga boyları eş zamanlı olarak 210, 254, 280, 320 nm olarak ayarlandı. Uygun alt fraksiyonlar son temizleme için izokratik preperatif HPLC-UV-RI cihazı kullanılarak saflaştırıldı.

2.10.3.1. Preparatif gradient HPLC çalışma şartları

Kolonlar: Maddenin polaritesine göre farklı tip kolon sistemleri kullanıldı.

Kolon: JAIGEL-ODS–AP, SP–120-15, silika kolon (250 x 20 mm ID; 50 µm)

Dedektörler: UV (210, 254, 280, 320 nm)

Akış hızı: 5 mL/dk

Çözücüler: Maddenin polaritesine göre farklı tip çözücü sistemleri kullanıldı.

Çözücü: Hekzan:Etil asetat

Enjeksiyon miktarı: 5 mL (maksimum 100 mg)

Çizelge 2.5. Preparatif Gradient HPLC cihazı analiz şartları

Kolon	Silika kolon (250 x 20 mm ID; partikül çapı 50 µm)			
Mobil Faz A	Hekzan			
Mobil Faz B	Etil asetat			
Dedektör	DAD dedektör			
Dedektör Dalga Boyu	210, 254, 280, 320 nm			
Enjeksiyon Hacmi	5 µL			
Analiz süresi	99 dk			
Gradient Program	Zaman (dk)	Akış (mL/dk)	% Solvent A	% Solvent B
	0,00	5,00	95,00	5,00
	0,50	5,00	95,00	5,00
	20,00	5,00	90,00	10,00
	40,00	5,00	70,00	30,00
	60,00	5,00	50,00	50,00
	65,00	5,00	50,00	50,00
	75,00	5,00	25,00	75,00
	85,00	5,00	00,00	100,00
	90,00	5,00	00,00	100,00
	99,00	5,00	95,00	5,00

2.10.3.2. İzokratik preparatif HPLC çalışma şartları

Kolonlar: Maddenin polaritesine göre farklı tip kolon sistemleri kullanıldı.

Kolon 1: JAIGEL-SIL, SH-0,43-15 (partikül boyutu: 10 µm; boyut: 120(A))

Kolon 2: JAIGEL-W-254 (Size elution chromatography exlusion limit, 400.000 Da; İçerik: %70 methacrylate polymer ve %30 C18; 500 x 20 mm ID)

Dedektörler: UV (254 nm) ve Refraktif İndeks

Akış hızı: Maddenin polaritesine göre farklı akış hızları kullanıldı. (3 mL/dk ve 5 mL/dk**)**

Çözücüler: Maddenin polaritesine göre farklı tip çözücü sistemleri kullanıldı.

Çözücü 1: Hekzan: Etil asetat (9:1)

Çözücü 2: Hekzan: Etil asetat (75:25)

Çözücü 3: $CHCI_3$:MeOH (95:5)

Çözücü 4: $CHCI_3$:MeOH (9:1)

Enjeksiyon miktarı: 3 mL (maksimum 50 mg)

2.10.4. GC-MS kullanılarak yapılan tanımlamalar

I. geotropa aseton ekstresinden elde edilen IG.As.3.3 (**24**), IG.As.3.4 (**25**), IG.As.3.9 (**30**), IG.As.3.10 (**31**), IG.As.3.11 (**32**) ve *T. scalpturatum'un* aseton ekstresinden elde edilen TS.As.3.6 (**6**), TS.As.3.7 (**7**), TS.As.3.11 (**11**), TS.As.4.7 (**18**) fraksiyonları tanımlamak amacıyla gaz kromatografisine enjeksiyon yapıldı.

2.10.4.1. Hidroliz işlemlerinin yapılması

1 mg madde 1,0 M 1mL HCI asit ile çözülürek 80˚C'de 6-12 saat bekletildi. Örnekler buharlaştırıldıktan sonra hekzan ile yıkanarak tamamen kurutuldu.

2.10.4.2.Sililleme işlemlerinin yapılması

1 mg madde 10 µL susuz piridin de çözüldü, üzerine 15 µL Bis(trimetisilil)trifloroasetamit eklendi ve 30 dk 60˚C'de bekletildi. 100 µL $CHCI_3$ eklenerek seyreltildi ve GC-MS'e 0,2 µL injeksiyon yapıldı. Çizelge 3.2'de verilen şartlar kullanılarak, GC-MS analizi gerçekleştirilmiştir. NİST2015 kütüphanesi kullanılarak bileşenlerin tanımlamaları gerçekleştirildi.

Çizelge 2.6. GC-MS sililleme analiz şartları

Kolon	:	DB-5 kapiler kolon (30 m x 0.25mm, 0.25µm)
Taşıyıcı Gaz	:	He (%99.999)
Enjeksiyon sıcaklığı	:	280˚C
Kolon sıcaklığı	:	Fırın sıcaklığı 100˚C de 10 dk bekletildi. Daha sonra 300˚C' ye 4˚C/dk hızla çıkarıldı ve 300˚C'de 10 dk bekletildi (Toplam 70 dk)
Split Oranı	:	1:20
İyon Kaynağı sıcaklığı	:	150˚C
Elektron enerjisi	:	70 Ev
Kütle aralığı	:	28-650 m/z
Scan aralığı	:	0.01
Enjeksiyon miktarı	:	0.2 µL

2.11. Spektroskopik Yöntemler

2.11.1. Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi

Kromatografik yöntemlerle saflaştırılan maddelerin; ^{13}C-NMR, ^{1}H-NMR, DEPT ve 2D-NMR (HMBC, HSQC, COSY) spektrumları alındı. Referans olarak tetrametilsilan (TMS) ve çözücü olarak da döterodimetilsülfoksit (DMSO-d_6), döterometanol (CD_3OD), döterokloroform ($CDCl_3$) ve döterosu (D_2O) ve kullanıldı.

2.11.2. Kütle spektroskopisi

Elektrosprey uçuş zamanlı kütle spektrometrisi (ESI-TOF-MS) ve Elektron iyonizason (EI-MS) yöntemleri kullanılarak izole edilen bileşiklerin kütle spektrumları alındı.

2.12. İstatistiksel Analiz

Aktivitelerin hesaplanmasında *n*=3 paralel testin ortalaması alınarak ± standart sapmalar belirlendi. %95 güven aralığında *Student*-t testi ile sonuçlar hesaplandı.

3. BULGULAR VE İRDELEME

3.1. Ekstraksiyon Sonuçları

Petrol eteri, aseton, MeOH ve su ekstreleri ile direkt infüzyonların verimleri ve miktarları Çizelge 3.1.'de verilmektedir. Elde edilen ekstrelerin sitotoksik, timidin fosforilaz inhibisyon, antioksidan, antikolinesteraz ve antidiyabetik aktiviteleri belirlendi. Yüksek sitotoksik etki gösteren ekstrelerden madde izolasyonu için fraksiyonlama işlemi uygulandı.

Çizelge 3.1. *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* ekstrelerinin kodları ve verimleri

Mantar	Ekstre kodu	Miktarı (g)	% Verimi
I. geotropa (1242 g)	IG.PE	21,39	1,72
	IG.As	13,54	1,09
	IG.M	95,66	13,07
	IG.HWES	17,13	2,34
	IG.HWEP	8,02	1,10
	İnf.	2,93	19,52
	IG.İ.HWES	3,79	25,30
	IG.İ.HWEP	0,16	1,05
T. scalpturatum (495 g)	TS.PE	16,96	3,43
	TS.As	8,48	1,71
	TS.M	50,75	25,38
	TS.HWES	14,97	7,48
	TS.HWEP	4,57	4,01
	İnf.	2,14	5,36
	TS.İ.HWES	7,23	18,07
	TS.İ.HWEP	0,26	0,66

3.2. Ekstrelerin Sitotoksik Aktivite Sonuçları

3.2.1. *T. scalpturatum* ekstrelerinin sitotoksik aktivite sonuçları

Çeşitli hücre hatlarında etkili olan mantar ekstrelerinin sitotoksik aktivite sonuçlarına göre yarı maksimal etkili konsantrasyonları (EC_{50}) belirlendi ve sonuçlar Çizelge

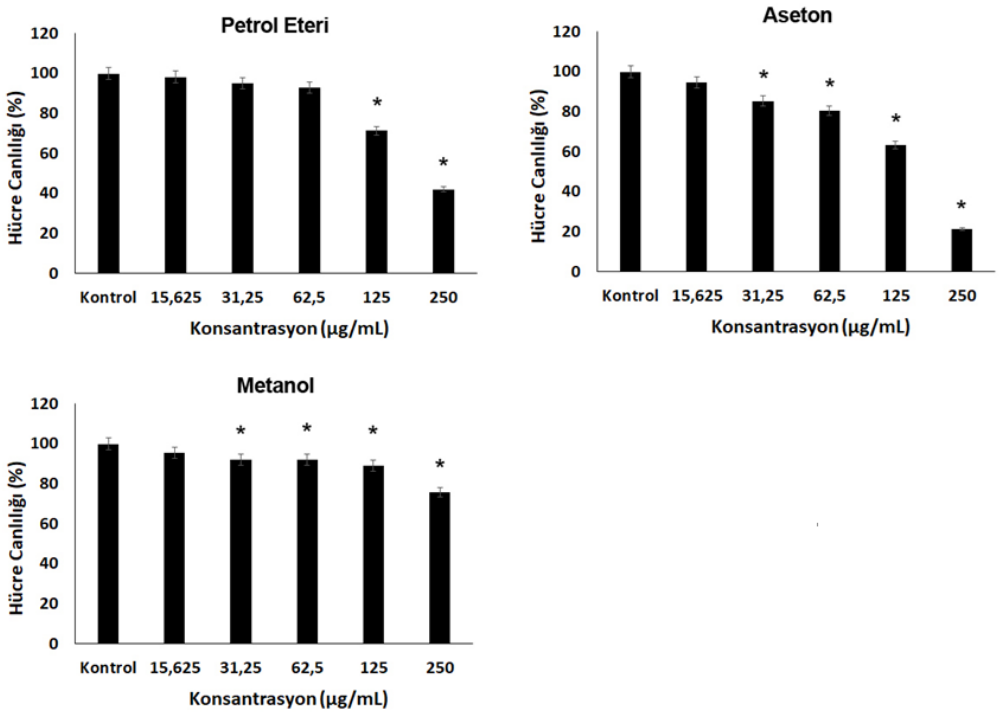
3.2.'de verildi. Petrol eteri ekstresi, LnCap kanser hücre hattına karşı belirlenen doz aralığına göre orta derecede sitotoksik etki (EC_{50}: 100,25 µg/mL) gösterdi. Aseton ekstresi, Caco-2 ve LnCap; karşı (EC_{50}: 46,86 ve 77,36 µg/mL) yüksek toksisite gösterirken, H1299 hücre hattına karşı ise (EC_{50}: 197,1 µg/mL) göreceli; olarak daha düşük aktivite gösterdi. Ekstreler MCF-7 kanser hücre hattına karşı ise etkili bir sitotoksik etki göstermedi. Sağlıklı böbrek hücre hattına (HEK293) karşı petrol eteri ve aseton ekstreleri (EC_{50}: 188,22 ve 129,2 µg/mL) düşük toksisite sergilemektedir. MeOH ve su ekstreleri kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik etki göstermedi.

Çizelge 3.2. *T. scalpturatum* mantarı ekstrelerinin 24 saatlik uygulama sonrasında hücre canlılığı üzerine etkisi ve EC_{50} konsantrasyonları

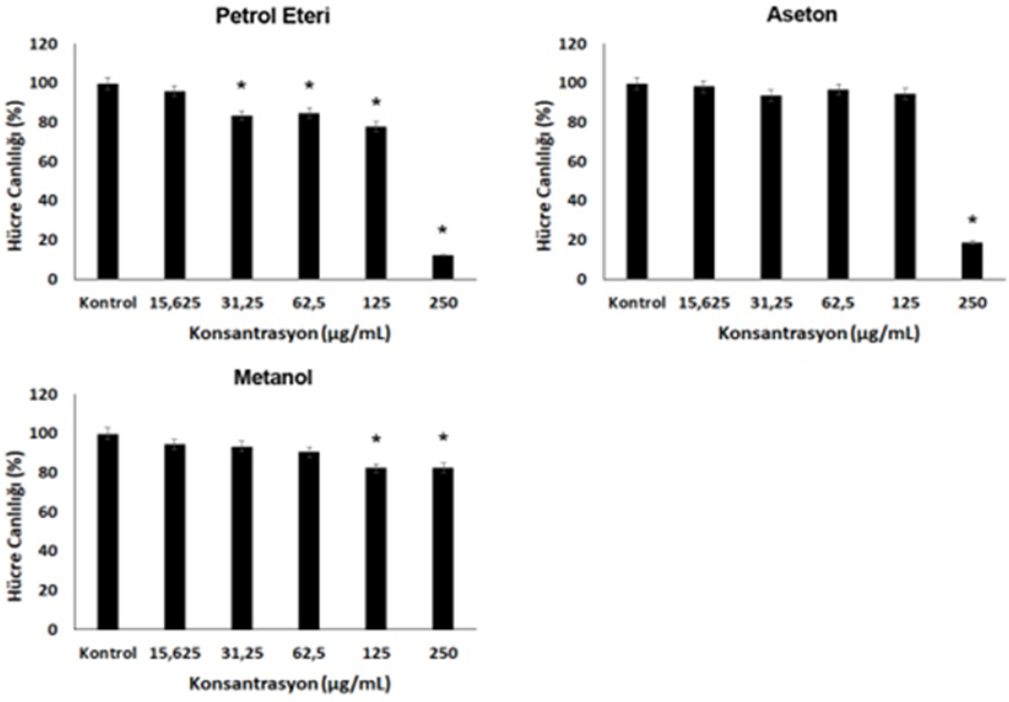
Ekstreler	H1299	LnCap	Caco-2	MCF-7	HEK293
	EC_{50} (µg/mL)	EC_{50} (µg/mL)	EC_{50} (µg/mL)	EC_{50} (µg/mL)	EC_{50} (µg/mL)
TS.PE	*	100,25	*	*	188,82
TS.As	197,11	77,36	46,86	*	129,2
TS.M	*	*	*	*	*
TS.HWES	*	*	*	*	*
TS.HWEP	*	*	*	*	*
İnf.	*	*	*	*	*
İ. HWES	*	*	*	*	*
İ. HWEP	*	*	*	*	*

* : Toksik etki görülmemiştir.

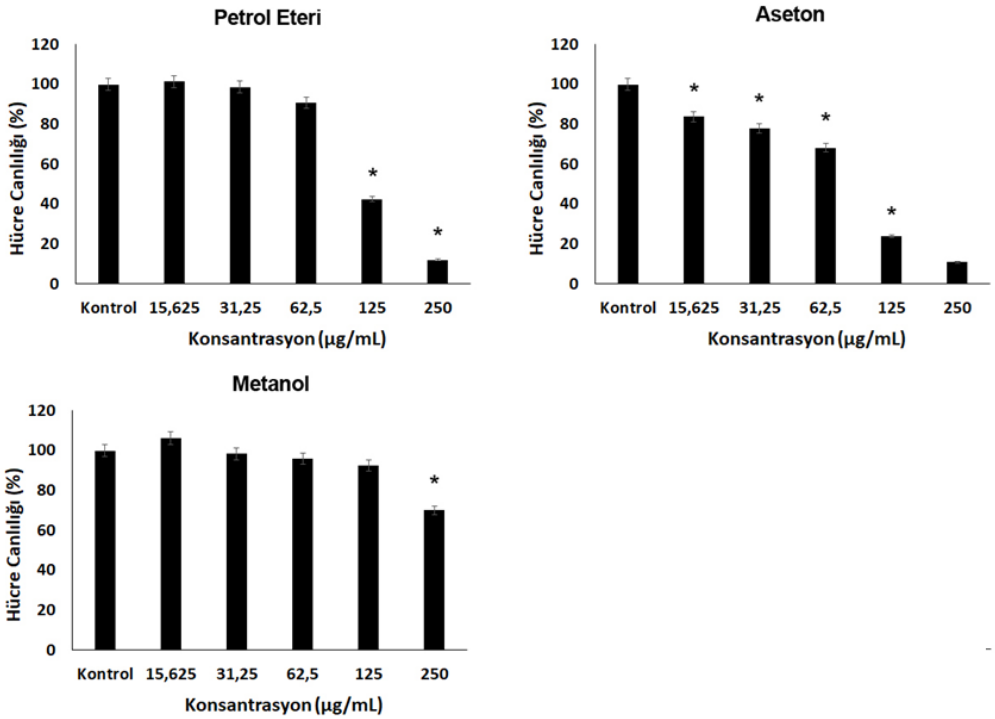
T. scalpturatum'dan elde edilen petrol eteri ve aseton ekstrelerinin LnCap, H1299 ve Caco-2 hücre hatlarında sitotoksik etki gösterdiği belirlendi. Bu etkilerin, kontrol grubuna kıyasla daha düşük dozlarda gözlenmesi, ekstrelerin seçici etki potansiyelini olduğunu düşündürdü.



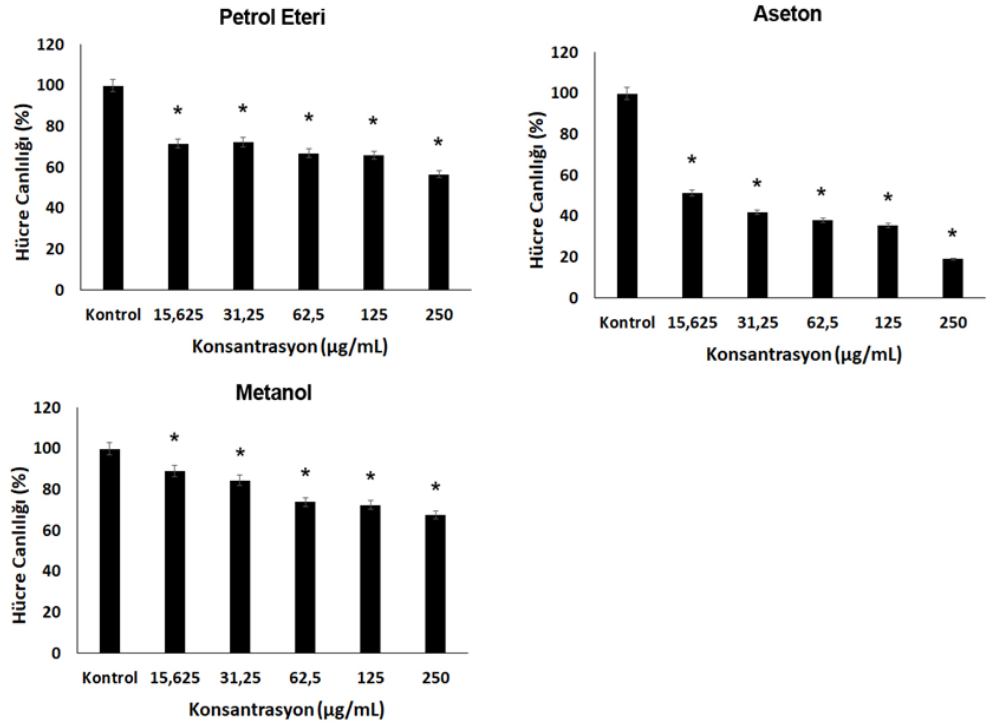
Şekil 3.1. ***T. scalpturatum*** **mantarı ekstrelerinin insan embriyonik böbrek (HEK293) hücre canlılığı üzerine etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p<0.05)**



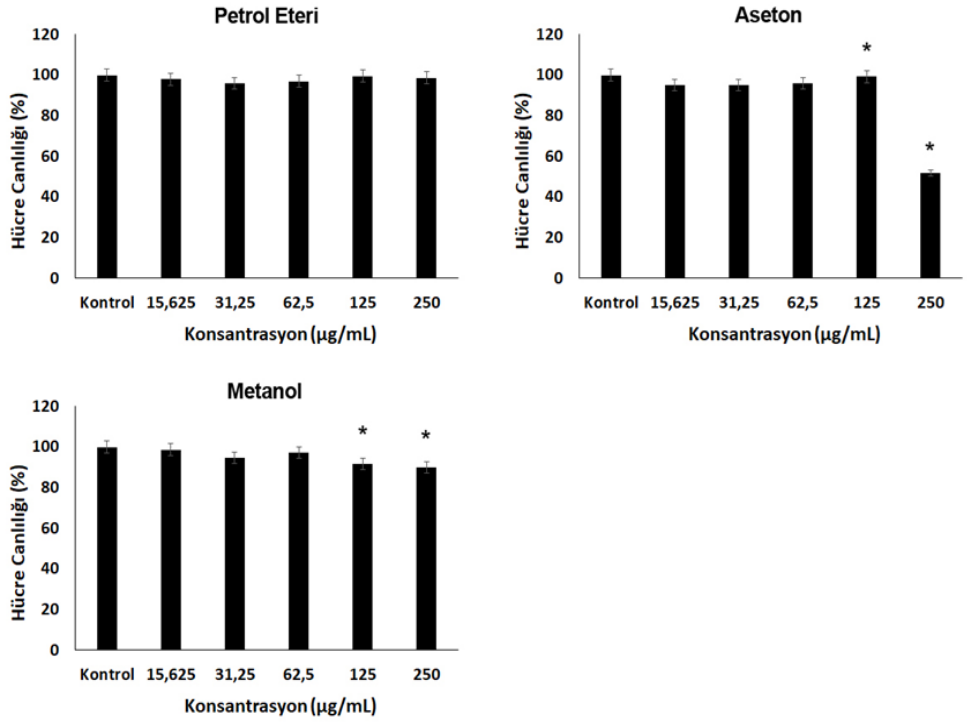
Şekil 3.2. ***T. scalpturatum*** **mantarı ekstrelerinin insan akciğer kanseri (H1299) hücre canlılığı üzerine etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p <0,05)**



Şekil 3.3. ***T. scalpturatum mantarı*** **ekstrelerinin insan prostat kanseri (LnCap) hücre canlılığı üzerine etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, *p* <0,05)**



Şekil 3.4. ***T. scalpturatum*** **mantarı ekstrelerinin insan kolon kanseri (Caco-2) hücre canlılığı üzerine etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, *p* <0,05)**



Şekil 3.5. ***T. scalpturatum*** **mantarı ekstrelerinin insan meme kanseri (MCF-7) hücre canlılığı üzerine etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, *p* <0,05)**

3.2.2. *I. geotropa* ekstrelerinin sitotoksik aktivite sonuçları

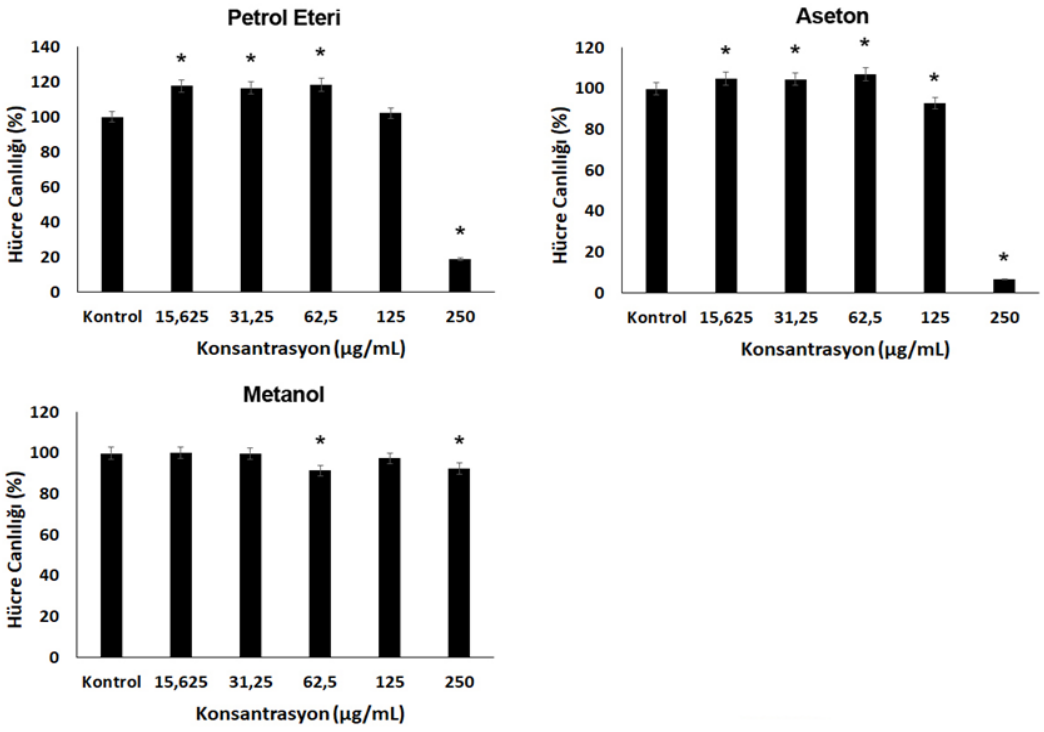
Petrol eteri ekstresinin, LnCap kanser hücre hattına karşı orta derecede sitotoksik etki (EC_{50}: 63,19 µg/mL) gösterdi. Aseton ekstresi, LnCap ve Caco-2 kanser hücre hatlarına karşı (EC_{50}: 61,75 µg/mL ve 98,08 µg/mL) yüksek toksisite gösterirken, H1299 hücre hattına karşı (EC_{50}: 193,1 µg/mL) düşük aktivite gösterdi. MCF-7 kanser hücre hattına karşı petrol eteri ve aseton ekstreleri sırasıyla (EC_{50}: 111,51 ve 145,25 µg/mL) sitotoksik etki gösterdi. Sağlıklı böbrek hücre hattında yapılan testlere göre, petrol eteri ve aseton ekstreleri (EC_{50}: 187,73 ve 170,48 µg/mL) düşük seviyede toksisite gösterdi. Son olarak, metanol ekstresi kanser hücre hatları üzerinde belirgin bir sitotoksik etki göstermedi. Yarı maksimal etkili konsantrasyon değerleri Çizelge 3.3'de verildi.

Çizelge 3.3. *I. geotropa* mantarı ekstrelerinin 24 saatlik uygulama sonrasında hücre canlılığı üzerine etkisi ve EC_{50} konsantrasyonları

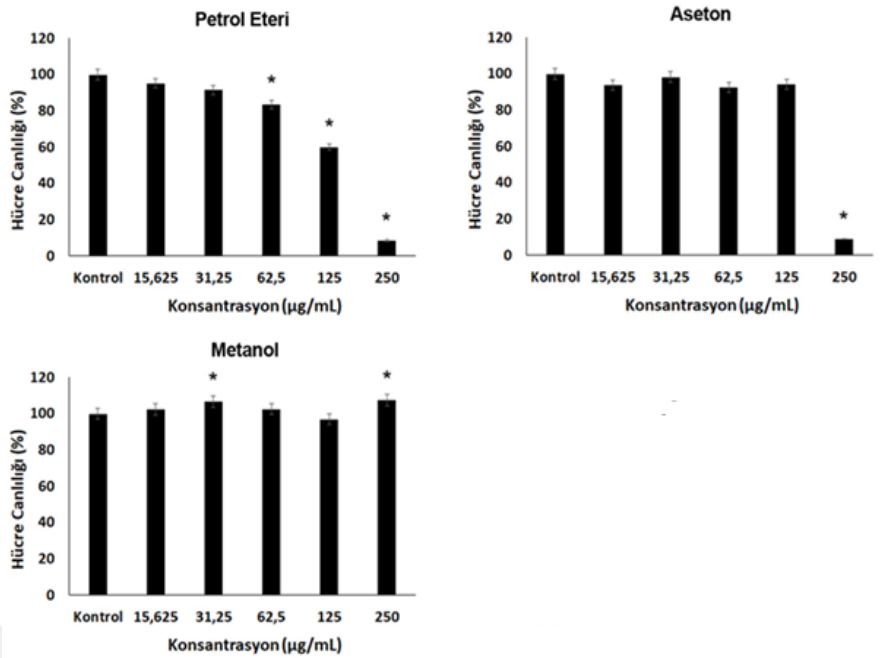
Ekstre	Caco-2	LnCap	H1299	MCF-7	HEK293
	EC_{50} (µg/mL)	EC_{50} (µg/mL)	EC_{50} (µg/mL)	EC_{50} (µg/mL)	EC_{50} (µg/mL)
IG.PE	87,51	63,19	137,4	111,51	187,73
IG.As	98,08	61,75	193,1	145,25	170,48
IG.M	*	*	*	*	*
IG.HWES	*	*	*	*	*
IG.HWEP	*	*	*	*	*
İnf.	*	*	*	*	*
İ.HWES	*	*	*	*	*
İ.HWEP	*	*	*	*	*

*: Toksik etki görülmemiştir.

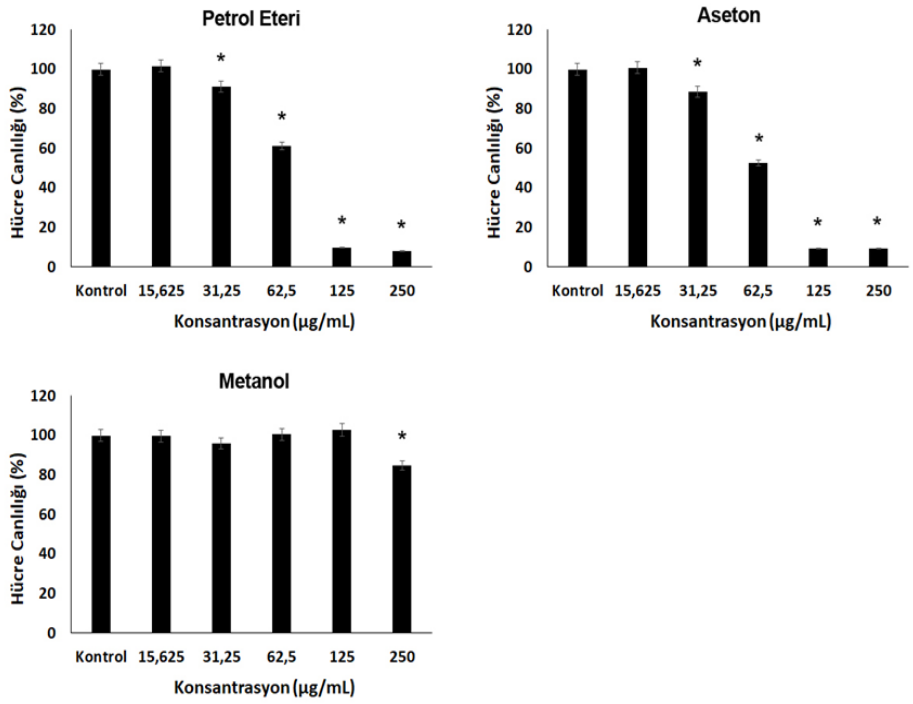
Sitotoksisite testleri sonucunda, *I. geotropa*'nın petrol eteri ve aseton ekstrelerinin MCF-7, LnCap, H1299 ve Caco-2 ve hücre hatlarında sitotoksik etki gösterdiği belirlendi. Bu etkinin, düşük dozlarda ve kontrol grubuna kıyasla anlamlı olduğu değerlendirildi.



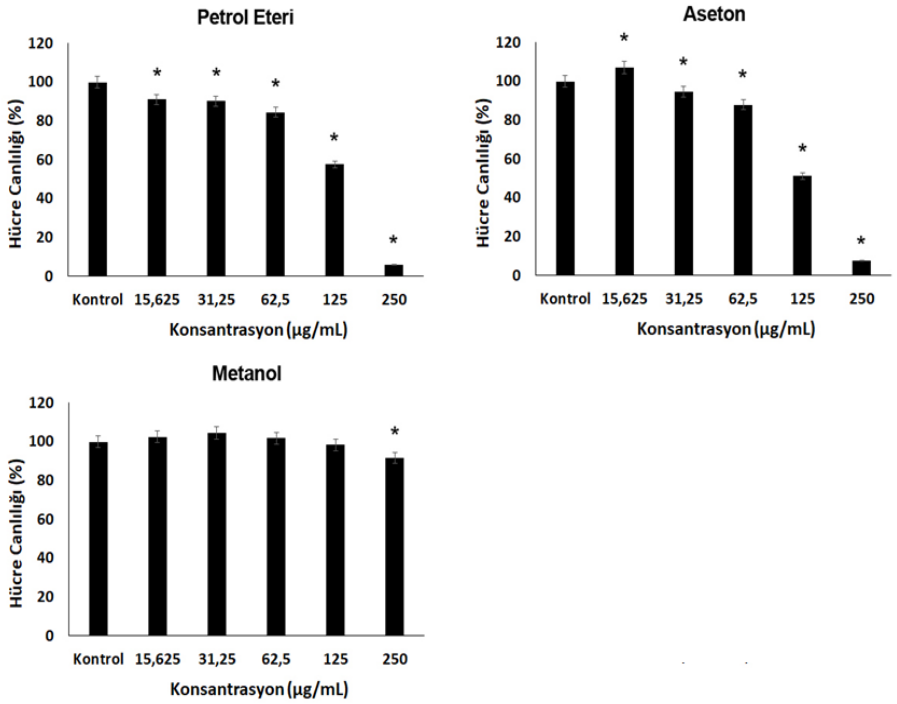
Şekil 3.6. *I. geotropa mantarı* ekstrelerinin insan embriyonik böbrek (HEK293) hücre canlılığı üzerine etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p <0,05)



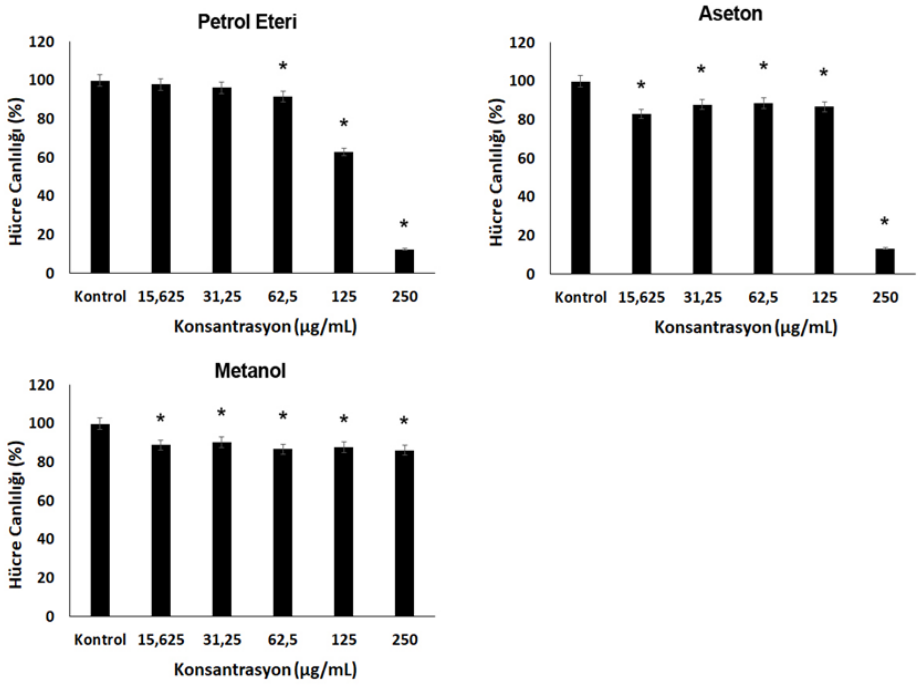
Şekil 3.7. ***I. geotropa*** **mantarı ekstrelerinin insan akciğer kanseri (H1299) hücre canlılığı üzerine etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, *p* <0,05)**



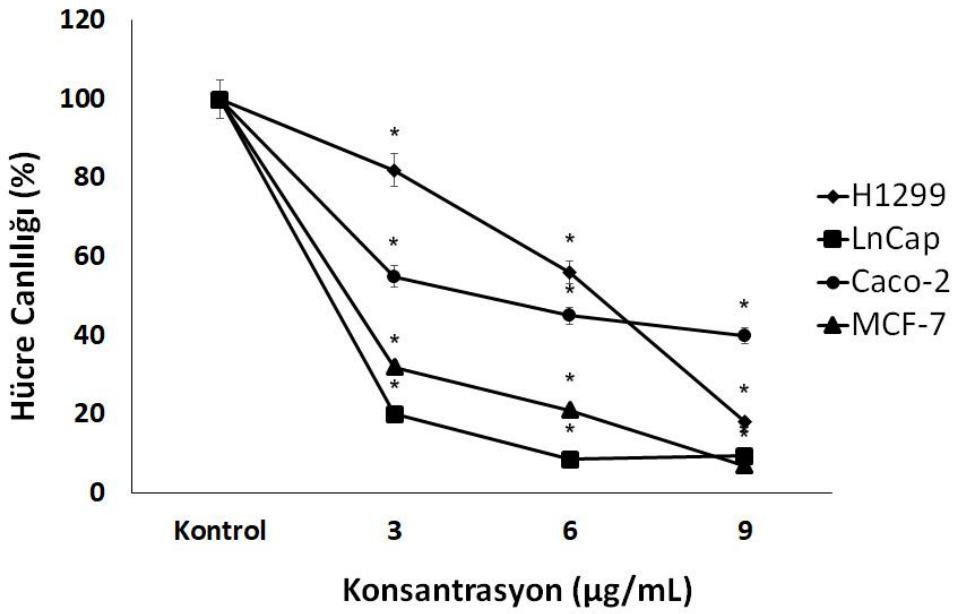
Şekil 3.8. ***I. geotropa*** **mantarı ekstrelerinin insan prostat kanseri (LnCap) hücre canlılığı üzerine etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, *p* <0,05)**



Şekil 3.9. ***I. geotropa*** **mantarı ekstrelerinin insan kolon kanseri (Caco-2) hücre canlılığı üzerine etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, *p* <0,05)**



Şekil 3.10. ***I. geotropa*** **mantarı ekstrelerinin insan meme kanseri (MCF-7) hücre canlılığı üzerine etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, *p* <0,05)**



Şekil 3.11. Paklitaksel (10 mg/20 mL)'in farklı konsantrasyonlarda meme kanseri (MCF-7), insan akciğer (H1299), prostat (LnCap) ve kolon (Caco-2) ve hücre canlılığı üzerine etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p <0,05)

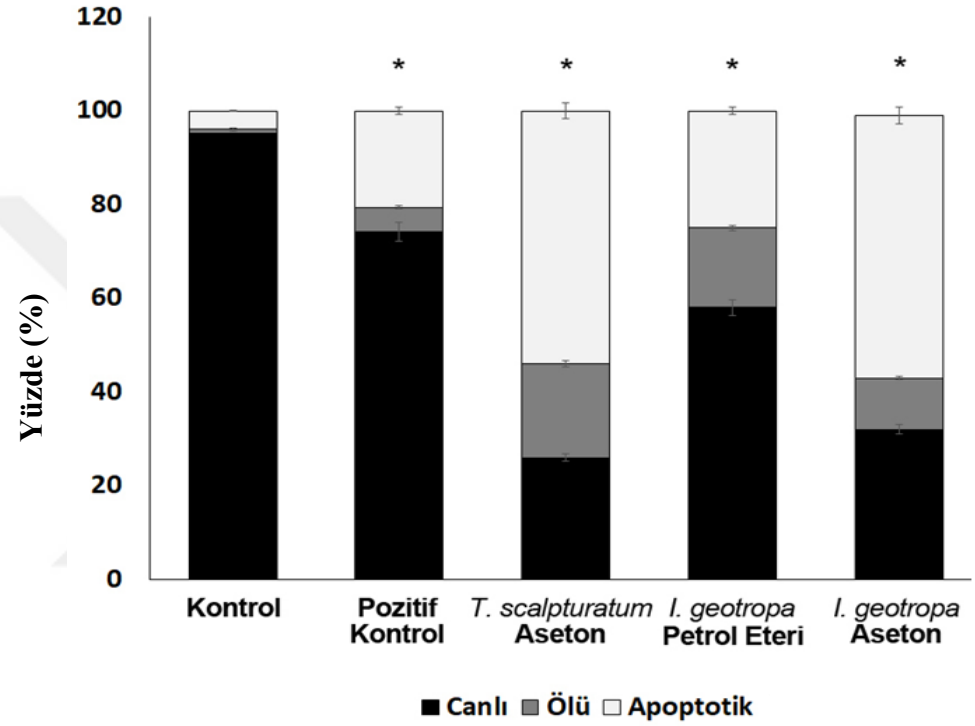
3.3. Apoptoz Çalışmaları

Apoptoz, üç farklı yöntemle tespit edildi. Apoptoz analizleri için sitotoksik aktivite gösteren mantar ekstrelerinin 24 saat sonunda elde edilen yarı maksimal etkili konsantrasyonları (EC_{50}), Caco-2, MCF-7, H1299 ve LnCap hücre hatlarına uygulandı.

3.3.1. Floresan hücre sayıcı ile apoptoz analizleri

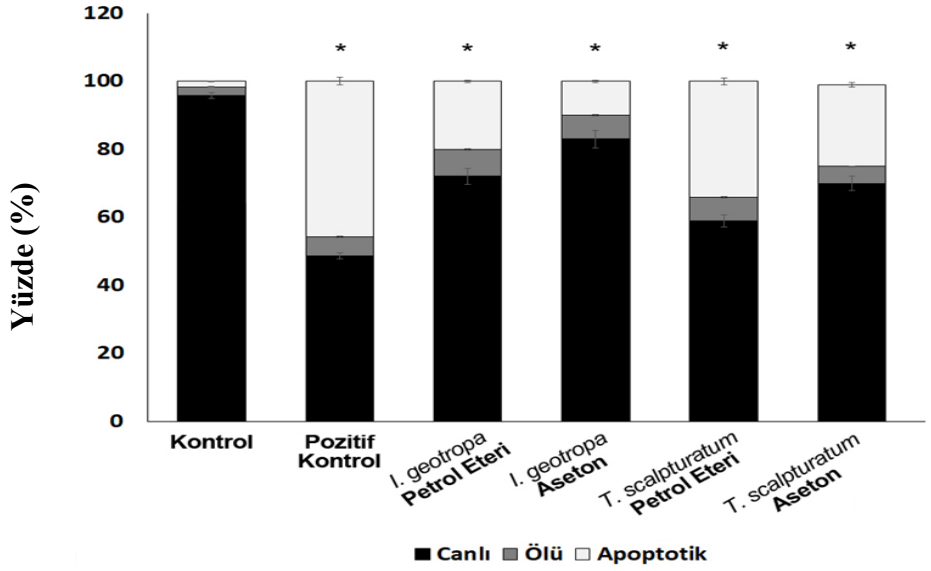
Apoptozun belirlenmesi amacıyla en yüksek aktiviteye sahip mantar ekstrelerinin yarı maksimal etkili konsantrasyonları (EC_{50}), ilgili kanser hücre hatlarına uygulandı. Pozitif kontrol olarak 0,2 mM H_2O_2 kullanıldı. Uygulamadan 24 saat sonra besiyerleri ortamdan uzaklaştırıldı, hücreler Tripsin-EDTA ile toplanarak 2000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra hücre pelletleri PBS ile yıkandı ve yeniden santrifüj edildi. Canlı, ölü ve apoptotik hücre oranları bölüm 2.5.1'de belirtilen Annexin-V/FITC ve PI boyama protokolüne göre floresan imaj sitometri cihazı kullanılarak analiz edildi.

T. scalpturatum'un aseton ekstresi ve *I. geotropa*'nın petrol eteri ve aseton ekstrelerine akciğer hücre hattında uygulamasının ardından, apoptotik hücre yüzdesinde anlamlı derecede artışlar saptandı. *T. scalpturatum* aseton ekstresi uygulanan hücrelerde kontrol grubuna göre 6,75 kat artış gerçekleşirken, *I. geotropa* aseton ekstresinin ise 7 kat artış saptandı. *I. geotropa'nın* petrol eteri ekstresinde ise bu oran 3,13 olarak saptandı (Şekil 3.12).



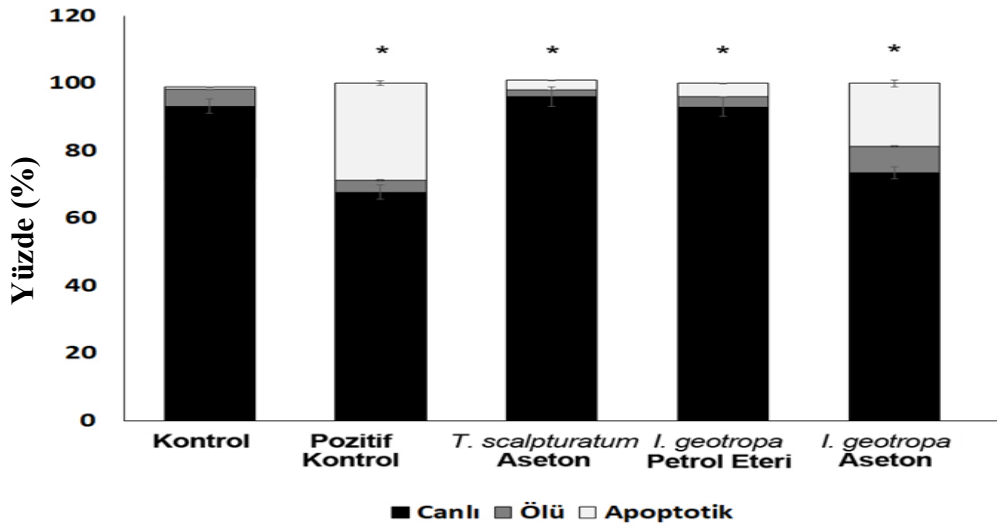
Şekil 3.12. Mantar ekstrelerinin insan akciğer (H1299) hücre hattında canlı, ölü ve apoptotik yüzde grafiği (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark ± SS, *n*=3, *p* <0,05)

T. scalpturatum ve *I. geotropa*'nın petrol eteri ve aseton ekstrelerine prostat hücre hattında uygulamasının ardından, apoptotik hücre oranlarında anlamlı düzeyde artışlar gözlemlendi. *I. geotropa* petrol eteri ve aseton ekstreleri uygulanan hücrelerde kontrol grubuna kıyasla sırasıyla 2,75 ve 2,5 kat artış gerçekleşirken, *T. scalpturatum* petrol eteri ve aseton ekstreleri uygulanan gruplarda sırasıyla 9,25 ve 6 kat artış saptandı (Şekil 3.13).



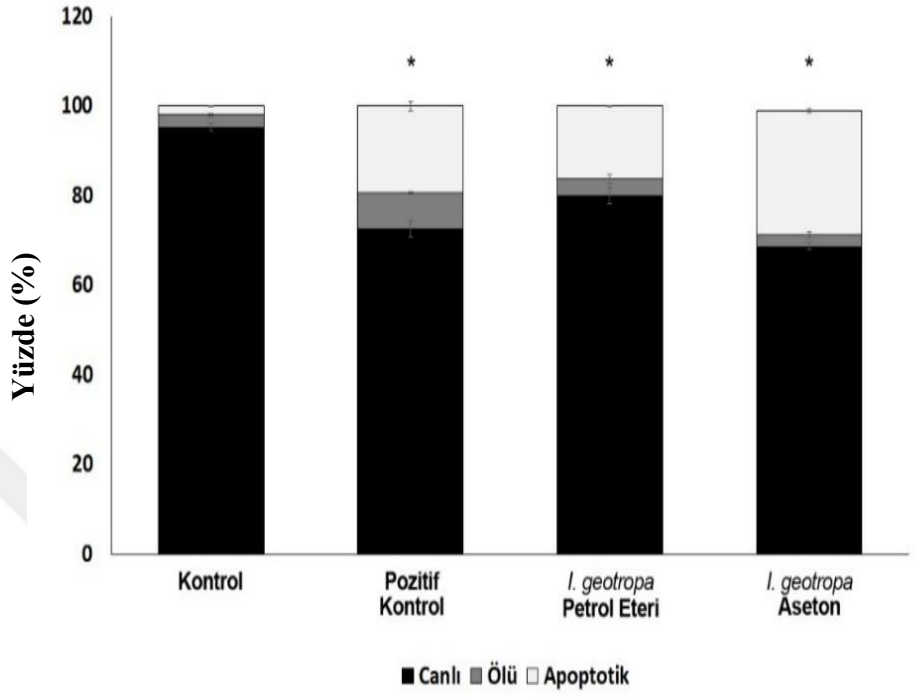
Şekil 3.13. Mantar ekstrelerinin insan prostat (LnCap) hücre hattında canlı, ölü ve apoptotik yüzde grafiği (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, ±SS, n=3, *p* <0,05)

T. scalpturatum'un aseton ekstresi ve *I. geotropa*'nın petrol eteri ve aseton ekstrelerine kolon hücre hattında uygulamasının ardından, *T. scalpturatum* aseton ekstresi EC_{50} uygulanan hücrelerde kontrol grubuna göre apoptotik hücre oranında 3,5 kat artış gerçekleşirken, *I. geotropa* aseton ekstresi uygulanan hücrelerde ise 16 kat artış saptandı. *I. geotropa* petrol eteri ekstresi uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla bu oran 5,5 olarak gerçekleşti (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. Mantar ekstrelerinin insan kolon (Caco-2) hücre hattında canlı, ölü ve apoptotik yüzde grafiği (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, ±SS, *n*=3, *p* <0,05)

I. geotropa'nın petrol eteri ve aseton ekstrelerine meme hücre hattında uygulamasının ardından, kontrol grubuna göre apoptotik hücre yüzdesinde sırasıyla 2,83 ve 4,66 kat artış belirlendi (Şekil 3.15).



Şekil 3.15. Mantar ekstrelerinin insan meme (MCF-7) hücre hattında canlı, ölü ve apoptotik yüzde grafiği (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, ±SS, *n*=3, *p* <0,05)

Kanser tedavisinde kullanılan potansiyel antikanser ajanların araştırılmasında, hücre proliferasyonunun baskılanması ve apoptozun indüklenmesi temel hedefler arasında yer almaktadır (Evan & Vousden, 2001). Apoptoz sürecinde meydana gelen DNA parçalanması propidyum iyodür (PI) ile boyanarak tespit edilebilir; çünkü PI, DNA'ya bağlanabilen bir ajan olarak hücre ölümü sırasında floresan sinyali verir. Öte yandan, Annexin V proteini, apoptotik hücrelerin yüzeyinde bulunan fosfatidilserin (PS) ile etkileşime geçerek apoptozun erken evrelerinde tanımlayıcı bir belirteç görevi görür. Hem Annexin V hem de PI ile pozitif boyanan hücrelerde gözlenen floresan artışı, apoptozun varlığına işaret etmektedir (Mariño ve Kroemer, 2013). Bu bağlamda, çalışmamızda elde edilen bulgular, mantar ekstrelerinin hücre çoğalmasını baskılayarak apoptoz mekanizmalarını aktive ettiğini göstermektedir.

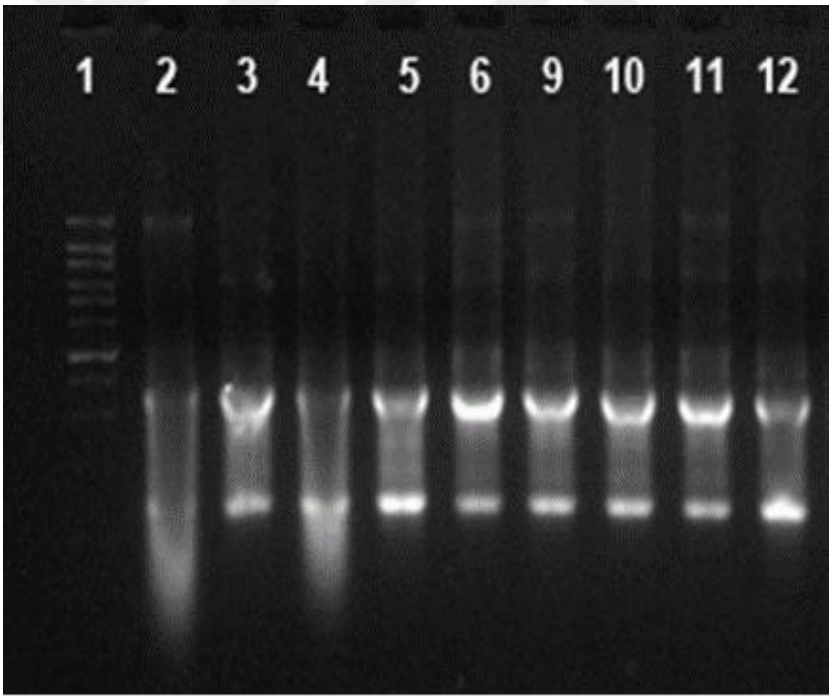
3.3.2. Apoptozda görev alan genlerin mRNA düzeyinde ekspresyonlarının analizinin sonuçları: Toplam RNA izolasyonu

Toplam RNA izolasyonu, RNA kiti kullanılarak gerçekleştirildi. LnCap, Caco-2 ve MCF-7, H1299 hücreleri 100 mm'lik kültür kaplarına ekildi; %90 yoğunluğa ulaşıldığında ortamdan besiyeri uzaklaştırılarak hücreler PBS ile yıkandı. Ardından lizis tamponu ile hücre lizatı hazırlandı. İzole edilen RNA örnekleri ileri analizlerde kullanılmak üzere –80 °C'de saklandı.

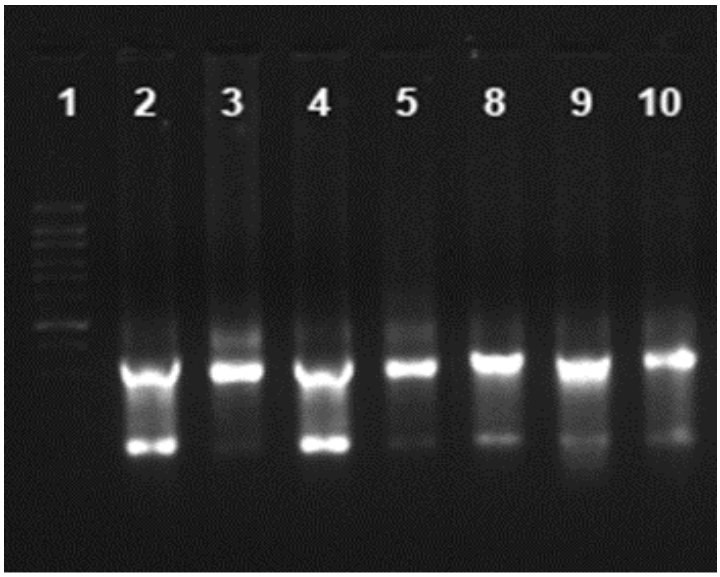
3.3.2.1. Toplam RNA'nın spektrofotometrik analizi

İzole edilen RNA örneklerinin konsantrasyonları, 260 ve 280 nm dalga boylarında ölçüm yapan BioTek Epoch Take3 mikro hacimli spektrofotometre ile belirlendi.

3.3.2.2. Agaroz jel elektroforezi kullanarak toplam RNA'nın görüntülenmesi



Şekil 3.16. Hücre hatlarından elde edilen Toplam RNA'nın %1'lik agaroz jel elektroforezi. Soldan sağa (1) kb opti-DNA marker, (2) LnCap Kontrol, (3) LnCap *T. scalpturatum* Petrol Eteri Ekstresi, (4) LnCap *T. scalpturatum* Aseton Ekstresi, (5) LnCap *I. geotropa* Petrol Eteri Ekstresi, (6) LnCap *I. geotropa* Aseton Ekstresi, (9) Caco-2 Kontrol, (10) Caco-2 *T. scalpturatum* Aseton Ekstresi, (11) Caco-2 *I. geotropa* Petrol Eteri Ekstresi, (12) Caco-2 *I. geotropa* Aseton Ekstresi



Şekil 3.17. Hücre hatlarından elde edilen Toplam RNA'nın %1'lik agaroz jel elektroforezi. Soldan sağa (1) kb opti-DNA marker, (2) H1299 Kontrol, (3) H1299 *T. scalpturatum* Aseton Ekstresi, (4) H1299 *I. geotropa* Petrol Eteri Ekstresi, (5) H1299 *I. geotropa* Aseton Ekstresi, (8) MCF-7 Kontrol, (9) MCF-7 *I. geotropa* Petrol Eteri Ekstresi, (10) MCF-7 *I. geotropa* Aseton Ekstresi

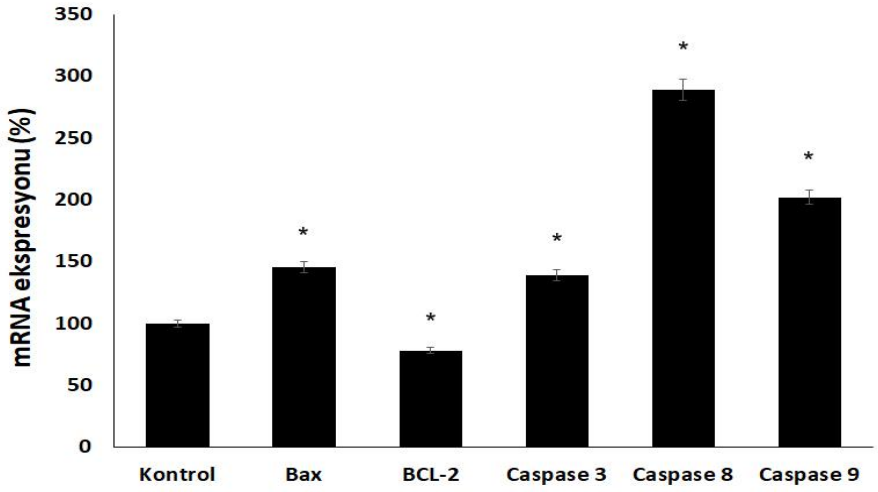
3.3.2.3. cDNA sentezi

cDNA sentezi, ABM marka cDNA sentez kiti kullanılarak, üretici firmanın önerdiği protokole uygun şekilde gerçekleştirildi. Elde edilen cDNA örnekleri, Gerçek Zamanlı PZR analizlerinde kullanılmak üzere –20 °C'de muhafaza edildi.

3.3.2.4. Gerçek zamanlı PZR analizleri

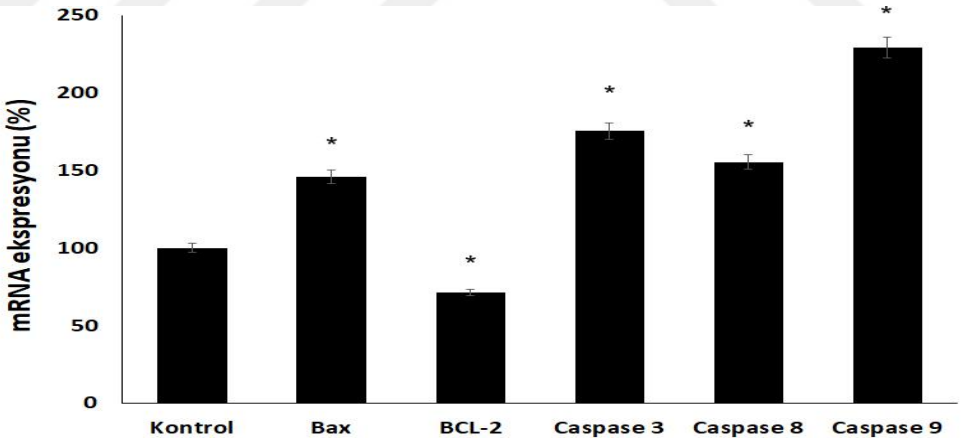
T. scalpturatum ve *I. geotropa* ekstrelerinin, LnCap, Caco-2, H1299 ve MCF-7 hücre hatlarında apoptozla ilişkili gen ekspresyonları üzerindeki etkileri, 24 saatlik EC_{50} konsantrasyon uygulamasıyla değerlendirildi. Sonuçlar GAPDH ile normalize edildi. Kaspaz-3, 8, 9, BCL-2, Bax genlerine ait mRNA düzeyleri, Gerçek Zamanlı PZR ile ölçüldü (Şekil 3.18–3.29).

T. scalpturatum petrol eteri ekstresinin LnCap hücre hattında BAX geninin ekspresyon seviyesinde kontrol grubuna göre 1,4 kat artarken; BCL-2 geninin ekspresyonunda ise 1,2 kat azalış görüldü ($p<0.05$). Ayrıca, Kaspaz 3, 8 ve 9 mRNA ekspresyonları, kontrol grubuna karşılaştırıldığında sırasıyla 1,38, 2,88 ve 2,02 kat artış gösterdi ($p<0,05$) (Şekil 3.18).



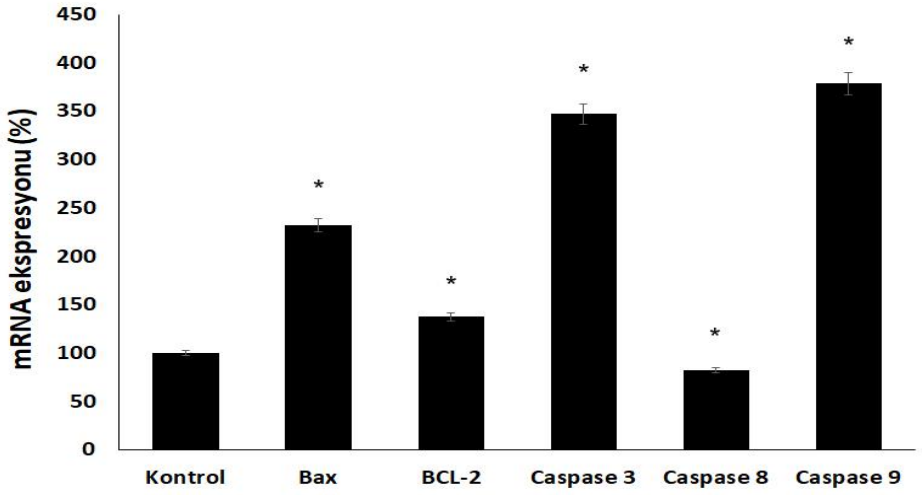
Şekil 3.18. *T. scalpturatum* petrol eteri ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında LnCap hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p <0,05))

T. scalpturatum aseton ekstresinin maruz bırakılan LnCap hücre hattında, BAX gen ekspresyonu kontrol grubuna göre 1,46 kat artarken, BCL-2 geninde 1,4 kat azalma gözlendi (p<0.05). Kaspaz 3, 8 ve 9 genlerinin ekspresyon seviyelerinde sırasıyla 1,75, 1,55 ve 2,28 kat artış tespit edildi (p<0.05) (Şekil 3.19).



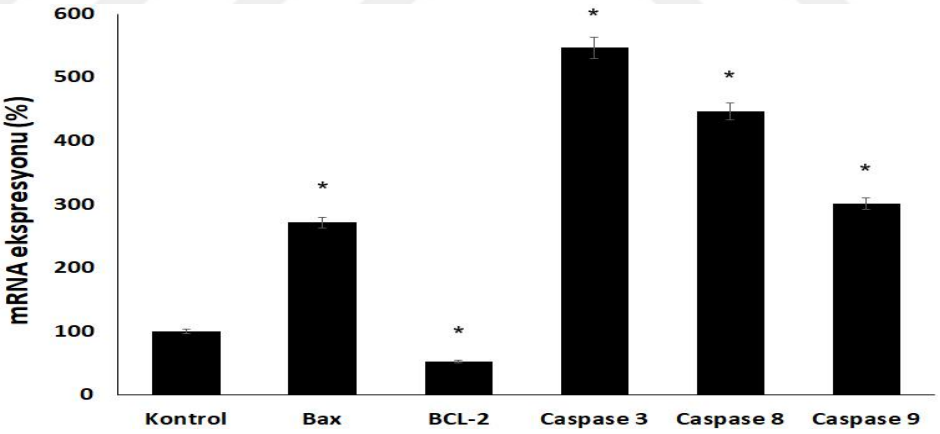
Şekil 3.19. *T. scalpturatum* aseton ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında LnCap hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi. Sonuçlar (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p <0,05))

T. scalpturatum aseton ekstresi ile muamele edilen H1299 hücre hattında, BAX gen ekspresyonu kontrol grubuna göre 2,32 kat; BCL-2 gen ekspresyonunda ise 1,11 kat artış tespit edildi (p<0.05). Kaspaz-3, 8 ve 9 genlerinin mRNA düzeylerinde sırasıyla 3,47, 1,38 ve 3,78 katlık artış gözlendi (p<0.05) (Şekil 3.20).



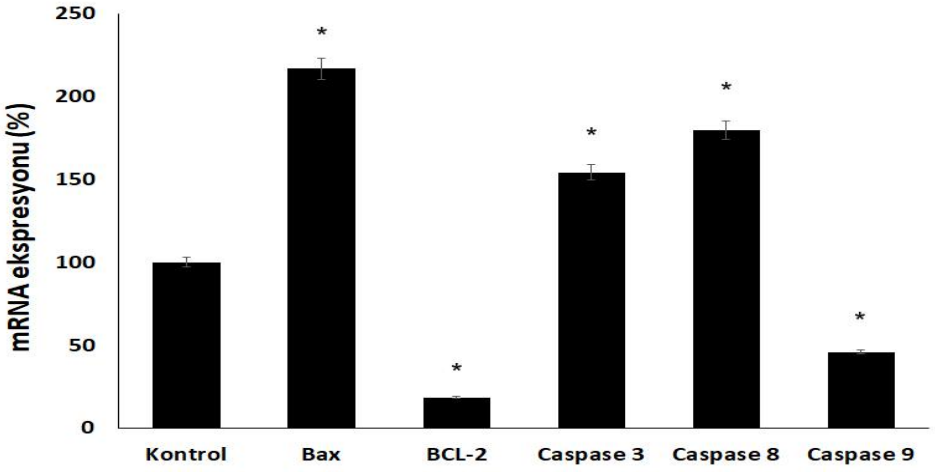
Şekil 3.20. *T. scalpturatum* aseton ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında H1299 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p <0,05))

T. scalpturatum aseton ekstresinin Caco-2 hücre hattında BAX gen ekspresyonu kontrol grubuna göre 2,71 kat artarken, BCL-2 gen ekspresyonu 1,9 kat azaldı (p<0.05). Kaspaz 3, 8 ve 9 mRNA düzeylerinde ise sırasıyla 5,46, 4,46 ve 3,01 kat artış gözlendi (p<0.05) (Şekil 3.21).



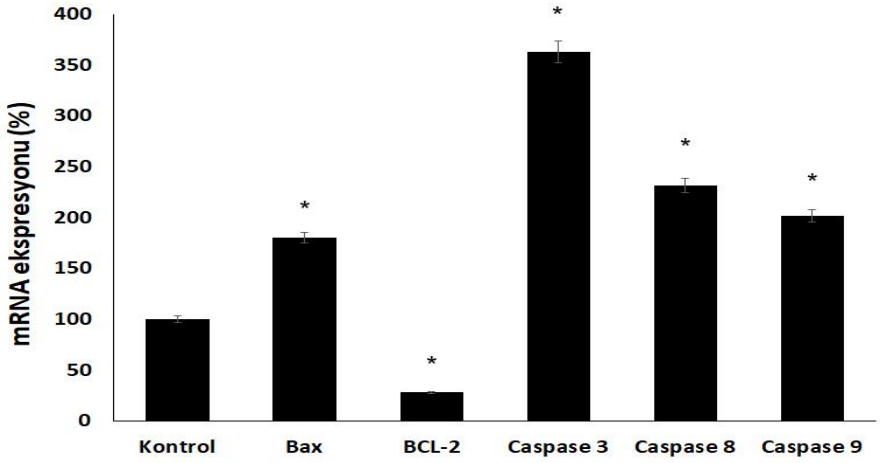
Şekil 3.21. *T. scalpturatum* aseton ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında Caco-2 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p <0,05))

I. geotropa petrol eteri ekstresinin H1299 hücre hattında, BAX gen ekspresyonu kontrol grubuna göre 2,16 kat artarken, BCL-2 gen ekspresyonu 5,38 kat azaldı (p<0.05). Kaspaz-3 ve 8 genlerinde sırasıyla 1,54 ve 1,79 kat artış gözlenirken, Kaspaz 9 ekspresyonu 1,64 kat azaldı (p<0.05) (Şekil 3.22).



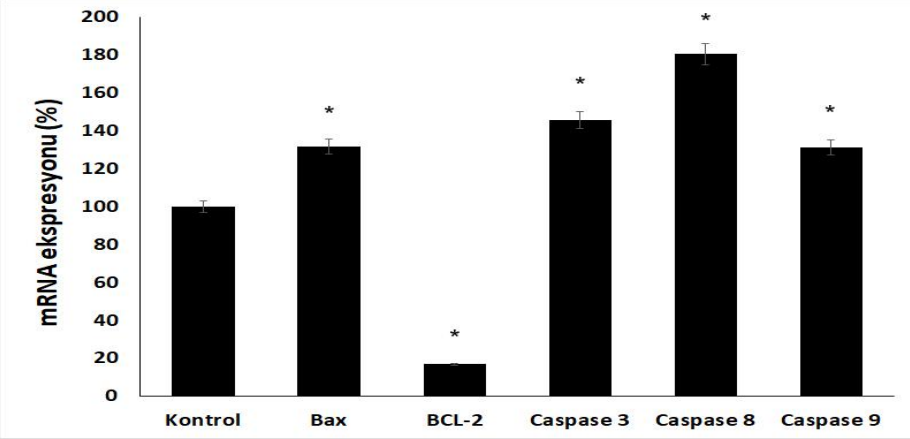
Şekil 3.22. *I. geotropa* petrol eteri ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında H1299 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p <0,05))

I. geotropa aseton ekstresinin H1299 hücre hattında BAX gen ekspresyonunu 1,8 kat artırırken, BCL-2 gen ekspresyonunu 3,55 kat azalttı (p<0.05). Kaspaz 3, 8 ve 9 mRNA düzeylerinde ise sırasıyla 3,63, 2,31 ve 2,01 kat artış gözlendi (p<0.05) (Şekil 3.23).



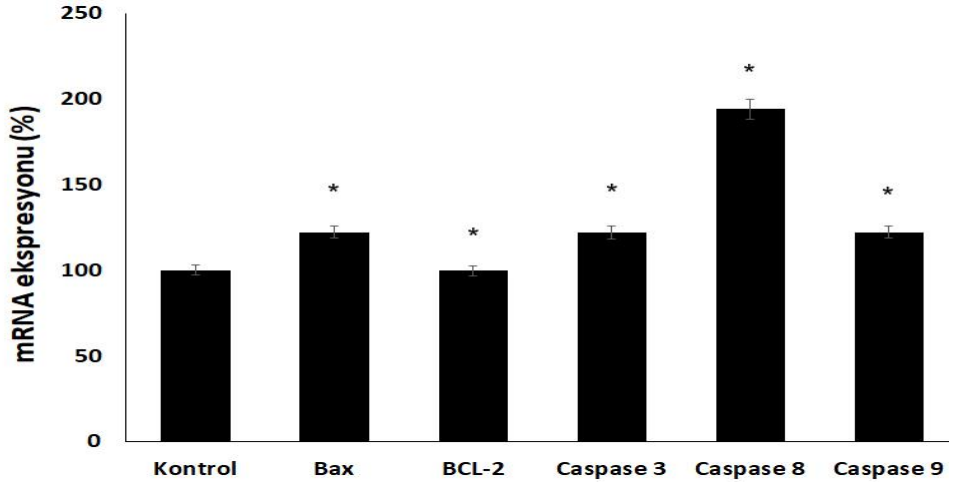
Şekil 3.23. *I. geotropa* aseton ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında H1299 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p <0,05))

I. geotropa petrol eteri ekstresinin LnCap hücre hattında, BAX gen ekspresyonunu 1,31 kat artırırken, BCL-2 gen ekspresyonunu 2,1 kat azalttı (p<0.05). Kaspaz 3, 8 ve 9 mRNA düzeylerinde ise sırasıyla 1,45, 1,8 ve 1,31 kat artış tespit edildi(p<0.05) (Şekil 3.24).



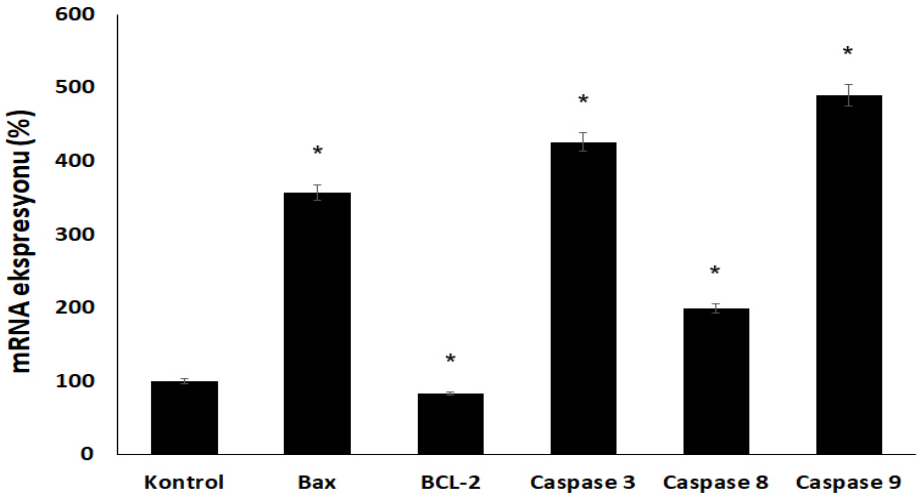
Şekil 3.24. *I. geotropa* petrol eteri ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında LnCap hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p <0,05))

I. geotropa aseton ekstresinin LnCap hücre hattında, BAX gen ekspresyonunu 1,22 kat artırırken, BCL-2 geninde anlamlı bir değişiklik gözlenmedi (p<0.05). Kaspaz 3, 8 ve 9 genlerinin mRNA düzeyleri sırasıyla 1,21, 1,93 ve 1,22 kat artış gösterdi (p<0.05) (Şekil 3.25).



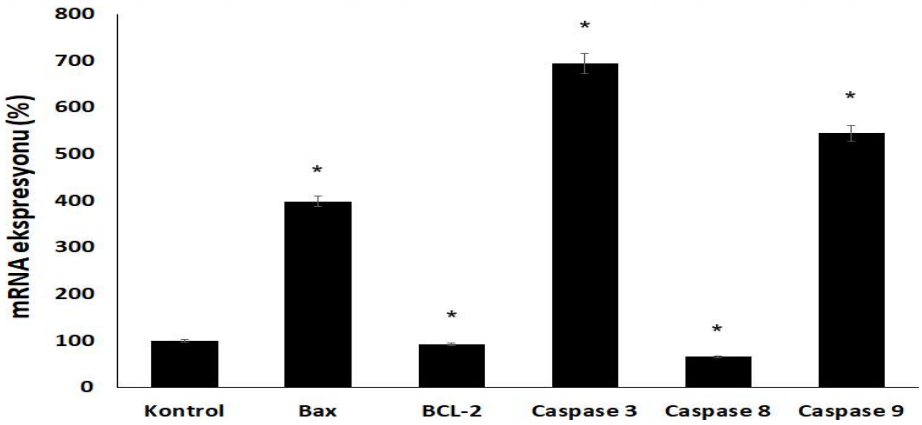
Şekil 3.25. *I. geotropa* aseton ekstresinin EC_{50} dozu uygulanması sonrasında LnCap hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p <0,05))

I. geotropa petrol eteri ekstresinin Caco-2 hücre hattında, BAX gen ekspresyonunu 3,56 kat artırırken, BCL-2 gen ekspresyonunu 1,2 kat azalttı (p<0.05). Kaspaz 3, 8 ve 9 genlerinde sırasıyla 4,25, 1,99 ve 4,89 kat artış tespit edildi (p<0.05) (Şekil 3.26).



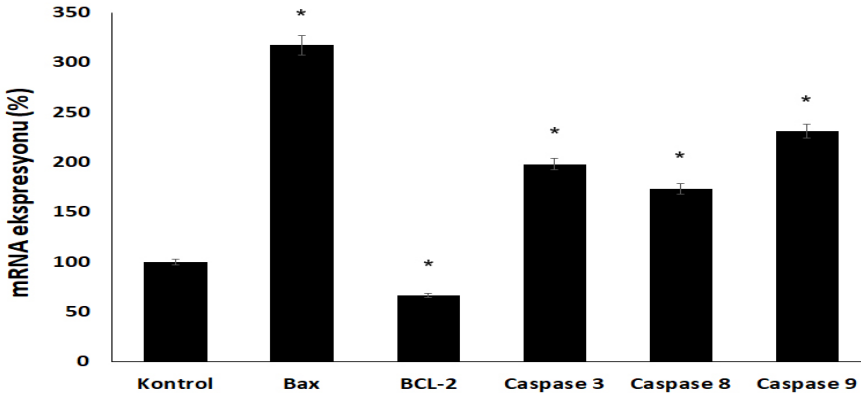
Şekil 3.26. *I. geotropa* petrol eteri ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında Caco-2 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p <0,05))

I. geotropa aseton ekstrenin Caco-2 hücre hattında, BAX gen ekspresyonunu 3,98 kat artırırken, BCL-2 ve Kaspaz-8 genlerinde sırasıyla 1,07 ve 1,52 kat azalma gözlendi (p<0.05). Kaspaz 3 ve 9 genlerinin ekspresyon düzeyleri ise sırasıyla 6,94 ve 5,44 kat artış gösterdi (p<0.05) (Şekil 3.27).



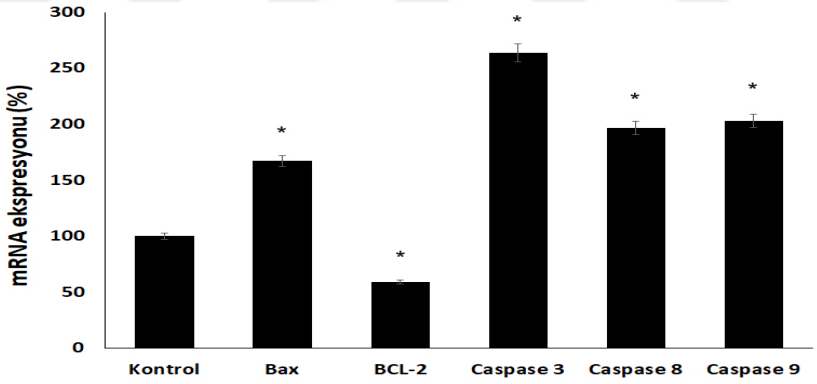
Şekil 3.27. *I. geotropa* aseton ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında Caco-2 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p <0,05))

I. geotropa petrol eteri ekstresinin MCF-7 hücre hattında, BAX gen ekspresyonunu 3,17 kat artırırken, BCL-2 gen ekspresyonunu 1,5 kat azalttı(p<0.05). Kaspaz 3, 8 ve 9 genlerinin mRNA düzeylerinde sırasıyla 1,97, 1,72 ve 2,31 kat artış gözlendi (p<0.05) (Şekil 3.28).



Şekil 3.28. *I. geotropa* petrol eteri ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında MCF-7 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p <0,05))

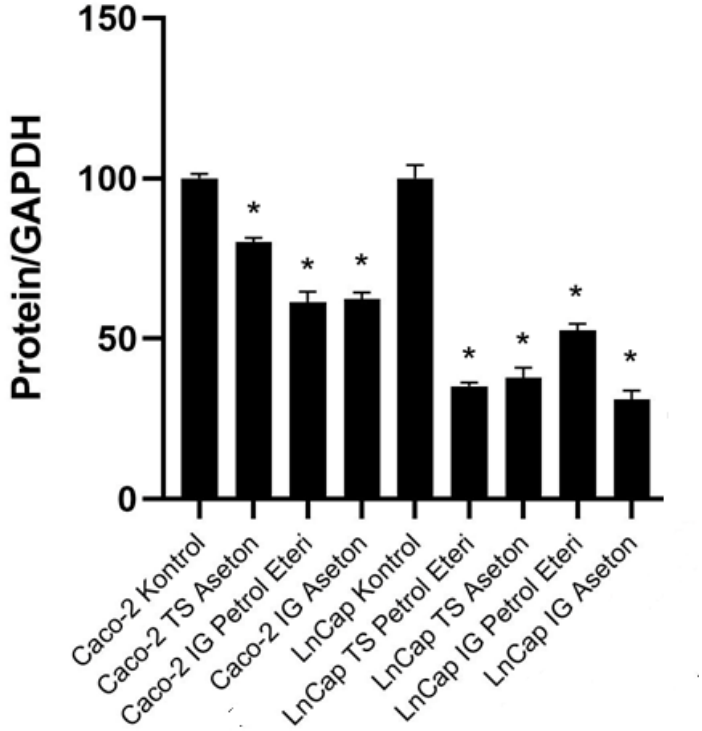
I. geotropa aseton ekstresinin MCF-7 hücre hattında, BAX gen ekspresyonunu 1,67 kat artırırken, BCL-2 gen ekspresyonunu 1,6 kat azalttı (p<0.05). Kaspaz 3, 8 ve 9 genlerinin mRNA düzeylerinde ise sırasıyla 2,63, 1,96 ve 2,02 kat artış gözlendi(p<0.05) (Şekil 3.29).



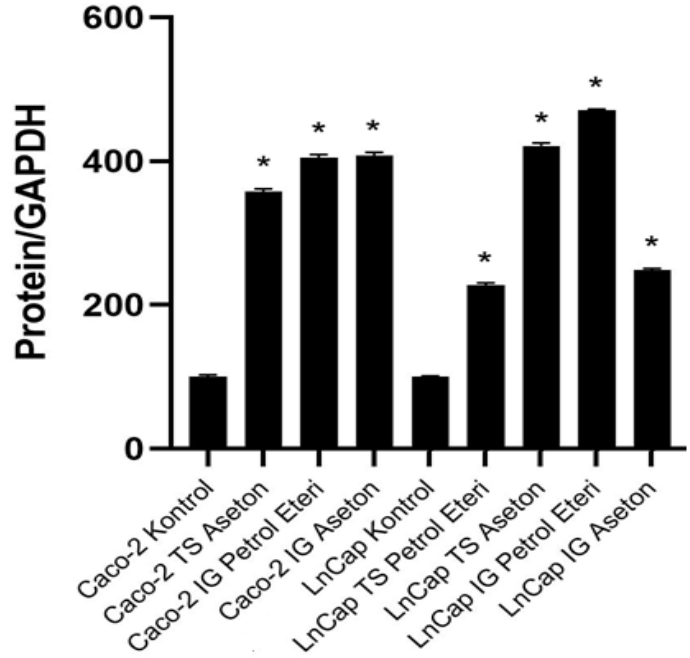
Şekil 3.29. *I. geotropa* aseton ekstresinin EC_{50} dozu uygulaması sonrasında MCF-7 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3, 8 9, BAX, BCL-2, mRNA seviyelerine etkisi (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p <0,05))

3.3.2.5. Protein ekspresyon düzeylerinin analizi

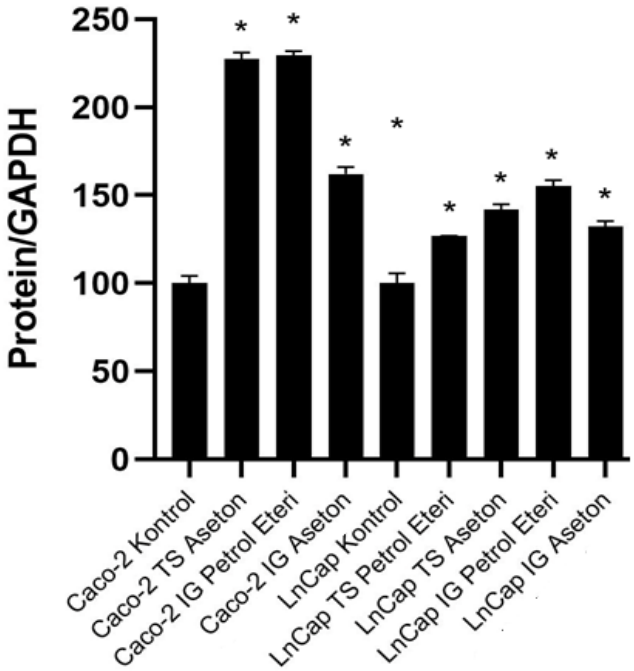
Ekstrakların protein bantlarının yoğunluğu, MCF-7, H1299 ve Caco-2 ve LnCap hücre hatlarında; apoptoz yolaklarında çeşitli görevleri olan Kaspaz 3, 8, 9, BCL-2 ve BAX protein seviyelerindeki değişimleri; belirlemek için densitometrik (ImageJ programı) olarak analiz edildi (Şekil 3.30-3.39). Kontrol değerleri %100 alındı. Sonuçlar GAPDH ile normalize edildi.



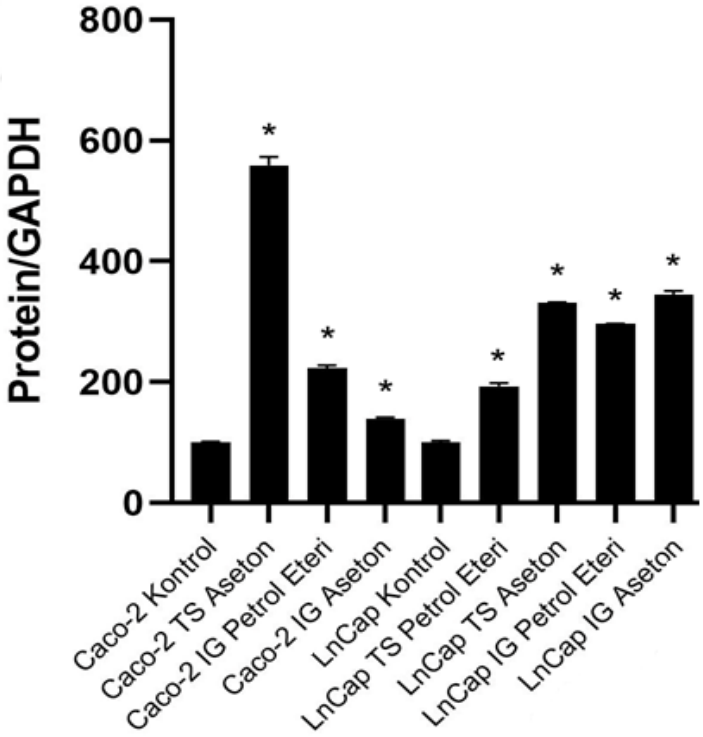
Şekil 3.30. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında BCL-2 protein seviyelerine etkisi (* : Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p <0,05))



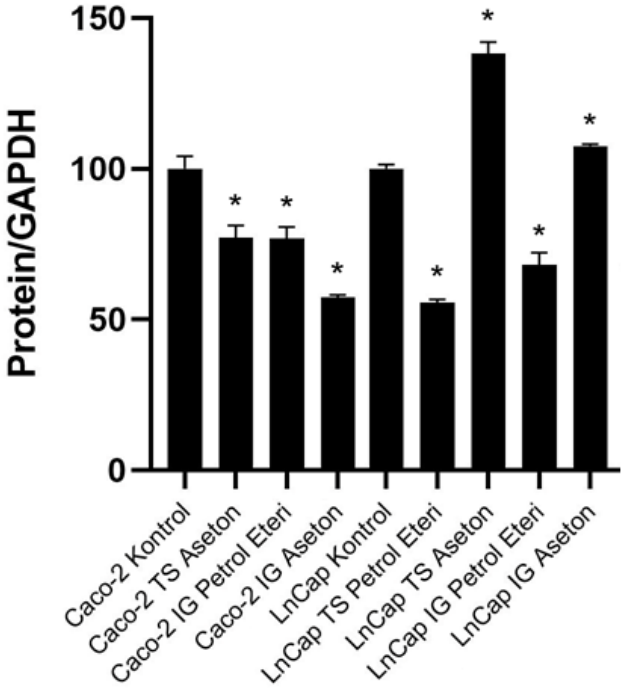
Şekil 3.31. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında BAX protein seviyelerine etkisi (* : Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p<0,05))



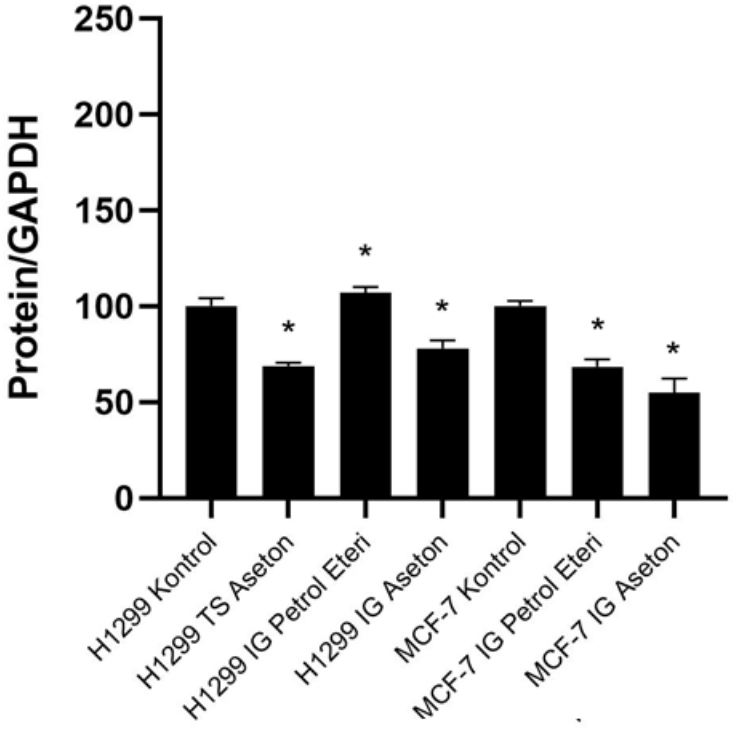
Şekil 3.32. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında Kaspaz 3 protein seviyelerine etkisi (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p<0,05))



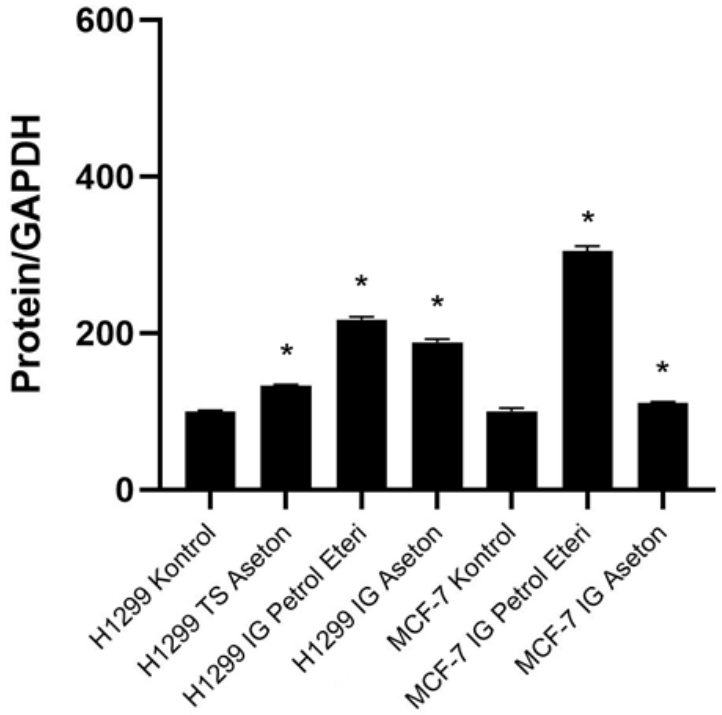
Şekil 3.33. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında Kaspaz 8 protein seviyelerine etkisi (* : Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p<0,05))



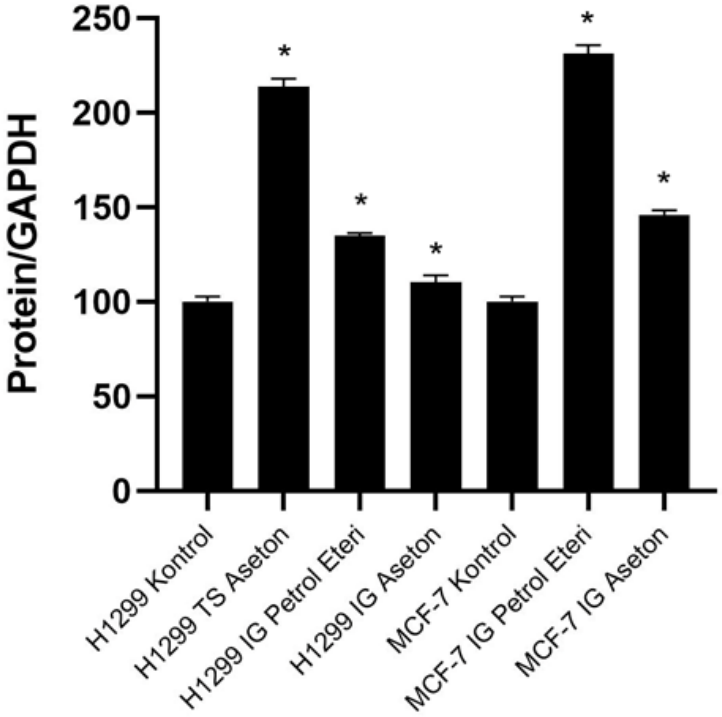
Şekil 3.34. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında Kaspaz 9 protein seviyelerine etkisi (* : Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p<0,05))



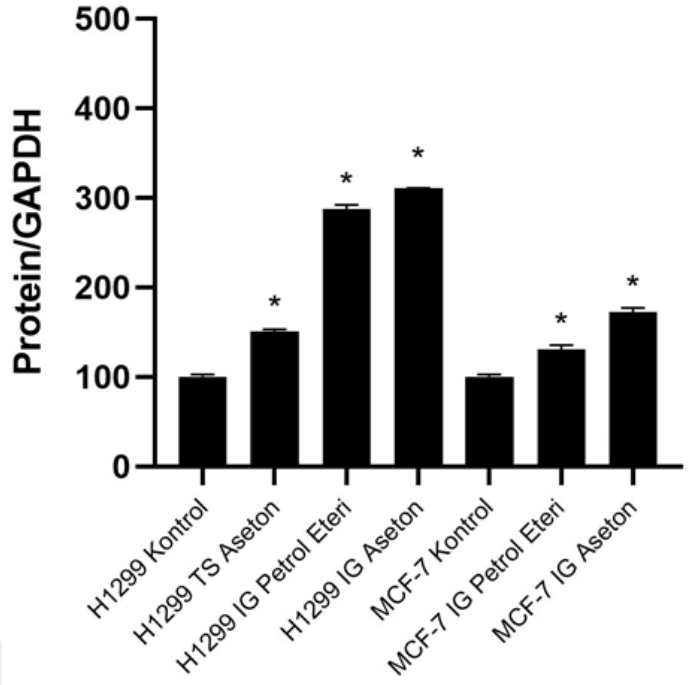
Şekil 3.35. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında BCL-2 protein seviyelerine etkisi (* : Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p <0,05))



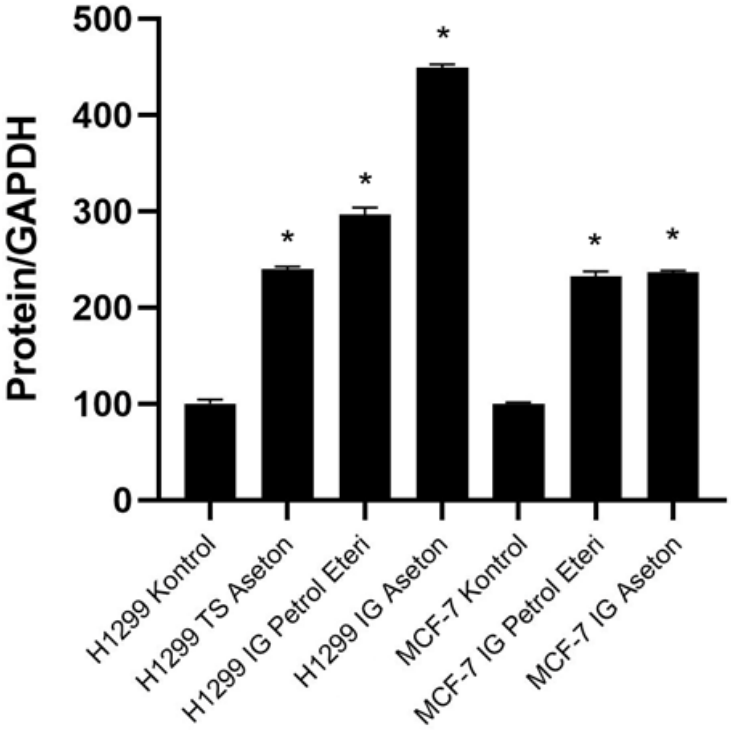
Şekil 3.36. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında BAX protein seviyelerine etkisi (* : Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p<0,05))



Şekil 3.37. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında Kaspaz 3 protein seviyelerine etkisi (* : Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p<0,05))



Şekil 3.38. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında Kaspaz 8 protein seviyelerine etkisi (* : Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p<0,05))



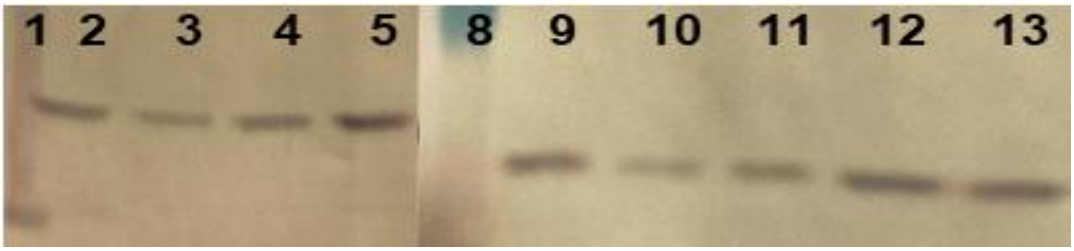
Şekil 3.39. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının MCF-7 ve H1299 ve hücre hattında Kaspaz 9 protein seviyelerine etkisi (* : Kontrol grubuna göre anlamlı fark (p<0,05))

Protein analizleri, *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* ekstrelerinin apoptozla ilişkili genlerin ekspresyonunu değiştirdiğini; proapoptotik genleri artırıp, antiapoptotik genleri azalttığını göstermiştir. H1299, Caco-2, LnCap ve MCF-7 hücre hatlarında apoptoz, gen ekspresyonu, floresan görüntüleme ve protein düzeyi analizleriyle doğrulanmıştır. Bulgular tutarlıdır ve birbirini desteklemektedir.

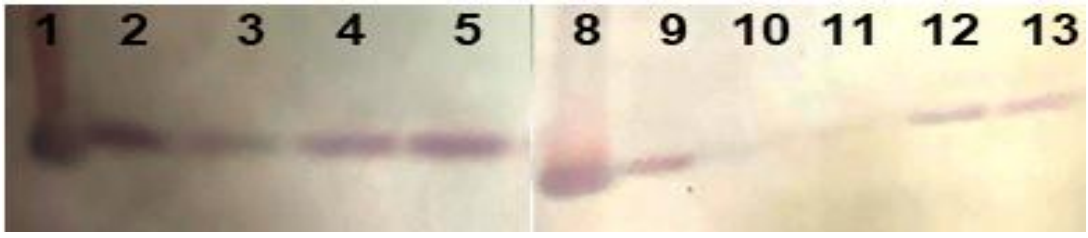
3.3.3. Western-Blot analizleri

T. scalpturatum ve *I. geotropa* mantarı ekstrelerinin LnCap ve Caco-2 kanser hücre hatlarında Western Blot analizlerinde, Kaspaz 3, 8, 9, GAPDH, BAX, BCL-2 protein seviyelerine etkisi arasında verilmektedir.

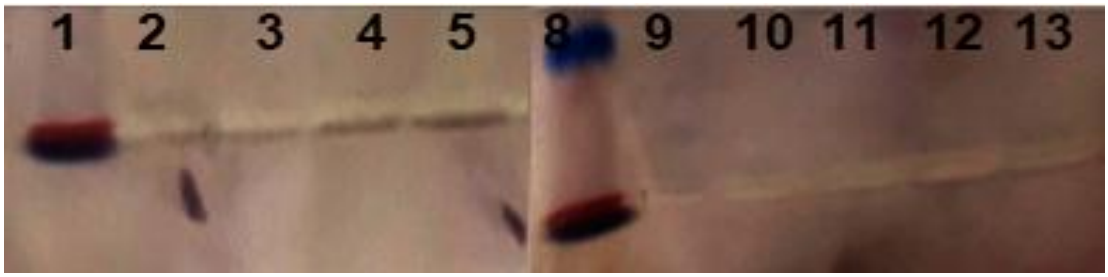
Şekil 3.40-3.45'de (**1**) kb opti-protein marker, (**2**) Caco-2 kontrol, (**3**) Caco-2 *T. scalpturatum* aseton ekstresi, (**4**) Caco-2 *I. geotropa* petrol eteri ekstresi, (**5**) Caco-2 *I. geotropa* aseton ekstresi, (**8**) kb opti-protein marker, (**9**) LnCap kontrol, (**10**) LnCap *T. scalpturatum* petrol eteri ekstresi, (**11**) LnCap *T. scalpturatum* aseton ekstresi, (**12**) LnCap *I. geotropa* petrol eteri ekstresi, (**13**) LnCap *I. geotropa* aseton ekstresi olarak verildi.



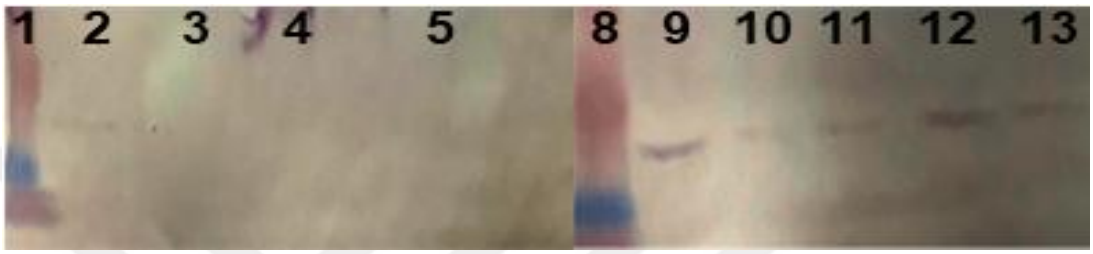
Şekil 3.40. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında GAPDH protein seviyesine etkisi.



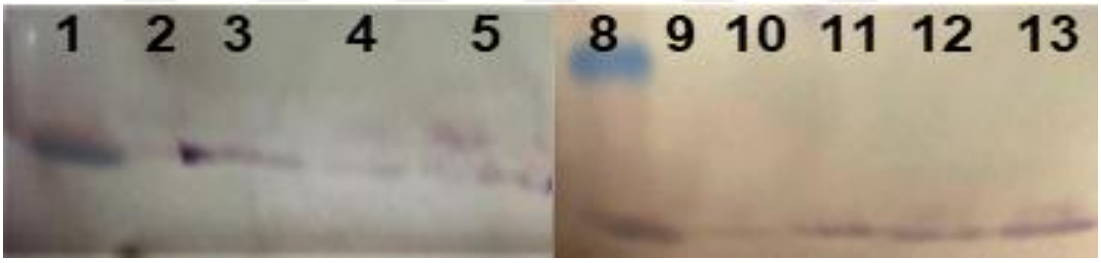
Şekil 3.41. *Mantar* ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının LnCap ve Caco-2 *hücre hattı*nda apoptoz yolaklarında görev alan BCL-2 protein seviyesine etkisi



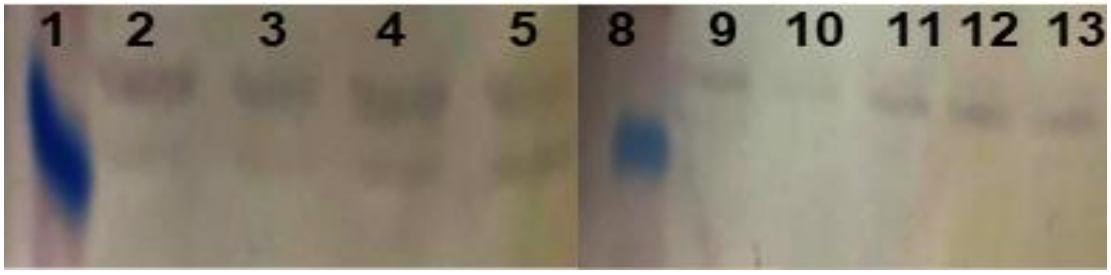
Şekil 3.42. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan BAX protein seviyesine etkisi



Şekil 3.43. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3 protein seviyesine etkisi



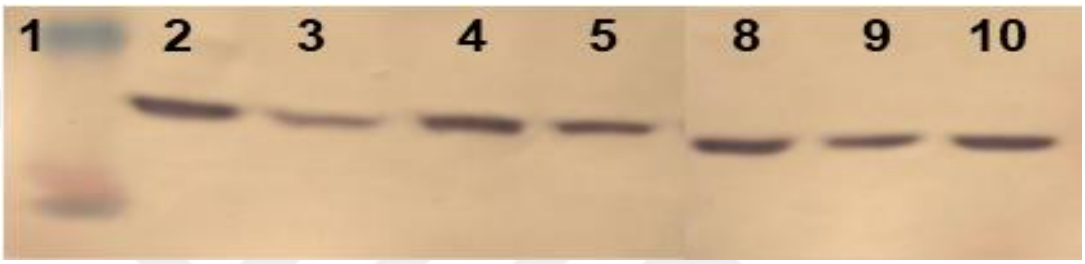
Şekil 3.44. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 8 protein seviyesine etkisi



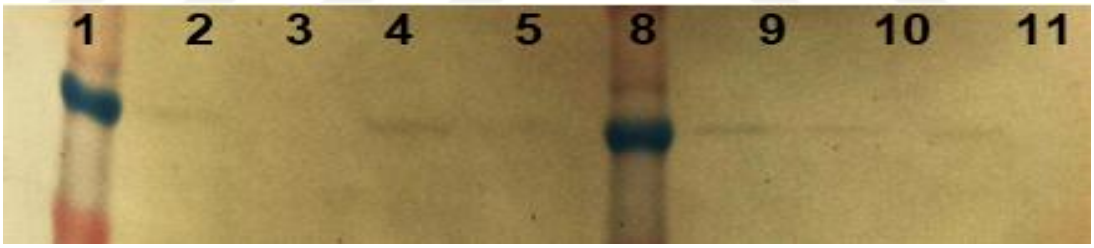
Şekil 3.45. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının LnCap ve Caco-2 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 9 protein seviyesine etkisi

T. scalpturatum ve *I. geotropa* mantar ekstrelerinin H1299 ve MCF-7 kanser hücre hatlarına karşı Western Blot analizlerinde, GAPDH, Kaspaz 3, 8 ve 9, BAX ve BCL2 protein seviyelerine etkisi arasında verilmektedir.

Şekil 3.46-3.51'de (**1**) kb opti-protein marker, (**2**) H1299-2 kontrol, (**3**) H1299-*T. scalpturatum* aseton ekstresi, (**4**) H1299-*I. geotropa* petrol eteri ekstresi, (**5**) H1299-*I. geotropa* aseton ekstresi, (**8**) MCF-7 Kontrol, (**9**) MCF-7-*I. geotropa* petrol eteri ekstresi, (**10**) MCF-7-*I. geotropa* petrol eteri ekstresi, (**11**) MCF-7-*I. geotropa* aseton ekstresi olarak verildi.

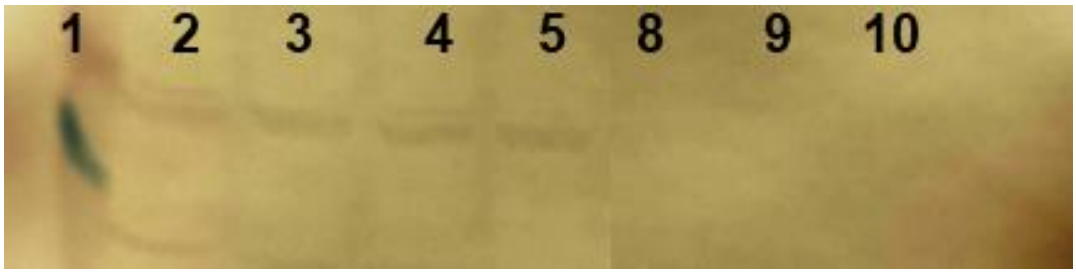


Şekil 3.46. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında GAPDH protein seviyesine etkisi.

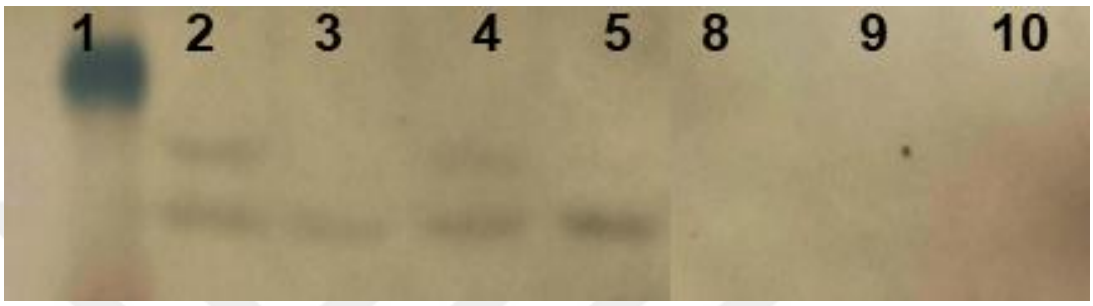


Şekil 3.47. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan BCL-2 protein seviyesine etkisi.

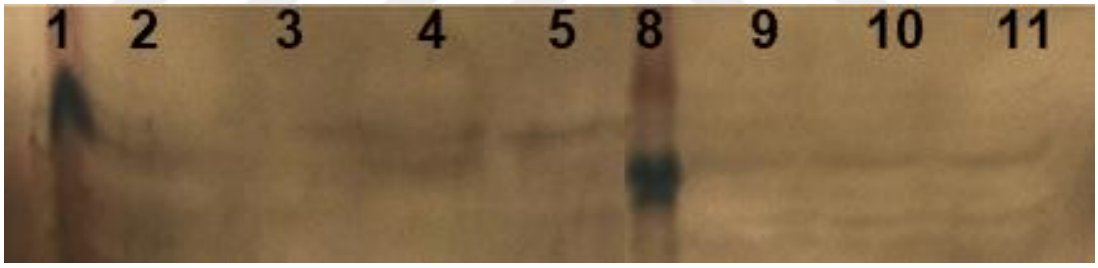
Şekil 3.48. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan BAX protein seviyesine etkisi



Şekil 3.49. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 3 protein seviyesine etkisi.



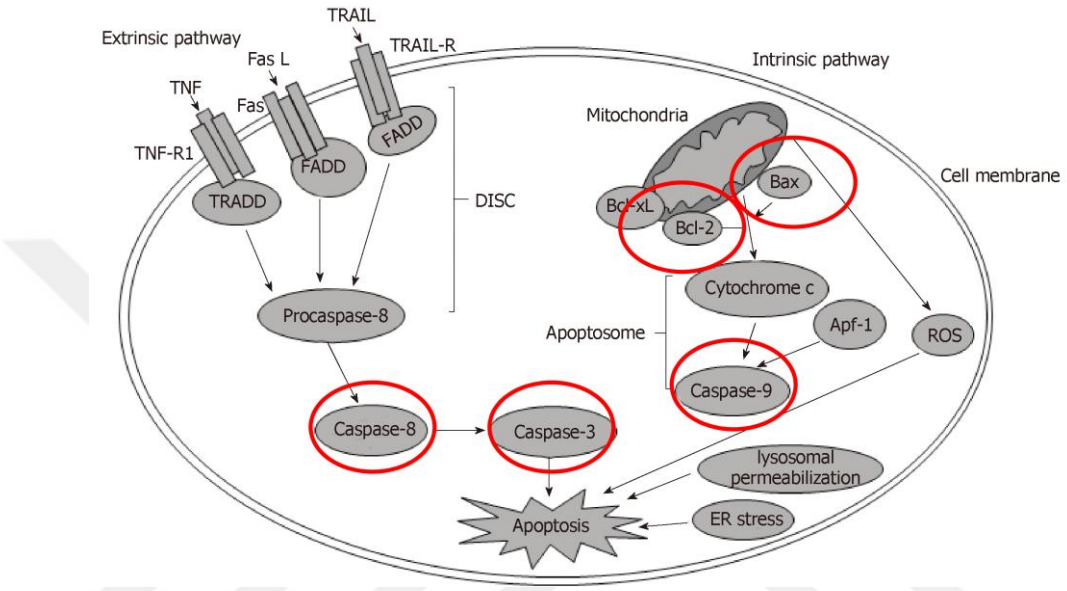
Şekil 3.50. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 8 protein seviyesine etkisi.



Şekil 3.51. Mantar ekstrelerinin EC_{50} dozu uygulamasının MCF-7 ve H1299 hücre hattında apoptoz yolaklarında görev alan Kaspaz 9 protein seviyesine etkisi

Sitotoksik etki gösteren ve EC_{50} değerleri hesaplanan mantar ekstreleri üzerinde üç farklı yaklaşımla apoptoz analizleri yapıldı. Apoptoz, çeşitli faktörler tarafından indüklenen bir hücre ölüm tipidir ve kanser hücrelerini yok etmek için umut verici bir strateji olarak değerlendirilmektedir (Pistritto vd, 2016, Preffer ve Singh, 2018). Farklı genler tarafından kontrol edilen apoptozun, iki farklı (dışsal ve içsel) yolla gerçekleşmektedir. Mitokondri ve BCL-2 gen ailesi özellikle dış yolak tarafından yönetilir (Singh vd, 2019). Apoptozda kaspazların aktivasyonu arasındaki denge, Antiapoptotik (BCL-xL proteinleri ve BCL-2) ve proapoptotik (BIM proteinleri ve

BAX) açısından kritik öneme sahiptir (Danial ve Korsmeyer, 2004, White vd, 2017). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, her iki türün petrol eteri ve aseton ekstrelerinin apoptozla ilişkili Kaspaz, BAX ve BCL-2 gen seviyelerini hem içsel hem de dışsal yolakları etkileyerek hücrelerde apoptoz sürecini başlattığı ve apoptozu artırdığı tespit edildi.



Şekil 3.52. Apoptozun içsel ve dışsal yolakları

3.4. Timidin Fosforilaz (TP) İnhibisyonu Aktivitesi Sonuçları

Gıda olarak tüketilebilen *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* türlerinin timidin fosforilazı inhibe etme seviyeleri de belirlendi. Tümör progresyonu ve metastazın önlenmesine katkı sağlayabileceği öngörülen ekstrelerin timidin fosforilaz inhibisyon kapasiteleri, HPLC-DAD ile timidinin azalımına dayalı olarak Krenitsky ve Bush (1979) yöntemine göre değerlendirildi.

I. geotropa ve *T. scalpturatum* mantarlarının petrol eteri, aseton ve MeOH ekstrelerinin 200 µg/mL konsantrasyonda timidin fosforilaz inhibisyonu aktivitesi % inhibisyon cinsinden hesaplandı. Ekstrelerinin timidin fosforilaz inhibisyon aktivite sonuçları Çizelge 3.4'de verilmektedir (Çakır vd, 10.UAKK, 7-11 Eylül 2022, Muğla.). Yapılan aktivite test sonucuna göre en iyi inhibisyonu *I. geotropa* petrol eteri ekstresi (%74,9 ±1,21) ve *T. scalpturatum* aseton ekstresi (%54,8 ±1,1) verdi. MeOH

ekstreleri aynı derecede inhibisyon aktivitesi göstermedi. Timidin fosforilazı inhibe ettiği bilinen 7-deazoksantin pozitif kontrol olarak seçildi. Aynı şartlarda 50 µg/mL derişimde analiz edilen standardın %87,56±0,3 inhibisyon aktivitesi hesaplandı. *T. scalpturatum* aseton ekstresinin, *I. geotropa* petrol eteri ekstresinin timidin fosforilaz inhibisyon aktivitesi göreceli olarak yüksek bulundu. Bu sonuçlar, timidin fosforilaz inhibisyon aktivitesi açısından *T. scalpturatum* ve *I. geotropa'nın* metastazı engelleme de etkili potansiyel kanser terapötikleri olabileceğine işaret etmektedir.

Çizelge 3.4. *I. geotropa* ve *T. scalpturatum* mantarının ekstrelerinin timidin fosforilaz inhibisyon aktivite sonuçları

Mantar türü	Ekstreler	%inhibisyon (200 µg/mL)
	Petrol eteri	17,7±0,20
T. scalpturatum	Aseton	54,8±1,10
	Metanol	2,54±0.03
	Petrol eteri	74.9±1.21
I. geotropa	Aseton	39,3±0,45
	Metanol	2,40±0.02
7-deazoksantin (50 µg/mL)		87,56±0,3

3.5. Ekstrelerinin Antioksidan Aktivite Sonuçları

3.5.1. *β*-Karoten renk açılım yöntemi sonuçları (lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi)

T. scalpturatum ve *I. geotropa*'nın ekstrelerinin lipit peroksidasyonu inhibisyon aktivitesi, *β*-karoten linoleik asit renk açılım yöntemi kullanılarak belirlendi. Her bir ekstrenin aktivitesi üç paralel olarak dört farklı konsantrasyonda belirlendi. Elde edilen sonuçlar IC_{50} olarak Çizelge 3.5'de verildi.

Tüm ekstrelerin sonuçları incelendiğinde, standartlara kıyaslandığında zayıf lipit peroksidasyonunu giderdiği görülmektedir. Pozitif kontrol olarak kullanılan *α*-

tokoferol ve BHA IC_{50} değerleri sırasıyla 2,48±0,64 ve 2,21±0,77 µg/mL olarak hesaplandı.

Çizelge 3.5. *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* mantarı ekstrelerinin *β*-karoten renk açılım yöntemi aktivite sonuçları

Mantar türü	Ekstreler	IC_{50} (µg/mL)
	Petrol eteri	>400
T. scalpturatum	Aseton	785,64±15,54
	Metanol	>800
	Petrol eteri	NA
I. geotropa	Aseton	>800
	Metanol	703,74±10,25
BHA[b]		2,48 ±0,64
***α*-TOC[b]**		2,21±0,77

BHA, Bütillenmiş hidroksi anisol; α-TOC, *Alfa tokoferol*. [b] Her değer, *n*=3 ortalamasıdır. (p<0,05). [NA]: aktivite hesaplanamamıştır. [b]: standart madde.

3.5.2. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi sonuçları

T. scalpturatum ve *I. geotropa'nın* ekstrelerinin serbest radikal giderim aktiviteleri DPPH serbest radikali kullanılarak belirlendi. Serbest radikal giderim aktivite sonuçları hesaplanan IC_{50} değerleriyle Çizelge 3.6'da verilmektedir. Tüm ekstrelerin sonuçları incelendiğinde, standartlara kıyasla düşük düzeyde DPPH serbest radikalini giderdiği görülmektedir. Pozitif kontrol olarak BHA kullanıldı ve standartın IC_{50} değeri 4,36±0,31 µg/mL olarak hesaplandı. Her iki mantarın ekstreleri karşılaştırıldığında; *I. geotropa*'nın MeOH ekstresinin DPPH serbest radikali giderim kapasitesi tüm ekstreler arasında en yüksek düzeydedir.

Çizelge 3.6. *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* mantarı ekstrelerinin DPPH serbest radikal giderim aktivite sonuçları

Mantar	Ekstrakt	IC_{50} (µg/mL)
	Petrol Eteri	*NA*
T. scalpturatum	Aseton	>800
	Metanol	>800
	Petrol Eteri	*NA*
I. geotropa	Aseton	>800
	Metanol	617,47±1,21
BHA[b]		4,36 ± 0,31

BHA, Bütillenmiş hidroksi anisol. [a] Her değer, *n*=3 ortalamasıdır. (p<0,05). [NA]: aktivite hesaplanamamıştır. [b]: standart madde.

3.5.3. ABTS katyon radikal giderimi aktivitesi sonuçları

T. scalpturatum ve *I. geotropa'nın* ekstrelerinin katyon radikal giderim aktiviteleri, ABTS katyon radikali kullanılarak belirlendi. Aktivite sonuçları hesaplanan IC_{50} değerleriyle Çizelge 3.7'de verildi. *I. geotropa*'nın MeOH ekstresinin katyon radikali giderim kapasitesi (IC_{50}: 75,03±0,04 µg/mL), *T. scalpturatum* MeOH ekstresinin katyon radikali giderim kapasitesi (IC_{50}: 96,13±0,54 µg/mL) ve BHA (IC_{50}: 1,5±0,14µg/mL)'dır. Her iki mantarın MeOH ekstrelerinin katyon radikalini gidermesine karşılık, standart antioksidana kıyasla aktiviteleri düşüktür.

Çizelge 3.7. *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* mantarı ekstrelerinin ABTS katyon radikal giderimi aktivite sonuçları

Mantar	Ekstrakt	IC_{50} (µg/mL)
	Petrol Eteri	*>400*
T. scalpturatum	Aseton	333,50±5,13
	Metanol	96,13±0,54
	Petrol Eteri	*>400*
I. geotropa	Aseton	239,01±1,15
	Metanol	75,03±0,04
BHA[b]		1,50 ± 0,14

BHA, Bütillenmiş hidroksi anisol. [a] *Her değer, n=3 ortalamasıdır. (p<0,05).* [b] : standart madde.

3.5.4. Cu (II) indirgeme kapasitesi (CUPRAC) yöntemi sonuçları

T. scalpturatum ve *I. geotropa* ekstrelerinin ve standartın indirgeme gücü kapasiteleri, Cu (II)'nin indirgenmesiyle oluşan Cu (I)-neokuprin kompleksinin 450 nm'deki absorbansı ölçülerek belirlendi. Aktiviteye ilişkin $A_{0,5}$ hesaplamaları Çizelge 3.8'de sunuldu. Elde edilen bulgulara göre, *I. geotropa*'nın metanol ekstresi ($A_{0,5}$: 230,63 ± 0,07 µg/mL) çalışmada değerlendirilen diğer tüm ekstrelerden daha yüksek indirgeme kapasitesi göstermiştir.

Çizelge 3.8. *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* mantarı ekstrelerinin Cu (II) indirgeme kapasitesi aktivite sonuçları

Mantar	Ekstrakt	IC_{50} (µg/mL)
T. scalpturatum	Petrol Eteri	397,80±0,17
	Aseton	361,50±0,06
	Metanol	814,60±3,25
I. geotropa	Petrol Eteri	383,00±0,14
	Aseton	230,63±0,07
	Metanol	457,75±0,10
BHA[b]		4,94 ± 0,08

BHA, Bütillenmiş hidroksi anisol. [a:] Her değer, n=3 ortalamasıdır. (p<0,05). [NA]: aktivite hesaplanamıştır. [b] *:* standart madde.

3.6. Ekstrelerinin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları

Spektrofotometrekrik yöntem (Ellman metodu) kullanılarak *in vitro* olarak *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* mantarlarından elde edilen petrol eteri, aseton ve MeOH ekstrelerin ve standartın antikolinesteraz inhibisyon aktiviteleri de belirlendi. Her bir ekstrenin aktivitesi dört farklı konsantrasyonda ve 3 paralel olarak yapılan testlerle belirlendi. Pozitif kontrol olarak galantamin kullanıldı.

3.6.1. AChE inhibisyonu aktivitesi sonuçları

T. scalpturatum ve *I. geotropa* mantar ekstrelerin ve standartın AChEinhibisyon aktivitesi IC_{50} (µg/mL) olarak Çizelge 3.9.'de verildi. *T. scalpturatum* ve *I. geotropa*

mantar türlerinin AChE enzimini inhibe etmesi oldukça zayıftır. Elde edilen asetilkolinesteraz inhibisyon aktivite sonuçlarına göre; her iki mantarın ekstrelerinin galantamin (IC_{50}: 4,36±0,31 µg/mL) kadar enzimi iyi inhibe edemediği görülmüştür.

3.6.2. BChE inhibisyonu aktivitesi sonuçları

T. scalpturatum ve *I. geotropa* mantar ekstrelerin ve standartın BChE inhibisyon aktivitesi IC_{50} (µg/mL) olarak Çizelge 3.9.'da verildi. En iyi aktiviteyi *T. scalpturatum* mantarının petrol eteri ekstresi ve ikinci en iyi aktiviteyi aseton ekstresi vermiştir. *T. scalpturatum*'un petrol eteri ekstresinin (IC_{50}: 192,09±1,49 µg/mL) diğer ekstrelere kıyasla BChE enzimini inhibe ederken; *I. geotropa'nın* BChE enzimini inhibe etmesi oldukça zayıftır. Petrol eteri ekstresi IC_{50} değeri (IC_{50}: 265,64±1,43 µg/mL) orta derecede inhibisyon etkisi sergilemiştir. Galantamin IC_{50} değeri 30,79±0,13 µg/mL'dir.

Çizelge 3.9. *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* mantarı ekstrelerinin antikolinesteraz aktivite sonuçları

Mantar	Ekstrakt	AChE	BChE
		IC_{50} (µg/mL)	IC_{50} (µg/mL)
	Petrol Eteri	*NA*	192,09±1,49
T. scalpturatum	Aseton	>200	216,70±22,73
	Metanol	NA	NA
	Petrol Eteri	*NA*	265,64±1,43
I. geotropa	Aseton	*>200*	*>200*
	Metanol	*>200*	*>200*
Galantamin[b]		4,44±1,57	30,79±0,13

[a] Her değer, n=3 ortalamasıdır. (p<0,05). [NA]: aktivite hesaplanamamıştır. [b] : standart madde.

3.7. Ekstrelerinin Antidiyabetik Aktivite Sonuçları

T. scalpturatum ve *I. geotropa* mantarlarından elde edilen petrol eteri, aseton ve metanol ekstrelerin ve standartın *α*-amilaz inhibisyon aktiviteleri de spektrofotometre ile *in vitro* belirlendi. Her bir ekstrenin aktivitesi dört farklı (50; 100; 200 ve 400 µg/mL) konsantrasyonda ve üç paralel olarak yapılan testlerle belirlendi. Pozitif kontrol olarak akarboz kullanıldı.

3.7.1. *α*-amilaz inhibisyonu aktivitesi sonuçları

T. scalpturatum ve *I. geotropa* mantar ekstrelerin ve standartın *α*-amilaz inhibisyon aktivitesi 400 µg/mL'de % inhibisyon olarak Çizelge 3.10'da verildi. *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* mantarlarının *α*-amilaz enzimini inhibe etmesi oldukça zayıftır. Akarboz IC_{50} değeri (IC_{50}: 36,74±4,50 µg/mL)'dir.

3.7.2. *α*-glukosidaz inhibisyonu aktivitesi sonuçları

T. scalpturatum ve *I. geotropa* mantar ekstrelerin ve standartın *α*-glukosidaz inhibisyon aktivitesi IC_{50} (µg/mL) olarak Çizelge 3.10'da verildi. En iyi aktiviteyi *I. geotropa* mantarının metanol ekstresi (IC_{50}: 28,64±2,68 µg/mL) ve ikinci en iyi aktiviteyi *T. scalpturatum* mantarının metanol ekstresi (IC_{50}: 97,52±5,89 µg/mL) vermiştir. *I. geotropa* mantarının metanol ekstresinin diğer ekstrelerden daha fazla *α*-glukosidaz enzimini inhibe ettiği ve akarboz'a (IC_{50}: 22,28±2,03 µg/mL) yakın aktivite gösterdiği görüldü.

Çizelge 3.10. *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* mantarı ekstrelerinin antidiyabetik aktivite sonuçları

		***α*-Amylase İnhibisyon Aktivite**	***α*-Glukosidaz İnhibisyon Aktivite**	
Mantar	**Ekstrakt**	**% inhibisyon 400 µg/mL**	**IC_{50} (µg/mL)**	**% inhibisyon 25 µg/mL**
	Petrol Eteri	27,58±1,82	-	74,55±4,80
T. scalpturatum	Aseton	35,27±5,40	>200	-
	Metanol	11,91±0,51	97,52±5,89	-
	Petrol Eteri	26,97±0,93	-	73,30±0,49
I. geotropa	Aseton	12,02±1,30	>200	-
	Metanol	15,24±1,85	28,64±2,68	-
Akarboz[b] (IC_{50}) 200 µg/mL		36,74±4,50 12,87±5,04	22,28±2,03	-

[a]: Her değer, n=3 ortalamasıdır.(p<0,05). [NA]: aktivite hesaplanamamıştır. [b]: standart madde. -: ölçüm yapılamadı.

3.8. *T. scalpturatum*'un Aseton Ekstresinden Madde İzolasyon Çalışmaları

3.8.1. *T. scalpturatum*'un aseton ekstresinin fraksiyonlandırılması

*T. scalpturatum'*un aseton ekstresi belirlenen dört hücre hatlarına karşı, yüksek sitotoksik aktivite göstermektedir. Sitotoksik aktivite açısından etkili bulunan *T. scalpturatum'*un aseton ekstresi fraksiyonlandırılması amacıyla kolon kromatografisinde silika jel kullanıldı. İTK ile ön denemeler yapılarak uygun çözücü sistemi ve adsorban belirlendi. %100 petrol eteri ile başlanarak ve polarite %10'luk artışlarla %100 metanole kadar artırılarak gradient elüsyonu gerçekleştirildi (Çizelge 3.11). Bu işlemde çözücü sistemi olarak hekzan:$CHCl_{33}$ (50:50), hekzan:etil asetat (60:40), $CHCl_3$:aseton (70:30), $CHCl_3$:MeOH (90:10) ve $CHCl_3$:toluen:MeOH (10:15:2) karışımları hazırlanarak polariteye uygun şekilde İTK analizlerinde kullanıldı. Adsorban olarak ise normal faz silika jel ile birlikte floresan katkılı İTK

plakası (Merck-5554) tercih edildi. *T. scalpturatum* aseton ekstresinin benzer fraksiyonların birleştirilmesiyle 12 alt fraksiyon (TS.As.1-TS.As.12) elde edildi.

Çizelge 3.11. *T. scalpturatum* aseton ekstrelerinin miktarları ve verimleri

Fraksiyon Kodu	Birleştirilen Fraksiyonlar	Miktarı (g)	% Verimi
TS.As.1	1-19	0,20	2,84
TS.As.2	20-31	0,56	7,92
TS.As.3	32-44	1,53	21,83
TS.As.4	45-52	0,70	10,04
TS.As.5	53-65	0,50	7,20
TS.As.6	66-69	0,07	0,96
TS.As.7	70-80	0,26	3,76
TS.As.8	81-116	0,97	13,81
TS.As.9	117-125	0,46	6,63
TS.As.10	126-135	0,67	9,53
TS.As.11	136-143	0,49	7,04
TS.As.12	144-155	0,64	9,06

3.8.2. *T. scalpturatum*'un aseton ekstresinin fraksiyonlarının sitotoksik aktivitesi

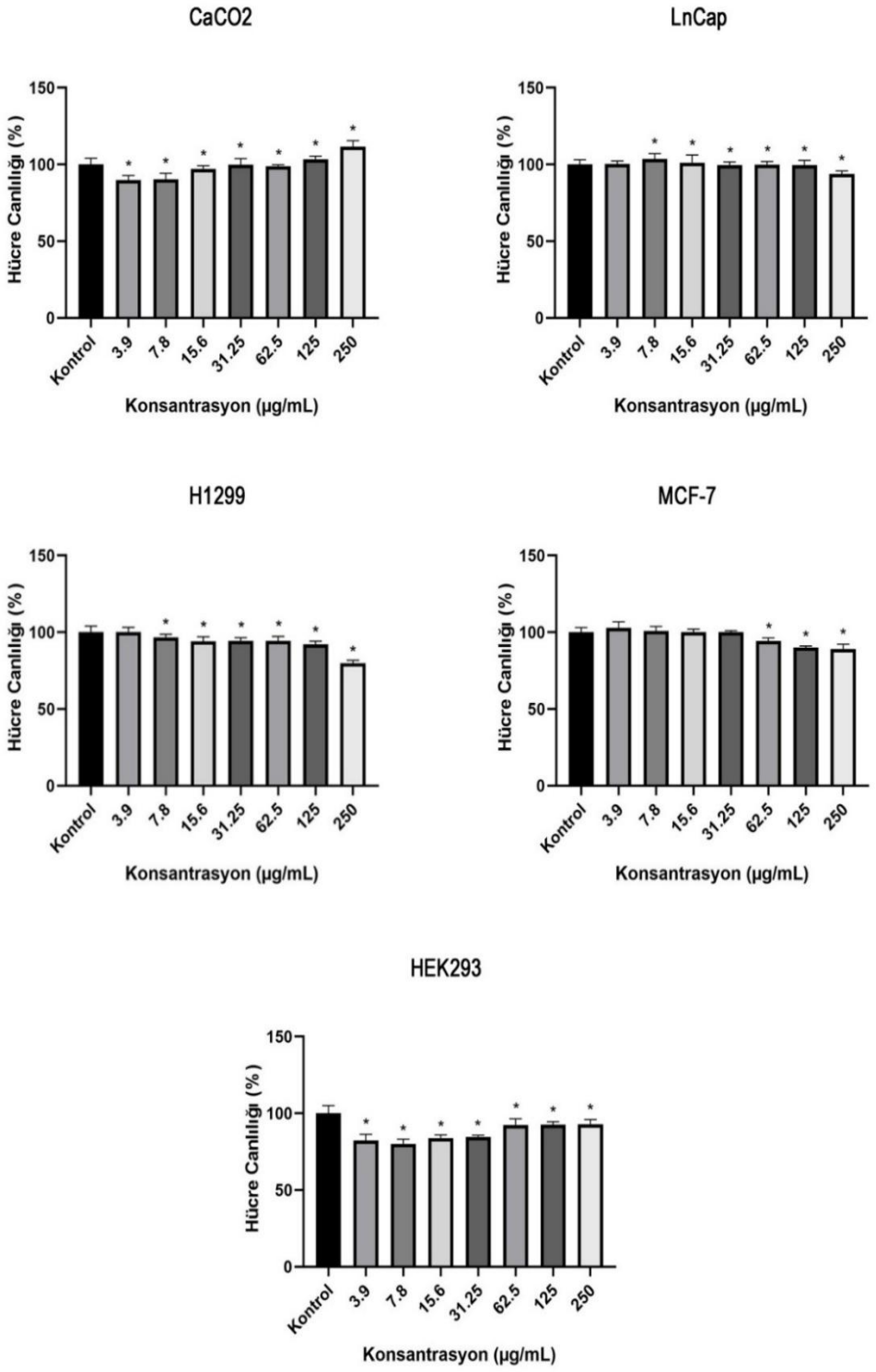
T. scalpturatum mantarının aseton ekstresinin (TS.As), fraksiyonlarının sitotoksik aktivitesi LnCap, Caco-2, H1299, MCF-7 ve HEK293 hücre hatlarına karşı araştırıldı. Aseton fraksiyonları TS.As.1-TS.As.12 etil asetat içerisinde çözülerek çeşitli konsantrasyonları (3,9; 7,8; 15,6; 31,25; 62,5; 125 ve 250 µg/mL) dört kanser hücre hattında, hücre canlılığı MTT testi ile belirlendi. Microsoft Excel ve Graphpad Prism v.9 uygulamaları kullanılarak üç tekrarlı olarak test edilen çalışmanın verileri değerlendirildi (Şekil 3.53-3.63) ve yarı maksimal etkili konsantrasyonları (EC_{50}) hesaplandı (Çizelge 3.12).

TS.As.3, TS.As.4, TS.As.5, TS.As.7 ve TS.As.8 fraksiyonları dört kanser hücre hattına karşı sitotoksik etki gösterirken; TS.As.12 hariç diğer fraksiyonlar sağlıklı hücre hattına karşı toksik etki göstermemektedir. TS.As.4 fraksiyonu LnCap (EC_{50}: 67,94 µg/mL); TS.As.7 fraksiyonu Caco-2 (EC_{50}: 82,08 µg/mL) kanser hücre hattında en yüksek sitotoksik aktiviteyi gösterdi.

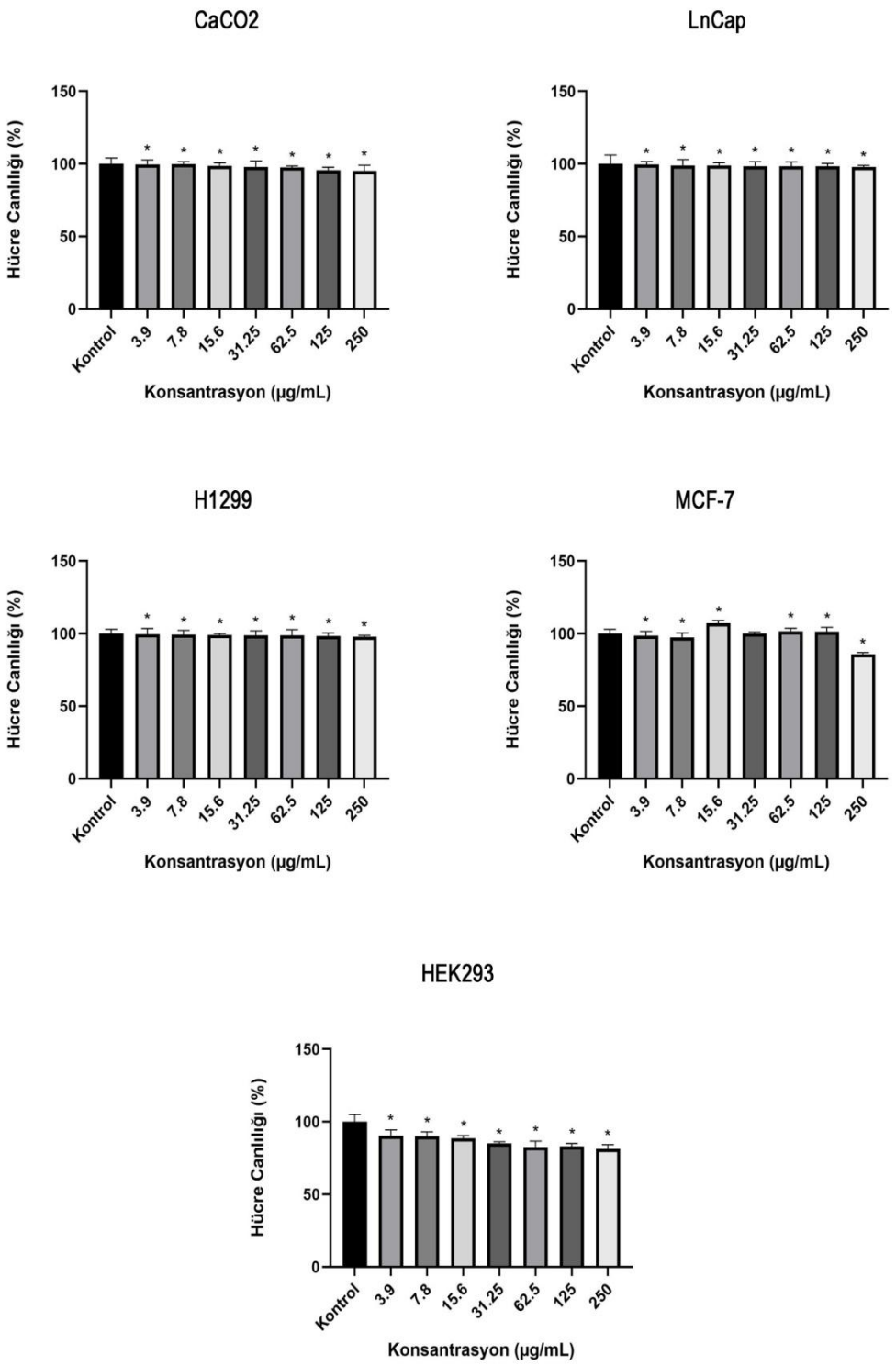
Çizelge 3.12. *T. scalpturatum* mantarının aseton ekstresinin (TS.As) fraksiyonlarının sitotoksik aktiviteleri

Fraksiyon Adı	Caco-2 EC_{50} (µg/mL)	LnCap EC_{50} (µg/mL)	H1299 EC_{50} (µg/mL)	MCF-7 EC_{50} (µg/mL)	HEK293 EC_{50} (µg/mL)
TS.PE ekstresi	46,86	77,36	197,1	*	129,2
TS.As.1	*	*	*	*	*
TS.As.2	*	*	*	*	*
TS.As.3	151,66	84,91	152,57	*	*
TS.As.4	103,57	67,97	111,65	*	*
TS.As.5	84,60	70,62	122,43	214,15	*
TS.As.7	82,08	80,76	153,93	226,76	*
TS.As.8	137,55	157,43	146,96	228,57	*
TS.As.9	*	*	*	*	*
TS.As.10	*	*	*	*	*
TS.As.11	*	*	*	*	*
TS.As.12	*	*	*	*	131,39

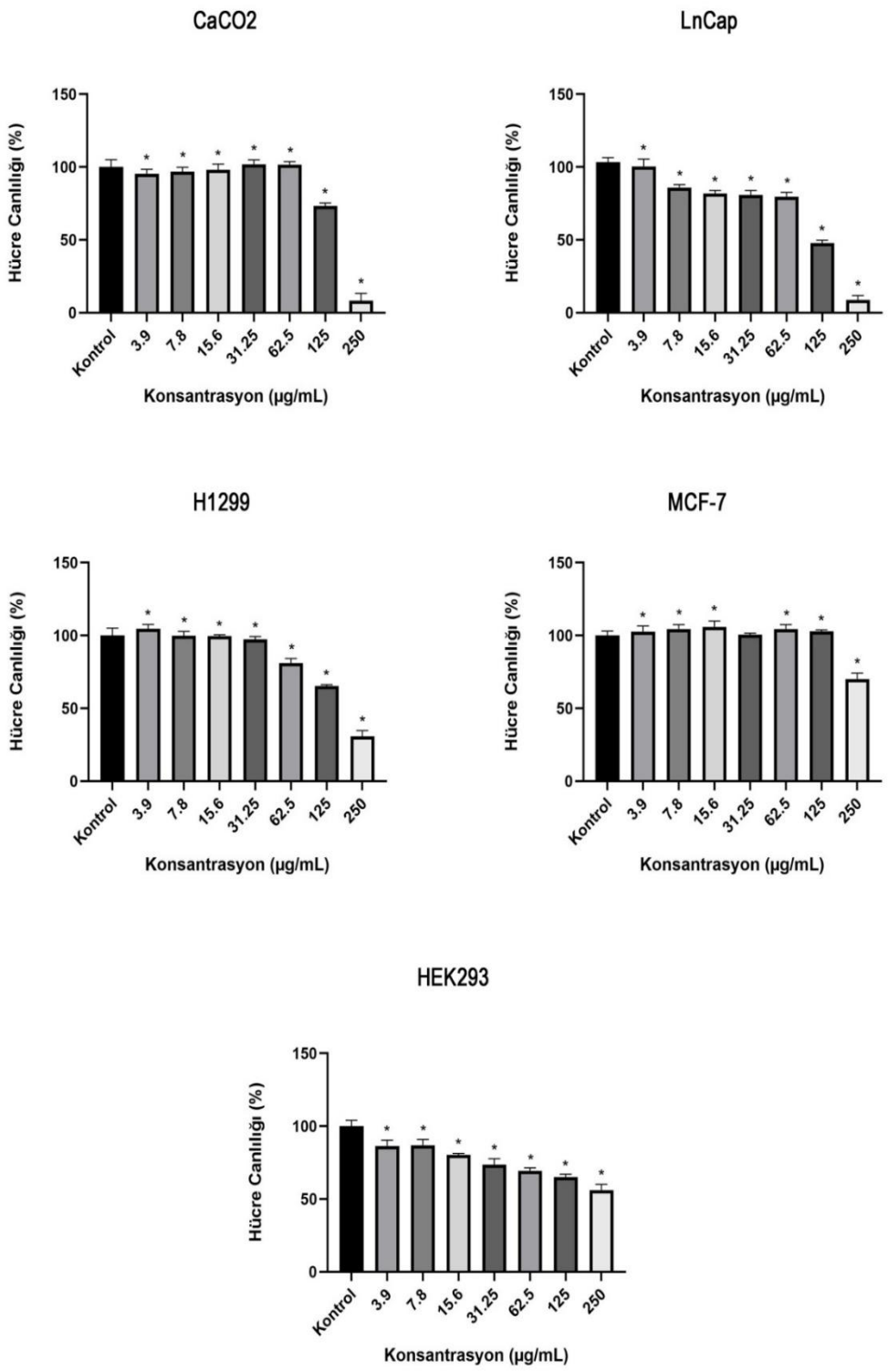
*EC_{50} değeri saptanmamıştır.



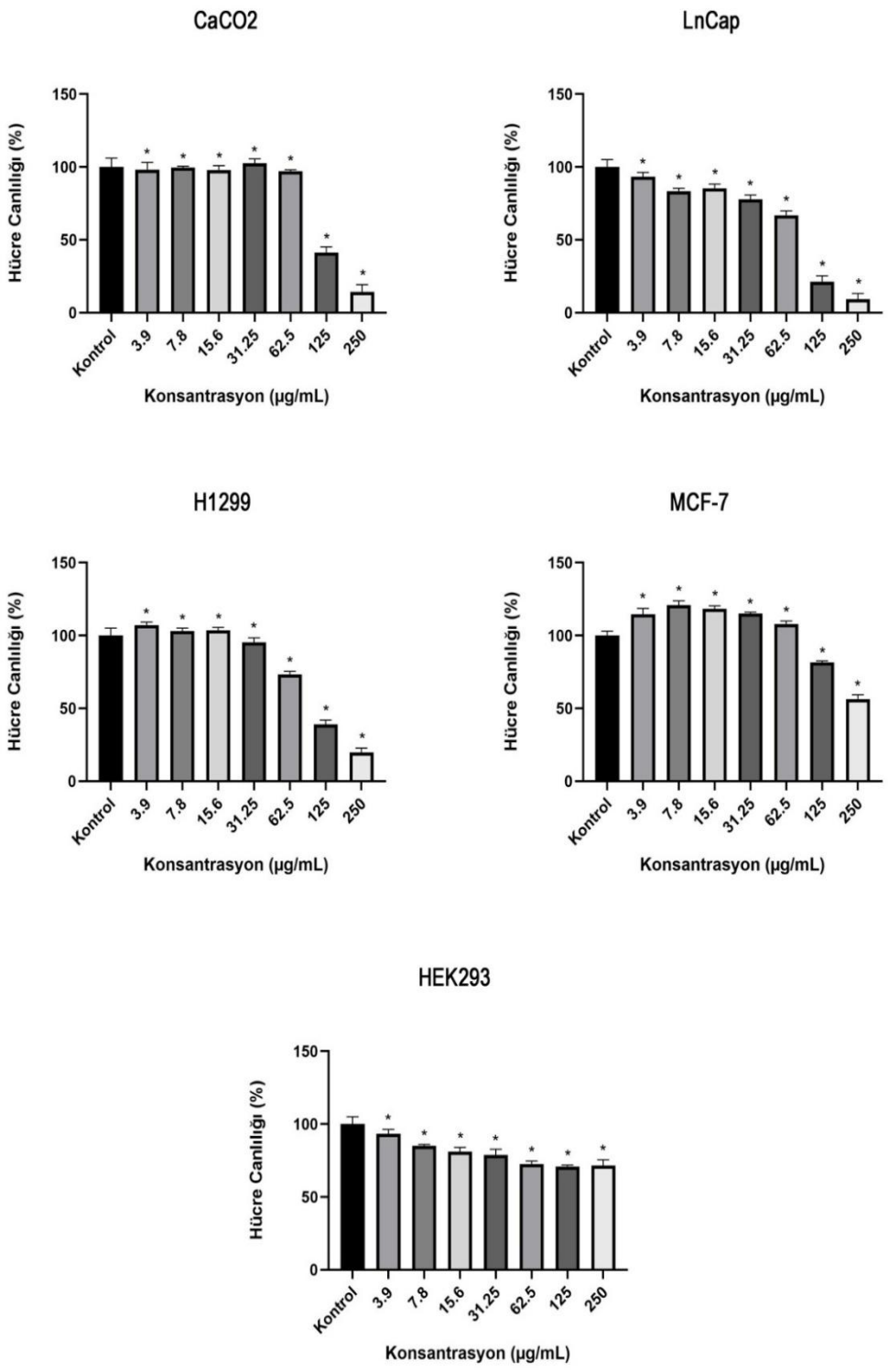
Şekil 3.53. *T. scalpturatum* mantarının aseton ekstresinin (TS.As) fraksiyonlarının sitotoksik aktiviteleri TS.As.1 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p <0,05)



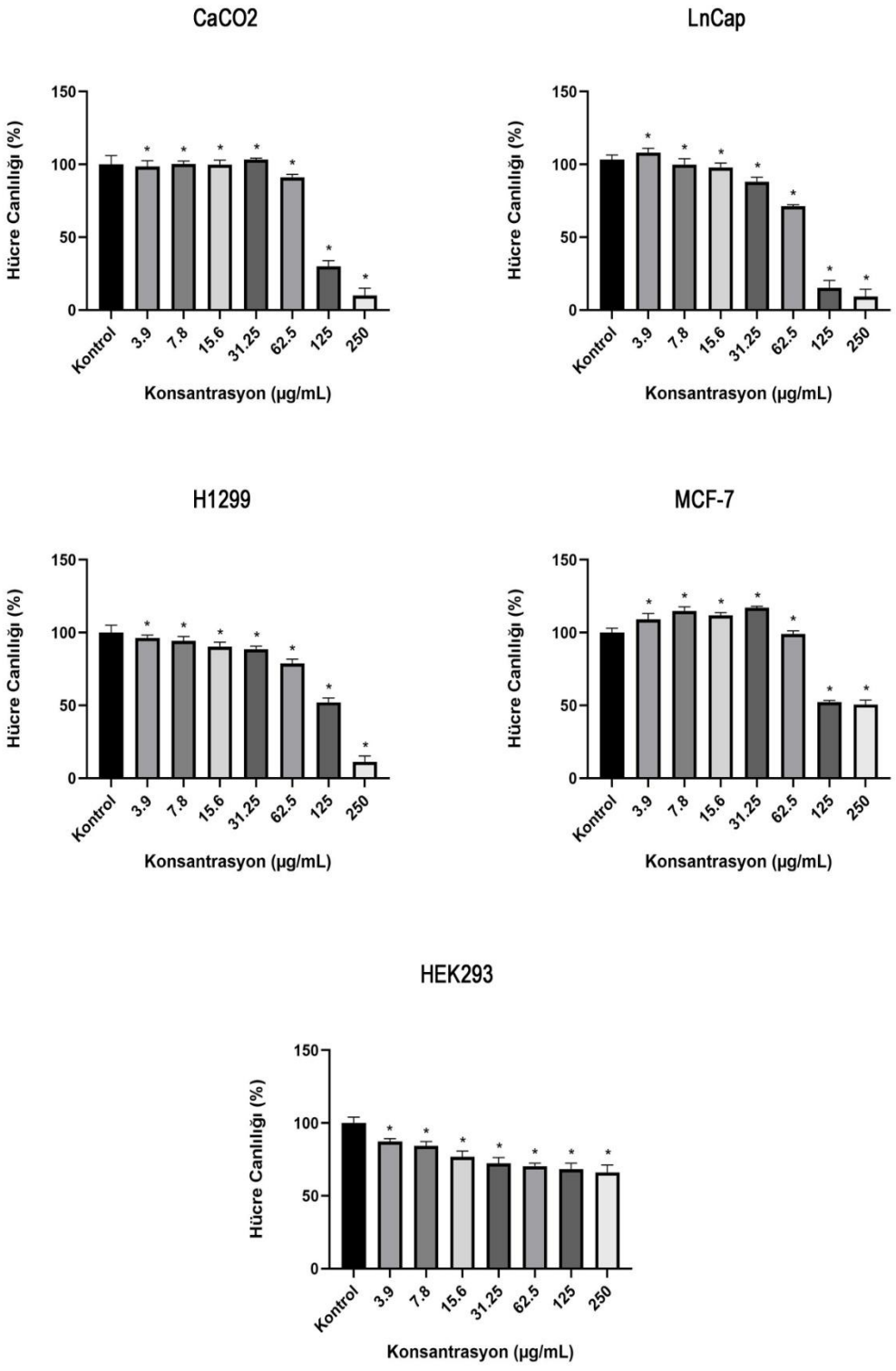
Şekil 3.54. TS.As.2 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p<0,05)



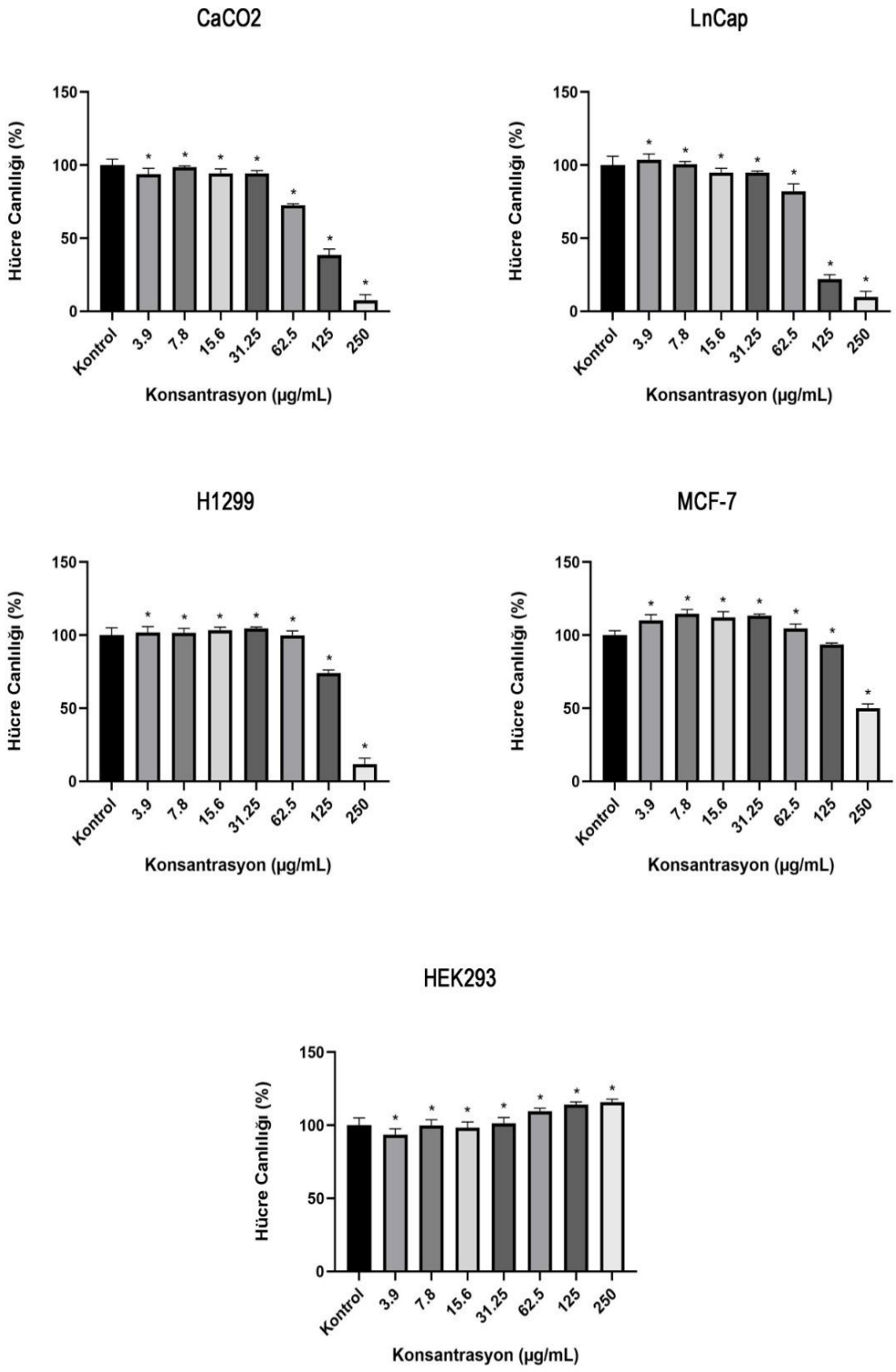
Şekil 3.55. TS.As.3 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p<0,05)



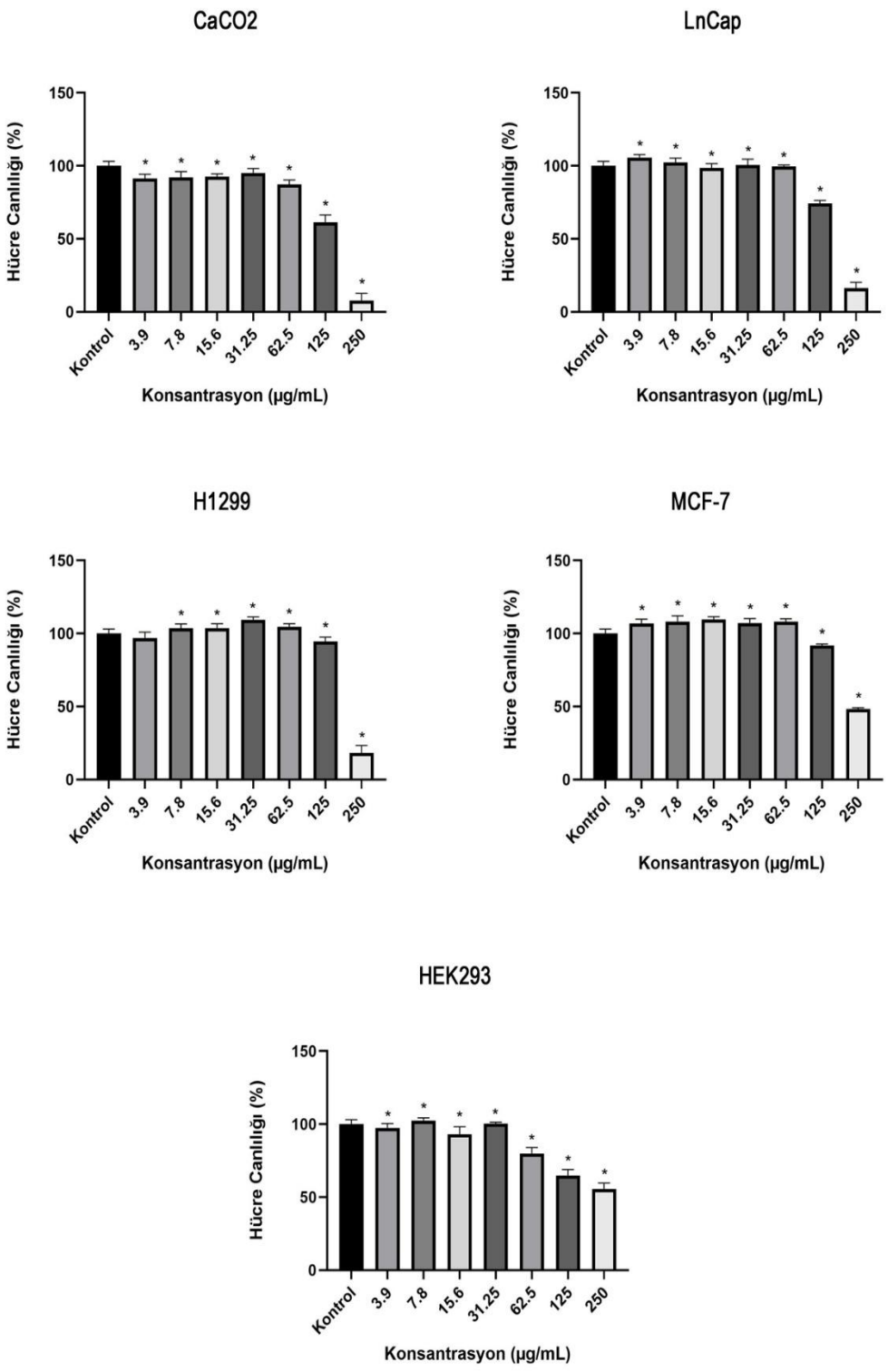
Şekil 3.56. TS.As.4 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p<0,05).



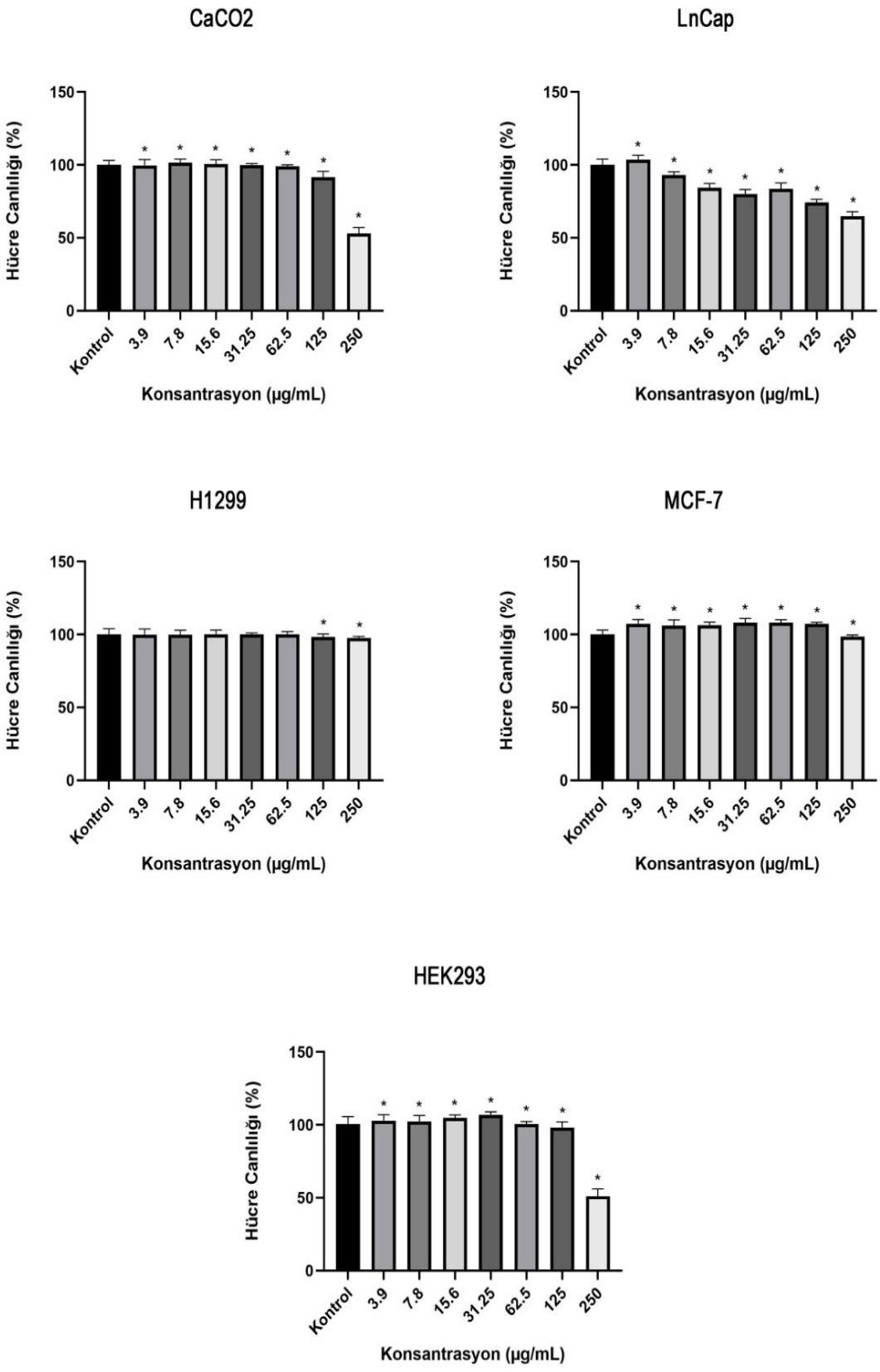
Şekil 3.57. TS.As.5 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p<0,05)



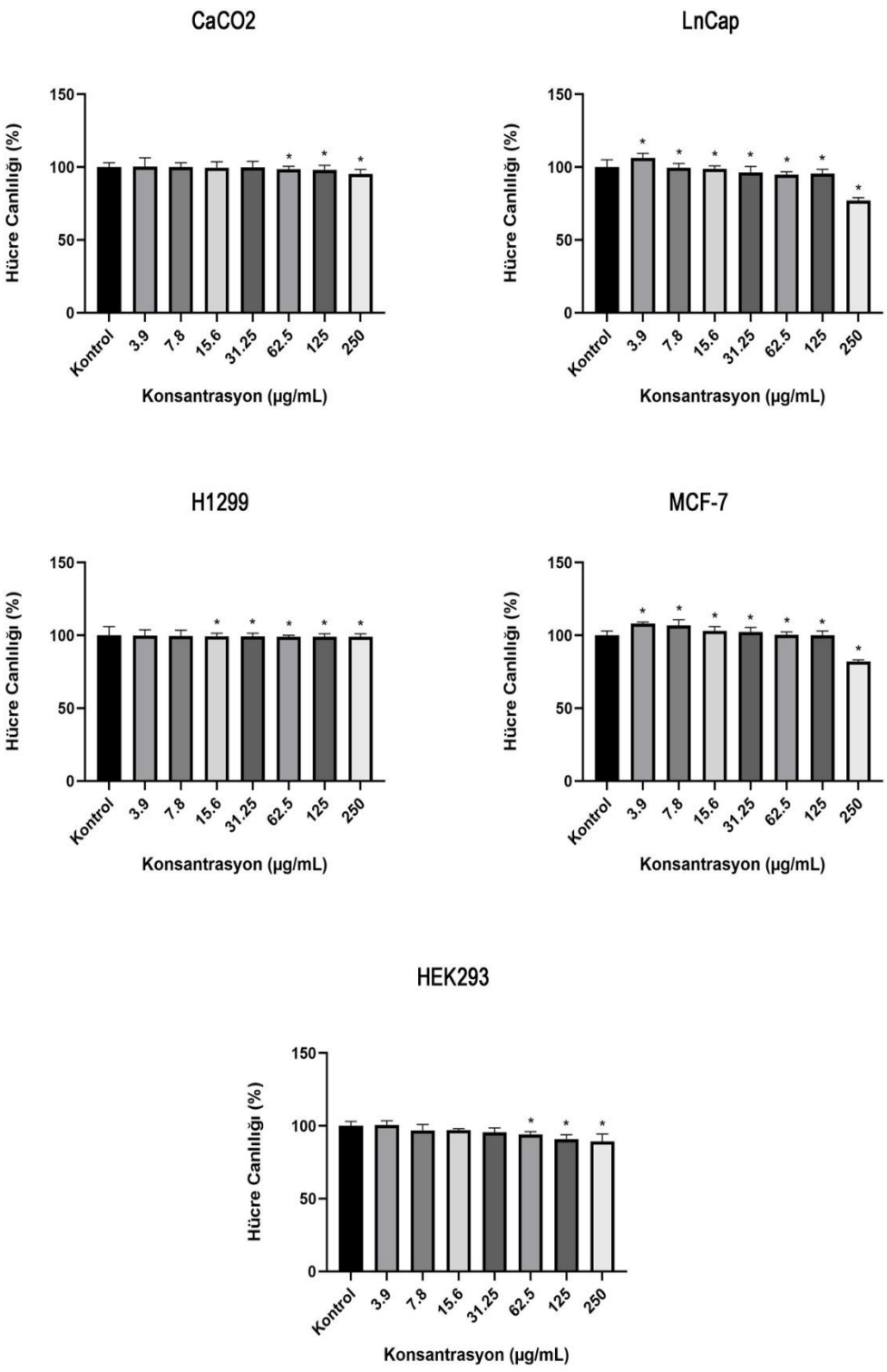
Şekil 3.58. TS.As.7 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p<0,05)



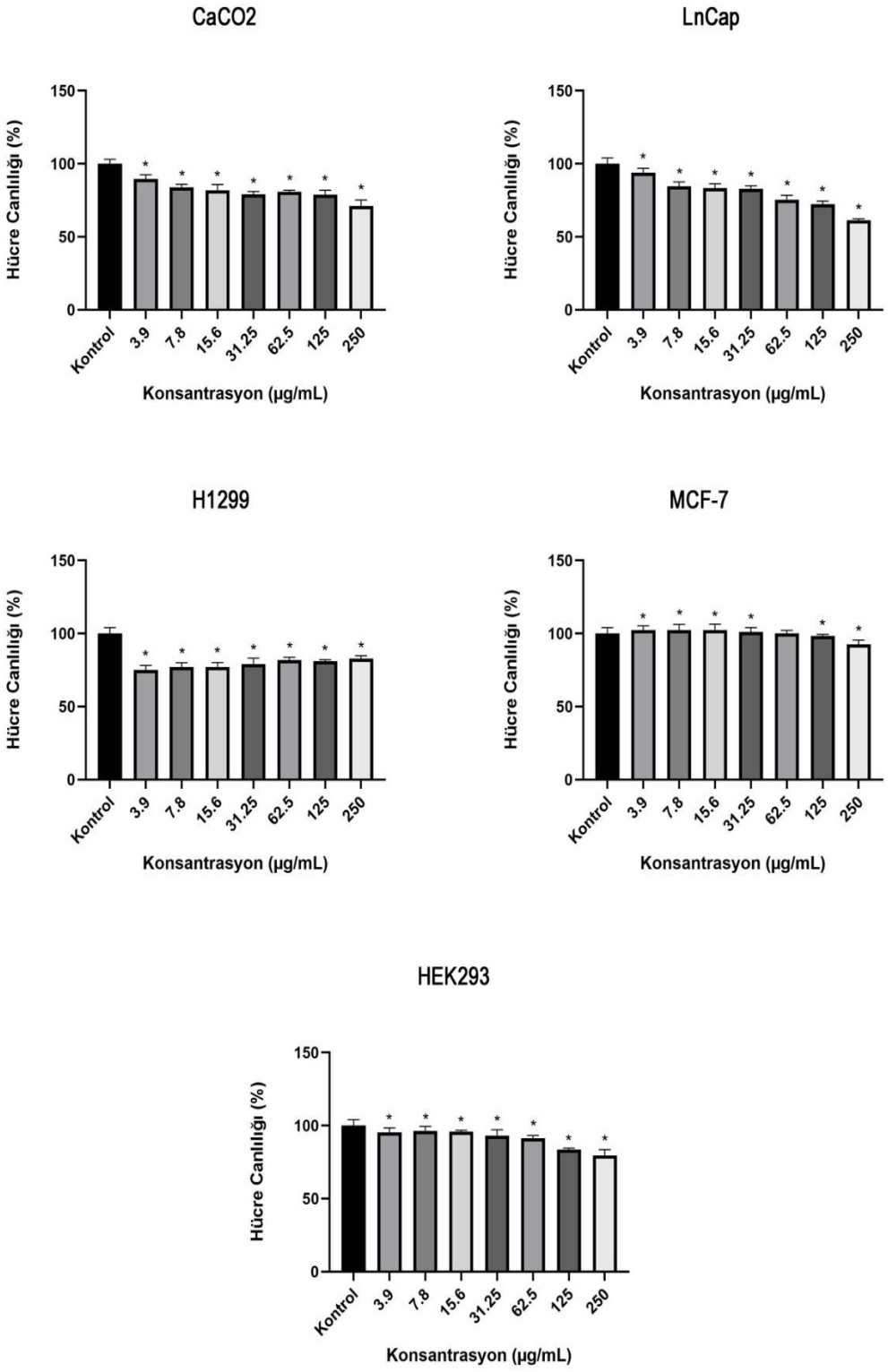
Şekil 3.59. TS.As.8 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p<0,05)



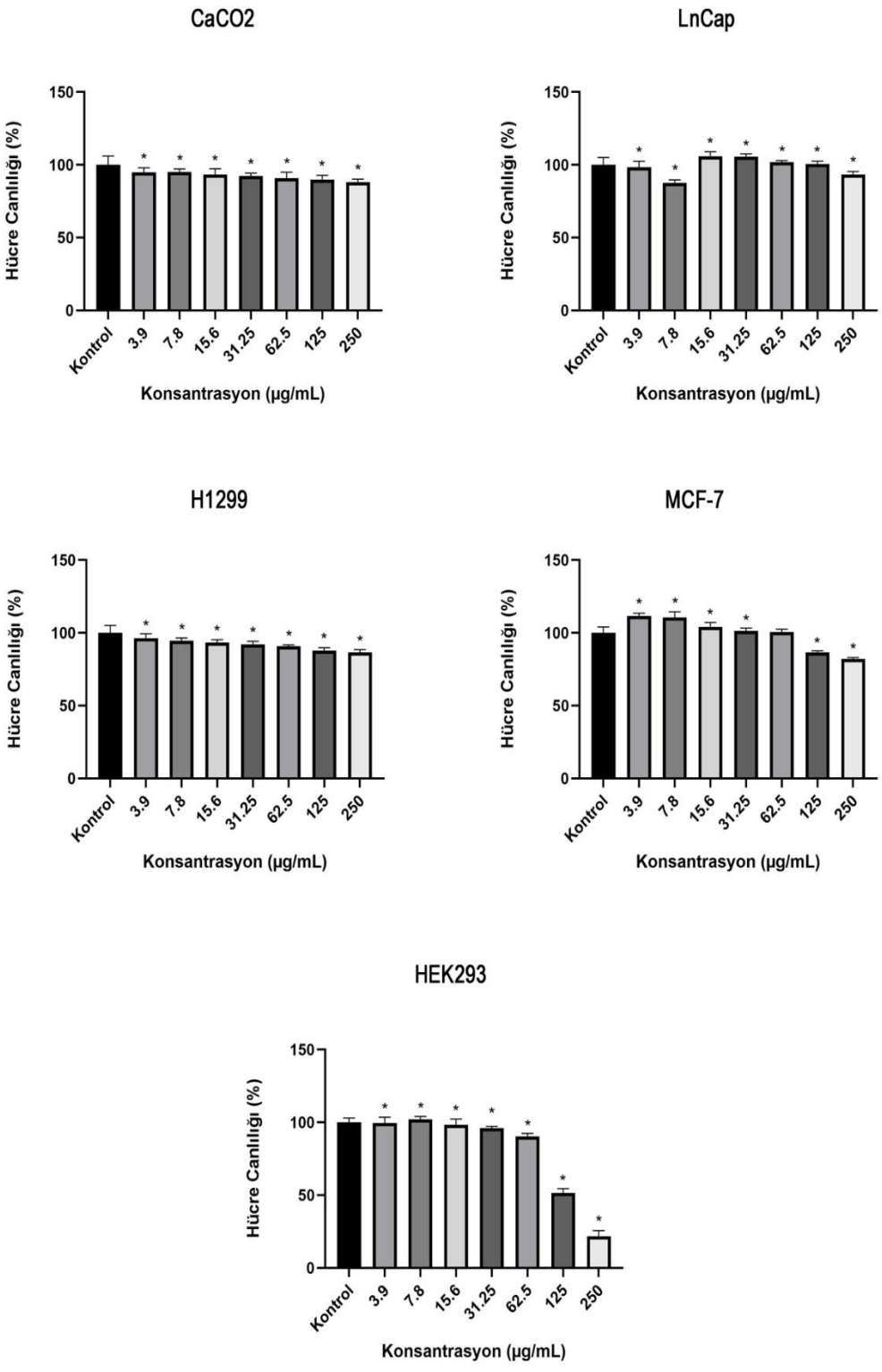
Şekil 3.60. TS.As.9 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p <0,05)



Şekil 3. 61. TS.As.10 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki Etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p <0,05)



Şekil 3.62. TS.As.11 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p<0,05)



Şekil 3.63. TS.As.12 fraksiyonunun H1299, MCF-7, Caco-2, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki Etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p<0,05)

3.9. *T. scalpturatum*'un aseton ekstresinin biyoaktif fraksiyonlarından maddelerin saflaştırılması

Sitotoksik aktivite test sonuçlarına göre, *T. scalpturatum* mantarının TS.As.3, TS.As.4, TS.As.7 ve TS.As.8 fraksiyonlarına bölüm 2.10.1'de verildiği gibi kolon kromatografisi yapıldı. Kolon kromatografisinden elde edilen miktarı ve verimleri Çizelge 3.13'de verildi.

Kolon kromatografisinde silika jel kullanıldı. Fraksiyonlar az miktarda uygun çözücüde çözülerek adsorban ile karıştırılıp oda sıcaklığında kurutuldu. Silika jel'e emdirilmiş fraksiyon miktarına uygun olarak seçilmiş ve boyunun 2/3 oranında silika jel ile doldurulmuş kolonun üst kısmına paketleme yöntemiyle yerleştirildi. Elüentler 10 mL hacimlerde viallere toplandı. Alt fraksiyonların çalışılmasında gerektiğinde izokratik Recycle Preperatif HPLC, gradient Recycle Preperatif HPLC ve ince tabaka kullanarak maddeler saflaştırıldı. Aseton ekstresinden saflaştırılan 21 maddenin yapılarını aydınlatmak amacıyla ^{1}H-NMR, DEPT135, DEPT90, ^{13}C-NMR, HSQC, COSY ve HMBC ve MS spektrumları alındı.

3.9.1. TS.As.3 biyoaktif fraksiyonunun alt fraksiyonlara ayrılması

TS.As.3 kodlu alt fraksiyon, 68 g silika jel ile doldurulmuş cam kolona yerleştirildi ve elüsyona %100 hekzan ile başlandı. Ardından, çözücü polaritesi %2'lik artışlarla %80 etil asetata kadar yükseltildi; bu aşamayı takiben, %5'lik artışlarla %100 etil asetata ve son olarak %10'luk artışlarla %50 metanole ulaşılarak elüsyon sürdürüldü. Elüsyon işlemi, %50 etil asetat %50 metanol karışımı ile tamamlandı. Elde edilen alt fraksiyonlar, uygun çözücü sistemleri kullanılarak ince tabaka kromatografisinde yürütüldü. Benzer Rf değerlerine sahip alt fraksiyonlar birleştirilerek toplam 11 adet alt fraksiyon elde edildi. Bu alt fraksiyonların kodları ve miktarları Çizelge 3.13'de verildi.

Çizelge 3.13. TS.As.3 biyoaktif fraksiyonunun miktarları ve verimleri

Fraksiyon Kodu	Birleştirilen Fraksiyonlar	Miktarı (g)	% Verimi
TS.As.3.1	1	0,00191	0,17
TS.As.3.2	2-22	0,00338	0,30
TS.As.3.3*	23-30	0,10229	9,13
TS.As.3.4	31-48	0,07689	6,86
TS.As.3.5*	49-76	0,306	27,30
TS.As.3.6*	77-92	0,158	14,10
TS.As.3.7	93-112	0,15073	13,45
TS.As.3.8	113-124	0,06299	5,62
TS.As.3.9	125-133	0,04587	4,09
TS.As.3.10	134-174	0,05125	4,57
TS.As.3.11	175-277	0,1548	13,81

*: Saf madde elde edilen alt fraksiyonlar

Alt fraksiyonların çalışılmasında gerektiğinde hem gradient recycle HPLC hem de izokrotik recycle HPLC kullanıldı. Gradient recycle HPLC'de 50 µm partikül çapına sahip silika kolon (250 mm x 20 mm) kullanılırken son temizliklerin yapıldığı izokrotik recycle HPLC'de 10 µm partikül çapına sahip silika kolon (250 mm x 20 mm) kullanıldı. TS.As.3 fraksiyonuna kolon kromatografisinde ana kolon yapılarak toplamda 11 alt fraksiyon elde edildi. Miktar bakımından TS.As.3.3, TS.As.3.5 ve TS.As.3.6 kodlu fraksiyonlardan saf maddeler elde edilebildi. Diğer fraksiyonlarda madde izolasyonu için HPLC ile çalışıldı ancak saf madde elde edilemedi.

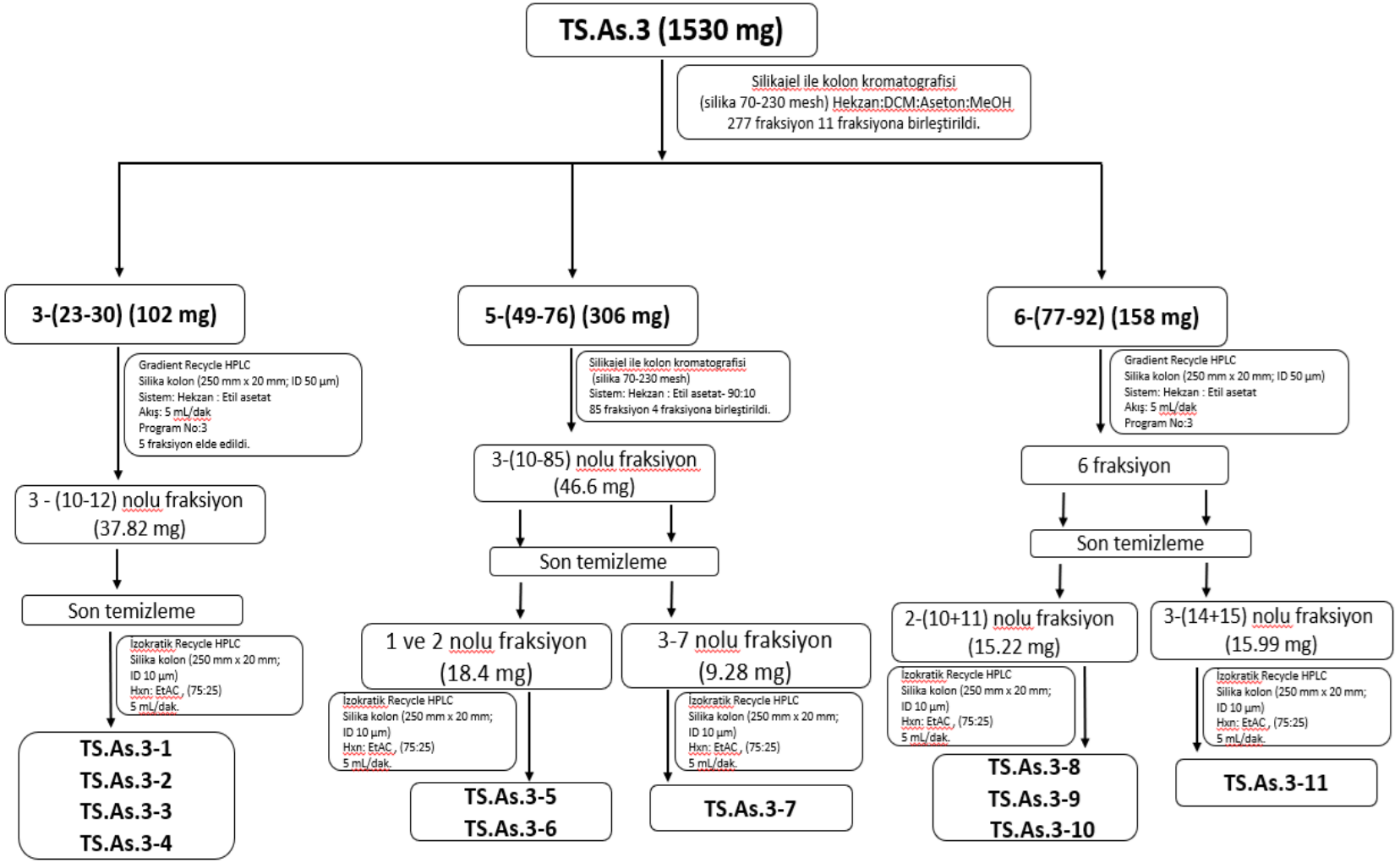
TS.As.3.3 (102 mg) kodlu alt fraksiyon gradient çözücü sistemi hekzan: etil asetat ile silika kolon (250 mm x 20 mm; ID 50 µm) kullanılarak Preperatif Recycle-HPLC'de tekrar fraksiyonlandırılarak 5 alt fraksiyon elde edildi. Elde edilen bu alt fraksiyonlardan TS.As.3.3-3 kodlu fraksiyon hekzan: etil asetat sistemi JAIGEL-SIL, SH-043-15 (500 x 20 mm ID, 10 µm) kolon kullanılarak izokrotik Preperatif Recycle-HPLC'de çalışıldı. Buradan TS.As.3.1 (**1**) (2,37 mg), TS.As.3.2 (**2**) (3,2 mg), TS.As.3.3 (**3**) (13 mg) ve TS.As.3.4 (**4**) (1,87 mg) maddeleri amorf halde elde edildi (Şekil 4.64).

TS.As.3.5 (306 mg) kodlu alt fraksiyon normal kolon kromatografisi çözücü sistemi olarak hekzan:etil asetat (90:10) kullanılarak fraksiyonlandırıldı. 85 fraksiyon elde edildi ve İTK ile benzer fraksiyonlar birleştirildi ve toplamda 4 fraksiyon elde edilmiş oldu. Bu fraksiyonlardan 3. fraksiyon (TS.As.3.5 (3)) HPLC'de aynı çözücü sistemi

ile son temizleme yapılırken 7 fraksiyon alındı. Bu fraksiyonlardan 1 ile 2 ve 3 ile 7 fraksiyonları birleştirilerek toplamda 2 fraksiyon elde edildi. TS.As.3.5.3(**1-2**) kodlu fraksiyon izokrotik recycle HPLC'de hekzan:etil asetat sistemi 75:25 ve JAIGEL-SIL, SH-043-15 (500 x 20 mm ID, 10 μm) kolon kullanılarak TS.As.3.5 (**5**) (4,8 mg) ve TS.As.3.6 (**6**) (3,6 mg) maddeleri saflaştırıldı. TS.As.3-5.3(**3-7)** kodlu fraksiyon izokrotik HPLC'de hekzan:etil asetat sistemi (75:25) ve JAIGEL-SIL, SH-043-15 (500 x 20 mm ID, 10 μm) kolon kullanılarak TS.As.3.7 (**7**) (1,7 mg) maddesi saflaştırıldı (Şekil 4.64).

TS.As.3.6 (106 mg) kodlu alt fraksiyon gradient çözücü sistemi hekzan: etil asetat ile silika kolon (250 mm x 20 mm; ID 50 μm) kullanılarak Preperatif Recycle-HPLC'de tekrar fraksiyonlandırılarak 15 alt fraksiyon elde edildi. İTK ile benzer fraksiyonlar birleştirildi ve toplamda 6 fraksiyon elde edilmiş oldu. Bu fraksiyonlardan 2. fraksiyon (TS.As.3-6.2) izokrotik recycle HPLC'de hekzan: etil asetat sistemi 75:25 ve JAIGEL-SIL, SH-043-15 (500 x 20 mm ID, 10 μm) kolon kullanılarak TS.As.3.8 (**8**) (1,1 mg), TS.As.3.9 (**9**) (5,4 mg) ve TS.As.3.10 (**10**) (5,31 mg) maddeleri saflaştırıldı. Bu fraksiyonlardan 3. fraksiyon (TS.As.3-6.3) izokrotik recycle HPLC'de hekzan:etil asetat sistemi 75:25 ve JAIGEL-SIL, SH-043-15 (500 x 20 mm ID, 10 μm) kolon kullanılarak TS.As.3.11 (**11**) (3,0 mg) maddesi saflaştırıldı (Şekil 4.64).

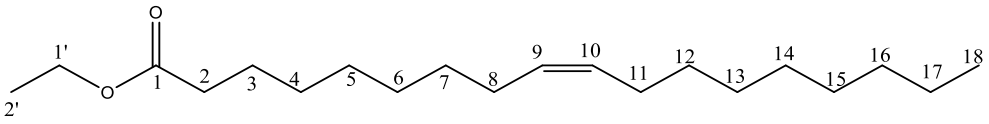
TS.As.3 fraksiyonundan saflaştırılan 11 adet maddenin ilk önce yapılarını aydınlatmak amacıyla ^{1}H-NMR, gerektiğinde ise ^{13}C-NMR, APT, DEPT, COSY, HSQC ve HMBC spektrumları alındı ve MS spektrumları ile yapılar desteklendi.



Şekil 3.64. TS.As.3 alt fraksiyonundan saf maddelerinin (1-11) izolasyonu şeması

3.9.2. TS.As.3 biyoaktif fraksiyonundan elde edilen saf maddelerin yapı tayini

*3.9.2.1. TS.As.3.1 (**1**) = Etil oleat*



Şekil 3.65. TS.As.3.1 (1)'in yapısı

TS.As.3.1 **(1)** (2,37 mg) maddesi amorf halde elde edildi (Şekil 3.65). Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105˚C) koyu kahverengi renk olmaktadır. TS.As.3.1 **(1)** maddesinin yapısı spektroskopik yöntemler (^{1}H-NMR, APT, HMBC, COSY, HSQC) spektrumları ile aydınlatılmıştır.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δ (ppm), 500 MHz) spektrumunda δ 0,88 (*t*, *J* = 6,84 Hz, 1H, H-18), δ 1,25 (m, 1H, H-2') ppm'de metil protonları, 4,12 (*q*, *J* = 7,11 Hz, 1H, H-1'), 2,01 (*q*, *J* = 6,44 Hz, 1H, H-8, H-11), 2,29 (*t*, *J* = 7,95 Hz, 1H, H-2), 1,69 (*q*, *J* = 7,30 Hz, 2H, H-3) ppm'de metilen protonları ile 5,36 (*m*, 1H, H-9), 5,32 (*m*, 1H, H-10) ppm'de olefinik protonlar gözlenmiştir. ^{1}H-NMR spektrum verileri Şekil 3.66'da verilmektedir.

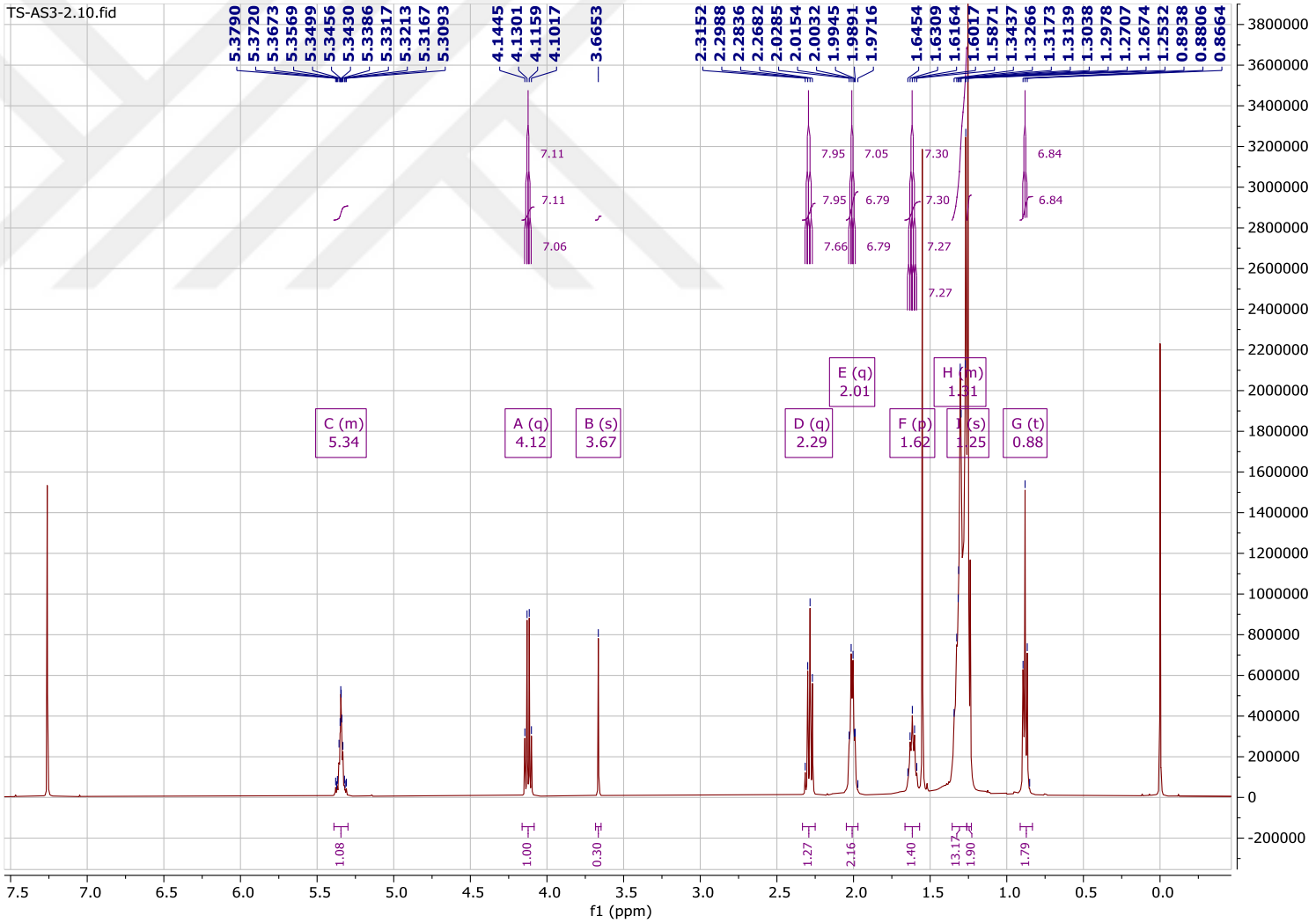
APT spektrumu (Şekil 3.67) ($CDCl_3$, δ (ppm), 125 MHz) ve HMBC (Şekil 3.68) spektrumu ile birlikte değerlendirildiğinde 2 metil, 15 metilen, 2 metin ve 1 katerner karbon gözlenmiştir. δ 14,1 (C-18) ve δ 14,3 (C-2') ppm'de metil pikleri, δ 60,2 (C-1') metin piki, 22,7 (C-17), 24,9 (C-3), 31,9 (C-16) ve 34,4 (C-2) metilen pikleri, 129,8 (C-9), 130,0 (C-10) ppm'de olefinik karbon pikleri gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (EI-MS) (Şekil 3.69) moleküler iyon piki 310,28 $[M]^+$ piki $C_{20}H_{38}O_2$ molekül formülünü önermektedir. 264 *m/z* $[M-C_2H_5O]^+$ ile etoksil grubunun oleil grubundan ayrıldığını göstermektedir. 222, 180, 139 *m/z* değerleri hidrokarbonun C_3H_7 radikali şeklinde parçalandığını düşündürmektedir. Yapıyı doğrulamak için TS.As.3.1 (**1**) silillenip GC-MS'e verildi (Şekil 3.70). Spektrumun NİST2015 kütüphanesi ile karşılaştırılması sonucu yapının etil oleat olduğu doğrulandı ve bileşiğin molekül formulü $C_{20}H_{38}O_2$ olarak belirlendi.

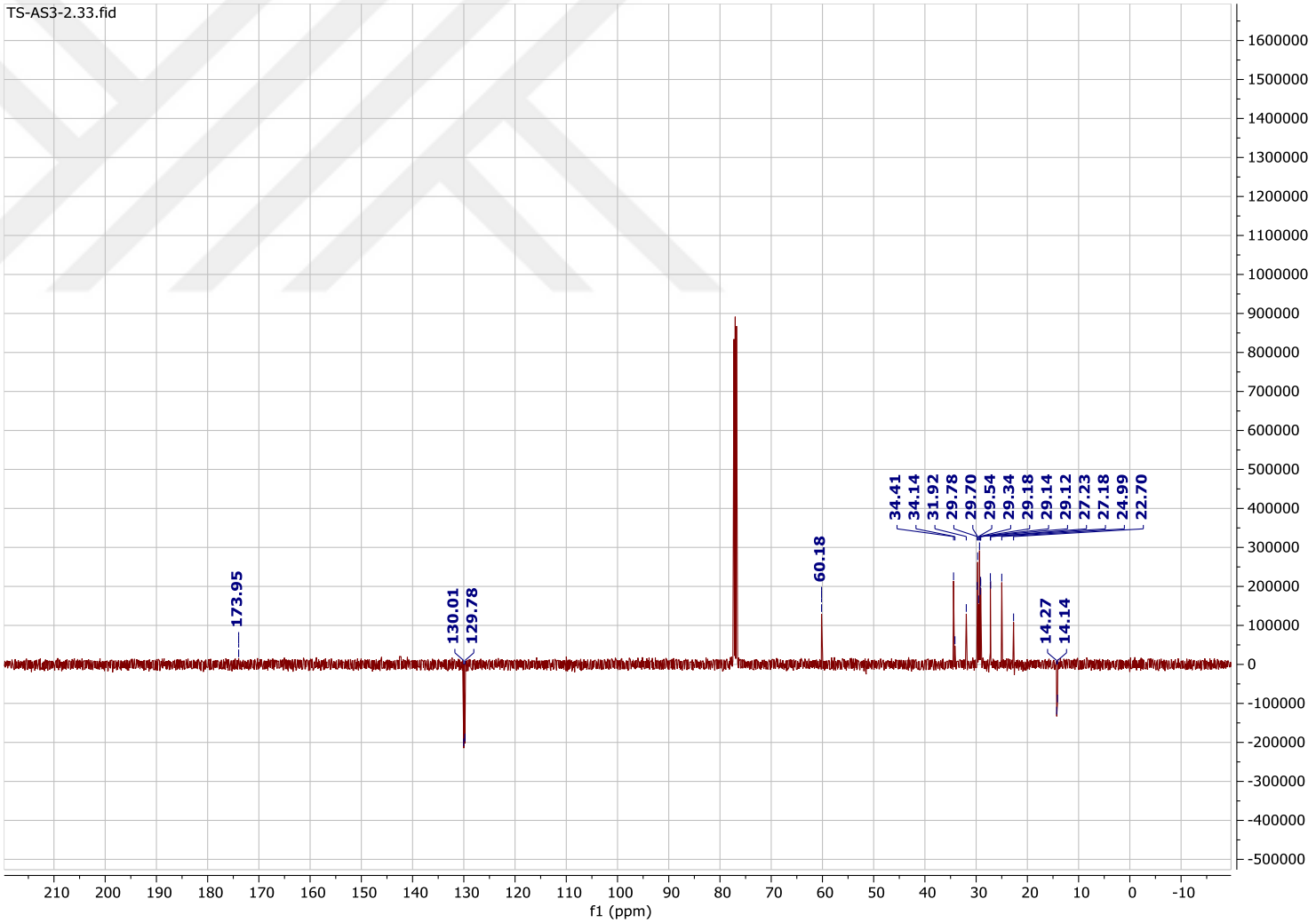
Tüm spektroskopik veriler ve literatür çalışmaları sonucunda TS.As.3.1 **(1)** bileşiği daha önce *Taxus yunnanensis*'ten izole edilmiştir (Gaidamauskas vd, 2005; Chen vd, 2009). TS.As.3.1 **(1)** bileşiğinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR değerleri Çizelge 3.14.'de verilmektedir.

Çizelge 3.14. TS.As.3.1 (1)'in NMR spektral değerleri

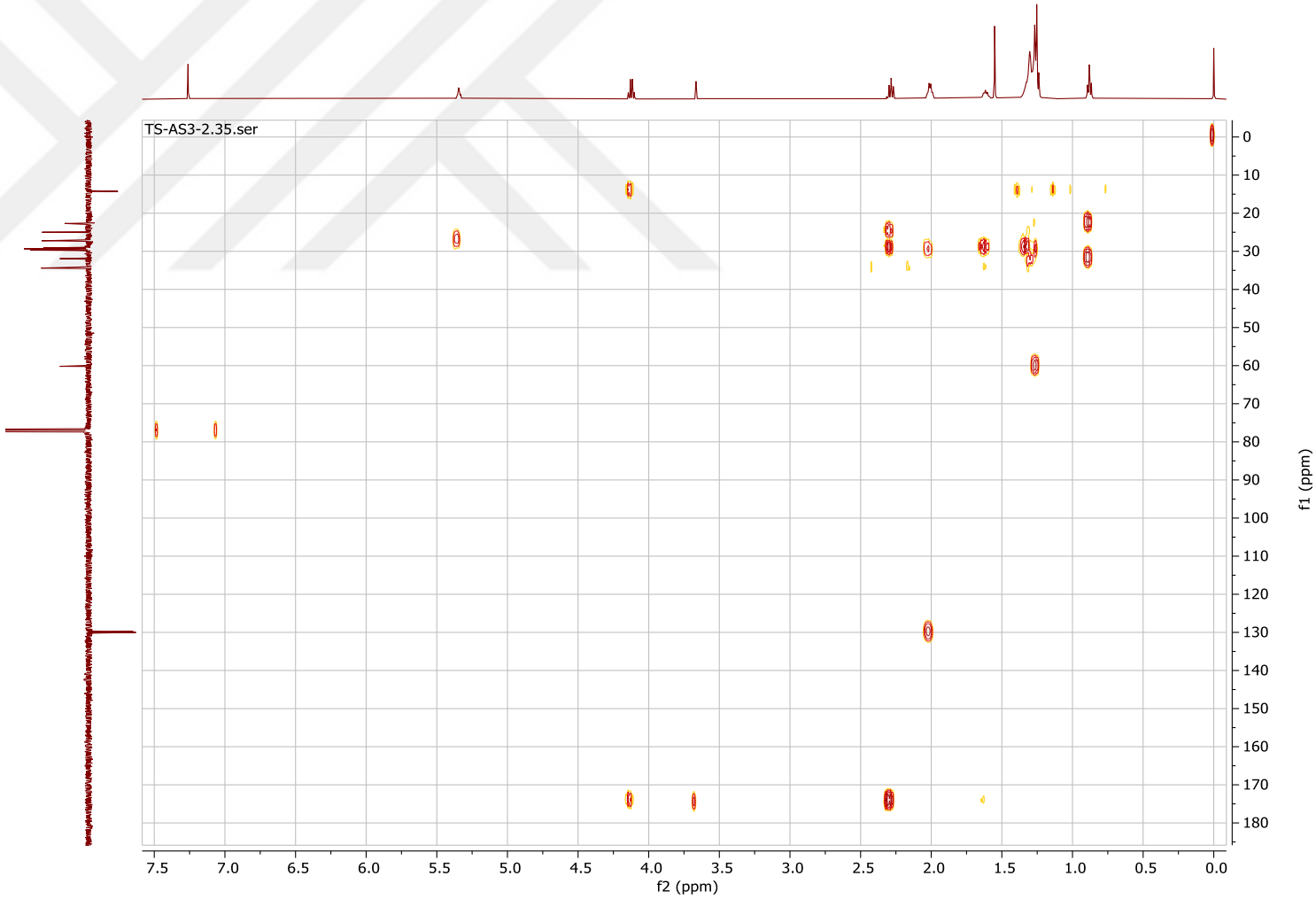
Pozisyon	^{13}C-NMR(δ)	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	173,9	C	
2	34,4	CH_2	2,29 (*t*, *J* = 7,95 Hz, 2H)
3	24,9	CH_2	1,69 (*p*, *J* = 7,30 Hz, 2H)
4	29,1	CH_2	1,25 (*m*, 2H)
5	29,1	CH_2	1,30 (*m*, 2H)
6	29,3	CH_2	1,30 (*m*, 2H)
7	29,7	CH_2	1,25 (*m*, 2H)
8	27,2	CH_2	2,01 (*q*, *J* = 7,05 Hz, 2H)
9	129,8	CH	5,36 (*m*, 3H)
10	130,0	CH	5,32 (*m*, 1H)
11	27,1	CH_2	2,01 (*q*, *J* = 6,44 Hz, 2H)
12	29,8	CH_2	1,25 (*m*, 2H)
13	29,3	CH_2	1,30 (*m*, 2H)
14	29,5	CH_2	1,30 (*m*, 2H)
15	29,2	CH_2	1,25 (*m*, 2H)
16	31,9	CH_2	1,28 (*m*, 2H)
17	22,7	CH_2	1,27 (*m*, 2H)
18	14,14	CH_2	0,88 (*t*, *J* = 6,84 Hz, 3H)
1'	60,2	CH_2	4,1 (*q*, *J* = 7,11 Hz, 2H)
2'	14,3	CH_3	1,25 (*m*, 3H)



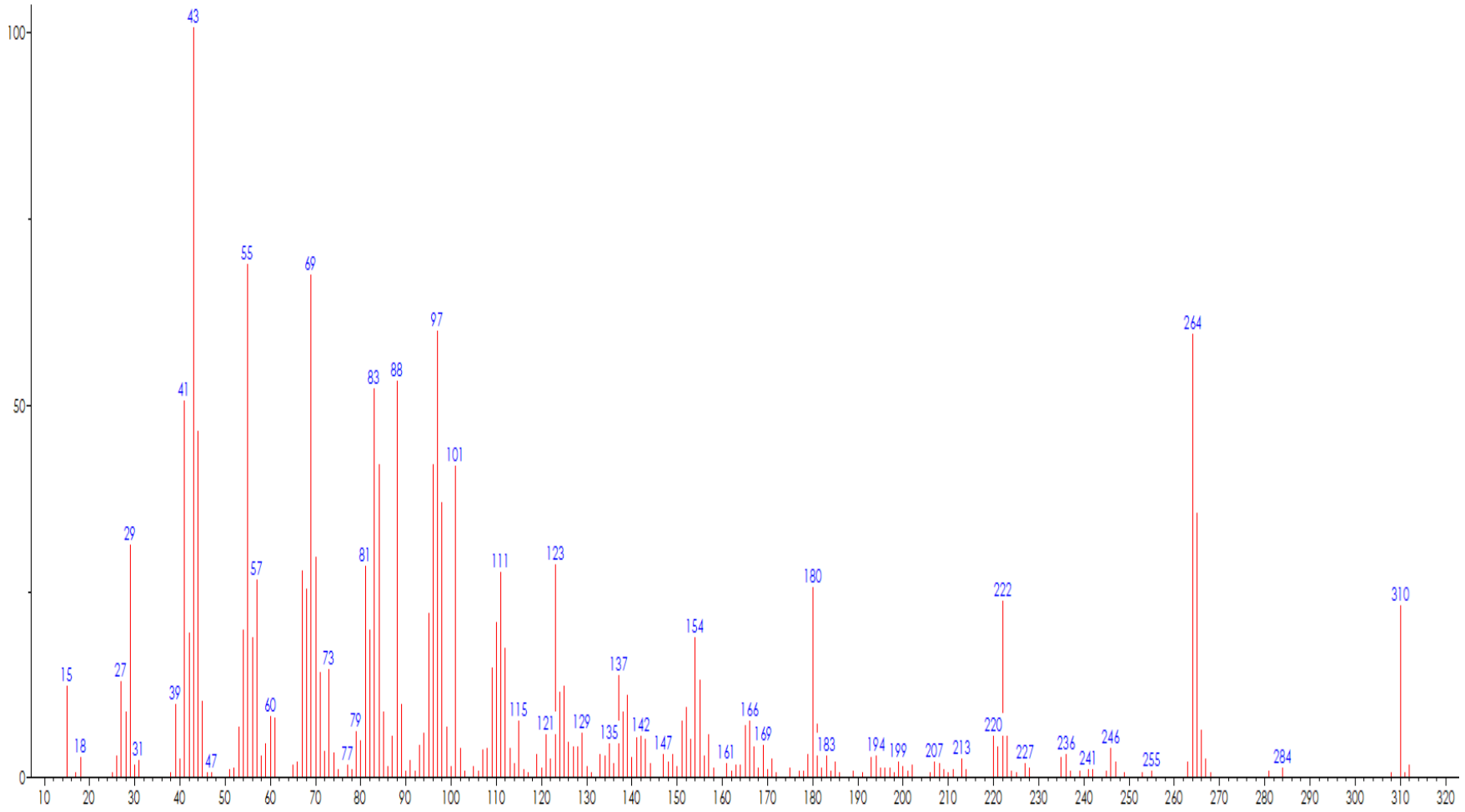
Şekil 3.66. TS.As.3.1 (1)'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)



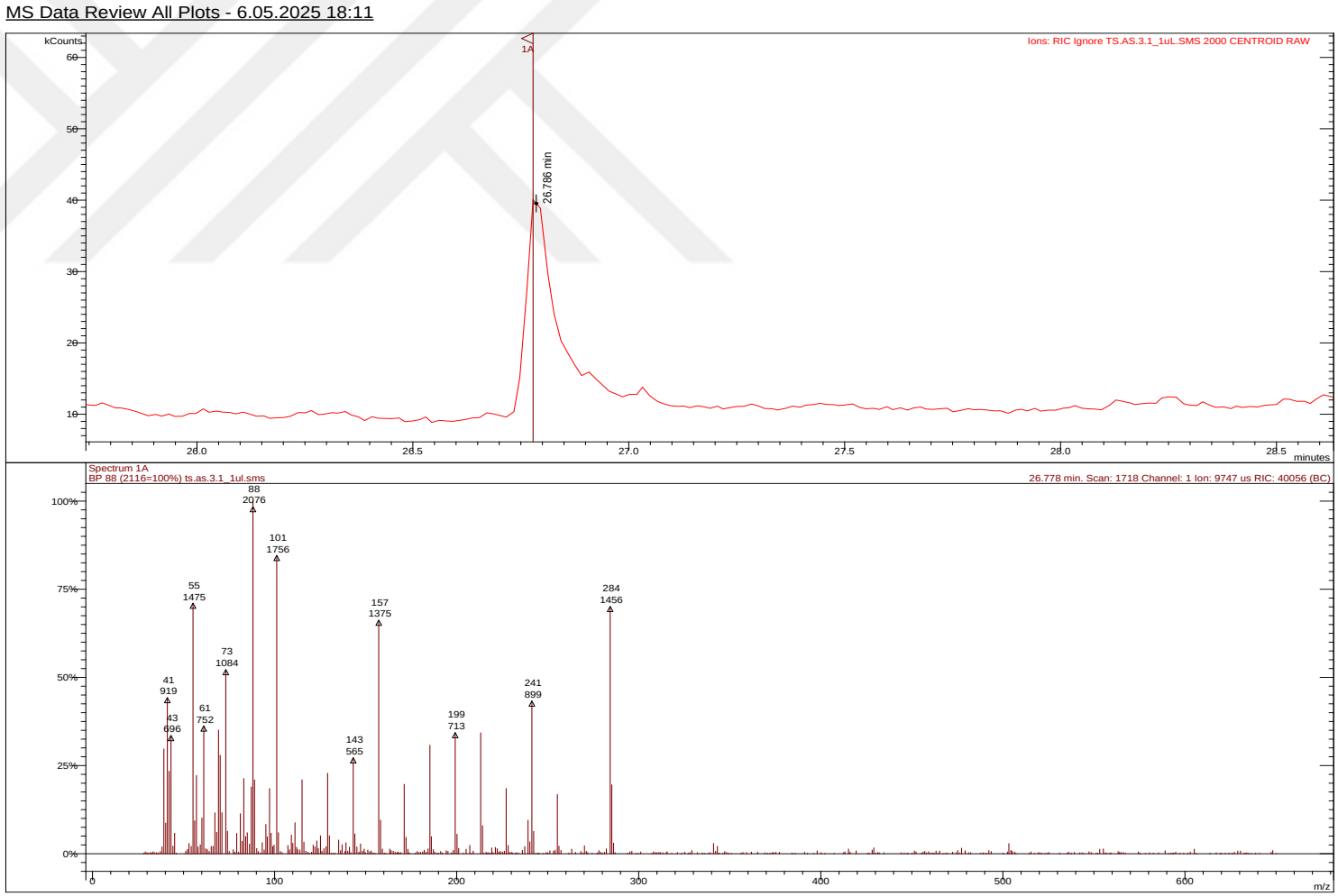
Şekil 3.67. TS.As.3.1 (1)'in APT spektrumu ($CDCl_3$, 125 MHz)



Şekil 3.68. TS.As.3.1 (1)'in HMBC spektrumu

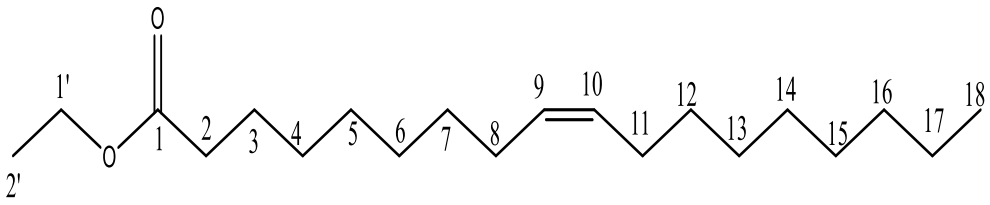


Şekil 3.69. TS.As.3.1 (1)'in kütle spektrumu



Şekil 3.70. TS.As.3.1 (1) 'nin GC-MS kromatogramı ve kütle spektrumu

*3.9.2.2. TS.As.3.2 (**2**) = Etil oleat*



Şekil 3.71. TS.As.3.2 (2)'nin yapısı

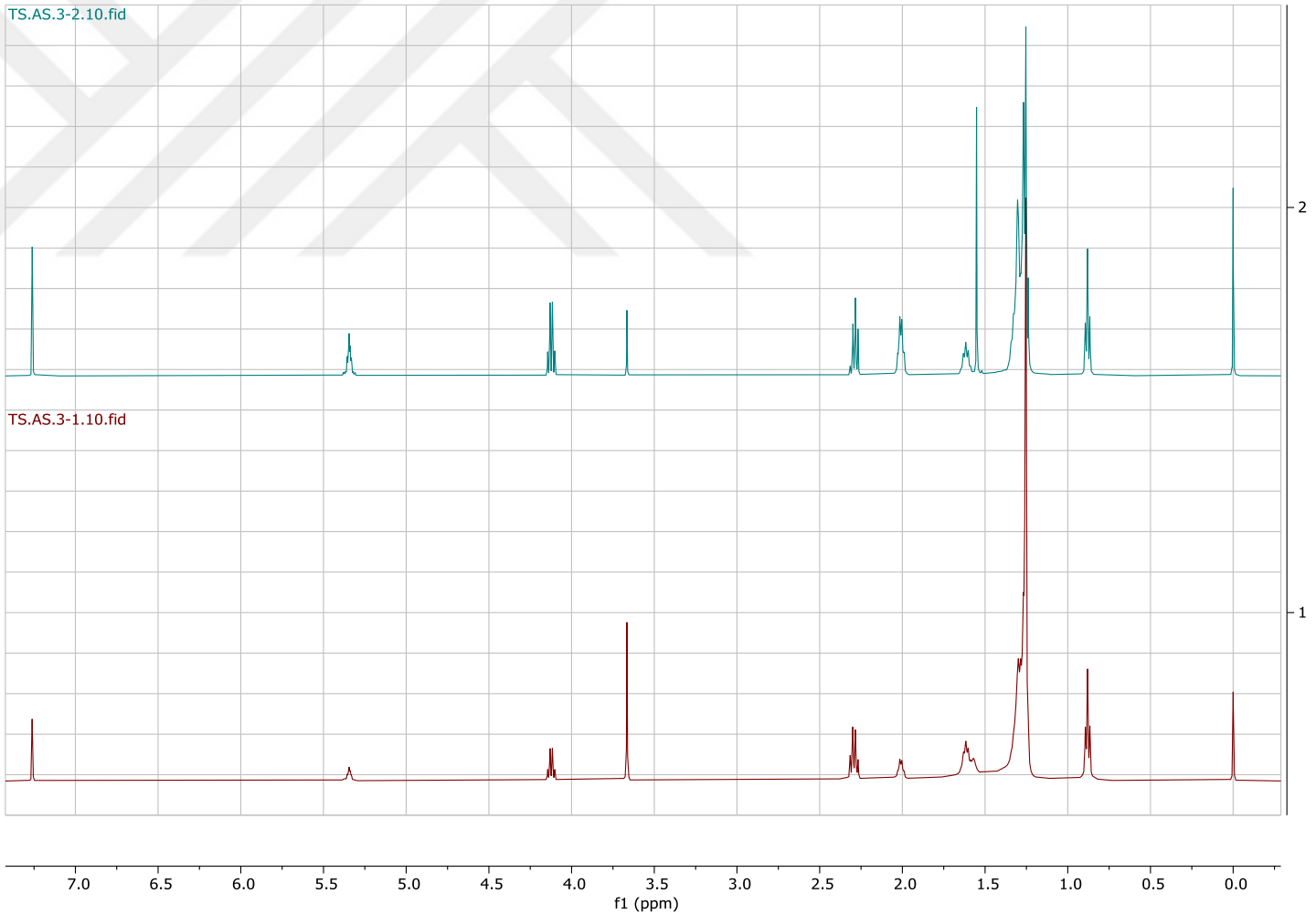
TS.As.3.2 **(2)** maddesi (2,3 mg) bölüm 3.9.1.'de anlatıldığı gibi elde edilip yapısı spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatıldı (Şekil 3.71). Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105˚C) kahverengi renk olmaktadır.

Şekil 3.72'de TS.As.3.2 (**2**) ve TS.As.3.1 (**1**) maddelerinin ^{1}H-NMR spektrumları karşılaştırıldığında birebir benzerlik göstermesinden dolayı aynı kimyasal yapıda olduğunu düşünülmektedir.

Bölüm 3.9.2.1.'de TS.As.3.1 **(1)** kodlu madde için verilen spektrumlar nedeniyle bu madde için tekrar spektrum konulmadı. Bu bileşiğin ^{1}H-NMR değerleri Çizelge 3.15.'de; ^{1}H-NMR, APT, HMBC ve EI-MS spektrumları Şekil 3.66.-3.70'de görülmektedir. Etil oleat bileşiği daha önce izole edilmiştir (Gaidamauskas vd, 2005; Chen vd, 2009).

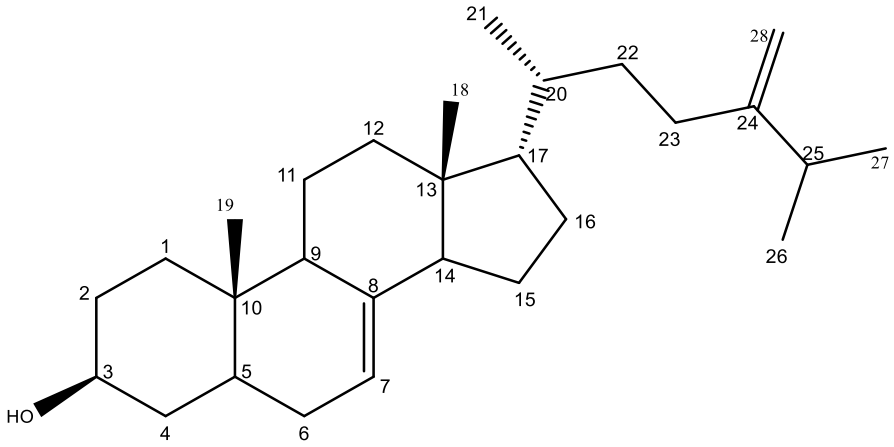
Çizelge 3.15. TS.As.3.2 (2)'nin NMR spektral değerleri

Pozisyon	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	C	
2	CH_2	2,28 (*t*, *J* = 7,64 Hz, 2H)
3	CH_2	1,62 (*q*, *J* = 7,30; 2,27 Hz, 2H)
4	CH_2	1,27 (*m*, 2H)
5	CH_2	1,30 (*m*, 2H)
6	CH_2	1,30 (*m*, 2H)
7	CH_2	1,27 (*m*, 2H)
8	CH_2	2,00 (*q*, J = 6,79 Hz, 2H)
9	CH	5,35 (*d*, *J* = 3,5 Hz, 1H)
10	CH	5,34 (*d*, *J* = 3,5 Hz, 1H)
11	CH_2	2,02 (*q*, *J* = 6,79 Hz, 2H)
12	CH_2	1,27 (*m*, 2H)
13	CH_2	1,32 (*m*, 2H)
14	CH_2	1,30 (*m*, 2H)
15	CH_2	1,29 (*m*, 2H)
16	CH_2	1,28 (*m*, 2H)
17	CH_2	1,26 (*m*, 2H)
18	CH_2	0,88 (*t*, *J* = 6,84 Hz, 2H)
1'	CH_2	4,12 (*q*, *J* = 7,06 Hz, 2H)
2'	CH_3	1,25 (*m*, 3H)



Şekil 3.72. TS.As.3.1 (1) ile TS.As.3.2 (2) ($CDCl_3$, 500 MHz) ^{1}H-NMR spektrumlarının karşılaştırılması

*3.9.2.3. TS.As.3.3 (**3**) = Ergosta-7,24(28)-dien 3β-ol*



Şekil 3.73. TS.As.3.3 (3)'ün yapısı

Beyaz renkli olan TS.As.3.3 (**3**) (13 mg) amorf halde elde edildi (Şekil 3.73). Silika jel plakta UV lamba (254 nm) altında görünen madde serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu kahverengi renk aldı. TS.As.3.3 **(3)** bileşiğin yapısı ^{1}H-NMR (Şekil 3.74), APT (Şekil 3.75), COSY (Şekil 3.76.), HSQC (Şekil 3.77) ve HMBC (Şekil 3.78.) spektrumları ile aydınlatılmıştır.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δ (ppm), 600 MHz) δ 0,54 (*s*, H-18), 0,80 (*s*, H-19), 0,95 (*d*, *J*= 6,64 Hz, H-21), 1,03 (*d*, *J*= 6,84 Hz, H-26) ve 1,02 (*d*, *J*= 6,9 Hz, H-27) ppm'de 5 adet metil piki, δ 3,56 (*m*, H-3) ppm'de hidroksil bağlı karbona ait proton piki, δ 5,14 (*br s*, H-7) çift bağa bağlı metin hidrojeni piki, 4,64 (*s*, H-28a) ve 4,70 (*s*, H-28b) ppm'de çift bağın vinilik proton pikleri gözlendi. İzlenen bu pikler yapının steroid yapısında olduğunu andırdı.

APT ($CDCl_3$, δ (ppm), 150 MHz) ve HSQC spektrumları birlikte değerlendirildiğinde 5 metil, 11 metilen, 8 metin ve 4 katerner karbon gözlenmiştir. δ 117,6 (C-7), 139,6 (C-8), 156,9 (C-24) ve 106,0 (C-28) ppm'de olefinik karbon sinyalleri, δ 11,9 (C-18), 13,1 (C-19), 18,9 (C-21), 21,6 (C-26) ve 21,9 (C-27) ppm'de 5 tane metil piklerini işaret eden ergostan tipi steroidin varlığını belirtti.

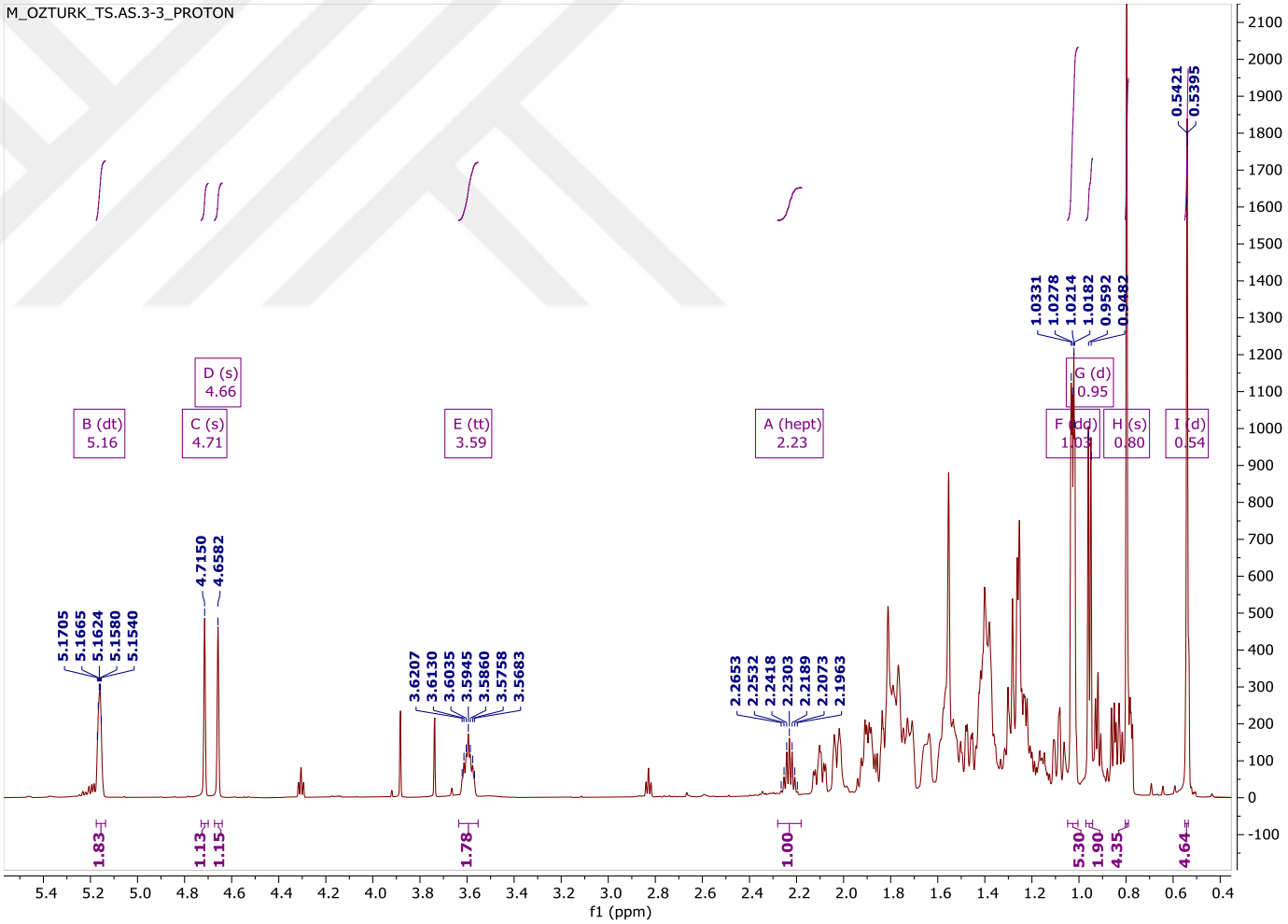
Kütle spektrumunda (EI-MS) (Şekil 3.79) moleküler iyon piki *m/z* 398 $[M]^+$ bileşiğin molekül formülünün $C_{28}H_{42}O_2$ olduğunu önerdi. *m/z* 383 $[M\text{-}CH_3]^+$, *m/z* 271 $[M\text{-}C_9H_{17}$(steroidin zincir kısmı)$]^+$ ve *m/z* 255 $[271\text{-}H_2O]^+$ molekülün fragman

pikleri, TS.As.3.3 (**3**) bileşiğinin ergosta-7,24(28)-dien-3*β*-ol olduğunu teyit etmektedir.

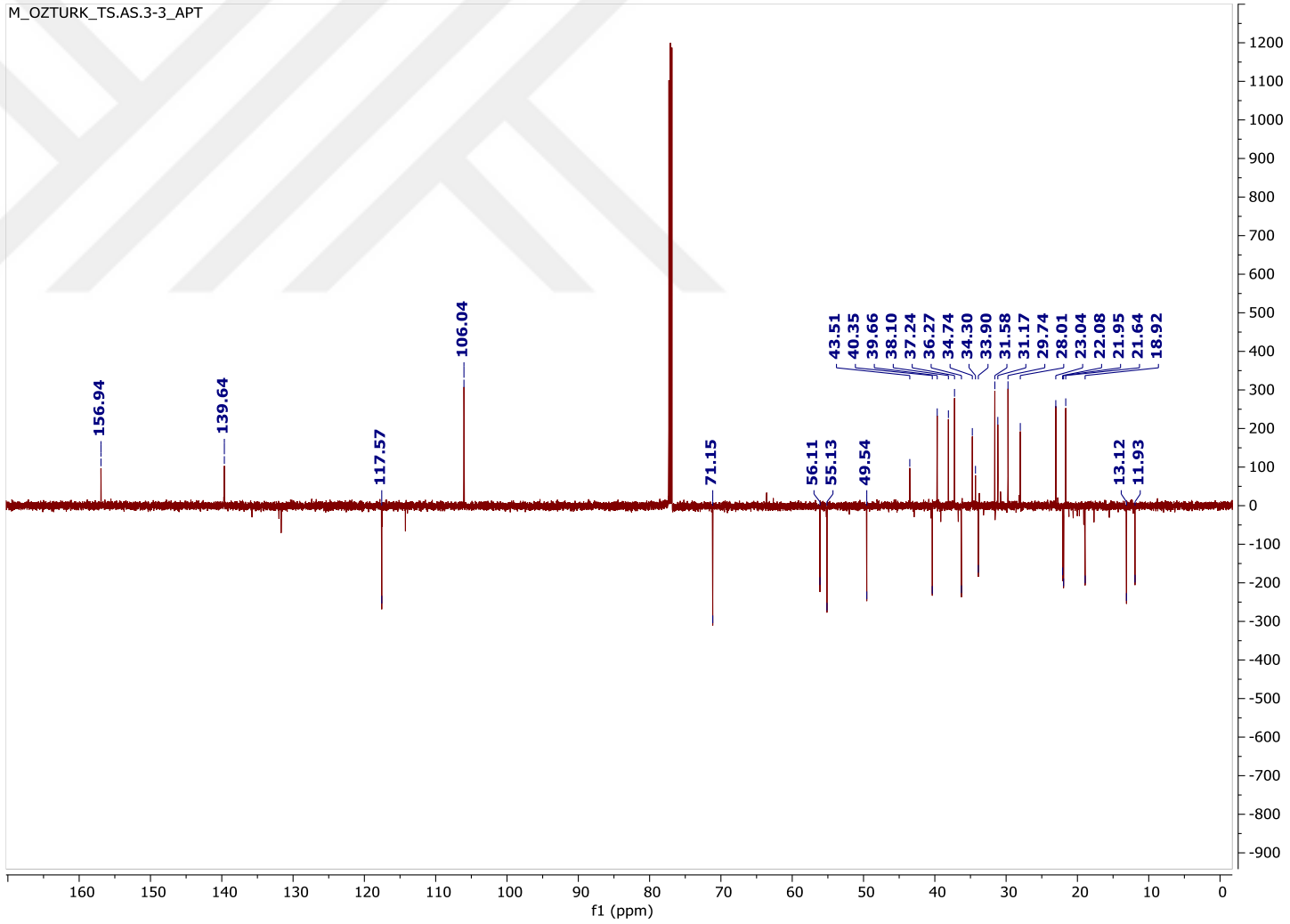
TS.As.3.3 (**3**)'ün literatür çalışmaları sonucunda, *Phellinus pini* mantarından (Hong vd. 2012)., *Neurospora crassa'*dan (Morris ve Subden, 1974) daha önce izole edilmiştir. Bu bileşik ilk kez *Dysoxylum* cinsinde, özellikle *Dysoxylum* alliaceum'da izole edildiği rapor edilmiştir (Riyadi vd, 2024). TS.As.3.3 (**3**)'ün ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR değerleri literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında TS.As.3.3 (**3**) bileşiğinin yapısının ergosta-7,24(28)-dien 3*β-ol* olduğu belirlendi. TS.As.3.3 (**3**) bileşiğinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR değerleri Çizelge 3.16'de verilmektedir.

Çizelge 3.16. TS.As.3.3 (3)'ün NMR spektral değerleri

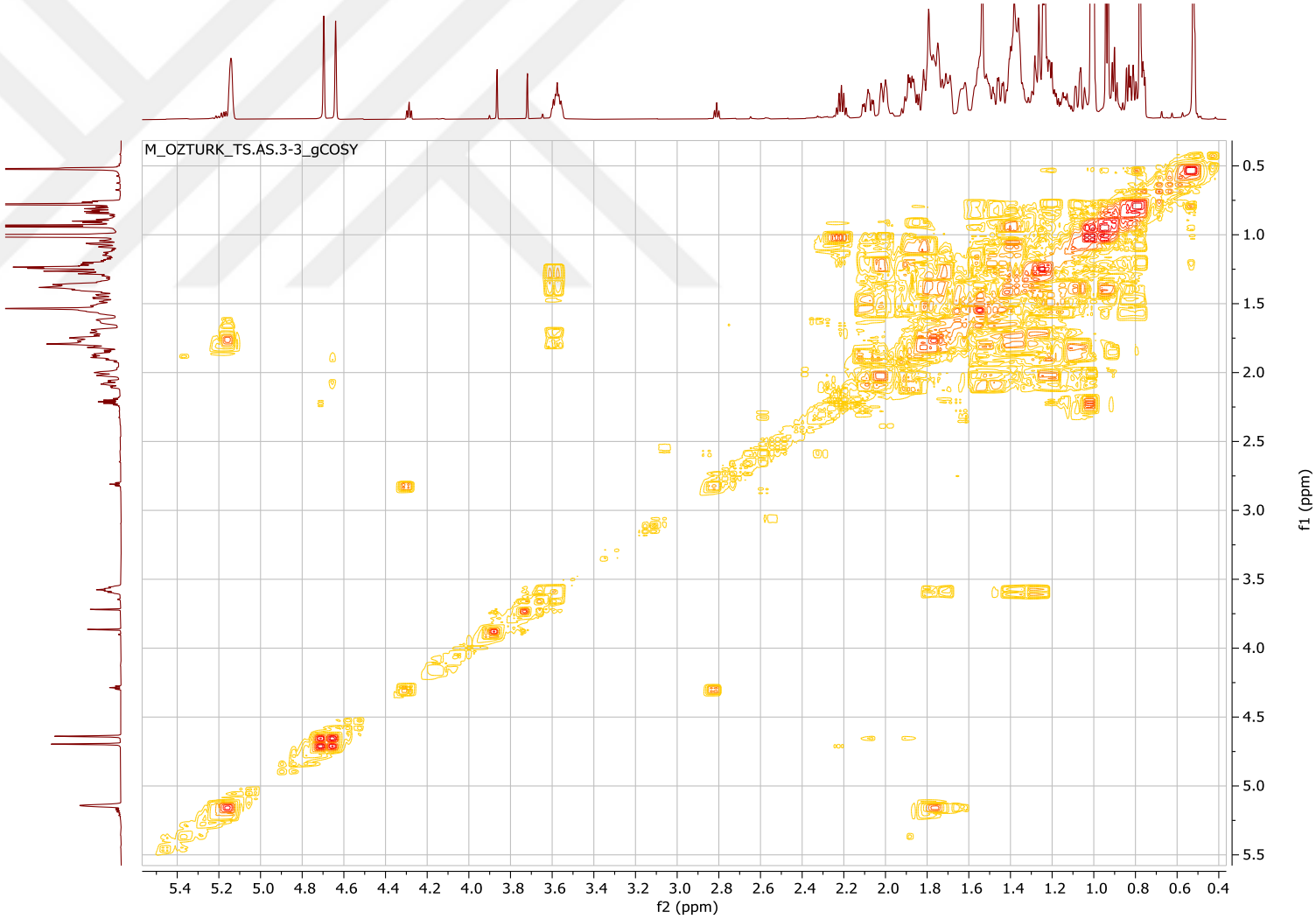
Pozisyon	^{13}C-NMR(*δ*)	Karbon Türü	^{1}H-NMR (*δ*)
1	37,2	CH_2	1,06 (*m*, 1H); 1.79 (*m*, 1H)
2	31,5	CH_2	1,38 (*m*, 1H); 1.78 (*m*, 1H)
3	71,1	CH	3,56 (*m*, 1H)
4	38,1	CH_2	1,26 (*m*, 1H); 1,70 (*m*, 1H)
5	40,3	CH	1,37 (*m*, 1H)
6	29,7	CH_2	1,23 (*m*, 1H); 1,77 (*m*, 1H)
7	117,5	CH	5,14 (br *s*, 1H)
8	139,6	C	
9	49,5	CH	1,63 (*m*, 1H)
10	34,3	C	
11	22,1	CH_2	1,44 (*m*, 1H); 1,55 (*m*, 1H)
12	39,6	CH_2	1,20 (*m*, 1H); 2,0 (*m*, 1H)
13	43,5	C	
14	55,1	CH	1,77 (*m*, 1H)
15	23,0	CH_2	1,37 (*m*, 1H); 1,51 (*m*, 1H)
16	28,0	CH_2	1,26 (*m*, 1H); 1,88 (*m*, 1H)
17	56,1	CH	1,22 (*m*, 1H)
18	11,9	CH_3	0,54 (*s*, 3H)
19	13,1	CH_3	0,80 (*s*, 3H)
20	36,2	CH	1,37 (*m*, 1H)
21	18,9	CH_3	0.95 (*d*, *J*=6,64 Hz, 3H)
22	34,7	CH_2	1,14 (*m*, 1H); 1,52 (*m*, 1H)
23	31,1	CH_2	1,37 (*m*, 1H); 1,78 (*m*, 1H)
24	156,7	C	
25	33,9	CH	0,95 (*p*, *J*= 6,58, 1H)
26	21,6	CH_3	1,03 (*d*, *J*=6,84 Hz, 3H)
27	21,9	CH_3	1,02 (*d*, *J*=6,9 Hz, 3H)
28	106,0	CH_2	4,64 (*s*, 1H); 4,70 (*s*, 1H)



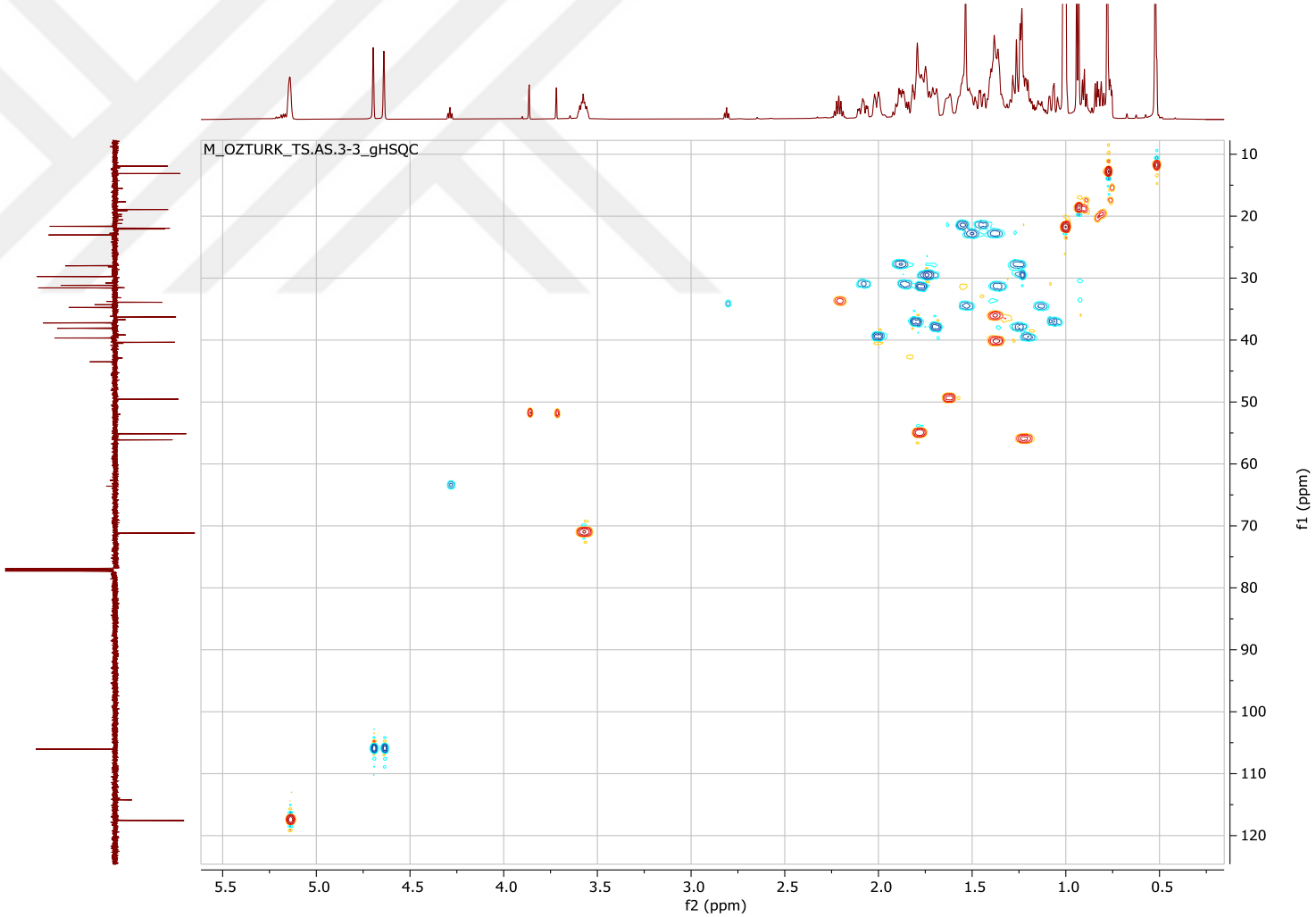
Şekil 3.74. TS.As.3.3 (3)'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 600 MHz)



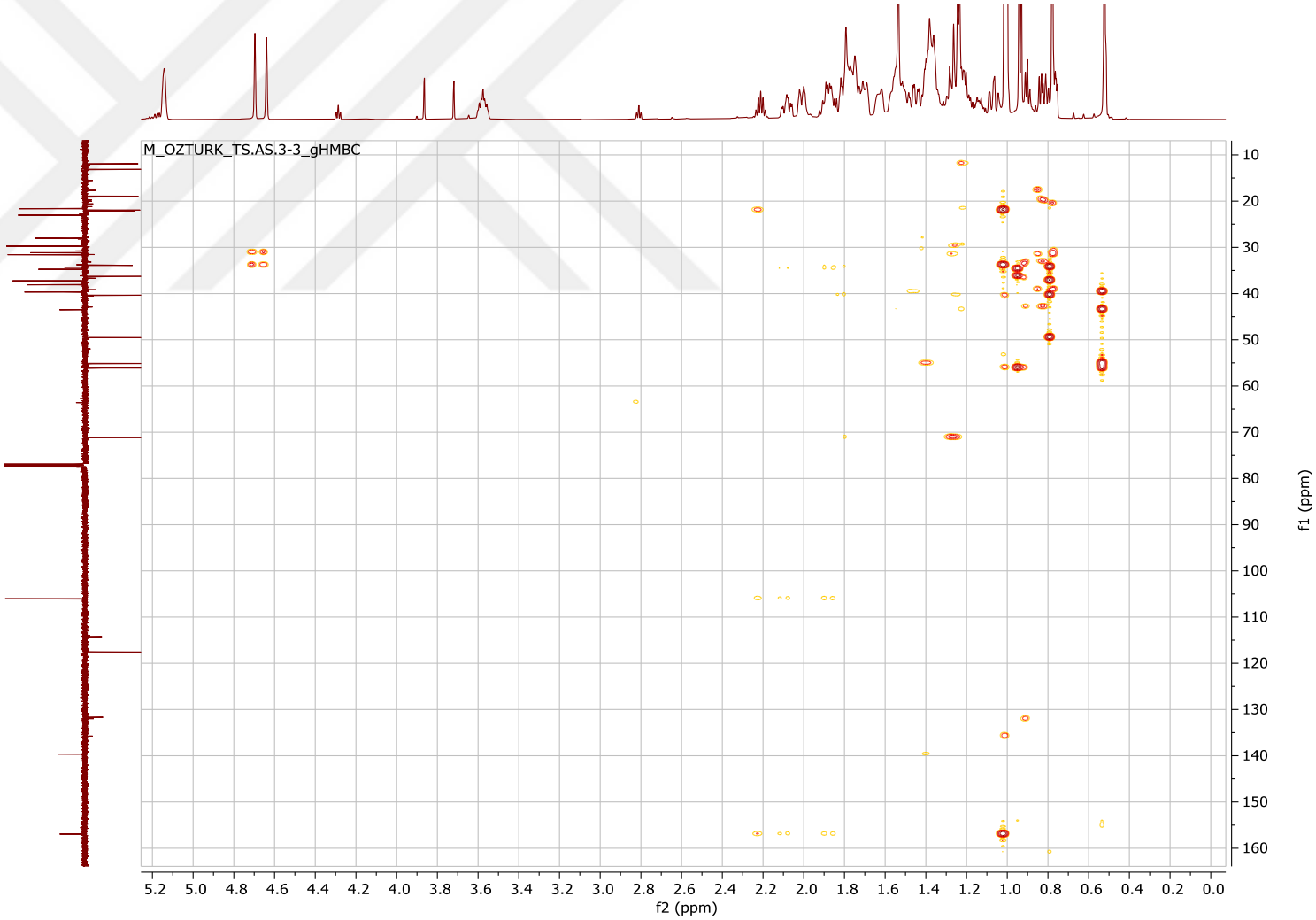
Şekil 3.75. TS.As.3.3 (3)'ün APT spektrumu ($CDCl_3$, 150 MHz)



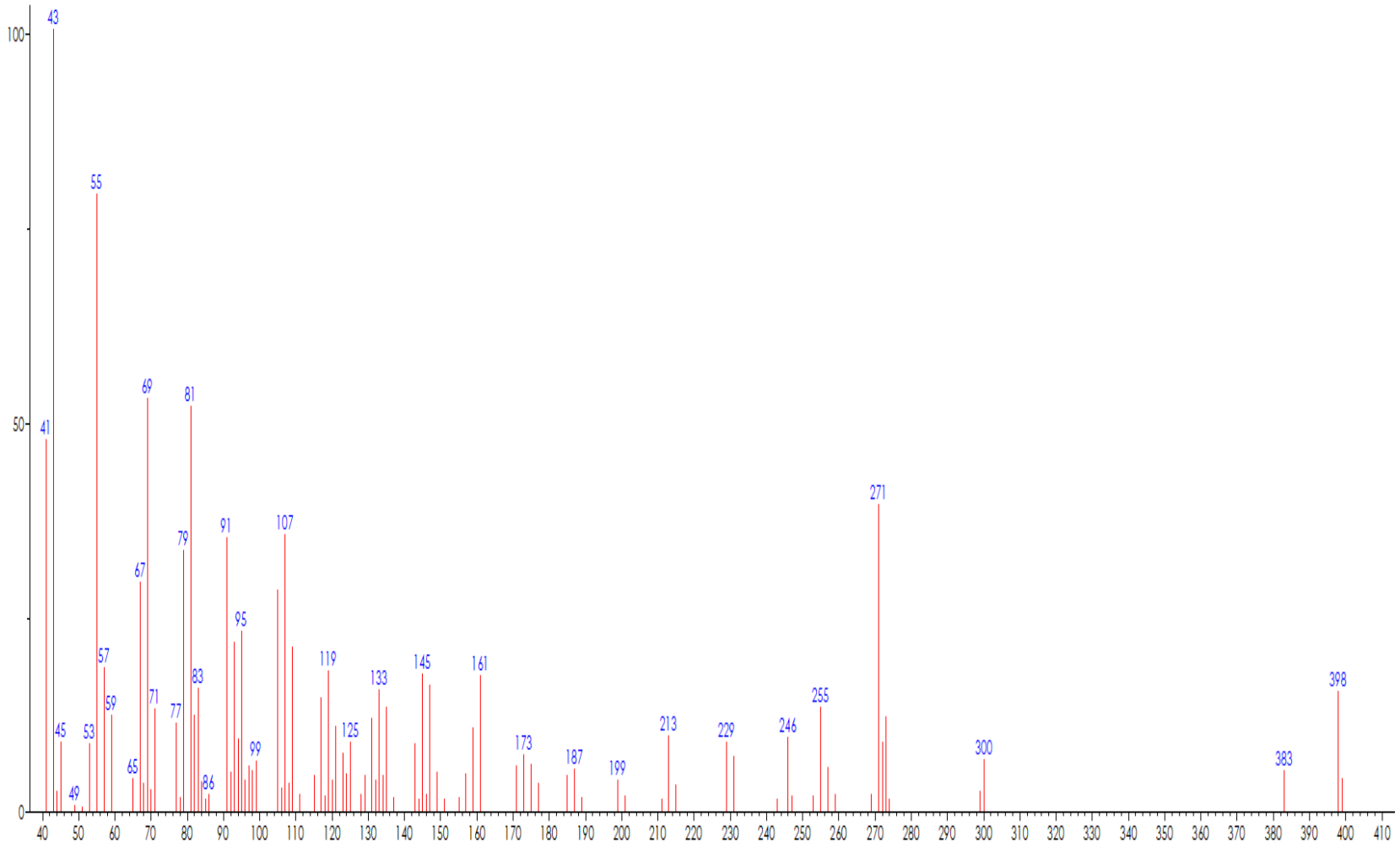
Şekil 3.76. TS.As.3.3 (3)'ün COSY spektrumu



Şekil 3. 77. TS.As.3.3 (3)'ün HSQC spektrumu

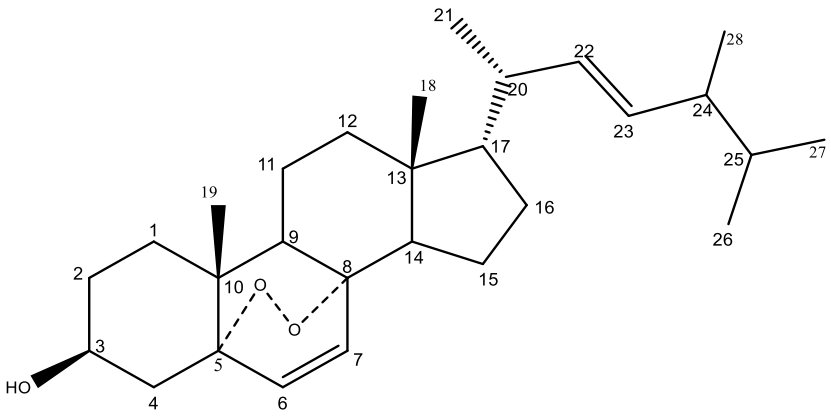


Şekil 3.78. TS.As.3.3 (3)'ün HMBC spektrumu



Şekil 3.79. TS.As.3.3 (3)'ün kütle spektrumu

*3.9.2.4. TS.As.3.4(**4**) = Ergesterol peroksit*



Şekil 3.80. TS.As.3.4 (4)'ün yapısı

Beyaz renkli olan TS.As.3.4 **(4)** amorf halde elde edildi (Şekil 3.80). Silikajel plakta UV lamba (254 nm) altında da görülen madde serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) kahverengi renk aldı.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δ (ppm) , 600 MHz), (Şekil 3.81) spektrumunda δ 0,81 (*s*, H-18), 0,88 (*s*, H-19), 1,0 (*d*, *J* =6,54 Hz, H-21), δ 0,83 (*d*, *J*=6,96 Hz, H-26) ve 0,82 (*d*, *J*=6,78 Hz, H-27), 0,91 (*d*, *J*=6,72 Hz, H-28) ppm'de 6 adet metil piki, δ 3,97 (*m*, H-3) ppm'de hidroksil bağlı karbona ait proton piki, δ 5,14 (*dd*, *J*= 15,25; 8,57 Hz, H-22) ve δ 5,22 (*dd*, *J* = 15,26;7,67 Hz, H-23) çift bağa bağlı metin hidrojeni pikleri,δ 6,24 (*t*, *J* = 8,48 Hz, H-6) ve 6,50 (*t*, *J* = 8,49 Hz, H-7) ppm'de rezonans olan çift bağın vinilik proton pikleri gözlendi. İzlenen bu pikler yapının steroid yapısında olduğunu andırdı.

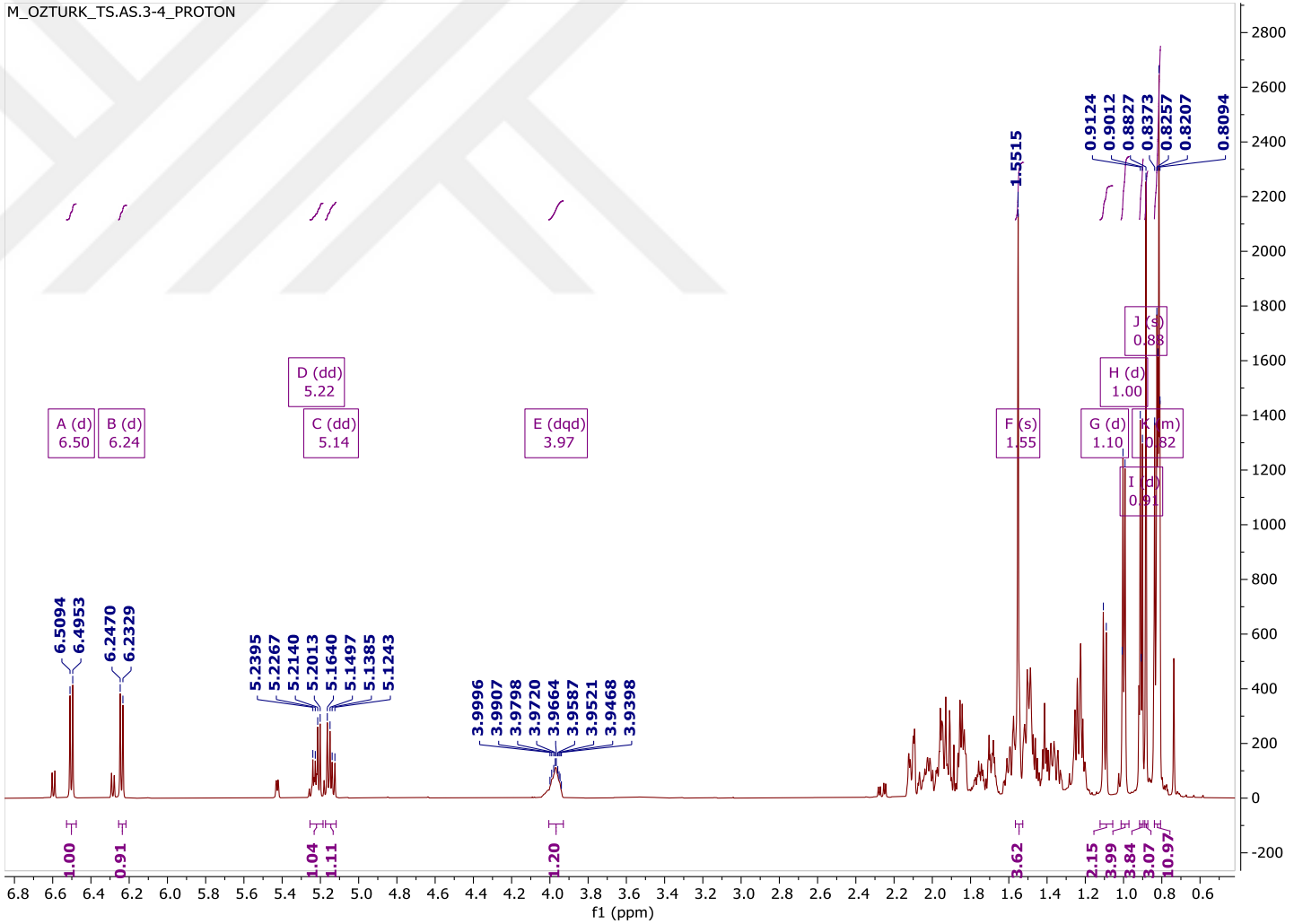
APT ($CDCl_3$, δ (ppm), 150 MHz), (Şekil 3.82) ile COSY (Şekil 3.83), HSQC (Şekil 3.84), HMBC (Şekil 3.85) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde steroid yapısı doğrulandı. Bu spektrumlara göre 6 metil, 7 metilen, 11 metin ve 4 katerner karbon gözlendi. δ 135,4 (C-6), 135,2 (C-22), 132,3 (C-23), 30,7 (C-7) ppm'de olefinik karbon sinyalleri, δ 12,8 (C-18), 18,2 (C-19), 20,9 (C-21), 19,9 (C-26) ve 19,6 (C-27) ve 17,5 C-28 ppm'de 6 tane metil sinyalleri ergostan tipi steroidin varlığını işaret etti.

TS.As.3.4 (**4**)'ün literatür çalışmaları sonucunda *Leucaena leucocephala* (Chen vd, 2010) *Hericium erinaceum (*Noh vd, 2015) türlerinden izole edildiği rapor edilmiş olup yapısı ergesterol peroksit olarak tayin edildi.

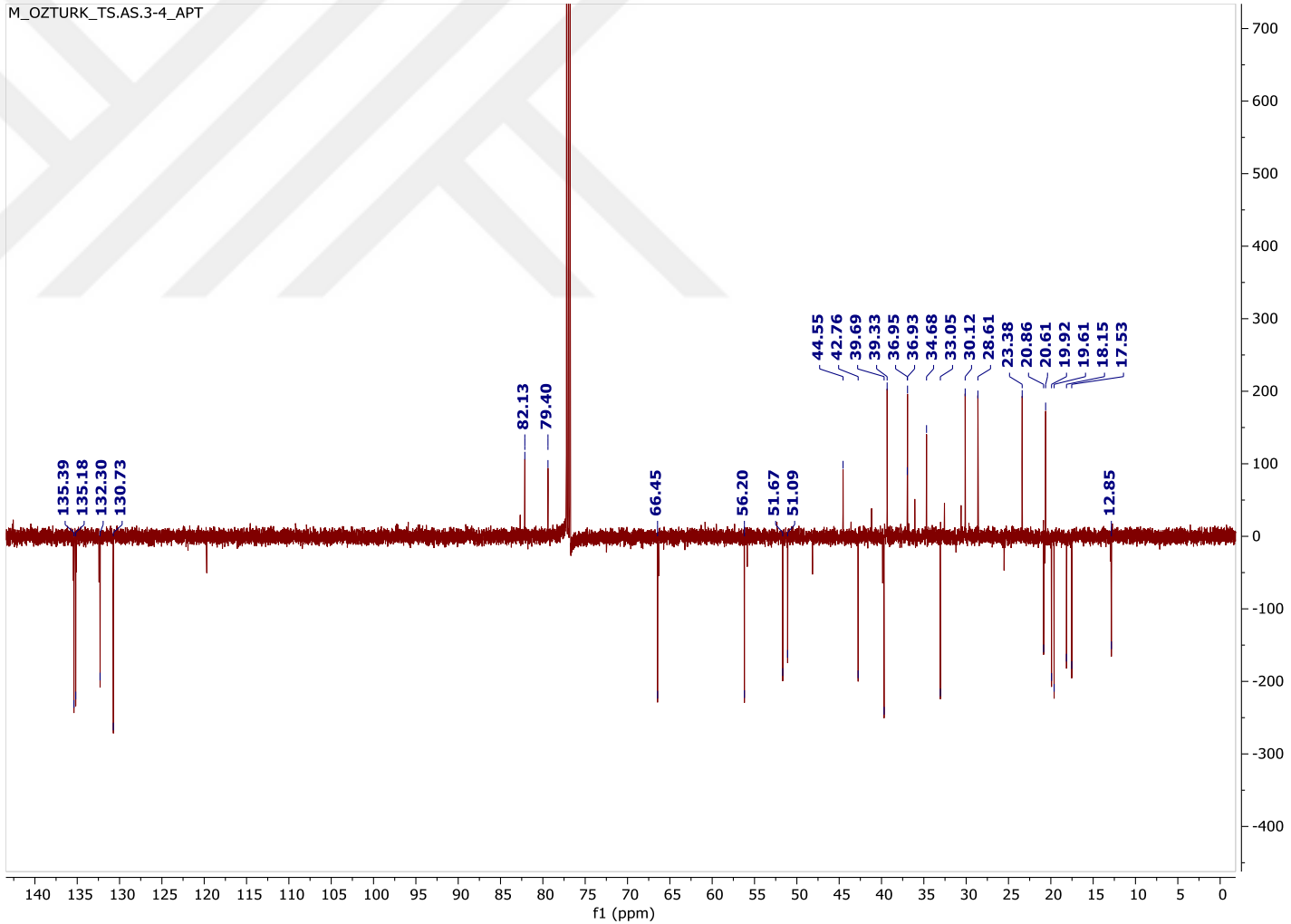
Kütle spektrumunda (EI-MS) (Şekil 3.86) moleküler iyon piki *m/z* 396 $[M]^+$, *m/z* 363 $[M\text{-}O\text{-}O]^+$ piki yapıdan peroksit oksijenlerinin ayrıldığını göstermektedir. *m/z* 271 $[396\text{-}C_9H_{17}$(steroidin zincir kısmı)$]^+$ ve *m/z* 253 $[271\text{-}H_2O]^+$ molekülün fragman pikleri, TS.As.3.4 (**4**) bileşiğinin ergesterol peroksit olduğunu teyit etmektedir. TS.As.3.4 **(4)** kodlu saf maddesinin NMR spektrumları incelendiğinde **TS.As.4.1** kodlu saf madde ile aynı kimyasal yapıda olduğu belirlendi. TS.As.3.4 **(4)** maddesi için ^{1}H-NMR spektral değerleri Çizelge 3.17'de verilmektedir.

Çizelge 3.17. TS.As.3.4 (4)'ün NMR spektral değerleri

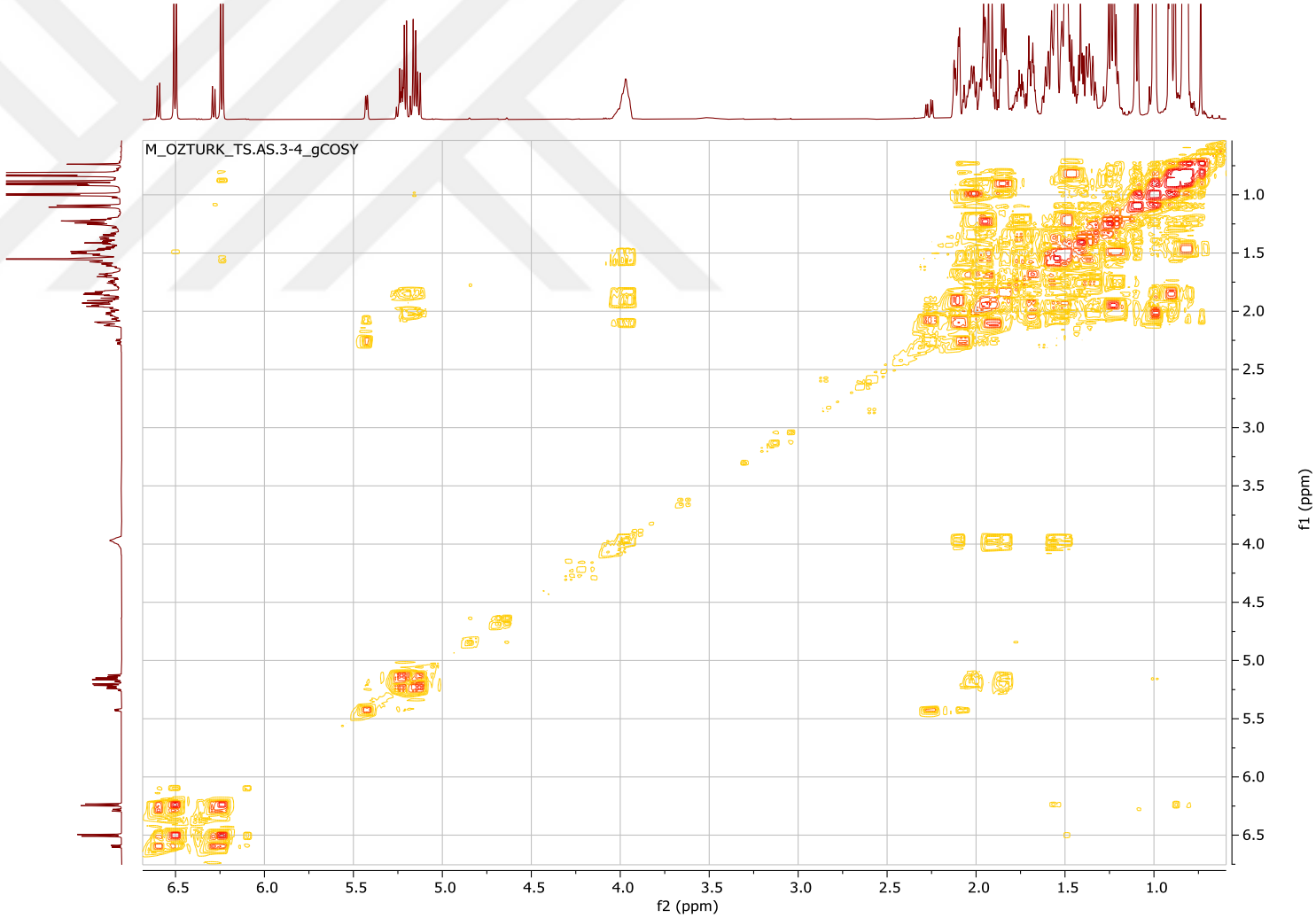
Pozisyon	^{13}C-NMR(δ)	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	34,7	CH_2	1,68 (*m*, 1H); 1,95 (*m*, 1H)
2	30,1	CH_2	1,52 (*m*, 1H); 1,89 (*m*, 1H)
3	66,5	CH	3,97 (*m*, 1H)
4	36,9	CH_2	2,08 (*m*, 1H); 2,12 (*m*, 1H)
5	82,1	C	
6	135,4	CH	6,24 (*t*, *J* = 8,48 Hz, 1H)
7	130,7	CH	6,50 (*t*, *J* = 8,49 Hz, 1H)
8	79,4	C	
9	51,7	CH	1,55 (*m*, 1H)
10	36,9	C	
11	20,6	CH_2	1,39 (*m*, 1H); 1,59 (*m*, 1H)
12	39,3	CH_2	1,22 (*m*, 1H); 1,95 (*m*, 1H)
13	44,6	C	
14	51,1	CH	1,48 (*m*, 1H)
15	23,4	CH_2	1,22 (*m*, 1H); 1,51 (*m*, 1H)
16	28,6	CH_2	1,35 (*m*, 1H); 1,74 (*m*, 1H)
17	56,2	CH	1,22 (*m*, 1H)
18	12,8	CH_3	0,81 (*s*, 3H)
19	18,2	CH_3	0,88 (*s*, 3H)
20	39,7	CH	2,01 (*m*, 1H)
21	20,9	CH_3	1,0 (*d*, *J* =6,54 Hz, 3H)
22	135,2	CH	5,14 (*dd*, *J*= 15,25; 8,57 Hz, 1H)
23	132,3	CH	5,22 (*dd*, *J* = 15,26;7,67 Hz, 1H)
24	42,8	CH	1,84 (*m*, 1H)
25	33,1	CH	1,46 (*m*, 1H)
26	19,9	CH_3	0,83 (*d*, *J*=6,96 Hz, 3H)
27	19,6	CH_3	0,82 (*d*, *J*=6,78 Hz, 3H)
28	17,5	CH_3	0,91 (*d*, *J*=6,72 Hz, 3H)



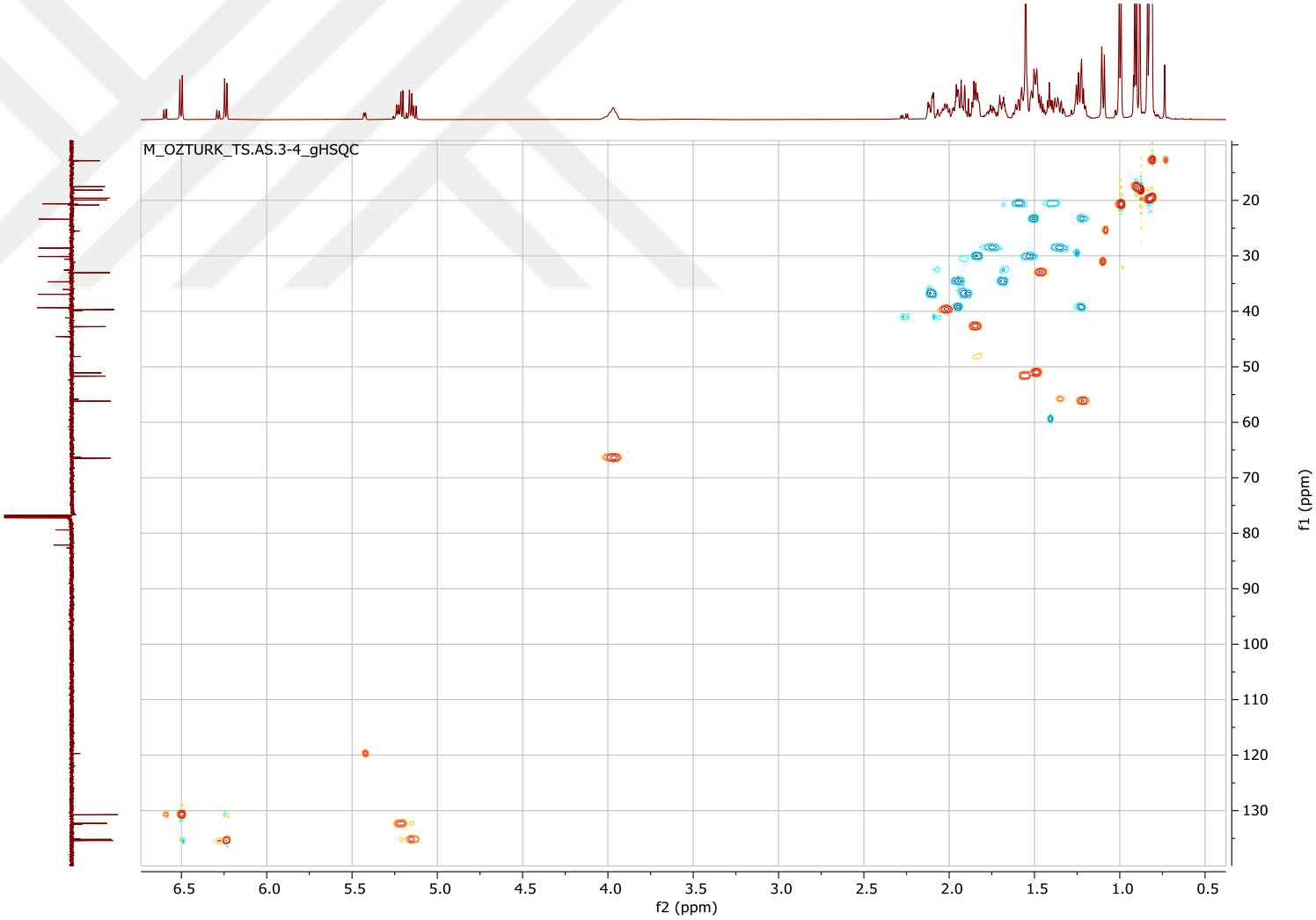
Şekil 3. 81. TS.As.3.4 (4)'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 600 MHz)



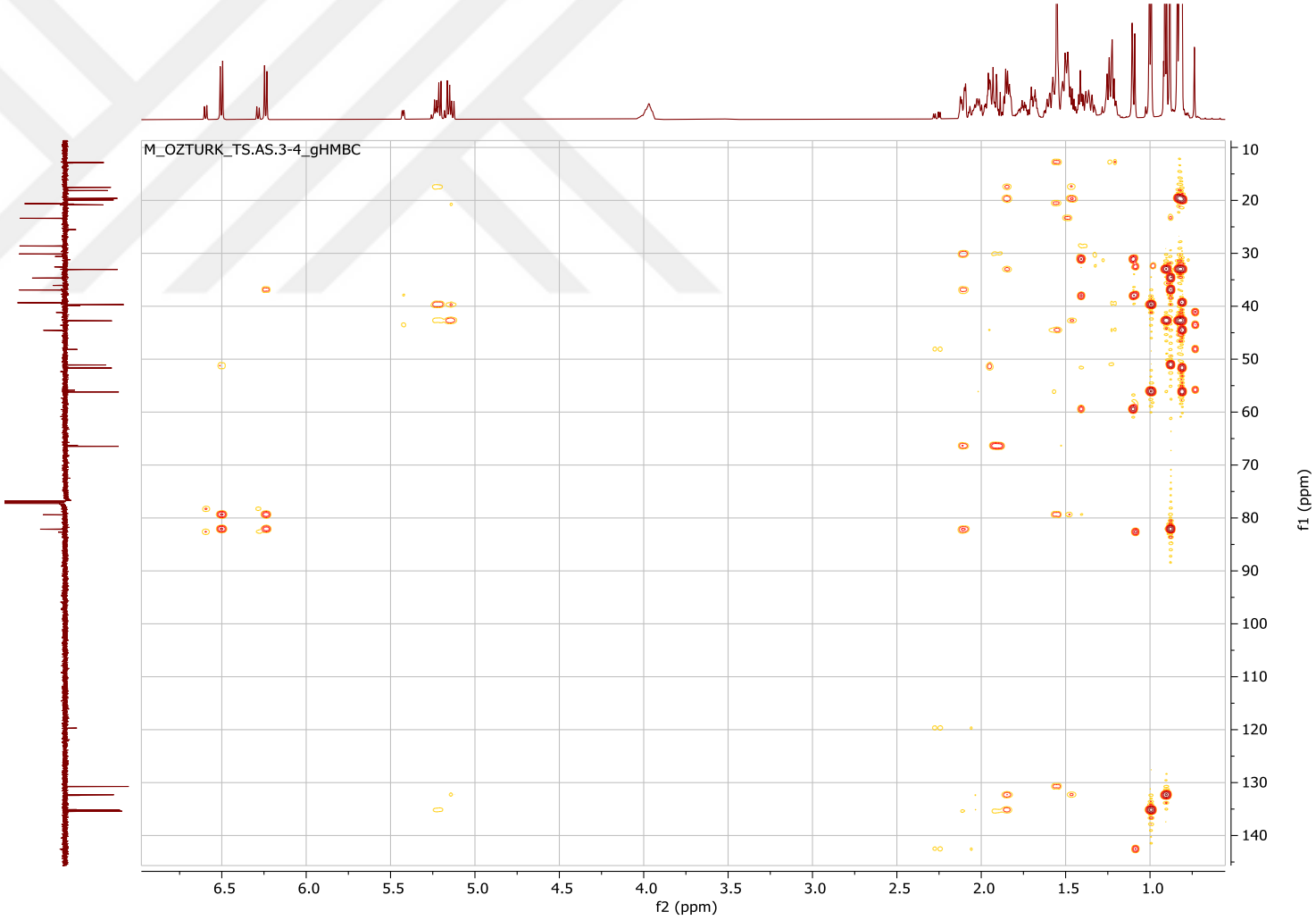
Şekil 3 82. TS.As.3.4 (4)'ün APT spektrumu ($CDCl_3$, 150 MHz)



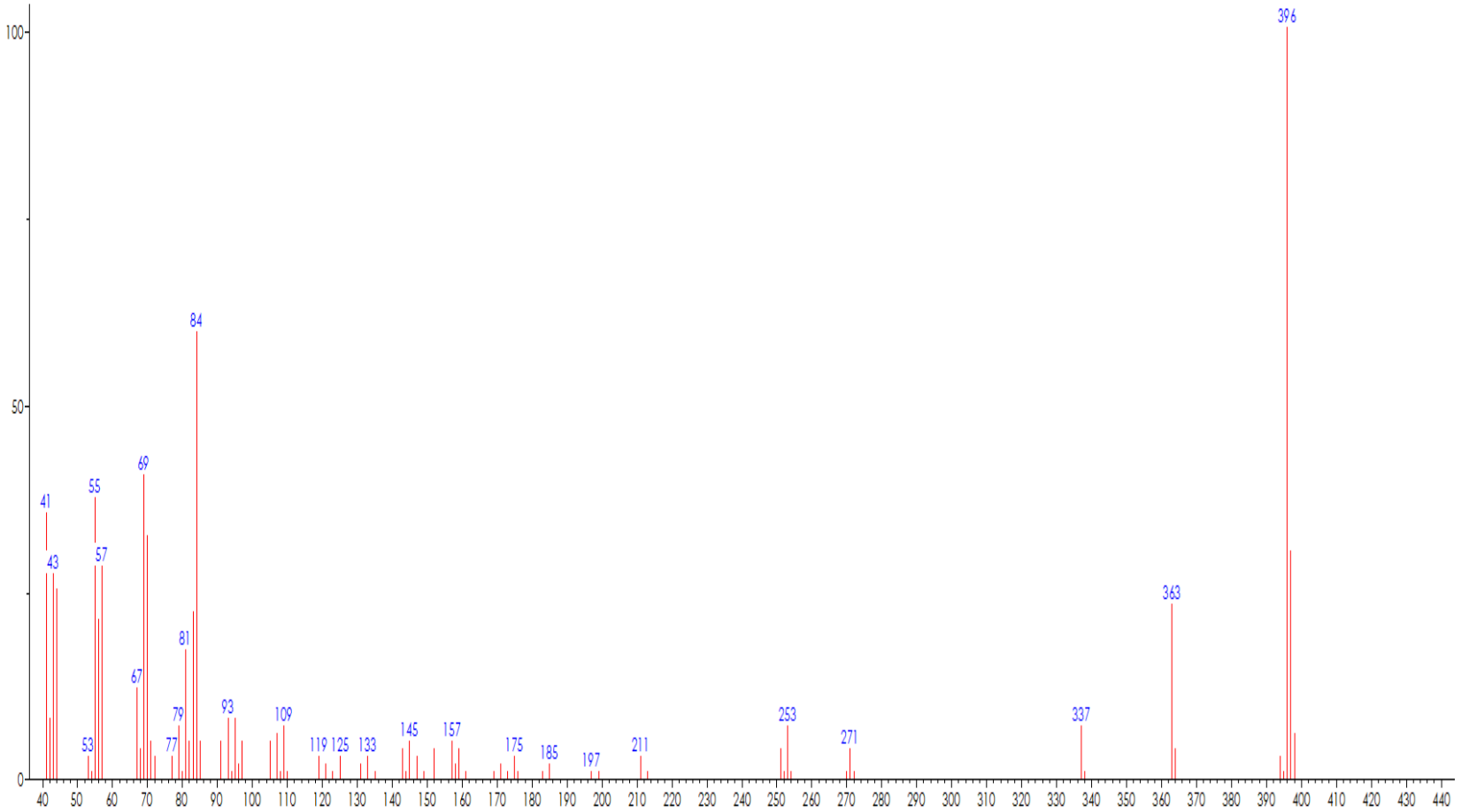
Şekil 3.83. TS.As.3.4 (4)'ün COSY spektrumu



Şekil 3.84. TS.As.3.4 (4)'ün HSQC spektrumu

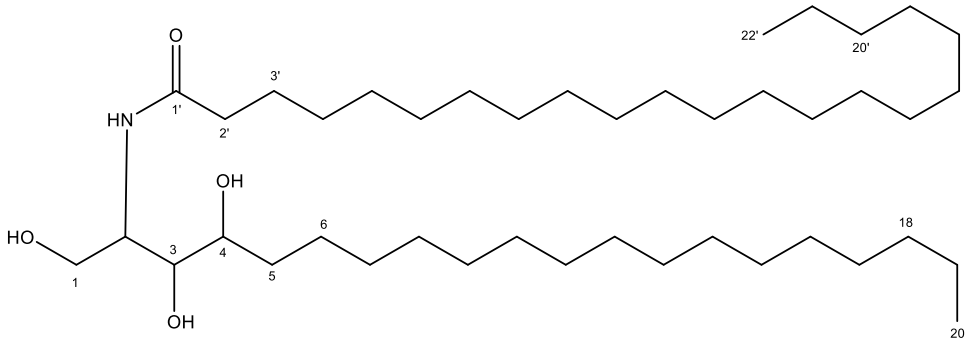


Şekil 3.85. TS.As.3.4 (4)'ün HMBC spektrumu



Şekil 3.86. TS.As.3.4 (4)'ün kütle spektrumu

*3.9.2.5. TS.As.3.5 (**5**) = N-(1,3,4-trihidroksikosan-2-il) dokosanamid*



Şekil 3.87. TS.As.3.5 (5)'in yapısı

TS.As.3.5 **(5)** maddenin (3,64 mg) yapısı NMR (1D, 2D) teknikleri kullanılarak aydınlatıldı. TS.As.3.5 **(5)** ince tabaka kromatografisinde UV 254 nm'de görünen madde, serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) kahverengi renk oluştuğu gözlendi.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$+CD_3OD, δ (ppm), 600 MHz) spektrumda (Şekil 3.88) δ 0,88 (*t*, *J* = 6,95 Hz, H-20, C-22') ppm'de rezonans olan pik iki terminal metil grubuna, δ 3,72 (br *s*, H-1) ppm'de rezonans olan pik bir hidroksi metilen grubuna atfedilir. δ 4,07 (*q*, *J* = 5,1 Hz, H-2), 3,57 (*t*, *J* = 5,72 Hz, H-3) ve 3,52 (*m*, H-4) ppm'de rezonans olan pikler sırasıyla azot ve oksijene bağlı metin hidrojenlerine aittir. Ayrıca, ^{1}H-NMR spektrumunda (Şekil 3.88) δ 1,26–1,32 ppm'de ve ^{13}C-NMR (Şekil 3.89) spektrumunda δ 28,5–29,01 ppm'de alifatik metilenlerin örtüşen sinyalleri de gözlendi.

^{13}C-NMR ($CDCl_3$+CD_3OD, δ (ppm), 150 MHz) (Şekil 3.89) ve DEPT 135 (Şekil 3.90) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde, üst üste çakışmış iki metil, 15 adet metilen, üç adet metin, bir karbonil grubu verdi. δ 51, 51 ppm'de rezonans olan metin ve δ 174,2 ppm'de rezonans olan karbonil pikleri bir amid grubunun varlığını düşündürdü. ^{13}C-NMR ve DEPT 135 spektrumları karakteristik sinyallerin varlığını göstermektedir. Buna göre, δ 174,2 (C-1') ppm'de amid karbonili, δ 74,2 (C-3), 71,5 (C-4) ppm'de iki adet hidroksi metin grubu, δ 51,5'de (C-2) bir azota bağlı metin grubu ve δ 60,4 (CH_2OH, C-1) ppm'de bir hidroksi metilen grubu, δ 35,5 (C-2') ppm'de α metilen karbonu, 25,1 (C-3') ppm'de β metilen karbonu izlendi. δ 12,8; 21,8 ve 31,4 ppm'de izlenen pikler hidrokarbon zincirinin son üç karbonudur. Bu pikler uzun boylu

olduklarından başka grup ile üstüste çakışmaktadır. HSQC spektrumunda (Şekil 3.92) kullanılarak karbona bağlı hidrojenler tespit edildi.

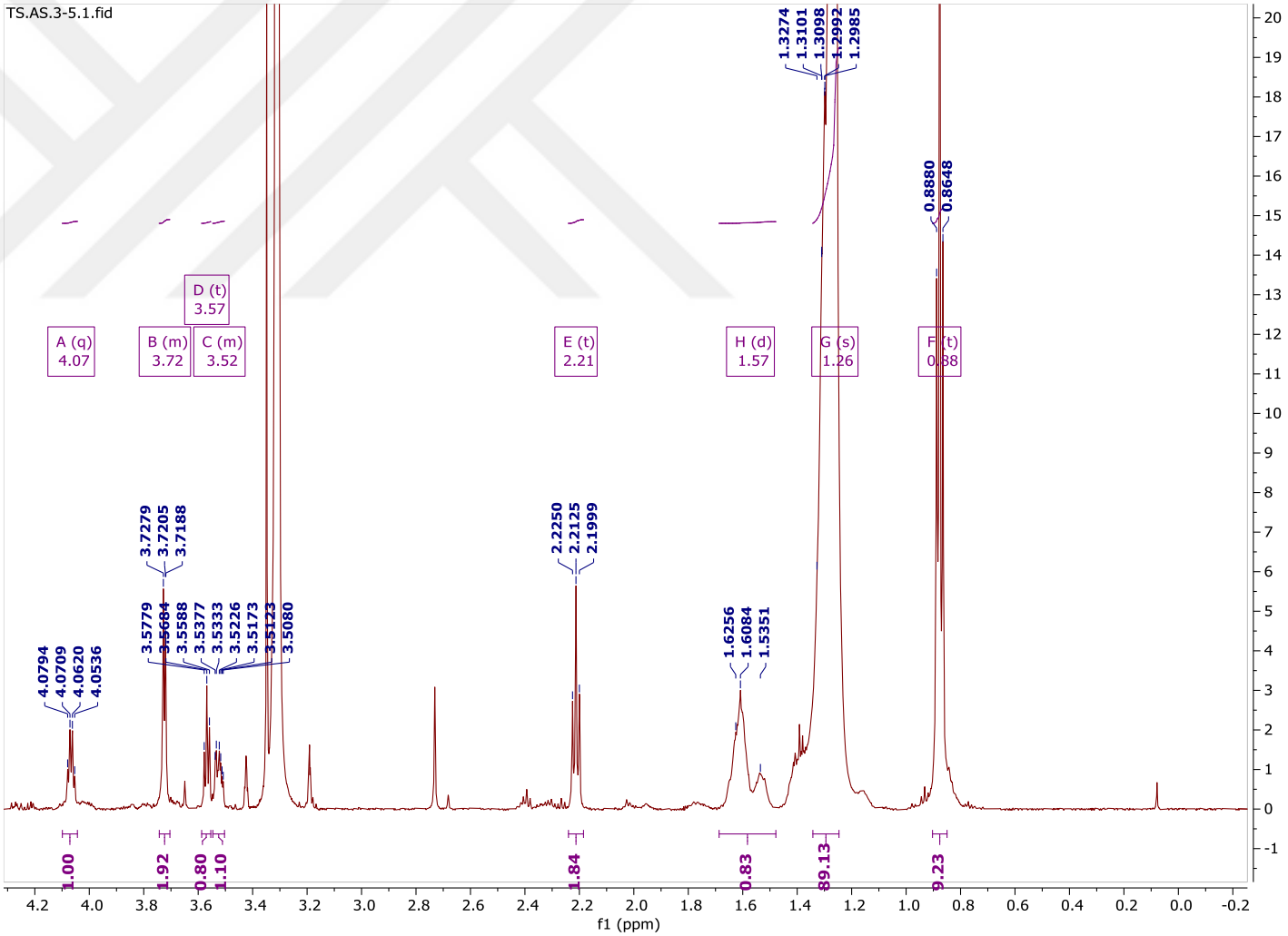
COSY spektrumunda (Şekil 3.91) δ 4,07 (*q*, *J* = 5,1 Hz, H-2) ile δ 3,72 (br *s*, H-1) ppm'de rezonans olan pik etkileşim göstermektedir. Yine H-2' ile H-3 ait hidrojenlerin etkileştiği izlenmektedir. Ayrıca H-2 ile H-3 hidrojenlerinin korelasyon gösterdikleri izlenmektedir.

HMBC spektrumunda (Şekil 3.93) δ 3,72'deki (H-1) pik δ 51,5 (C-2) ve δ 74,2 (C-3) ile korelasyon gösterdi. δ 4,06'da (H-2) rezonans olan pik δ 60,4 (C-1), 74,2 (C-3) ve 174,2 (C-1') ile korelasyon gösterdi. δ 3,56'daki (H-3) sinyal δ 60,4 (C-1), 51,5 (C-2) ve 71,5 (C-4) ile korelasyon gösterdi. δ 0,86'daki (H-20 ve H-22') sinyal δ 25,2 (C-19 ve C-21'), 31,7 (C-19 ve C-21') ile korelasyon gösterdi. δ 174,2'deki (C-1') sinyal δ 2,21 (H-2') ve δ 3,71 (H-1) ile korelasyon gösterdi. δ 2,21'deki (H-2') sinyal 25,2 (C-3') ile de korelasyon gösterdi. Bu korelasyonlar maddenin serebrosit yapısında olduğu düşündürdü.

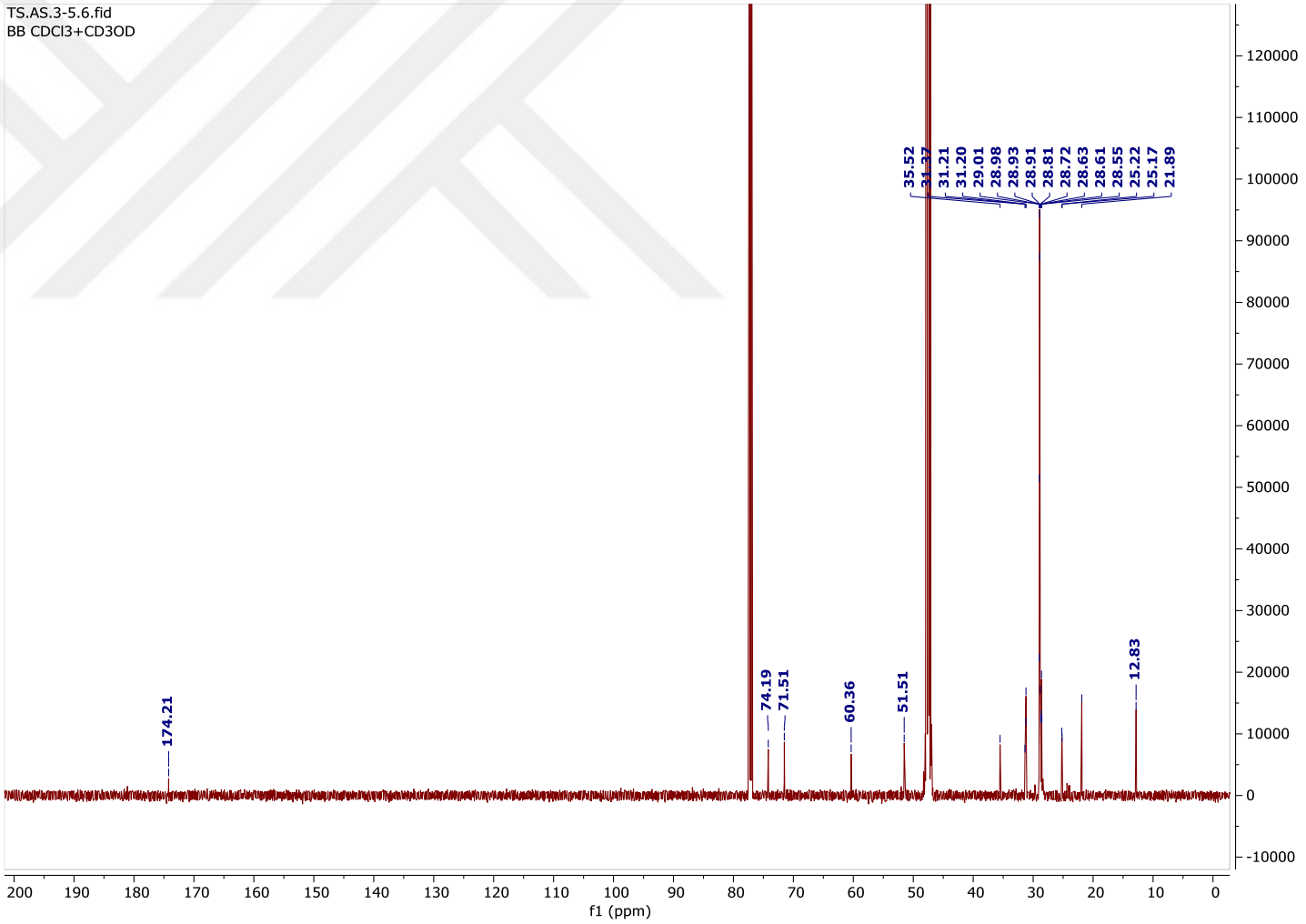
Elektrosprey uçuş zamanlı kütle spektrometrisi (ESI^+-TOF-MS) (Şekil 3.94) moleküler iyon *m/z* 667.6467 $[M]^+$ piki ile $C_{42}H_{85}NO_4$ kapalı formülünü (calc. 667,6479) verdi. *m*/z 323,3310'da görülen pik karbonil ile amid arasındaki bağın kopmasıyla oluşan dokosanoil'e $[C_{22}H_{43}O]^+$ ait pik olduğunu ve böylece serebrositin yağ asidi kısmının 22 karbonlu doymuş yapıda olduğuna göstermiştir. Ayrıca kütle spektrumunda (EI-MS) (Şekil 3.95) izlenen *m/z* 339 piki dokosanamidin $[C_{22}H_{45}NO]^+$ molekül ağırlığı ile eşleşmektedir. Kütle spektrumu ve NMR spektral verilerden, TS.As.3.5 (**5**) bileşiğinin yapısı *N*-(1,3,4-trihidroksikosan-2-il) dokosanamid olarak önerildi (Şekil 3.87). İzole edilen TS.As.3.5 (**5**) yapısı seramid tipi yapı olup literatür ile uyuşmaktadır ve mantarlarda bulunan bir bileşik grubudur. (Wu vd, 2009a; Gao vd, 2004). NMR spektral verileri Çizelge 3.18'da verilmektedir.

Çizelge 3.18. TS.As.3.5 (5)'in NMR spektral değerleri

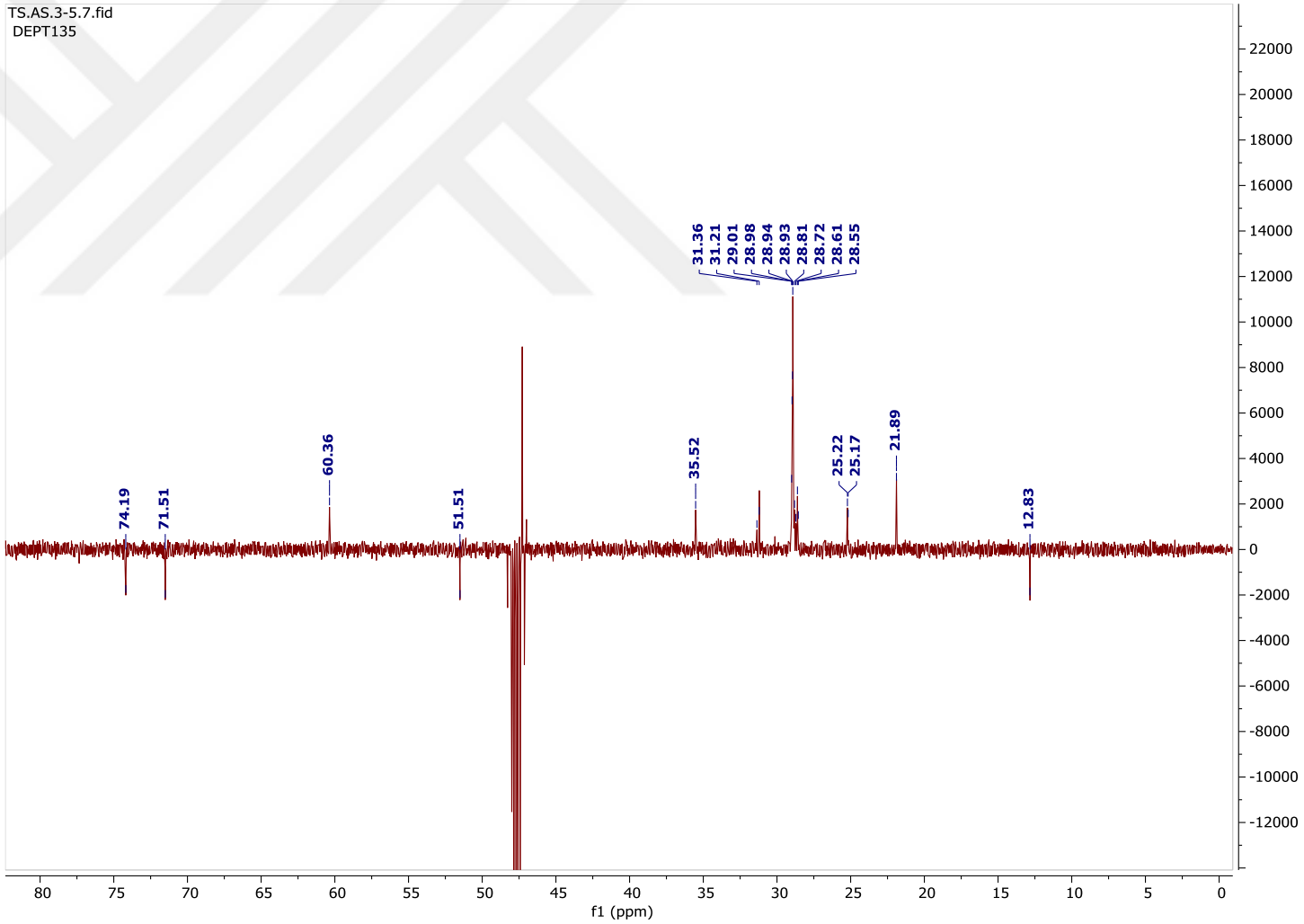
Pozisyon	^{13}C-NMR(δ)	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	60,4	CH_2	3,72 (br, *s*), 3,72 (br,*s*)
2	51,5	CH	4,07 (*q*, *J* = 5,1 Hz, 1H)
3	74,2	CH	3,57 (*t*, *J* = 5,72 Hz, 1H)
4	71,5	CH	3,52 (*m*, 1H)
5	31,2	CH_2	1,26 (br, *s*, 2H)
6-17	28,5-29,01	CH_2	1,26-1,32 (br, *s*, 2H)
18	31,4	CH_2	1,25 (br, *s*, 2H)
19	25,2	CH_2	1,61 (*t*, *J*= 10,3 Hz, 3H)
20	12,8	CH_3	0,88 (*t*, *J*= 6,95 Hz, 3H)
1'	174,2	C	
2'	35,2	CH_2	2,21 (*t*, *J* = 7,53 Hz, 2H)
3'	25,2	CH_2	1,60 (br, *s*, 2H)
4'-19'	28,5-29,0	CH_2	1,26-1,32 (br, *s*, 2H)
20'	31,4	CH_2	1,25 (br, *s*, 2H)
21'	25,2	CH_2	1,61 (*t*, *J*= 10,3 Hz, 3H)
22'	12,8	CH_3	0,88 (*t*, *J*= 6,95 Hz, 3H)



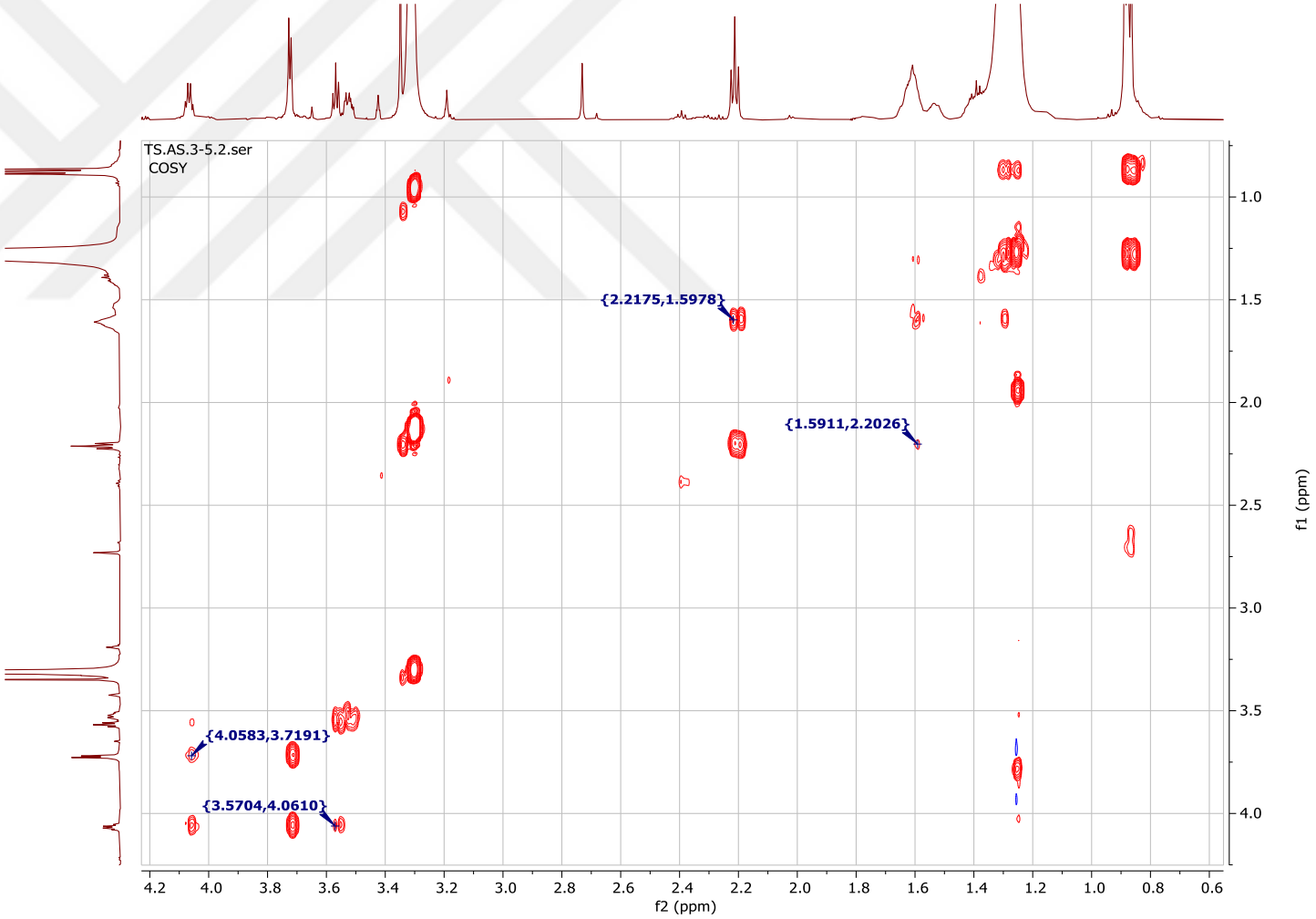
Şekil 3.88. TS.As.3.5 (5)'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CD_3OD+CDCl_3$, 600 MHz)



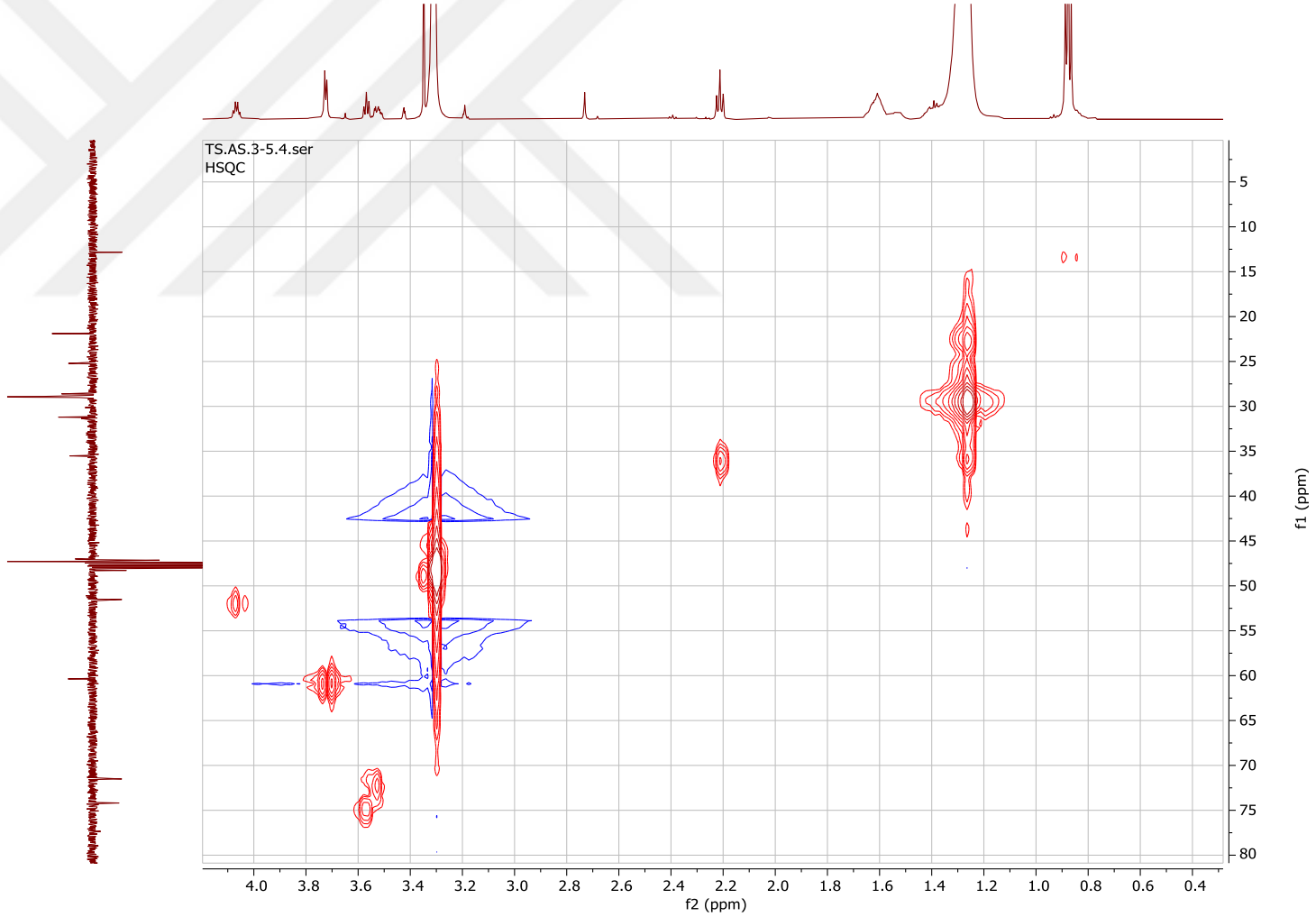
Şekil 3.89. TS.As.3.5 (5)'in ^{13}C-NMR spektrumu ($CD_3OD+CDCl_3$, 150 MHz)



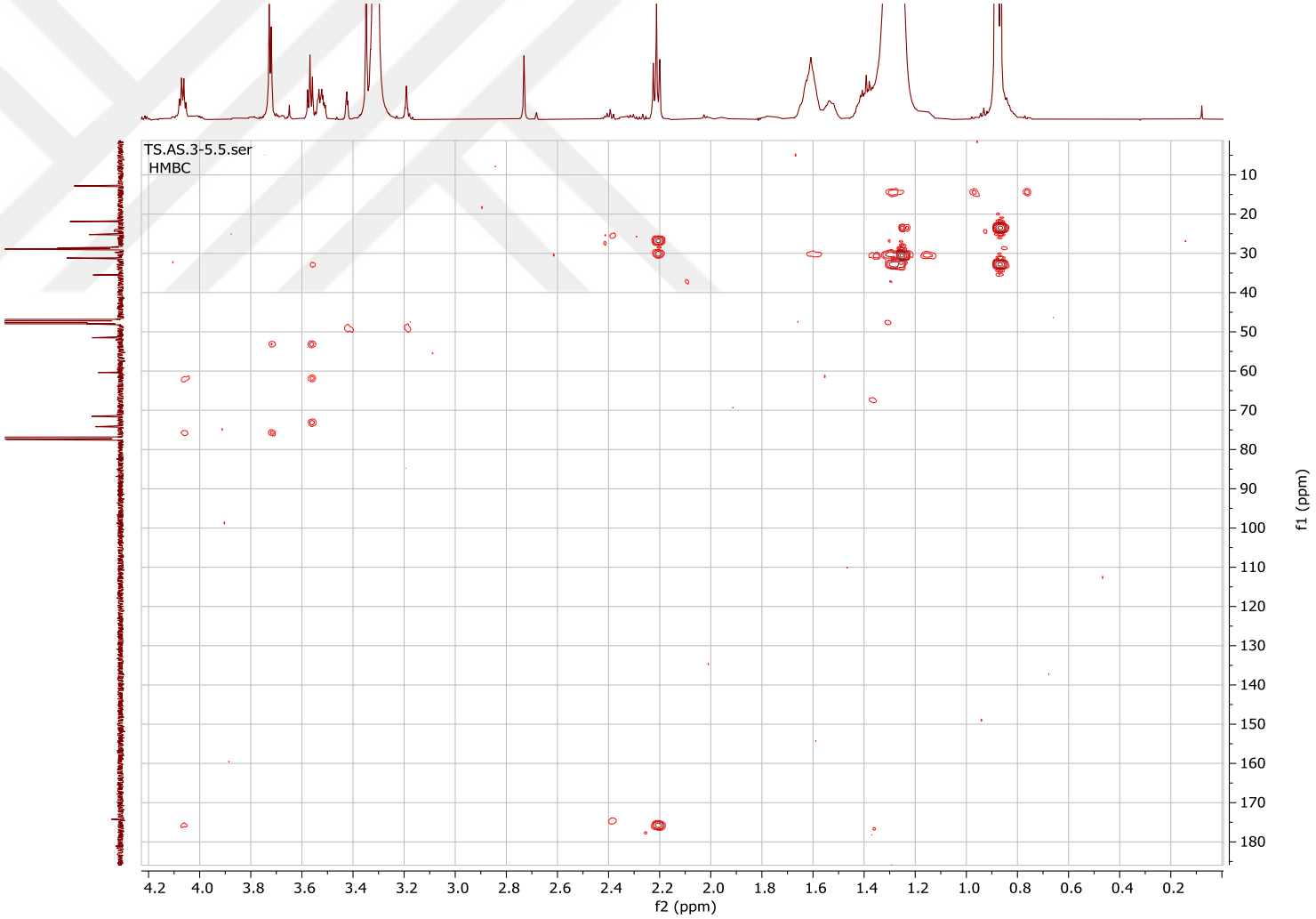
Şekil 3.90. TS.As.3.5 (5)'in DEPT135 spektrumu



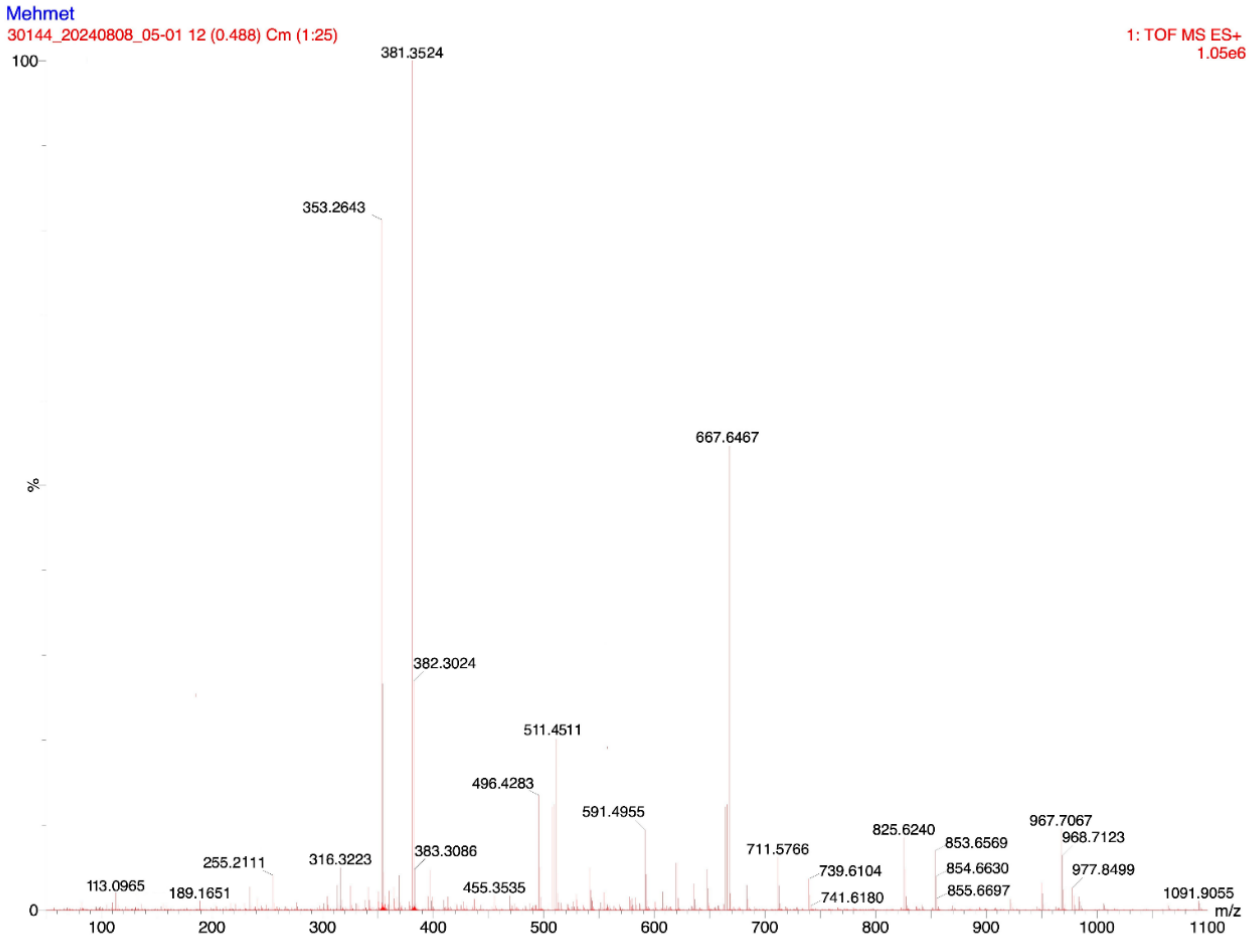
Şekil 3.91. TS.As.3.5 (5)'in COSY spektrumu



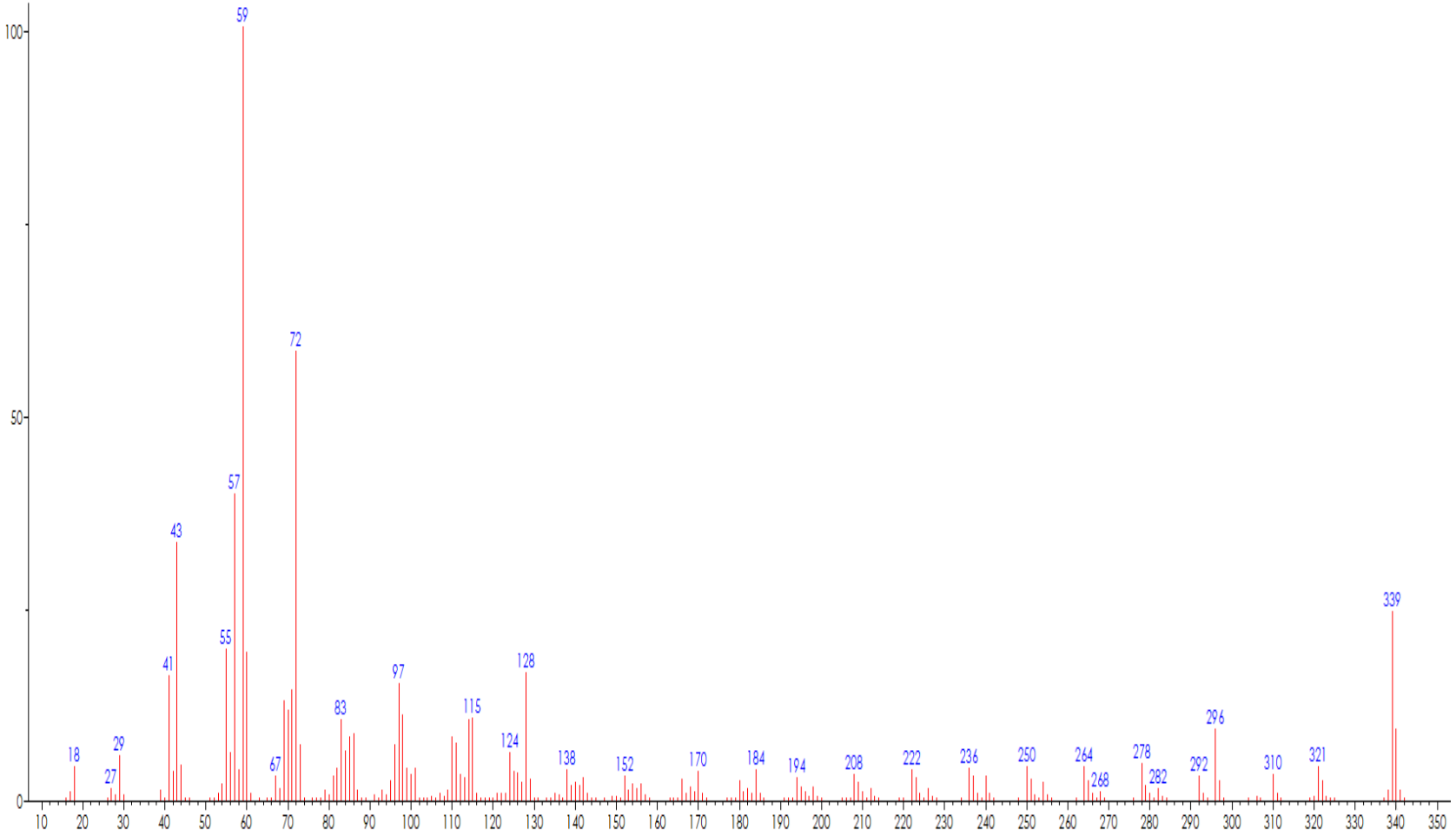
Şekil 3.92. TS.As.3.5 (5)'in HSQC spektrumu



Şekil 3.93. TS.As.3.5 (5)'in HMBC spektrumu

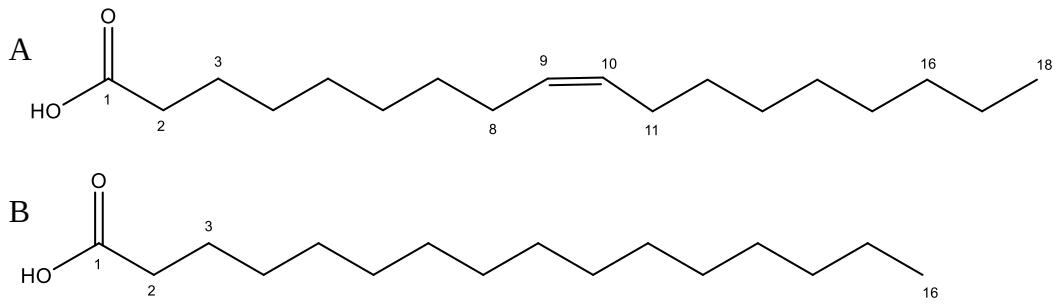


Şekil 3. 94. TS.As.3.5 (5)'in ESI$^+$-TOF-kütle spektrumu



Şekil 3.95. TS.As.3.5 (5)'in kütle spektrumu (Docosanamide)

*3.9.2.6. TS.As.3.6 (**6**) = Oleik asit, Palmitik asit*



Şekil 3.96. TS.As.3.6 (6)'nın yapısı

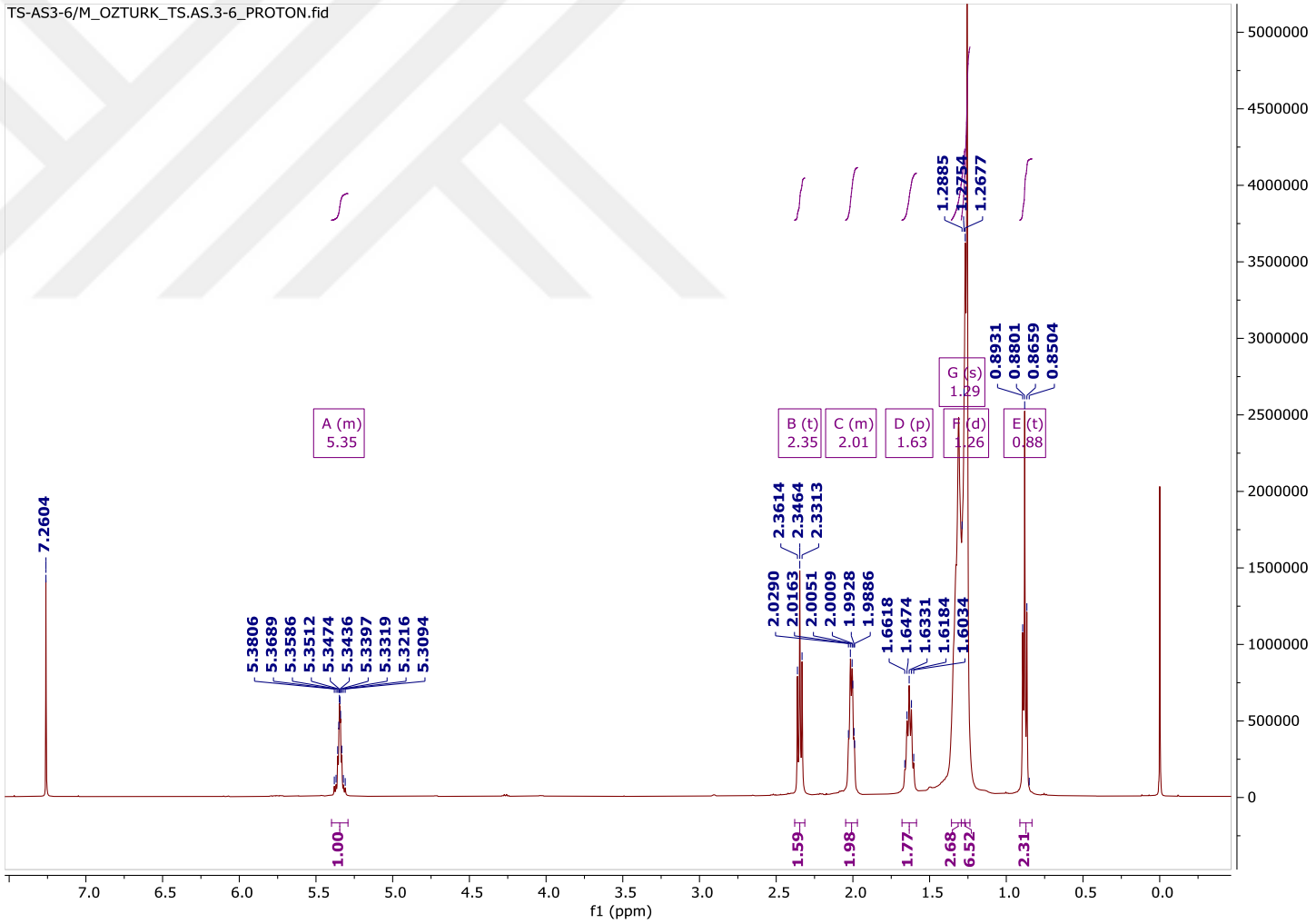
TS.As.3.6 **(6)** maddesinin (3,64 mg) yapısı NMR (1D, 2D) teknikleri kullanılarak aydınlatıldı. TS.As.3.6 **(6)** ince tabaka kromatografisinde UV 254 nm'de görünmeyen madde, serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) kahverengi renk oluştuğu gözlendi.

^{1}H-NMR spektrumunda ($CDCl_3$, δ (ppm), 500 MHz) (Şekil 3.97) verilen iki maddenin karışım halinde bulunduğu tespit edildi. δ 5,35 ppm'de rezonans olan vinilik hidrojen sinyalleri ve δ 2,01 (*m*, H-8 ve H-11) allilik protonlara aittir. Bununla birlikte δ 2,35 (*t*, *J*=7,51 Hz, H-2) α karbonuna ait hidrojen sinyalleri, δ 1,63 (*p*, *J*=7,49 Hz, H-3) ppm'de rezonans olan pik β hidrojenlerine aittir. δ 0,88 (*t*, *J*=6,81 Hz, H-18 veya H-16) ppm'de rezonans olan pik yağ asidinin en sonuncu metil hidrojenlerine aittir.

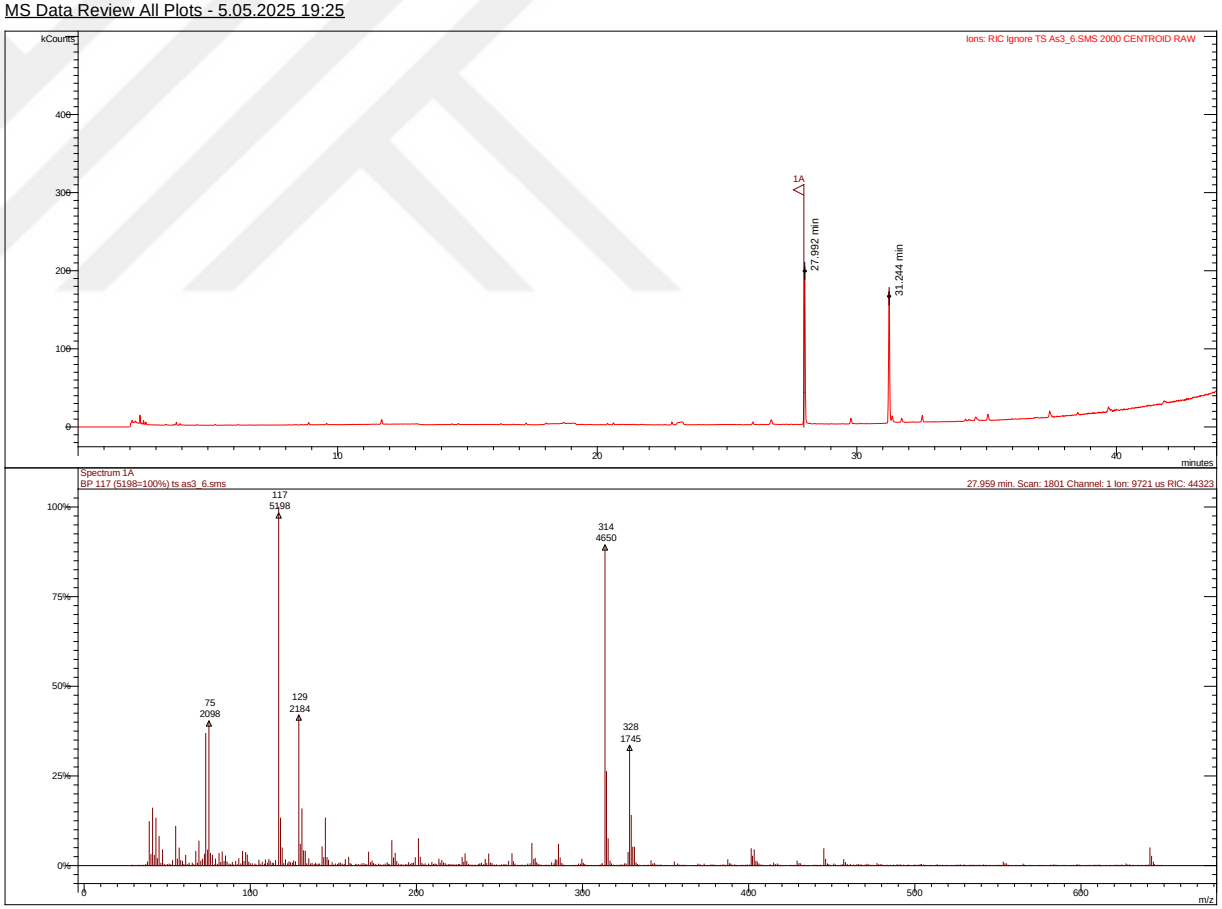
Spektrumdaki integraller değerlendirildiğinde doymamış bir yağ asidi ile doymuş bir yağ asidinin beraber bulunduğu anlaşılmaktadır (Şekil 3.96). Diğer bir deyişle vinilik protonlar ve α ve β hidrojenlerine ait integraller net örtüşmediğinden doymamış yağ asidinin doymuş yağ asidi ile karışım halinde olduğu belirlendi. Yapıların tayini için TS.As.3.6 (**6**) silillenip GC-MS'de analiz edildi. Şekil 3.98 ve Şekil 3.99'da kromatogramda 27,99 ve 31,24. dakikalarda görülen iki pike ait kütle spektrumları verilmektedir. Molekül iyon *m/z* 354 $[M+SiC_3H_9]^+$ piki veren maddenin silillenmiş oleik asit ve molekül formülü $C_{18}H_{34}O_2$ önerdi. Molekül iyon *m/z* 328 $[M+SiC_3H_9]^+$ piki veren maddenin ise silillenmiş palmitik asit olduğu ve molekül formülü $C_{16}H_{32}O_2$ önerdi (Davis vd, 1999 Schaefer 1974). NMR spektral verileri Çizelge 3.19'da verilmektedir.

Çizelge 3.19. TS.As.3.6 (6)'nın NMR spektral değerleri

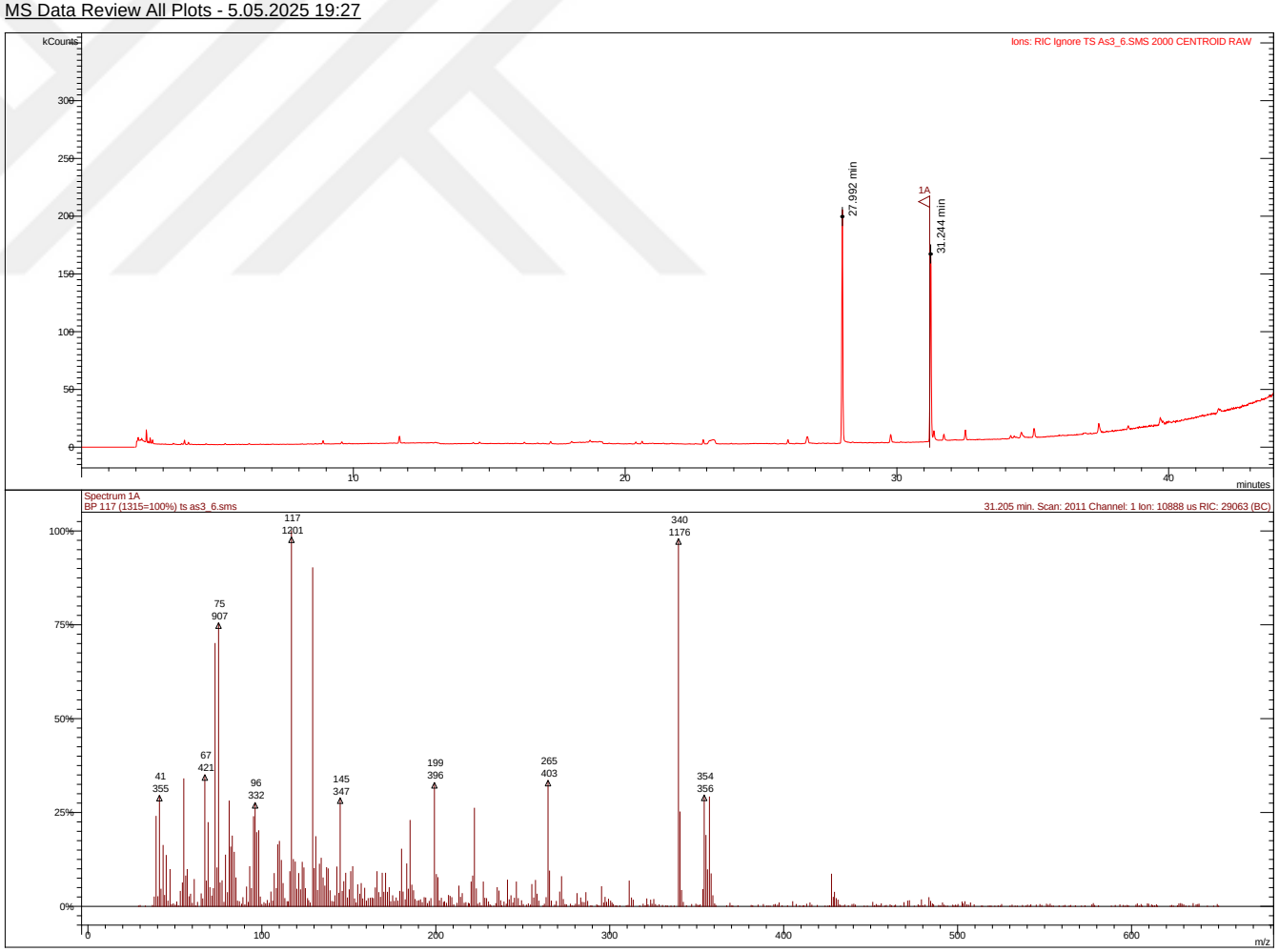
Pozisyon	Oleik asit ^{1}H-NMR (δ)	Palmitik asit ^{1}H-NMR (δ)
1	-	-
2	2,35 (*t*, *J*=7,51 Hz, 1H)	2,35 (*t*, *J*=7,5 Hz, 1H)
3	1,63 (*m*, *J* = 7,3 Hz, 2H)	1,63 (*m*, *J* = 7,3 Hz, 2H)
4	1,26 (*m*, 2H)	1,26; 1,31 (*m*)
5	1,29 (*m*, 2H)	1,26; 1,31 (*m*)
6	1,31 (*m*, 2H)	1,26; 1,31 (*m*)
7	1,29 (*m*, 2H)	1,26; 1,31 (*m*)
8	2,01 (*m*, 2H)	1,26; 1,31 (*m*)
9	5,35 (*m*, 1H)	1,26; 1,31 (*m*)
10	5,35 (*m*, 1H)	1,26; 1,31 (*m*)
11	2,01 (*m*, 2H)	1,26; 1,31 (*m*)
12	1,29 (*m*, 2H)	1,26; 1,31 (*m*)
13	1,31 (*m*, 2H)	1,26; 1,31 (*m*)
14	1,26 (*m*, 2H))	1,29 (2H, *m*)
15	1,31 (*m*, 2H)	1,30 (2H, *m*)
16	1,29 (*m*, 2H)	0,88 (*t*, *J*=6,81 Hz, 3H)
17	1,30 (*m*, 2H)	-
18	0,88 (*t*, *J*=6,8 Hz, 3H)	-



Şekil 3.97. TS.As.3.6 (6)'nın ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)

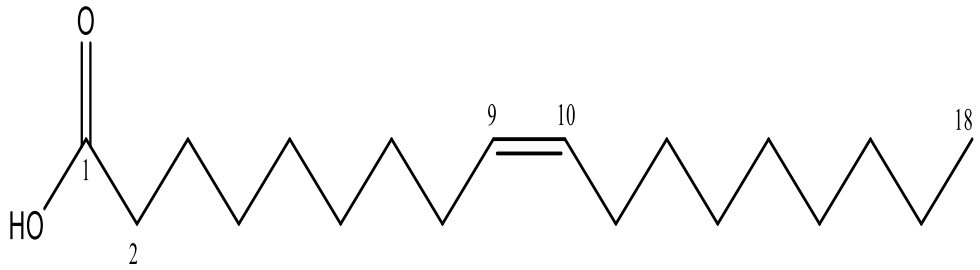


Şekil 3.98. TS.As.3.6 (6)'nın GC-MS kromatogramı (palmitik asit= 27,99.dk) ve kütle spektrumu



Şekil 3.99. TS.As.3.6 (6)'nın GC-MS kromatogramında (oleik asit= 31,24.dk) ve kütle spektrumu

*3.9.2.7. TS.As.3.7 (**7**) = Oleik asit*



Şekil 3.100. TS.As.3.7 (7)'nin yapısı

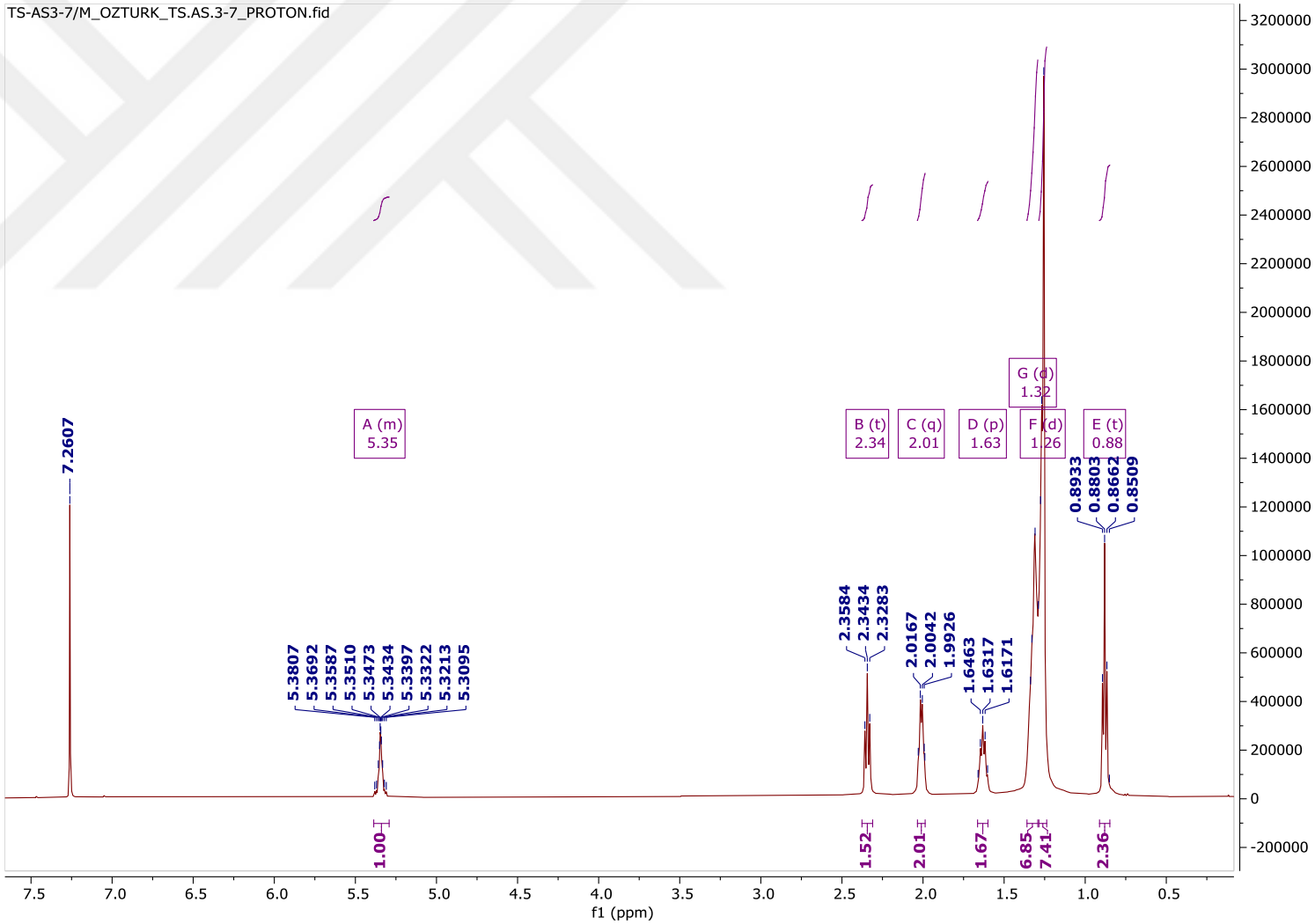
TS.As.3.7 **(7)** maddesi (1,82 mg) jelimsi olarak elde edildi (Şekil 3.100). İnce tabaka kromatografisinde UV 254 nm'de görünmeyen madde serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) kahverengi renk oluştuğu gözlendi.

^{1}H-NMR spektrumunda (CD_3OD, δ (ppm), 500 MHz) (Şekil 3.101) δ 2,34 (*t*, *J*=7,5 Hz, 2H, H-2) piki, 1,63 (*p*, *J*=7,3 Hz, 2H, H-3) ve δ 0,88 (*t*, *J*=6,8 Hz, 3H, H-18) pikleri yapının yağ asidi olduğunu andırdı. Bunlara ilavaten δ 5,35 (*m*, 1H, H-9; H-10) ppm'de rezonans olan vinilik protonlar ve 2,01 (*q*, *J*=6,0 Hz, 2H, H-8 ve H-11) izlenmesi yapının doymamış yağ asidi olduğunu gösterdi. δ 1,26-1,31 arasında rezonans olan pikler sp^3 hibritleşmesi yapmış metilen protonlarına aittir.

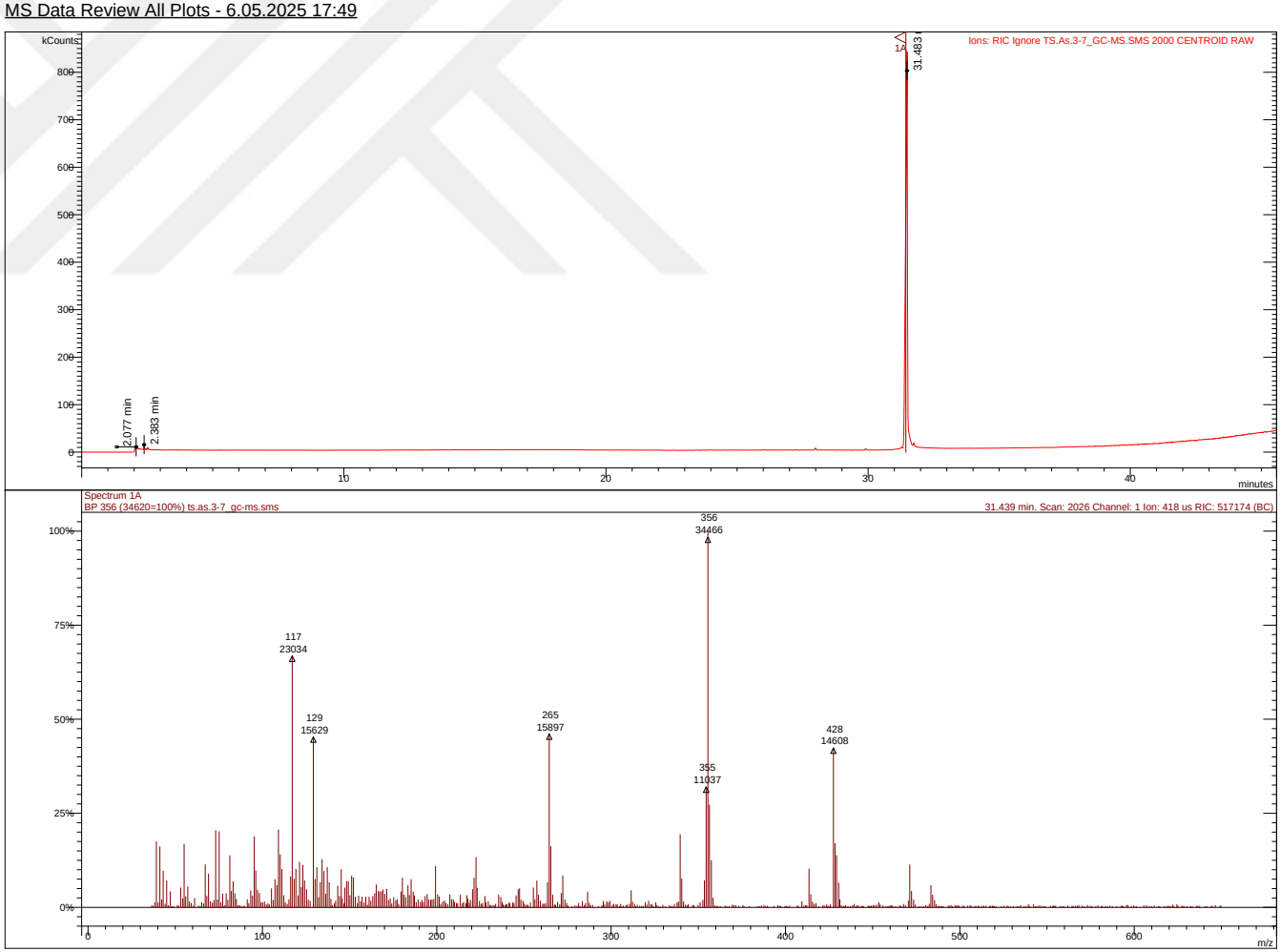
Yapının kesin tayini için TS.As.3.7 (**7**) silillenip GC-MS'e enjeksiyon yapıldı (Şekil 3.102). Silillenmiş maddenin 31,48 dk.'da elüe olduğu izlendi ve NİST2015 kütüphanesinden tarandığında oleik asit ile spektrumun çakıştığı izlendi. ^{1}H-NMR spektrumu ve GC-MS sonuçlarına göre TS.As.3.7 (**7**) maddesinin yapısı oleik asit (Şekil 3.100) olarak belirlendi (Davis vd, 1999 Schaefer, 1974). NMR spektral verileri Çizelge 3.20'de verilmektedir.

Çizelge 3.20. TS.As.3.7 (7)'nin NMR spektral değerleri

Pozisyon	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	C	-
2	CH_2	2,34 (*t*, *J*=7,5 Hz, 2H)
3	CH_2	1,63 (*p*, *J* = 7,3 Hz, 2H)
4	CH_2	1,32 (*m*, 2H)
5	CH_2	1,26 (*m*, 2H)
6	CH_2	1,32 (*m*, 2H)
7	CH_2	1,29 (*m*, 2H)
8	CH_2	2,01 (*q*, *J*=6,0 Hz, 2H)
9	CH_2	5,35 (*m*, 1H)
10	CH_2	5,35 (*m*, 1H)
11	CH_2	2,01 (*m*, *J*=6,0 Hz, 2H)
12	CH_2	1,25 (*m*, 2H)
13	CH_2	1,30 (*m*, 2H)
14	CH_2	1,30 (*m*, 2H)
15	CH_2	1,25 (*m*, 2H)
16	CH_2	1,26 (*m*, 2H)
17	CH_2	1,26 (*m*, 2H)
18	CH_3	0,88 (*t*, *J*=6,8 Hz, 3H)

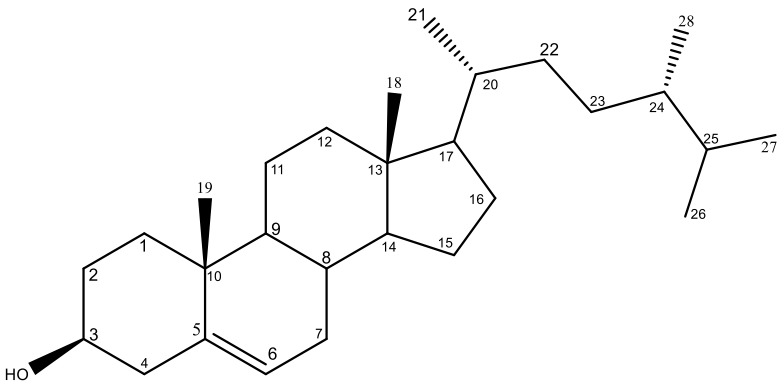


Şekil 3.101. TS.As.3.7 (7)'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)



Şekil 3. 102. TS.As.3.7 (7)'nin GC-MS kromatogramı (Oleik asit= 31,48.dk) ve kütle spektrumu

*3.9.2.8. TS.As.3.8 (**8**) = 3β-hidroksi ergosterol-5-en*



Şekil 3.103. TS.As.3.8 (8)'in yapısı

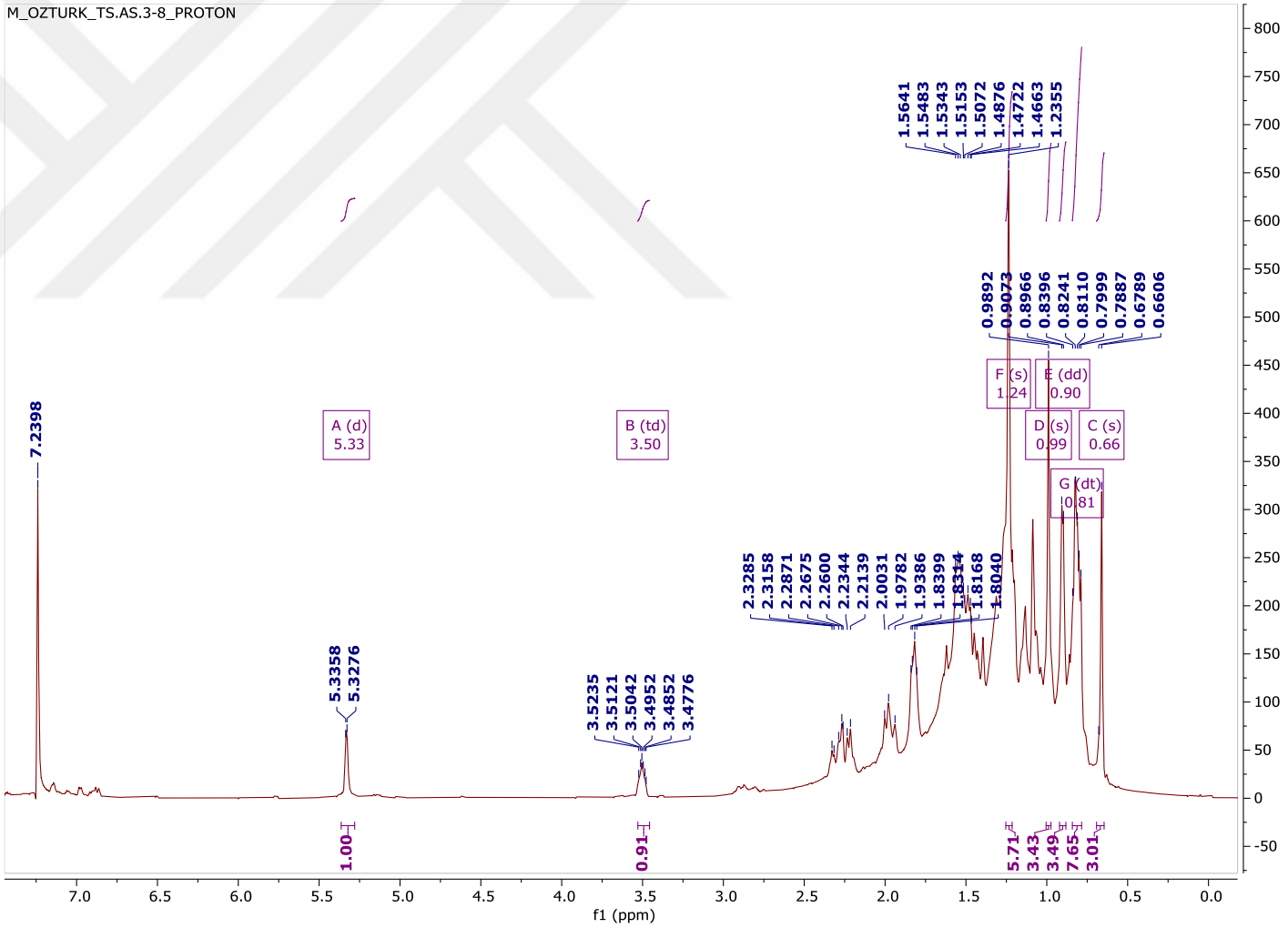
Beyaz renkli olan TS.As.3.8 (**8**) (1,1 mg) amorf halde elde edildi (Şekil 3.103). Silikajel plakta UV lamba (254 nm) altında görünen madde seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu kahverengi renk aldı. TS.As.3.8 (**8**) bileşiğin yapısı ^{1}H-NMR (Şekil 3.104) spektrumu ve TS.As.3.9 (**9**)'un spektroskopik (^{1}H-NMR, APT, HSQC, HMBC, COSY) spektrumları ile birlikte aydınlatıldı.

^{1}H-NMR ($CDCI_3$, δ (ppm), 500 MHz), (Şekil 3.104). δ 0,66 (*s*, H-18, 3H) ve 0,99 (*s*, H-19, 3H) ile δ 0,82 (*d*, *J*= 6,0 Hz, H-27, 3H), δ 0,81 (*d*, *J*= 6,0 Hz, H-26, 3H), δ 0,90 (*d*, *J*= 6,4 Hz, H-28, 3H) ve δ 0,91 (*d*, *J*= 6,4 Hz, H-21, 3H) ppm'de rezonans olan pikler karakteristik ergostan tipi steroid'e ait 6 adet metil pikidir. δ 5,33 (*t*, *J*= 4,9 Hz, H-6, 1H) ppm ile δ 3,50 (*m*, H-3, 1H) ppm'de rezonans olan pikler ergostan tipi bir steroidin yapısı ile bütünleştirdi. δ 3,50 (*m*, H-3, 1H) ppm'de rezonans olan pik C-3 pozisyonunda hidrojenin α konumunda olduğunu göstermektedir. Bu maddenin TS.As.3.9 (**9**) ile farkı δ 5,17 ve 5,12 ppm'de rezonans olan vinilik karbon piklerinin olmamasıdır. Diğer hidrojen piklerinin kimyasal kaymaları TS.As.3.9 (**9**) ile örtüşmektedir.

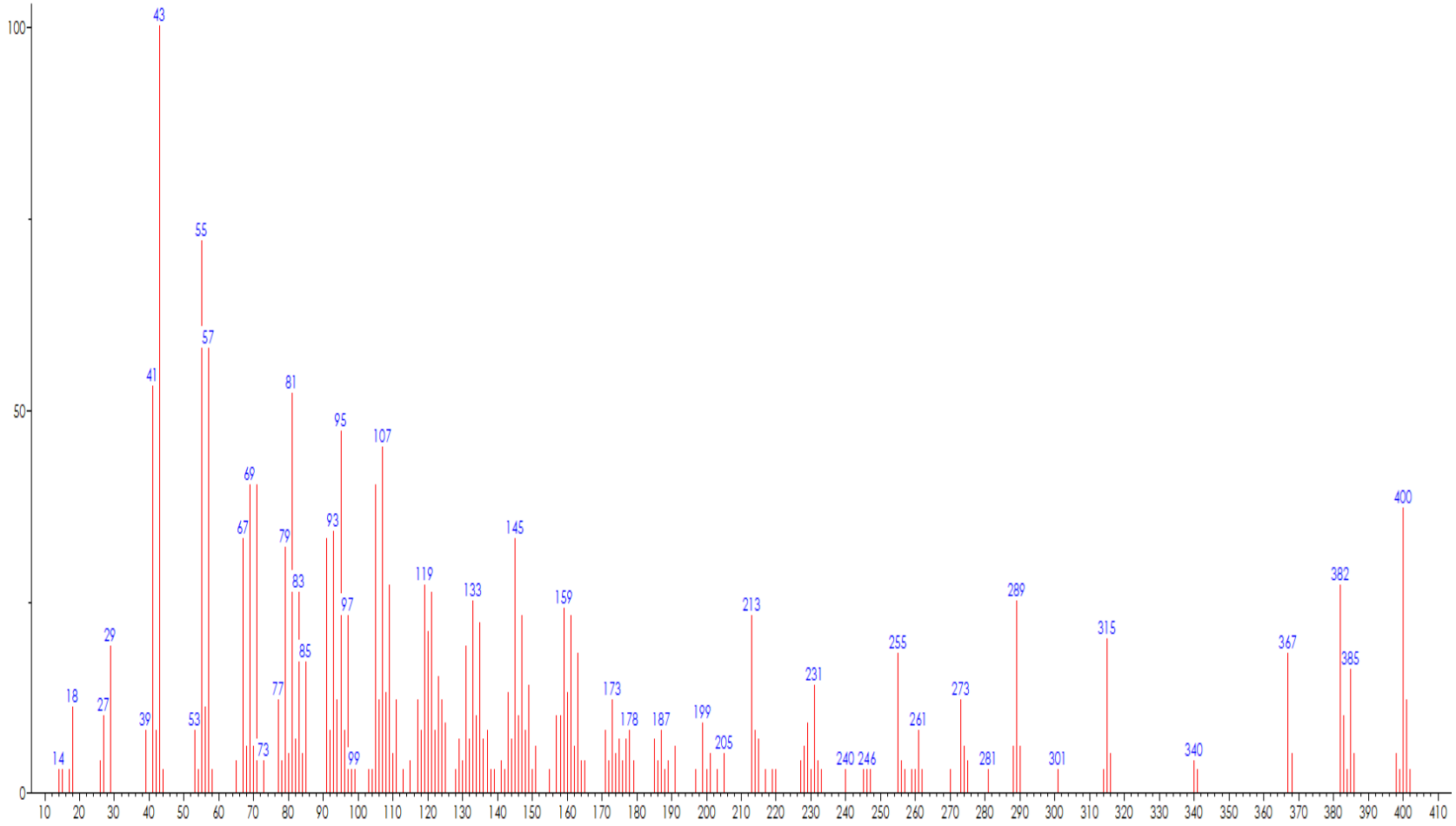
Kütle spektrumunda (Şekil 3.105) molekül iyon piki *m/z* 400'de $[M]^+$ pikidir. *m/z* 385 $[M\text{-}CH_3]^+$, *m/z* 382 $[M\text{-}H_2O]^+$ ve *m/z* 255 pikleri karakteristik steroid pikleridir. ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR etkileşimlerinin literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında yapının 3*β*-hidroksi ergosterol-5-en (kampesterol) olduğu belirlendi. TS.As.3.8 (**8**) bileşiği daha önce *Riceberry* ekstraktından izole edilmiştir (Suttiarporn vd, 2015). ^{1}H-NMR değerleri Çizelge 3.21'de verilmektedir.

Çizelge 3.21. TS.As.3.8 (8)'in NMR spektral değerleri

Pozisyon	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	CH_2	1,06 (*m*, 1H); 1,84 (*m*, 1H)
2	CH_2	1,44 (*m*, 1H); 1,81 (*m*, 1H)
3	CH	3,50 (*m*, 1H)
4	CH_2	2,26 (*m*, 1H); 2,21 (*m*, 1H)
5	C	
6	CH	5,33 (*t*, *J* = 4,9 Hz, 1H)
7	CH_2	1,96 (*m*, 1H); 1,91 (*m*, 1H)
8	CH	1,46 (*m*, 1H)
9	CH	0,91 (*m*, 1H)
10	C	
11	CH_2	1,42 (*m*, 1H); 1,47 (*m*, 1H)
12	CH_2	1,15 (*m*, 1H); 1,97 (*m*, 1H)
13	C	
14	CH	0,98 (*m*, 1H)
15	CH_2	1,01 (*m*, 1H); 1,52 (*m*, 1H)
16	CH_2	1,22 (*m*, 1H); 1,64 (*m*, 1H)
17	CH	1,09 (*m*, 1H)
18	CH_3	0,66 (*s*, 3H)
19	CH_3	0,99 (*s*, 3H)
20	CH	1,97 (*m*, 1H)
21	CH_3	0,91 (*d*, *J* = 6,4 Hz, 3H)
22	CH_2	1,08 (*m*, 1H); 1,31 (*m*, 1H)
23	CH_2	1,15 (*m*, 1H); 1,46 (*m*, 1H)
24	CH	1,83 (*m*, 1H)
25	CH	1,41 (*m*, 1H)
26	CH_3	0,81 (*d*, *J* = 6,0 Hz, 3H)
27	CH_3	0,82 (*d*, *J* = 6,0 Hz, 3H)
28	CH_3	0,90 (*d*, *J* = 6,4 Hz, 3H)

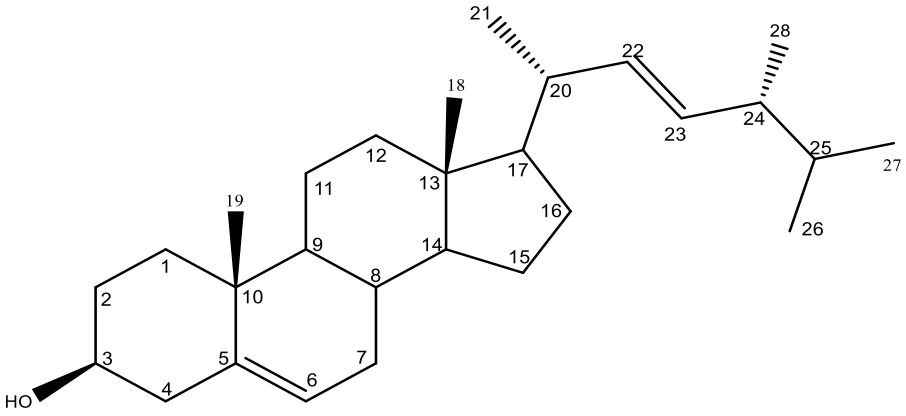


Şekil 3.104. TS.As.3.8 (8)'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)



Şekil 3.105. TS.As.3.8 (8)'in kütle spektrumu

3.9.2.9. TS.As.3.9.(9) = Ergosta-5,22-dien 3β-ol



Şekil 3.106. TS.As.3.9.(9)'un yapısı

Beyaz renkli olan TS.As.3.9 (**9**) (5,42 mg) amorf halde elde edildi (Şekil 3.106). Silikajel plakta UV lamba (254 nm) altında görülen madde seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu kahverengi renk aldı. TS.As.3.9 (**9**) bileşiğin yapısı ^{1}H-NMR (Şekil 3.107) ve ^{13}C-NMR (Şekil 3.108), DEPT (Şekil 3.109), COSY (Şekil 3.110), HSQC (Şekil 3.111), HMBC (Şekil 3.112) spektrumları ile aydınlatıldı.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δ (ppm), 500MHz) δ 0,67 (*s*, H-18, 3H) ve 0,99 (*s*, H-19, 3H) ile δ 0,82 (*d*, *J*= 6,7 Hz, H-27, 3H), δ 0,80 (*d*, *J*= 6,8 Hz, H-26, 3H), δ 0.88 (*d*, *J*= 6,6 Hz, H-28, 3H) ve δ 0,98 (*d*, *J*= 6,65 Hz, H-21, 3H) ppm'de rezonans olan pikler karakteristik ergostan tipi steroide aittir. δ 5,33 (*t*, *J*= 2,4 Hz, H-6, 1H) ppm ile δ 5,16 (*dd*, *J*= 15,2; 8,3 Hz, H-22, 1H) ve δ 5,14 (*dd*, *J*= 15,2; 8,9 Hz, H-23, 1H) ve δ 3,52 (*m*, H-3, 1H) ppm'de rezonans olan pikler ergostan tipi bir steroidi andırdı. δ 3,52 (*m*, H-3, 1H) ppm'de rezonans olan pik C-3 pozisyonunda hidrojenin α konumunda olduğuna işaret etmektedir.

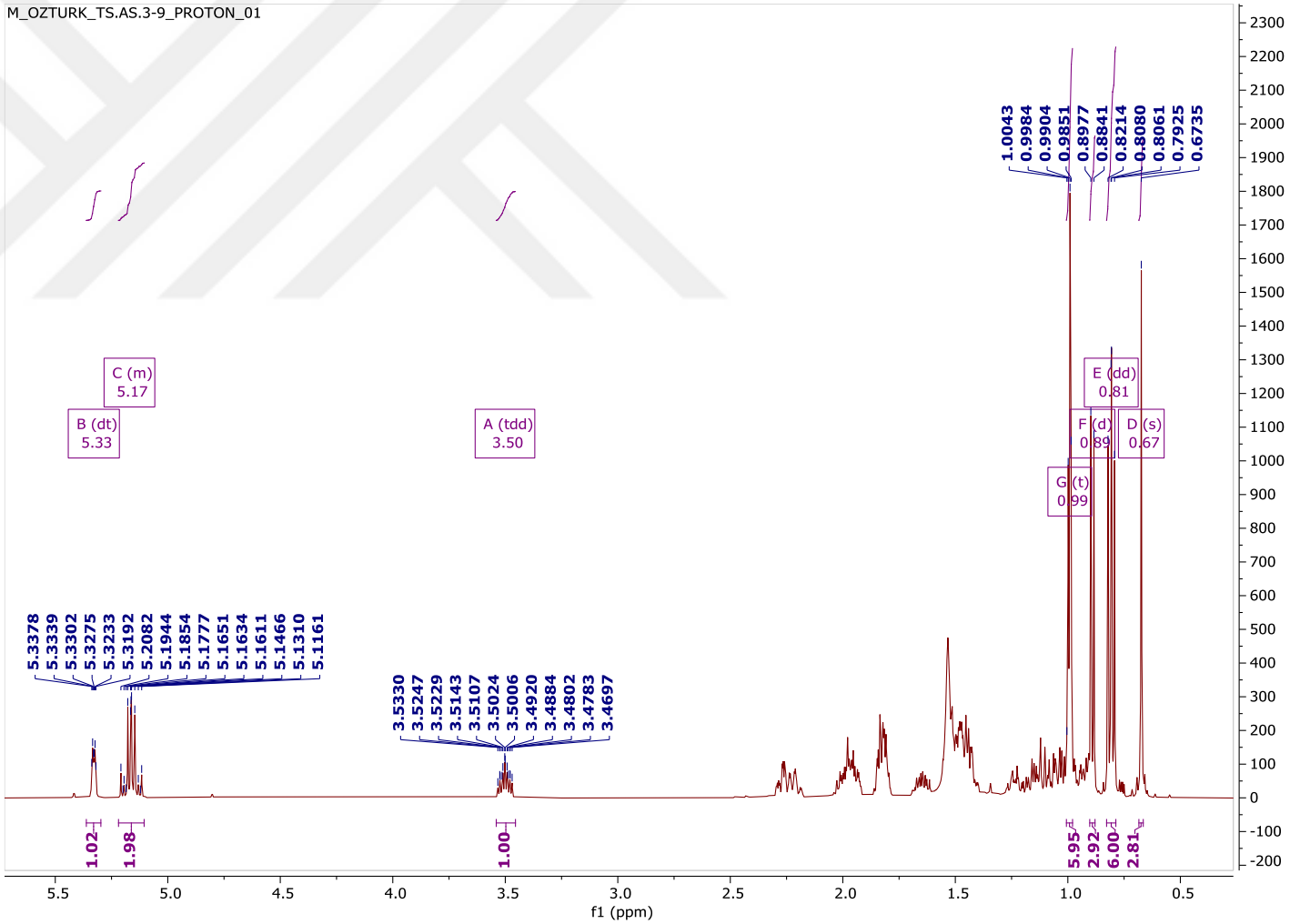
^{13}C-NMR ($CDCl_3$, δ (ppm), 125 MHz), DEPT ve HSQC spektrumları birlikte değerlendirildiğinde 6 metil, 8 metilen, 11 metin ve 3 katerner karbon belirlendi. δ 140,8 (C-5), 135,9 (C-22), 131,8 (C-23) ve 121,8 (C-6) ppm'de rezonan s olan pikler sp^2 hibritleşmesi yapan karbonlara aittir. δ 71,9 (C-3), 56,1 (C-17), 56,9 (C-14) ve 50,1 (C-9) ppm'de rezonans olan pozisyonlarındaki karbonlara aittir. δ 21,1 (C-21), 19,5 (C-26), 19,7 (C-27), 20,0 (C-19), 17,7 (C-28) ve 12,1 (C-18), ppm'de rezonans olan pikler molekülde bulunan 6 adet metil sinyalidir.

Kütle spektrumunda (Şekil 3.113) molekül iyon *m/z* 398 $[M]^+$ pikidir. *m/z* 383 $[M-CH_3]^+$, *m/z* 380 $[M-H_2O]^+$ ve *m/z* 255 pikleri karakteristik ergostan tipi steroide aittir.

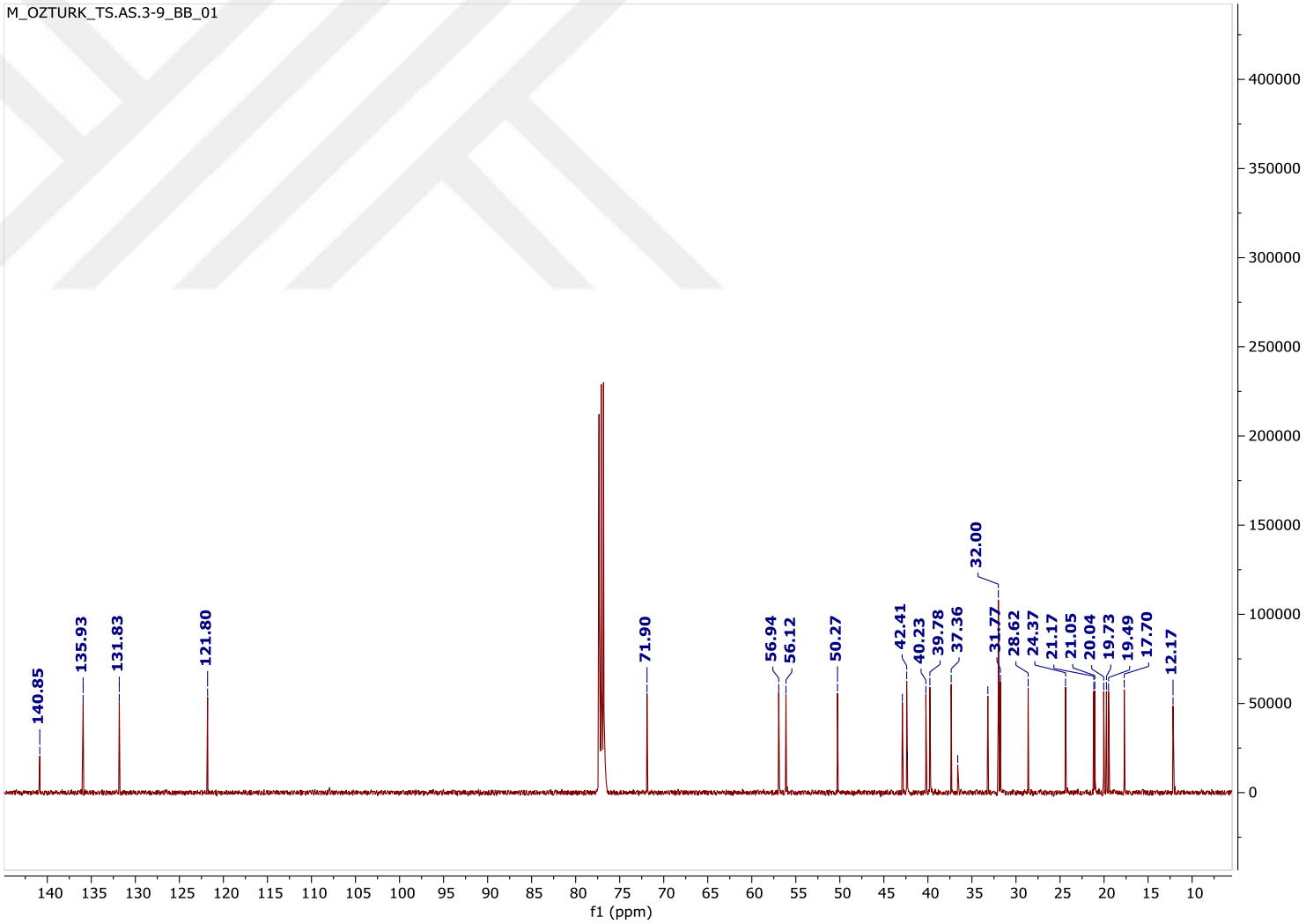
^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR etkileşimlerinin literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında TS.As.3.9 (**9**) bileşiğinin yapısı ergosta-5,22-dien 3*β-ol* olduğu belirlendi (Bankova vd, 1995). TS.As.3.9 (**9**) bileşiğinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR değerleri Çizelge 3.22'de verilmektedir.

Çizelge 3.22. TS.As.3.9 (9)'un NMR spektral değerleri

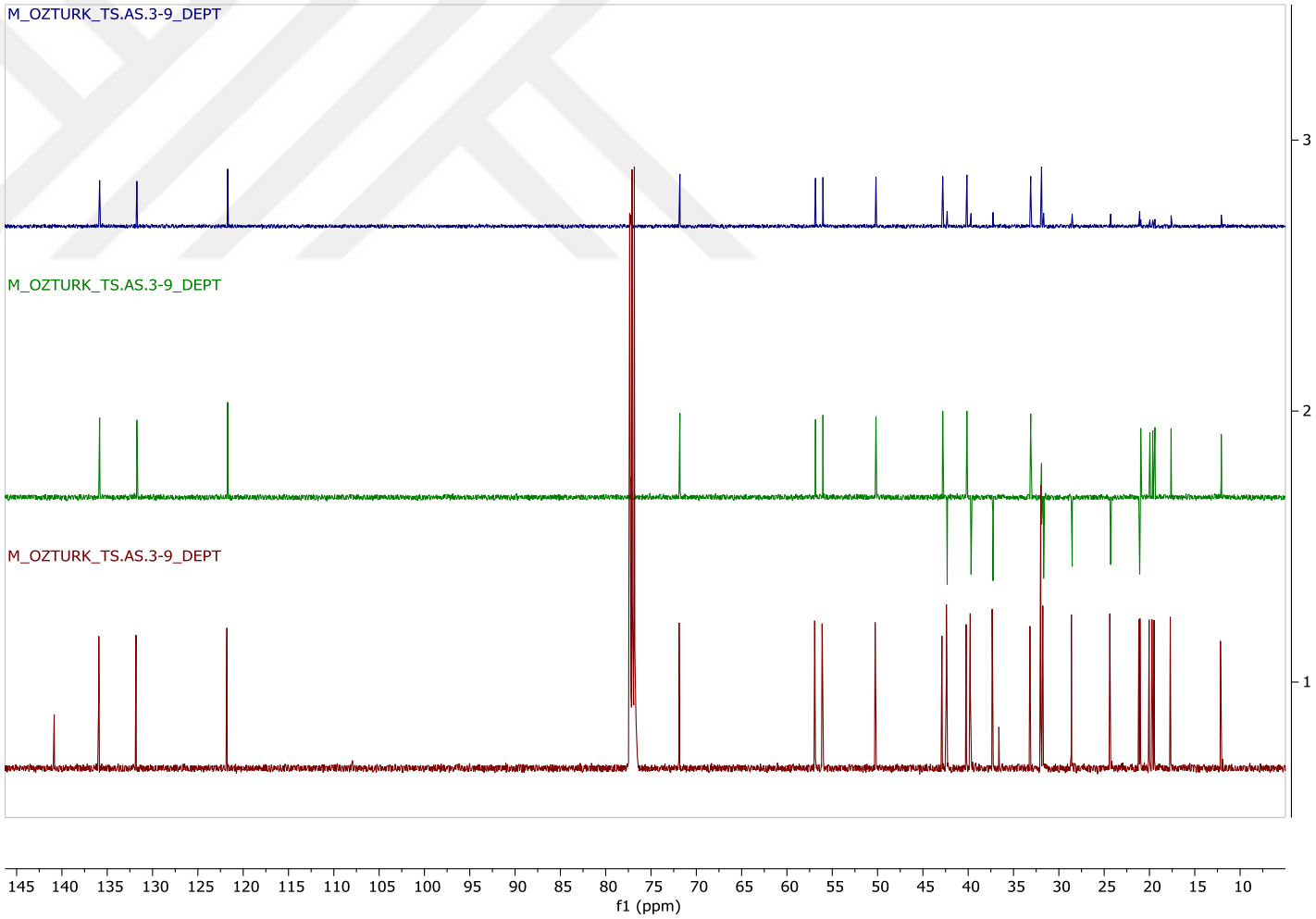
Pozisyon	^{13}C-NMR(δ)	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	37,4	CH_2	1,06 (*m*, 1H); 1,83 (*m*, 1H)
2	31,6	CH_2	1,46 (*m*, 1H); 1,81 (*m*, 1H)
3	71,9	CH	3,52 (*m*, 1H)
4	42,3	CH_2	2,26 (*m*, 1H); 2,21 (*m*, 1H)
5	140,8	C	
6	121,8	CH	5,33 (*t*, *J* = 2.4 Hz, 1H)
7	31,9	CH_2	1,96 (*m*, 1H); 1,91 (*m*, 1H)
8	32,0	CH	1,44 (*m*, 1H)
9	50,1	CH	0,91 (*m*, 1H)
10	36,6	C	
11	21,2	CH_2	1,42 (*m*, 1H); 1,47 (*m*, 1H)
12	39,8	CH_2	1,15 (*m*, 1H); 1,98 (*m*, 1H)
13	42,4	C	
14	56,9	CH	0,98 (*m*, 1H)
15	24,7	CH_2	1,01 (*m*, 1H); 1,52 (*m*, 1H)
16	28,6	CH_2	1,22 (*m*, 1H); 1,64 (*m*, 1H)
17	56,1	CH	1,11 (*m*, 1H)
18	12,1	CH_3	0,67 (*s*, 3H)
19	20,0	CH_3	0,99 (*s*, 3H)
20	40,2	CH	1,97 (*m*, 1H)
21	21,1	CH_3	0,98 (*d*, *J* = 6,65 Hz, 3H)
22	135,9	CH	5,16 (*dd*, *J* = 15,2; 7,1 Hz, 1H)
23	131,8	CH	5,16 (*dd*, *J* = 15,2; 7,1 Hz, 1H)
24	42,4	CH	1,83 (*m*, 1H)
25	33,2	CH	1,42 (*m*, 1H)
26	19,7	CH_3	0,80 (*d*, *J*=6,8 Hz, 3H)
27	19,5	CH_3	0,82 (*d*, *J*=6,7 Hz, 3H)
28	17,7	CH_3	0,88 (*d*, *J*=6,8 Hz, 3H)



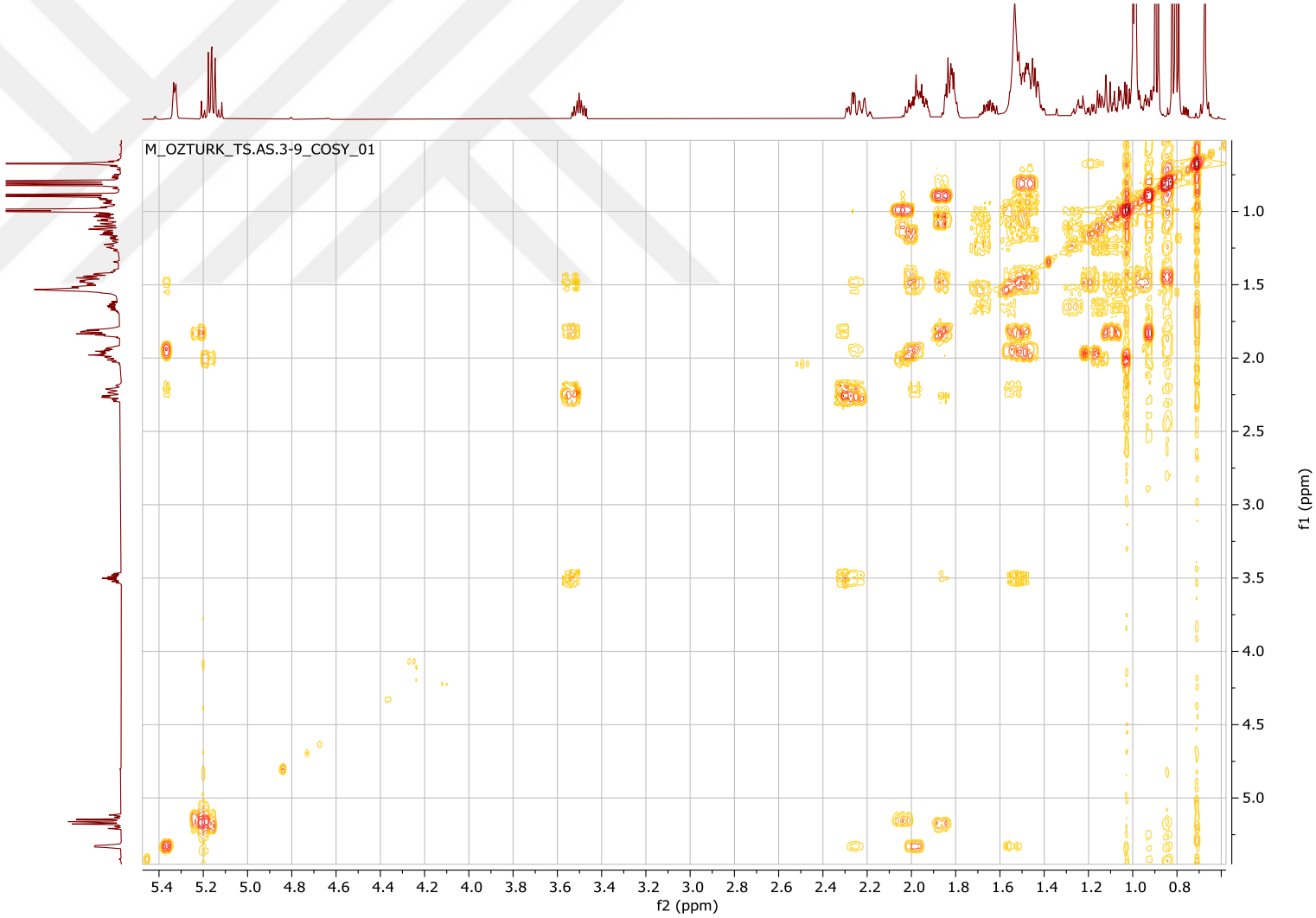
Şekil 3.107. TS.As.3.9.(9)'un ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)



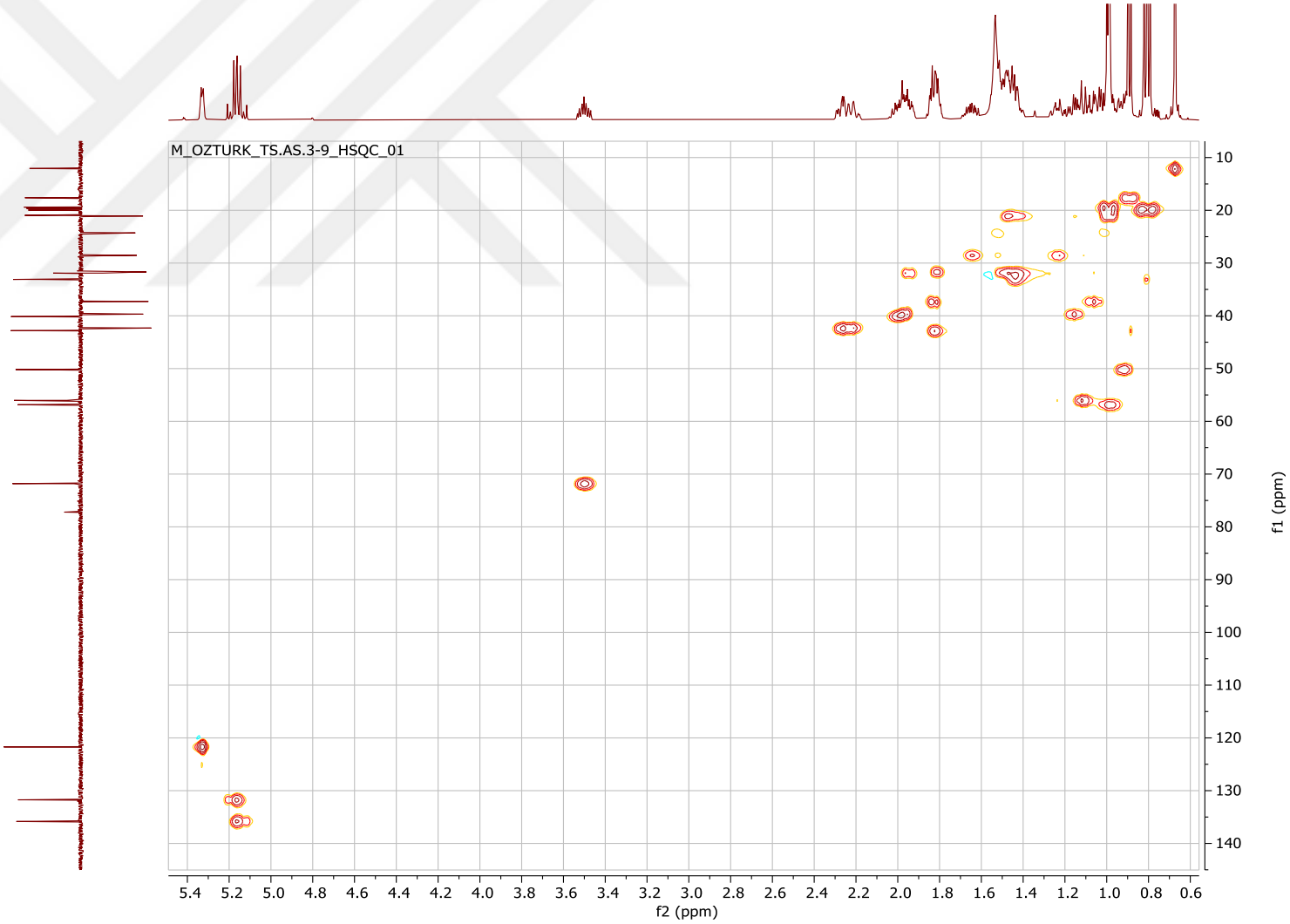
Şekil 3.108. TS.As.3.9 (9)'un ^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 125 MHz)



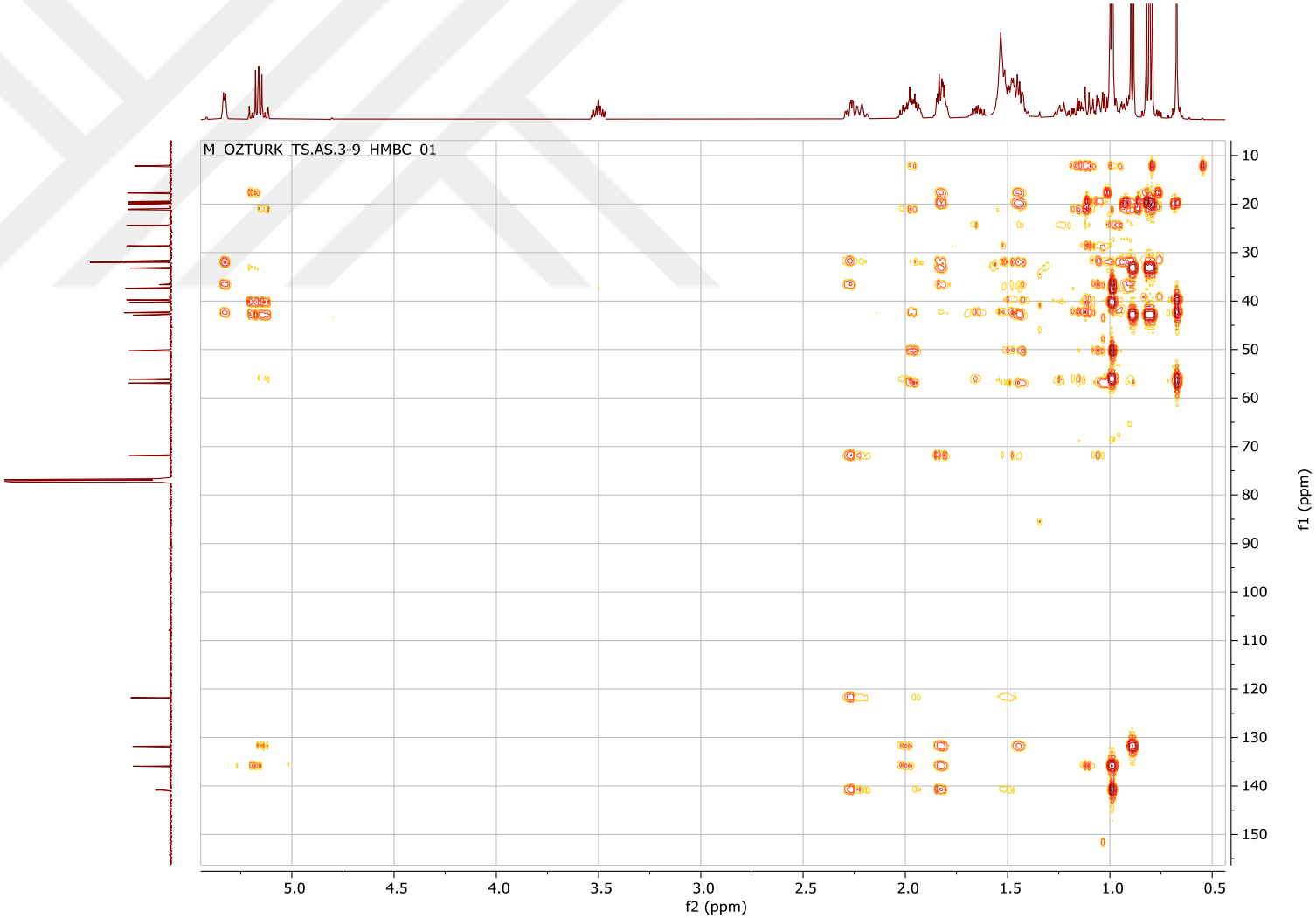
Şekil 3.109. TS.As.3. 9 (9)'un DEPT spektrumu



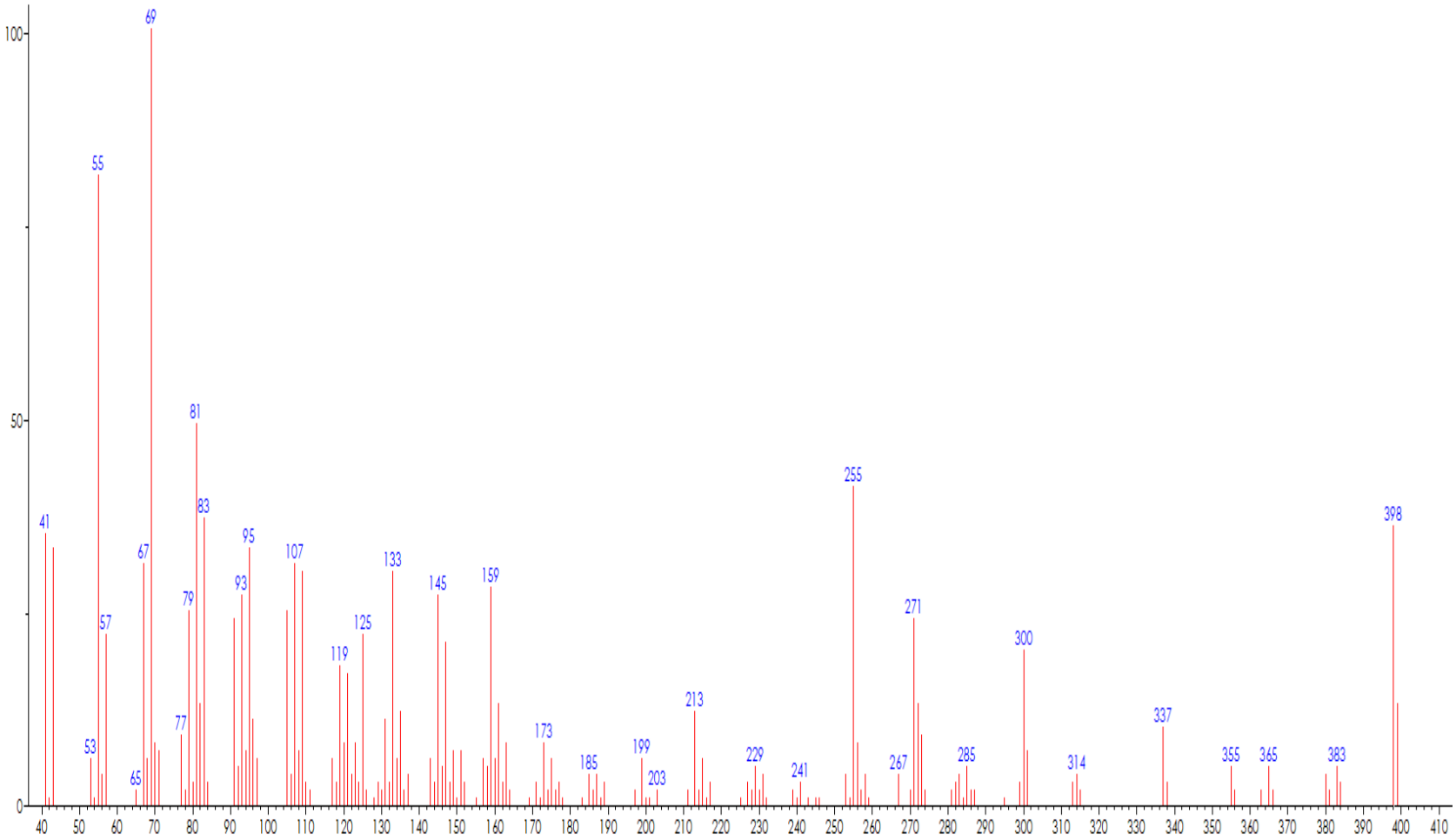
Şekil 3.110. TS.As.3.9 (9)'un COSY spektrumu



Şekil 3.111. TS.As.3.9 (9)'un HSQC spektrumu

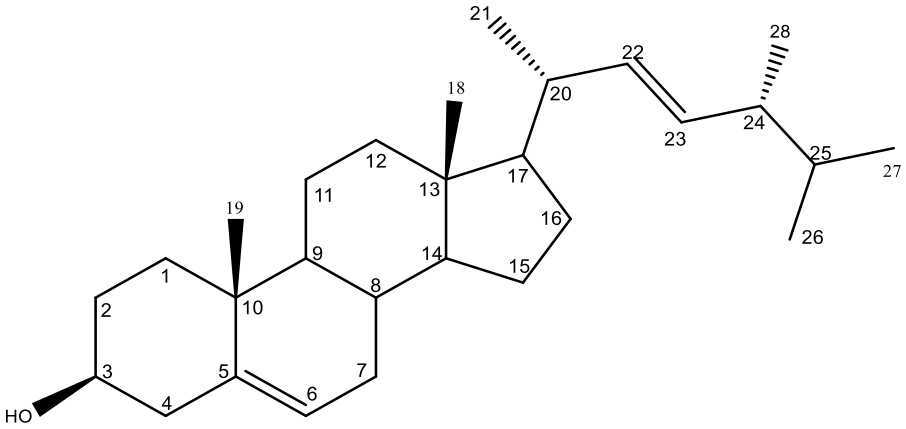


Şekil 3.112. TS.As.3.9 (9)'un HMBC spektrumu



Şekil 3.113. TS.As.3.9 (9)'un kütle spektrumu

*3.9.2.10. TS.As.3.10 (**10**) = Ergosta-5,22-dien 3β-ol*



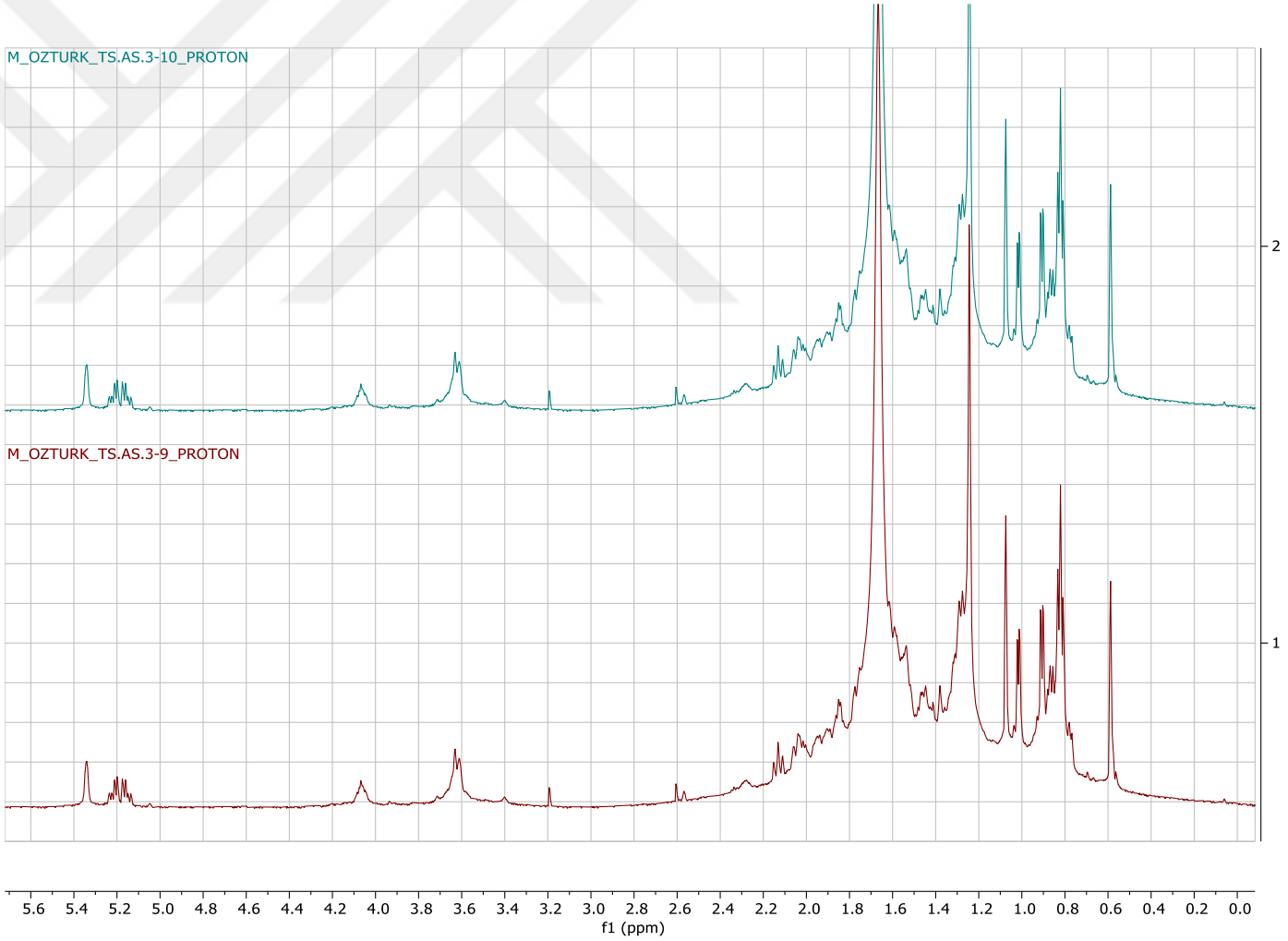
Şekil 3.114. TS.As.3.10 (10)'un yapısı

Beyaz renkli olan TS.As.3.10 (**10**) (5,31 mg) maddesi amorf halde elde edildi. (Şekil 3.114) Silika jel plakta UV lamba (254 nm) altında seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu kahverengi renk aldı.

Şekil 3.115'de TS.As.3.10 (**10**) ve TS.As.3.9 (**9**) maddelerinin ^{1}H-NMR spektrumları karşılaştırıldığında birebir benzerlik göstermesinden dolayı aynı kimyasal yapıda olduğunu düşünülmektedir. Bölüm 3.9.2.9.'da TS.As.3.9 **(9)** kodlu madde için verilen spektrumlar nedeniyle bu madde için tekrar spektrum konulmadı. Bu bileşiğin ^{1}H-NMR değerleri Çizelge 3.23.'de; ^{1}H-NMR, APT, HMBC ve EI-MS spektrumları Şekil 3.107.-3.113'de görülmektedir. TS.As.3.10 (**10**) bileşiğinin yapısı ergosta-5,22-dien 3*β-ol* olduğu belirlendi (Bankova vd, 1995).

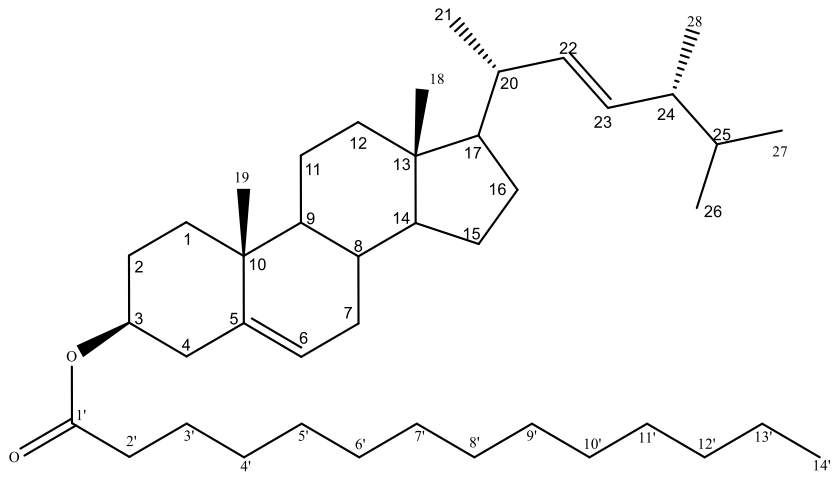
Çizelge 3.23. TS.As.3.10 (10)'nun NMR spektral değerleri

Pozisyon	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	CH_2	1,06 (*m*, 1H); 1,83 (*m*, 1H)
2	CH_2	1,46 (*m*, 1H); 1,81 (*m*, 1H)
3	CH	4,06 (*m*, 1H)
4	CH_2	2,26 (*m*, 1H); 2,21 (*m*, 1H)
5	C	
6	CH	5,34 (br, *s*, *J* = 2,4 Hz, 1H)
7	CH_2	1,96 (*m*, 1H); 1,91 (*m*, 1H)
8	CH	1,44 (*m*, 1H)
9	CH	0,91 (*m*, 1H)
10	C	
11	CH_2	1,42 (*m*, 1H); 1,47 (*m*, 1H)
12	CH_2	1,15 (*m*, 1H); 1,98 (*m*, 1H)
13	C	
14	CH	0,98 (*m*, 1H)
15	CH_2	1,01 (*m*, 1H); 1,52 (*m*, 1H)
16	CH_2	1,22 (*m*, 1H); 1,64 (*m*, 1H)
17	CH	1,11 (*m*, 1H)
18	CH_3	0,58 (*s*, 3H)
19	CH_3	1,07 (*s*, 3H)
20	CH	1,97 (*m*, 1H)
21	CH_3	1,02 (*d*, *J* = 6,65 Hz, 3H)
22	CH	5,15 (*dd*, *J* = 15,2; 8,4 Hz, 1H)
23	CH	5,22 (*dd*, *J* = 15,2; 8,9 Hz, 1H)
24	CH	1,83 (*m*, 1H)
25	CH	1,42 (*m*, 1H)
26	CH_3	0,81 (*d*, *J*=6,8 Hz, 3H)
27	CH_3	0,82 (*d*, *J*=6,7 Hz, 3H)
28	CH_3	0,98 (*d*, *J*=6,8 Hz, 3H)



Şekil 3.115. TS.As.3.9 (9) ile TS.As.3.10 (10)'nun ^{1}H-NMR spektrumlarının karşılaştırılması ($CDCl_3$, 500 MHz)

*3.9.2.11. TS.As.3.11 (**11**) = Ergosta-5,22 dienil 3-O-β-tetradekanoat*



Şekil 3.116. TS.As.3.11 (11)'in yapısı

Beyaz renkli olan TS.As.3.11 (**11**) (3,0 mg) maddesi amorf halde elde edildi (Şekil 3.116). Silika jel plakta UV lamba (254 nm) altında görülen madde seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu kahverengi renk aldı. TS.As.3.11 (**11**) bileşiğin yapısı ^{1}H-NMR (Şekil 3.117) ve APT (Şekil 3.118), COSY (Şekil 3.119), HSQC (Şekil 3.120), HMBC (Şekil 3.121) ve kütle spektrumu (EI-MS) (Şekil 3.122) spektrumları ile aydınlatılmıştır. GC-MS (Şekil 3.123) yöntemi ile desteklenmiştir.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δ (ppm), 600 MHz) spektrumunda δ 0,66 (*s*, H-18), 0,99 (*s*, H-19), 1,00 (*s*, H-21), 0,80 (*d*, *J*= 6,7 Hz, H-26), 0,82 (*d*, *J*= 6,9 Hz, H-27), 0,88 (*d*, *J*= 6,7 Hz, H-28) ve 0,85 (*t*, *J*= 6,9 Hz, H-14') ppm'de 7 metil piki, δ 5,34 (br. *s*, H-6), 5,13 (*dd*, *J*= 15,8; 8,0 Hz, H-22), 5,17 (*dd*, *J*= 15,3; 7,0 Hz, H-23) ve δ 4,58 (*tt*, *J* = 10,9; 5,9 Hz, 1H, H-3) ppm'de rezonans olan metin piklerine aittir. δ 4,58 (*tt*, *J*= 10,9; 5,9 Hz, 1H, H-3) ppm'de rezonans olan pik H-3 hidrojenin bağlı olduğu karbona bağlı bir ester grubunun β bağlanmış olduğunu göstermektedir.

^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$, δ (ppm), 150 MHz) ve HSQC spektrumu ile birlikte değerlendirildiğinde 7 metil, 20 metilen, 11 metin ve 4 katerner karbon gözlendi. δ 173,2 (C-1') ppm'de karbonil sinyali gözlendi. δ 139,6 (C-5), 122,4 (C-6), 135,7 (C-22) ve 131,6 (C-23) ppm'de olefinik karbon sinyalleri, δ 11,9 (C-18), 19,2 (C-19),

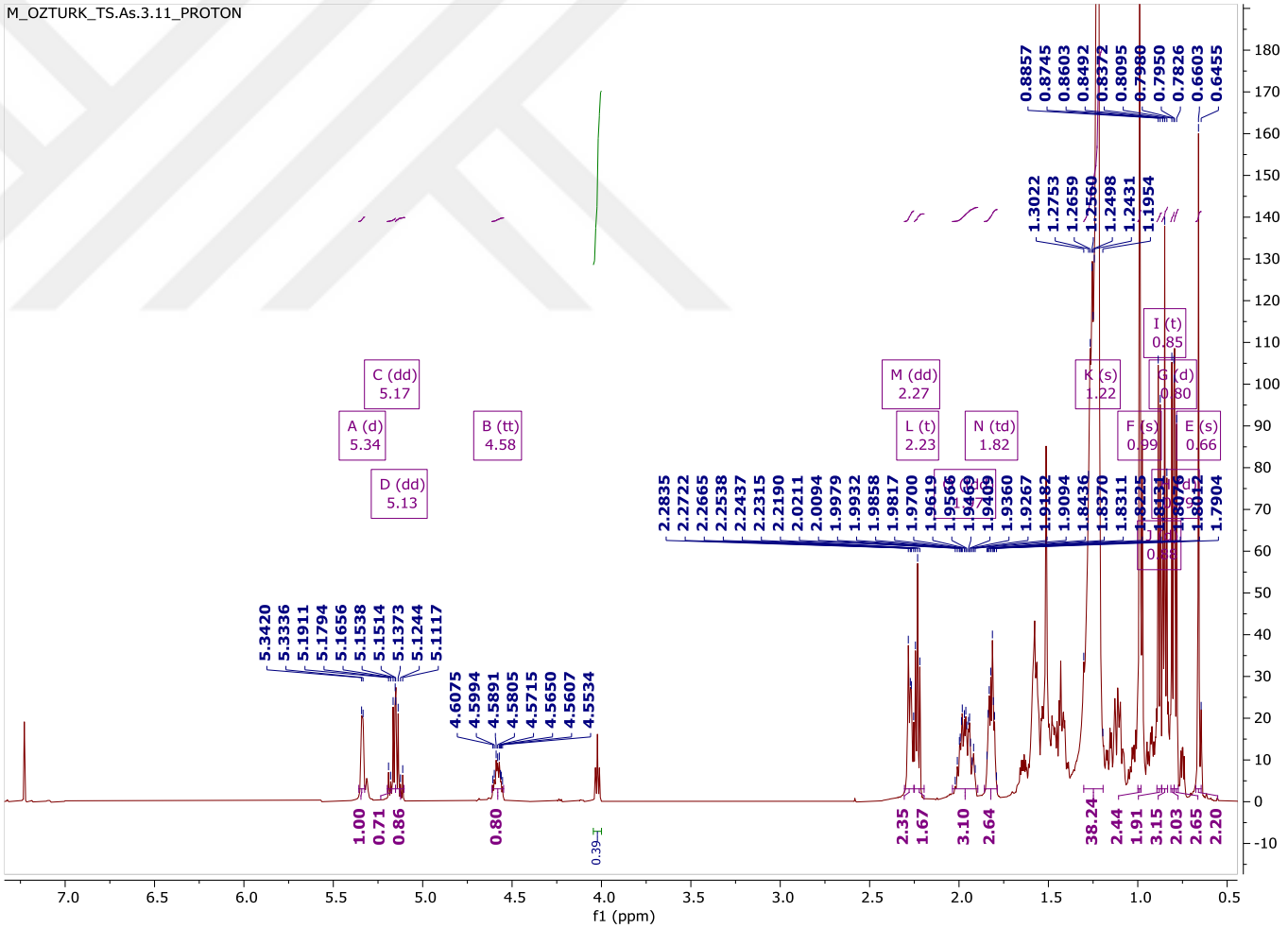
20,8 (C-21), 19,8 (C-26), 19,5 (C-27) ve 13,9 (C-14') ppm'de metil sinyallerine aittir. Yağ asitinde δ 22,5 (C-13'), 24,9 (C-3'), δ 31,7 (C-12') ve 34,7 (C-2') ppm'de metilen pikleri görülmektedir. Yapının 3 pozisyonundan bağlanan grup hariç aglikon kısmı TS.As.3.9 (**9**) verileriyle uyum içindedir (Li vd, 2014).

Kütle spektrumunda (EI-MS) (Şekil 3.122), moleküler iyon piki *m/z* 398 [M-$C_{14}H_{26}O]^+$ piki aglikona ait piktir Bileşik asit ile hidroliz edilip kurutulup, silillenip GC-MS'e verildiğinde NİST2015 kütüphanesi ile karşılaştırıldığında tetradekanoat olduğu belirlendi. Silillenmiş madde kromatogramda 24,02 dk'da görülmektedir.

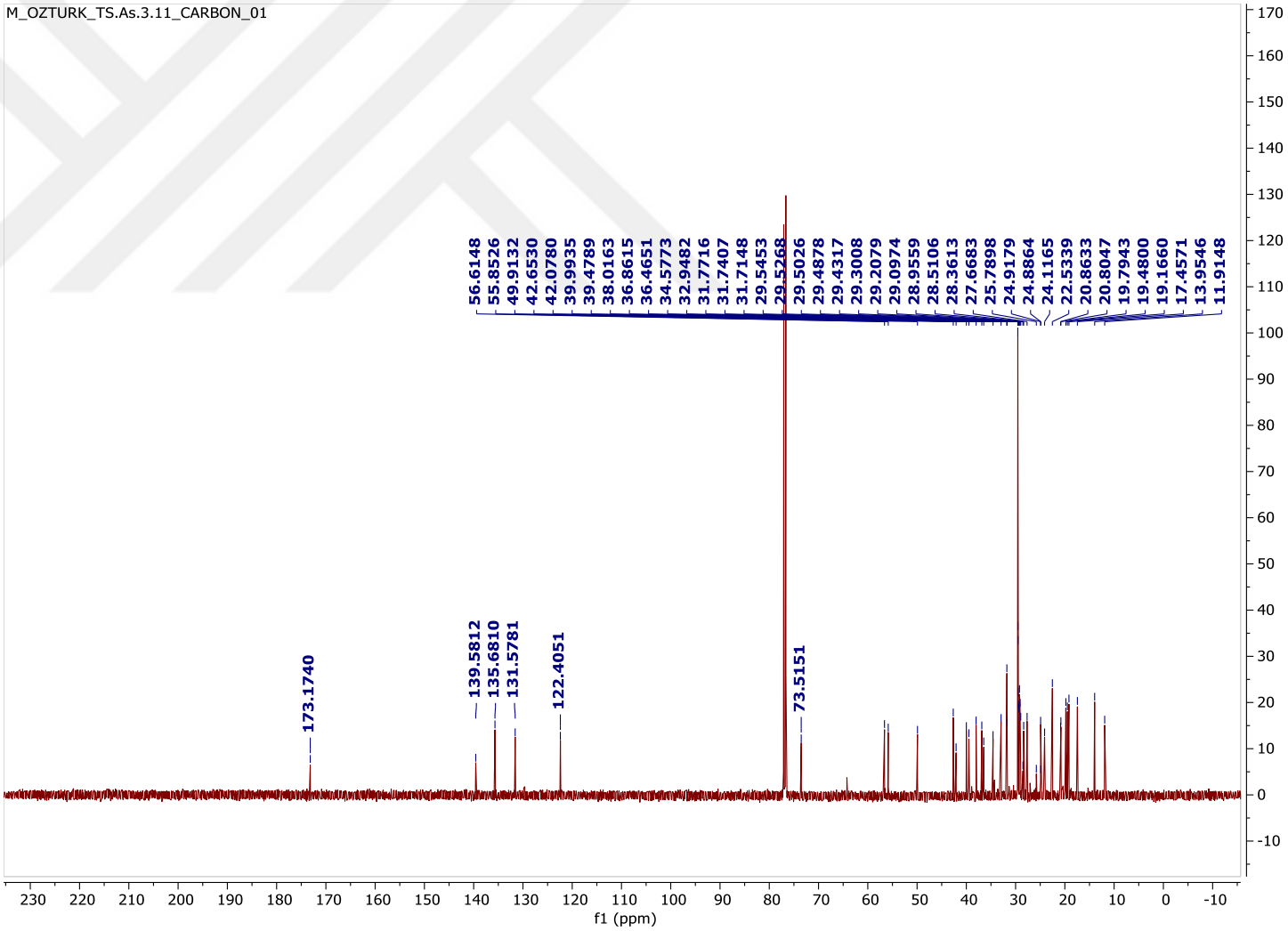
^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektrumları, kütle spektrumu ve GC-MS verileri ile literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında TS.As.3.11 (**11**) bileşiğinin yapısı ergosta-5,22 dien-il-3-*O*-*β*-tetradekanoat'dır. (Liv vd, 2014). Bileşiğin molekül formulü $C_{42}H_{73}O_2$ olduğu belirlendi. TS.As.3.11 (**11**) bileşiğinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR değerleri Çizelge 3.24'de verilmektedir.

Çizelge 3.24. TS.As.3.11 (11)'in NMR spektral değerleri

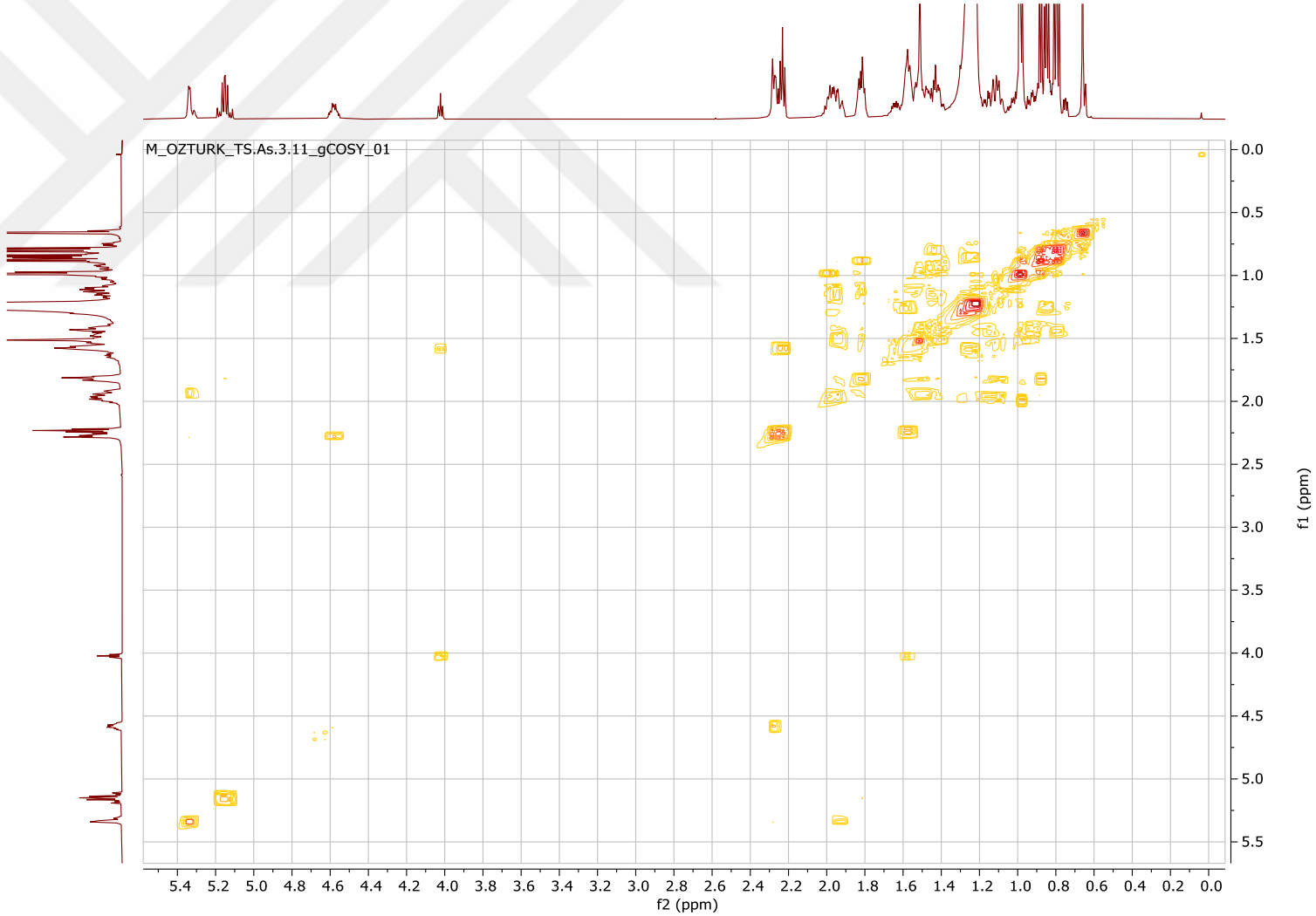
Pozisyon	^{13}C-NMR(δ)	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	34,6	CH_2	2,25 (*m*, 2H)
2	28,5	CH_2	1,13 (*m*, 1H); 1,84 (*m*, 1H)
3	73,5	CH	4,58 (*tt*, *J* = 10,9; 5,9 Hz, 1H)
4	38,0	CH_2	2,26 (*m*, 1H); 2,31 (*m*, 1H)
5	139,6	C	
6	122,4	CH	5,34 (*t*, *J* = 5,1 Hz, 1H)
7	31,8	CH_2	1,93 (*m*, 1H); 1,97 (*m*, 1H)
8	31,7	CH	1,43 (*m*, 1H)
9	49,9	CH	0,94 (*m*, 1H)
10	36,8	C	
11	20,8	CH_2	1,42 (*m*, 1H); 1,48 (*m*, 1H)
12	39,5	CH_2	1,17 (*m*, 1H); 1,96 (*m*, 1H)
13	42,6	C	
14	56,8	CH	1,00 (*m*, 1H)
15	24,9	CH_2	1,59 (*m*, 1H); 1,60 (*m*, 1H)
16	29,5	CH_2	1,57 (*m*, 1H); 1,84 (*m*, 1H)
17	55,8	CH	1,12 (*m*, 1H)
18	11,9	CH_3	0,66 (*s*, 3H)
19	19,2	CH_3	0,99 (*s*, 3H)
20	39,9	CH	2,01 (*m*, 1H)
21	20,8	CH_3	1,00 (*s*, 3H)
22	135,7	CH	5,13 (*dd*, *J* = 15,8; 8,0 Hz, 1H,)
23	131,6	CH	5,17 (*dd*, *J* = 15,3; 7,0 Hz, 1H)
24	42,7	CH	1,84 (*m*, 1H)
25	32,9	CH	1,45 (*m*, 1H)
26	19,8	CH_3	0,80 (*d*, *J*=6,7 Hz, 3H)
27	19,5	CH_3	0,82 (*d*, *J*=6,9 Hz, 3H)
28	17,5	CH_3	0,88 (*d*, *J*=6,7 Hz, 3H)
1'	173,3	C	
2'	34,7	CH_2	2,25 (*dd*, *J* = 10,7; 7,2 Hz, 2H)
3'	24,9	CH_2	1,24 (*m*, 1H); 1,59 (*m*, 1H)
4'	29,5	CH_2	1,25 (*m*, 2H)
4'-11'	29,1-29,5	CH_2	1,25-1,30 (*m*, 2H)
12'	31,7	CH_2	1,25 (*m*, 2H)
13'	22,5	CH_2	1,26 (*m*, 2H)
14'	13,9	CH_3	0,85 (*t*, *J* = 6,7 Hz, 3H)



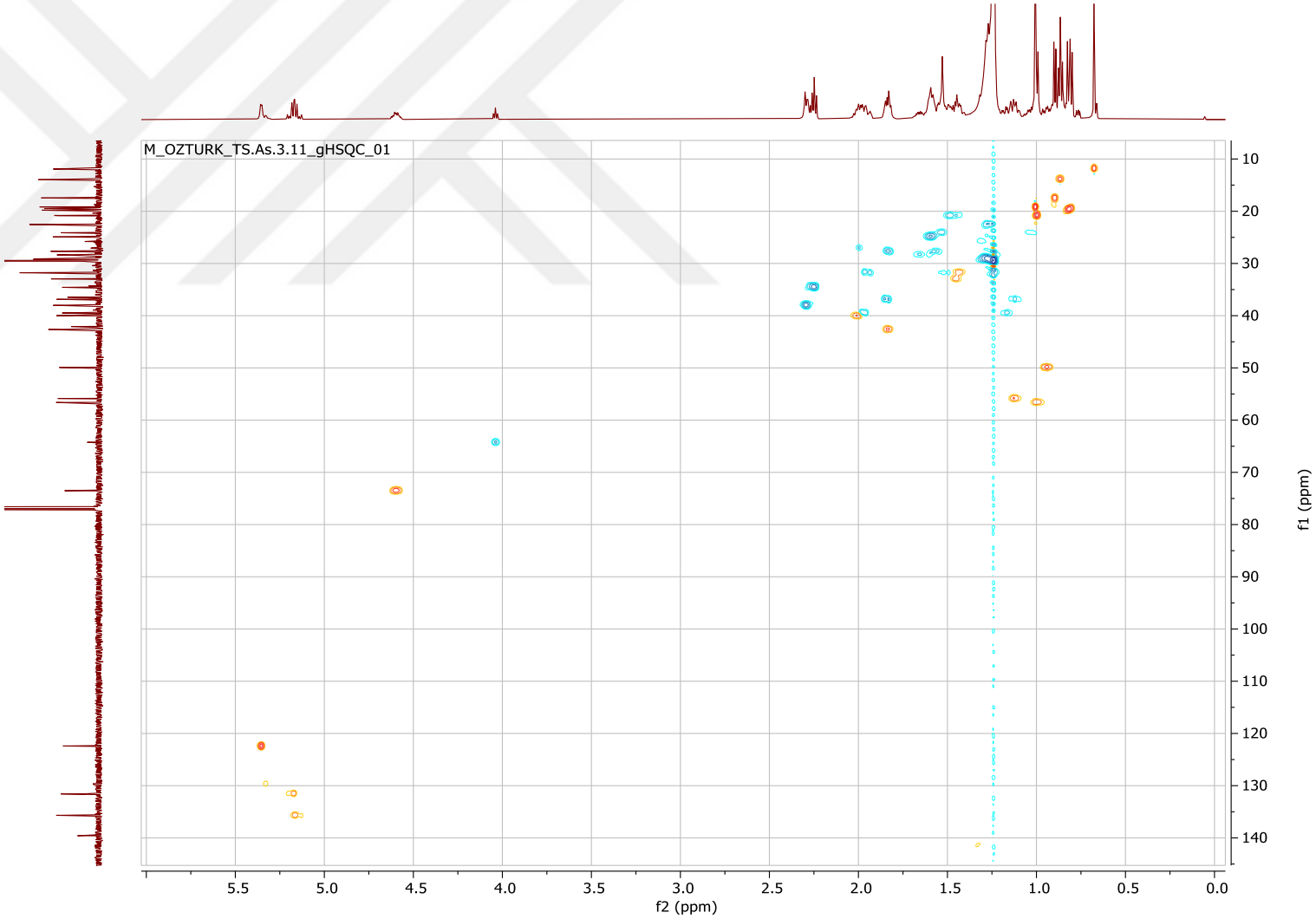
Şekil 3.117. TS.As.3.11 (11)'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 600 MHz)



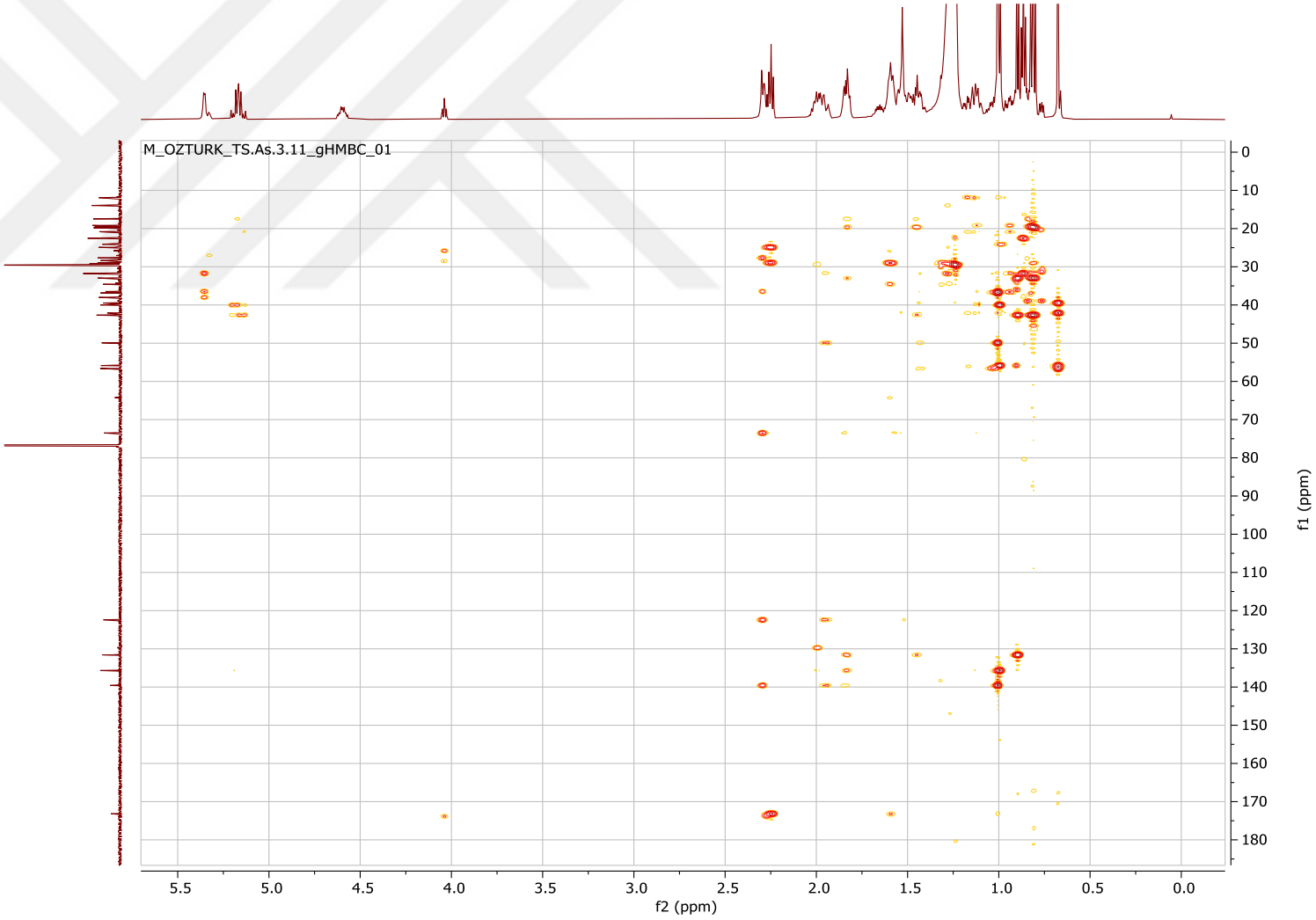
Şekil 3.118. TS.As.3.11 (11)'in APT spektrumu ($CDCl_3$, 150 MHz)



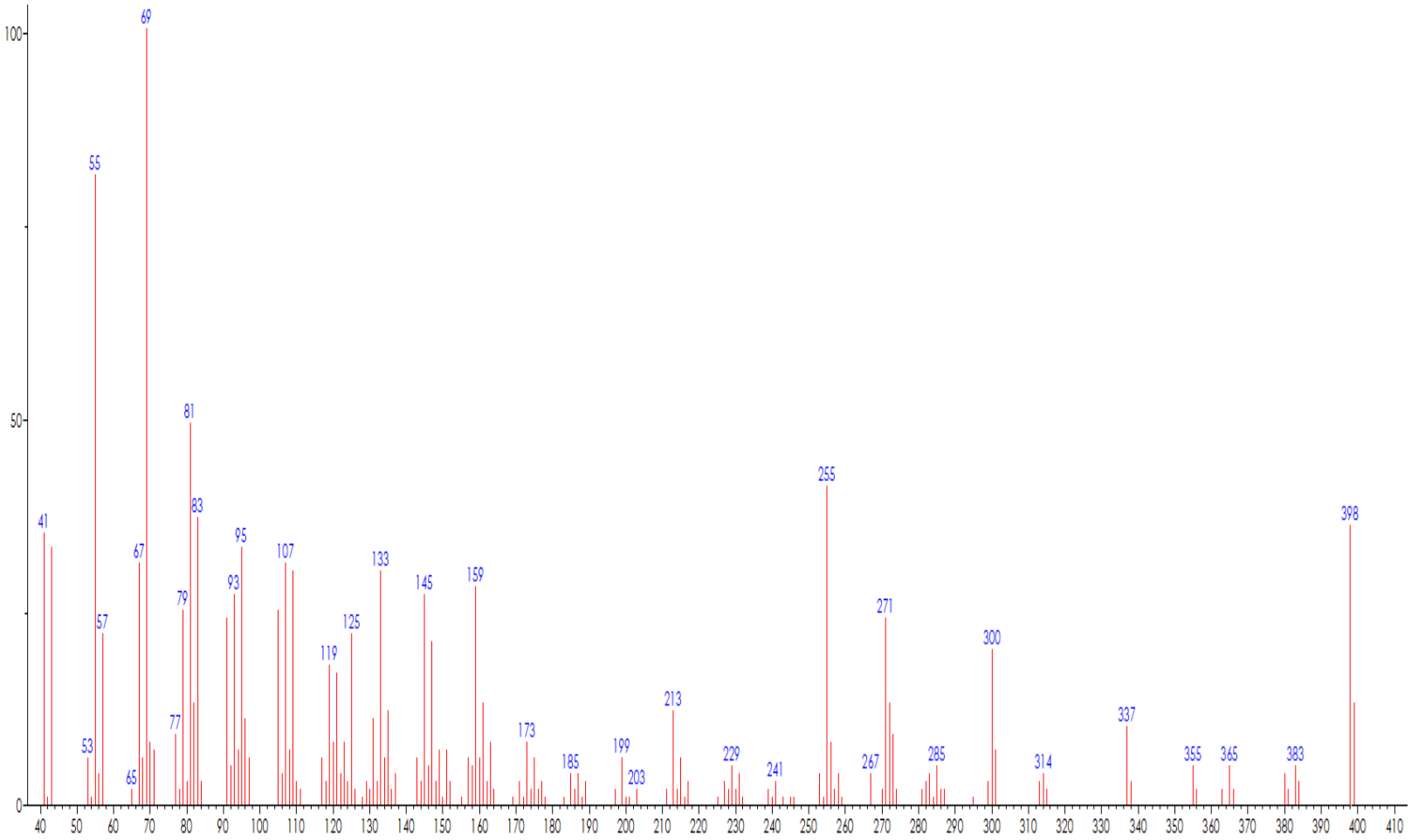
Şekil 3.119. TS.As.3.11 (11)'in COSY spektrumu



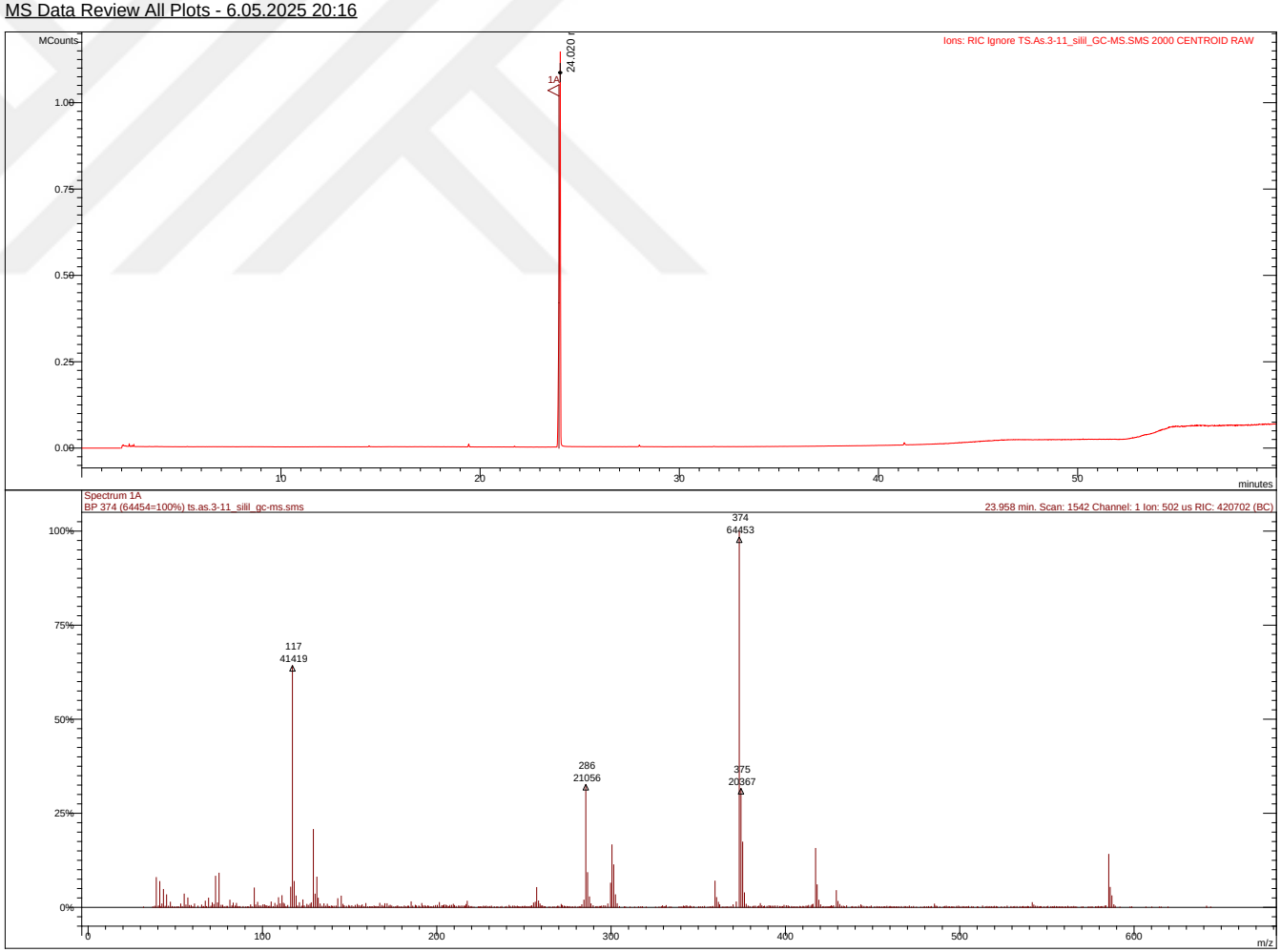
Şekil 3.120. TS.As.3.11 (11)'in HSQC spektrumu



Şekil 3.121. TS.As.3.11 (11)'in HMBC spektrumu



Şekil 3.122. TS.As.3.11 (11)'in kütle spektrumu



Şekil 3.123. TS.As.3.11 (11)'in hidrolizinden elde edilen GC-MS kromatogramı ve kütle spektrumu

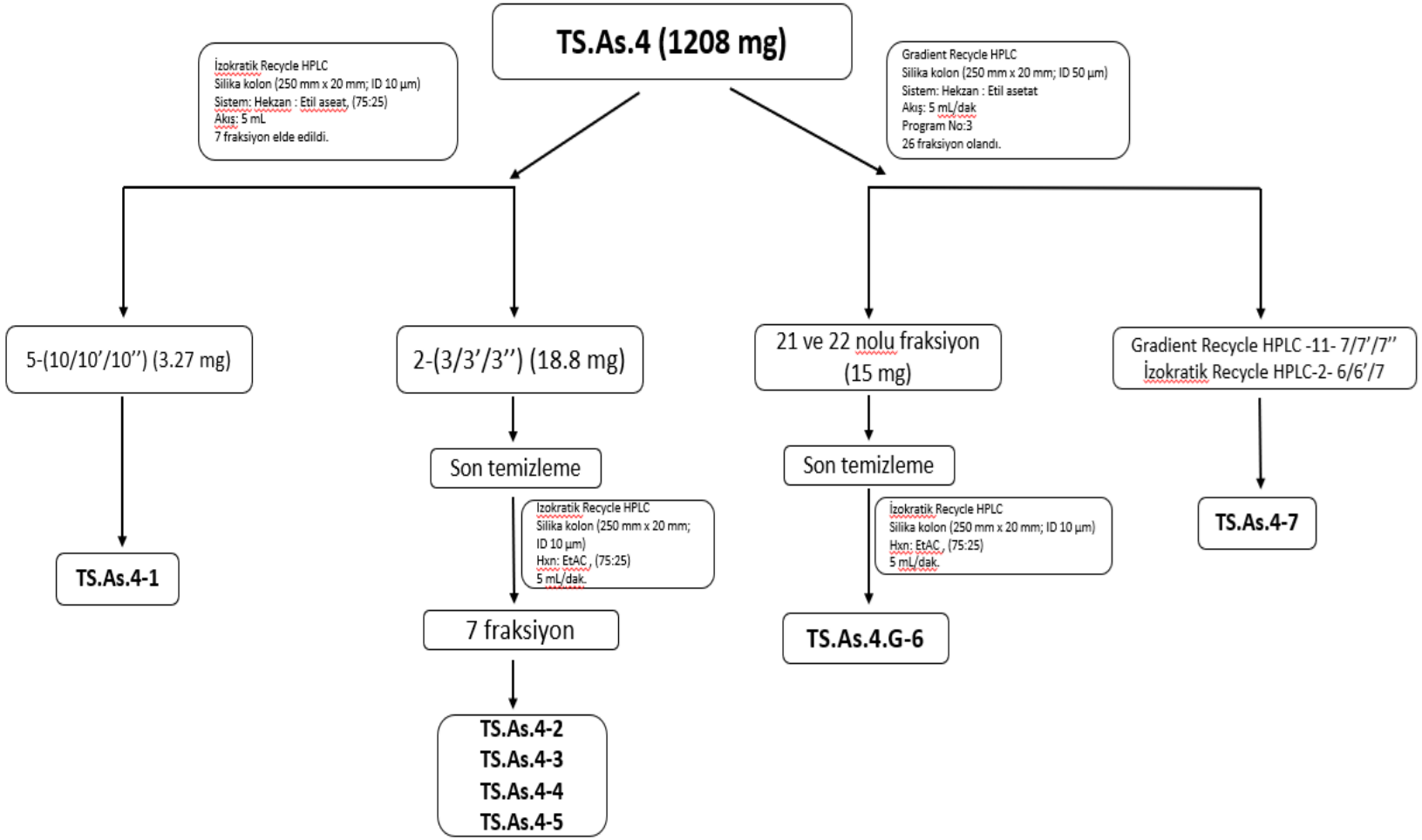
3.9.3. TS.As.4 biyoaktif fraksiyonunun alt fraksiyonlara ayrılması

TS.As.4 ile TS.As.5 fraksiyonları miktarları bakımından ve TLC'de gösterdikleri %65 üzeri benzerlik nedeniyle birleştirildi ve 1200 mg fraksiyon oluştu. Birleştirilen fraksiyonlar silika jel kolon kromatografisinde küçük bir açık $CHCI_3$ ve MeOH kullanılarak kolonda 12 fraksiyona ayrıldı.

3.nolu alt fraksiyon 50 mg ve 5 nolu alt fraksiyon 104 mg maddelerin izolasyonunda preperatif HPLC'ler kullanılarak çalışıldı (Şekil 3.124). TS.As.4 kodlu fraksiyonun 3 nolu alt fraksiyonu (50 mg) JAIGEL-SIL, SH-043-15 (500 x 20 mm ID, 10 µm) kolon bağlı izokratik Recycle HPLC-UV-RI'ye injeksiyon yapıldı. Bu amaçla izokratik çözücü sistemi hekzan:etil asetat (75:25) seçildi. Akış hızı kromatogramdaki rezolusyona göre dakikada 5 mL olarak ve dedektör 254 nm olarak ayarlandı, UV aktif olmayan maddeler ise sadece RI dedektörde izlendi. Fraksiyonlandırma sonunda TS.As.4.1 (**12**), TS.As.4.2 (**13**), TS.As.4.3 (**14**), TS.As.4.4 (**15**) ve TS.As.4.5 (**16**) maddeler saflaştırıldı.

TS.As.4 kodlu fraksiyonun 5 nolu alt fraksiyonu (104 mg) silika kolon (250 mm x 20 mm; ID 50 µm) bağlı gradient recycle HPLC-DAD'a injeksiyon yapıldı. Bu amaçla gradient çözücü sistemi hekzan-etil asetat artan oranları seçildi. Akış hızı kromatogramdaki rezolusyona göre dakikada 5 mL olarak ve dedektörde dalga boyları eş zamanlı olarak 210, 254, 280, 320 nm olarak ayarlandı. Uygun alt alt fraksiyonlar izokratik preperatif HPLC-UV-RI cihazı kullanılarak saflaştırıldı. TS.As.4 fraksiyonunun 5. nolu alt fraksiyonundan da TS.As.4G.6 (**17**) ve TS.As.4.7 (**18**) maddeleri saflaştırıldı (Şekil 3.41).

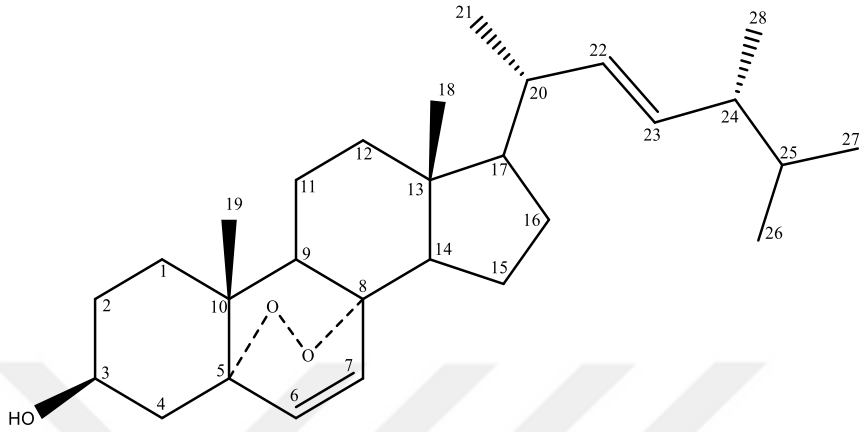
TS.As.4 fraksiyondan saflaştırılan 7 maddenin yapılarını aydınlatmak amacıyla ^{1}H-NMR, APT, DEPT,^{13}C-NMR, HMBC, COSY ve HSQC spektrumları alındı. Şekil 3.124'de TS.As.4 fraksiyonunun tekrar fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen saf bileşiklerin elde edilme şeması verildi.



Şekil 3.124. TS.As.4 alt fraksiyonundan saf maddelerinin (1-7) izolasyonu şeması

3.9.4. TS.As.4 biyoaktif fraksiyonundan elde edilen saf maddelerin yapı tayini

*3.9.4.1. TS.As.4.1 (**12**) = Ergesterol peroksit*



Şekil 3.125. TS.As.4.1 (12)'in yapısı

Beyaz renkli olan TS.As.4.1 (**12**) (3,3 mg) maddesi amorf halde elde edildi, yapısı spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatıldı (Şekil 3.125). İnce tabaka kromatografisi plağında UV lamba (254 nm) altında görünen madde seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu kahverengi renk almaktadır.

^{1}H- NMR spektrumunda ($CDCl_3$, δ (ppm), 600 MHz) (Şekil 3.126) δ 0,81 (*s*, H-18) ve 0,88 (*s*, H-19) ile δ 0,81 (*d*, *J*= 6,3 Hz, H-27), δ 0,84 (*d*, *J*= 6,4 Hz, H-26), δ 0,91 (*d*, *J*= 6,8 Hz, H-28) ve δ 1,00 (*d*, *J*= 6,5 Hz, H-21) ppm'de rezonans olan pikler karakteristik ergostan tipi steroide aittir. δ 6,24 (*d*, *J*= 8,5 Hz, H-6, 1H) ppm ile δ 6,50 (*d*, *J*= 8,5 Hz, H-7, 1H) sinyalleri halkadaki çifte bağa ait olan hidrojenlere aittir. Ayrıca δ 5,14 (*dd*, *J*= 15,3; 8,6 Hz, H-22, 1H) ve δ 5,22 (*dd*, *J*= 15,3; 7,7 Hz, H-23, 1H) ppm'de vinilik pikler izlendi. Buna ilaveten, δ 3,97 (*m*, H-3, 1H) ppm'de multiplet olarak rezonans olan pik 3 pozisyonunda hidrojenin α konumunda olduğuna işaret etmektedir.

^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$, δ (ppm), 150 MHz) (Şekil 3.127) ve HSQC (Şekil 3.129) spektrumları beraber değerlendirildiğinde 6 metil, 7 metilen, 11 metin ve 4 katerner karbon izlendi. δ 135,4 (C-6), 135,2 (C-22), 132,3 (C-23) ve 130,7 (C-7) ppm'de rezonans olan pikler vinilik karbonlara aittir. 3 adet oksijenlenmiş karbon

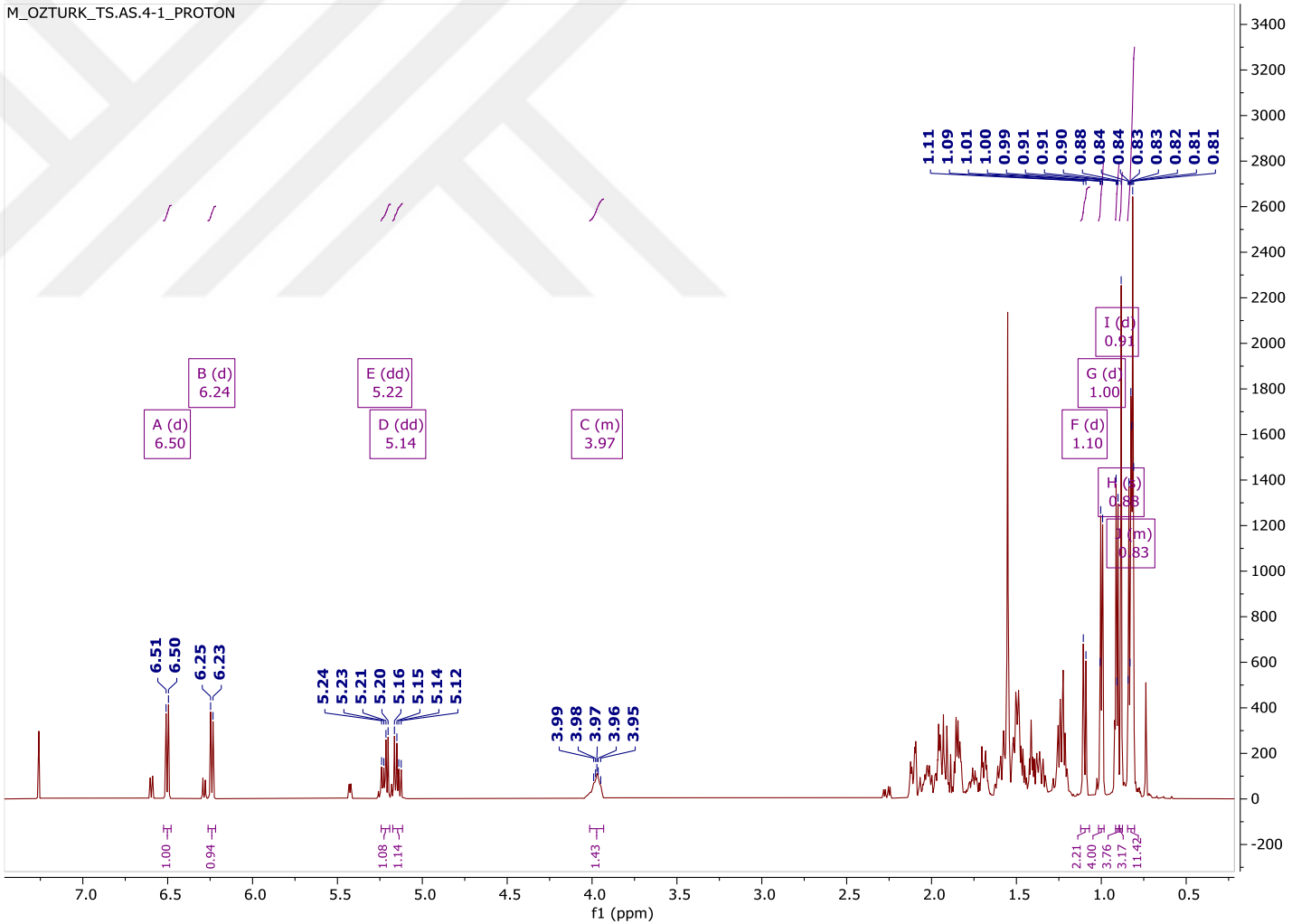
sinyali δ 79,4 (C-8), 82,1 (C-5), 66,5 (C-3) ppm'de gözlendi. δ 20,9 (C-21), 19,9 (C-26), 19,6 (C-27), 17,5 (C-28), 18,2 (C-19) ve 12,9 (C-18) ppm'de rezonans olan pikler molekülde bulunan 6 adet metilin karbon sinyalleridir. TS.As.4.1 (**12**) maddesinin yapı tayini COSY (Şekil 3.128), HMBC (Şekil 3.130) spektrumları ile doğrulandı.

Elektrosprey uçuş zamanlı kütle spektrometrisinde (ESI^+-TOF-MS) *m/z* 428,3288'de (calc. 428,3290) $[M]^+$ piki ($C_{28}H_{44}O_3$) yapısını belirtti (Şekil 3.131). ESI^+-TOF-MS spektrumunda su molekülünün ayrılmasıyla *m/z* 410,3165'daki (calc. 410,3185) pik $[M-H_2O]^+$ ($C_{28}H_{42}O_2$) ve oksijenin ayrılmasıyla *m/z* 412,3333'deki (calc. 412,3341) pik $[M-O]^+$ ($C_{28}H_{44}O$) izlenmektedir. ESI^+-TOF-MS spektrumu NMR değerleri ile uyuşmaktadır.

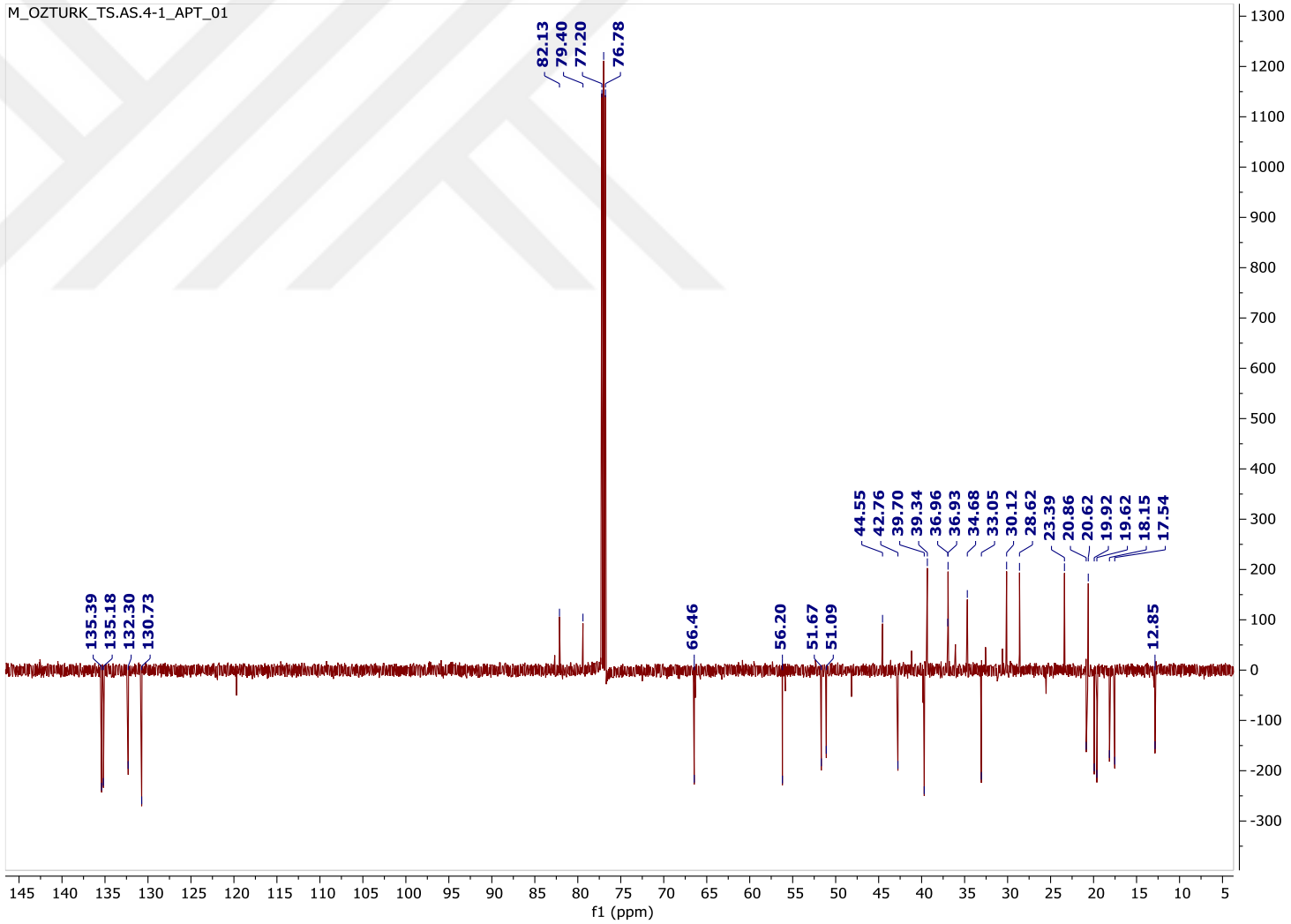
Spektral veriler değerlendirildiğinde ve literatür ile karşılaştırıldığında TS.As.4.1 (**12**) maddesinin ergesterol peroksit (Şekil 3.127) olduğu belirlendi (Sgarbi vd, 1997). TS.As.4.1 (**12**) maddeye ait NMR verileri Çizelge 3.25'de verilmektedir.

Çizelge 3.25. TS.As.4.1 (12)'in NMR spektral değerleri

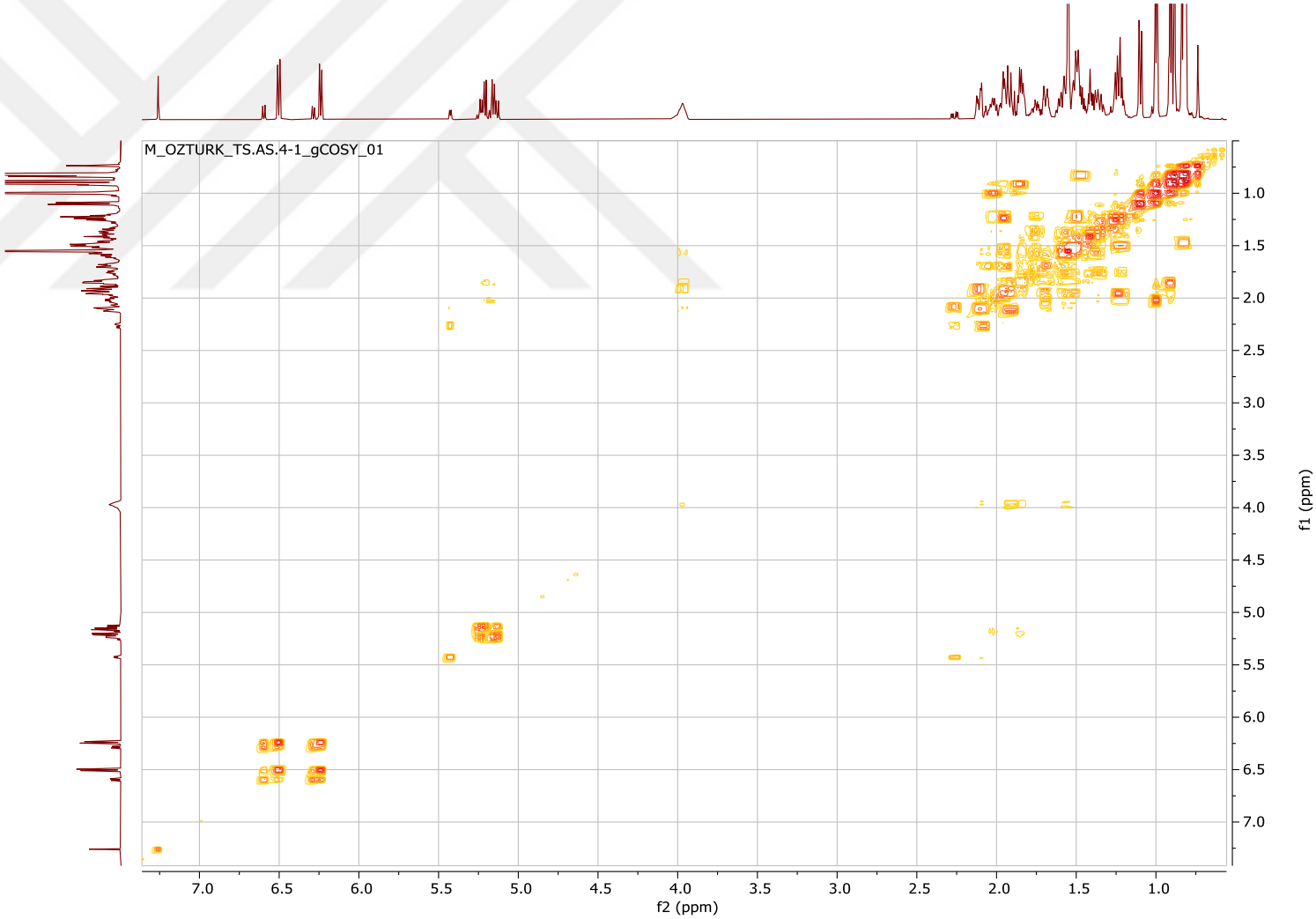
Pozisyon	^{13}C-NMR(δ)	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	34,7	CH_2	1,69 (*m*, 1H); 1,96 (*m*, 1H)
2	30,1	CH_2	1,55 (*m*, 1H); 1,84 (*m*, 1H)
3	66,5	CH	3,97 (*m*, 1H)
4	36,9	CH_2	1,91 (*m*, 1H); 2,11 (*m*, 1H)
5	82,1	C	
6	135,4	CH	6,24 (*t*, *J* = 8,5 Hz, 1H)
7	130,7	CH	6,50 (*t*, *J* = 8,5 Hz, 1H)
8	79,4	C	
9	51,6	CH	1,56 (*t*, 1H)
10	36,9	C	
11	20,6	CH_2	1,40 (*m*, 1H); 1,60 (*m*, 1H)
12	39,3	CH_2	1,23 (*m*, 1H); 1,96 (*m*, 1H)
13	44,5	C	
14	51,1	CH	1,49 (*m*, 1H)
15	23,4	CH_2	1,22 (*m*, 1H); 1,51 (*m*, 1H)
16	28,6	CH_2	1,36 (*m*, 1H); 1,76 (*m*, 1H)
17	56,2	CH	1,23 (*m*, 1H)
18	12,9	CH_3	0,81 (*s*, 3H)
19	18,2	CH_3	0,88 (*s*, 3H)
20	39,7	CH	2,02 (*m*, 1H)
21	20,9	CH_3	1,00 (*d*, *J* =6,5 Hz, 3H)
22	135,2	CH	5,14 (*dd*, *J* = 15,3; 8,6 Hz, 1H)
23	132,3	CH	5,22 (*dd*, *J* = 15,3; 7,7 Hz, 1H)
24	42,8	CH	1,85 (*m*, 1H)
25	33,1	CH	1,47 (*m*, 1H)
26	19,9	CH_3	0,84 (*d*, *J*= 6,3 Hz, 3H)
27	19,6	CH_3	0,81 (*d*, *J*= 6,4 Hz, 3H)
28	17,5	CH_3	0,91 (*d*, *J*= 6,8 Hz, 3H)



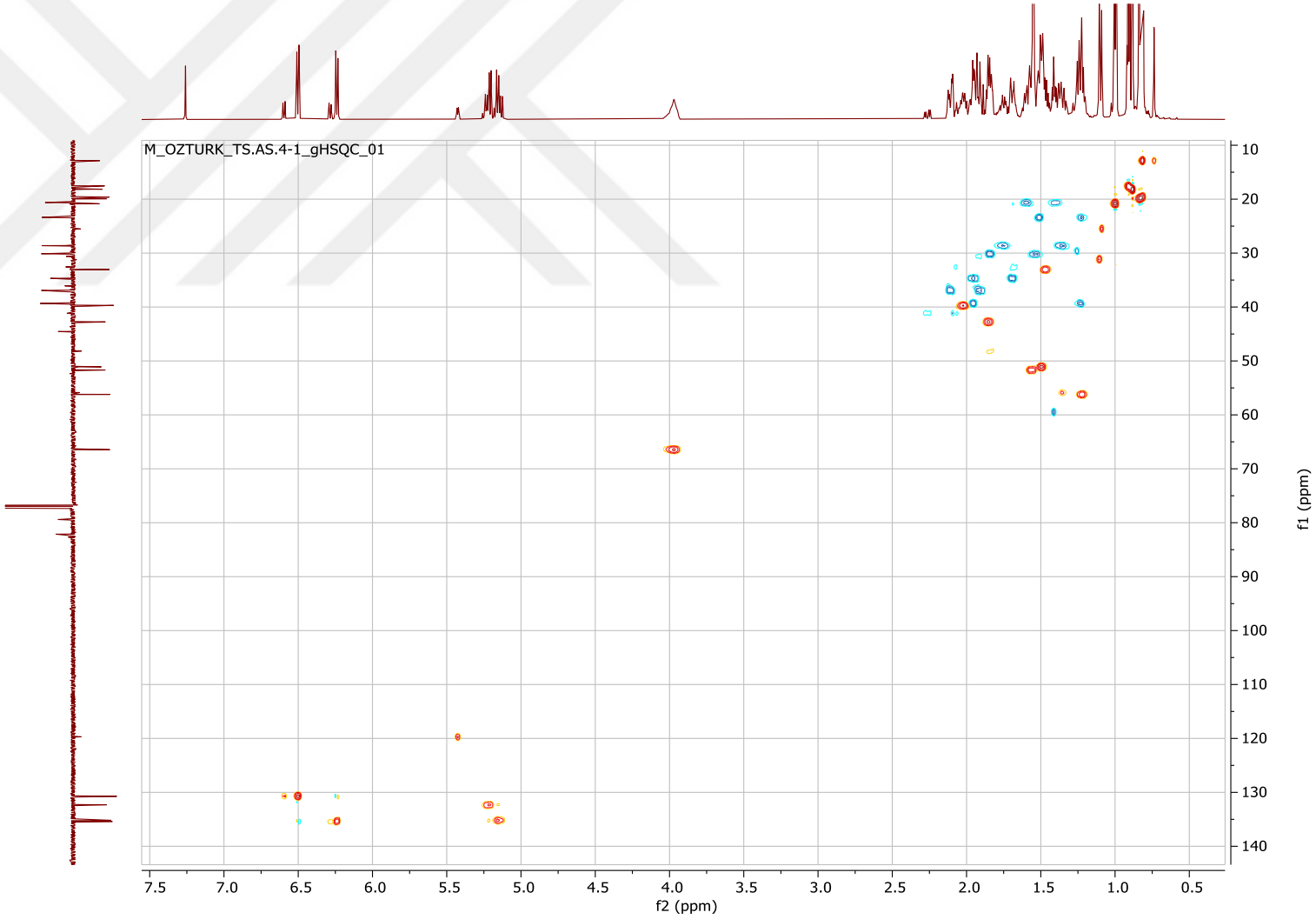
Şekil 3.126. TS.As.4.1 (12)'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 600 MHz)



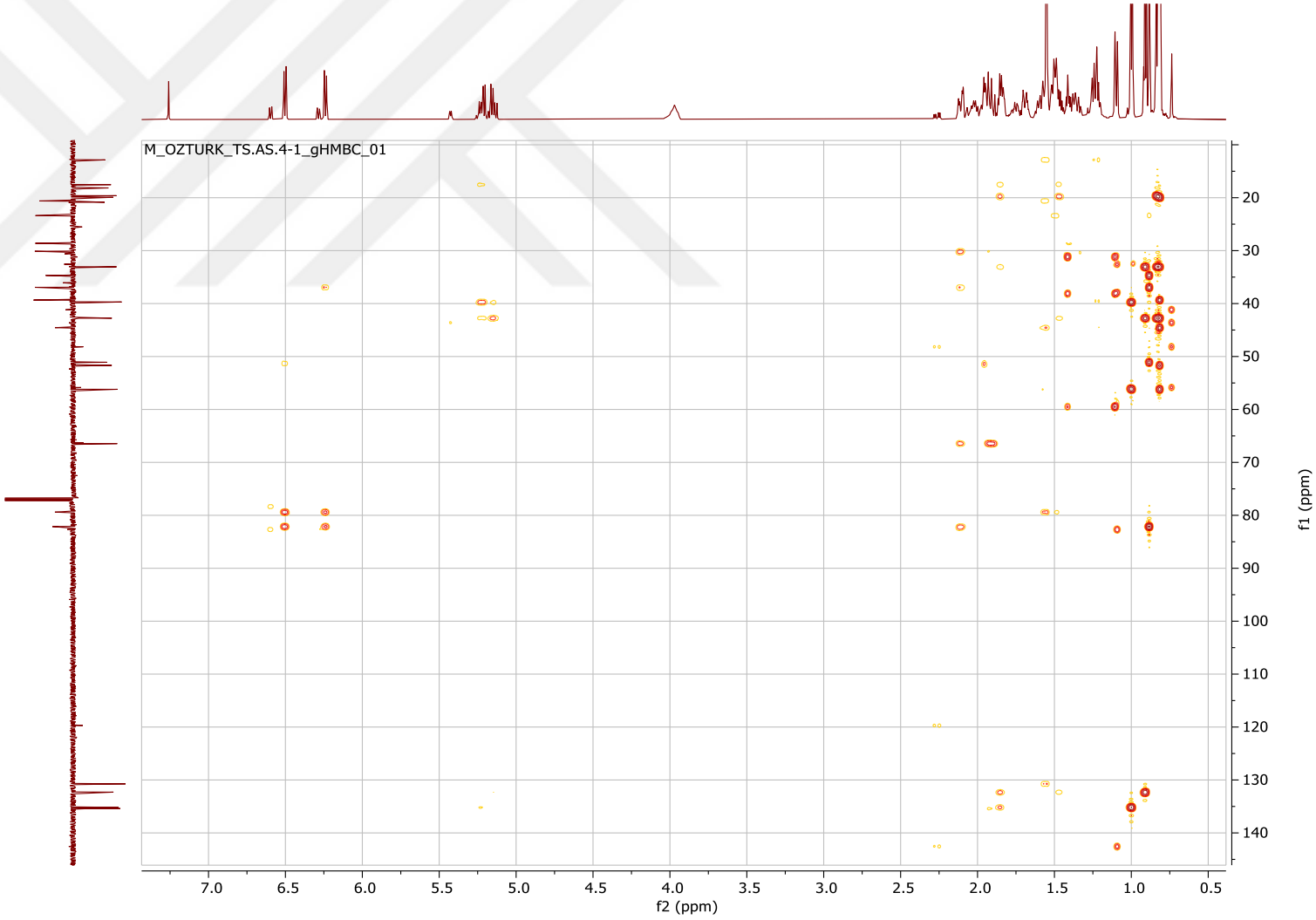
Şekil 3.127. TS.As.4.1 (12)'in APT spektrumu ($CDCl_3$, 150 MHz)



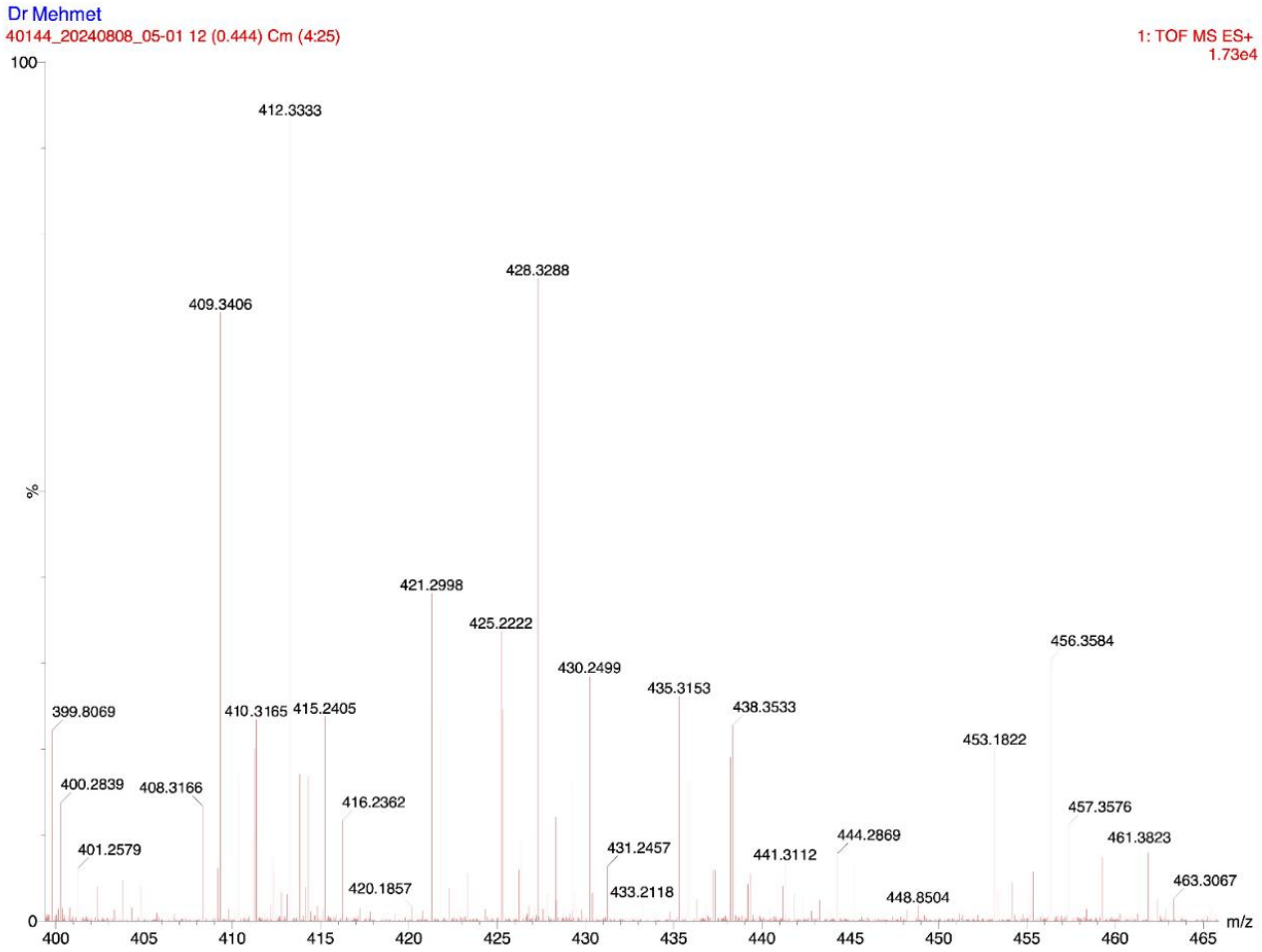
Şekil 3.128. TS.As.4.1 (12)'in COSY spektrumu



Şekil 3.129. TS.As.4.1 (12)'in HSQC spektrumu

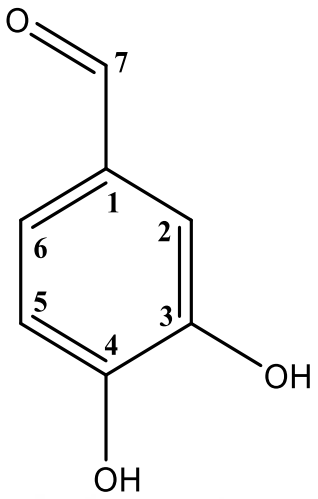


Şekil 3.130. TS.As.4.1 (12)'in HMBC spektrumu



Şekil 3.131. TS.As.4.1 (12)'in ESI$^+$-TOF kütle spektrumu

*3.9.4.2. TS.As.4.2 (**13**) = 3,4-dihidroksi benzaldehit*



Şekil 3.132. TS.As.4.2 (13)'nin yapısı

Beyaz renkli olan TS.As.4.2 (**13**) maddesi (2,33 mg) amorf halde elde edildi (Şekil 3.132). Silika jel plakta UV lamba (254 nm) altında görülen madde seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu kahverengi renk aldı. TS.As.4.2 (**13**) yapı tayininde ^{1}H-NMR (Şekil 3.133) ve ^{13}C-NMR (Şekil 3.134), COSY (Şekil 3.135), HSQC (Şekil 3.136) ve HMBC (Şekil 3.137) spektrumları kullanıldı.

^{1}H-NMR ($CDCI_3$, δ (ppm), 600 MHz) spektrumunda δ 7,29 (*d*, *J*=1,9 Hz, H-2), δ 6,89 (*d*, *J*=8,0 Hz, H-5) ve δ 7,30 (*m*, H-6) ppm'de aromatik proton sinyalleri gözlenmiştir. δ 9,67 (*s*, 1H, H-7) aldehit hidrojenine ait sinyal gözlendi.

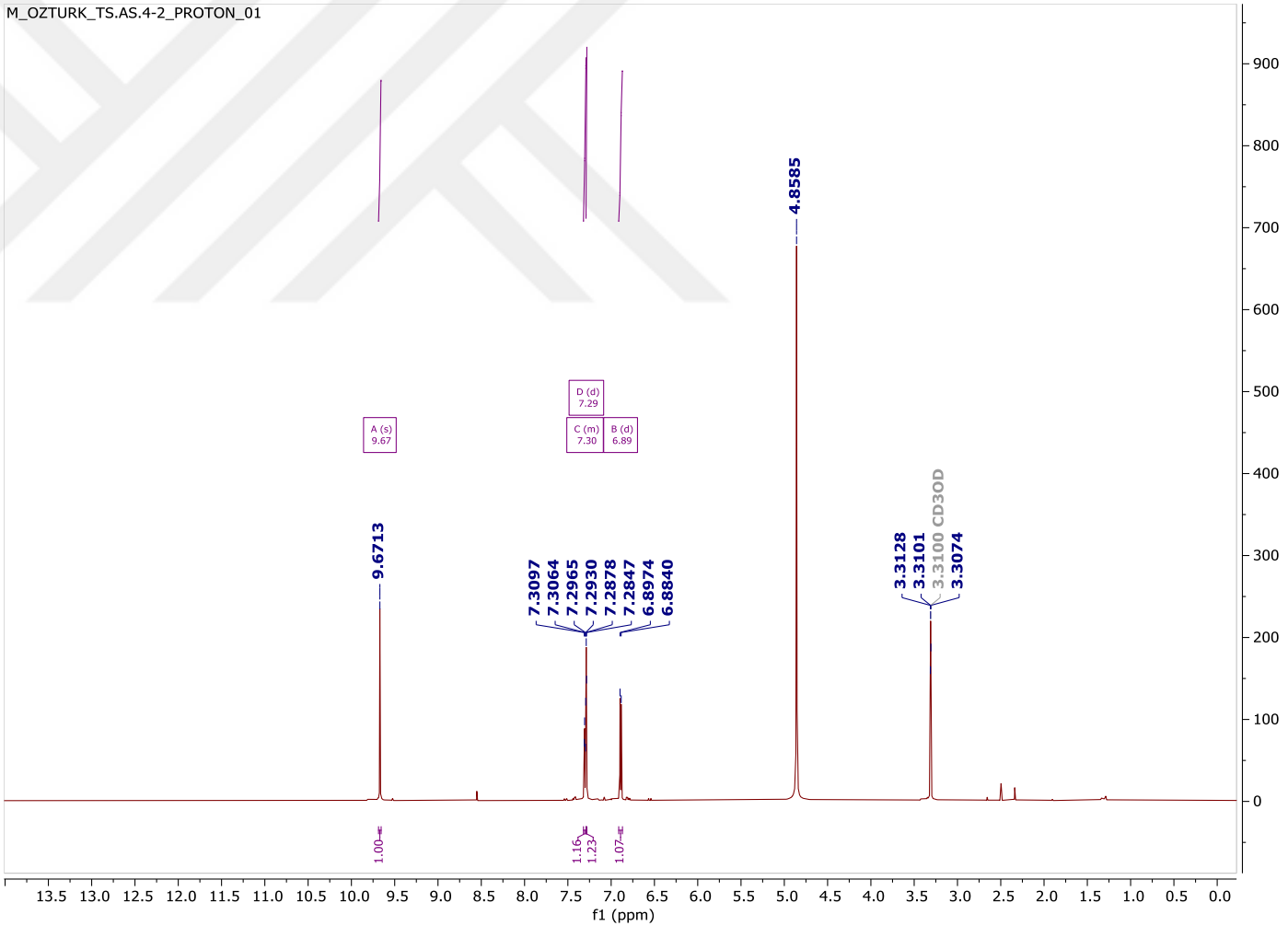
^{13}C-NMR ($CDCl_3$, δ (ppm), 150 MHz) ve HSQC spektrumları birlikte değerlendirildiğinde 5 adet metin ve 2 katerner karbon olmak üzere toplamda 7 karbona sahip olduğu belirlendi. δ 192,9 (C-7) ppm'de izlenen karbon sinyali bileşiğin aldehit karbonuna aittir. δ 147,4 (C-3) ppm ve δ 154,5 (C-4) ppm'de hidroksillenmiş katerner karbon sinyalleri ve δ 154,5 (C4), 116,3 (C5) ve 126,6 (C6) ppm'de aromatik metin karbon sinyalleri gözlendi.

Kütle spektrumunda (EI-MS) (Şekil 3.138) *m/z* 138'deki $[M]^+$ piki ($C_7H_6O_3$) yapısını verdi. Yapıdan aldehit grubunun ayrılmasıyla *m/z* 109'deki $[M\text{-}CHO]^+$ piki izlenmektedir.

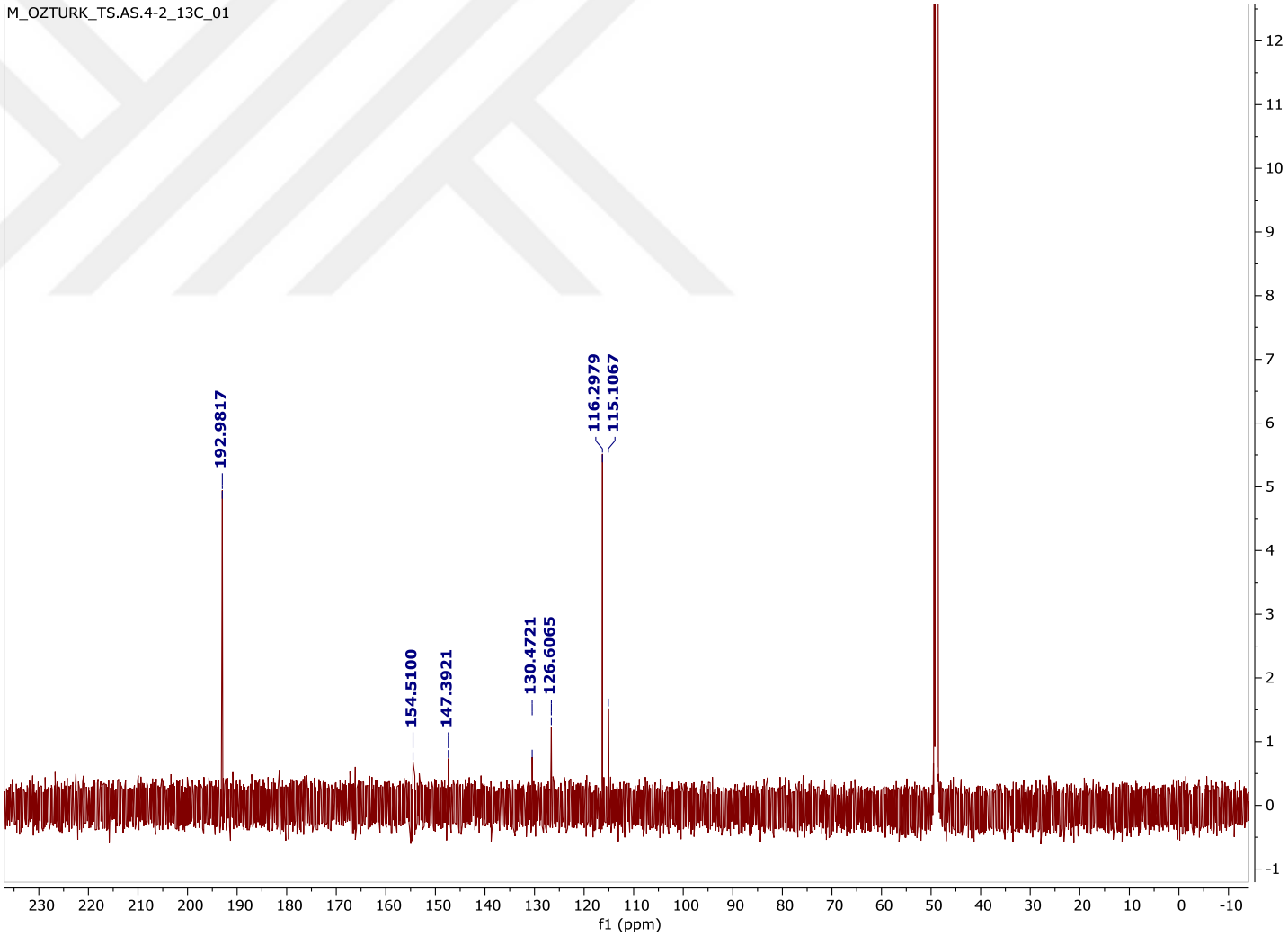
Çizelge 3.26'da verilen ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR değerleri literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında TS.As.4.2 (**13**) bileşiğinin daha önceden izole edilen 3,4-dihidroksi benzaldehit olduğu belirlendi (Ayinde vd, 2007). TS.As.4.2 (**13**)'ün literatür çalışmaları sonucu daha önce *Musanga cecropioides*'un gövde kabuğundan (Ayinde vd, 2007) ve *Trichomanes chinense* (Syafni vd, 2012) türlerinden rapor edilmiştir.

Çizelge 3.26. TS.As.4.2 (13)'nin NMR spektral değerleri

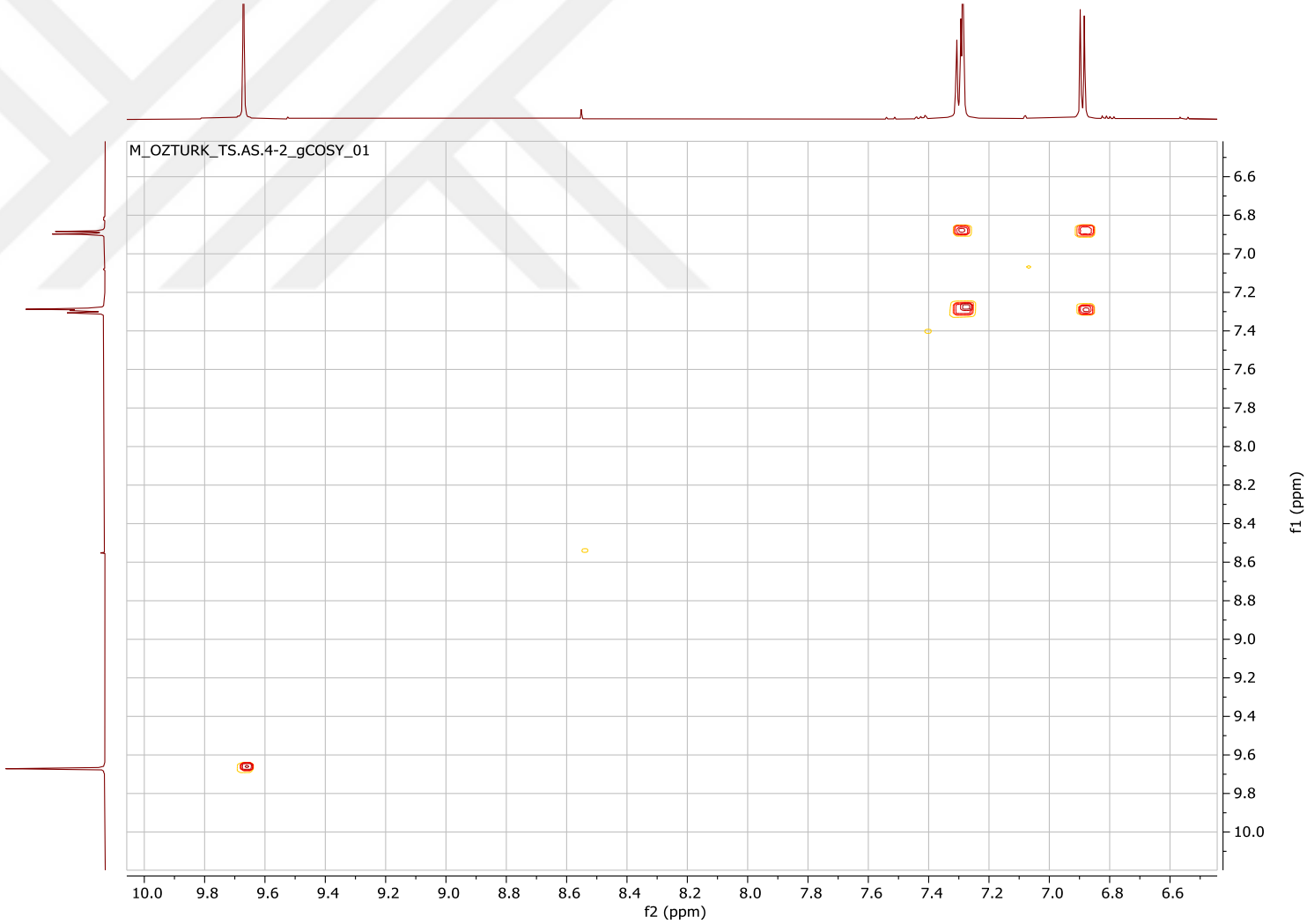
Pozisyon	^{13}C-NMR(δ)	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	130,5	C	
2	115,1	CH	7,29 (*d*, *J*= 1,9 Hz, 1H)
3	147,4	C	
4	154,5	C	
5	116,3	CH	6,89 (*d*, *J*=8,0 Hz, 1H)
6	126,6	CH	7,30 (m, 1H)
7	192,9	CH	9,67 (*s*, 1H)



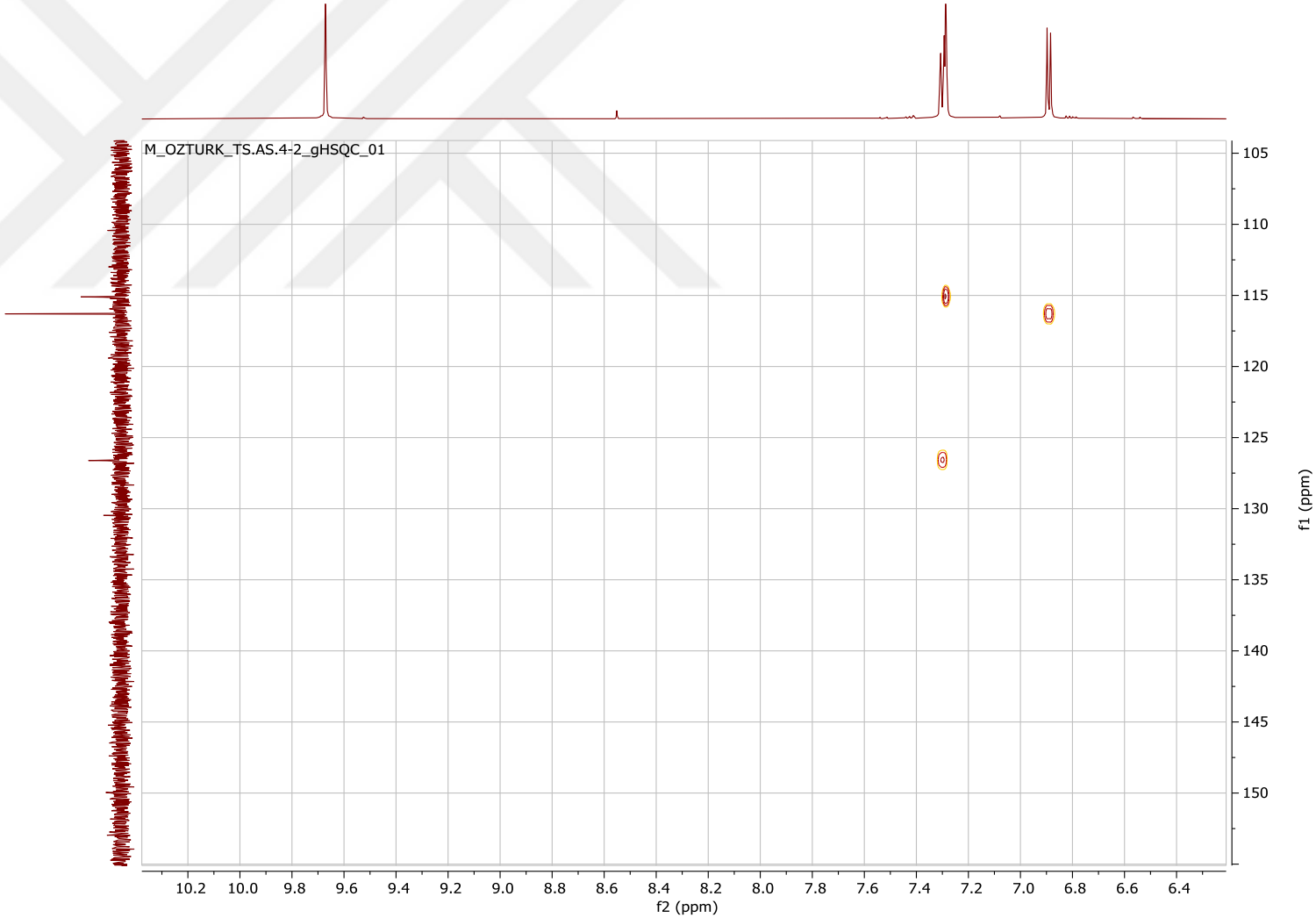
Şekil 3.133. TS.As.4.2 (13)'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 600 MHz)



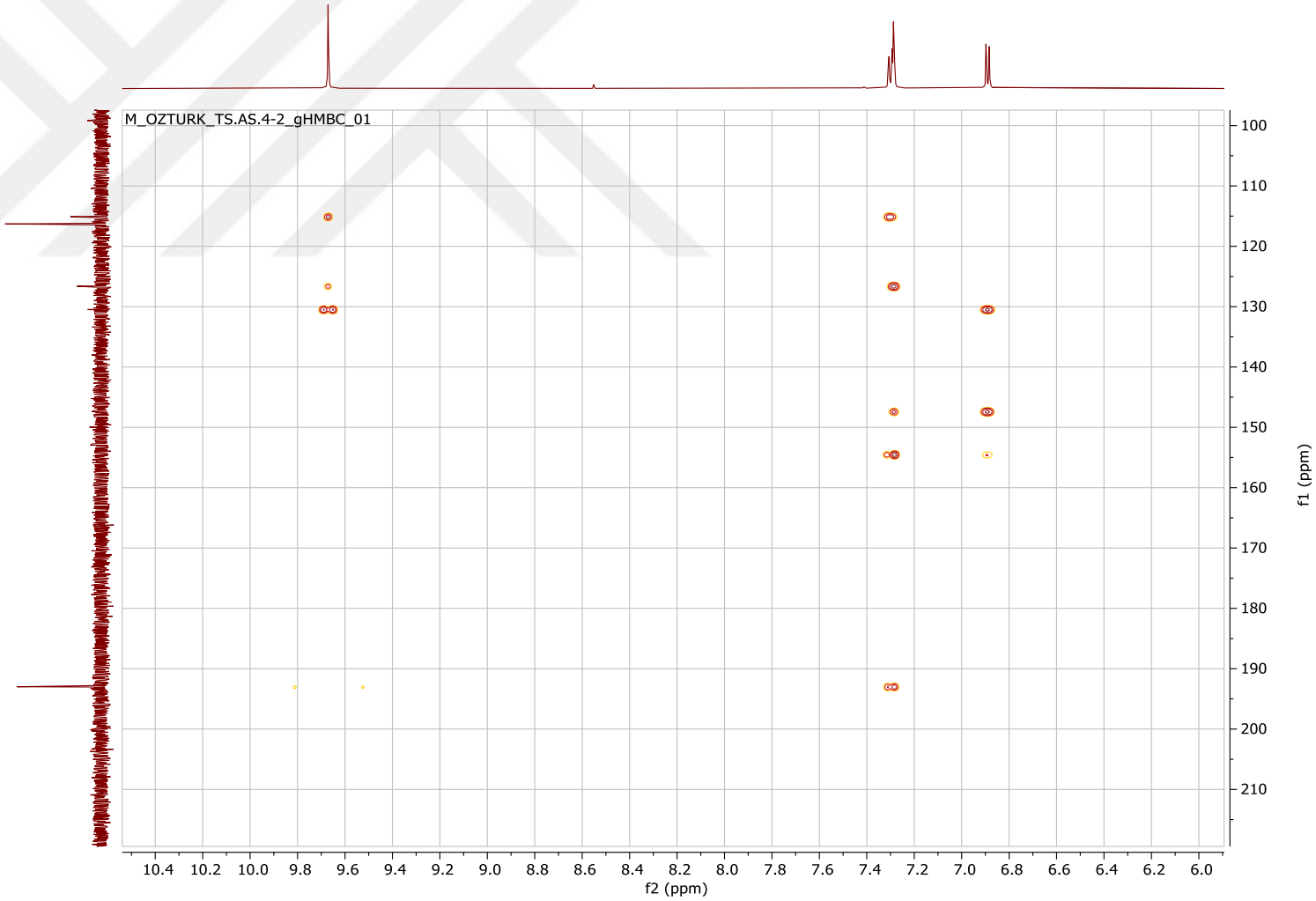
Şekil 3.134. TS.As.4.2 (13)'nin ^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 150 MHz)



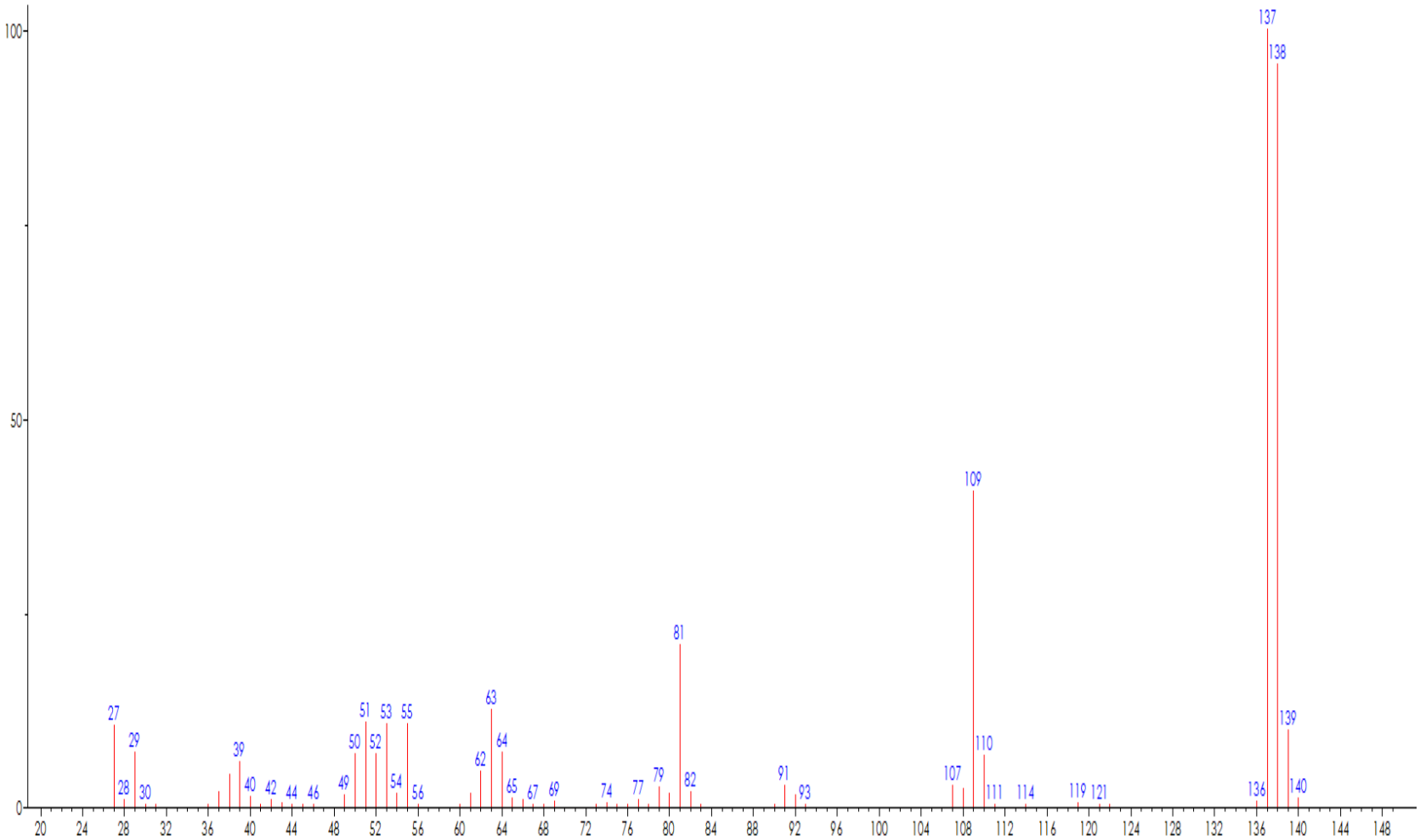
Şekil 3.135. TS.As.4.2 (13)'nin COSY spektrumu



Şekil 3.136. TS.As.4.2 (13)'nin HSQC spektrumu

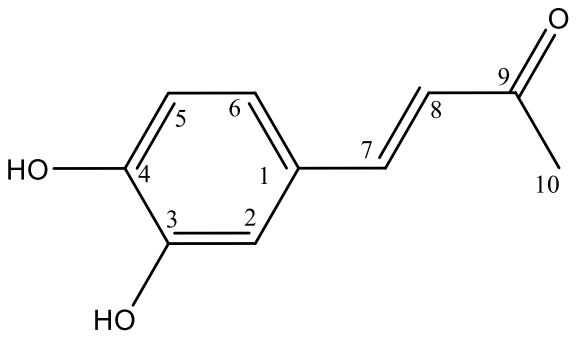


Şekil 3.137. TS.As.4.2 (13)'nin HMBC spektrumu



Şekil 3.138. TS.As.4.2 (13)'nin kütle spektrumu

*3.9.4.3. TS.As.4.3 (**14**) = 4-(3,4-Dihidroksifenil)-3-büten-2-on*



Şekil 3.139. TS.As.4.3 (14)'ün yapısı

Beyaz renkli olan TS.As.4.3 (**14**) (5,12 mg) amorf halde elde edildi (Şekil 3.139). Silika jel plakta UV lamba (254 nm) altında görülen madde seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu kahverengi renk aldı. TS.As.4.3 (**14**) yapı tayininde ^{1}H-NMR (Şekil 3.140) ve ^{13}C-NMR (Şekil 3.141), COSY (Şekil 3.142), HSQC (Şekil 3.143), HMBC (Şekil 3.144) ve ESI^{-}-TOF-MS (Şekil 3.145) spektrumları kullanıldı.

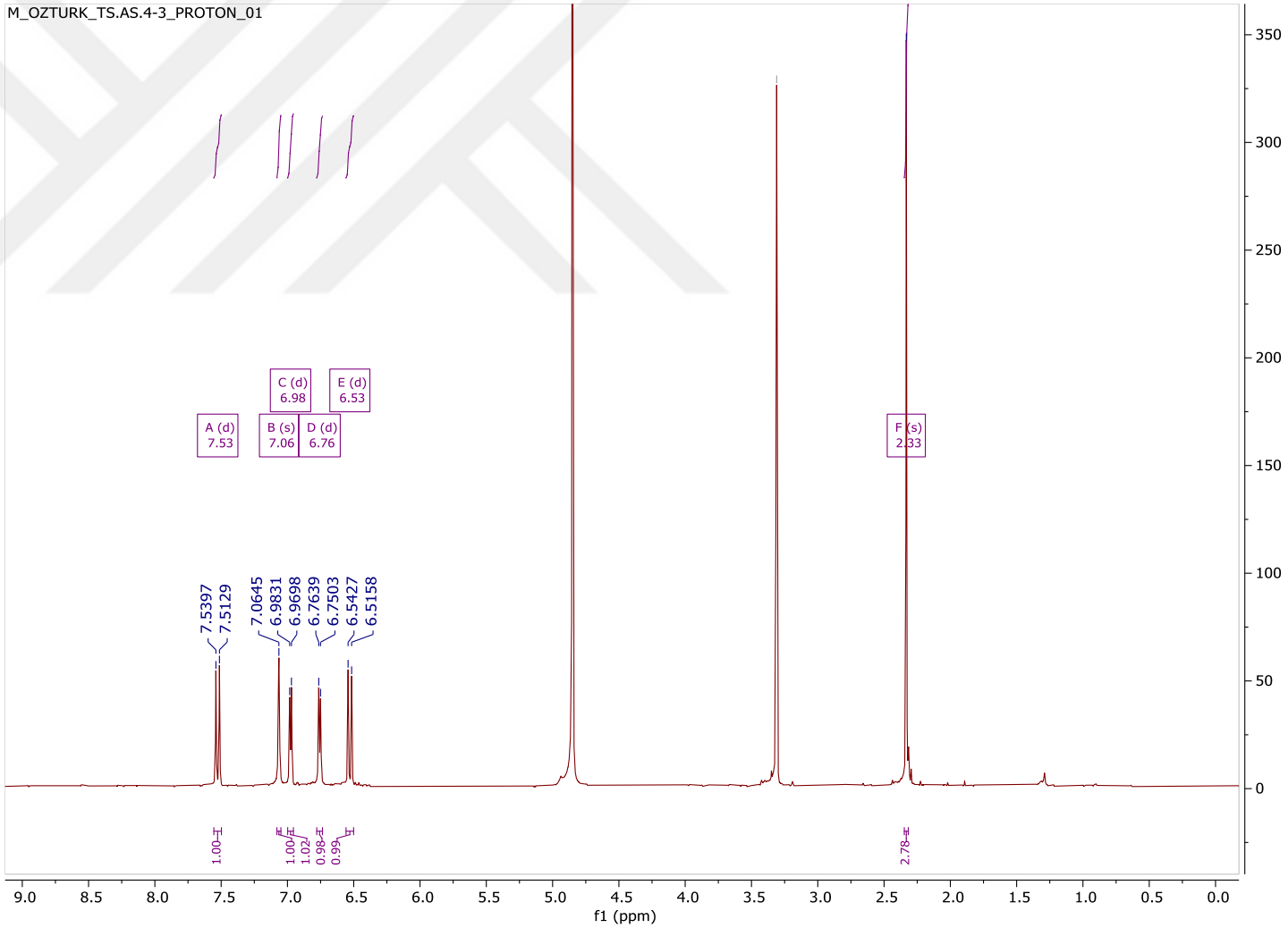
^{1}H-NMR (CD_3OD, δ (ppm), 600 MHz) spektrumunda δ 2,33 (*s*, 3H, H-10) α karbona ait sinyal olup metil grubuna atfedilir. δ 7,06 (s, H-2), 6,98 (*d*, *J*=7,96 Hz, H-6) ve 6,76 (*d*, *J*=8,1 Hz, H-5) gözlenen pikler aromatik metin gruplarına ait olup 8 Hz yarılan komşu hidrojen piklerini düşündürdü. δ 7,53 (*d*, *J*=16,06 Hz, H-2), 6,53 (*d*, *J*=16,11 Hz, H-6) ppm'de rezonans olan pikler alifatik trans vinilik hidrojenlerine aittir.

^{13}C-NMR ve HSQC spektrumları birlikte değerlendirildiğinde 1 adet metil, 5 adet metin ve 4 katerner karbon olmak üzere toplamda 10 karbona sahip olduğu tespit edildi. δ 156,7 (C-3) ppm ve δ 166,3 (C-4) ppm'de hidroksillenmiş karbon sinyallerini, δ 201,5 (C-9) ppm'de izlenen katerner karbon sinyali bileşiğin keton grubunu, δ 26,9 (C10) ppm'de metil grubunu gösterdi. Bileşikdeki δ 147,3 ppm (C-7) ve δ 123,9 (C-8) ppm'de izlenen çift bağın yarılma sabitine göre trans konumunda olduğunu gösterdi. COSY ve HMBC spektrumları ile yapı desteklendi. ESI^{-}-TOF-MS spektrumunda *m/z* 178,0628'deki (calc. 178,0630) $[M]^{+}$ piki $C_{10}H_{10}O_3$ kapalı formülünü vererek NMR verilerini desteklemektedir.

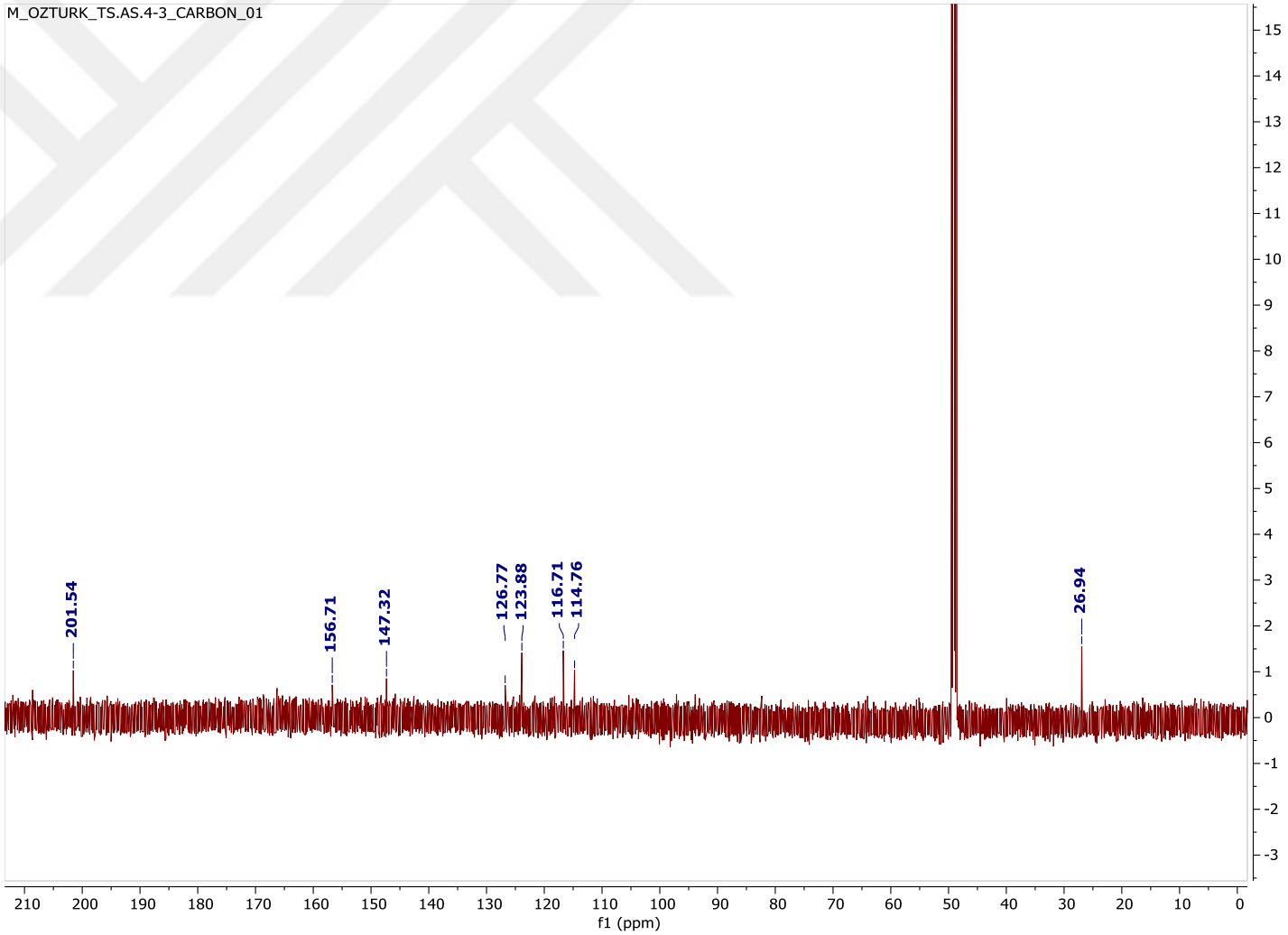
^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR etkileşimlerinin (Çizelge 3.27) literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında TS.As.4.3 (**14**) bileşiğinin 4-(3,4-Dihidroksifenil)-3-büten-2-on (Şekil 4.139) olduğu belirlendi. TS.As.4.3 (**14**)'ün spektral verileri ve literatür karşılaştırıldığında bileşik daha önce *Phellinus linteus*'un meyve gövdesinden (Lyu vd. 2009) ve *Fuscoporia torulosa*'dan (Béni vd, 2021) izole edilmiştir.

Çizelge 3.27. TS.As.4.3 (14)'ün NMR spektral değerleri

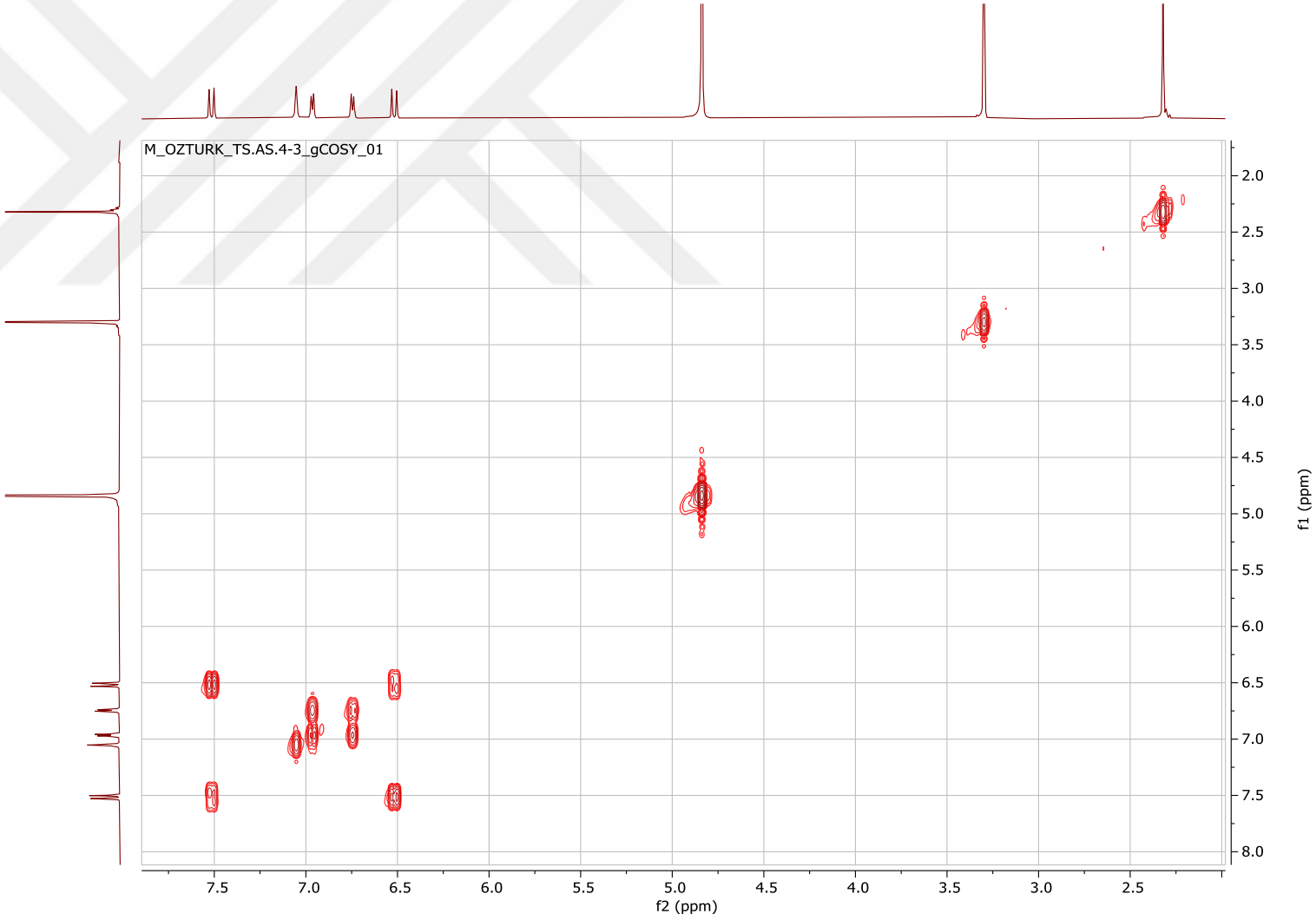
Pozisyon	**^{13}C-NMR(δ)**	**Karbon Türü**	**^{1}H-NMR (δ)**
1	126,8	C	
2	114,8	CH	7,06 (*s*, 1H)
3	156,7	C	
4	166,3	C	
5	116,7	CH	6,76 (*d*, *J*=8,1 Hz, 1H)
6	124,0	CH	6,98 (*d*, *J*= 7,96 Hz, 1H)
7	147,3	CH	7,53 (*d*, *J*=16,06 Hz, 1H)
8	123,9	CH	6,53 (*d*, *J*=16,1 Hz, 1H)
9	201,5	C	
10	26,9	CH_3	2,33 (*s*, 3H)



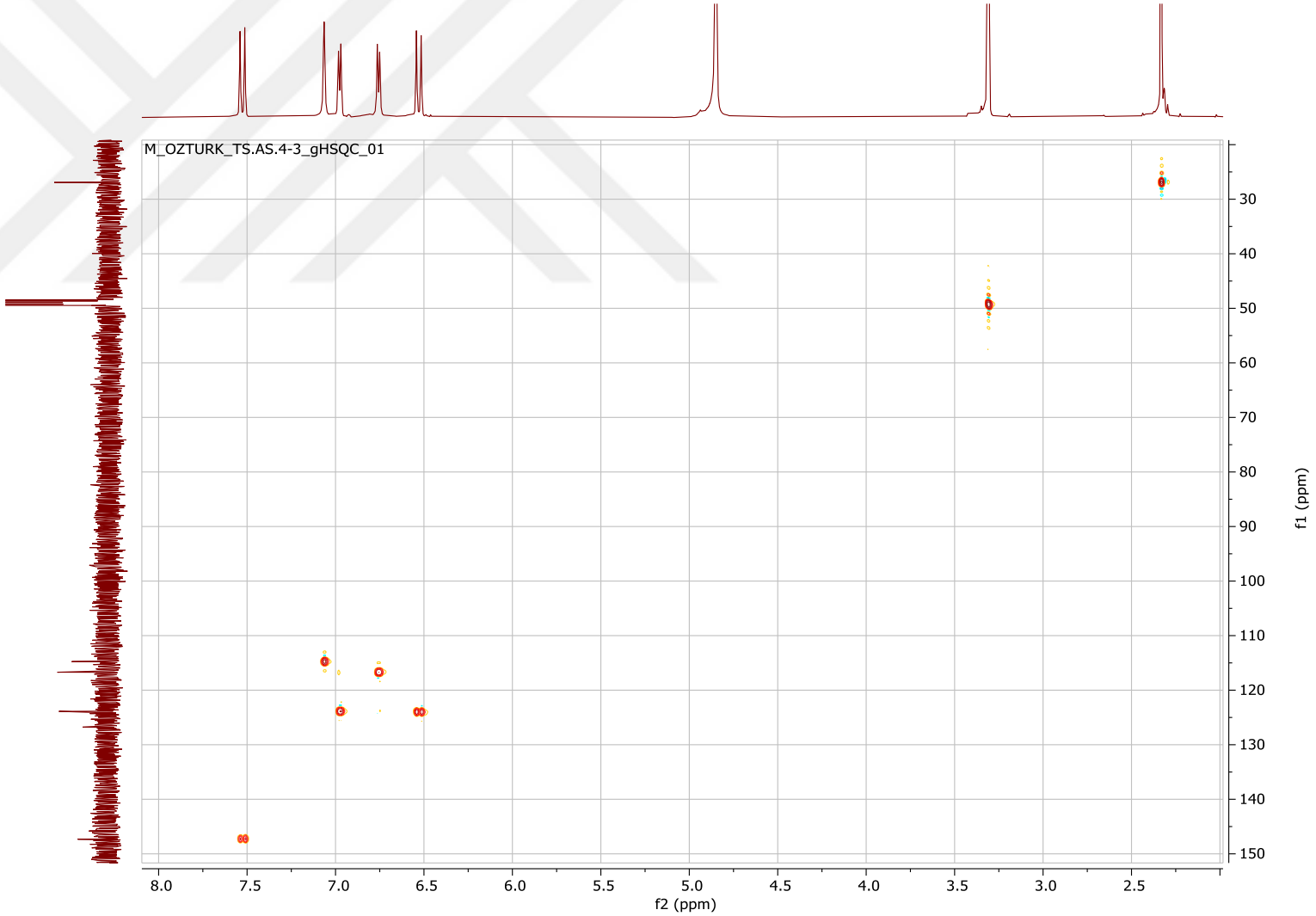
Şekil 3.140. TS.As.4.3 (14)'ün ^{1}H-NMR spektrumu (CD_3OD, 600 MHz)



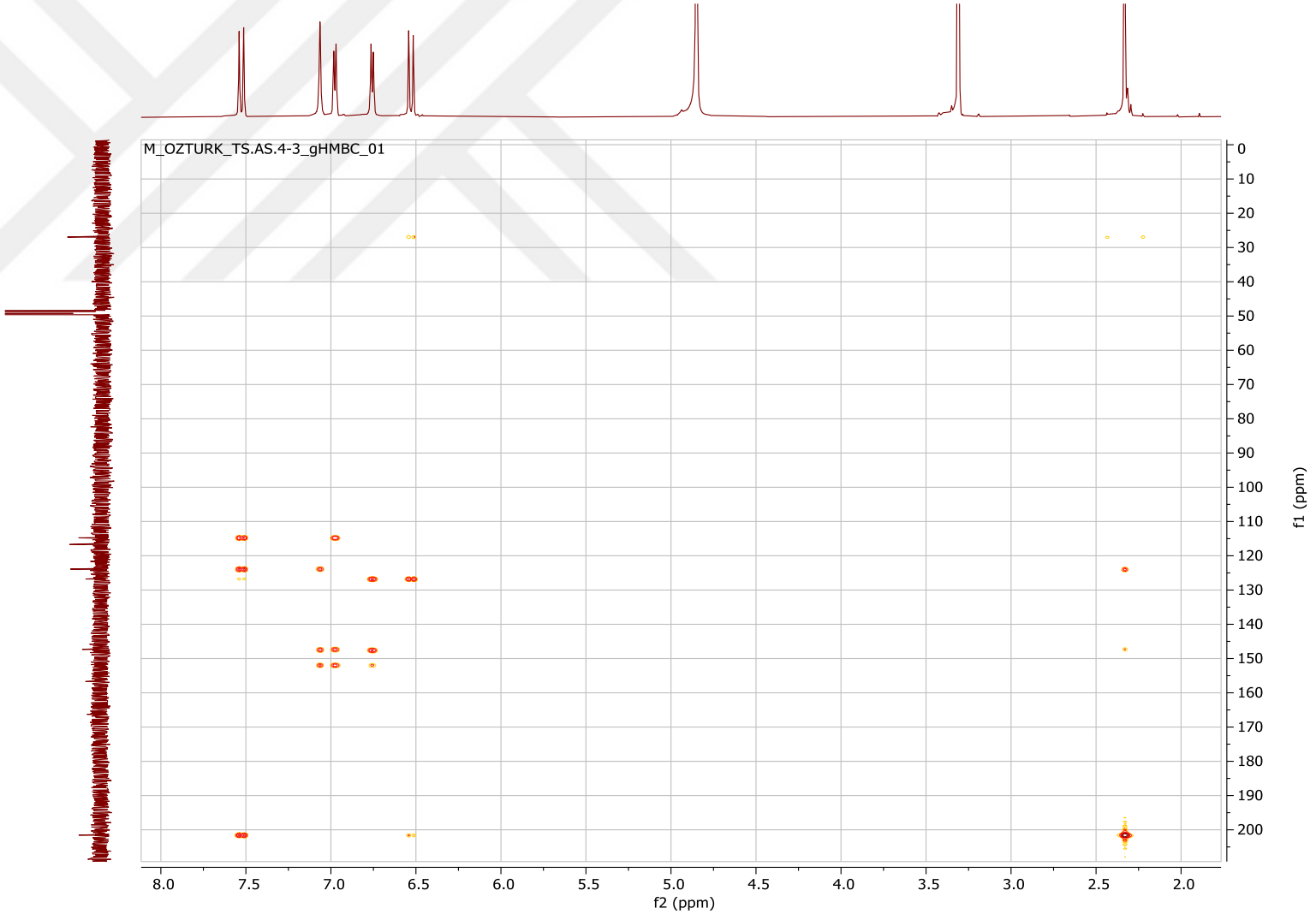
Şekil 3.141. TS.As.4.3 (14)'ün ^{13}C-NMR spektrumu (CD_3OD, 150 MHz)



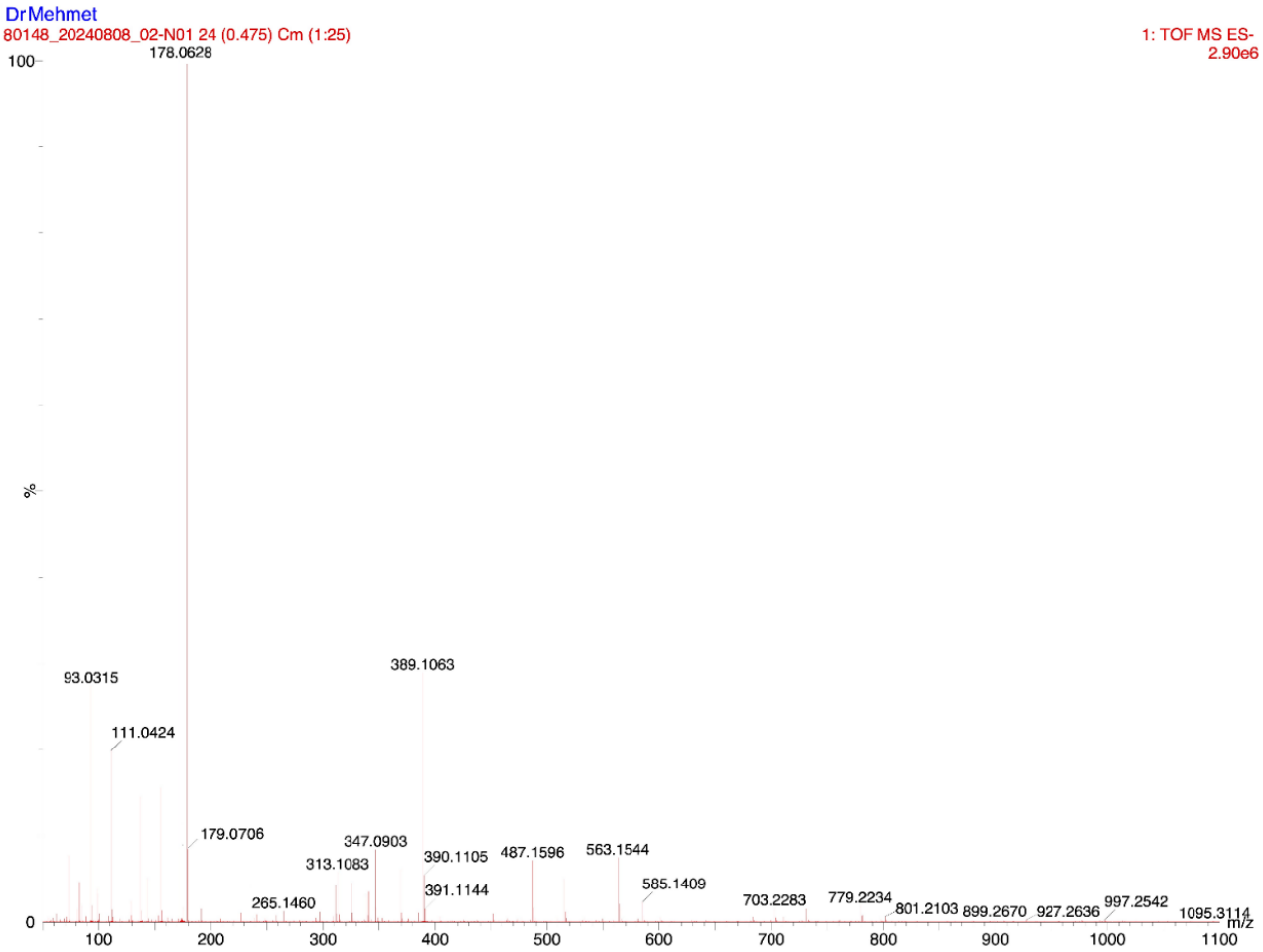
Şekil 3.142. TS.As.4.3 (14)'ün COSY spektrumu



Şekil 3.143. TS.As.4.3 (14)'ün HSQC spektrumu

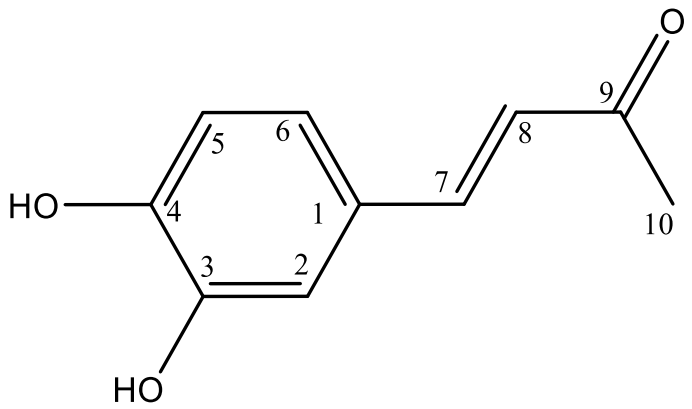


Şekil 3.144. TS.As.4.3 (14)'ün HMBC spektrumu



Şekil 3.145. TS.As.4.3 (14)'ün ESI$^-$-TOF kütle spektrumu

*3.9.4.4. TS.As.4.4 (**15**) = 4-(3,4-Dihidroksifenil)-3-büten-2-on*



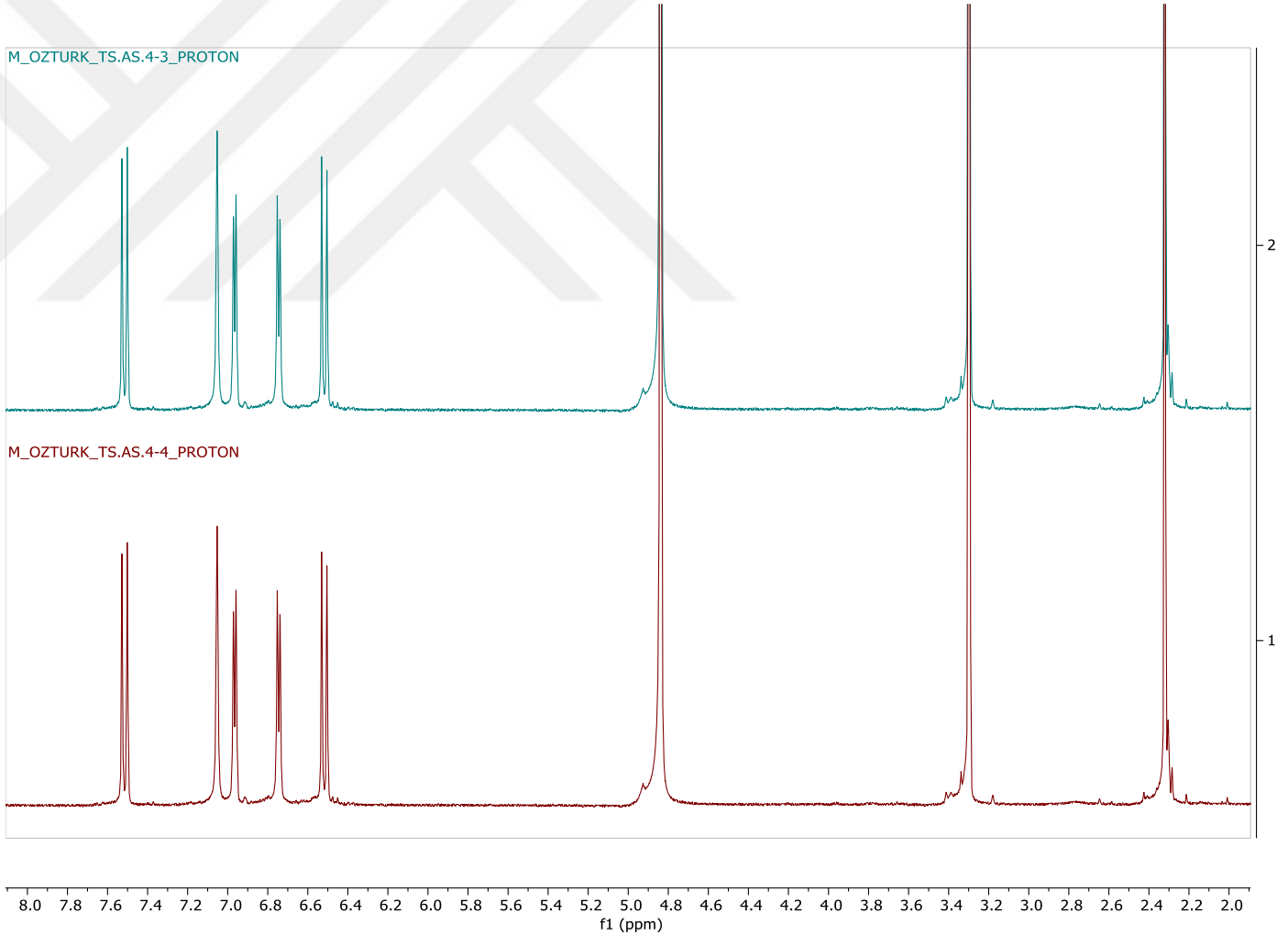
Şekil 3.146. TS.As.4.4 (15)'ün yapısı

Beyaz renkli olan TS.As.4.4 (**15**) (2,36 mg) amorf halde elde edildi (Şekil 3.146). Silika jel plakta UV lamba (254 nm) altında da görülen madde seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu kahverengi renk aldı.

Şekil 3.147'de TS.As.4.3 (**14**) ve TS.As.4.4 (**15**) maddelerinin ^{1}H-NMR spektrumları karşılaştırıldığında birebir benzerlik göstermesinden dolayı aynı kimyasal yapıda olduğunu düşünülmektedir. Bölüm 3.9.4 .3'de TS.As.4.3 **(14)** kodlu madde için ayrıntılı yapı tayini verilen spektrumlar nedeniyle bu madde için tekrar spektrum konulmadı. Bu bileşiğin ^{1}H-NMR değerleri Çizelge 3.28'de, ^{1}H-NMR, APT, 2D (HMBC) ve kütle spektrumları Şekil 3.140-3.145'de görülmektedir. Literatürde 4-(3,4-dihidroksifenil)-3-büten-2-on bileşiğinin daha önce izole edildiği rapor edilmiştir (Lyu vd, 2009 ve Béni vd, 2021). TS.As.4.4 (**15**) maddesi için ^{1}H-NMR spektral değerleri Çizelge 3.28'da verilmektedir.

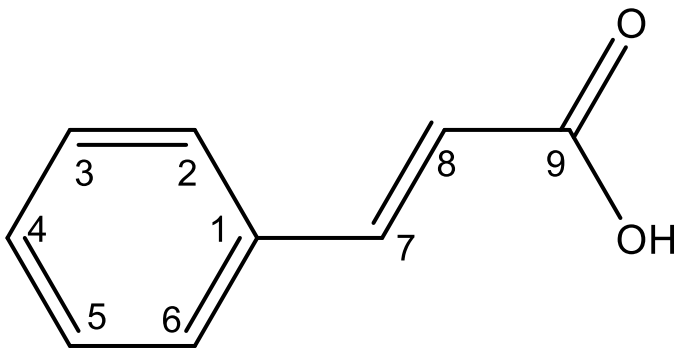
Çizelge 3.28. TS.As.4.4 (15)'ün NMR spektral değerleri

Pozisyon	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	C	
2	CH	7,08 (*s*, 1H)
3	C	
4	C	
5	CH	6,78 (*d*, *J*=8,12 Hz, 1H)
6	CH	7,00 (*d*, *J*= 7,96 Hz, 1H)
7	CH	7,55 (*d*, *J*=16,06 Hz, 1H)
8	CH	6,55 (*d*, *J*=16,10 Hz, 1H)
9	C	
10	CH_3	2,35 (*s*, 3H)



Şekil 3.147. TS.As.4.3 (14) ve TS.As.4.4 (15)'in ^{1}H-NMR spektrumlarının karşılaştırılması (CD_3OD, 600 MHz)

*3.9.4.5. TS.As.4.5 (**16**) = trans sinnamik asit*



Şekil 3.148. TS.As.4.5 (16)'in yapısı

Beyaz renkli olan TS.As.4.5 (**16**) (10 mg) maddesi amorf halde elde edildi (Şekil 3.148). Silika jel plakta UV lamba (254 nm) altında görülen madde seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) kahverengi renk aldı. TS.As.4.5 (**16**) yapı tayininde ^{1}H-NMR (Şekil 3.149) ve APT (Şekil 3.150), COSY (Şekil 3.151), HSQC (Şekil 3.152), HMBC (Şekil 3.153) ve TOF-MS (Şekil 3.157) spektrumları kullanıldı.

^{1}H-NMR ($CDCI_3$, δ (ppm), 500 MHz) spektrumunda δ 7,81 (*d*, *J*=15,99 Hz, 1H, H-7), 6,47 (*d*, *J*=15,97 Hz, 1H, H-8) zincirdeki çifte bağın metin protonlarını, δ 7,41 (*m*, H-4), 7,42 (*m*, H-3 ve H-5) ve 7,56 (*m*, H-2 ve H-6) aromatik protonlarına aittir. ^{1}H-NMR'de H-7 ve H-8 arasında gözlenen yarılma sabitinden (*J*=15,99 Hz) çift bağın *trans* izomerinde olduğunu göstermektedir.

^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$, δ (ppm), 125 MHz) ve HSQC spektrumu ile birlikte değerlendirildiğinde 7 adet metin ve 2 katerner karbon olmak üzere toplamda 9 karbona sahip olduğu izlendi. δ 172,7 (C-9) ppm'de izlenen karbon sinyali hidroksil bağlı karbonil grubuna, δ 128,5 (C2 ve C-6), 129,1(C-3 ve C-5) ve 130,9 (C-1) ppm'de aromatik metin karbonlarına ve δ 147,3 (C-7) ppm ve δ 117,4 (C-8) ppm'de izlenen pikler zincireki vinilik karbonlara ait olduğunu düşündürdü.

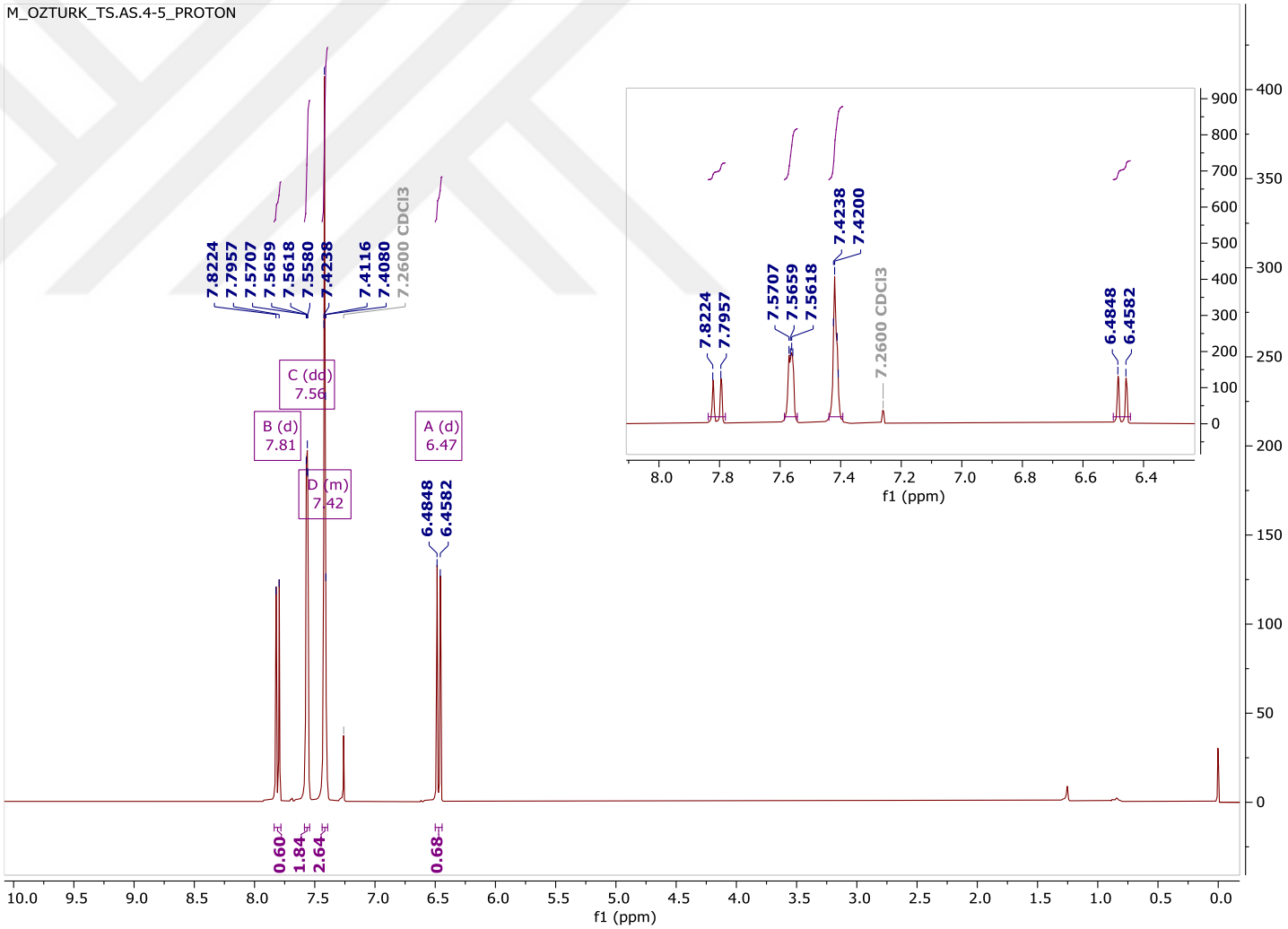
Elektrosprey uçuş zamanlı kütle spektrometrisinde (ESI$^-$-TOF-MS) *m/z* 148,0511'deki (calc. 148,0524) $[M]^+$ piki $C_9H_8O_2$ kapalı formülünü vererek NMR verilerini desteklemektedir.

^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektral değerleri (Çizelge 3.29) ve literatür verileri beraber değerlendirildiğinde TS.As.4.5 (**16**) bileşiğinin *trans*-sinnamik asit olduğu tespit

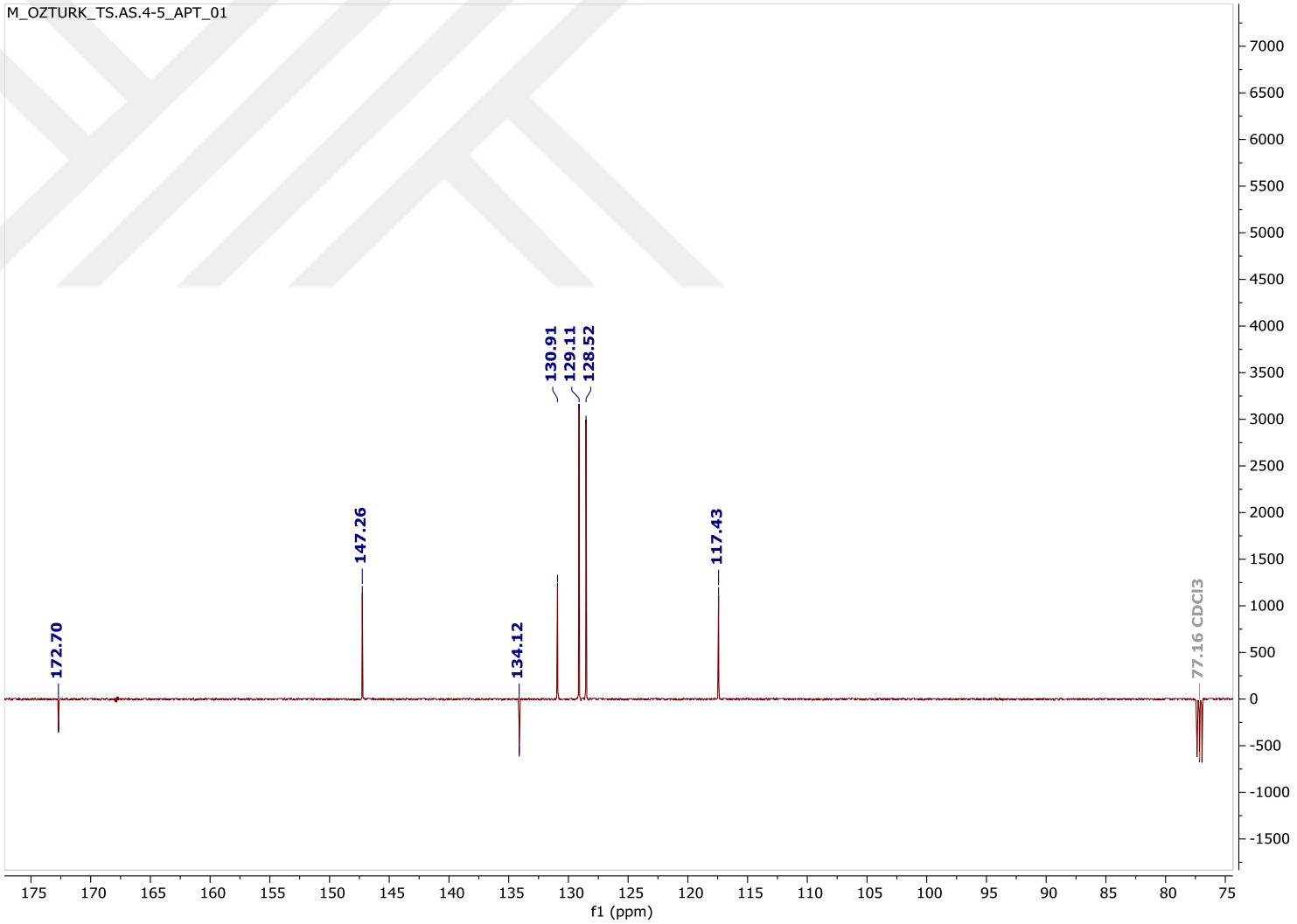
edildi. TS.As.4.5 (**16**)'nın literatürde *Rheum officinale* Baill.'in kuru köklerinden rapor edilmiştir (Liu vd, 2004).

Çizelge 3.29. TS.As.4.5 (16)'in NMR spektral değerleri

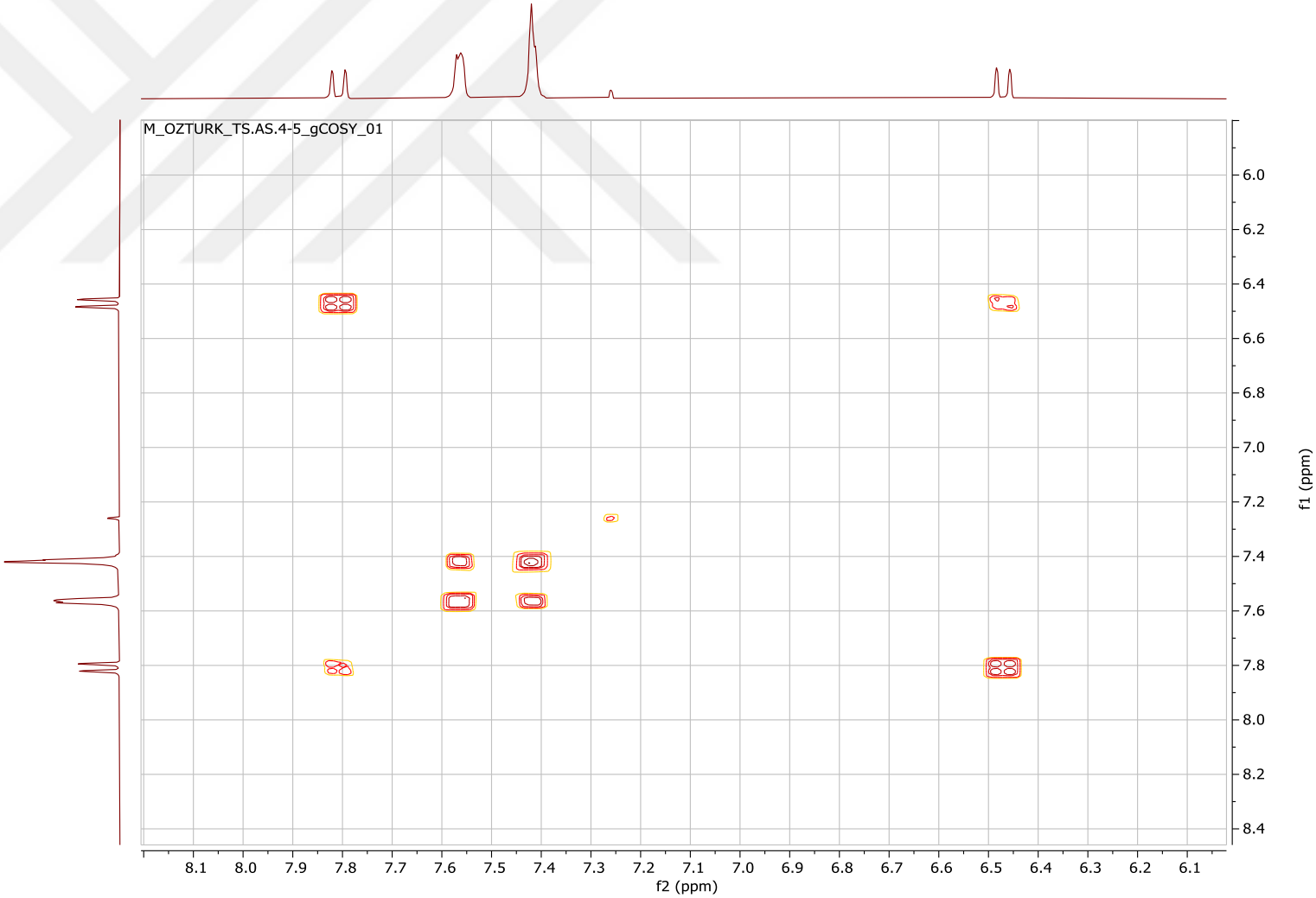
Pozisyon	^{13}C-NMR(δ)	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	134,1	C	-
2	128,5	CH	7,56 (*m*, 1H)
3	129,1	CH	7,42 (*m*, 1H)
4	130,9	CH	7,41 (*m*, 1H)
5	129,1	CH	7,42 (*m*, 1H)
6	125,8	CH	7,56 (*m*, 1H)
7	147,3	CH	7,81 (*d*, *J*=15,99 Hz, 1H)
8	117,4	CH	6,47 (*d*, *J*=15,97 Hz, 1H)
9	172,7	C	-



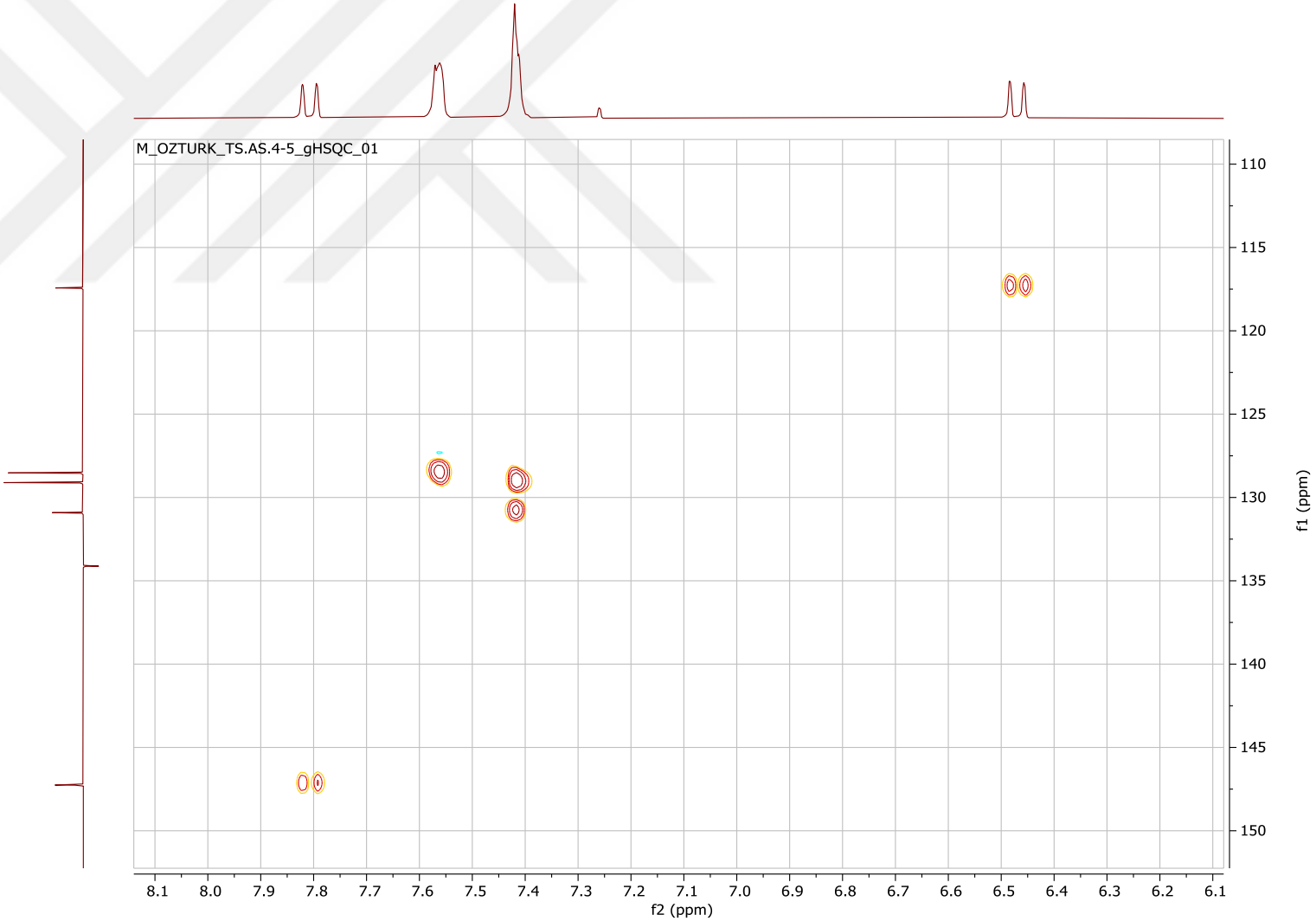
Şekil 3.149. TS.As.4.5 (16)'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)



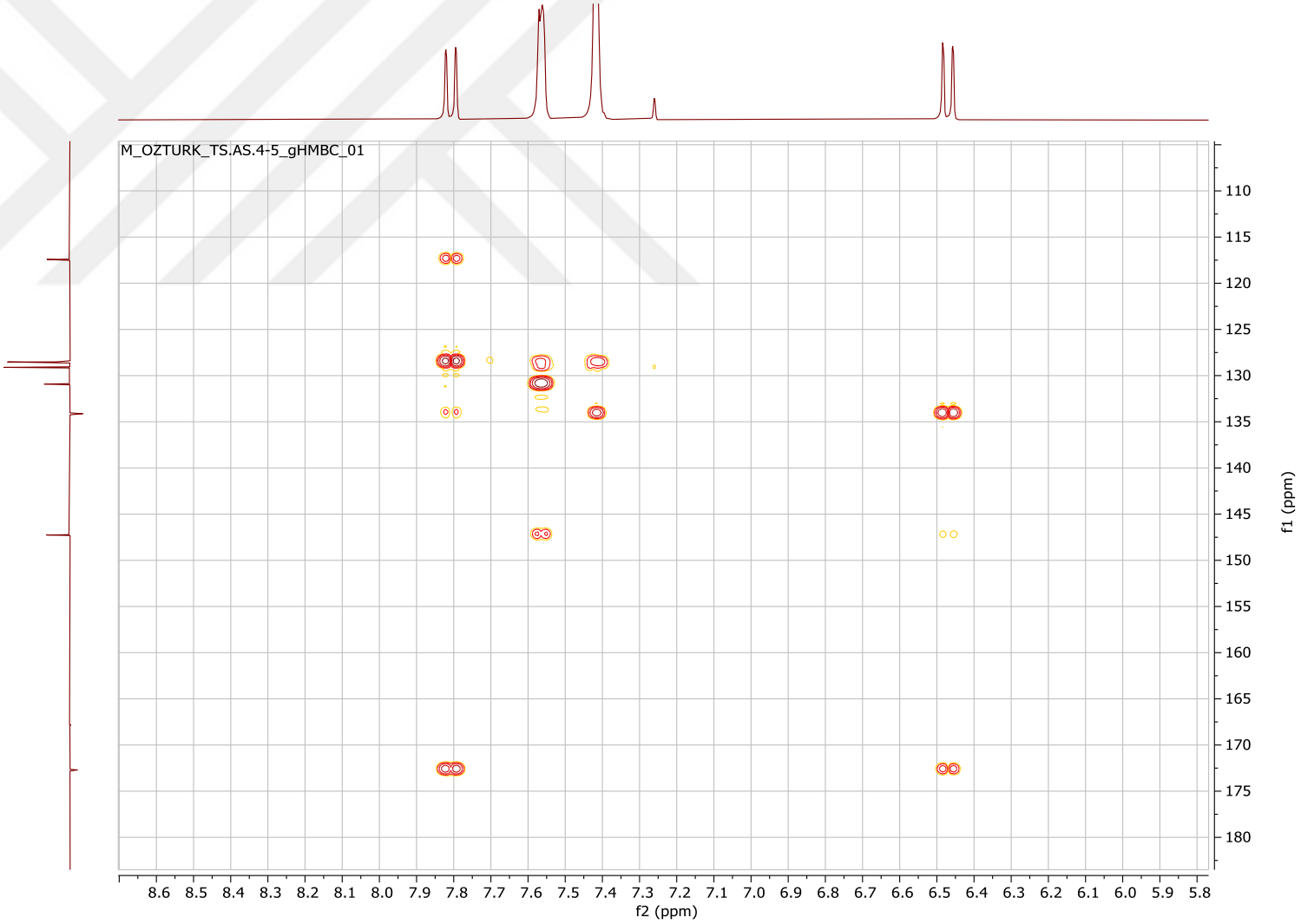
Şekil 3.150. TS.As.4.5 (16)'in APT spektrumu ($CDCl_3$, 125 MHz)



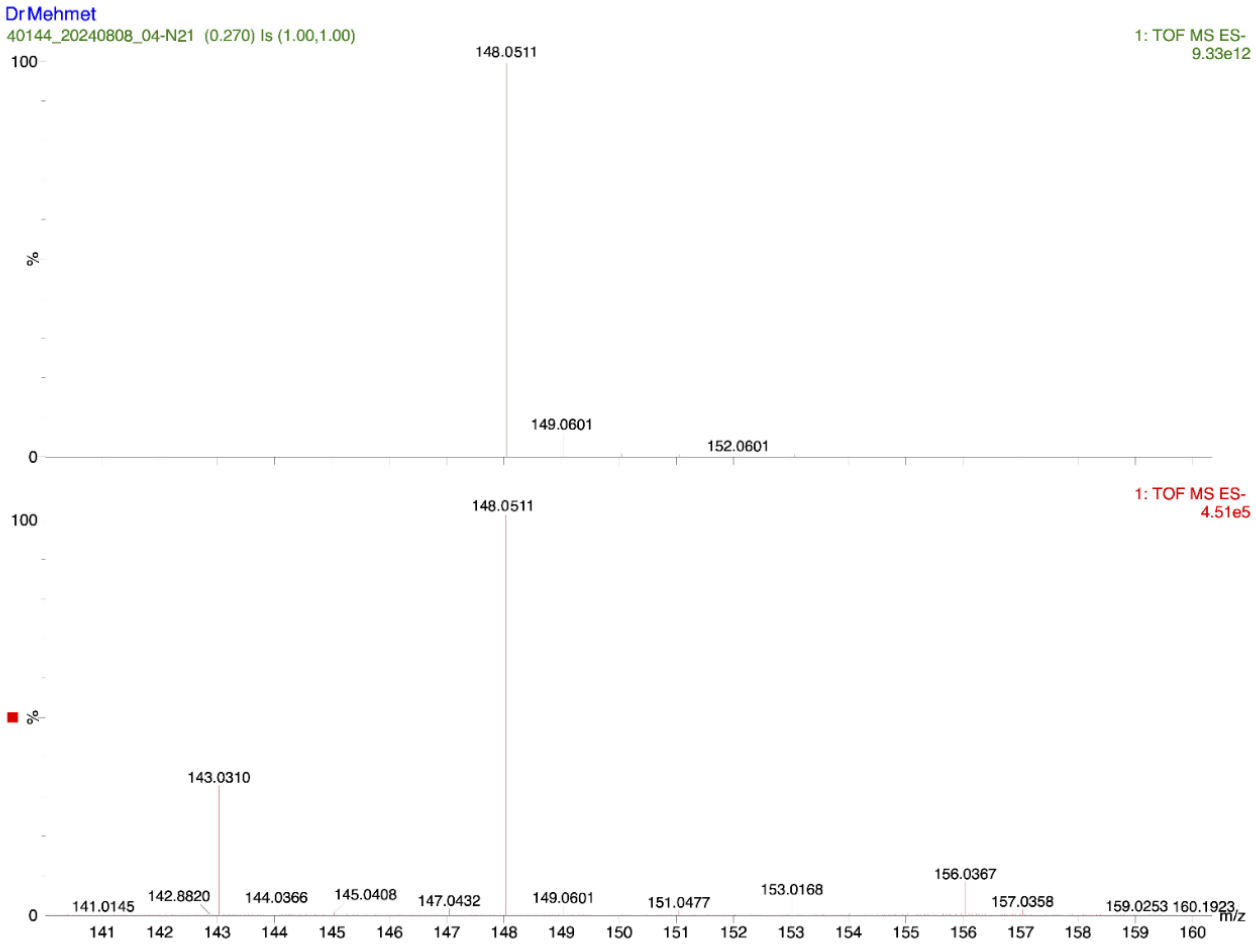
Şekil 3.151. TS.As.4.5 (16)'in COSY spektrumu



Şekil 3.152. TS.As.4.5 (16)'in HSQC spektrumu

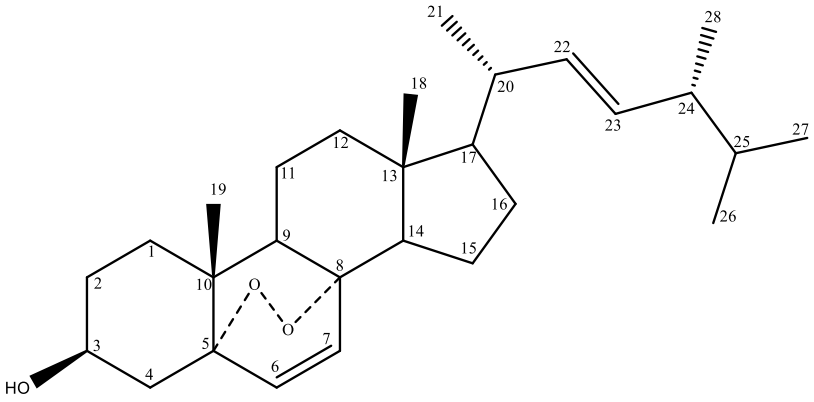


Şekil 3.153. TS.As.4.5 (16)'in HMBC spektrumu



Şekil 3.154. TS.As.4.5 (16)'in ESI$^-$-TOF kütle spektrumu

*3.9.4.6. TS.As.4G.6 (**17**) = Ergesterol peroksit*



Şekil 3.155. TS.As.4G.6 (17)'nın yapısı

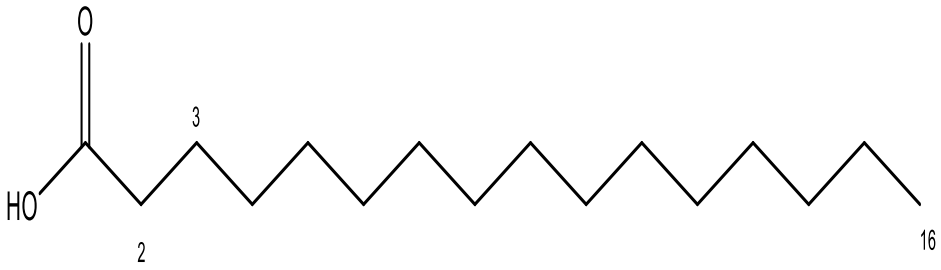
TS.As.4G.6 (**17**) bileşiği (6,8 mg) amorf halde elde edildi (Şekil 3.155). TS.As.4G.6 (**17**) kodlu madde silika jel plakta UV lamba (254 nm) altında görülen madde seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu kahve renk aldı.

^{1}H-NMR spektrumu daha önce izole ettiğimiz TS.As.4.1 (**12**) kodlu madde ile uyuşmaktadır. TS.As.4G.6 (**17**) bileşiğinin yapısı ergesterol peroksit olarak belirlendi. Bölüm 3.9.4.1.'de TS.As.4.1 **(12)** kodlu madde için verilen spektrumlar nedeniyle bu madde için tekrar spektrum konulmadı. Bu bileşiğin ^{1}H-NMR değerleri Çizelge 3.30'da; ^{1}H-NMR, APT, 2D (HMBC) ve EI-MS spektrumları Şekil 3.126-3.131'de görülmektedir. Ergesterol peroksit bileşiği TS.As.3.4 (**4**) (Bölüm 3.9.2.1.'de) fraksiyonundan da izole edilmiştir (Sgarbi vd, 1997).

Çizelge 3.30. TS.As.4G.6 (17)'nın NMR spektral değerleri

Pozisyon	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	CH_2	1,65 (*m*, 1H); 1,98 (*m*, 1H)
2	CH_2	1,49 (*m*, 1H); 1,83 (*m*, 1H)
3	CH	3,98 (*m*, 1H)
4	CH_2	1,90 (*m*, 1H); 2,15 (*m*, 1H)
5	C	
6	CH	6,25 (*t*, *J* = 8,45 Hz, 1H)
7	CH	6,51 (*t*, *J* = 8,45 Hz, 1H)
8	C	
9	CH	1,58 (*t*, 1H)
10	C	
11	CH_2	1,40 (*m*, 1H); 1,60 (*m*, 1H)
12	CH_2	1,25 (*m*, 1H); 1,93 (*m*, 1H)
13	C	
14	CH	1,50 (*m*, 1H)
15	CH_2	1,20 (*m*, 1H); 1,51 (*m*, 1H)
16	CH_2	1,36 (*m*, 1H); 1,75 (*m*, 1H)
17	CH	1,23 (*m*, 1H)
18	CH_3	0,74 (*s*, 3H)
19	CH_3	0,88 (*s*, 3H)
20	CH	2,02 (*m*, 1H)
21	CH_3	1,0 (*d*, *J* =6,59 Hz, 3H)
22	CH	5,14 (*dd*, *J* = 15,44, 8,30 Hz, 1H)
23	CH	5,22 (*dd*, *J* = 15,29, 7,53 Hz, 1H)
24	CH	1,91 (*m*, 1H)
25	CH	1,43 (*m*, 1H)
26	CH_3	0,84 (*d*, *J*= 2,41 3H)
27	CH_3	0,82 (*d*, *J*= 2,41 3H)
28	CH_3	0,91 (*d*, *J*=6,74 3H)

*3.9.4.7. TS.As.4.7 (**18**) = Tetradekanoik asit*



Şekil 3.156. TS.As.4.7 (18)'nin yapısı

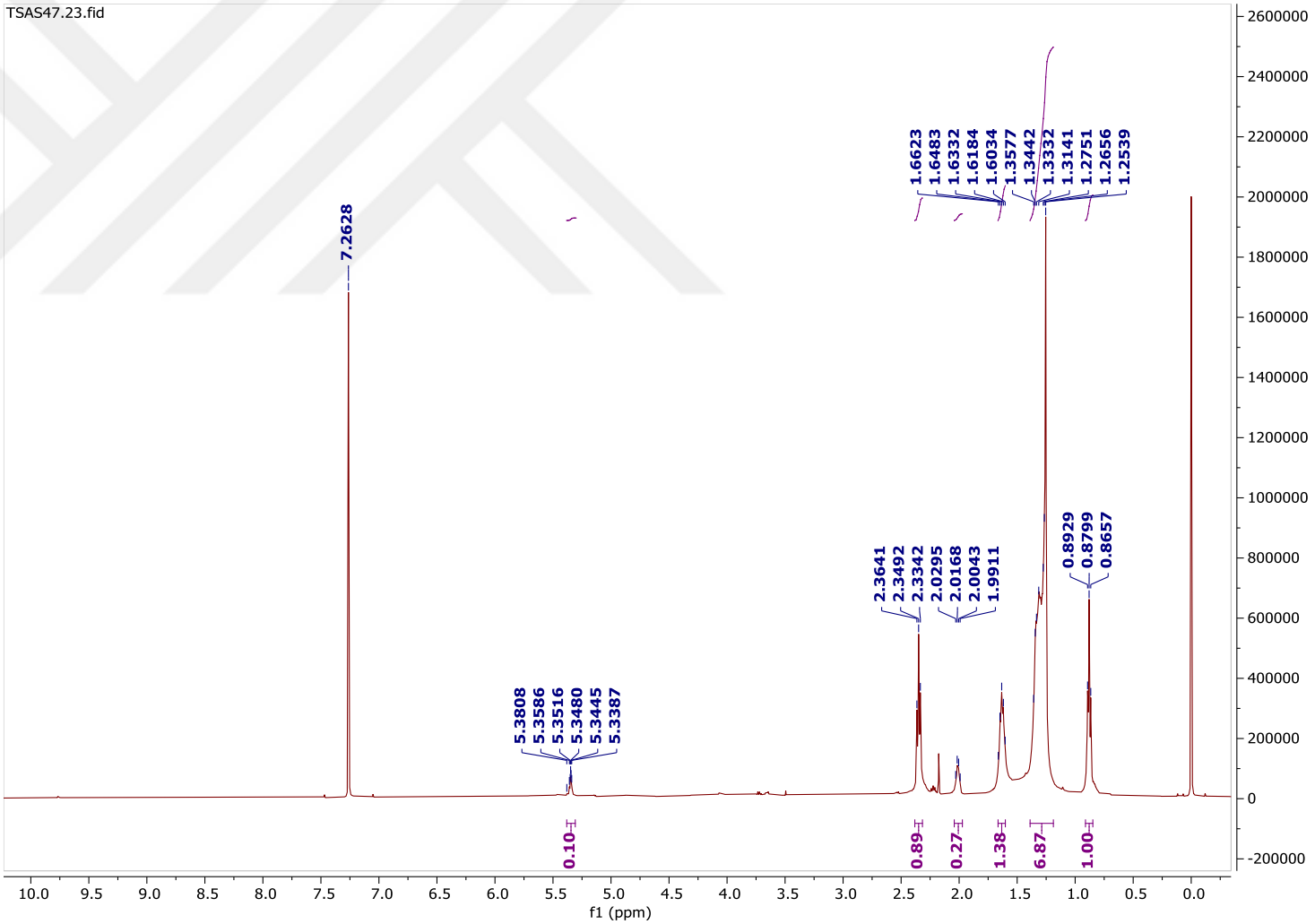
TS.As.4.7 (**18**) (2,5 mg) maddesi jelimsi halde elde edildi (Şekil 3.156). Silika jel plakta UV lamba (254 nm) altında görülen madde seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu kahverengi renk aldı.

^{1}H-NMR spektrumunda (500 MHz, δ (ppm), $CDCI_3$) (Şekil 3.157) δ 0,88 (*t*, *J*=6,8 Hz, 3H, H-16) metil piki izlendi. δ 2,35 (*t*, *J*=7,4 Hz, 2H, H-2) ve δ 1,63 (*m*, 2H, H-3) ile δ 1,26-1,31 (*m*, H-4 ile H-13 arasında) ppm'de değişen metilen pikleri izlendi.

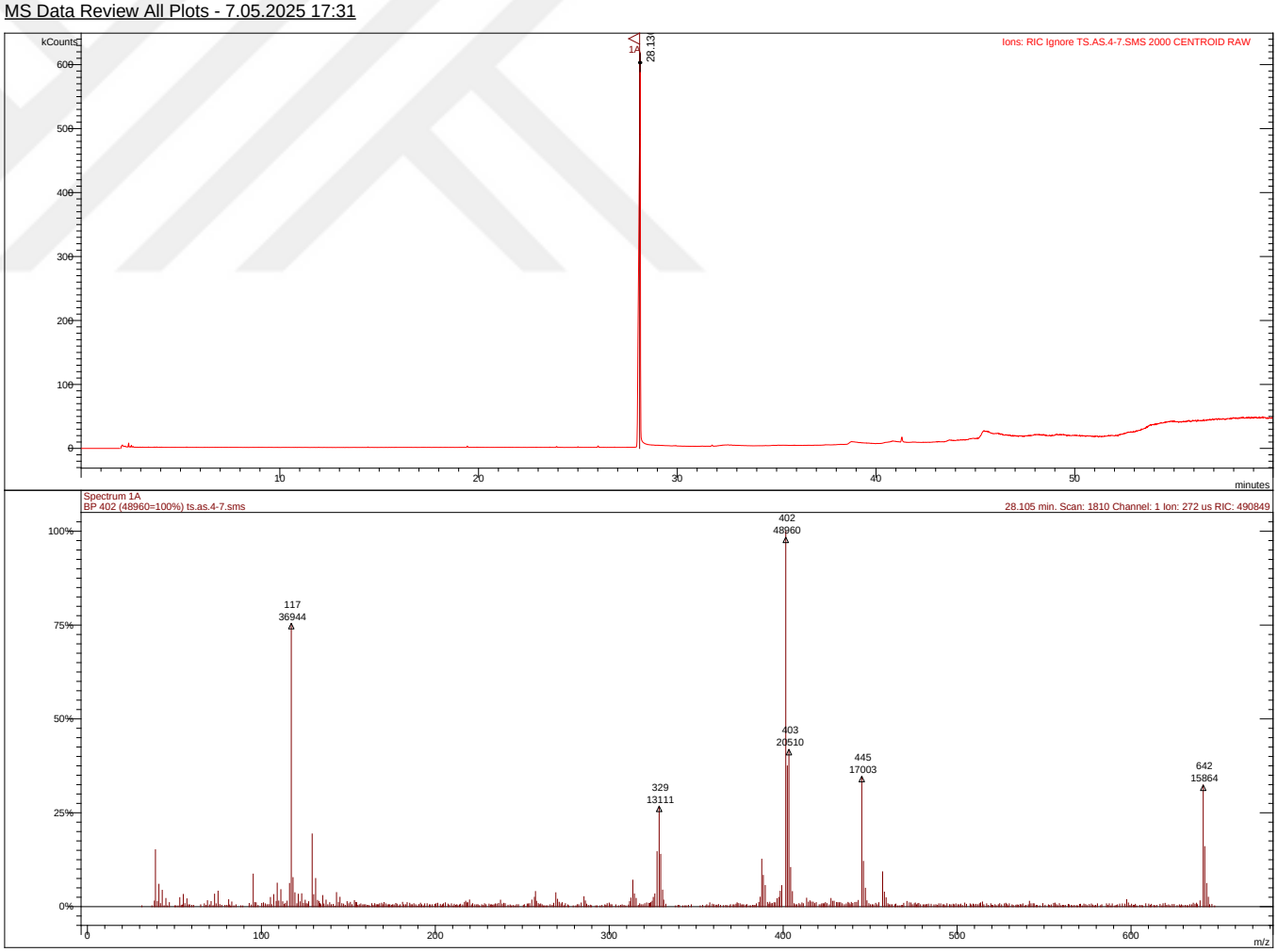
Yapıyı doğrulamak içn madde silillenip GC-MS analizi yapıldı (Şekil 3.158). ^{1}H-NMR spektrumu, GC-MS ile değerlendirildiğinde TS.As.4.7 (**18)** maddesinin yapısının palmitik asit (Tetradekanoik asit) (Şekil 3.156) olduğu belirlendi (Davis vd, 1999 Schaefer, 1974). TS.As.4.7 (**18**) maddesi için ^{1}H-NMR spektral değerleri Çizelge 3.31'de verilmektedir.

Çizelge 3.31. TS.As.4.7 (18)'nin NMR spektral değerleri

Pozisyon	Karbon Türü	1H-NMR (δ)
1	C	
2	CH_2	2,35 (*t*, *J*=7,4 Hz, 2H)
3	CH_2	1,64 (*m*, 2H)
4-13	CH_2	1,23-1,31 (*m*, 2H)
14	CH_2	1,27 (*m*, 2H)
15	CH_2	1,31 (*m*, 2H)
16	CH_3	0,88 (*t*, *J*=6,8, 3H,)



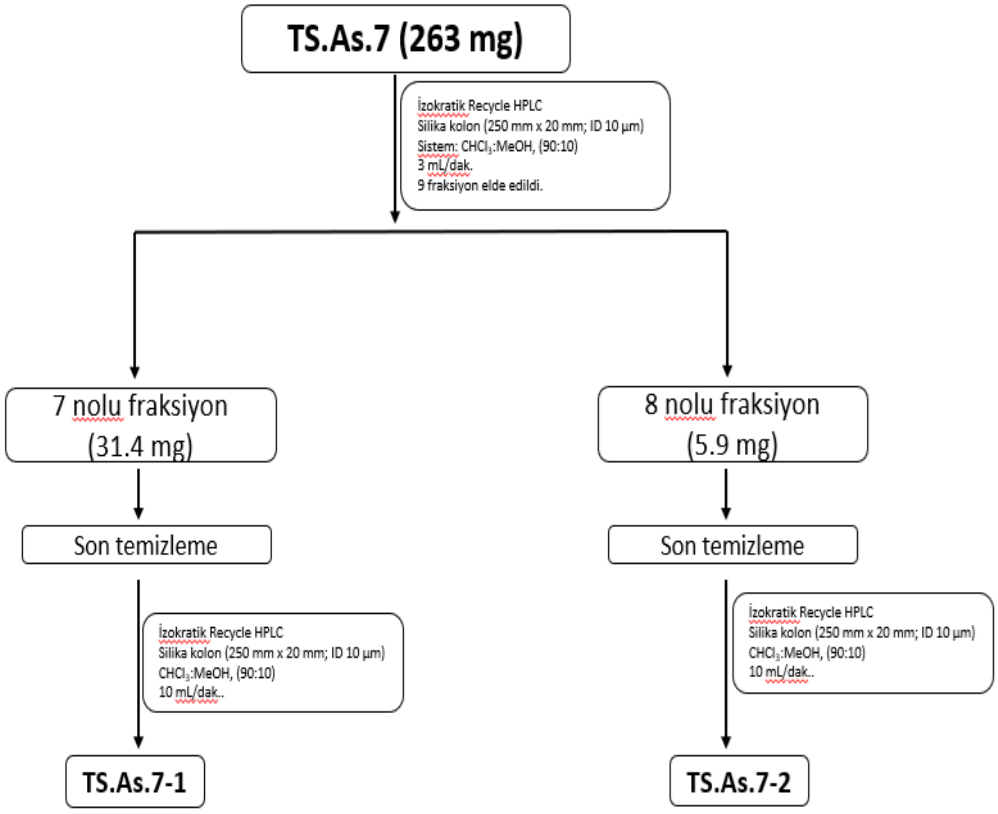
Şekil 3.157. TS.As.4.7 (18)'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)



Şekil 3.158. TS.As.4.7 (18)'nin silillenmiş GC-MS kromatogramı ve kütle spektrumu

3.9.5. TS.As.7 biyoaktif fraksiyonundan saf maddelerin elde edilmesi

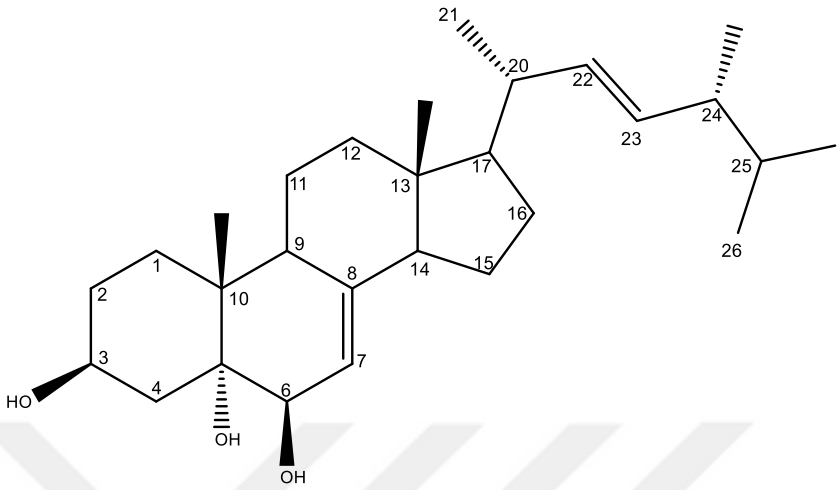
TS.As.7 kodlu fraksiyon (263 mg) JAIGEL -SIL, SH-043-15 (SI, 250 x 20 mm ID, 10 µm) kolon bağlı izokratik recycle HPLC-UV-RI cihazında çalışıldı. Bu amaçla izokratik çözücü sistemi $CHCl_3$:MeOH (90:10) seçildi. Akış hızı kromatogramdaki rezolusyona göre dakikada 3 mL'ye ve dedektör 254 nm'ye ayarlandı. UV aktif olmayan maddeler ise sadece RI dedektörde izlendi. TS.As.7 fraksiyonundan TS.As.7.1 ve TS.As.7.2 maddeleri saflaştırıldı. TS.As.7'nin fraksiyondan saflaştırılan 2 maddenin yapılarını aydınlatmak ^{1}H-NMR, APT, DEPT,^{13}C-NMR, HSQC, COSY ve HMBC spektrumları alındı. Şekil 3.159'da TS.As.7 fraksiyonunun fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen saf bileşiklerin elde edilme şeması verildi.



Şekil 3.159. TS.As.7 alt fraksiyonundan saf bileşiklerin (1-2) izolasyon şeması

3.9.6. TS.As.7 biyoaktif fraksiyonundan elde edilen saf maddelerin yapı tayin

*3.9.6.1. TS.As.7.1 (**19**) = Serevisterol*



Şekil 3.160. TS.As.7.1 (19)'in yapısı

TS.As.7.1 (**19**) maddesi amorf halde elde edildi (Şekil 3.160). Bileşik İTK üzerinde seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105˚C) kahverengimsi renk olmaktadır. TS.As.7.1 (**19**) maddesinin yapısı spektroskopik yöntemler ile aydınlatıldı.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$+CD_3OD, δ (ppm), 500 MHz), (Şekil 3.161) spektrumunda δ 5,26 (br. *s*, H-7,1H), δ 5,12 (*dd*, *J* = 15,41; 8,14 Hz, 23-H,1H), δ 5,18 (*dd*, *J* = 14,93; 7,19 Hz, 22-H,1H) ppm'de vinilik hidrojen pikleri ve δ 3,94 (*tt*, *J* = 10,85; 4,86, 4,86 Hz, 1H, H-3) ile δ 3,52 (br,*s*, H-6, 1H) ppm'de hidroksile bağlı olan hidrojen pikleri izlenmektedir. Ergostan tipi steroidlere karakteristik olan 6 adet metil piki sırasıyla δ 1,02 (*s*, 3H, H-19), δ 0,98 (*d*, *J* =6,74 Hz, 3H, H-21), δ 0,88 (*d*, *J*=6,77 Hz, 3H, H-28), δ 0,78 (*d*, *J*=7,0 Hz, 3H, H-26), δ 0,80 (*d*, *J*=7,0 Hz, 3H, H-27), δ 0,57 (*s*, 3H, H-18) ppm'de izlendi.

^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$+CD_3OD, δ (ppm), 125 MHz, (Şekil 3.162) ve HSQC (Şekil 3.164) spektrumu ile birlikte değerlendirildiğinde 6 metil, 8 metilen, 10 metin ve 4 katerner karbon izlendi. δ 11,9 (C-18), 17,9 (C-19), 17,3 (C-28), 19,3 (C-26), 19,6 (C-27), 20,8 (C-21) sinyalleri karakteristik metil karbonlarına aittir. δ 67,0 (C-3), 75,7 (C-5), 72,8 (C-6) ppm'de rezonans olan pikler oksijene bağlı karbonlar ve 117,3

(C-7), 135,8 (C-22), 131,8 (C-22) ve 143,0 (C-8) ppm'de rezonans olan pikler ise moleküldeki vinilik karbonlara aittir. ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektrumları beraber değerlendirildiğinde ergostan tipi bir yapıyı düşündürdü. COSY (Şekil 3.163) ve HMBC (Şekil 3.165) spektrumları ile yapı doğrulandı.

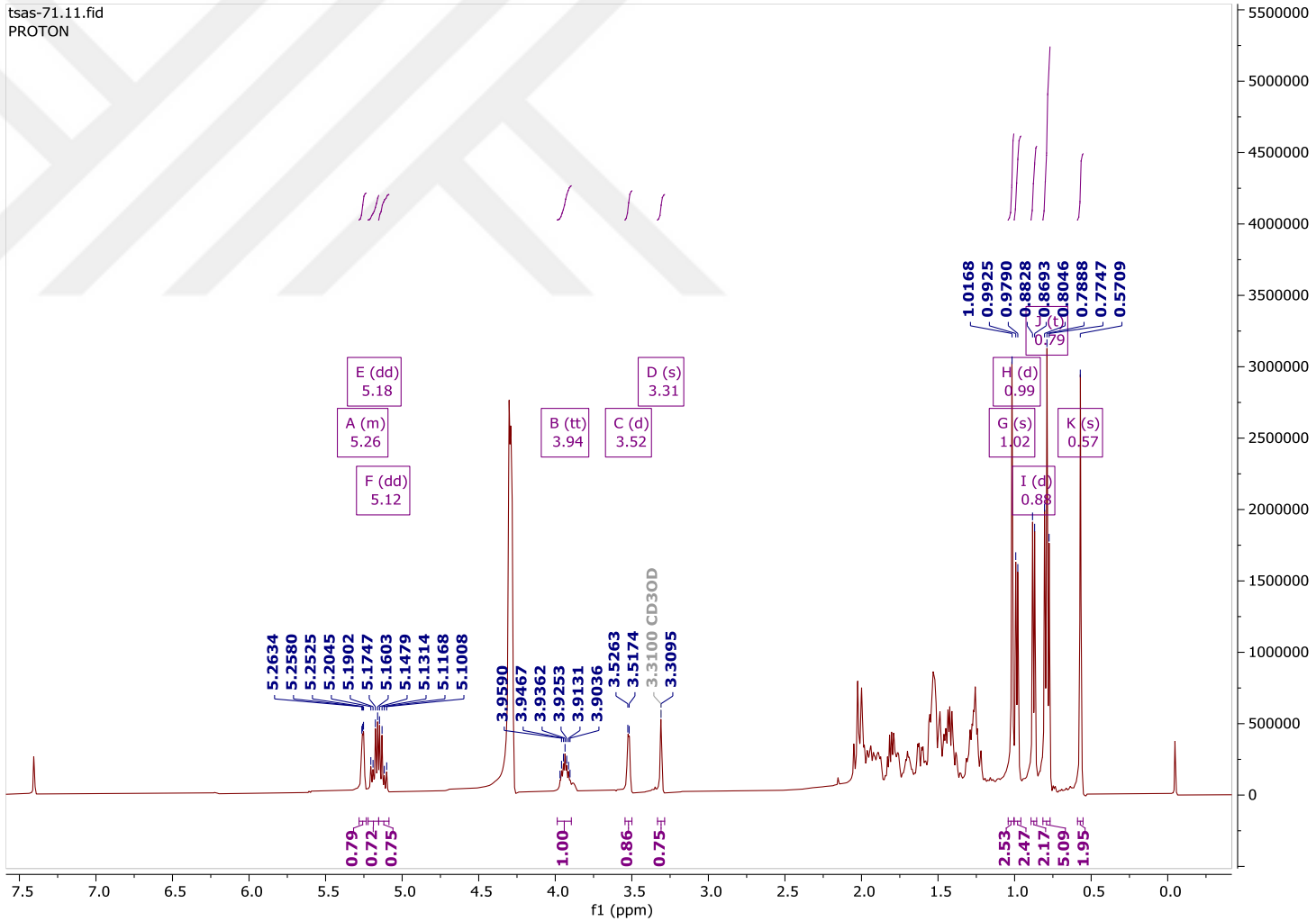
Elektrosprey uçuş zamanlı kütle spektrometrisinde (ESI^+-TOF-MS) (Şekil 3.166) *m/z* 430,3438'deki (calc. 430,3447) $[M]^+$ piki ($C_{28}H_{46}O_3$) yapısını verdi. Yapıdan suyun ayrılmasıyla *m/z* 412,3339'deki (calc. 412,3341) $[M\text{-}H_2O]^+$ ($C_{28}H_{44}O_2$) piki izlendi. ESI^+-TOF kütle spektrumu, NMR değerleri ile uyuşmaktadır.

Serevisterol'ün göreceli konfigürasyonunu tayin etmek için *J* bazlı konfigürasyon analizi kullanıldı (Kawagishi vd, 1988). δ 3,94 (*tt*, *J* = 10,85; 4,86, 4,86 Hz, 1H, 3-H) ppm'de görülen triplet triplet yapıda ki pikler 3-OH'ın β olduğunu gösterdi. δ 3,52'de gözlenen pikin H-6'nın *J* değeri, literatürde rapor edilen ile aynıdır. δ 3,52 (br,*d*, *J* = 4,42 Hz, 1H, H-6) ppm'de görülen yarılma hidroksil grubunun β-OH konumunda olduğunu önerdi. Diğer kiral merkezlerin konfigürasyonu literatürde rapor edilen Serevisterol ile aynıdır (Piccialli ve Sica, 1987; Kawagishi vd, 1988; Athanasakis vd, 2013; Kaplaner, vd, 2023)

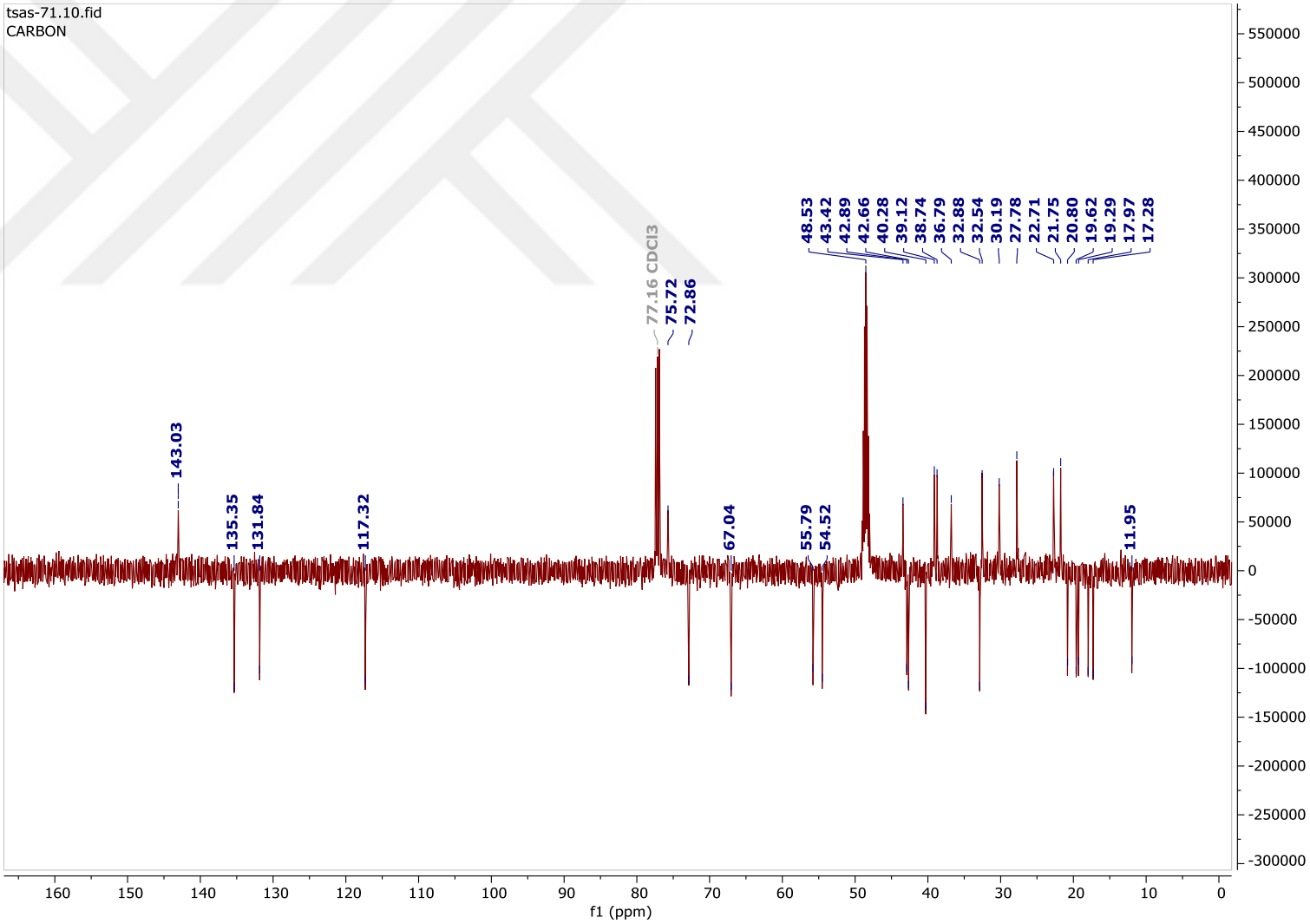
Tüm spektroskopik veriler ve literatür çalışmaları sonucunda TS.As.7.1 (**19**) bileşiğin yapısı Serevisterol olarak belirlendi. (Piccialli ve Sica, 1987). Bileşiğin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR değerleri Çizelge 3.32'de verilmektedir.

Çizelge 3.32. TS.As.7.1 (19)'in NMR spektral değerleri

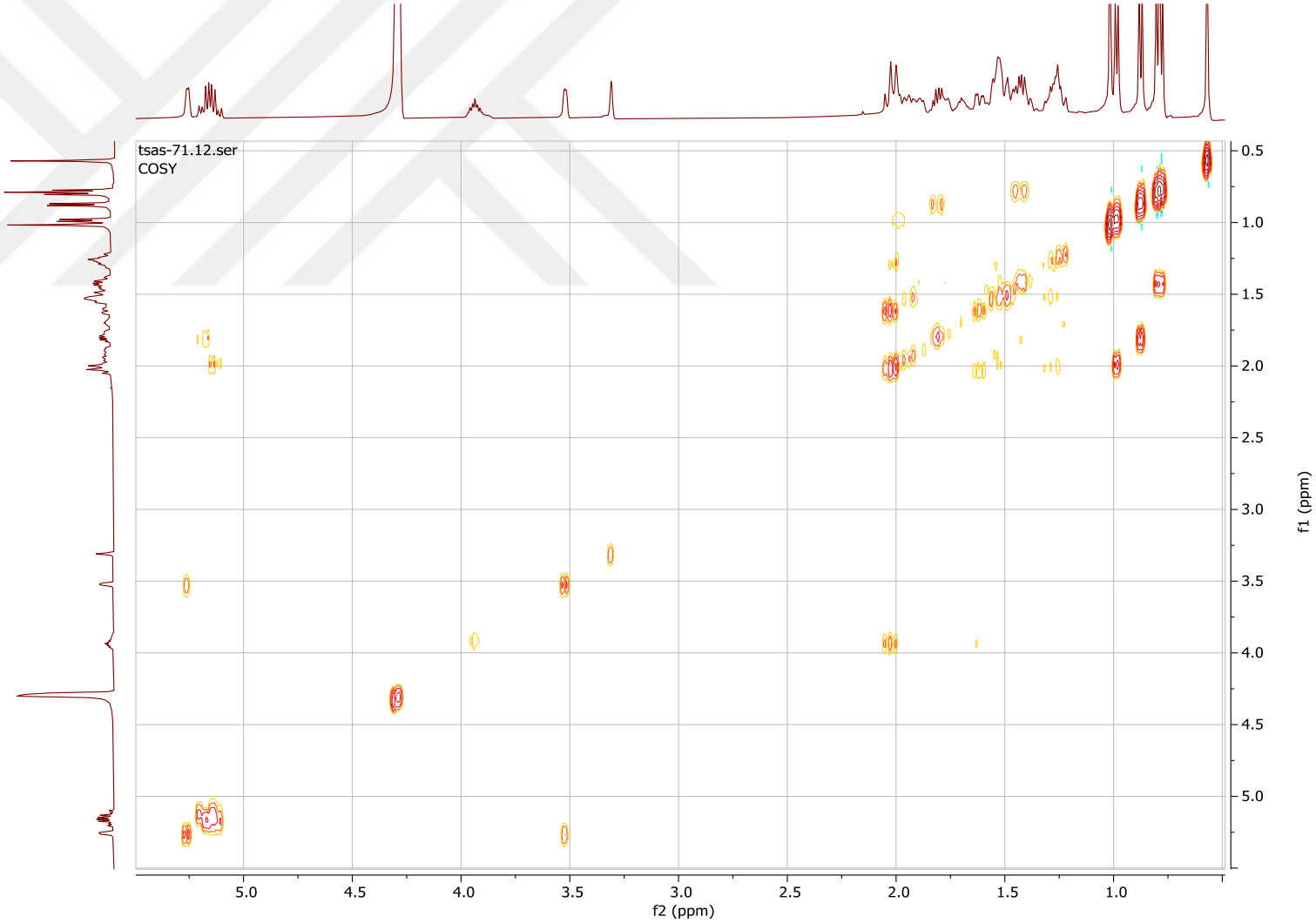
Pozisyon	^{13}C-NMR(δ)	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	32,5	CH_2	1,48 (*m*, 1H); 1,55 (*m*, 1H)
2	30,2	CH_2	1,38 (*m*, 1H); 1,77 (*m*, 1H)
3	67,0	CH	3,94 (*tt*, *J* = 10,85; 4,86, 4,86 Hz, 1H)
4	39,1	CH2	1,28 (*m*, 1H); 2,01 (*m*, 1H)
5	75,7	C	
6	72,8	CH	3,52 (br, *s*, 1H)
7	117,3	CH	5,26 (br, *s*, 1H)
8	143,0	C	
9	42,9	CH	1,92 (*m*, 1H)
10	36,8	C	
11	21,7	CH_2	1,41 (*m*, 1H); 1,52 (*m*, 1H)
12	38,7	CH_2	1,62; 2,02 (*dd*, *J* = 13,44; 4,54 Hz, 1H)
13	43,4	C	
14	54,5	CH	1,89 (*tt*, *J* = 23,91; 9,07 Hz, 1H)
15	22,7	CH_2	1,27 (*m*, 1H); 1,52 (*m*, 1H)
16	27,8	CH_2	1,25 (*m*, 1H); 1,70 (*m*, 1H)
17	55,8	CH	1,26 (*m*, 1H)
18	11,9	CH_3	0,57 (*s*, 3H)
19	17,9	CH_3	1,02 (*s*,3H)
20	40,3	CH	1,98 (*m*, 1H)
21	20,8	CH_3	0,98 (*d*, *J* =6,74 Hz, 3H)
22	135,4	CH	5,12 (*dd*, *J* = 15,41; 8,14 Hz, 1H)
23	131,8	CH	5,18 (*dd*, *J* = 14,93; 7,19 Hz, 1H)
24	42,7	CH	1,81 (*m*, 1H)
25	32,9	CH	1,42 (*m*, 1H)
26	19,6	CH_3	0,78 (*d*, *J*=7,0 Hz, 3H)
27	19,3	CH_3	0,80 (*d*, *J*=7,0 Hz, 3H)
28	17,3	CH_3	0,88 (*d*, *J*=6,77 Hz, 3H)



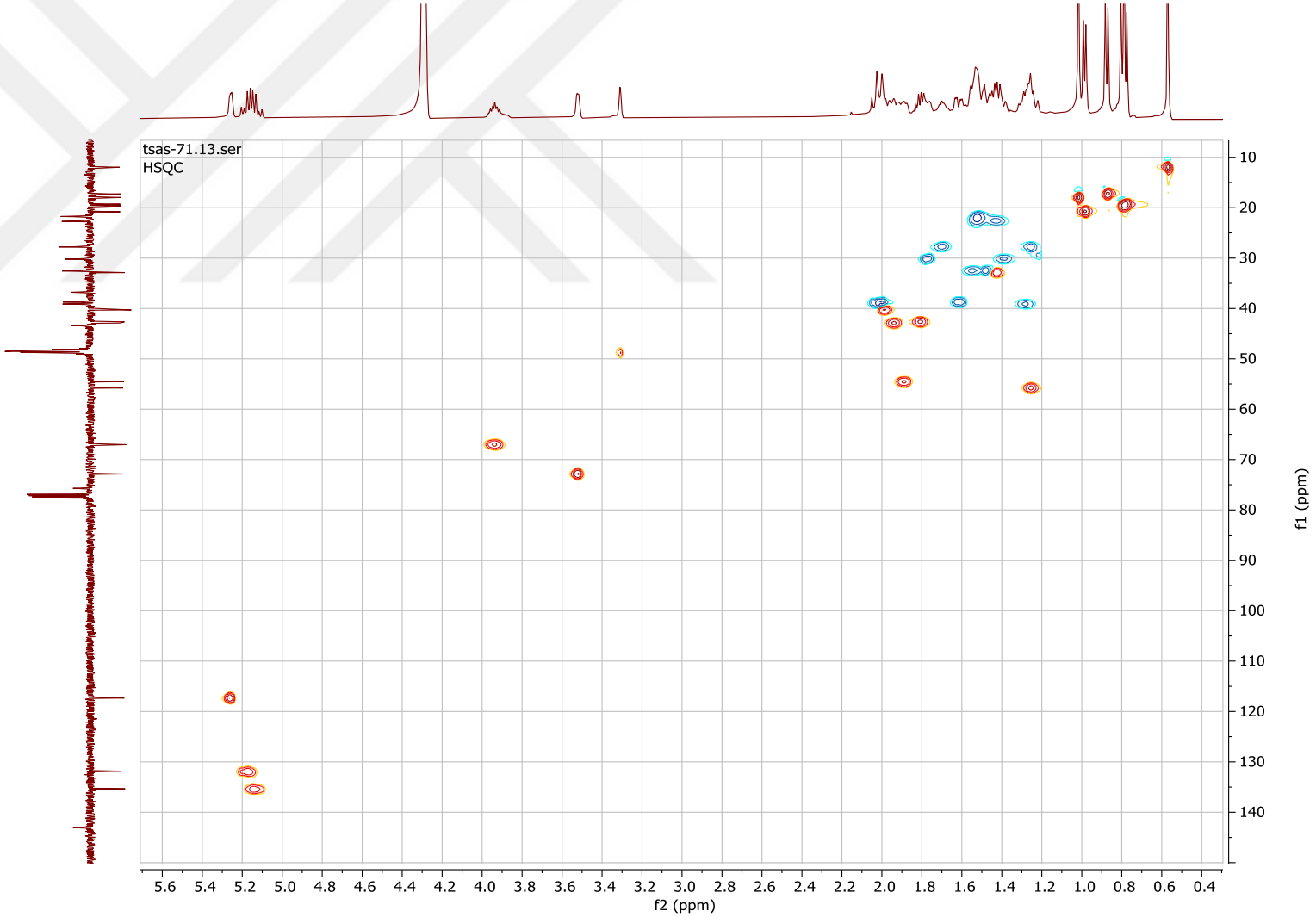
Şekil 3.161. TS.As.7.1 (19)'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$+CD_3OD, 500 MHz)



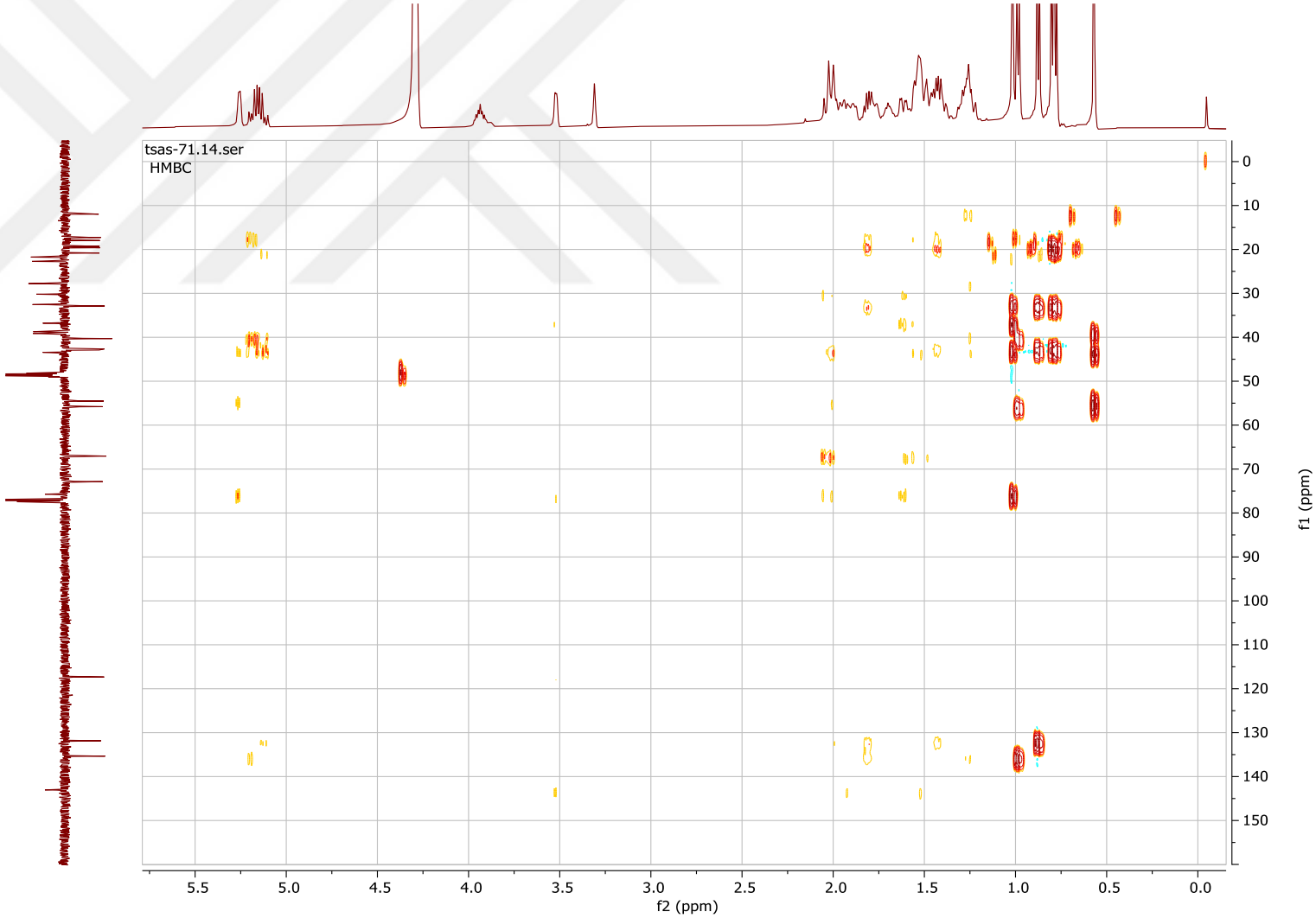
Şekil 3.162. TS.As.7.1 (19)'in ^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$+CD_3OD, 125 MHz)



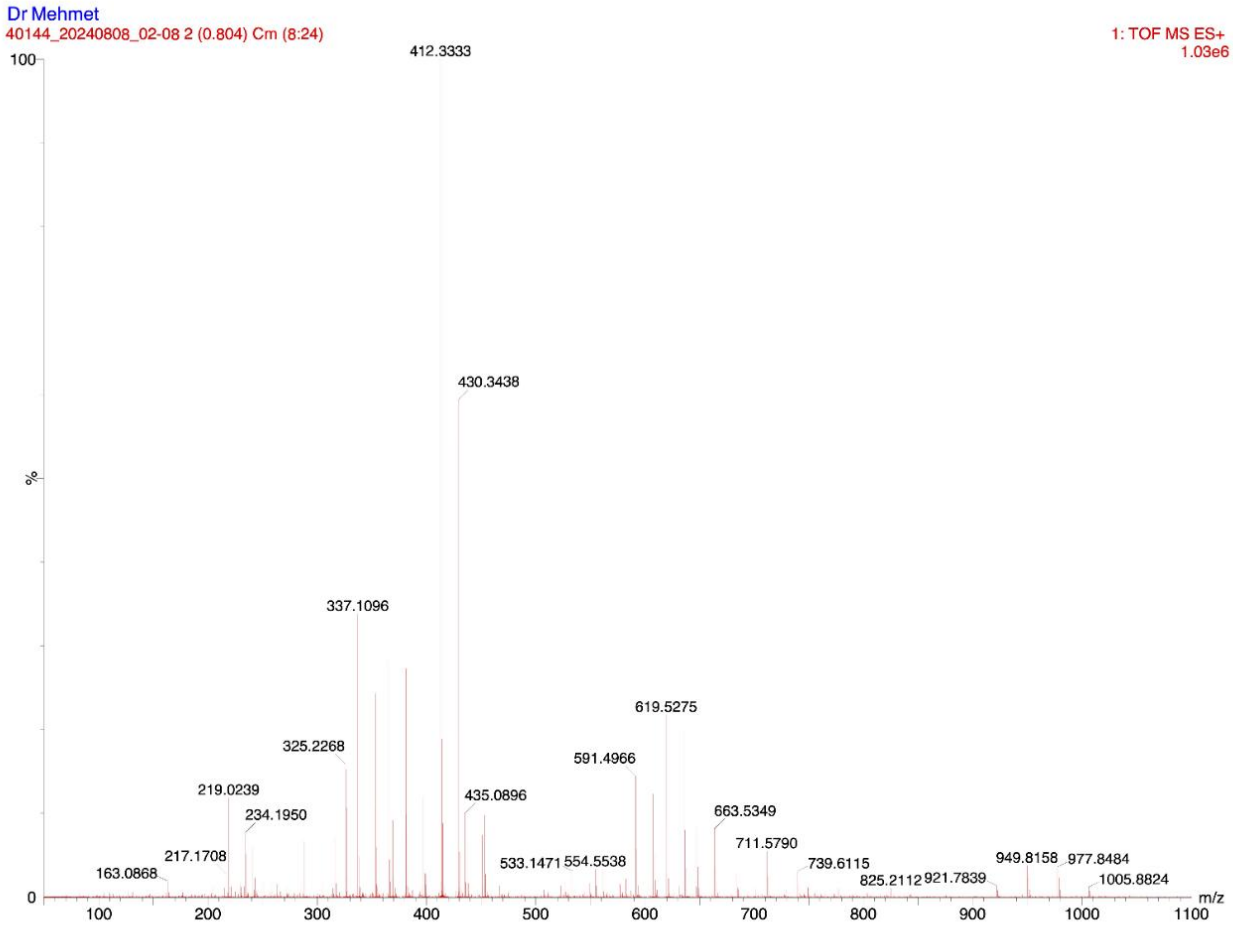
Şekil 3.163. TS.As.7.1 (19)'in COSY spektrumu



Şekil 3.164. TS.As.7.1 (19)'in HSQC spektrumu

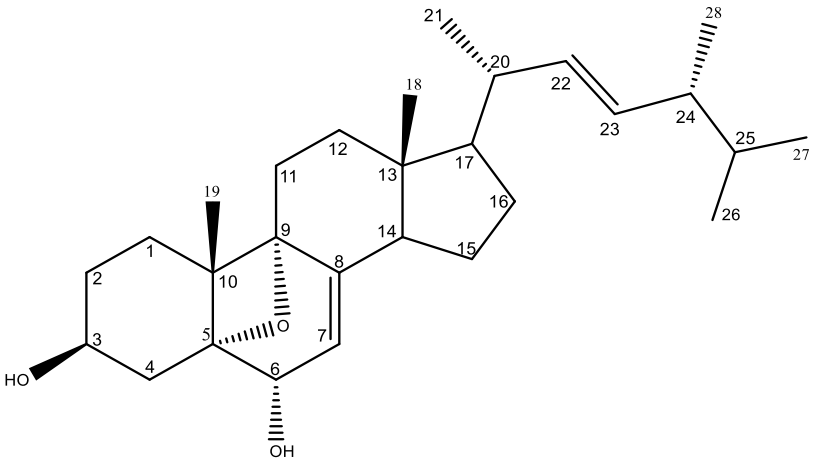


Şekil 3.165. TS.As.7.1 (19)'in HMBC spektrumu



Şekil 3.166. TS.As.7.1 (19)'in ESI$^+$-TOF kütle spektrumu

*3.9.6.2. TS.As.7.2 (**20**) = 5α,9α-epoksi ergosta-7,22-dien 3β,6β -diol*



Şekil 3.167. TS.As.7.2 (20)'nin yapısı

Beyaz renkli olan TS.As.7.2 (**20**) (3,24 mg) maddesi amorf halde elde edildi (Şekil 3.167). Silika jel plakta UV lamba (254 nm) altında görünen madde seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu kahve renk aldı. ^{1}H-NMR (Şekil 3.168), ^{13}C-NMR (Şekil 3.169), COSY (Şekil 3.170), HSQC (Şekil 3.171), HMBC (Şekil 3.172) ve ESI^{+}-TOF-MS (Şekil 3.173) spektrumları TS.As.7.2 (**20**) maddesini ergostan tipi bir steroid olarak önerdi.

^{1}H-NMR spektrumunda (CD_3OD + $CDCl_3$, δ (ppm), 500MHz) δ 0,58 (*s*, 3H, H-18), δ 0,77 (*d*, *J* = 6,5 Hz, 3H, H-27), δ 0,80 (*d*, *J* = 6,5 Hz, 3H, H-26), δ 0,88 (*d*, *J* = 6,8 Hz, 3H, H-28), δ 0,98 (*d*, *J* = 6,6; 4,0 Hz, 3H, H-21), ve δ 1,01 (*s*, 3H, H-19) ppm'de rezonans olan pikler moleküldeki 6 adeti metil piklerine aittir. δ 3,96 (*m*, 1H) ppm'de görülen multiplet piki yapıdaki 3-OH'ın β olduğunu kanıtladı. δ 3,61 (br. *s*, 1H, H-6) ppm'de hidroksil grubuna ve δ 5,31 (*d*, *J* = 5,2; 2,45 Hz, 1H, H-7) ppm'de olefinik hidrojen piklerine aittir. Ayrıca, zincirdeki vinilik hidrojen pikleri δ 5,21 (*dd*, *J* = 14,7; 8,2 Hz, 1H, H-22) ve δ 5,18 (*dd*, *J* = 14,7, 7,2 Hz, 1H, H-23) ppm'de görüldü.

^{13}C-NMR (CD_3OD+$CDCl_3$, δ (ppm), 125MHz) spektrumları beraber değerlendirildiğinde yapıda 6 metil, 7 metilen, 10 metin ve 5 katerner karbon izlendi. Bunların arasında 4 adet oksijene bağlı, 3 adet vinilik karbon atomu izlendi. δ 66,8 (C-3) ile δ 72,4(C-6) ppm'de rezonans olan pikler yapıda iki adet hidroksilin olduğunu

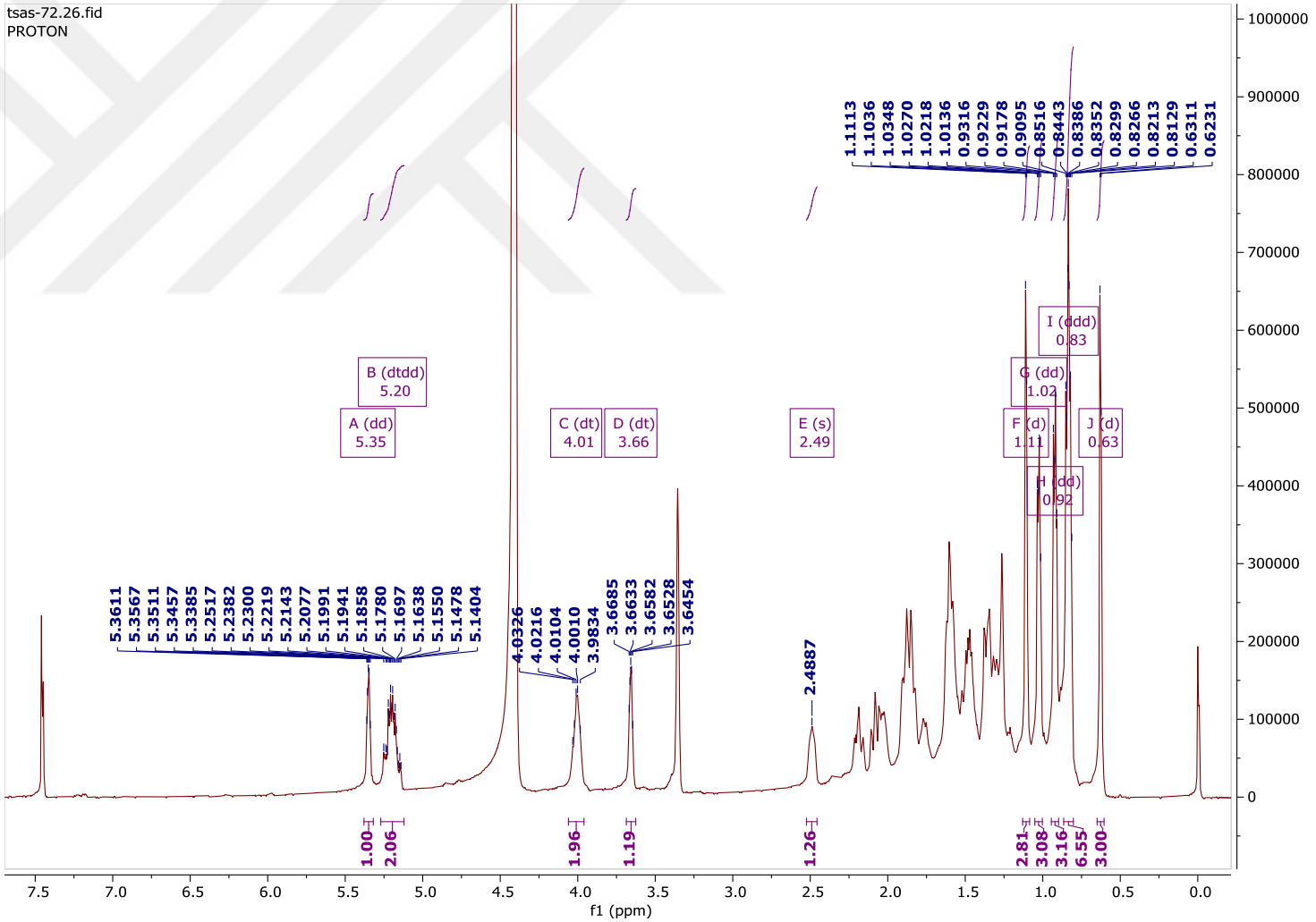
ve C-5 ile C-9 pozisyonları arasında oksijen köprüsünün olduğunu da δ 77,6 (C-5) ile δ 74,6 (C-9) ppm'de rezonans olan pikler gösterdi.

Elektrosprey uçuş zamanlı kütle spektrometrisinde (ESI^+-TOF-MS) (Şekil 3.173) *m/z* 428,3280'deki (calc. 428,3290) $[M]^+$ piki ($C_{28}H_{44}O_3$)yapısını verdi. Yapıdan suyun ayrılmasıyla *m/z* 410,3165'deki (calc. 410,3180) $[M-H_2O]^+$ pik ($C_{28}H_{42}O_2$) izlendi. ESI^+- TOF-kütle spektrumu, NMR değerleri ile uyuşmaktadır.

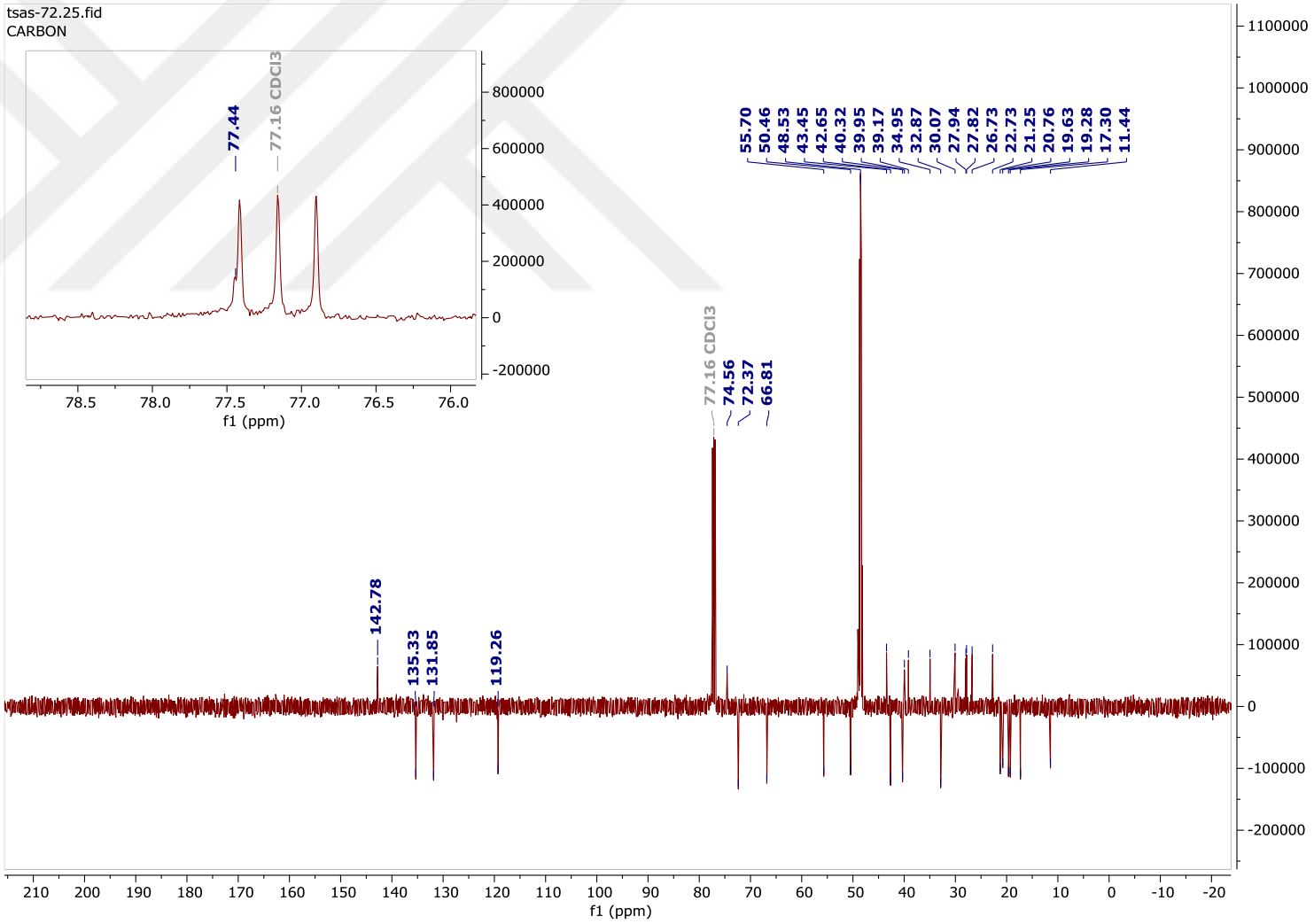
Tüm spektroskopik veriler ve literatür çalışmaları sonucunda TS.As.7.2 (**20**) bileşiğin yapısı 5*α*,9*α*-epoksi ergosta-7,22-dien-3*β*,6*β*-diol olduğu belirlendi (Yaoita vd, 1998, Kaplaner vd, 2023). Bileşiğin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR değerleri Çizelge 3.33'de verilmektedir.

Çizelge 3.33. TS.As.7.2 (20)'nin NMR spektral değerleri

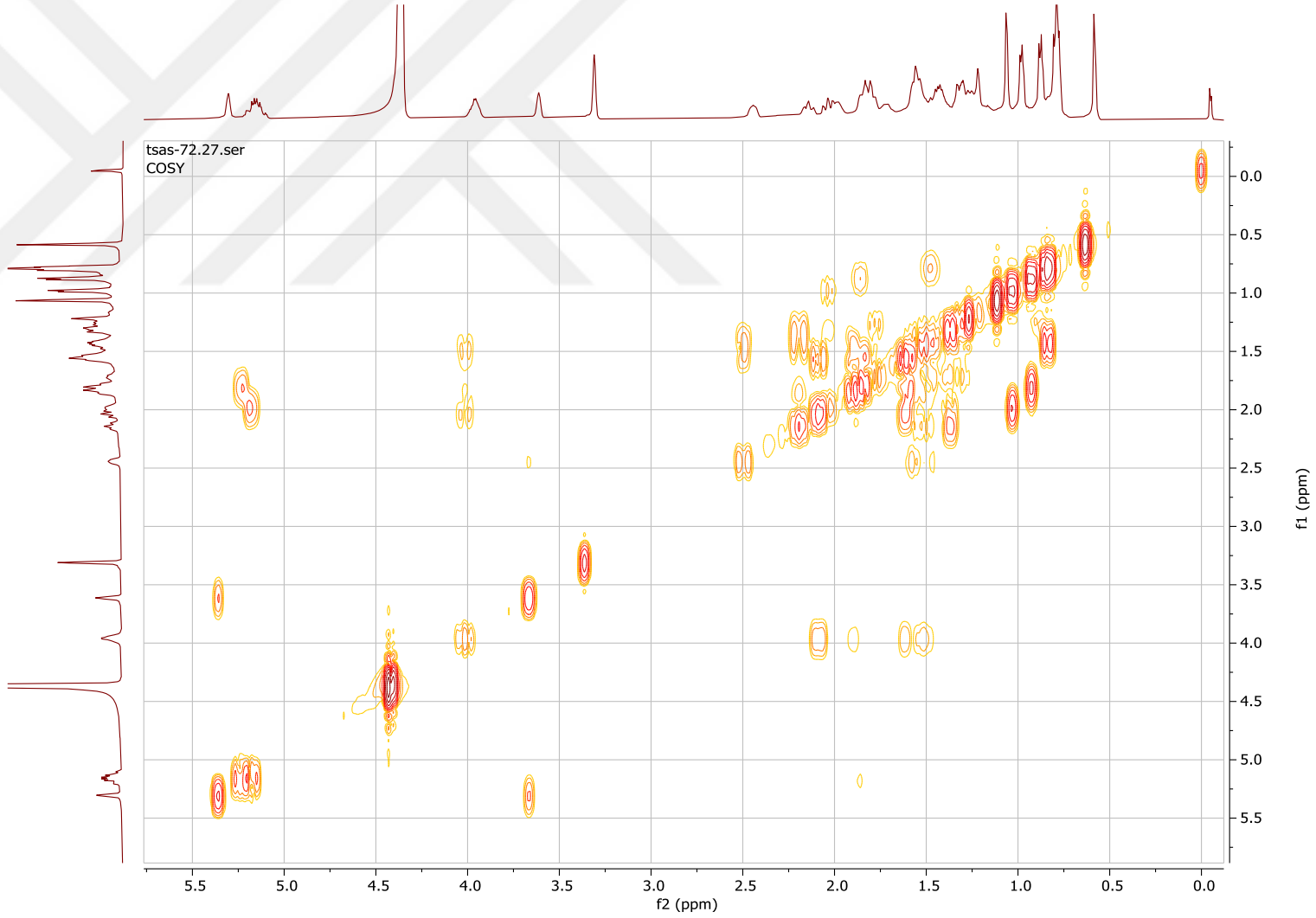
Pozisyon	^{13}C-NMR(*δ*)	Karbon Türü	^{1}H-NMR (*δ*)
1	26,7	CH2	1,21 (*m*, 1H); 2,1 (*m*, 1H)
2	30,1	CH2	1,48 (*m*, 1H); 1,90 (*m*, 1H)
3	66,8	CH	3,96 (*m*, 1H)
4	39,2	CH2	1,49 (*m*, 1H); 2,03 (*m*, 1H)
5	77,6	C	
6	72,4	CH	3,61 (br. *s*, 1H)
7	119,3	CH	5,31 (*dd*, *J* = 5,2, 2,46 Hz, 1H)
8	142,8	C	
9	74,6	C	
10	39,9	C	
11	28,9	CH2	1,53 (*m*, 1H); 1,61 (*m*, 1H)
12	34,9	CH2	1,45 (*m*, 1H); 1,75 (*m*, 1H)
13	43,5	C	
14	50,5	CH	2,44 (*s*, 1H)
15	22,7	CH2	1,57 (*m*, 1H); 1,66 (*m*, 1H)
16	27,8	CH2	1,77 (*m*, 1H); 1,87 (*m*, 1H)
17	55,7	CH	1,21 (*m*, 1H)
18	11,4	CH3	0,58 (*s*, 3H)
19	21,3	CH3	1,01 (*s*,3H)
20	40,3	CH	2,14 (*m*, 1H)
21	20,8	CH3	0,98 (*dd*, *J* = 6,6; 4,0 Hz, 3H)
22	135,3	CH	5,12 (*dd*, *J* = 14,7; 8,2 Hz, 1H)
23	131,8	CH	5,18 (*dd*, *J* = 14,7; 7,2 Hz, 1H)
24	42,6	CH	1,81 (*m*, 1H)
25	32,9	CH	1,42 (*m*, 1H)
26	19,6	CH3	0,77 (*d*, *J*=6,5 Hz, 3H)
27	19,3	CH3	0,80 (*d*, *J*=6,5 Hz, 3H)
28	17,3	CH3	0,88 (*d*, *J* = 6,8 Hz, 3H)



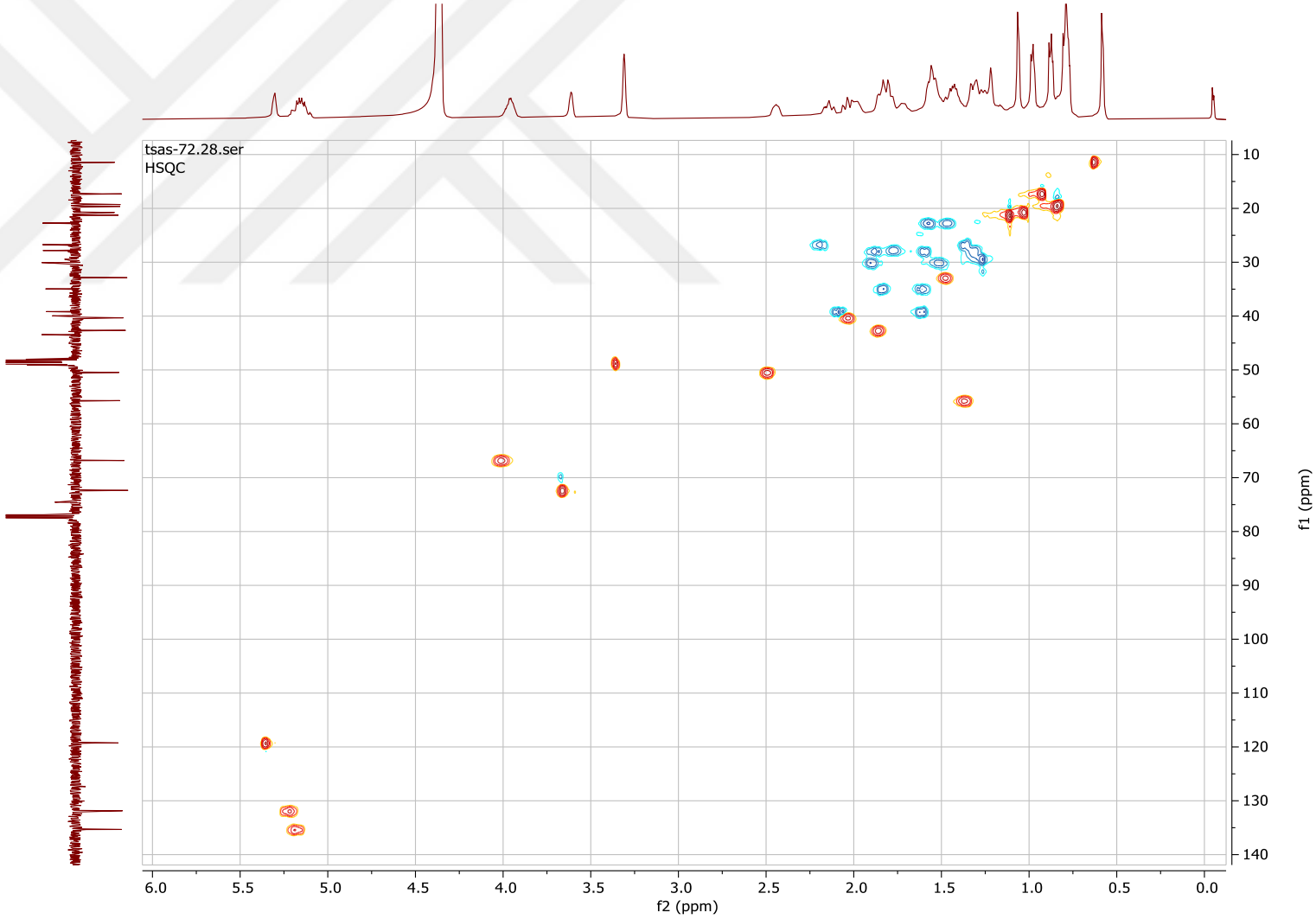
Şekil 3.168. TS.As.7.2 (20)'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$+CD_3OD, 500 MHz)



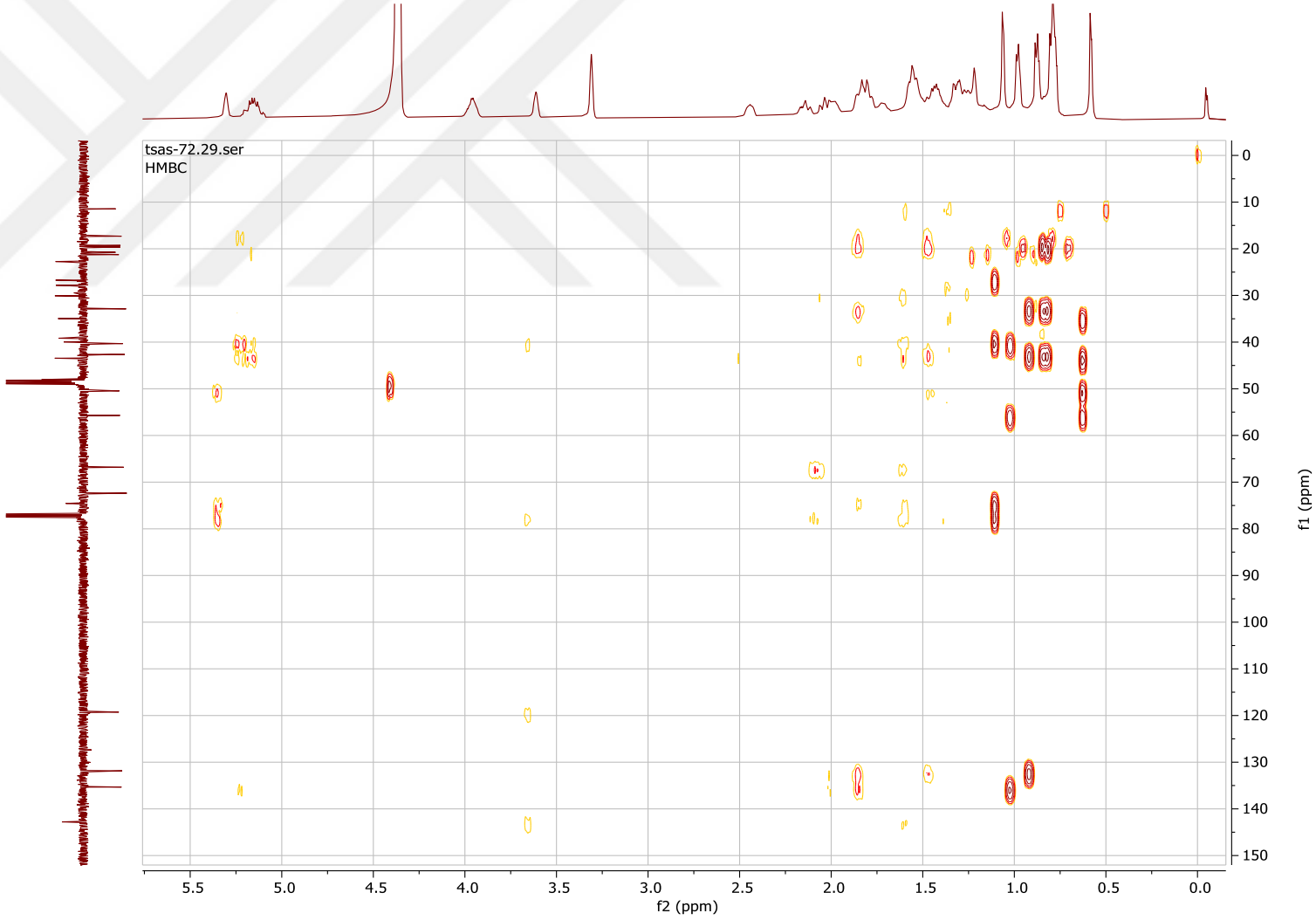
Şekil 3.169. TS.As.7.2 (20)'nin ^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$+CD_3OD, 125 MHz)



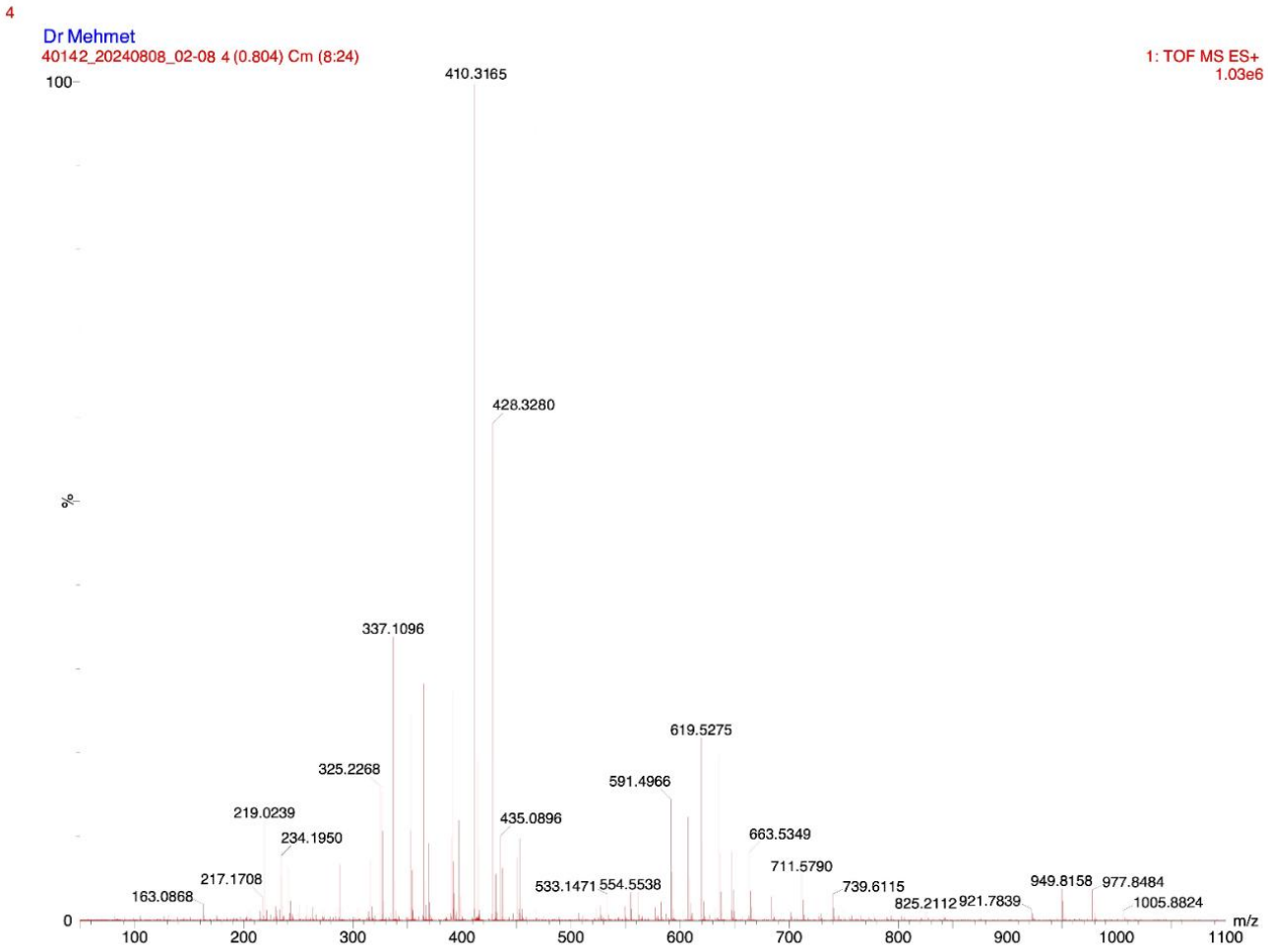
Şekil 3.170. TS.As.7.2 (20)'nin COSY spektrumu



Şekil 3.171. TS.As.7.2 (20)'nin HSQC spektrumu



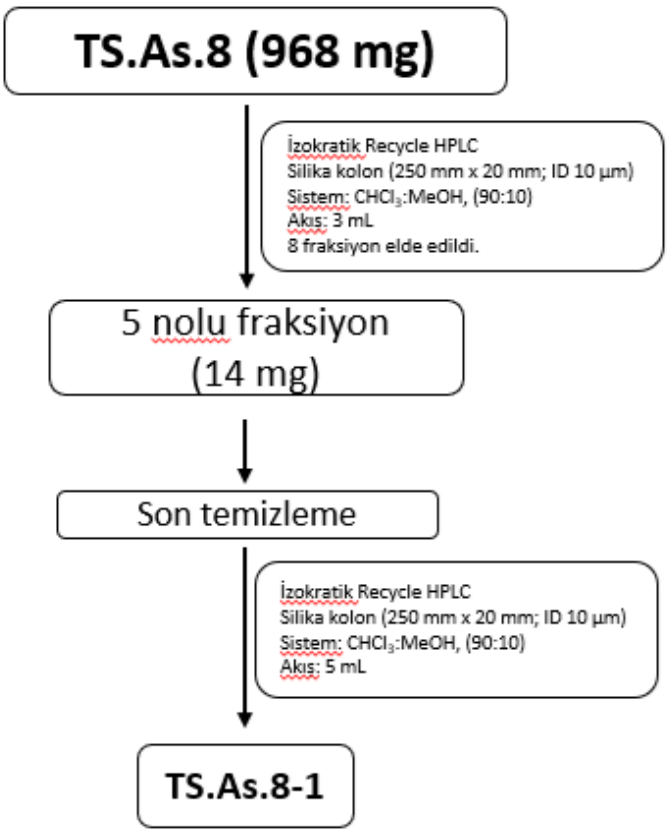
Şekil 3.172. TS.As.7.2 (20)'nin HMBC spektrumu



Şekil 3.173. TS.As.7.2 (20)'nin ESI$^+$-TOF kütle spektrumu

3.9.7. TS.As.8 biyoaktif fraksiyonundan saf maddelerin elde edilmesi

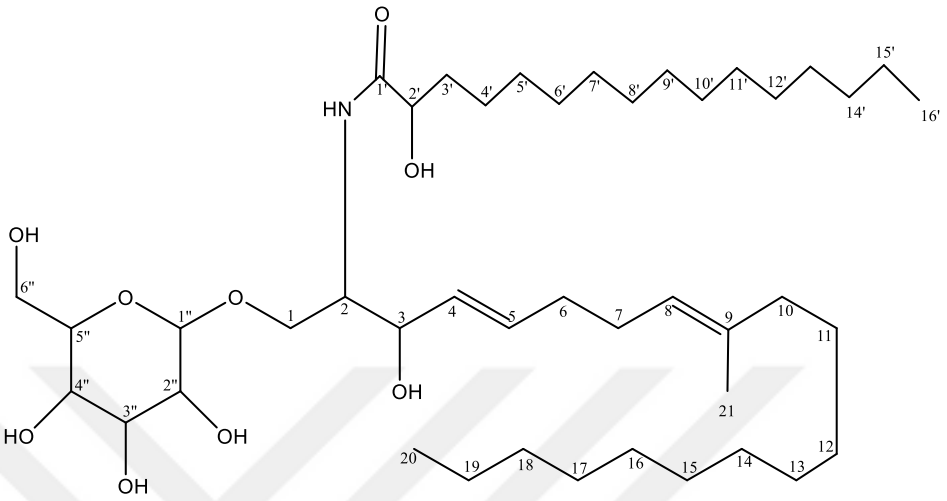
TS.As.8 kodlu fraksiyon (968 mg) JAIGEL -SIL, SH-043-15 (SI, 250 x 20 mm ID, 10 µm) kolon izokratik recycle HPLC-UV-RI cihazında çalışıldı. Bu amaçla izokratik çözücü sistemi $CHCl_3$:MeOH (90:10) seçildi. Akış hızı kromatogramdaki rezolusyona göre dk'da 3 mL ve dedektör 254 nm olarak ayarlandı. UV aktif olmayan maddeler ise RI dedektörde izlendi. TS.As.8 fraksiyondan TS.As.8.1 maddesi saflaştırıldı. Saflaştırılan maddenin yapısını aydınlatmak amacıyla ^{1}H-NMR, APT, ^{13}C-NMR, DEPT, HSQC, HMBC ve COSY spektrumları alındı. Şekil 3.174'de TS.As.8 fraksiyonunun fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen saf bileşiğin elde edilme şeması verildi.



Şekil 3.174. TS.As.8 alt fraksiyonundan saf bileşiğinin (1) izolasyon şeması

3.9.8. TS.As.8 biyoaktif fraksiyonundan elde edilen saf maddelerin yapı tayin

*3.9.8.1. TS.As.8.1 (**21**) = N-[3-hidroksi, 9-metil-1-glukopiranozil, aykosa-4,8-dienil]-2-hidroksi hekzadesenamit*



Şekil 3.175. TS.As.8.1 (21)'in yapısı

Beyaz renkli olan TS.As.8.1 (**21**) maddesi (3,7 mg) amorf halde elde edildi (Şekil 3.175). Silika jel plakta UV lamba (254 nm) altında görünen madde seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu kahve renk aldı.

^{1}H-NMR spektrumunda (CD_3OD+$CDCl_3$, δ (ppm), 500 MHz), (Şekil 3.176) δ 0,84 (*t*, *J*=6,80 Hz, H-20; H 16',6H) ve 1,57 (*s*, H-21, 3H) ppm'de rezonans olan pikler moleküldeki üç adet metil grubuna aittir. δ 5,68 (*m*, H-5, 1H) , δ 5,43 (*m*, H-4, 1H) ppm'de rezonans olan hidrojenler trans konumda visinal hidrojenlerdir. Buna ilaveten δ 5,06 (*m*, H-8, 1H) diğer çifte bağın hidrojenidir. δ 3,96 (*m*, H-2, 2H), δ 3,97 (*m*, H 2', 2H), δ 3,70 (*m*, H-1a, 1H), δ 3,98 (*m*, H-1b, 1H) ve δ 4,06 (*m*, Hz H-3, 1H) ppm'de rezonans olan hidrojenler bir heteroatoma bağlıdır. δ 4,25 (*m*, H-1", 1H) β şekerin anomerik protonudur. TS.As.8.1 (**21**) maddesinin yapı tayini COSY (Şekil 3.178), HSQC (Şekil 3.179), HMBC (Şekil 3.180) spektrumları ile doğrulandı. δ 4,25 (*m*, H-1", 1H) ppm de rezonas olan anomerik protonun δ 68,3 (C-1) ve δ 53,1 (C-2) ile olan HMBC korelasyonu şekerin anomerik 1 nolu karbonundan bağlı olduğunu göstermektedir.

^{13}C-NMR spektrumu ($CD_3OD+CDCl_3$, δ (ppm), 25 MHz), (Şekil 3.177) ve HSQC (Şekil 3.179) spektrumu beraber değerlendirildiğinde 3 metil, 2 katerner karbon, 10 metin ve 12 metilen ile birlikte 29 ppm de rezonans olan ve sayısı kütle spektrumu ile belirlenebilen diğer metilenler belirlendi. δ 175,9 (C-1') ve 136,0 (C-9) ppm'de rezonas olan pikler katarner karbonlarına ait olduğu görüldü. δ 13,9 (C-20), 13,9 (C-16') ve 15,8 (C-21) ppm'de rezonans olan pikler metil karbonlarına aittir. δ 134,1 (C-5), δ 128,6 (C-4) ve δ 123,1 (C-8) ppm'de rezonans olan pikler çift bağ metinlerine atfedilir. δ 72,0 (C-3), 72,1 (C-2') ve 68,3 (C-1) ppm de rezonans olan pikler oksijen heteroatomuna bağlı karbonlarındır. δ 53,1 (C-2) ppm de rezonas olan metinin hidrojeni δ 3,96 ppm de rezonans olması azot hetero atomuna bağlı olduğunu göstermektedir. δ 102,9 (C-1")ppm'de rezonans olan şekerin anomerik karbonuna ait olup δ 69 ile 77 arasında rezonans olan pikler şekerin metin karbonlarına pikleri olduğu görüldü. δ 61,1 (C-6") ppm'de rezonans olan pik şekerin serbest hidroksil grubu pikidir.

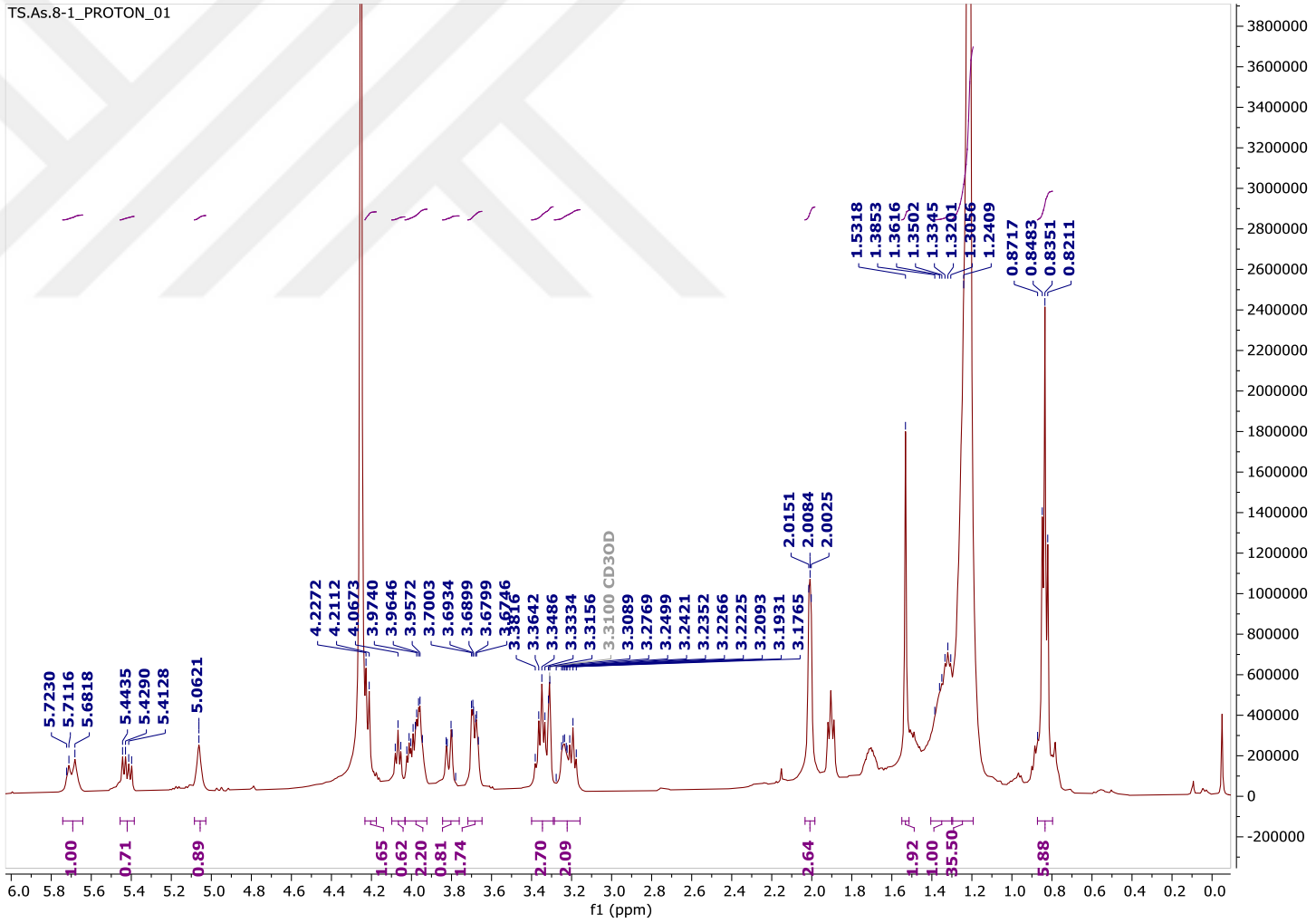
Elektrosprey uçuş zamanlı kütle spektrometrisinde (ESI^+-TOF-MS) (Şekil 3.181) *m/z* 755,5907'deki (calc. 755,5911) $[M]^+$ piki ($C_{43}H_{81}NO_9$) yapısını verdi. β-glikozun ayrılmasıyla *m/z* 592,5258'deki (calc. 592,5305) $[M\text{-}C_6H_{11}O_5]^+$ pik ve yağ asidi ayrılmasıyla görülen *m/z* 255,2311'deki (calc. 255,2324) [M-yağ asidi]$^+$ pik fragmanları NMR değerleri ile uyuşmaktadır.

Tüm spektral veriler değerlendirildiğinde yapının serebrosit yapısında olan madde olduğu belirlendi. İlgili yapının IUPAC ismi, *N*-[3-hidroksi, 9-metil-1-glukopiranozil, aykosa-4,8-dienil]-2-hidroksi hekzadesenamit'dir. Özel isim olarak, Tricolamin ismi verildi.

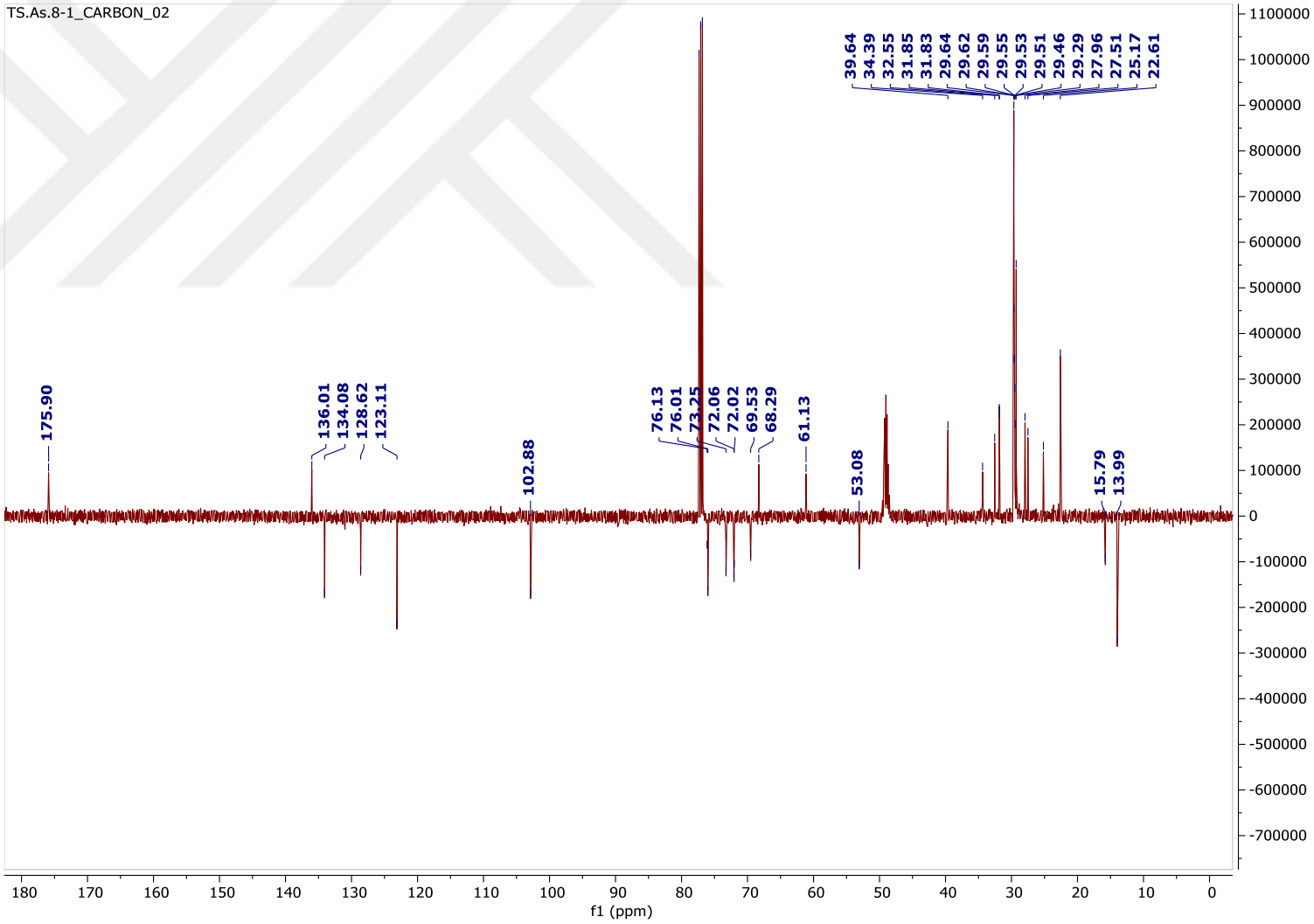
ESI^+-TOF-MS verileri hariç izole edilen yapının spektral verileri daha önce rapor edilen serebrosit verileriyle (Fogedal vd, 1986; Sitrin vd, 1988) uyum içindedir. TS.As.8.1 (**21**) bileşiğinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR değerleri Çizelge 3.34'de verilmektedir

Çizelge 3.34. TS.As.8.1 (21)'in NMR spektral değerleri

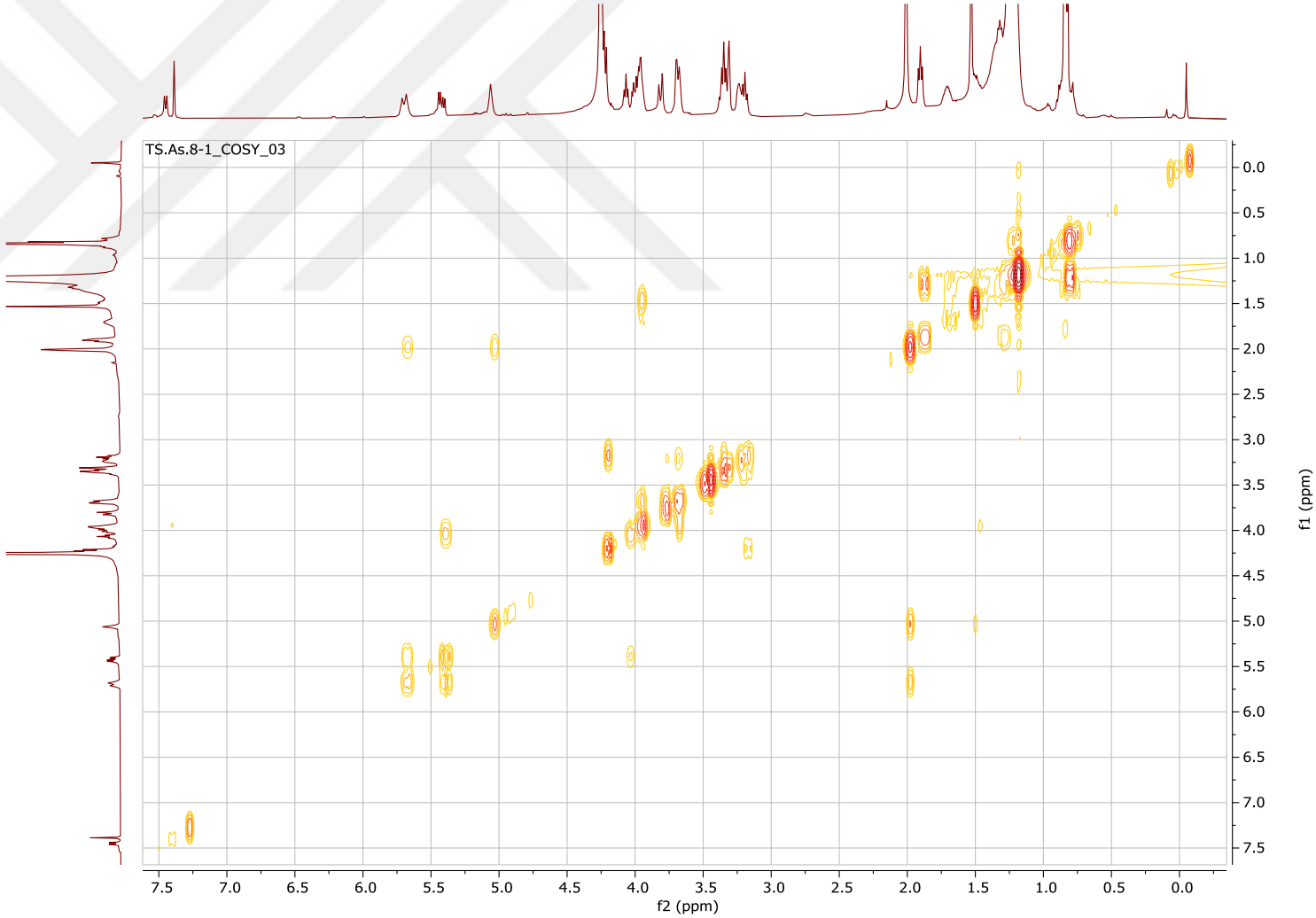
Pozisyon	^{13}C-NMR(δ)	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	68,3	CH_2	3,70 (*m*, 1H); 3,98 (*m*, 1H)
2	53,1	CH	3,96 (*m*, 1H)
3	72,0	CH	4,06 (*m*, 1H)
4	128,6	CH	5,43 (*m*, 1H)
5	134,1	CH	5,68 (*m*, 1H)
6	34,6	CH_2	2,08 (*t*, 2H)
7	27,9	CH_2	1,31 (*m*, 1H); 2,01 (*m*, 1H)
8	123,1	CH	5,06 (*m*, 1H)
9	136,0	C	
10	39,6	CH_2	1,90 (*t*, 2H)
11-17	27,5-29,6	CH_2	1,21 (*m*, 1H); 38 (*m*, 1H)
18	32,5	CH_2	1,21; 2,02 (*m*, 2H)
19	22,6	CH_2	1,25 (*m*, 1H)
20	13,9	CH_3	0,84 (*d*, *J* = 6,80 Hz, 3H)
21	15,8	CH_3	1,53 (*s*, 3H)
1'	175,9	C	
2'	72,1	CH	3,97 (*m*, 1H)
3'	34,4	CH_2	1,51; 1,72 (*m*, 2H)
4'	27,5	CH_2	1,31 (*m*, 1H)
5'-13'	27,5-29,6	CH_2	1,21-1,38 (m, 2H)
14'	31,8	CH_2	1,22 (*m*, 2H)
15'	22,6	CH_2	1,25 (*m*, 2H)
16'	13,9	CH_3	0,84 (*d*, *J* = 6,80 Hz, 3H)
1"	102,9	CH	4,25 (*m*, 1H)
2"	73,2	CH	3,21 (*m*, 1H)
3"	76,1	CH	3,37 (*m*, 1H)
4"	69,5	CH	3,38 (*m*, 1H)
5"	76,0	CH	3,24 (*m*, 1H)
6"	61,1	CH_2	3,70 (*m*, 1H); 3,80 (*m*, 1H)



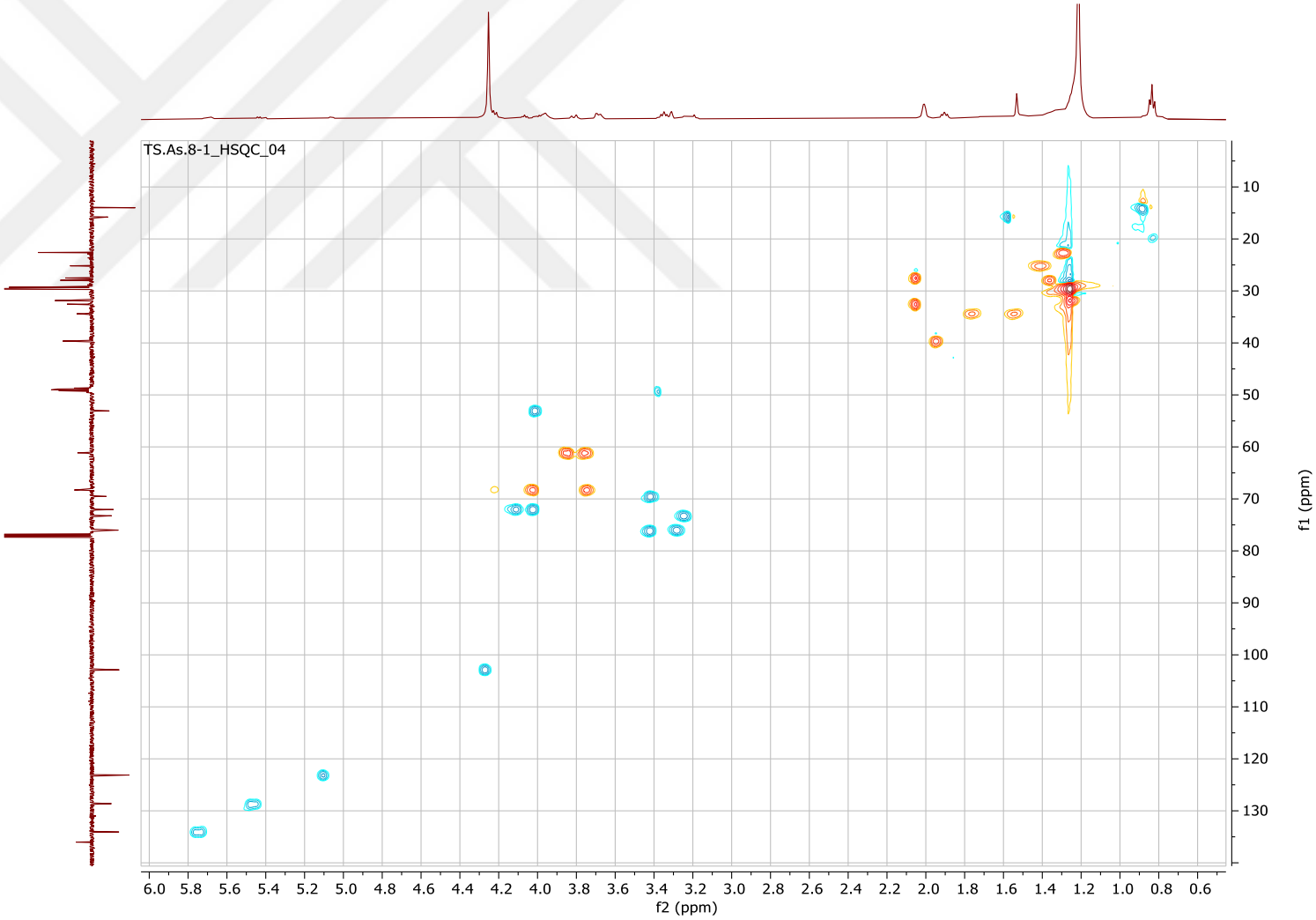
Şekil 3.176. TS.As.8.1 (21)'in ^{1}H-NMR; spektrumu ($CDCl_3$+CD_3OD, 500 MHz)



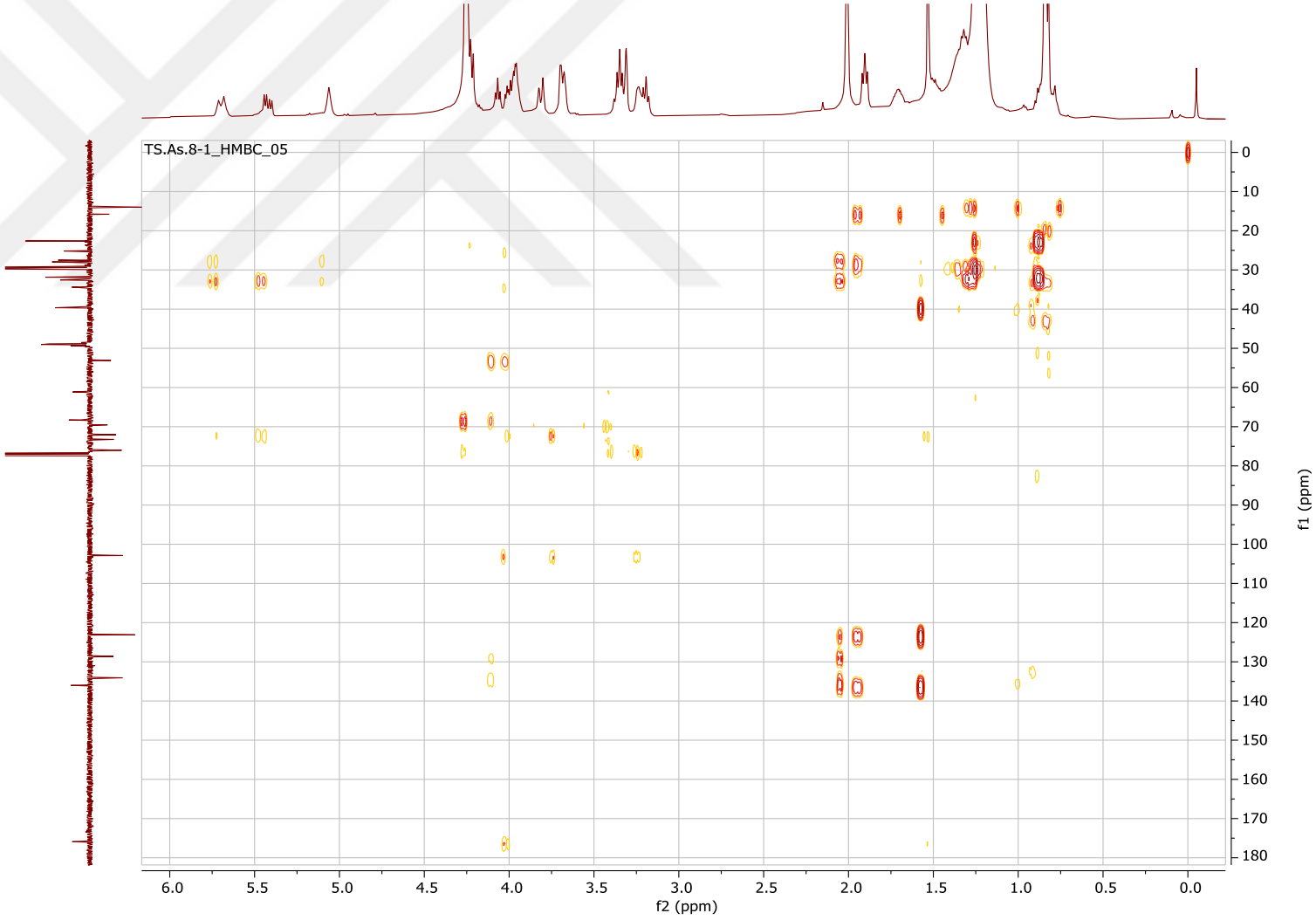
Şekil 3.177. TS.As.8.1 (21)'in APT spektrumu ($CDCl_3$+CD_3OD, 125 MHz)



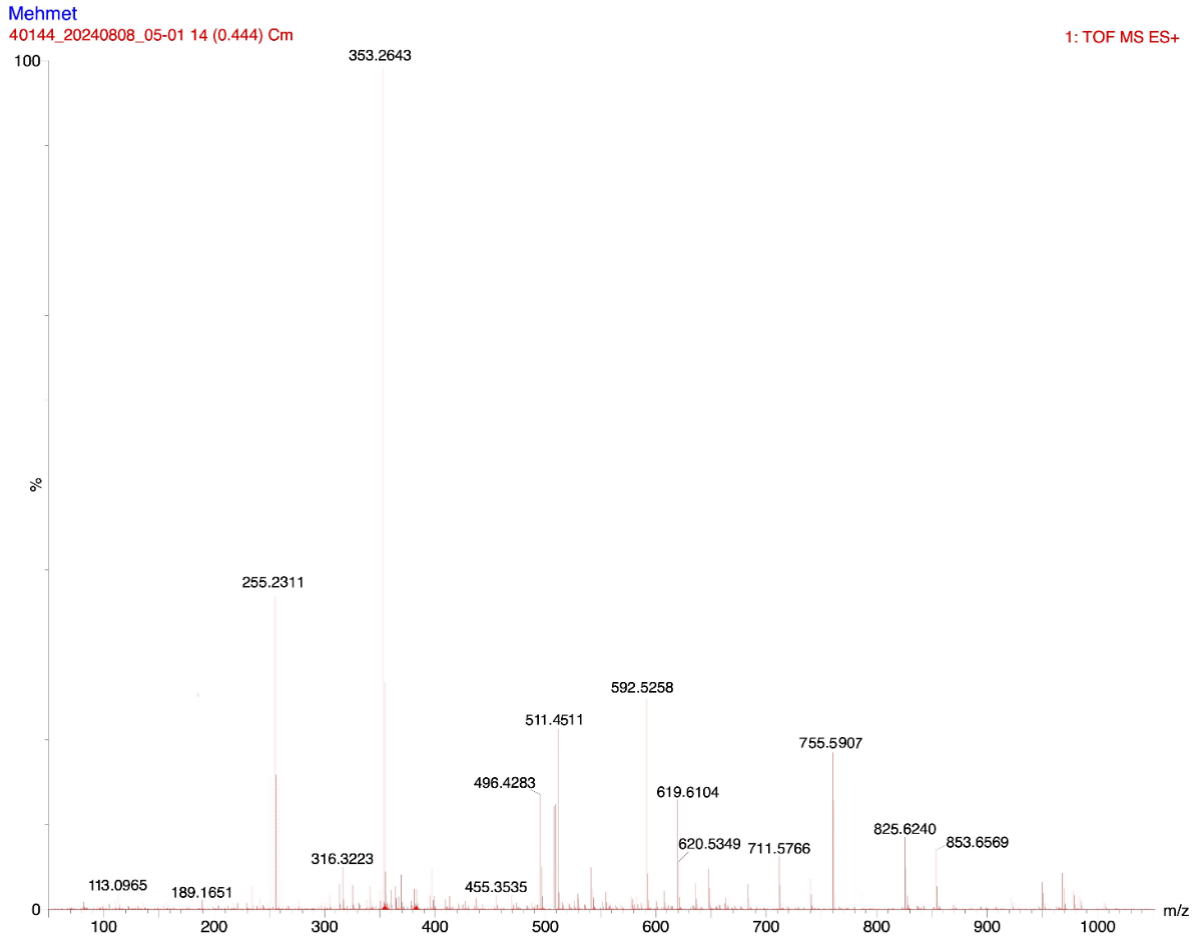
Şekil 3.178. TS.As.8.1 (21)'in COSY spektrumu



Şekil 3.179. TS.As.8.1 (21)'in HSQC spektrumu



Şekil 3.180. TS.As.8.1 (21)'in HMBC spektrumu



Şekil 3.181. TS.As.8.1 (21)'in ESI$^+$-TOF kütle spektrumu

3.10. *I. geotropa*'nın Aseton Ekstresinden Madde İzolasyon Çalışmaları

3.10.1. *I. geotropa*'nın aseton ekstresinin fraksiyonlandırılması

I. geotropa'nın aseton ekstresi belirlenen dört hücre hatlarına karşı yüksek sitotoksik aktivite göstermektedir. Sitotoksik aktivite açısından etkili bulunan *I. geotropa*'nın aseton ekstresi fraksiyonlandırılması amacıyla kolon kromatografisinde silika jel kullanıldı. İTK ile ön denemeler yapılarak uygun çözücü sistemi ve adsorban belirlendi. %100 petrol eteri ile başlanarak ve polarite %10'luk artışlarla %100 metanole kadar artırılarak gradient elüsyonu gerçekleştirildi (Çizelge 3.35). Bu işlemde çözücü sistemi olarak hekzan:$CHCl_3$ (50:50), hekzan:etil asetat (60:40), $CHCl_3$:aseton (70:30), $CHCl_3$:MeOH (90:10) ve $CHCl_3$:toluen:MeOH (10:15:2) karışımları hazırlanarak polariteye uygun şekilde İTK analizlerinde kullanıldı. Adsorban olarak ise normal faz silika jel ile birlikte floresan katkılı İTK plakası (Merck-5554) tercih edildi. *I. geotropa* aseton ekstresinin fraksiyonlandırılması ve benzer fraksiyonların birleştirilmesi sonucunda 10 fraksiyon (IG.As.1 – IG.As.10) elde edildi.

Çizelge 3.35. *I. geotropa* aseton ekstrelerinin miktarları ve verimleri

Fraksiyon Kodu	Birleştirilen Fraksiyonlar	Miktarı (g)	Verimi (%)
IG.As.1	1-39	0,44	3,66
IG.As.2	40-48	1,49	12,39
IG.As.3	49-69	5,74	47,81
IG.As.4	70-89	0,78	6,48
IG.As.5	90-101	0,49	4,05
IG.As.6	102-107	0,37	3,11
IG.As.7	114-138	1,79	14,91
IG.As.8	139	0,50	4,14
IG.As.9	140-154	0,58	4,87
IG.As.10	155-158	0,36	2,98

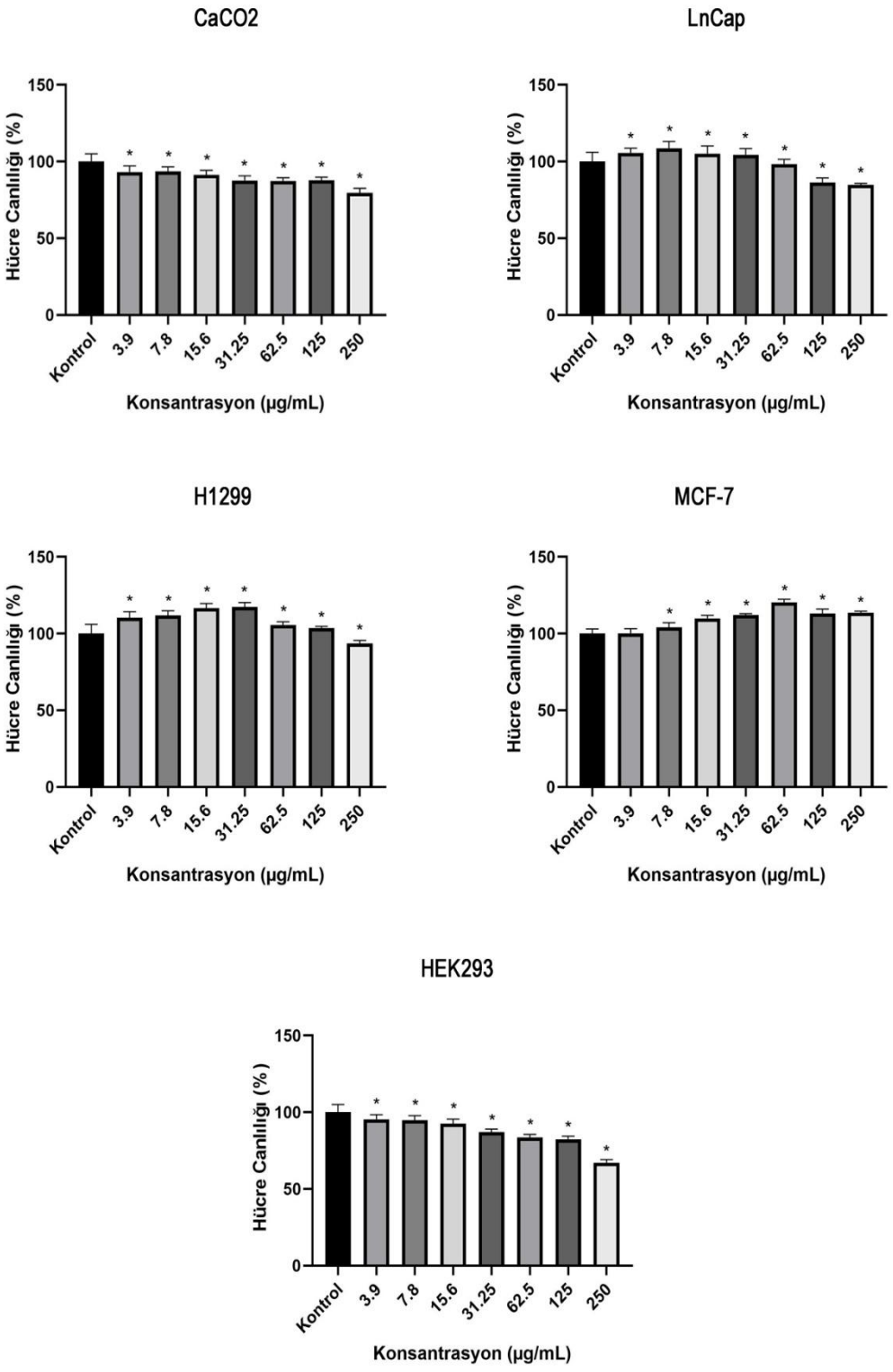
3.10.2. *I. geotropa*'nın aseton ekstresinin fraksiyonlarının sitotoksik aktivitesi

Aseton fraksiyonları (IG.As.1–IG.As.12), etil asetat içerisinde çözülerek farklı konsantrasyonlarda (3,9; 7,8; 15,6; 31,25; 62,5, 125 ve 250 µg/mL) dört kanser hücre hatlarına uygulandı ve hücre canlılığı MTT testi ile belirlendi. Microsoft Excel ve GraphPad Prism v.9 programları kullanılarak, üç tekrarlı olarak gerçekleştirilen deneylerin verileri değerlendirildi (Şekil 3.182–3.191). Yarı maksimal etkili konsantrasyonları (EC_{50}) değerleri belirlenen fraksiyonların sonuçları Çizelge 3.36'da verildi. Elde edilen verilere göre, IG.As.3, IG.As.4 ve IG.As.6 fraksiyonlarının dört farklı kanser hücre hattı üzerinde sitotoksik etki gösterirken; sağlıklı hücre hattında HEK293 ise toksik etki göstermemektedir. IG.As.4 fraksiyonun H1299 (EC_{50}: 111,23 µg/mL) ve Caco-2 (EC_{50}: 138,03 µg/mL) kanser hücre hatlarına karşı diğer fraksiyonlar arasında en yüksek sitotoksik aktivite sergiledi. IG.As.3 ve IG.As.6 fraksiyonları LnCap ve H1299 kanser hücre hatlarına IG.As.4 göre daha düşük sitotoksik aktivite sergiledi.

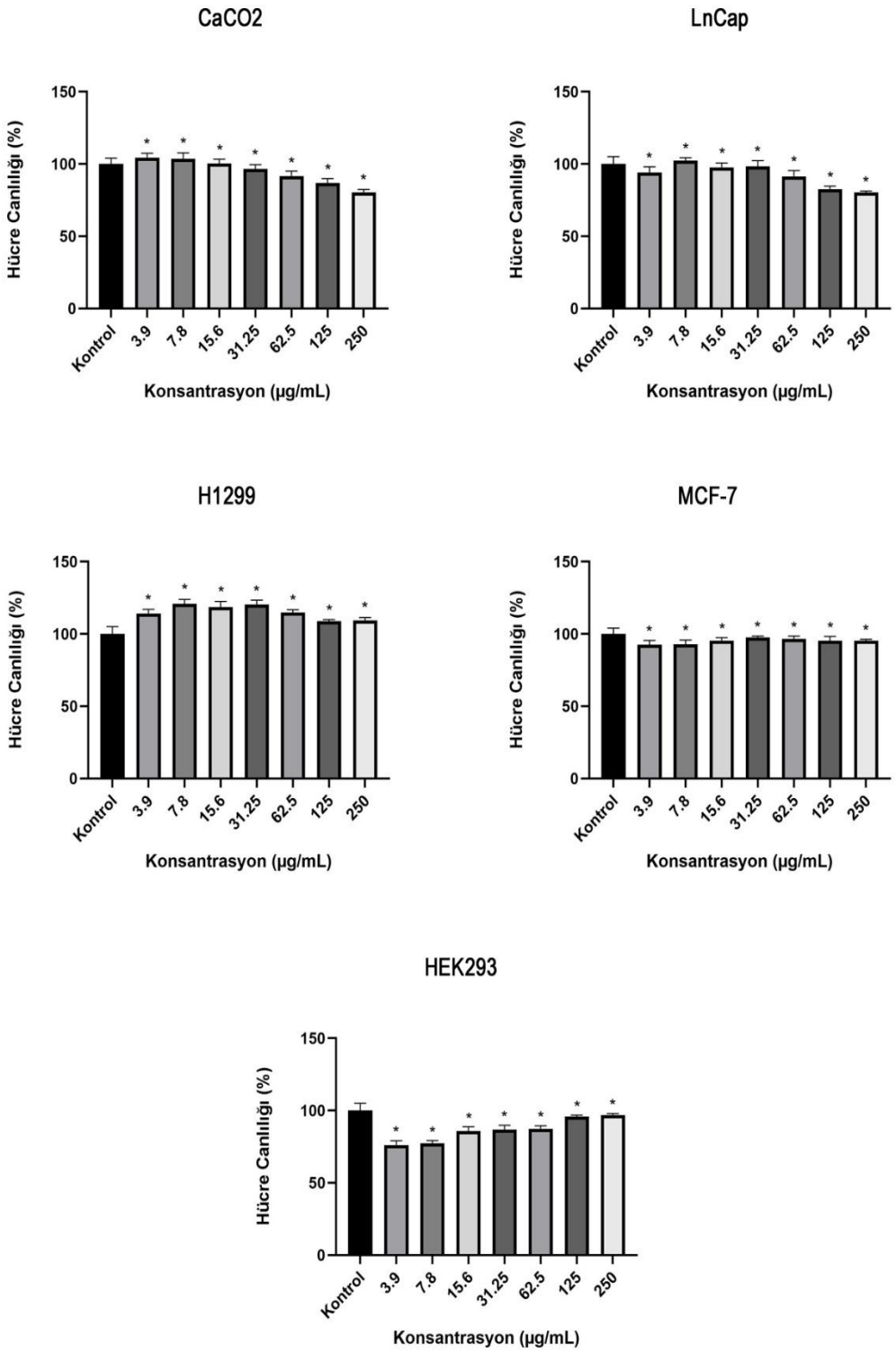
Çizelge 3.36. *I. geotropa*'nın aseton ekstresinin fraksiyonlarının sitotoksik aktiviteleri

Fraksiyon adı	Caco-2	LnCap	H1299	MCF-7	HEK293
	EC_{50} (µg/mL)	EC_{50} (µg/mL)	EC_{50} (µg/mL)	EC_{50} (µg/mL)	EC_{50} (µg/mL)
IG.As	193,1	61,75	98,08	145,2	170,5
IG.As.1	*	*	*	*	*
IG.As.2	*	*	*	*	*
IG.As.3	*	241,83	204,57	*	*
IG.As.4	138,03	147,49	111,23	*	*
IG.As.5	*	*	*	*	*
IG.As.6	*	221,7	226,54	*	*
IG.As.7	*	*	*	*	*
IG.As.8	*	*	*	*	*
IG.As.9	*	*	*	*	*
IG.As.10	*	*	*	*	*

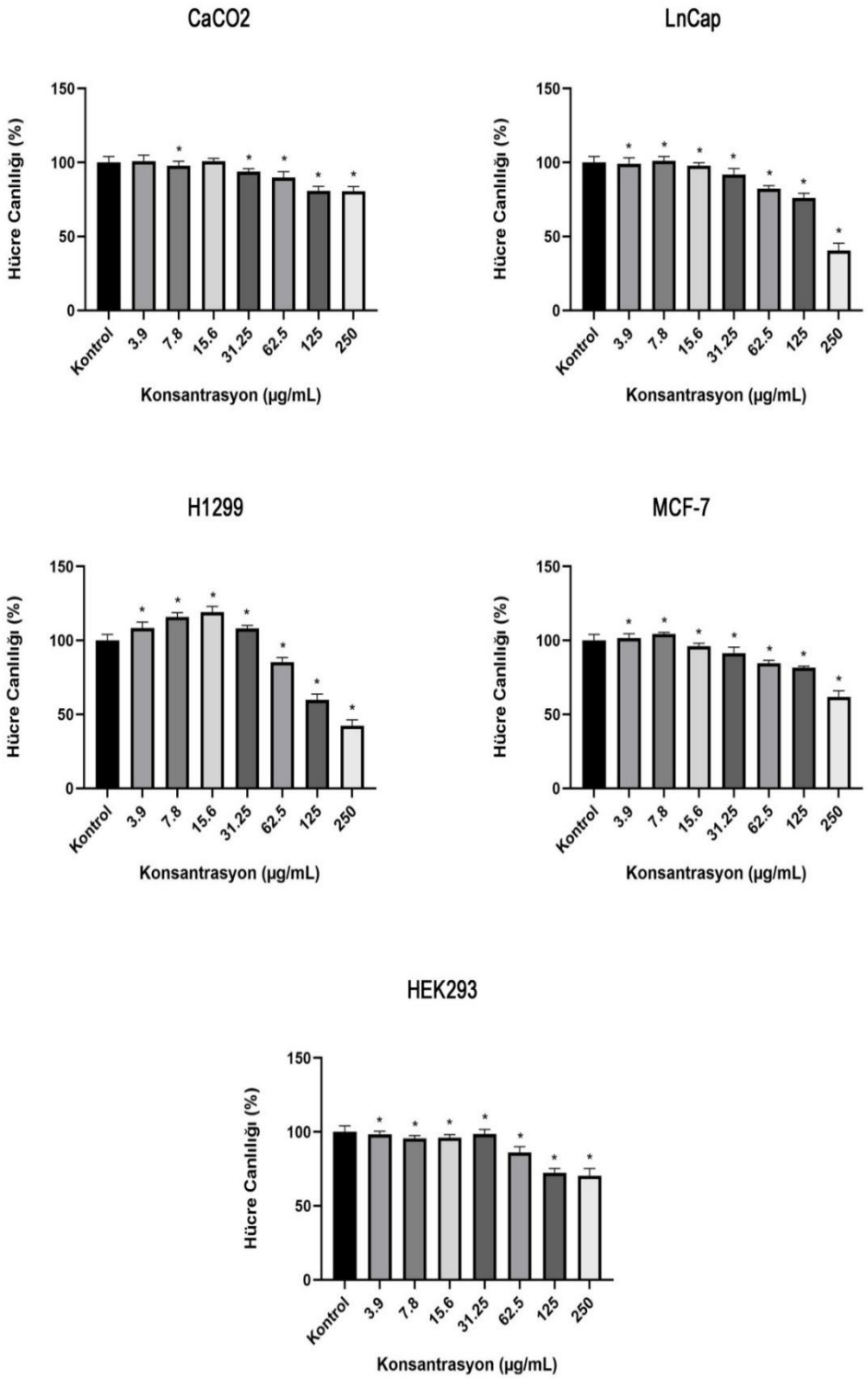
*EC_{50} değeri saptanmamıştır. -: miktarları yeterli olmadığı için aktivite bakılamadı.



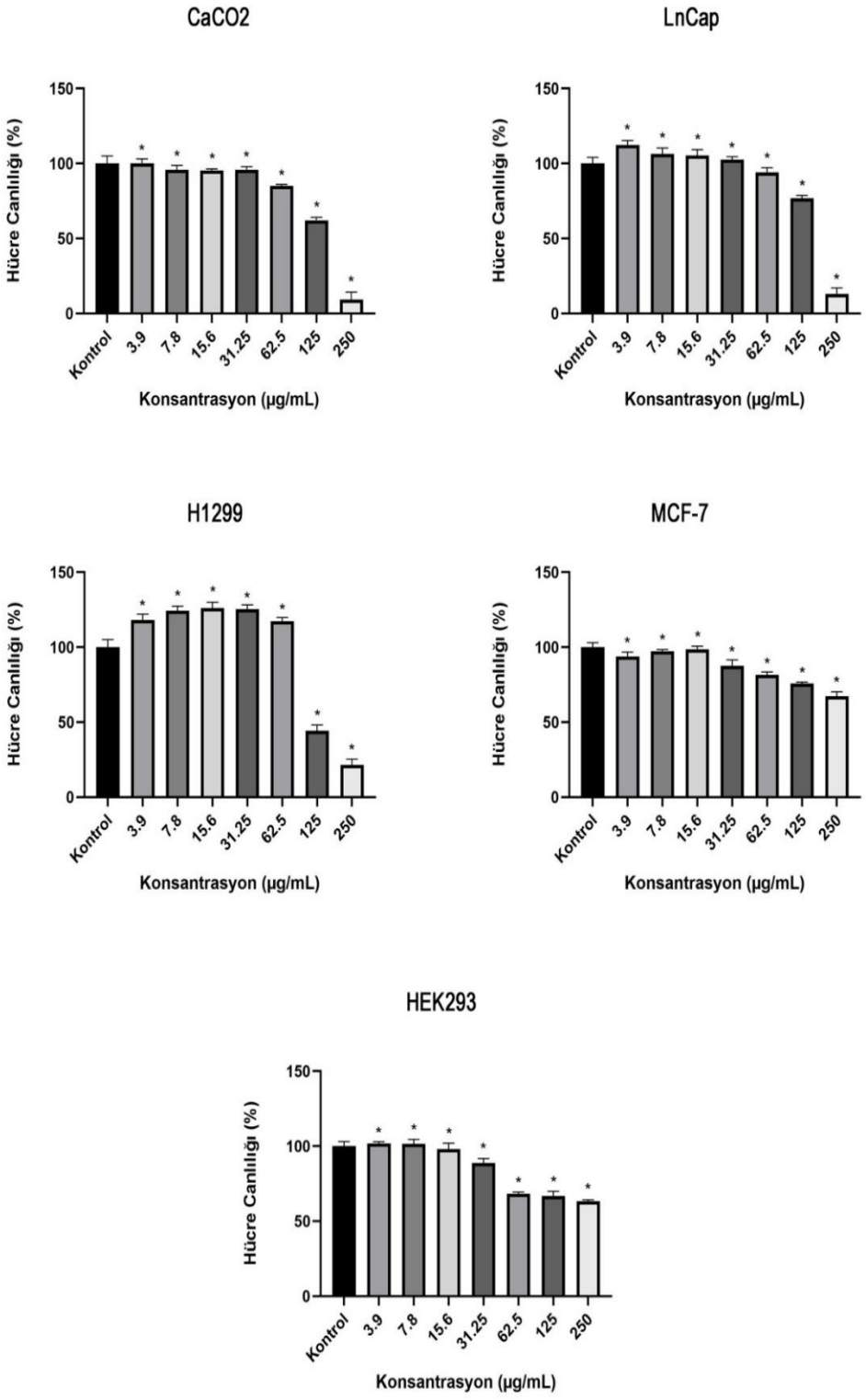
Şekil 3.182. IG.As.1 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p<0,05).



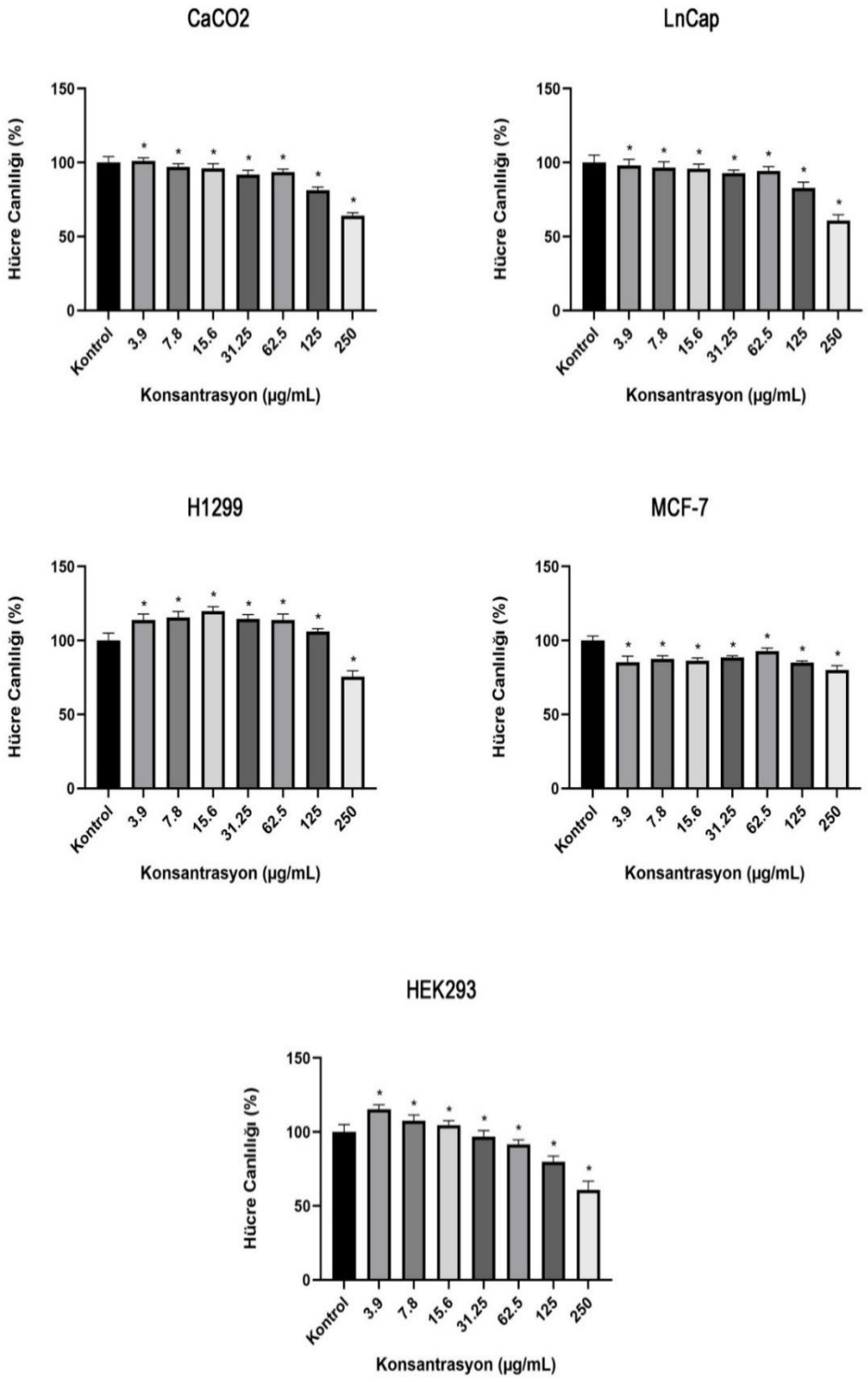
Şekil 3.183. IG.As.2 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p <0,05).



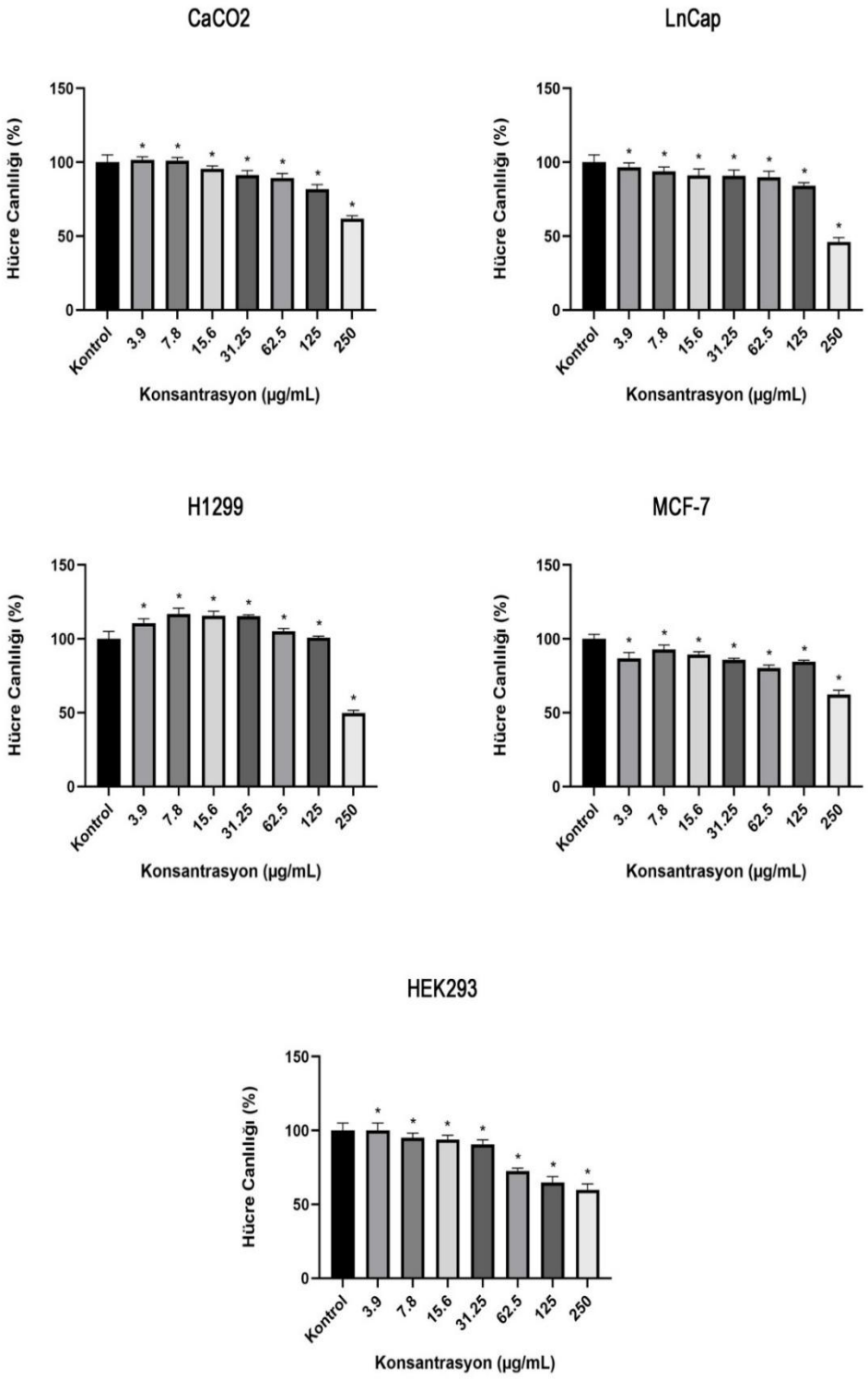
Şekil 3.184. IG.As.3 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p<0,05).



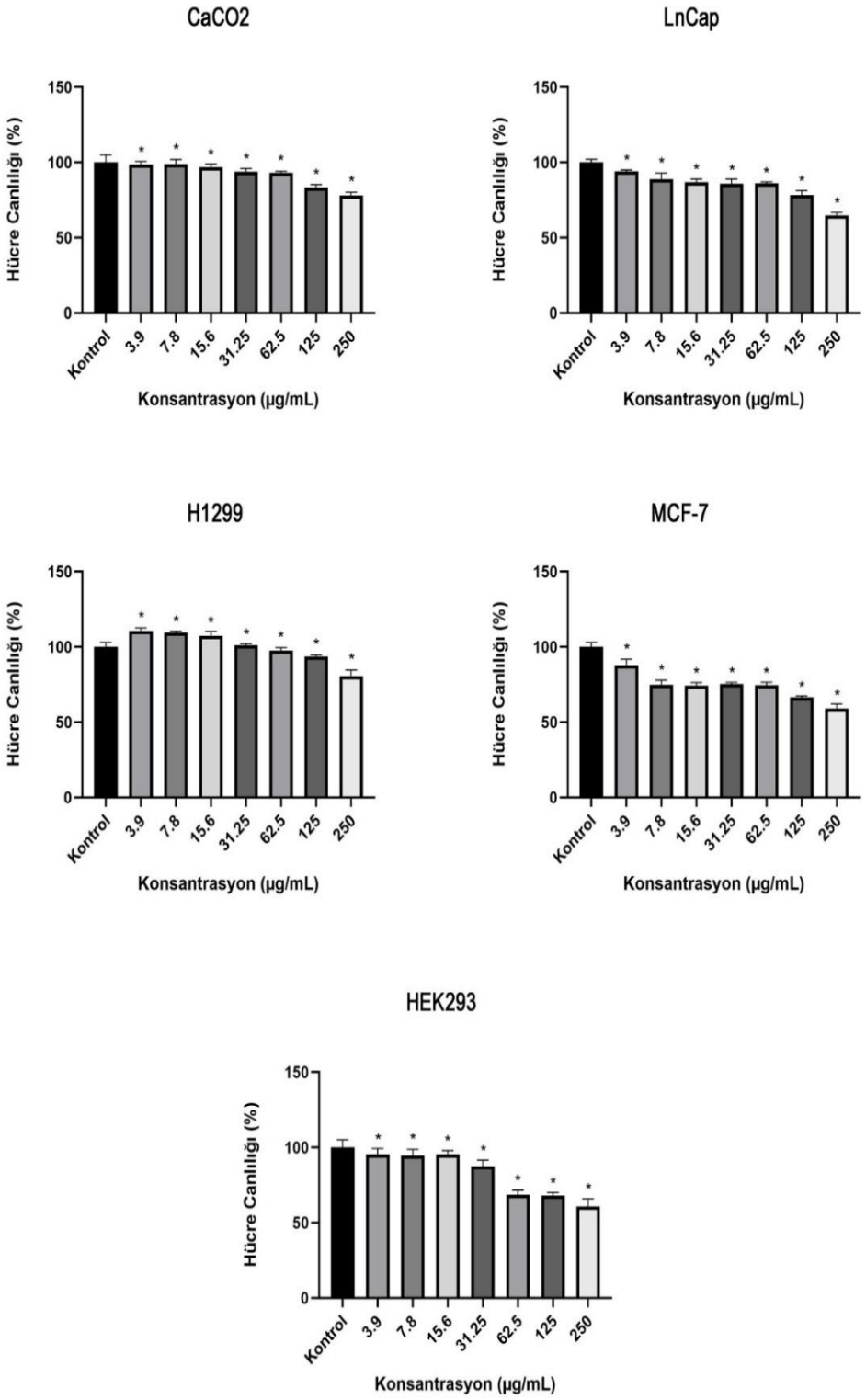
Şekil 3.185. IG.As.4 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p<0,05).



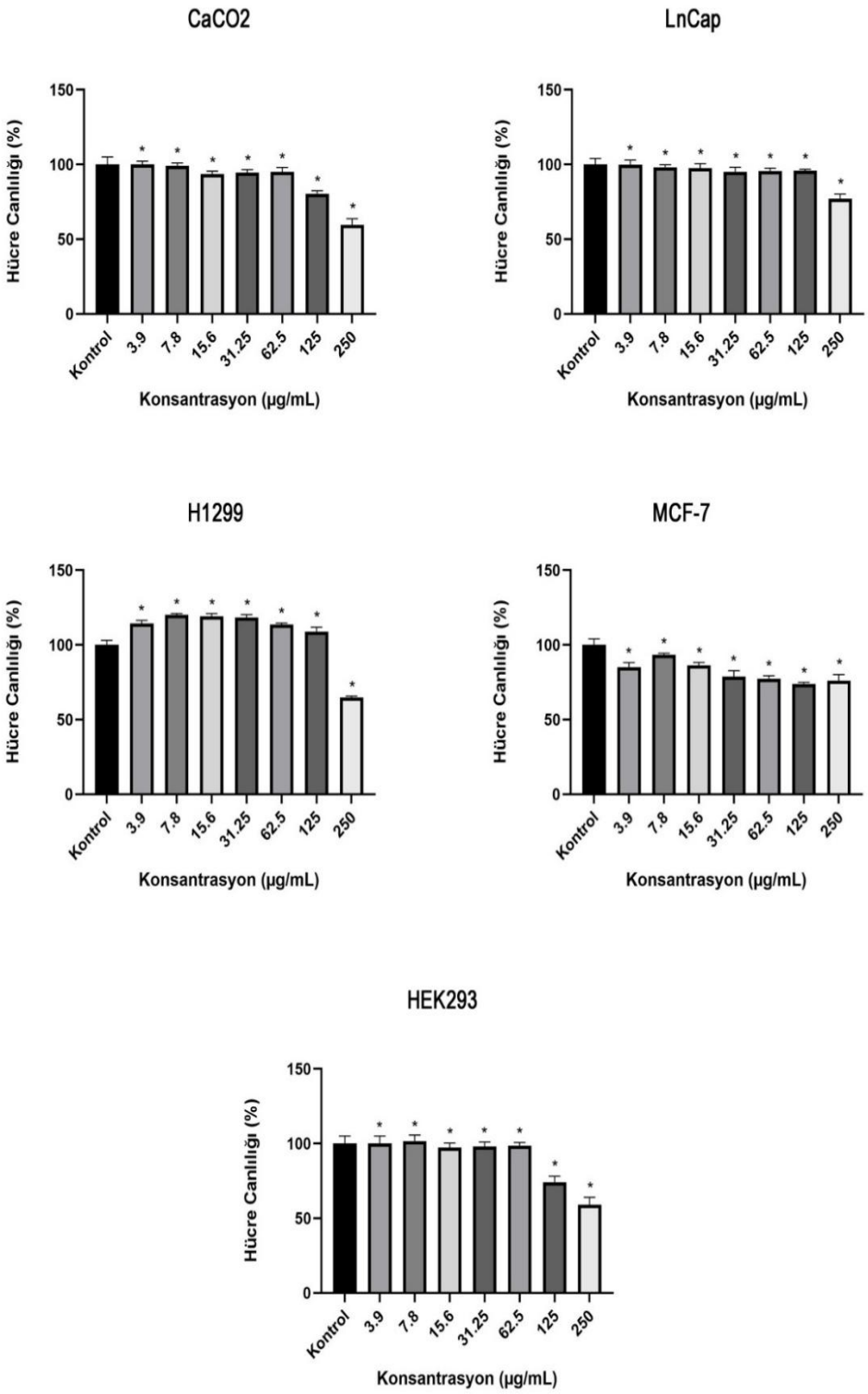
Şekil 3.186. IG.As.5 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p<0,05).



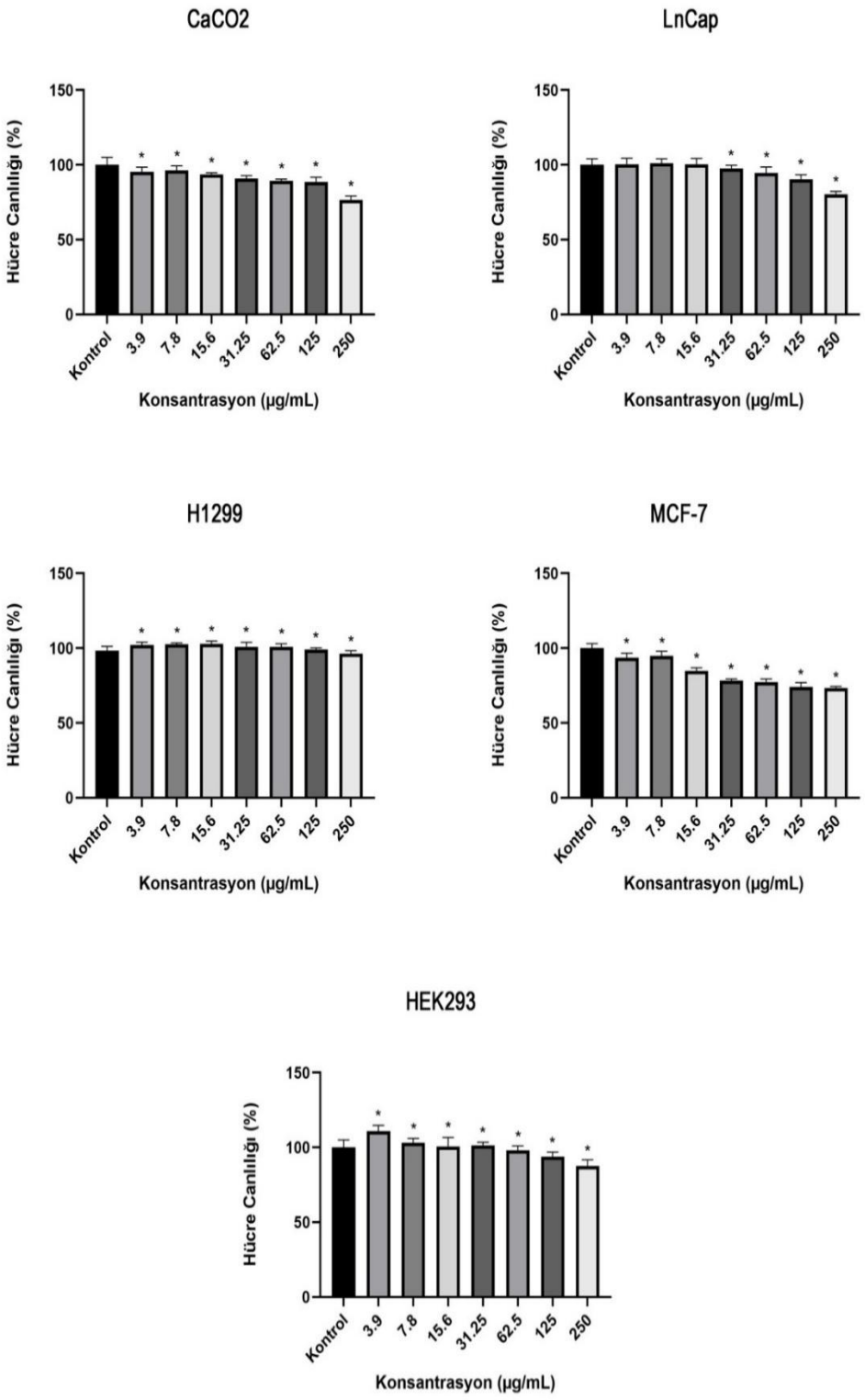
Şekil 3.187. IG.As.6 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p<0,05).



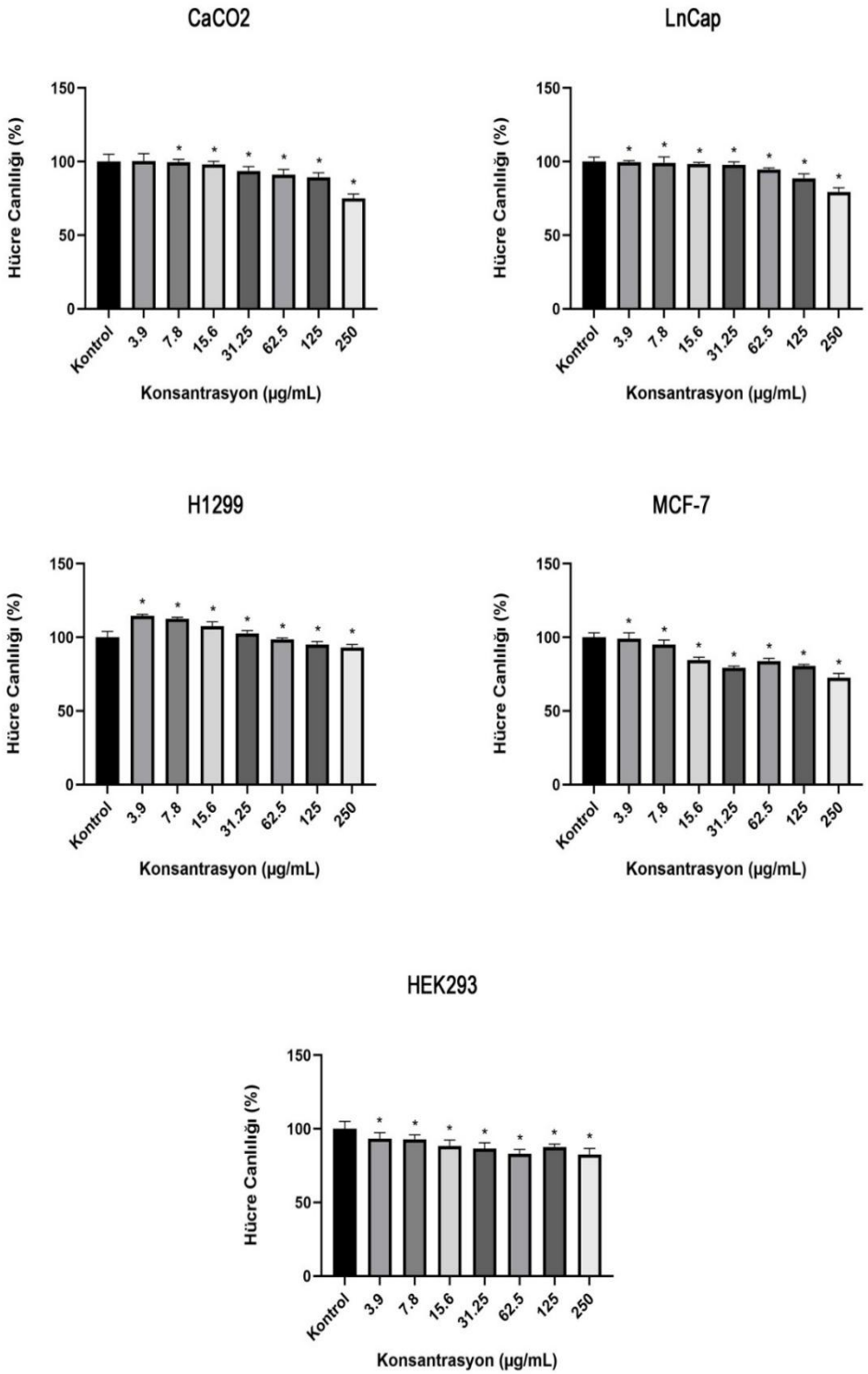
Şekil 3.188. IG.As.7 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p<0,05).



Şekil 3.189. IG.As.8 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p<0,05).



Şekil 3.190. IG.As.9 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p<0,05).



Şekil 3.191. IG.As.10 fraksiyonunun MCF-7, Caco-2, H1299, LnCap ve HEK293 hücre canlılığı üzerindeki etkileri (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, p<0,05).

3.11. *I. geotropa'*nın aseton ekstresinin biyoaktif fraksiyonlarından maddelerin saflaştırılması

Sitotoksik aktivite test sonuçlarına göre IG.As.3, IG.As.4 ve IG.As.6 numaralı fraksiyonların kolon çalışmaları yapıldı. Kolon kromatografisi bölüm 2.10.1'de açıklanan yöntem doğrultusunda fraksiyonlama işlemi yapıldı. Bu işlem sonucunda elde edilen madde miktarları ve verim değerleri aşağıda çizelge halinde sunuldu.

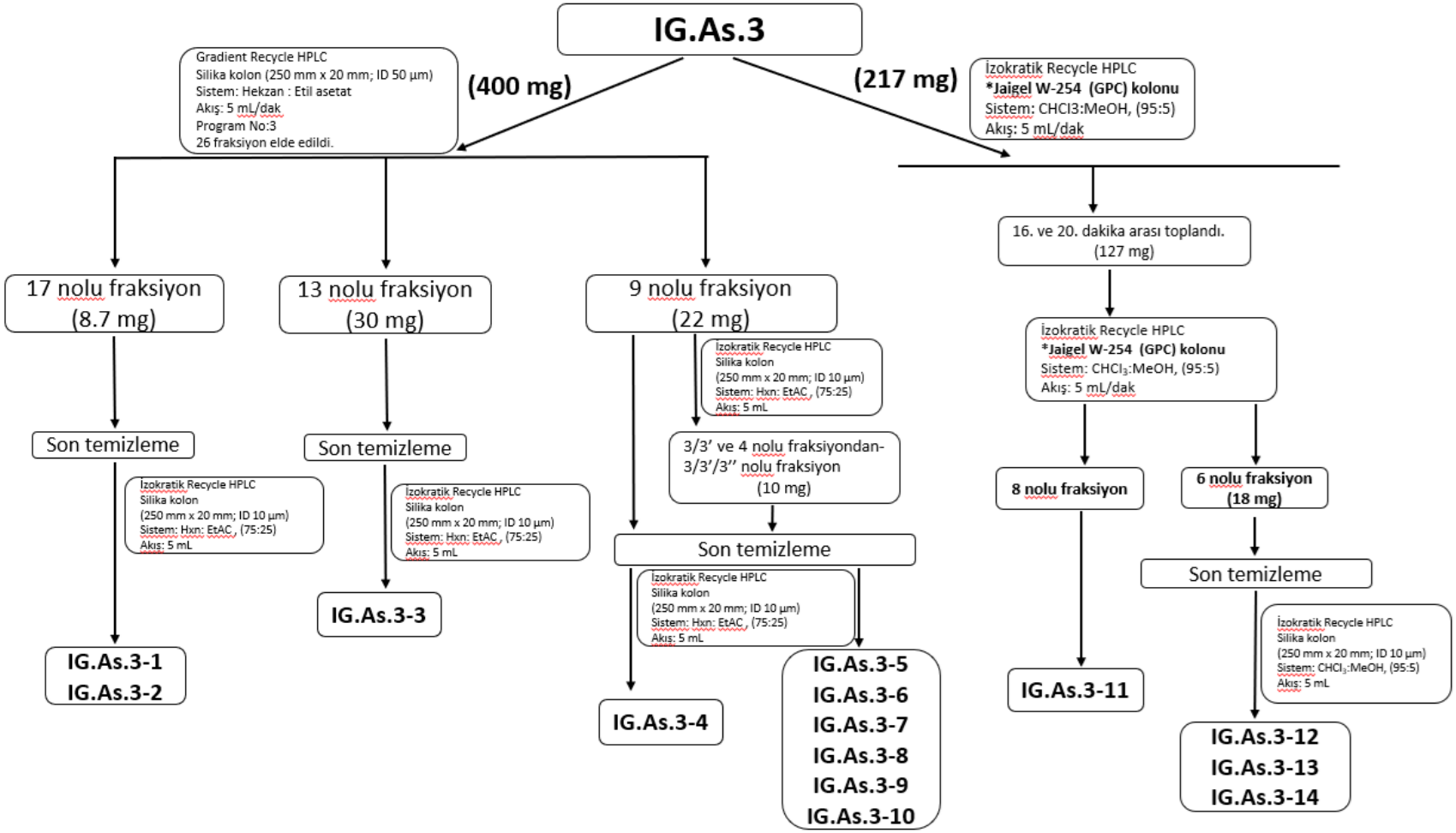
Aseton fraksiyonlarının sitotoksik aktivite test sonuçlarına göre, madde izolasyonu amacıyla kolon kromatografisinde silika jel kullanıldı. Fraksiyonlar, az miktarda uygun çözücüde çözülerek adsorban ile karıştırıldı ve karışım oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Emdirilmiş fraksiyon miktarına uygun olarak belirlenen, boyunun yaklaşık 2/3'ü silika jel ile doldurulan kolona, hazırlanan karışım üst kısımdan paketleme yöntemiyle yerleştirildi. Elüentler 10 mL'lik vial kaplarına toplandı ve ince tabaka kromatografisi (İTK) ile saf bileşikler belirlendi. Elüentler 10 mL hacimlerde viallere toplandı. Alt fraksyonların çalışılmasında gerektiğinde gradient Recycle HPLC, izokratik Recycle HPLC ve İTK kullanarak saf maddeler tespit edildi. Aseton ekstresinden saflaştırılan 17 maddenin yapılarını aydınlatmak amacıyla ^{1}H-NMR, DEPT135, DEPT90,^{13}C-NMR, HSQC, HMBC, COSY ve MS spektrumları alındı.

3.11.1. IG.As.3 biyoaktif fraksiyonunun alt fraksiyonlara ayrılması

IG.As.3 kodlu fraksiyon (5742 mg) silika kolon (250 mm x 20 mm; ID 50 μm) takılı gradient recycle HPLC-DAD cihazında fraksiyonlandırıldı. Bu amaçla artan oranlarda gradient çözücü sistemi hekzan:etil asetat kullanıldı. Akış hızı dk'da 5 mL olarak ayarlandı. DAD dedektör (210, 254, 280 ve 320 nm) dalga boylarına ayarlandı. Bu fraksiyonlandırmada 26 alt fraksiyon elde edildi. Elde edilen alt fraksiyonlar ince tabaka kromatografisinde uygun sistemlerde yürütülerek birleştirildi. Miktarı uygun olan alt fraksiyonlardaki saf maddeler izokratik preperatif HPLC-UV-RI cihazı kullanılarak saflaştırıldı. IG.As.3 fraksiyondan IG.As.3.1, IG.As.3.2, IG.As.3.3, IG.As.3.4, IG.As.3.5, IG.As.3.6, IG.As.3.7, IG.As.3.8, IG.As.3.9 ve IG.As.3.10 maddeleri saflaştırıldı. Şekil 3.192'de IG.As.3 fraksiyonunun tekrar fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen saf bileşiklerin elde edilme şeması verildi.

IG.As.3 kodlu fraksiyondan 217 mg W-254 (Size elution chromatography exlusion limit, 400.000 Da; İçerik: %70 methacrylate polymer ve %30 C18; 500 x 20 mm ID) kolon takılı izokratik Recycle HPLC-UV-RI ile de çalışıldı. Bu amaçla izokratik çözücü sistemi olarak $CHCI_3$:MeOH (95:5) kullanıldı. Akış hızı dakikada 5 mL olarak ve dedektör 254 nm olarak ayarlandı. UV aktif olmayan maddeler ise RI dedektörde izlendi. GPC ve C18 karışımı bu kolon kullanılarak IG.As.3 fraksiyondan IG.As.3.11, IG.As.3.12, IG.As.3.13 ve IG.As.3.14 maddeleri saflaştırıldı. Şekil 3.192'de IG.As.3 fraksiyonunun tekrar fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen saf bileşiklerin elde edilme şeması verildi.

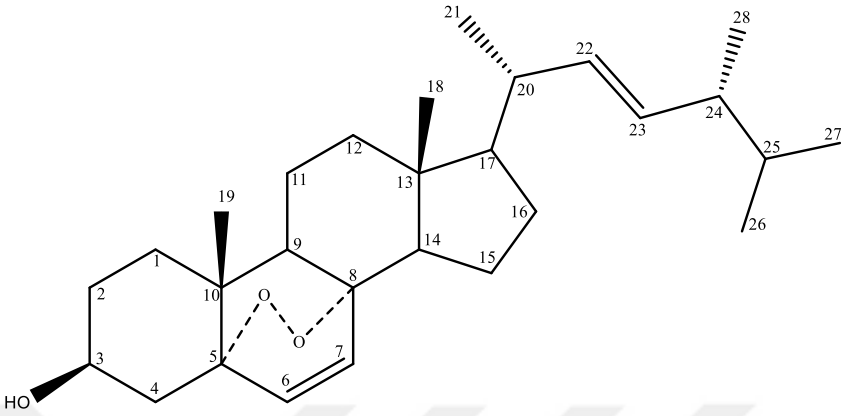
IG.As.3'ün fraksiyonundan saflaştırılan 13 maddenin yapılarını aydınlatmak ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, DEPT, APT, HSQC, HMBC ve COSY spektrumları alınarak yapı tayinleri yapıldı.



Şekil 3.192. IG.As.3 alt fraksiyonundan saf bileşiklerin (1-14) izolasyonu şeması

3.11.2. IG.As.3 biyoaktif fraksiyonundan elde edilen saf maddelerin yapı tayini

*3.11.2.1. IG.As.3.1 (**22**) = Ergesterol peroksit*



Şekil 3.193. IG.As.3.1 (22)'in yapısı

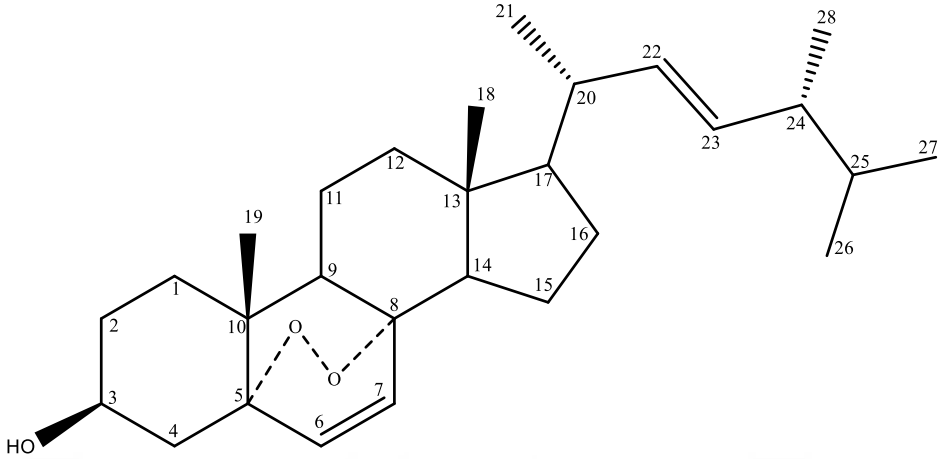
Beyaz renkli olan IG.As.3.1 (**22**) (2,31 mg) maddesi amorf halde elde edildi (Şekil 3.193). Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105˚C) siyah-kahverengi renk olmaktadır.

IG.As.3.1 (**22**) maddesinin ^{1}H-NMR spektrumu daha önce izole ettiğimiz TS.As.4.1 (**12**) maddesi ile birebir uyuşmaktadır. IG.As.3.1 (**22**) bileşiğinin yapısı ergesterol peroksit olarak belirlendi. Ergesterol peroksit bileşiği *T. scalpturatum* mantarının TS.As.3.4 **(4)** (Bölüm 3.9.2.4) ve TS.As.4.1 **(12)** (Bölüm 3.9.4.1) fraksiyonlarından da izole edilmiştir. Bölüm 3.9.4.1.'de TS.As.4.1 **(12)** kodlu madde için verilen spektrumlar nedeniyle bu madde için tekrar spektrum konulmadı. Bu bileşiğin ^{1}H-NMR spektral değerleri Çizelge 3.37'de; ^{1}H-NMR, APT, 2D (HSQC, HMBC, COSY) ve kütle spektrumları Şekil 3.126-3.131'de görülmektedir.

Çizelge 3.37. IG.As.3.1 (22)'in NMR spektral değerleri

Pozisyon	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	CH_2	1,66 (*m*, 1H); 1,90 (*m*, 1H)
2	CH_2	1,56 (*m*, 1H); 1,89 (*m*, 1H)
3	CH	3,94 (*m*, 1H)
4	CH_2	2,07 (*m*, 1H); 2,10 (*m*, 1H)
5	C	
6	CH	6,21 (*t*, *J* = 8,5 Hz, 1H)
7	CH	6,47 (*t*, *J* = 8,5 Hz, 1H)
8	C	
9	CH	1,52 (*t*, 1H)
10	C	
11	CH_2	1,38 (*m*, 1H); 1,55 (*m*, 1H)
12	CH_2	1,23 (*m*, 1H); 1,99 (*m*, 1H)
13	C	
14	CH	1,47 (*m*, 1H)
15	CH_2	1,20 (*m*, 1H); 1,49 (*m*, 1H)
16	CH_2	1,33 (*m*, 1H); 1,72 (*m*, 1H)
17	CH	1,20 (*m*, 1H)
18	CH_3	0,79 (*s*, 3H)
19	CH_3	0,97 (*d*, *J*=6,5 Hz, 3H)
20	CH	2,07 (*m*, 1H)
21	CH_3	1,06 (*d*, *J* =9,2 Hz, 3H)
22	CH	5,12 (*dd*, *J* =15,3, 8,6 Hz, 1H)
23	CH	5,18 (*dd*, *J* = 15,3, 8,6 Hz, 1H)
24	CH	1,82 (*m*, 1H)
25	CH	1,46 (*m*, 1H)
26	CH_3	0,87 (*d*, *J*=6,3 Hz, 3H)
27	CH_3	0,85 (*d*, *J*=6,5 Hz, H)
28	CH_3	0,96 (*d*, *J*=6,45 Hz, H)

*3.11.2.2. IG.As.3.2 (**23**) = Ergesterol peroksit*



Şekil 3.194. IG.As.3.2 (23)'nin yapısı

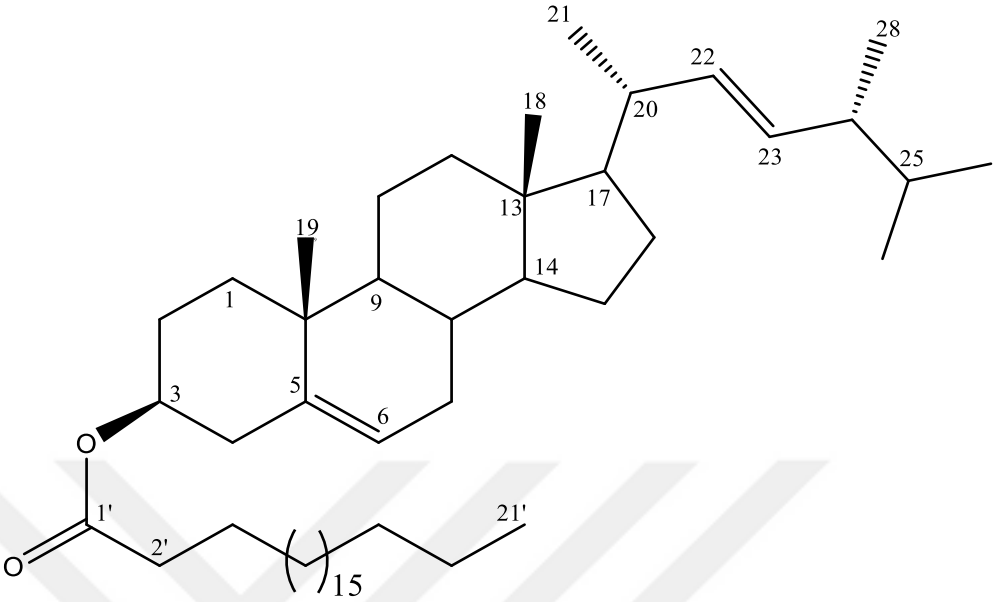
IG.As.3.2 (**23**) maddesi **(**1,5 mg) amorf halde elde edildi (Şekil 3.194). Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105˚C) kahverengi renk olmaktadır.

IG.As.3.2 (**23**) maddesinin ^{1}H-NMR spektrumu daha önce izole ettiğimiz TS.As.4.1 (**12**) maddesi ile birebir uyuşmaktadır. IG.As.3.2 (**23**) bileşiğinin yapısı ergesterol peroksit olarak belirlendi ve IG.As.3.1 (**22**) ile aynı kimyasal yapıdadır (Sgarbi vd, 1997). Ergesterol peroksit bileşiği daha önce *T. scalpturatum* mantarının TS.As.3.4 **(4)** (Bölüm 3.9.2.4) ve TS.As.4.1 **(12)** (Bölüm 3.9.4.1) fraksiyonlarından da izole edilmiştir. Bölüm 3.9.4.1.'de TS.As.4.1 **(12)** kodlu madde için verilen spektrumlar nedeniyle bu madde için tekrar spektrum konulmadı. Bu bileşiğin ^{1}H-NMR spektral değerleri Çizelge 3.38'de; ^{1}H-NMR, APT, (HSQC, HMBC, COSY) ve kütle spektrumları Şekil 3.126-3.131'de görülmektedir.

Çizelge 3.38. IG.As.3.2 (23)'nin NMR spektral değerleri

Pozisyon	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	CH_2	1,68 (*m*, 1H); 1,95 (*m*, 1H)
2	CH_2	1,50 (*m*, 1H); 1,84 (*m*, 1H)
3	CH	3,97 (*m*, 1H)
4	CH_2	2,10 (*m*, 1H); 2,12 (*m*, 1H)
5	C	
6	CH	6,24 (*t*, *J* = 8,5 Hz, 1H)
7	CH	6,50 (*t*, *J* = 8,5 Hz, 1H)
8	C	
9	CH	1,50 (*t*, 1H)
10	C	
11	CH_2	1,37 (*m*, 1H); 1,50 (*m*, 1H)
12	CH_2	1,22 (*m*, 1H); 1,97 (*m*, 1H)
13	C	
14	CH	1,49 (*m*, 1H)
15	CH_2	1,21 (*m*, 1H); 1,47 (*m*, 1H)
16	CH_2	1,38 (*m*, 1H); 1,71 (*m*, 1H)
17	CH	1,24 (*m*, 1H)
18	CH_3	0,88 (*s*, 3H)
19	CH_3	0,92 (*d*, *J*=6,8, 3H)
20	CH	2,10 (*m*, 1H)
21	CH_3	1,00 (*d*, *J* =6,6 Hz, 3H)
22	CH	5,14 (*dd*, *J* =15,2, 7,6 Hz, 1H)
23	CH	5,23 (*dd*, *J* = 15,3, 8,3 Hz, 1H)
24	CH	1,85 (*m*, 1H)
25	CH	1,55 (*m*, 1H)
26	CH_3	0,83 (*d*, *J*= 6,4 Hz, 3H)
27	CH_3	0,81 (*d*, *J*= 6,0 Hz, 3H)
28	CH_3	0,91 (*d*, *J*= 6,5 Hz, 3H)

*3.11.2.3. IG.As.3.3 (**24**) = Ergosta-5,22-dien-il-monokosanoat*



Şekil 3.195. IG.As.3.3 (24)'ün yapısı

IG.As.3.3 (**24**) maddesi (2,5 mg) amorf halde elde edildi (Şekil 3.195). Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105˚C) koyu kahverengi renk oldu. IG.As.3.3 (**24**) bileşiğinin yapısı ^{1}H-NMR (Şekil 3.196) ve ^{13}C-NMR (Şekil 3.197), COSY (Şekil 3.198), HSQC (Şekil 3.199), HMBC (Şekil 3.200) ve ESI^{+}-TOF-MS (Şekil 3.201) spektrumları ile aydınlatılmıştır. GC-MS (Şekil 3.202) yöntemi ile desteklenmiştir.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δ (ppm), 600 MHz) spektrumunda δ 0,69 (*s*, H-18), 1,01 (*d*, *J*= 6,3 Hz, H-19), 1,01 (*s*, H-21), 0,83 (*d*, *J*= 6,7 Hz, H-26), 0,82 (*d*, *J*= 6,8 Hz, H-27), 0,91 (*d*, *J*= 6,7 Hz, H-28) ve 0,88 (*m*, H-14') ppm'de rezonans olan pikler 7 adet metil piklerine, δ 4,61 (*m*, 1H, H-3), 5,16 (*dd*, *J*= 7,5 Hz, H-22), 5,20 (*dd*, *J*= 6,8 Hz, H-23) ve δ 5,37 (*d*, *J*= 5,0 Hz, H-6) ppm'de rezonans olan metin piklerine aittir. δ 4,61 (*m*, 1H, H-3) ppm'de rezonans olan pik H-3 hidrojenin bağlı olduğu karbona bağlı bir ester grubunun β bağlanmış olduğunu göstermektedir. Yapı sterolün 3 pozisyonundan bağlanan grup dışında, TS.As.3.9 (**9**) verileriyle uyum içindedir (Li vd, 2014).

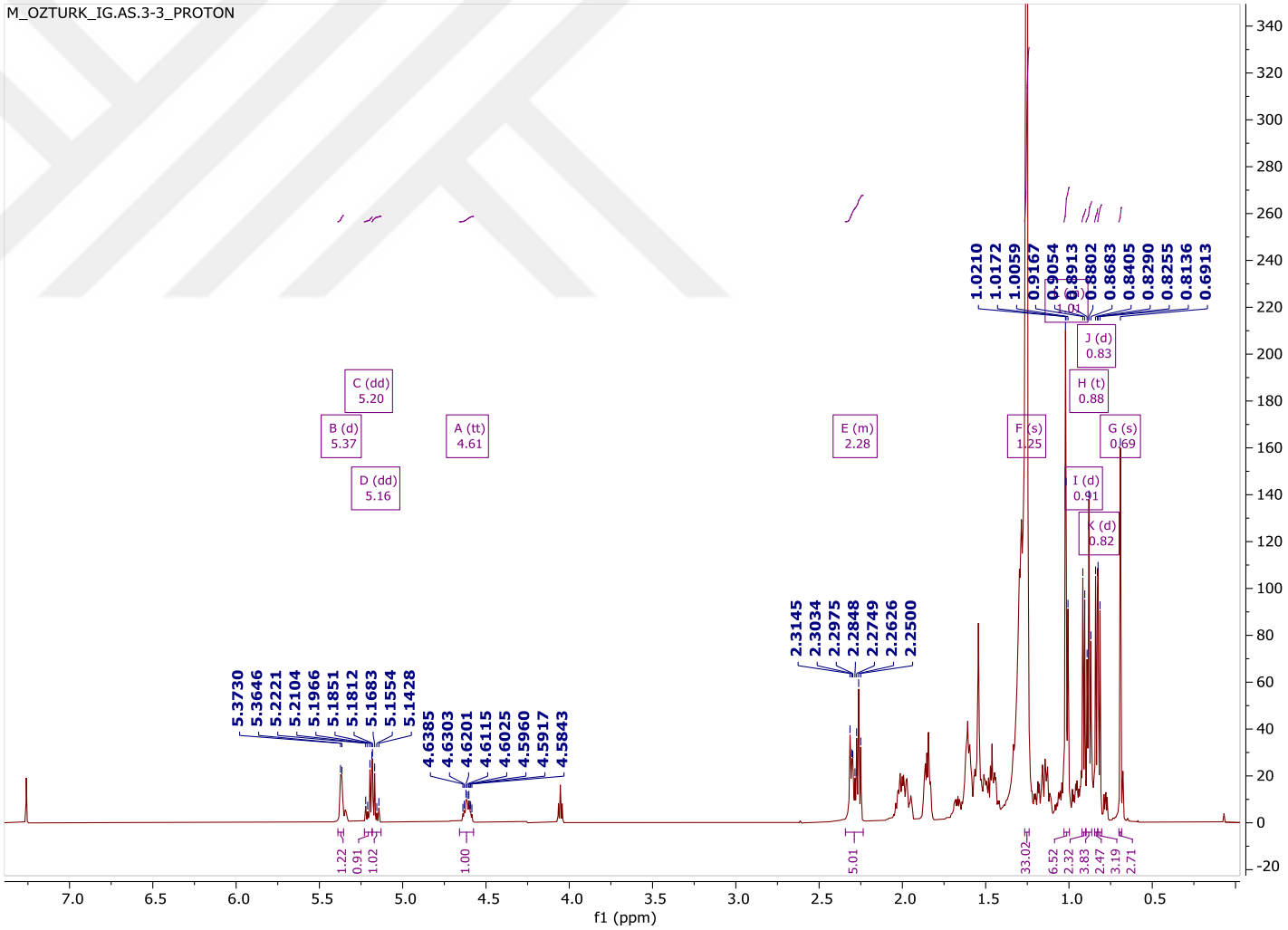
^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$, δ (ppm), 150 MHz) HSQC spektrumu ile birlikte değerlendirildiğinde δ 173,3 (C-1') ppm'de karbonil sinyali gözlendi. δ 139,7 (C-5), 122,6 (C-6), 135,8 (C-22) ve 131,7 (C-23) ppm'de olefinik karbon sinyalleri, δ 12,1 (C-18), 19,3 (C-19), 20,9 (C-21), 19,9 (C-26), 19,6 (C-27) ve 13,9 (C-21') ppm'de metil sinyallerine aittir. Yağ asitinde δ 22,5 (C-20'), 25,1 (C-3'), δ 31,7 (C-19') ve 34,7 (C-2') ppm'de metilen pikleri görülmektedir.

Elektrosprey uçuş zamanlı kütle spektrometrisinde (ESI^+-TOF-MS) (Şekil 3.201) *m/z* 706,6623 $[M]^+$ piki $C_{49}H_{86}NO_2$ kapalı formülünü (calc. 706,6628) verdi. *m/z* 381,3524 $[M\text{-}C_{21}H_{40}]^+$'de ortaya çıkan pik yağ asidi kısmının 21 karbonlu doymuş yapıda olduğuna işaret etmektedir. Ayrıca kütle spektrumunda (EI-MS) spektrumunda *m/z* 399 $[M\text{-}C_{21}H_{40}]^+$ piki aglikona aittir (Şekil 3.202).Yapıyı doğrulamak için, bileşik asit ile hidroliz edilip kurutuldu, silillenip GC-MS'e verildiğinde NİST2015 kütüphanesi ile karşılaştırıldığında monokosanoat olduğu belirlendi. Silillenmiş madde kromatogramda 36,91 dak.'da gelmektedir.

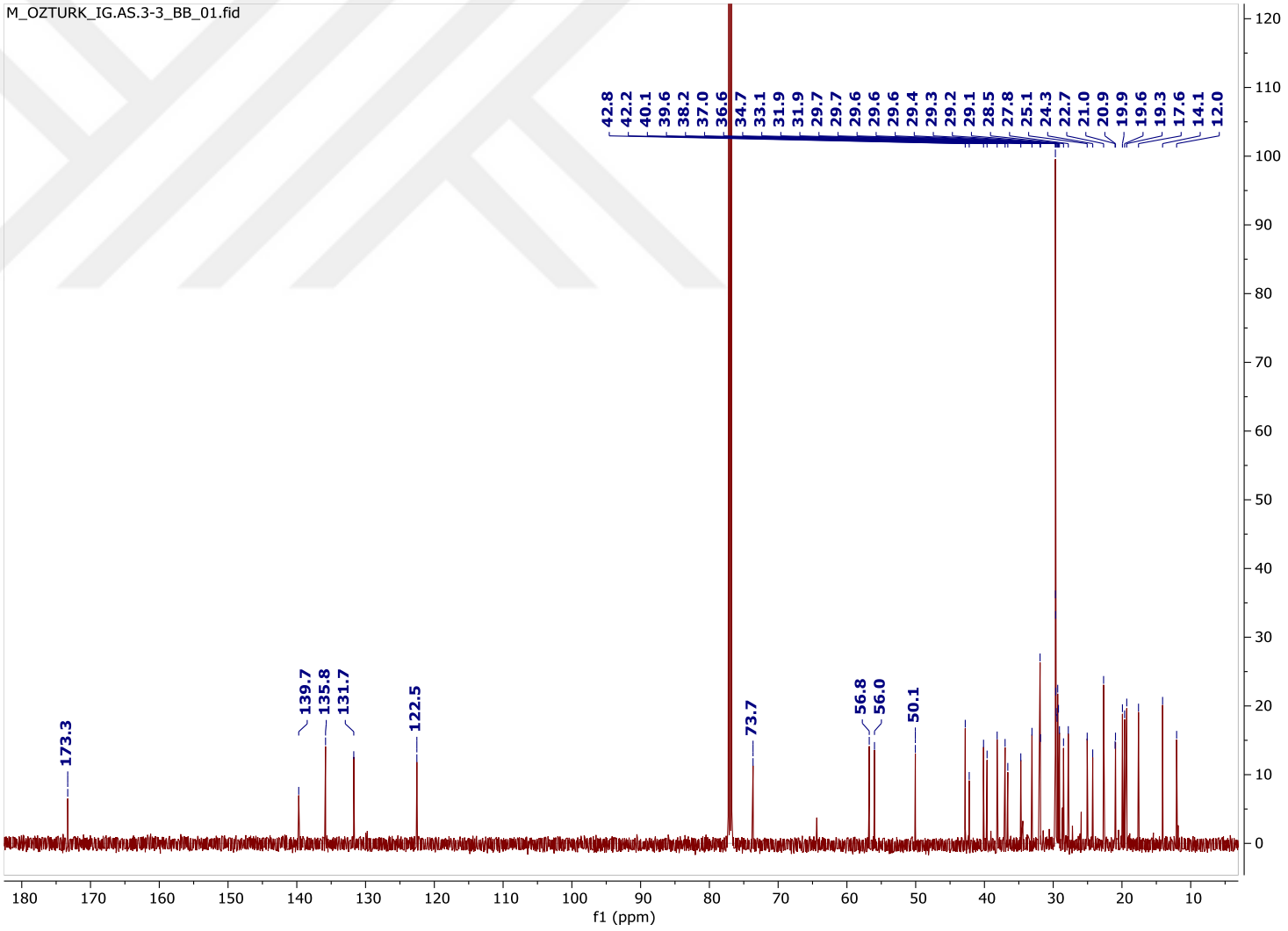
^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektrumları kütle spektrumları ve GC-MS verileri ile literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında IG.As.3.3 (**24**) bileşiğinin yapısının Ergosta-5,22-dien-*il*-monokosanoat olduğu belirlendi (Atta-Ur-Rahman vd, 2008; Liv vd, 2014) IG.As.3.3 (**24**) bileşiğinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR değerleri Çizelge 3.39'da verilmektedir.

Çizelge 3.39. IG.As.3.3 (24)'ün NMR spektral değerleri

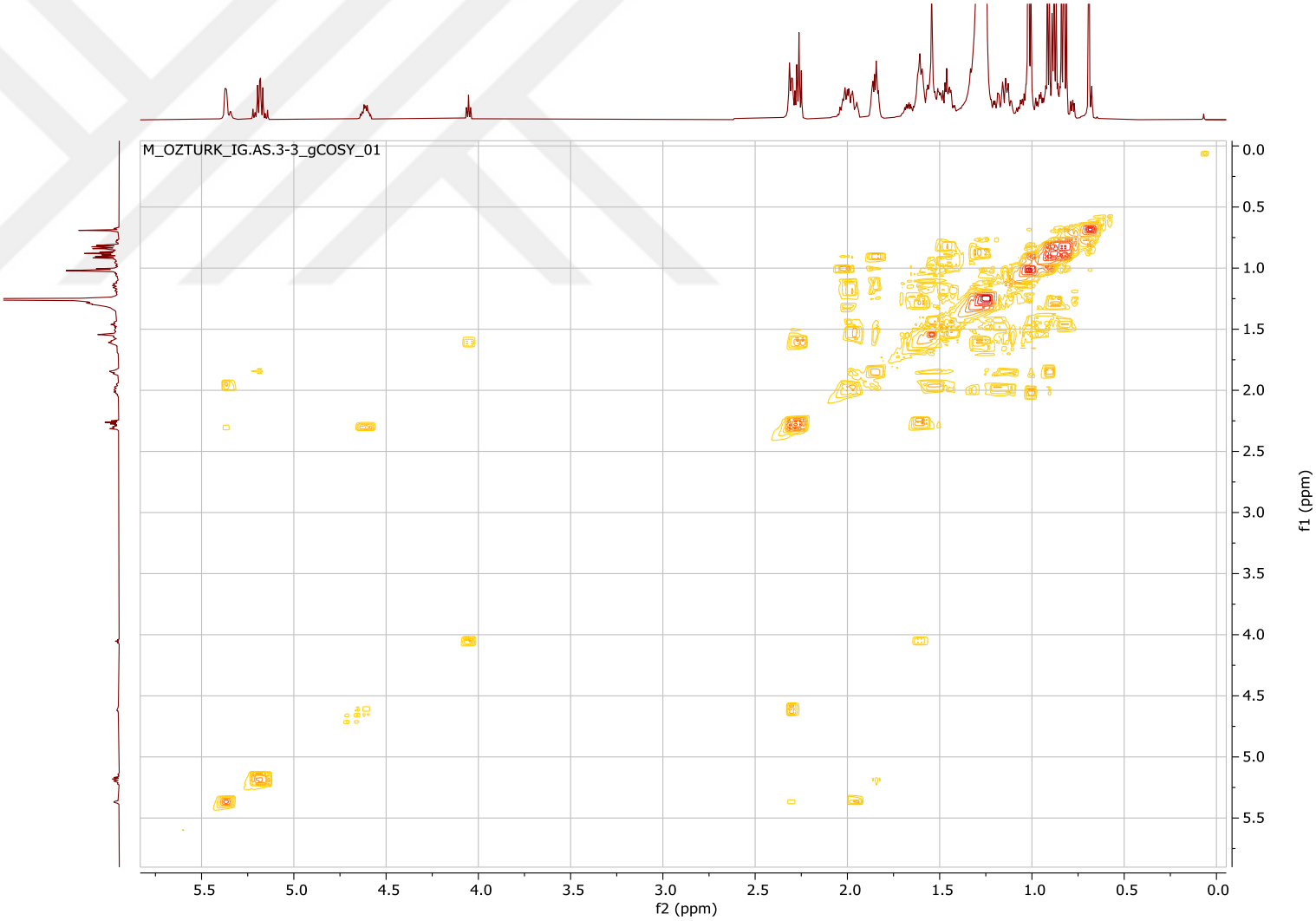
Pozisyon	^{13}C-NMR(δ)	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	37,0	CH_2	1,86 (*m*, 1H); 1,88 (*m*, 1H)
2	28,5	CH_2	1,60 (*m*, 1H); 1,68 (*m*, 1H)
3	73,7	CH	4,61 (*m*, 1H)
4	38,2	CH_2	2,27 (*m*, 1H); 2,31 (*m*, 1H)
5	139,7	C	
6	122,6	CH	5,37 (*d*, *J* = 5,0 Hz, 1H)
7	31,9	CH_2	1,94 (*m*, 1H); 1,97 (*m*, 1H)
8	31,9	CH	1,14 (*m*, 1H)
9	50,1	CH	0,95 (*m*, 1H)
10	36,6	C	
11	21,0	CH_2	1,44 (*m*, 1H); 1,51 (*m*, 1H)
12	39,6	CH_2	1,17 (*m*, 1H); 1,97 (*m*, 1H)
13	42,2	C	
14	56,8	CH	1,00 (*m*, 1H)
15	24,3	CH_2	1,54 (*m*, 1H); 1,60 (*m*, 1H)
16	27,8	CH_2	1,56 (*m*, 1H); 1,84 (*m*, 1H)
17	56,0	CH	1,13 (*m*, 1H)
18	12,1	CH_3	0,69 (*s*, 3H)
19	19,3	CH_3	1,01 (*d*, *J* = 6,3 Hz, 3H)
20	40,1	CH	2,01 (*m*, 1H)
21	20,9	CH_3	1,01 (*s*, 3H)
22	135,8	CH	5,16 (*dd*, *J* = 7,5 Hz, 1H,)
23	131,7	CH	5,20 (*dd*, *J* = 6,8 Hz, 1H)
24	42,8	CH	1,84 (*m*, 1H)
25	33,1	CH	1,46 (*m*, 1H)
26	19,9	CH_3	0,83 (*d*, *J* = 6,7 Hz, 3H)
27	19,6	CH_3	0,82 (*d*, *J* = 6,8 Hz, 3H)
28	17,6	CH_3	0,91 (*d*, *J* = 6,7 Hz, 3H)
1'	173,3	C	
2'	34,7	CH_2	2,28; 2,3(*m*, 2H)
3'	25,1	CH_2	1,25 (*m*, 1H); 1,60 (*m*, 1H)
4'	29,5	CH_2	1,25 (*m*, 2H)
5'-18'	29,1-29,7	CH_2	1,24-1,33 (*m*, 2H)
19'	31,7	CH_2	1,25; 1,53 (*m*, 2H)
20'	22,5	CH_2	1,28 (*m*, 2H)
21'	13,9	CH_3	0,88 (*m*, 3H)



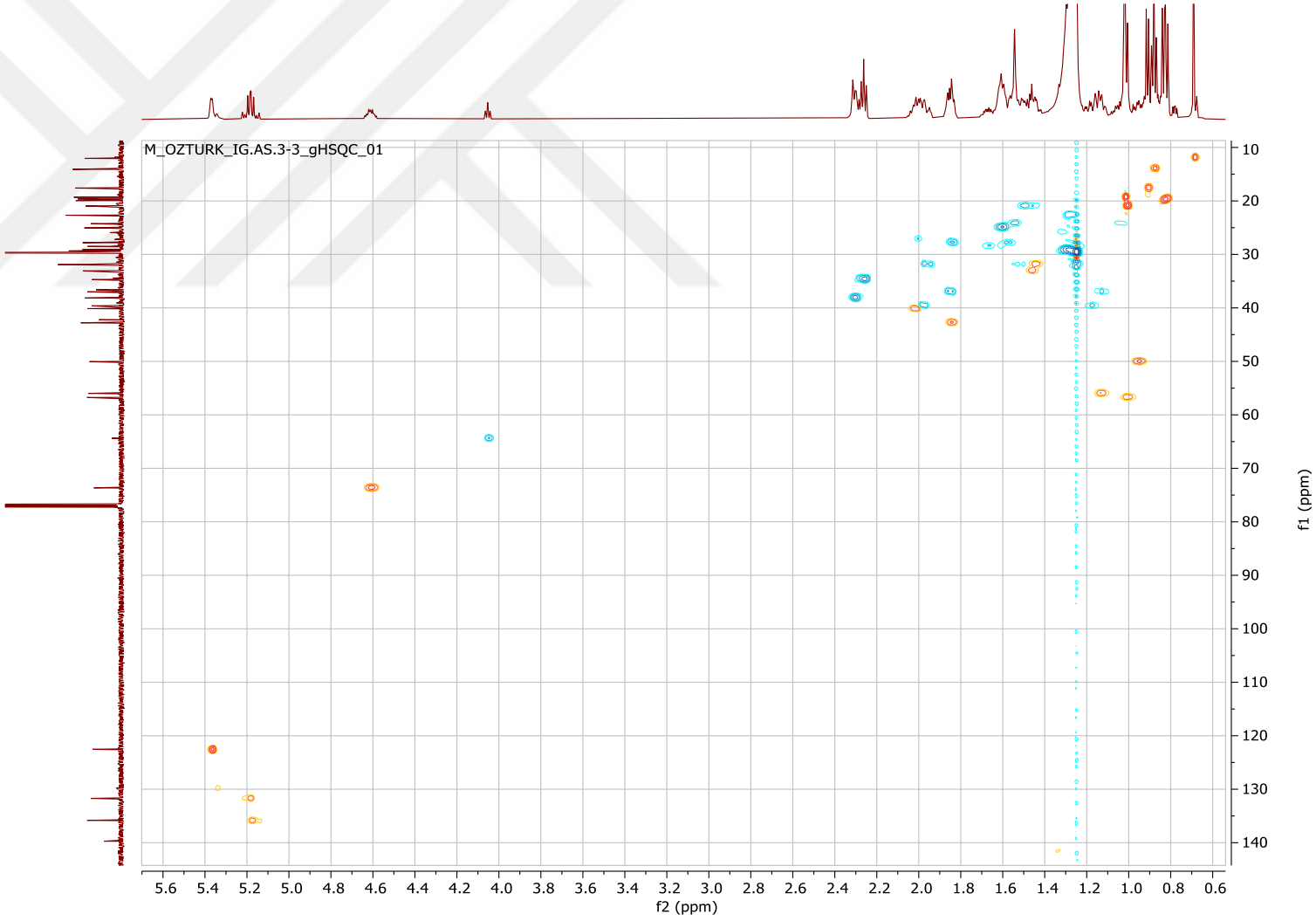
Şekil 3.196. IG.As.3.3 (24)'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 600 MHz)



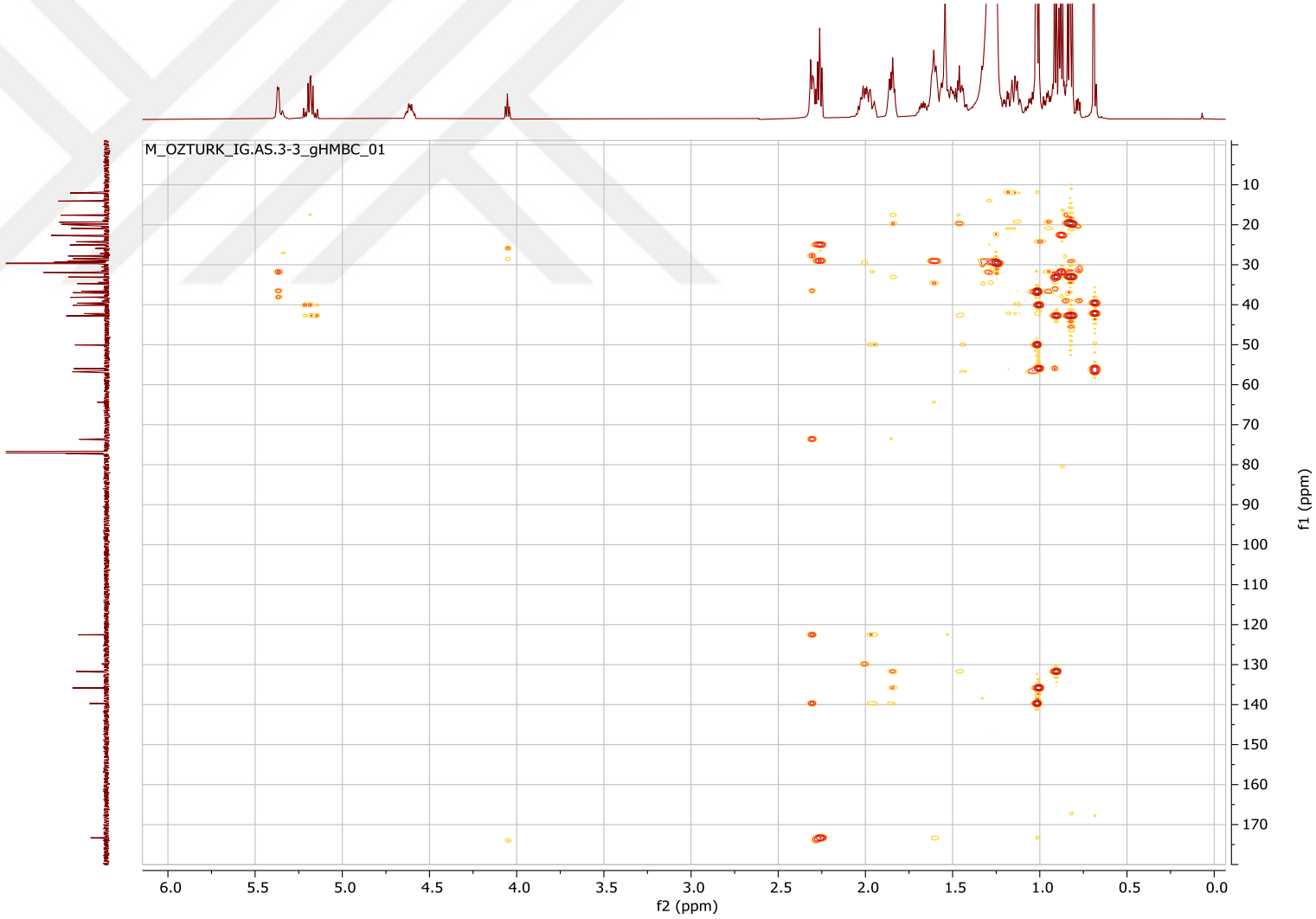
Şekil 3.197. IG.As.3.3 (24)'ün ^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 150 MHz)



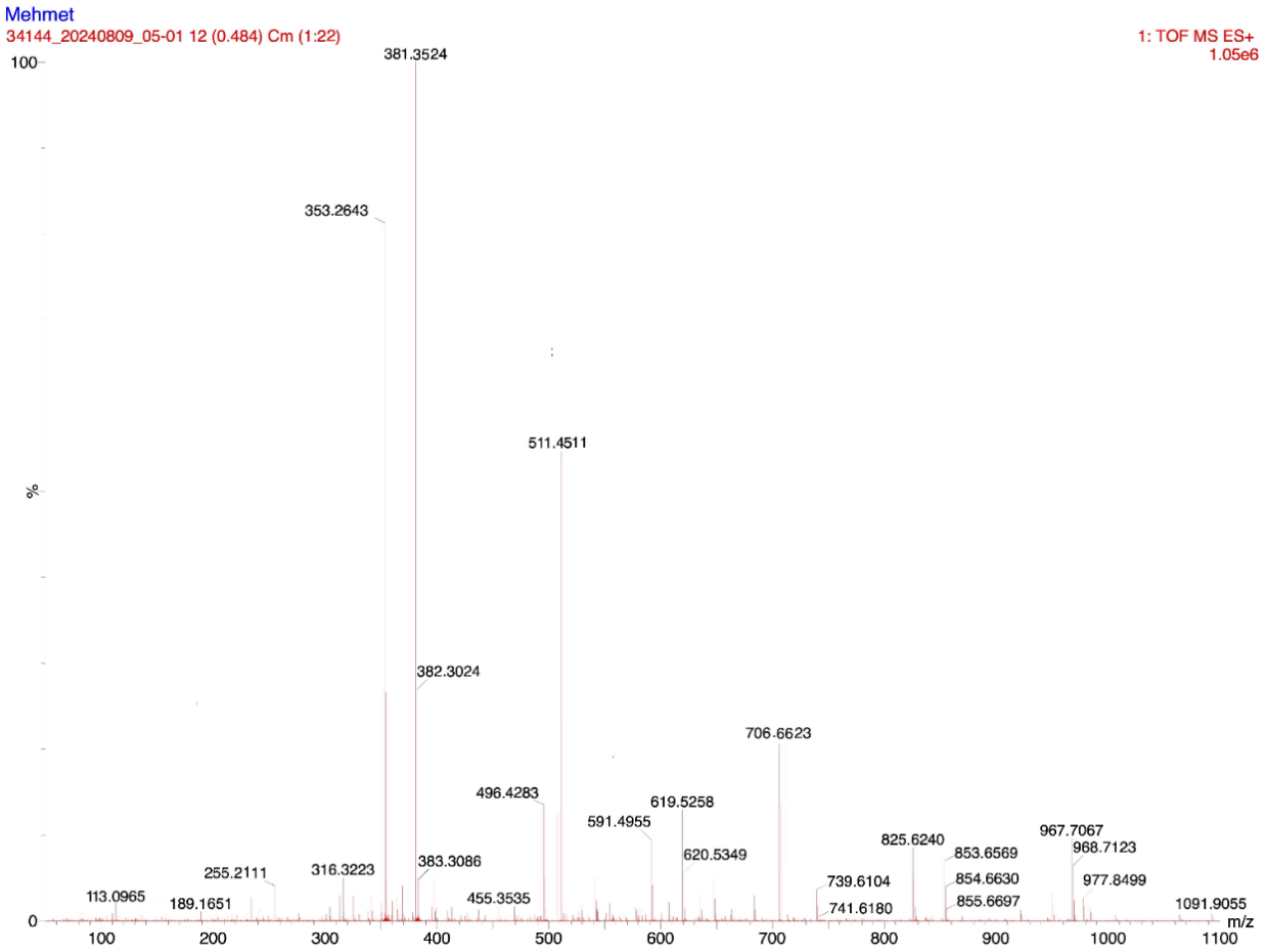
Şekil 3.198. IG.As.3.3 (24)'ün COSY spektrumu



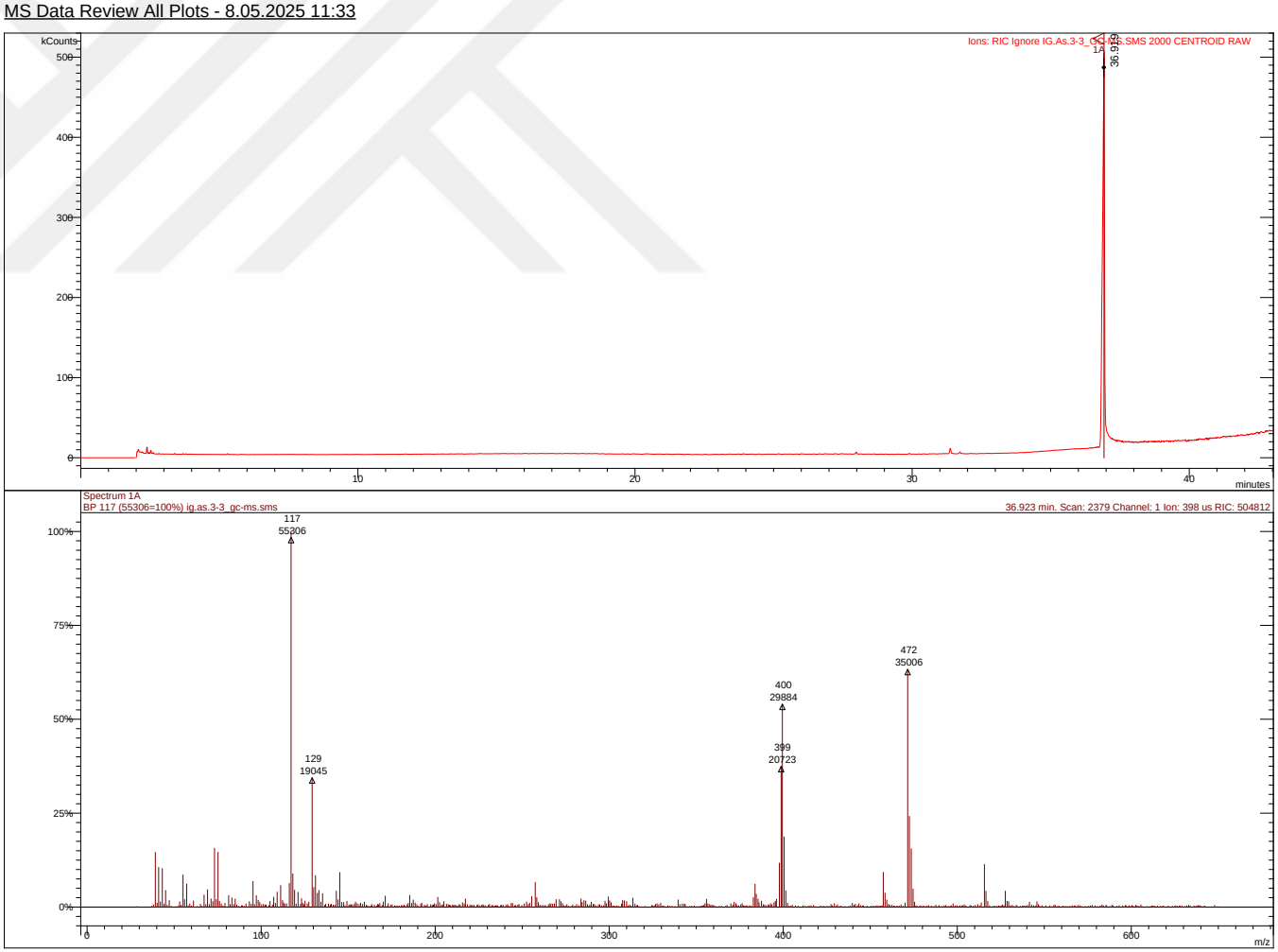
Şekil 3.199. IG.As.3.3 (24)'ün HSQC spektrumu



Şekil 3.200. IG.As.3.3 (24)'ün HMBC spektrumu

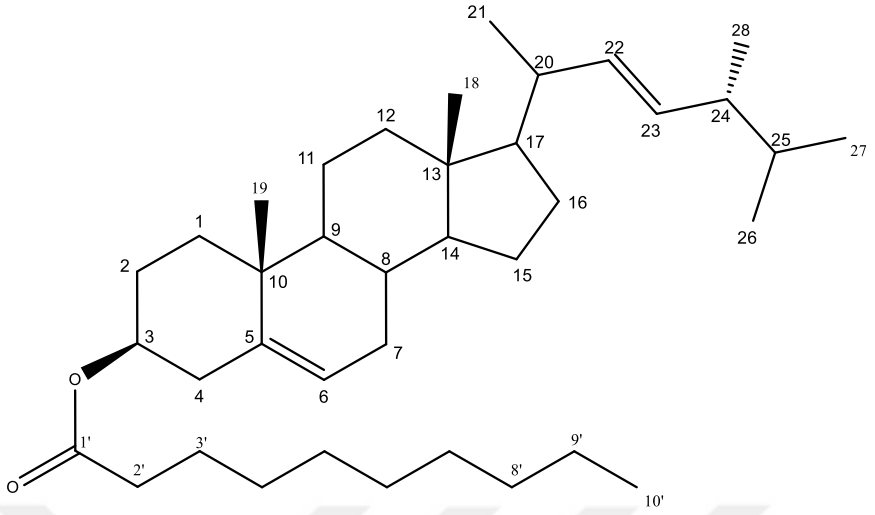


Şekil 3.201. IG.As.3.3 (24)'ün ESI$^+$-TOF kütle spektrumu



Şekil 3.202. IG.As.3.3 (24)'ün hidrolizinin silillenmiş GC-MS kromatogramı ve kütle spektrumu

*3.11.2.4. IG.As.3.4 (**25**) = Ergosta-5,22-dien 3β-ol-oktanat*



Şekil 3.203. IG.As.3.4 (25)'ün yapısı

Beyaz renkli olan IG.As.3.4 **(25)** (2,0 mg) maddesi sıvı halde elde edildi (Şekil 3.203). Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105˚C) koyu kahverengi renk oldu.

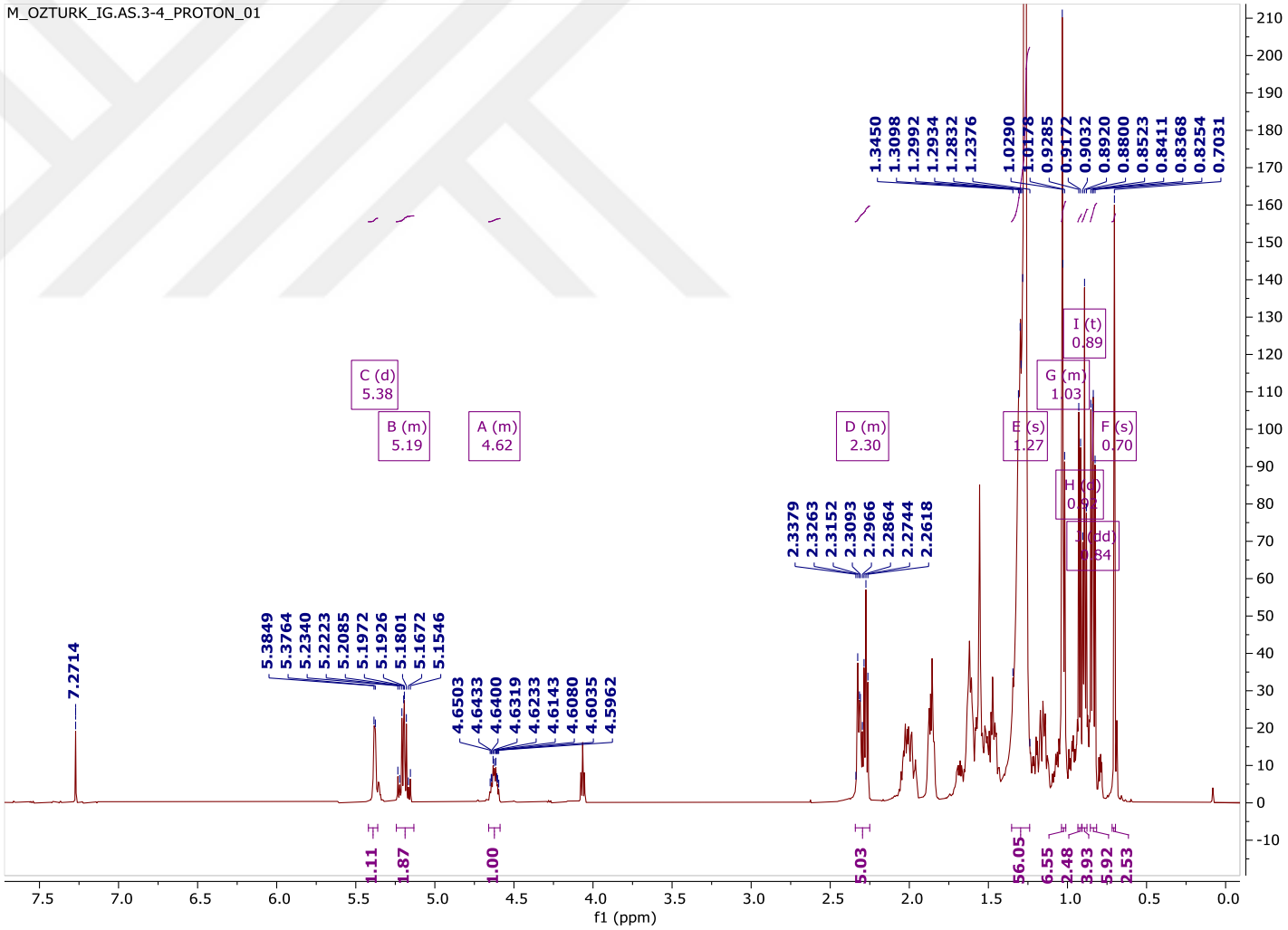
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δ (ppm), 500 MHz), (Şekil 3.204) spektrumunda δ 0,70 (*s*, H-18), 1,03 (*s*, H-19), 1,03 (*s*, H-21), 0,81 (*d*, *J*= 6,84 Hz, H-26), 0,84 (*d*, *J*= 6,90 Hz, H-27), 0,92 (*d*, *J*= 6,78 Hz, H-28) ve 0,89 (*t*, *J*= 6,72 Hz, H-10') ppm'de rezonans olan 7 adet metil pikine, δ 5,38 (*d*, *J*= 6,4 Hz, H-6), 5,14 (*dd*, *J*= 15,3; 7,62 Hz, H-22), 5,19 (*dd*, *J*= 15,3; 7,02 Hz, H-23) ve δ 4,62 (*m*, 1H, H-3) ppm'de rezonans olan metin piklerine aittir. δ 4,62 (*m*, 1H, H-3) ppm'de rezonans olan pik H-3 hidrojenin bağlı olduğu karbona bağlı bir ester grubunun β bağlanmış olduğunu göstermektedir. Yapı sterolün 3 pozisyonundan bağlanan grup dışında, TS.As.3.9 (**9**) verileriyle uyum içindedir ve aglikon kısımlarının aynı olduğu tespit edildi (Li vd, 2014).

^{1}H-NMR spektrumunda 1,27 ppm'de rezonans olan protonların yağ asidine ait olduğu düşünüldü (Şekil 3.205). Yapıyı doğrulamak için, bileşik asit ile hidroliz edilip kurutuldu, silillenip GC-MS'e verildiğinde NİST2015 kütüphanesi ile karşılaştırıldığında oktanat olduğu belirlendi. Silillenmiş madde kromatogramda 14,5 dk.'da gelmektedir (Şekil 3.206).

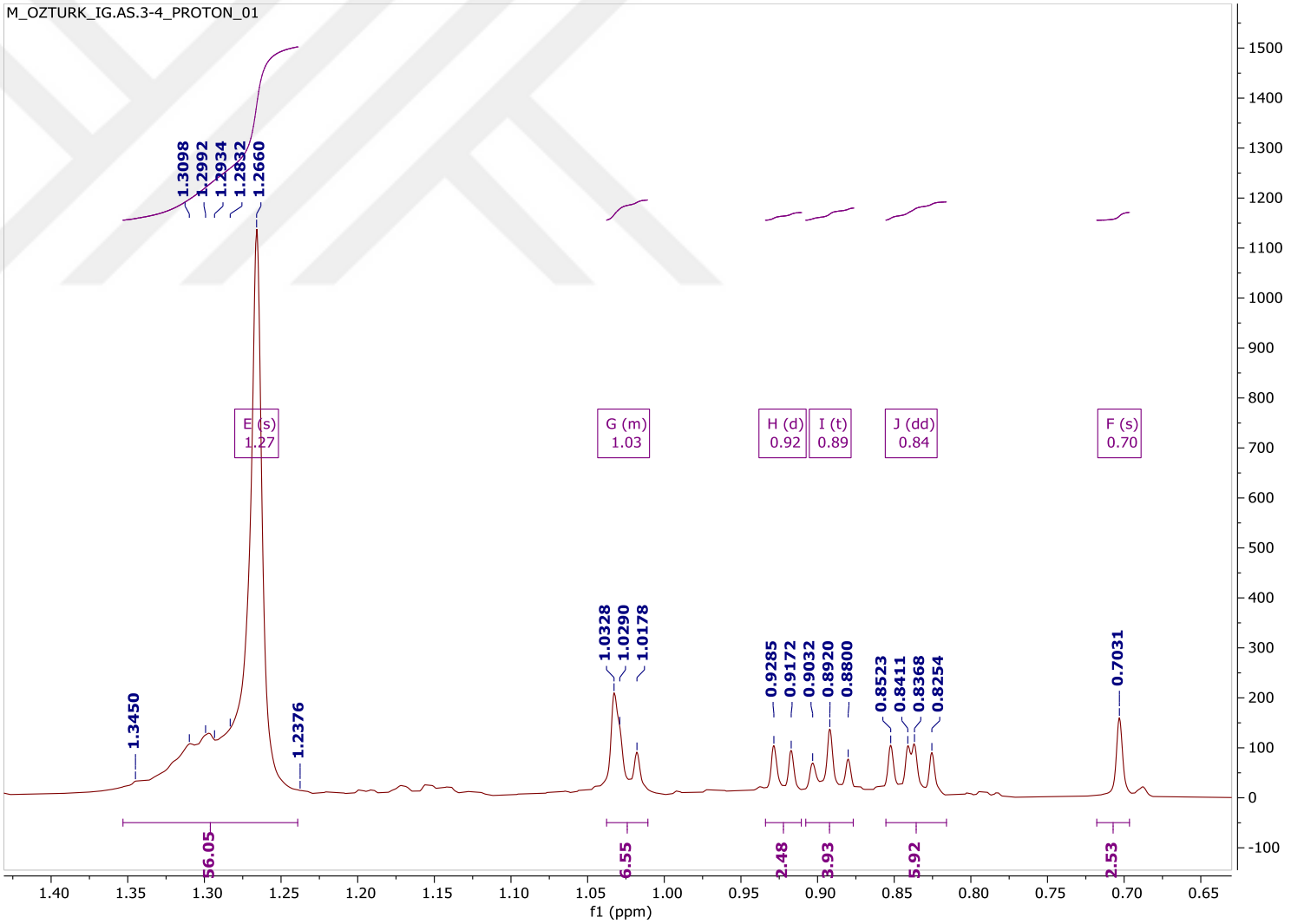
^{1}H-NMR spektrumu, kütle spektrumu (EI-MS) spektrumu ve GC-MS verileri literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında IG.As.3.4 (**25**) bileşiğinin yapısının ergosta-5,22-dien 3β-*ol*-oktanat olduğu belirlendi (Bankova vd, 1995; Atta-Ur-Rahman vd, 2008; Liv vd, 2014) IG.As.3.4 (**25**) bileşiğinin ^{1}H-NMR değerleri Çizelge 3.40'da verilmektedir.

Çizelge 3.40. IG.As.3.4 (25)'ün NMR spektral değerleri

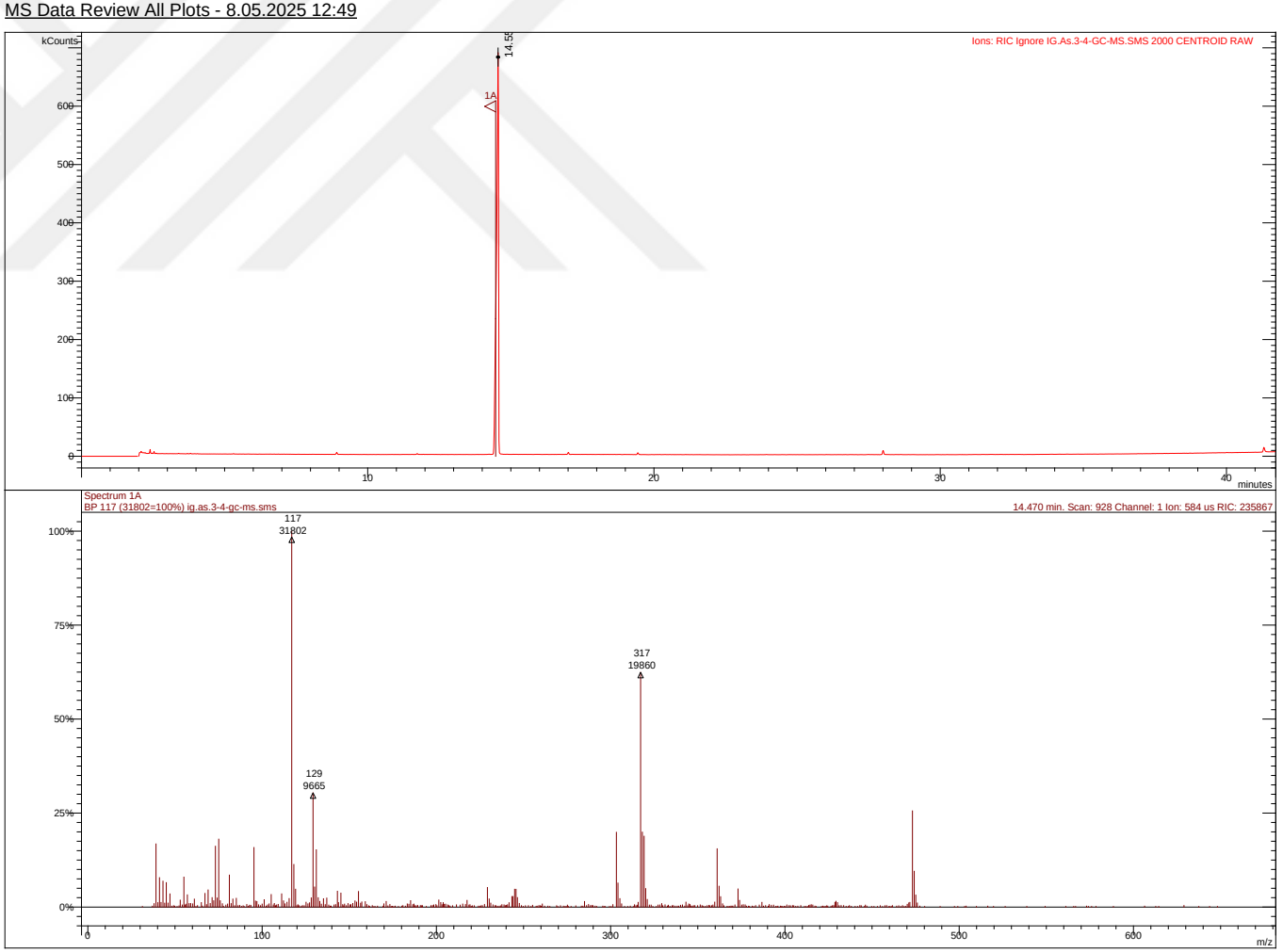
Pozisyon	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	CH_2	1,13 (*m*, 1H); 1,86 (*m*, 1H)
2	CH_2	1,13 (*m*, 1H); 1,84 (*m*, 1H)
3	CH	4,62 (*m*, 1H)
4	CH_2	2,26 (*m*, 1H); 2,32 (*m*, 1H)
5	C	
6	CH	5,38 (*d*, *J* = 6,4 Hz, 1H)
7	CH_2	1,26 (*m*, 1H); 1,97 (*m*, 1H)
8	CH	1,45 (*m*, 1H)
9	CH	0,97 (*m*, 1H)
10	C	
11	CH_2	1,42 (*m*, 1H); 1,48 (*m*, 1H)
12	CH_2	1,21 (*m*, 1H); 1,99 (*m*, 1H)
13	C	
14	CH	1,16 (*m*, 1H)
15	CH_2	1,58 (*m*, 1H); 1,62 (*m*, 1H)
16	CH_2	1,24 (*m*, 2H)
17	CH	0,95 (*m*, 1H)
18	CH_3	0,70 (*s*, 3H)
19	CH_3	1,03 (*s*, 3H)
20	CH	2,04 (*m*, 1H)
21	CH_3	1,03 (*d*, *J* = 6,84 Hz, 3H)
22	CH	5,14 (*dd*, *J* = 15,3; 7,62 Hz, 1H,)
23	CH	5,19 (*dd*, *J* = 15,3; 7,02 Hz, 1H)
24	CH	1,83 (*m*, 1H)
25	CH	2,01 (*m*, 1H)
26	CH_3	0,81 (*d*, *J* = 6.84 Hz, 3H)
27	CH_3	0,84 (*d*, *J*=6,90 Hz, 3H)
28	CH_3	0,92 (*d*, *J*=6,7 Hz, 3H)
1'	C	
2'	CH_2	2,30 (*dd*, *J* = 7,5 Hz, 2H)
3'	CH_2	1,57 (*m*, 1H); 1,61 (*m*, 1H)
4'-7'	CH_2	1,24; 1,32 (*m*, 2H)
8'	CH_2	1,24; 1,26 (*m*, 2H)
9'	CH_2	1,24; 1,32 (*m*, 2H)
10'	CH_3	0,89 (*t*, *J* = 6,72 Hz, 3H)



Şekil 3.204. IG.As.3.4 (25)'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)

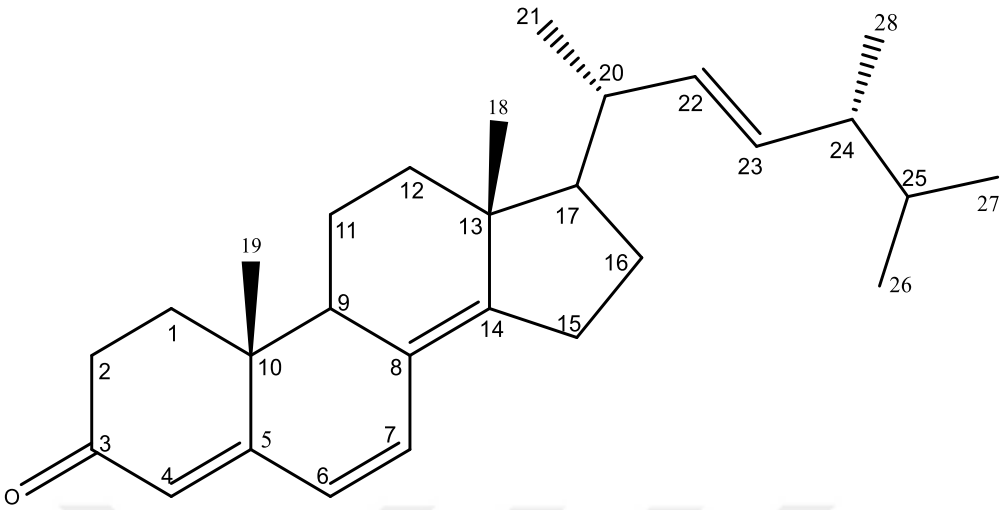


Şekil 3.205. IG.As.3.4 (25)'ün ^{1}H-NMR spektrumu (0-1,5 ppm aralığı)



Şekil 3.206. IG.As.3.4 (25)'ün hidrolizinin silillenmiş GC-MS kromatogramı ve kütle spektrumu

*3.11.2.5. IG.As.3.5 (**26**) = Ergosta-4,6,8(14)-22-tetraen-3-on*



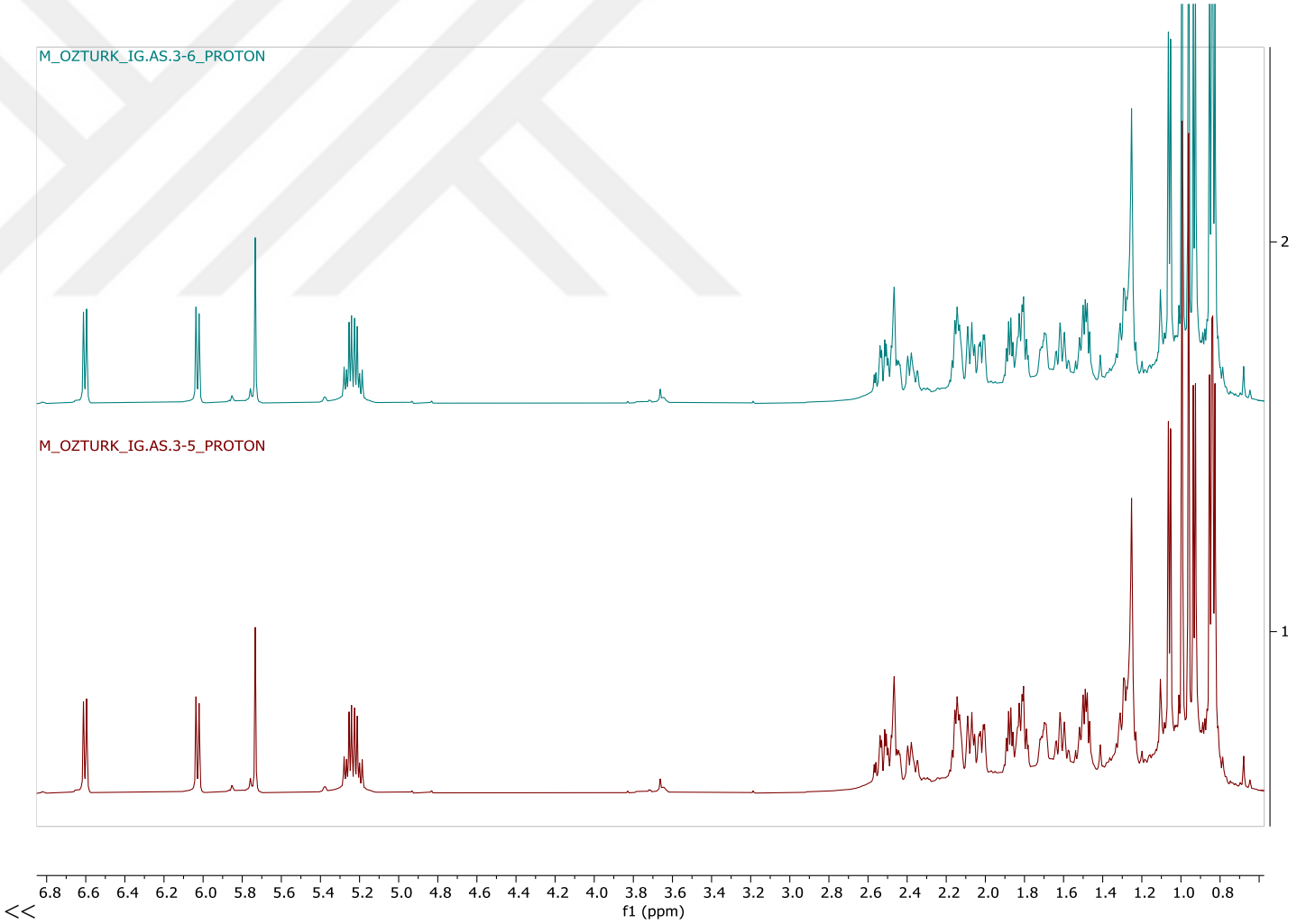
Şekil 3.207. IG.As.3.5 (26)'in yapısı

IG.As.3.5 (**26**) maddesi (1,75 mg) amorf halde elde edildi (Şekil 3.207). Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105˚C) koyu renk olmaktadır.

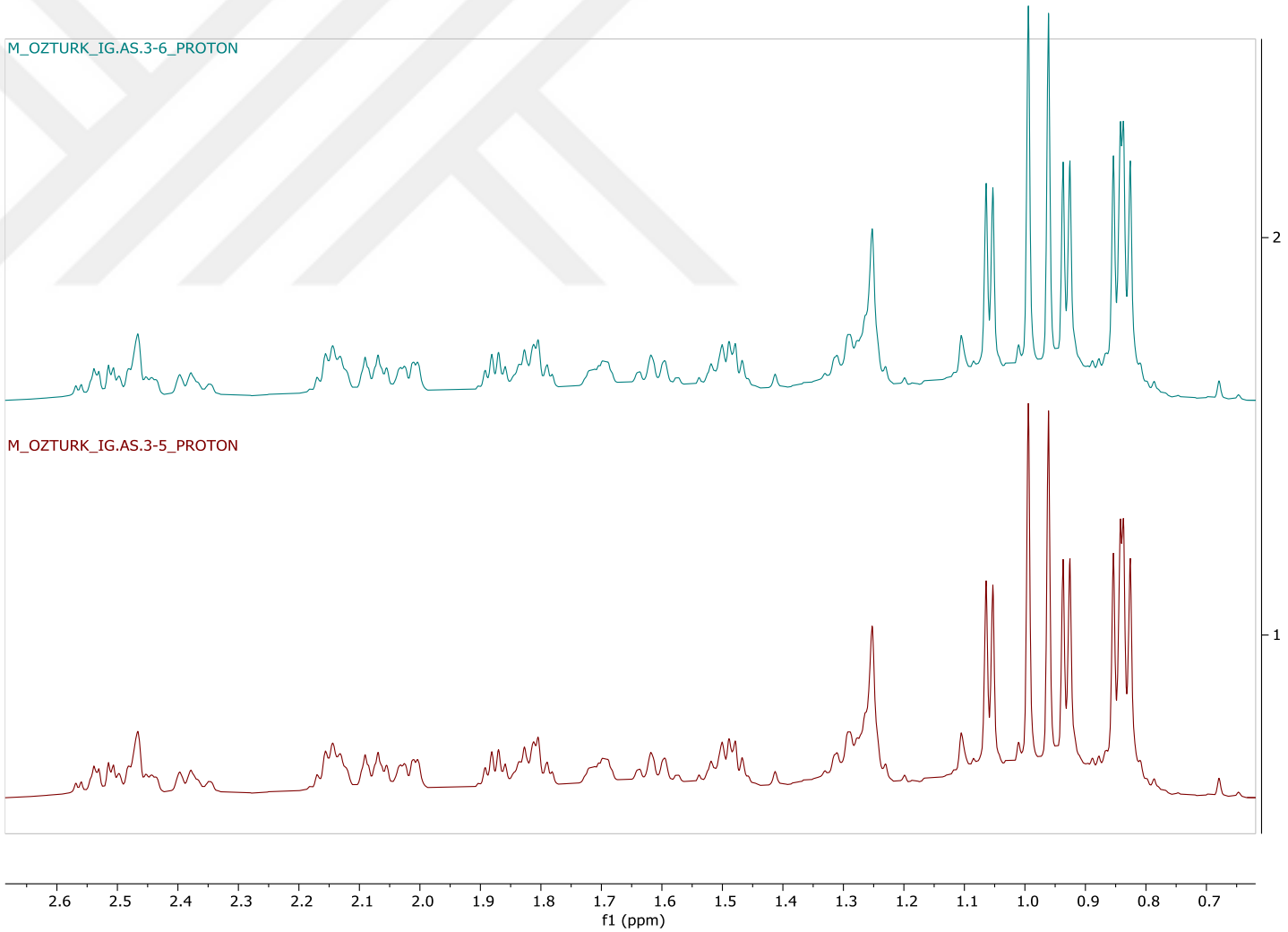
IG.As.3.5 (**26**) maddesinin ^{1}H-NMR spektrumu daha önce izole ettiğimiz IG.As.3.6 (**27**) maddesi ile birebir uyuşmaktadır (Şekil 3.208 ve 3.209). Madde miktarı fazla olan IG.As.3.6 (**27**) maddesinin ileri NMR spektrumları alındı ve yapı tayini için bölüm 3.11.2.6.'da IG.As.3.6 (**27**) kodlu madde için verilen spektrumlar nedeniyle bu madde için tekrar spektrum konulmadı. IG.As.3.6 (**27**) ile aynı kimyasal yapıda olan IG.As.3.5 (**26**) bileşiği ergosta-4,6,8(14)-22-tetraen-3-on olarak belirlendi (Quang vd, 2008). Bu bileşiğin ^{1}H-NMR spektral değerleri Çizelge 3.41'de; ^{1}H-NMR, APT, 2D (HSQC, HMBC, COSY) ve kütle spektrumları Şekil 3.211-3.216'da görülmektedir.

Çizelge 3.41. IG.As.3.5 (26)'in NMR spektral değerleri

Pozisyon	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	CH_2	1,85 (*m*, 1H); 2,02 (*m*, 1H)
2	CH_2	2,45 (*m*, 1H); 2,51 (*m*, 1H)
3	C	
4	CH	5,74 (*s*, 1H)
5	C	
6	CH	6,03 (*d*, *J* = 9,47 Hz, 1H)
7	CH	6,61 (*d*, *J* = 9,46 Hz, 1H)
8	C	
9	CH	2,14 (*d*, 1H)
10	C	
11	CH_2	1,64 (*m*, 1H); 1,80 (*m*, 1H)
12	CH_2	1,27 (*m*, 1H); 2,00 (*m*, 1H)
13	C	
14	C	
15	CH_2	2,35 (*m*, 1H); 2,40 (*m*, 1H)
16	CH_2	1,57 (*m*, 1H); 1,81 (*m*, 1H)
17	CH	1,26 (*m*, 1H)
18	CH_3	0,97 (*s*, 3H)
19	CH_3	1,0 (*s*, 3H)
20	CH	2,15 (*m*, 1H)
21	CH_3	1,06 (3H, *d*, *J* =6,7 Hz)
22	CH	5,21 (1H, *dd*, *J* = 15,27; 7,43 Hz)
23	CH	5,26 (1H, *dd*, *J* = 15,27; 8,16 Hz)
24	CH	1,83 (*m*, 1H)
25	CH	1,42 (*m*, 1H)
26	CH_3	0,86 (*d*, *J*=6,83, 3H)
27	CH_3	0,83 (*d*, *J*=6,83, 3H)
28	CH_3	0,94 (*d*, *J*=6,78 3H)

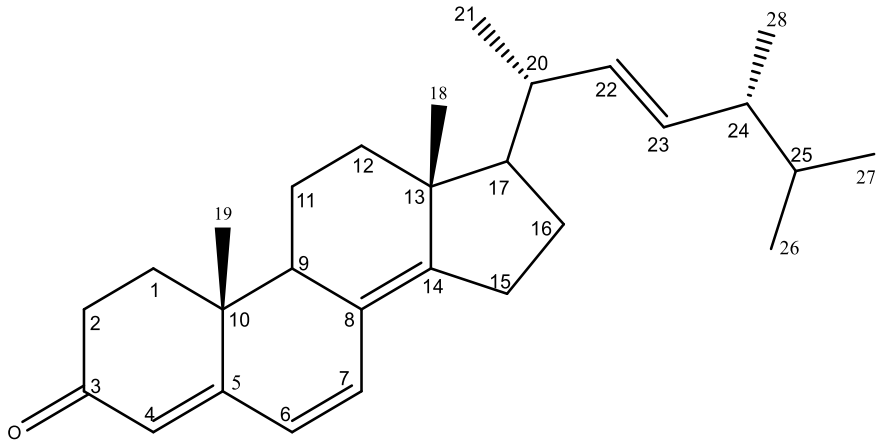


Şekil 3.208. IG.As.3.5 (26) ve IG.As.3.6 (27)'nin ^{1}H-NMR spektrumlarının karşılaştırılması



Şekil 3.209. IG.As.3.5 (26) ve IG.As.3.6 (27)'nin ^{1}H-NMR spektrumlarının karşılaştırılması (0-2,5 ppm arası)

*3.11.2.6. IG.As.3.6 (**27**) = Ergosta-4,6,8(14)-22-tetraen-3-on*



Şekil 3.210. IG.As.3.6 (27)'nın yapısı

IG.As.3.6 (**27**) maddesi (3,47 mg) amorf halde elde edildi (Şekil 3.210). Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105˚C) koyu renk olmaktadır.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δ (ppm), 500 MHz), (Şekil 3.211) spektrumunda δ 0,95 (*s*, H-18), 0,98 (*s*, H-19), 1,05 (*d*, *J*= 6,7 Hz, H-21), 0,84 (*d*, *J*= 6,6 Hz, H-26), 0,82 (*d*, *J*= 6,45 Hz, H-27) ve 0,92 (*d*, *J*= 6,8 Hz, H-28) ppm'de rezonans olan 6 adet metil piki, δ 5,72 (*s*, H-4), 6,02 (*d*, *J*= 9,5 Hz, H-6), 6,59 (*d*, *J*= 9,5 Hz, H-7), 5,25 (*dd*, *J*= 15,3; 7,4 Hz, H-22) ve 5,20 (*dd*, *J*= 15,3; 7,4 Hz, H-23) ppm'de rezonans olan çift bağın vinilik proton pikleri gözlendi.

^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$, δ (ppm), 125 MHz), (Şekil 3.212) ve HSQC (Şekil 3.214) spektrumu ile birlikte değerlendirildiğinde 6 metil, 6 metilen, 10 metin ve 6 katerner karbon gözlenmiştir. δ 199,5 (C-3), 134,9 (C-22), 134,0 (C-7), 132,5 (C-23), 124,5 (C-6), 124,4 (C-8), 122,9 (C-4), 55,7 (C-17), ve 44,3 (C-9) ppm'de rezonans olan pikler sp^2 hibritleşmesi yapan karbonlara aittir. δ 21,2 (C-21), 19,9 (C-26), 19,6 (C-27), 16,6 (C-19), 17,6 (C-28) ve 18,9 (C-18), ppm'de rezonans olan pikler molekülde bulunan 6 adet metil karbon sinyalleridir. COSY (Şekil 3.213), HSQC (Şekil 3.214) ve HMBC (Şekil 3.215) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde steroid yapısı doğrulandı.

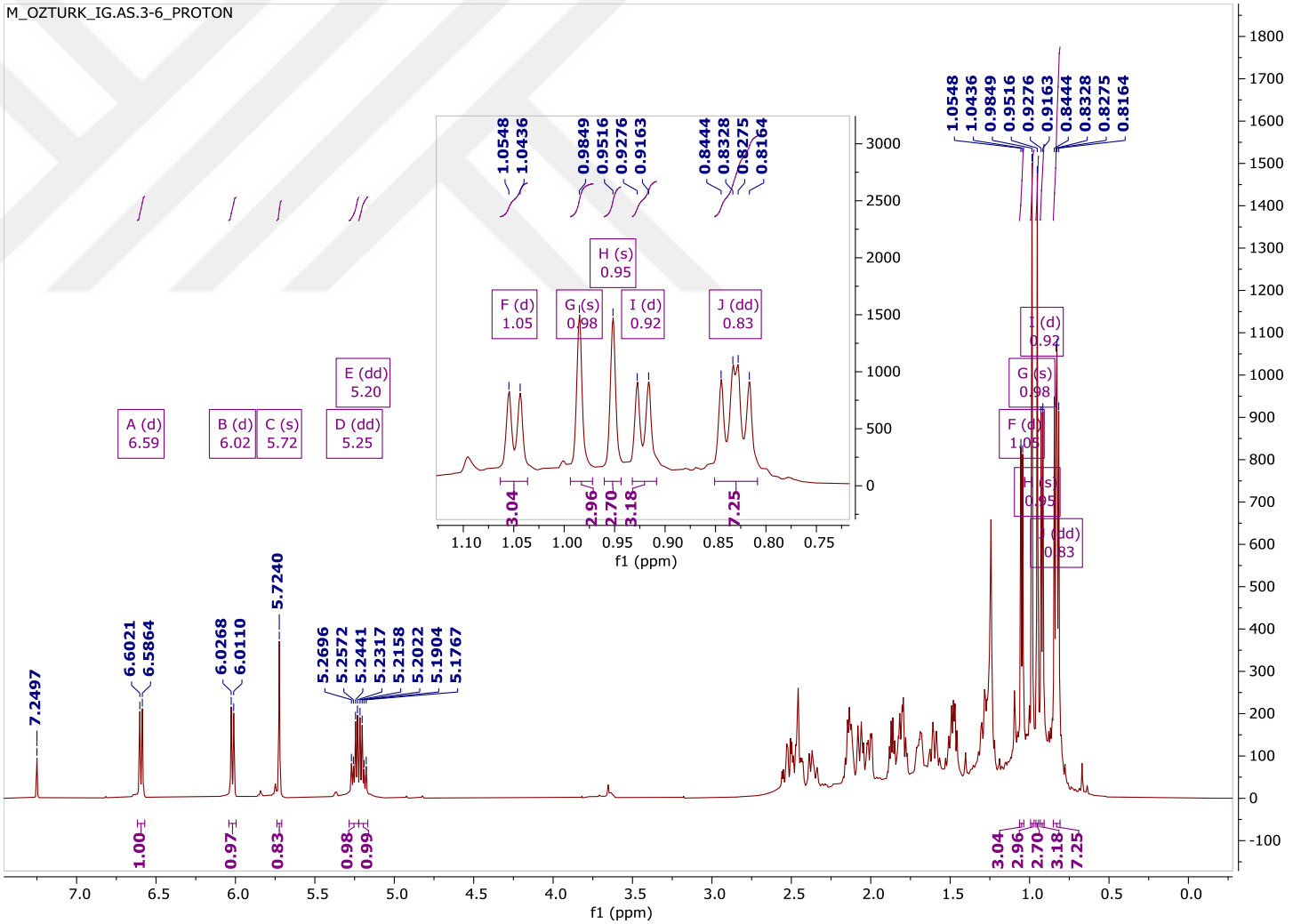
Elektrosprey uçuş zamanlı kütle spektrometrisinde (ESI^+-TOF-MS) (Şekil 3.216) *m/z* 392,3071 $[M]^+$ piki $C_{28}H_{40}O$ kapalı formülünü (calc. 392,3079) verdi. *m/z*

377,2804'da (calc. 377,2844) $[M\text{-}CH_3]^+$ ($C_{27}H_{41}O_2$) metil piki ve *m/z* 267,1739'da (calc. 267,1749) görülen pik $[M\text{-}C_9H_{17}]^+$ fragmanlarına ait olup kütle spektrumları, NMR değerleri ile uyuşmaktadır.

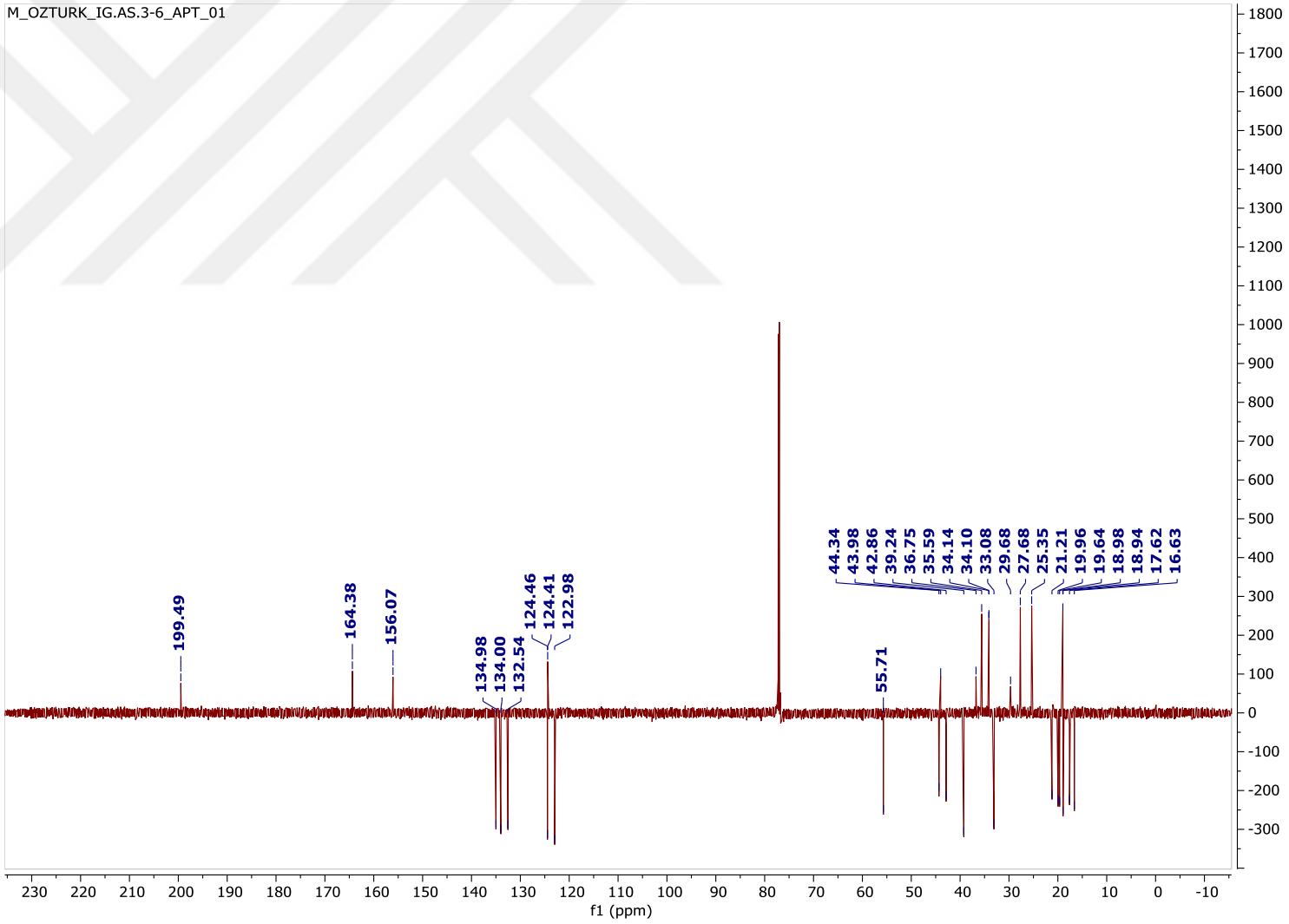
Tüm spektroskopik veriler ve literatür çalışmaları karşılaştırıldığında IG.As.3.6 (**27**) bileşiğin yapısı ergosta-4,6,8(14)-22-tetraen-3-on olarak tespit edildi. IG.As.3.6 (**27**) bileşiği *Xylaria* sp. türünden daha önce izole edilmiştir (Quang vd, 2008). Bileşiğin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR değerleri Çizelge 3.42'da verilmektedir.

Çizelge 3.42. IG.As.3.6 (27)'nın NMR spektral değerleri

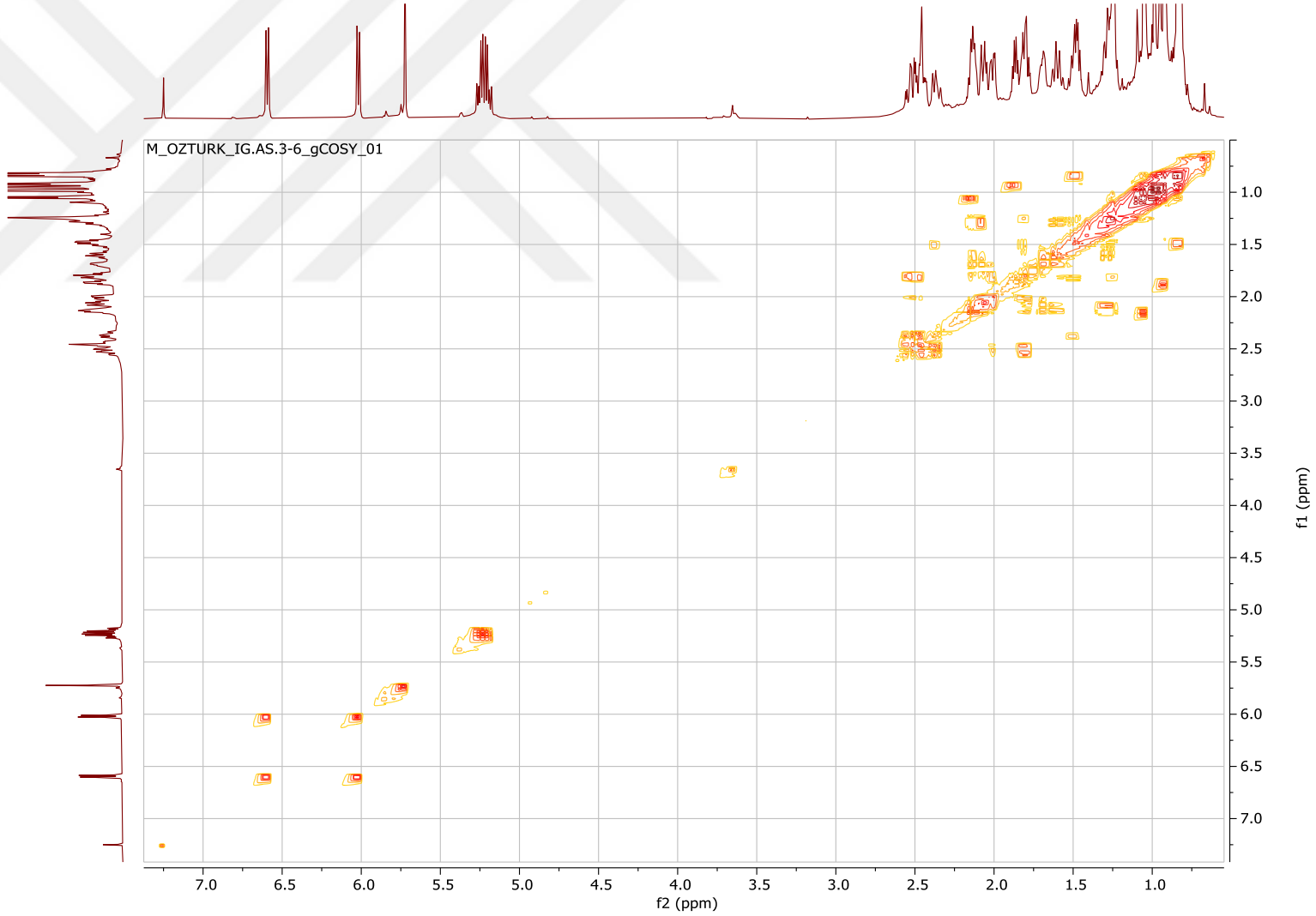
Pozisyon	**^{13}C-NMR(δ)**	**Karbon Türü**	**^{1}H-NMR (δ)**
1	34,1	CH_2	1,82 (*m*, 1H); 2,02 (*m*, 1H)
2	34,1	CH_2	2,46 (*m*, 1H); 2,53 (*m*, 1H)
3	199,5	C	
4	122,9	CH	5,72 (*s*, 1H)
5	164,4	C	
6	124,5	CH	6,02 (*d*, *J* = 9,5 Hz, 1H)
7	134,0	CH	6,59 (*d*, *J* = 9,5 Hz, 1H)
8	124,4	C	
9	44,3	CH	2,14 (*d*, 1H)
10	36,7	C	
11	18,9	CH_2	1,61 (*m*, 1H); 1,70 (*m*, 1H)
12	35,6	CH_2	1,29 (*m*, 1H); 2,08 (*m*, 1H)
13	43,9	C	
14	156,1	C	
15	25,4	CH_2	2,37 (*m*, 1H); 2,47 (*m*, 1H)
16	27,7	CH_2	1,50 (*m*, 1H); 1,81 (*m*, 1H)
17	55,7	CH	1,26 (*m*, 1H)
18	18,9	CH_3	0,95 (*s*, 3H)
19	16,6	CH_3	0,98 (*s*, 3H)
20	39,2	CH	2,15 (*m*, 1H)
21	21,2	CH_3	1,05 (*d*, *J* =6,7 Hz, 3H)
22	134,9	CH	5,20 (*dd*, *J* = 15,3, 7,4 Hz, 1H)
23	132,5	CH	5,25 (*dd*, *J* = 15,3, 8,2 Hz, 1H)
24	42,9	CH	1,88 (*m*, 1H)
25	33,1	CH	1,48 (*m*, 1H)
26	19,9	CH_3	0,84 (*d*, *J*= 6,6 Hz, 3H)
27	19,6	CH_3	0,82 (*d*, *J*= 6,45 Hz, 3H)
28	17,6	CH_3	0,92 *(d*, *J*= 6,8Hz, 3H*)*



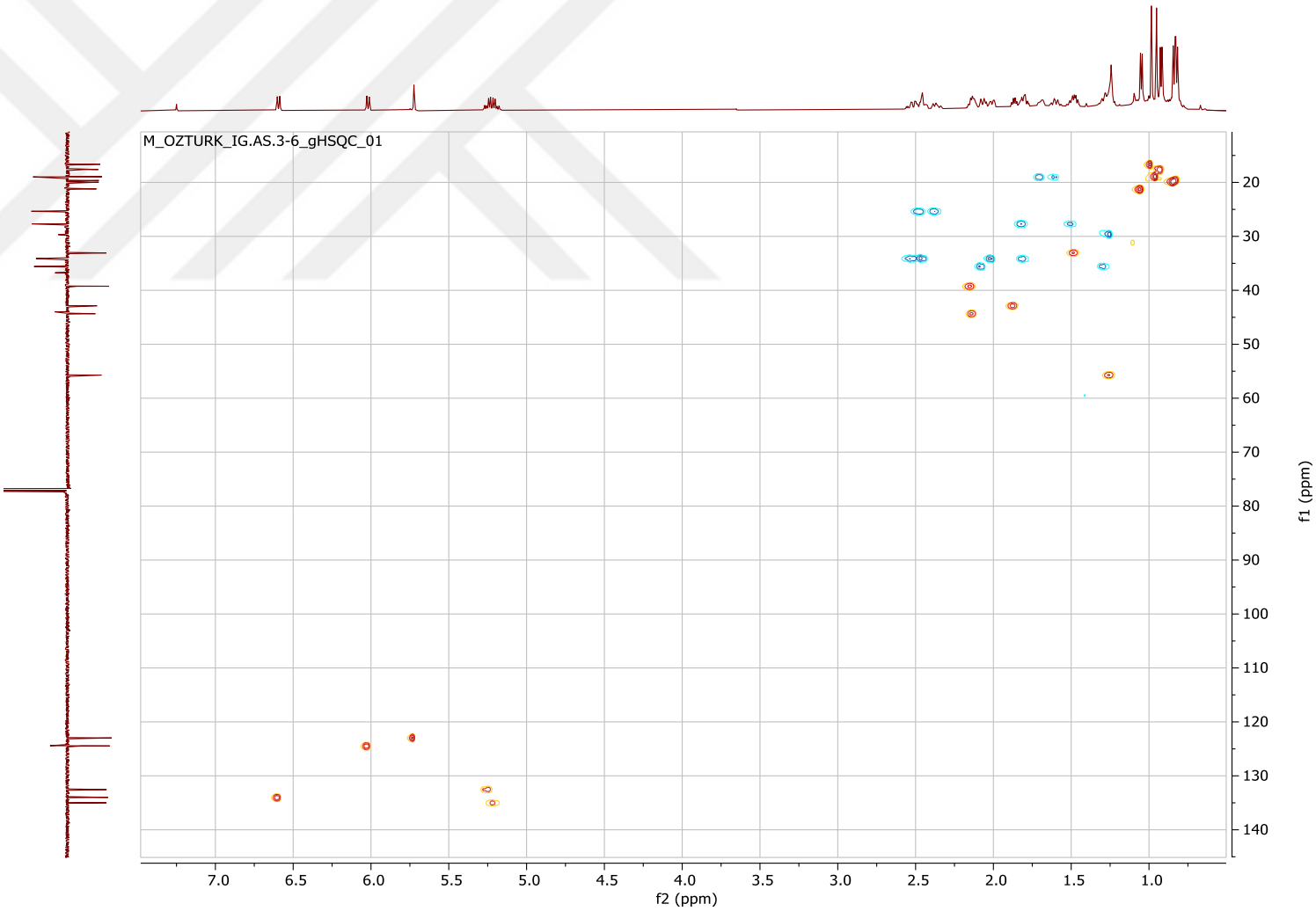
Şekil 3.211. IG.As.3.6 (27)'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)



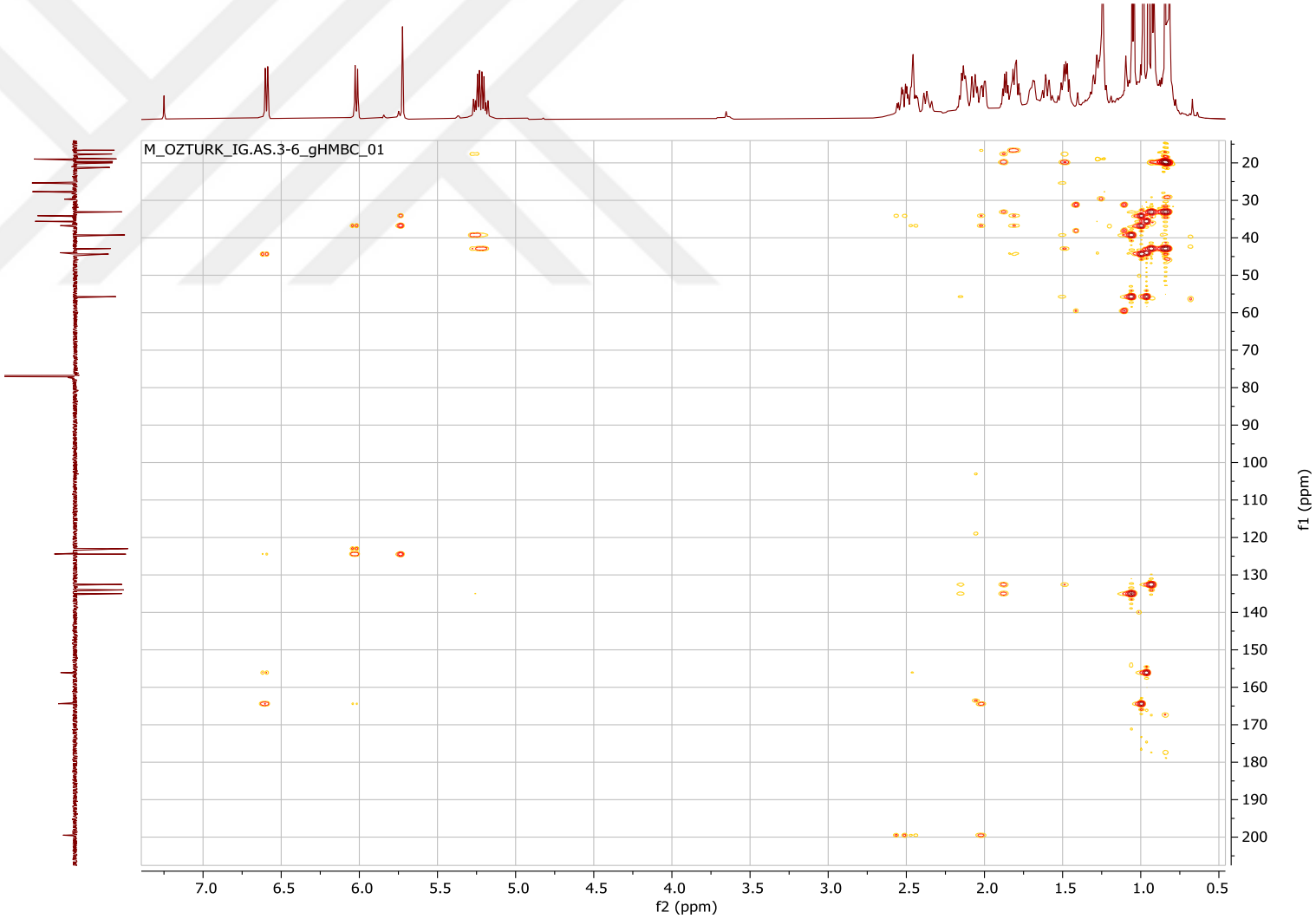
Şekil 3.212. IG.As.3.6 (27)'nin APT spektrumu ($CDCl_3$, 125 MHz)



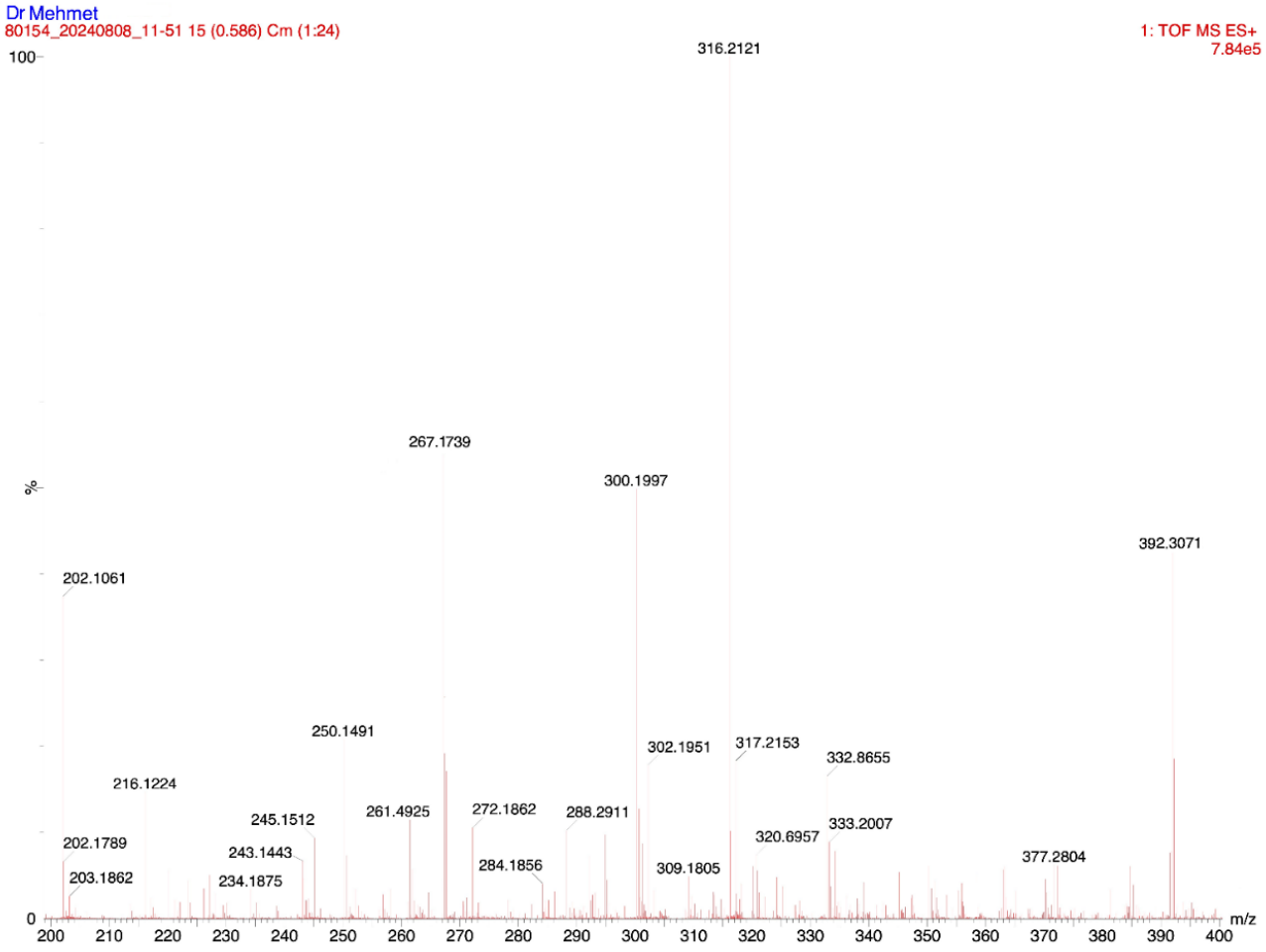
Şekil 3.213. IG.As.3.6 (27)'nin COSY spektrumu



Şekil 3.214. IG.As.3.6 (27)'nin HSQC spektrumu

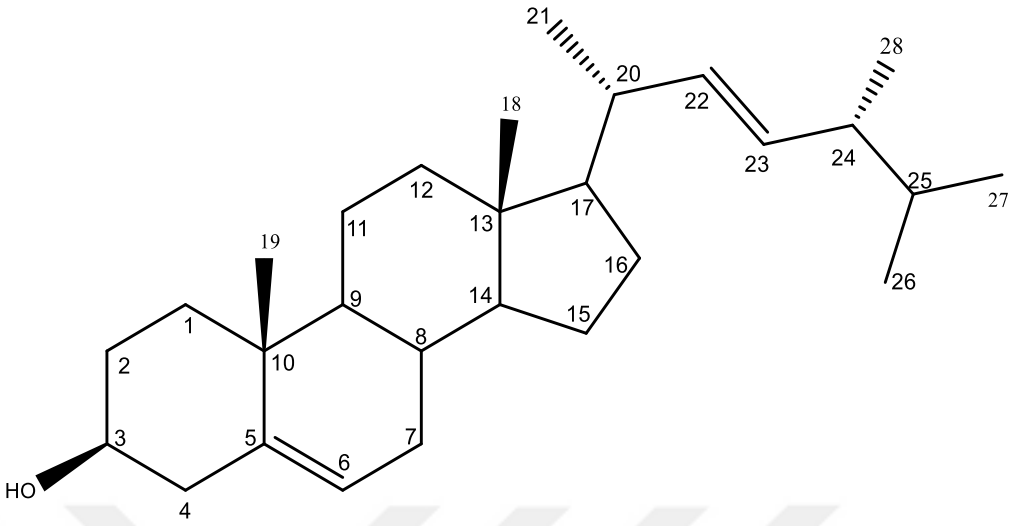


Şekil 3.215. IG.As.3.6 (27)'nin HMBC spektrumu



Şekil 3.216. IG.As.3.6 (27)'nin ESI$^+$-TOF kütle spektrumu

*3.11.2.7. IG.As.3.7 (**28**) = Ergosta-5,22-dien 3β-ol*



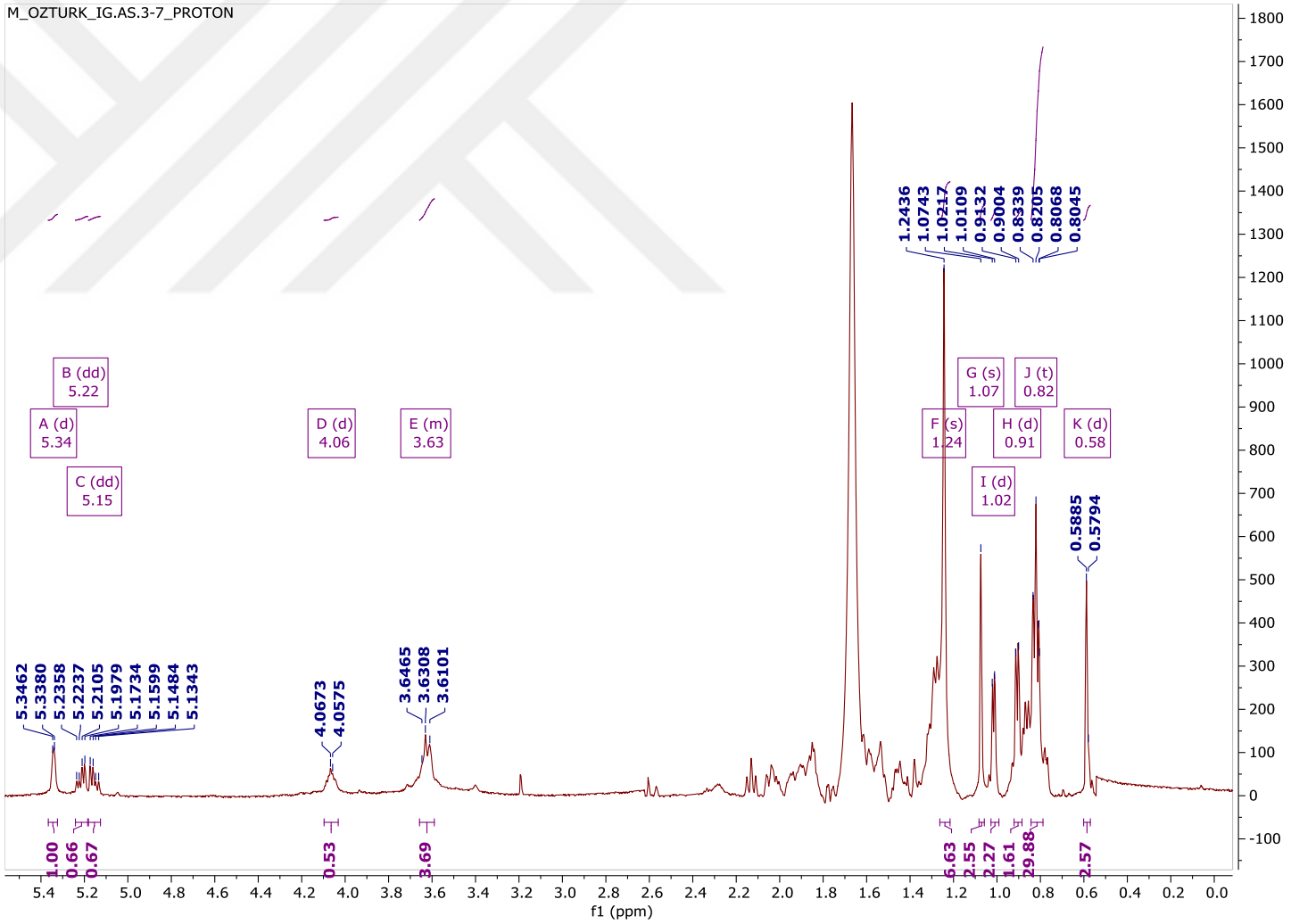
Şekil 3.217. IG.As.3.7 (28)'nin yapısı

Beyaz renkli olan IG.As.3.7 (**28**) maddesi (5,42 mg) amorf halde elde edildi (Şekil 3.217). Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105˚C) koyu kahverengi renk aldı. IG.As.3.7 (**28**) maddesinin yapısı spektroskopik yöntem ^{1}H-NMR (Şekil 3.218) spektrumu ile aydınlatılmıştır.

IG.As.3.7 (**28**) maddesinin ^{1}H-NMR spektrumu daha önce izole ettiğimiz TS.As.3.9 (**9**) maddesi ile birebir uyuşmaktadır. IG.As.3.7 (**28**) bileşiğinin yapısı ergosta-5,22-dien 3*β*-ol olarak belirlendi (Bankova vd, 1995). Ergosta-5,22-dien 3*β*-ol bileşiği daha önce *T. scalpturatum* mantarının TS.As.3.9 **(9)** (Bölüm 3.9.2.9) ve TS.As.3.10 **(10)** (Bölüm 3.9.2.10) fraksiyonlarından da izole edilmiştir. Bölüm 3.9.2.9'da TS.As.3.9 **(10)** kodlu madde için verilen spektrumlar nedeniyle bu madde için tekrar spektrum konulmadı. Bu bileşiğin ^{1}H-NMR spektral değerleri Çizelge 3.43'de, ^{1}H-NMR, APT, 2D (HMBC, COSY, HSQC) ve kütle spektrumları Şekil 3.107-3.113'de görülmektedir.

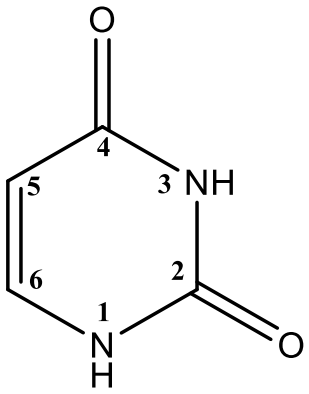
Çizelge 3.43. IG.As.3.7 (28)'nin NMR spektral değerleri

Pozisyon	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	CH_2	1,03 (*m*, 1H); 1,85 (*m*, 1H)
2	CH_2	1,42 (*m*, 1H); 1,78 (*m*, 1H)
3	CH	3,63 (*m*, 1H)
4	CH_2	2,26 (*m*, 1H); 2,21 (*m*, 1H)
5	C	
6	CH	5,34 (*t*, *J* = 4,94 Hz, 1H)
7	CH_2	1,84 (*m*, 1H); 1,90 (*m*, 1H)
8	CH	1,46 (*m*, 1H)
9	CH	0,91 (*m*, 1H)
10	C	
11	CH_2	1,42 (*m*, 1H); 1,47 (*m*, 1H)
12	CH_2	1,15 (*m*, 1H); 1,98 (*m*, 1H)
13	C	
14	CH	0,98 (*m*, 1H)
15	CH_2	1,01 (*m*, 1H); 1,52 (*m*, 1H)
16	CH_2	1,22 (*m*, 1H); 1,64 (*m*, 1H)
17	CH	1,02 (*m*, 1H)
18	CH_3	0,58 (*s*, 3H)
19	CH_3	1,07 (*s*, 3H)
20	CH	1,95 (*m*, 1H)
21	CH_3	0,91 (*d*, *J* = 7,66 Hz, 3H)
22	CH	5,15 (*dd*, *J* = 15,16, 8,27 Hz, 1H)
23	CH	5,22 (*dd*, *J* = 15,35, 7,41 Hz, 1H)
24	CH	1,86 (*m*, 1H)
25	CH	1,44 (*m*, 1H)
26	CH_3	0,80 (*d*, *J*=8,10, 3H)
27	CH_3	0,83 (*d*, *J*=8,14, 3H)
28	CH_3	0,82 (*d*, *J*=8,0, 3H)



Şekil 3.218. IG.As.3.7 (28)'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)

*3.11.2.8. IG.As.3.8 (**29**) = Urasil*



Şekil 3.219. IG.As.3.8 (29)'in yapısı

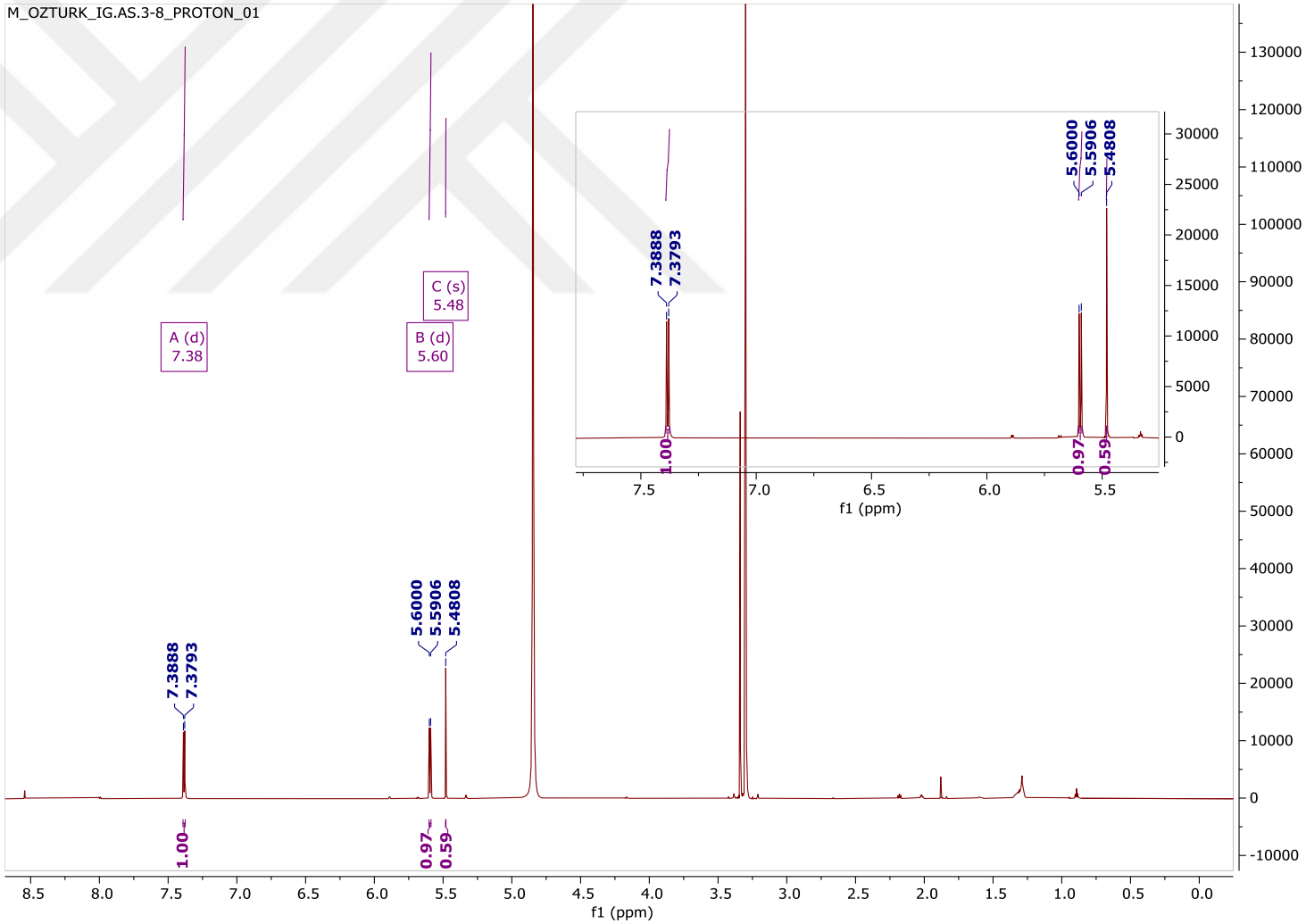
IG.As.3.8 (**29**) maddesi (1,32 mg) amorf halde elde edildi (Şekil 3.219). Bileşik ters faz ince tabaka plakta, UV lamba (366 nm) altında halka şeklinde koyu renkli görülürken; seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) maddenin rengi kayboldu. IG.As.3.8 (**29**) maddesinin yapısı spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatıldı.

^{1}H-NMR (CD_3OD, δ (ppm), 500 MHz), (Şekil 3.220) spektrumunda aromatik bölgede δ 7,38 (*d*, *J*=7,6 Hz, 1H, H-6), δ 5,60 (*d*, *J*=7,55 Hz, 1H, H-5) ve δ 5,48 (NH-1) ile δ 8,54 (NH-3) pikleri izlendi. ^{1}H-NMR verileri literatürde rapor edilen urasil ile aynıdır (Sakairi vd, 1988).

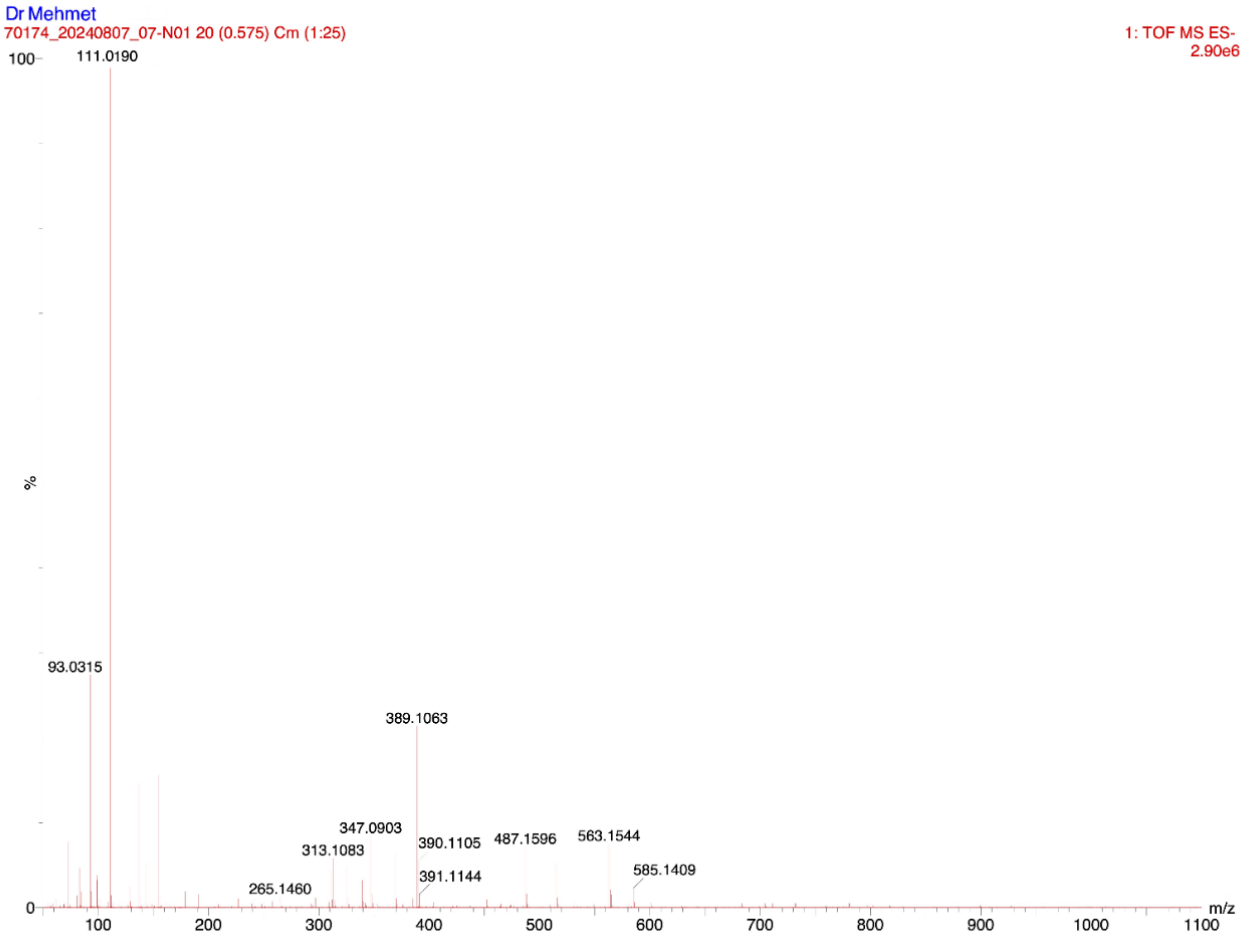
Elektrosprey uçuş zamanlı kütle spektrometrisinde (ESI$^-$-TOF-MS) (Şekil 3.221) *m/z* 111,0190'de $[M]^+$ piki $C_4H_4N_2O_2$ kapalı formülünü (calc. 111,0194) verdi. ^{1}H-NMR, kütle spektrumu ile literatürde verilen spektral değerler karşılaştırılıp değerlendirildiğinde IG.As.3.8 (**29**) kodlu maddenin urasil olduğu belirlendi. ^{1}H-NMR değerleri Çizelge 3.44'de verilmektedir.

Çizelge 3.44. IG.As.3.8 (29)'in NMR spektral değerleri

Pozisyon	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	NH	5,48 (*s*, 1H)
2	C	
3	NH	8,54 (*s*, 1H)
4	C	
5	CH	5,60 (*d*, *j* =7,6 Hz, 1H)
6	CH	7,38 (*d*, *j* =7,6 Hz, 1H)

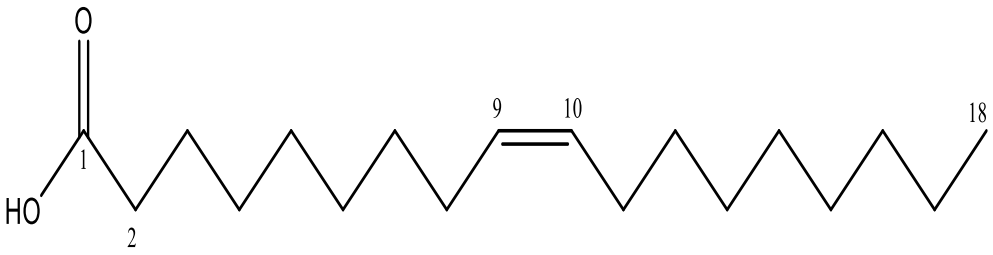


Şekil 3.220. IG.As.3.8 (29)'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)



Şekil 3.221. IG.As.3.8 (29)'in ESI$^-$-TOF kütle spektrumu

*3.11.2.9. IG.As.3.9 (**30**) = Oleik asit*



Şekil 3.222. IG.As.3.9 (30)'un yapısı

IG.As.3.9 (**30**) maddesi (1,5 mg) jelimsi olarak elde edildi (Şekil 3.222). İnce tabaka kromatografisinde UV 254 nm'de görünmeyen madde, seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) kahverengi renk gözlendi.

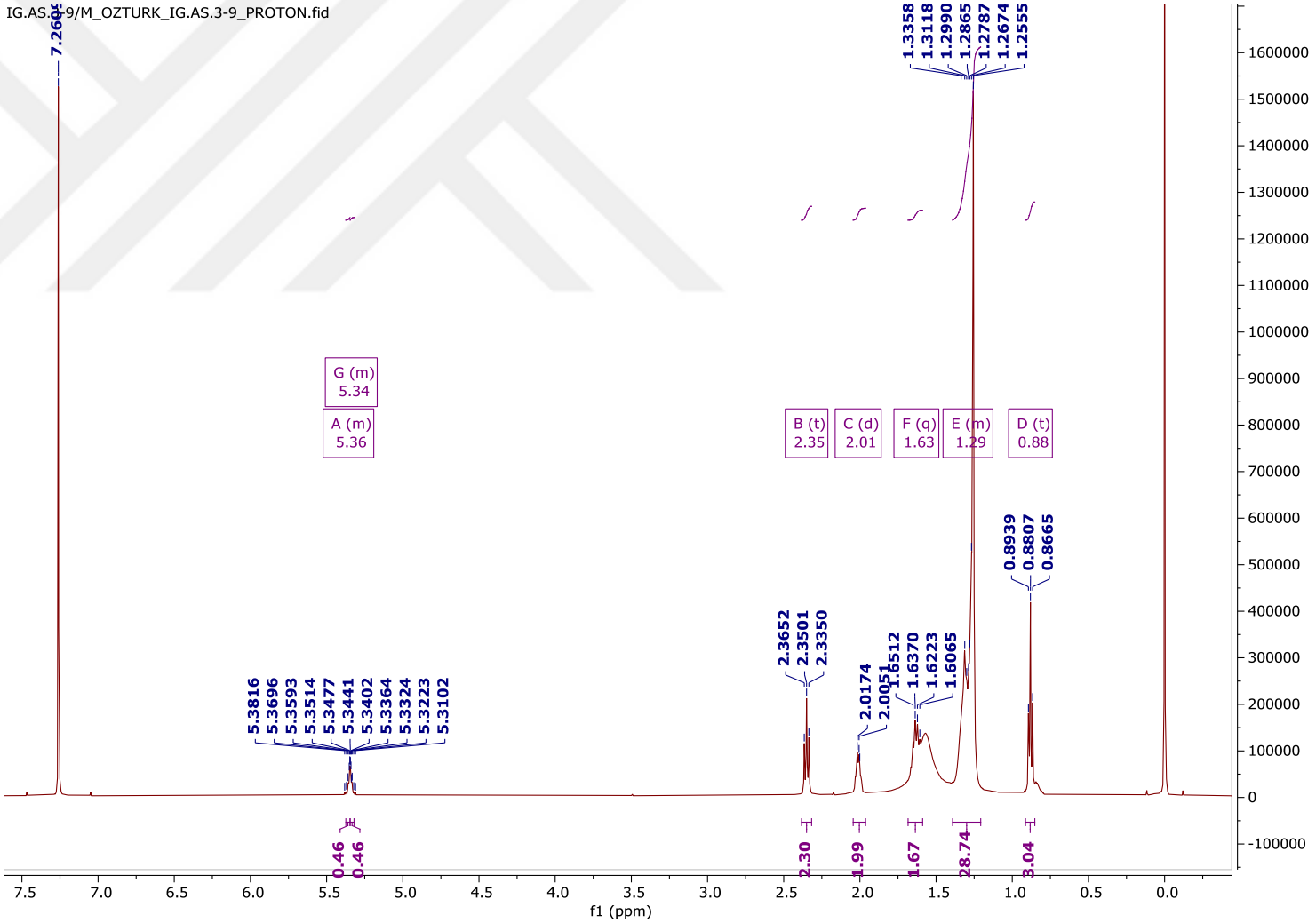
^{1}H-NMR (CD_3CI, δ (ppm), 500 MHz), (Şekil 3.223) spektrumunda δ 2,35 (*d*, *J*=7,55 Hz, 2H, H-2) piki, 1,63 (*q*, *J*=7,88 Hz, 2H, H-3) ve δ 0,88 (*t*, *J*=6,87 Hz, 3H, H-18) pikleri yapının yağ asidi olduğunu andırdı. δ 5,34 (*m*, H-9; 1H,) ve 5,36 (*m*, H-10, 1H) ppm'de yapının vinilik protonları ile δ 1,27-1,33 ppm arasında rezonans olan pikler sp^3 hibritleşmesi metilen protonlarının pikleri izlendi. Ayrıca ^{1}H-NMR spektrumunda δ 2,01 (*q*, *J*=6,0 Hz, 2H, H-8 ve H-11) pikinin izlenmesi yapının doymamış yağ asidi olduğunu gösterdi.

Yapının kesin tayini için IG.As.3.9 (**30**) silillenip GC-MS'e enjeksiyon yapıldı (Şekil 3.224). Spektrumda silillenmiş maddenin 31,48 dk.'da elüe olduğu ve NİST2015 kütüphanesinde tarandığında oleik asit ile spektrumun çakıştığı görüldü. ^{1}H-NMR, GC-MS spektrumları ve literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırılıp değerlendirildiğinde IG.As.3.9 (**30**) kodlu maddenin oleik asit olduğu belirlendi.

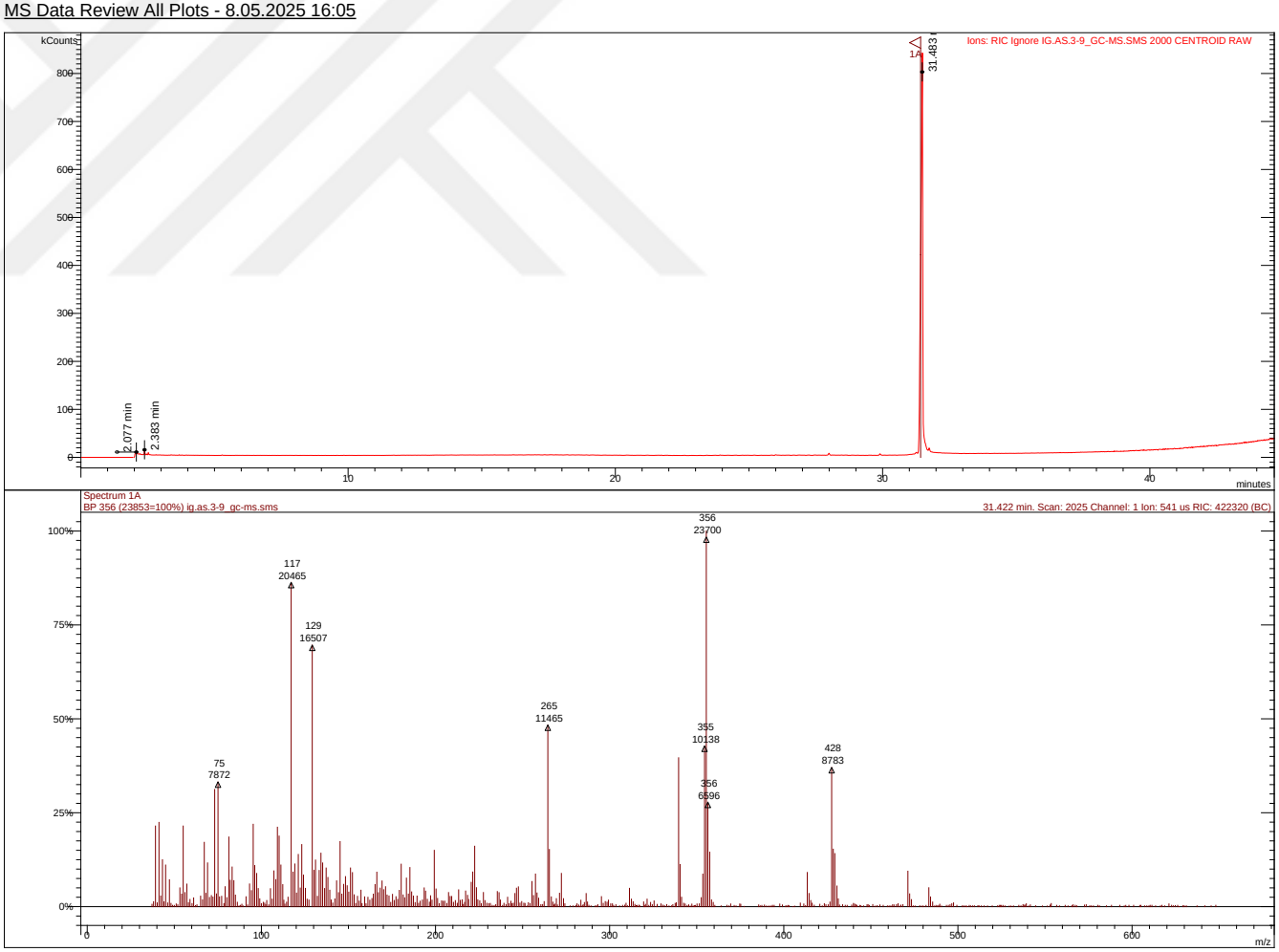
Kütle spektrumunda (EI-MS) (Şekil 3.224) *m/z* 356'daki $[M+SiC_3H_9]^{+2}$ piki silillenmiş oleik asit yapısını verdi. Oleik asit bileşiği, *T. scalpturatum* mantarının TS.As.3.7 **(7)** (Bölüm 3.9.2.7) fraksiyonundan da izole edilmiştir. ^{1}H-NMR verileri literatürde rapor edilen oleik asit ile uyuşmaktadır. (Davis vd, 1999; Schaefer 1974). ^{1}H-NMR spektral değerleri Çizelge 3.45'de verilmektedir.

Çizelge 3. 45. IG.As.3.9 (30)'un NMR spektral değerleri

Pozisyon	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	C	
2	CH_2	2,35 (*t*, *J*=7,55 Hz, 2H)
3	CH_2	1,63 (*q*, *J* = 7,88 Hz, 2H)
4	CH_2	1,33 (*m*, 2H)
5	CH_2	1,28 (*m*, 2H)
6	CH_2	1,31 (*m*, 2H)
7	CH_2	1,29 (*m*, 2H)
8	CH_2	2,01 (*d*, *J*=6,25 Hz, 2H)
9	CH_2	5,36 (*m*, 1H)
10	CH_2	5,34 (*m*, 1H)
11	CH_2	2,01 (*d*, *J*=6,25 Hz, 2H)
12	CH_2	1,29 (*m*, 2H)
13	CH_2	1,30 (*m*, 2H)
14	CH_2	1,31 (*m*, 2H)
15	CH_2	1,29 (*m*, 2H)
16	CH_2	1,28 (*m*, 2H)
17	CH_2	1,29 (*m*, 2H)
18	CH_3	0,88 (*t*, *J*=6,87, 3H)

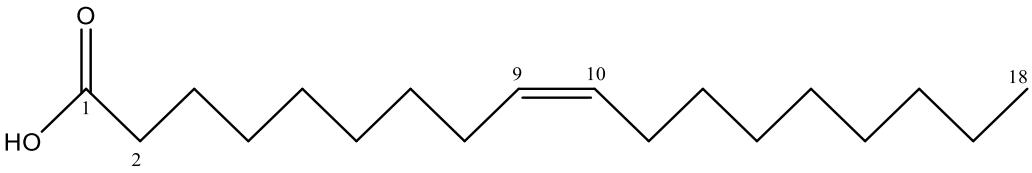


Şekil 3.223. IG.As.3.9 (30)'un ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)



Şekil 3.224. IG.As.3.9 (30)'un GC-MS kromatogramı (Oleik asit= 31,48.dk) ve kütle spektrumu

*3.11.2.10. IG.As.3.10 (**31**) = Oleik asit*



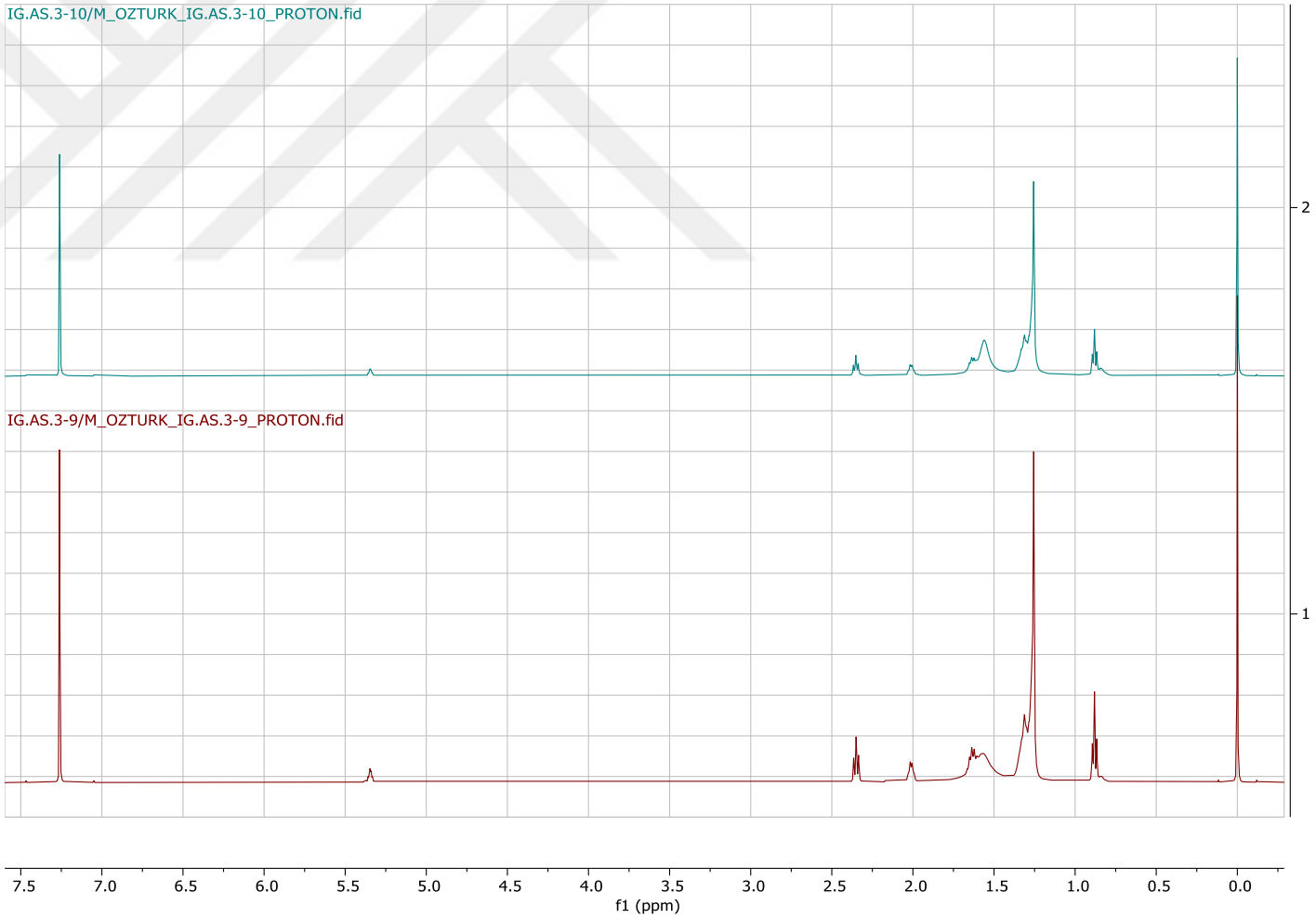
Şekil 3.225. IG.As.3.10 (31)'nun yapısı

IG.As.3.10 (**31**) maddesi (1,0 mg) jelimsi olarak elde edildi (Şekil 3.225). İnce tabaka kromatografisinde UV 254 nm'de görünmeyen madde, seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) kahverengi renk gözlendi.

IG.As.3.9 (**30**) ve IG.As.3.10 (**31**) maddelerinin ^{1}H-NMR (Şekil 3.226) spektrumları karşılaştırıldığında birebir benzerlik göstermesinden dolayı aynı kimyasal yapıda olduğunu düşünülmektedir. Bölüm 3.11.2.9'da IG.As.3.9 (**30**) kodlu madde için verilen spektrumlar nedeniyle bu madde için tekrar spektrum konulmadı. Bu bileşiğin ^{1}H-NMR değerleri Çizelge 3.46'da; ^{1}H-NMR ve kütle spektrumu Şekil 3.223.-3.224'de görülmektedir. Oleik asit, *T. scalpturatum* mantarının TS.As.3.7 **(7)** (Bölüm 3.9.2.7) fraksiyonundan da izole edilmiştir (Davis vd, 1999; Schaefer 1974).

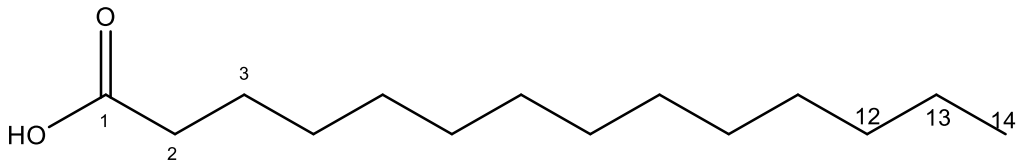
Çizelge 3.46. IG.As.3.10 (31)'nun NMR spektral değerleri

Pozisyon	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	C	
2	CH_2	2,35 (*t*, *J* =7,52 Hz, 2H)
3	CH_2	1,64 (*t*, *J* = 7,21 Hz, 2H)
4	CH_2	1,33 (*m*, 2H)
5	CH_2	1,27 (*m*, 2H)
6	CH_2	1,31 (*m*, 2H)
7	CH_2	1,28 (*m*, 2H)
8	CH_2	2,01 (*d*, *J* = 6,54 Hz, 2H)
9	CH_2	5,35 (*m*, 1H)
10	CH_2	5,34 (*m*, 1H)
11	CH_2	2,02 (*d*, *J* = 6,54 Hz, 2H)
12	CH_2	1,28 (*m*, 2H)
13	CH_2	1,31 (*m*, 2H)
14	CH_2	1,28 (*m*, 2H)
15	CH_2	1,29 (*m*, 2H)
16	CH_2	1,28 (*m*, 2H)
17	CH_2	1,29 (*m*, 2H)
18	CH_3	0,87 (*q*, *J* = 9,9, 3H)



Şekil 3.226. IG.As.3.9 (30) ve IG.As.3.10 (31)'nun ^{1}H-NMR spektrumlarının karşılaştırılması

*3.11.2.11. IG.As.3.11 (**32**) = Miristik asit*



Şekil 3.227. IG.As.3.11 (32)'in yapısı

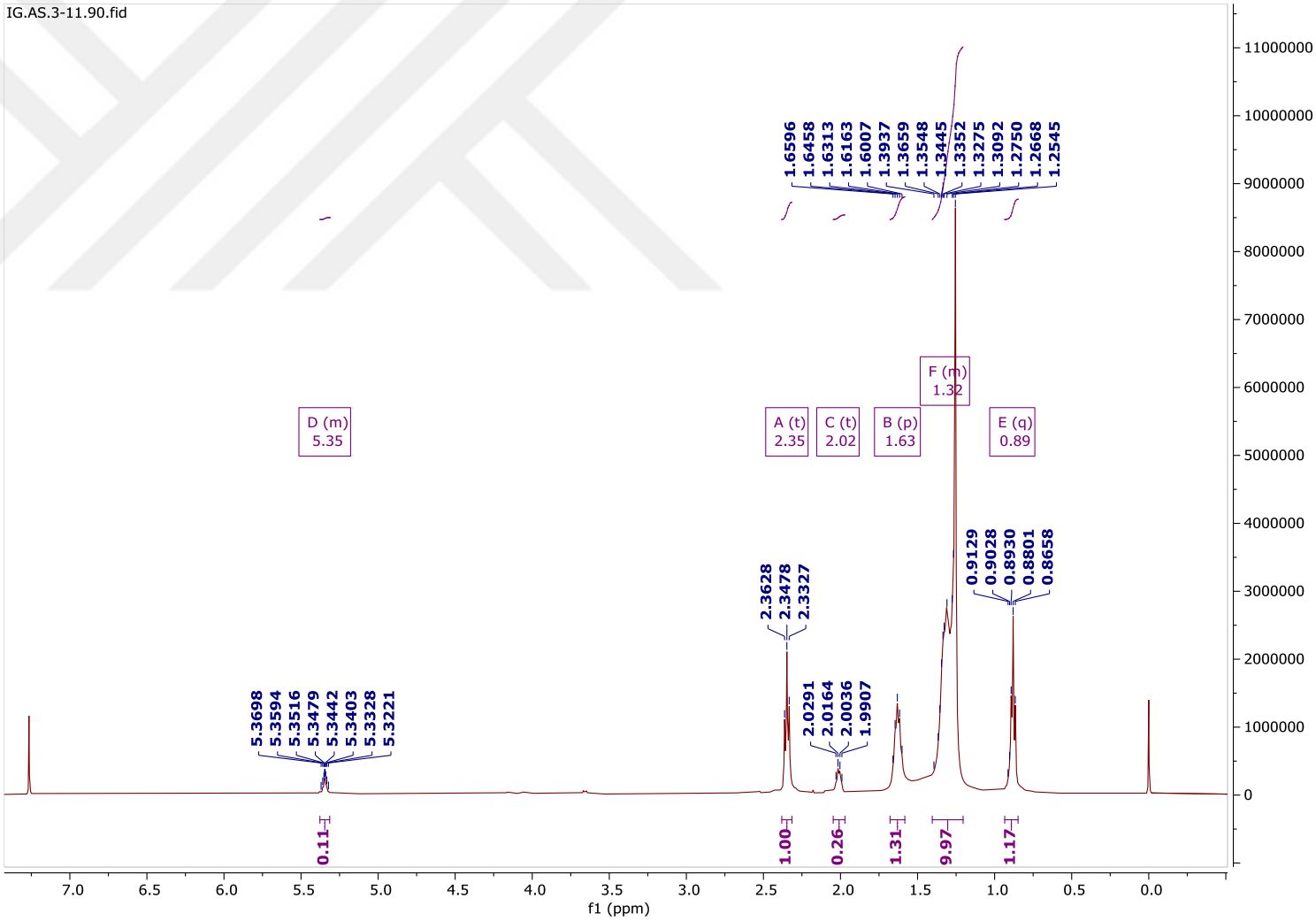
IG.As.3.11 (**32**) maddesi (1,0 mg) jelimsi olarak elde edildi (Şekil 3.227). İnce tabaka kromatografisinde UV 254 nm'de görünmeyen madde, seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) kahverengi renk gözlendi.

^{1}H-NMR (CD_3CI, δ (ppm), 500 MHz), (Şekil 3.228) spektrumunda δ 2,35 (*t*, *J*=7,52 Hz, 2H, H-2) piki, 1,63 (*p*, *J*=7,35 Hz, 2H, H-3) ve δ 0,89 (*q*, *J*= 6,0 Hz, 3H, H-14) pikleri yapının yağ asidi olduğunu andırdı. δ 1,25-1,39 ppm arasında rezonans olan pikler sp^3 hibritleşmesi metilen protonlarının pikinin izlenmesi yapının doymuş yağ asidi olduğunu gösterdi. Yapının kesin tayini için IG.As.3.11 (**32**) silillenip GC-MS'e enjeksiyon yapıldı (Şekil 3.229). Spektrumda silillenmiş maddenin 24,02 dk.'da elüe olduğu ve NİST2015 kütüphanesinde tarandığında miristik asit ile spektrumun çakıştığı izlendi.

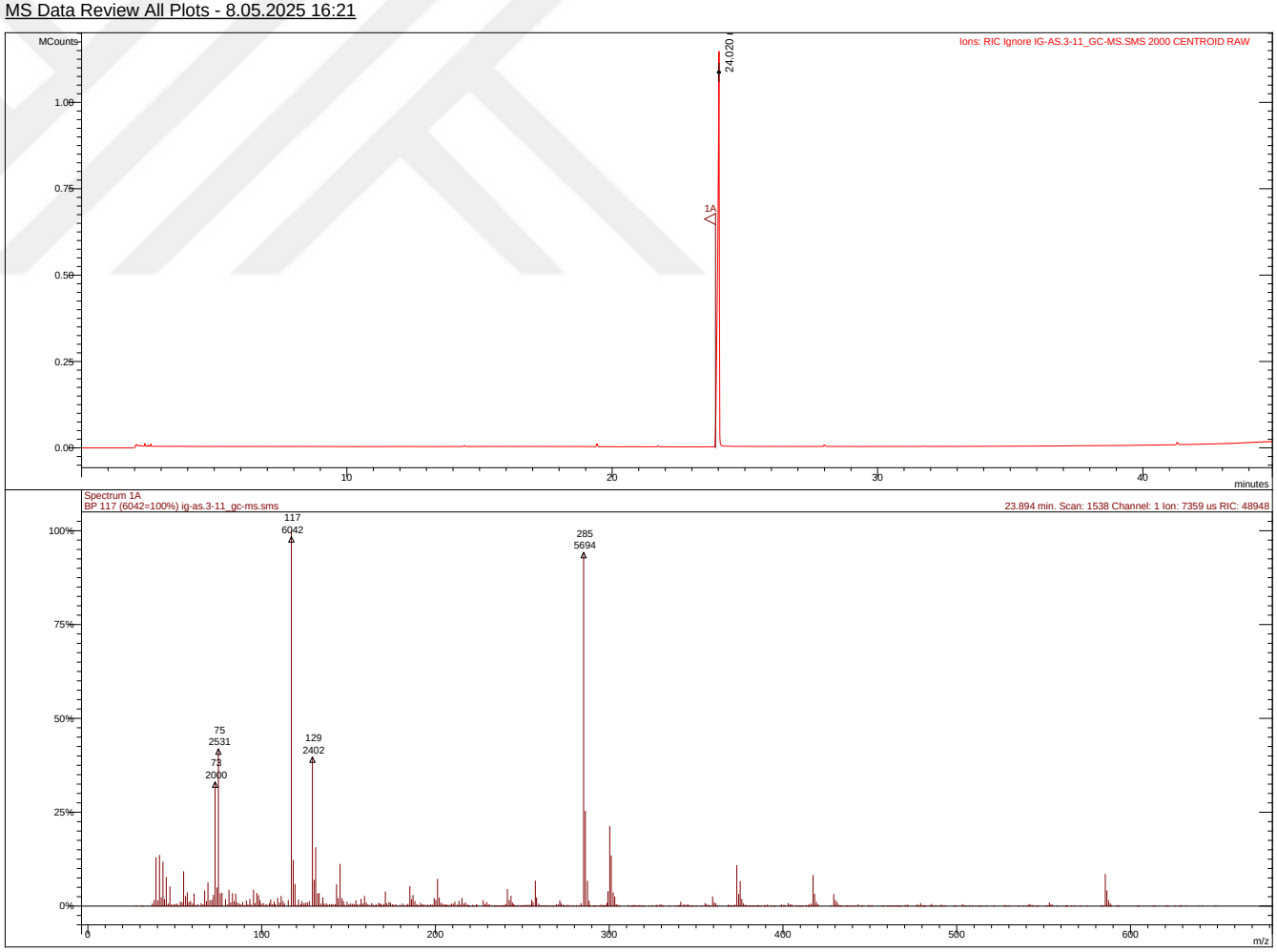
Kütle spektrumu (EI-MS) (Şekil 3.229) *m/z* 285'deki $[M+SiC_3H_9]^{+1}$ piki miristik asiti verdi. ^{1}H-NMR, GC-MS ve kütle spektrumları ile literatürde verilen spektral değerler karşılaştırılıp değerlendirildiğinde IG.As.3.11 (**32**) kodlu maddenin miristik asit olduğu tespit edildi. ^{1}H-NMR spektral değerleri Çizelge 3.47'de verilmektedir.

Çizelge 3.47. IG.As.3.11 (32)'in NMR spektral değerleri

Pozisyon	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	C	
2	CH_2	2,35 (*t*, *J*=7,52 Hz, 2H)
3	CH_2	1,63 (*m*, *J* = 7,35 Hz, 2H)
4	CH_2	1,25 (*m*, 2H)
5-11	CH_2	1,25-1,39 (*m*, 2H)
12	CH_2	1,27 (*m*, 2H)
13	CH_2	1,34 (*m*, 2H)
14	CH_3	0,89 (*t*, *J*=6,0 Hz, 3H,)

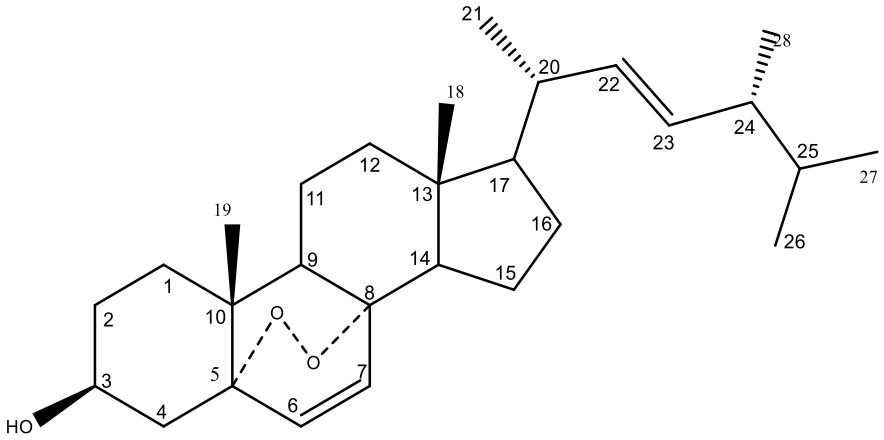


Şekil 3.228. IG.As.3.11 (32)'in ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)



Şekil 3.229. IG.As.3.11 (32)'in hidrolizinin silillenmiş GC-MS kromatogramı ve kütle spektrumu

*3.11.2.12. IG.As.3.12 (**33**) = Ergesterol peroksit*

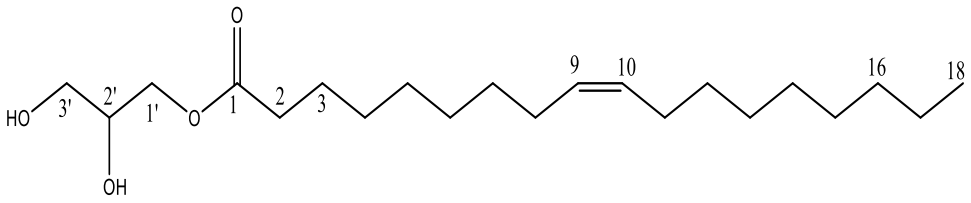


Şekil 3.230. IG.As.3.12 (33)'nin yapısı

Beyaz renkli olan IG.As.3.12 (**33**) maddesi (3,75 mg) amorf halde elde edildi (Şekil 3.230). Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105˚C) koyu kahverengi renk olmaktadır.

IG.As.3.12 (**33**) maddesinin ^{1}H-NMR spektrumu daha önce izole ettiğimiz TS.As.4.1 (**12**) maddesi ile birebir uyuşmaktadır**.** IG.As.3.12 (**33**) bileşiğinin yapısı ergesterol peroksit olarak belirlendi ve daha önce izole edilen IG.As.3.1 (**22**) ve IG.As.3.2 (**23**) bileşikleri ile aynı kimyasal yapıdadır (Sgarbi vd, 1997). Ergesterol peroksit bileşiği *T. scalpturatum* mantarının TS.As.3.4 **(4)** ve TS.As.4.1 **(12)** fraksiyonlarından da izole edilmiştir. Bölüm 3.9.4.1.'de TS.As.4.1 **(12)** kodlu madde için verilen spektrumlar nedeniyle bu madde için tekrar spektrum konulmadı. Bu bileşiğin ^{1}H-NMR, APT, 2D (COSY, HSQC, HMBC) ve kütle spektrumları Şekil 3.126-3.131'de görülmektedir.

*3.11.2.13. IG.As.3.13 (**34**) = 2,3-dihidroksipropil -1-oleat*



Şekil 3.231. IG.As.3.13 (34)'ün yapısı

IG.As.3.13 **(34)** maddesi (2,59 mg) amorf halde elde edildi (Şekil 3.231). Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105˚C) koyu renk oldu.

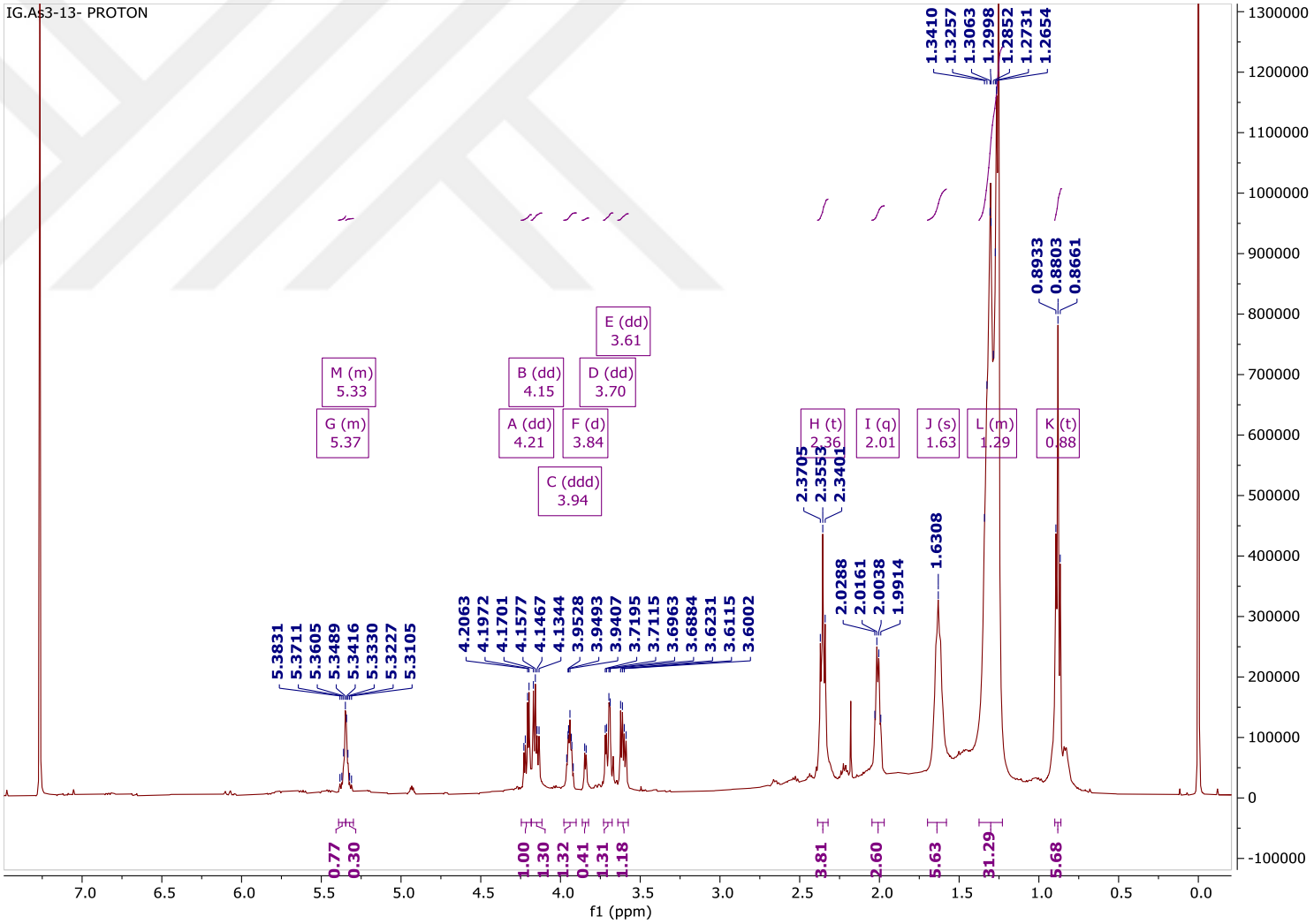
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δ (ppm), 500 MHz), (Şekil 3.232) spektrumunda δ 0,88 (*t*, *J* = 6,80 Hz, 1H, H-18) ppm'de metil protonu, δ 3,94 (*ddd*, *J*= 10,33; 5,90; 4,15 Hz, 1H, H-2') ppm'de metin protonu ve 2,01 (*q*, *J*= 6,29 Hz, 1H, H-8 ve H-11), 2,36 (*t*, *J*= 7,59 Hz, 1H, H-2), 3,61 (*dd*, *J*= 11,55; 3,98 Hz, 1H, H-3'a) ve 3,70 ve (*dd*, *J*= 11,44; 5,80 Hz, 1H, H-3'b), 4,15 (*dd*, *J*= 11,66; 6,18 Hz, 1H, H-1a') ve 4,21 (*dd*, *J*= 11,66; 6,18 Hz, 1H, H-1') ppm'de 6 metilen protonları ile δ 5,36 (*m* 1H, H-9), 5,34 (*m*, 1H, H-10) ppm'de rezonans olan vinilik protonlar gözlendi.

^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$, δ (ppm), 125 MHz), (Şekil 3.233) ve HSQC (Şekil 3.235) spektrumu ile birlikte değerlendirildiğinde 1 metil, 16 metilen, 3 metin ve 1 katerner karbon gözlenmiştir. δ 14,1 (C-18) ppm'de metil piki, δ 70,2 (C-2') metin piki, 27,2 (C-8) ve (C-11), 63,3 (C-3'), 65,1 (C-1') metilen pikleri, δ 129,7 (C-9), 130,1 (C-10) ppm'de vinilik karbon pikleri gözlendi. COSY (Şekil 3.234), HSQC (Şekil 3.235) ve HMBC (Şekil 3.236) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde yapısı doğrulandı.

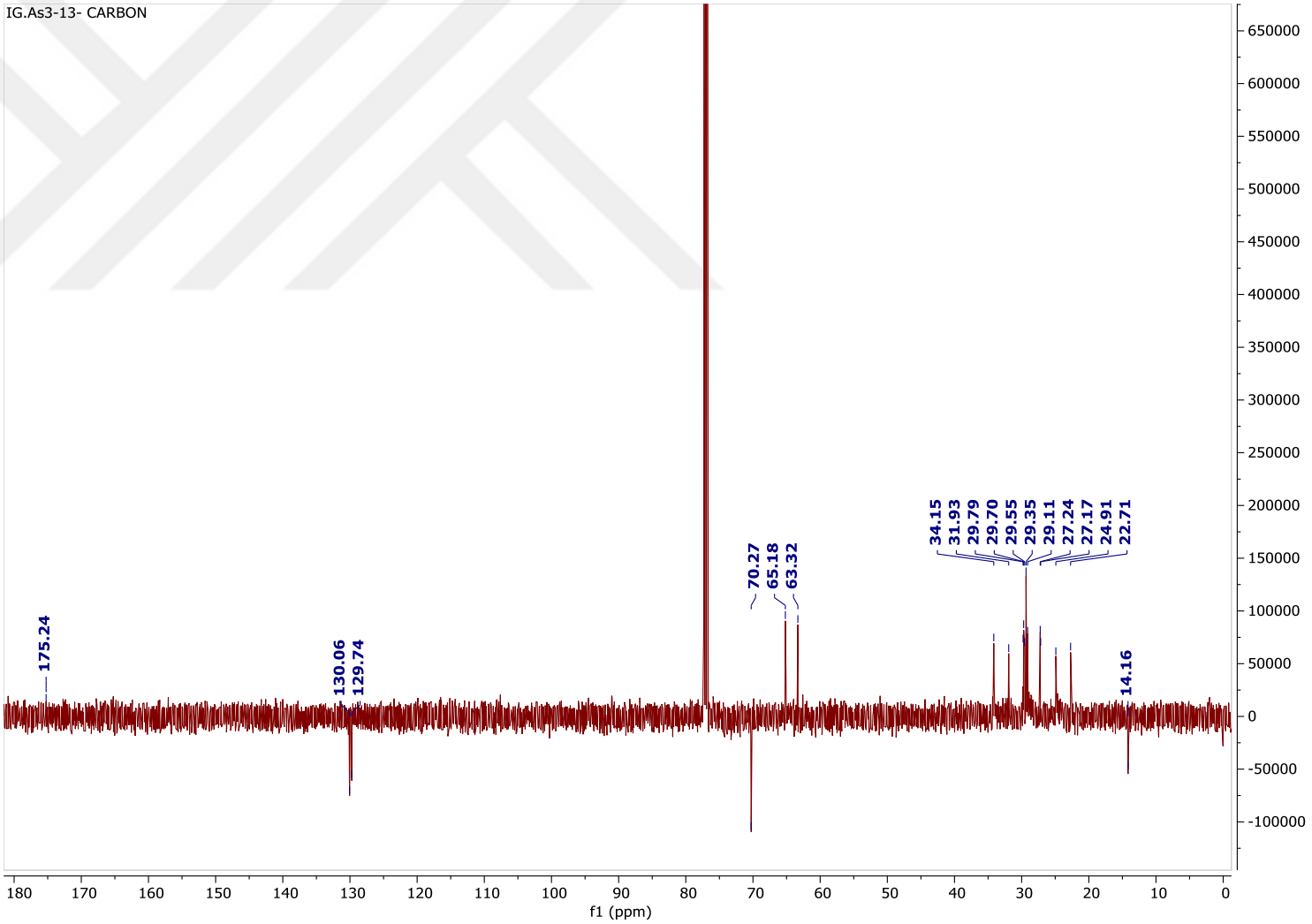
Elektrosprey uçuş zamanlı kütle spektrometrisinde (ESI^{+}-TOF-MS) (Şekil 3.237) *m/z* 357,3003'deki $[M]^{+}$ piki $C_{21}H_{40}O_4$ kapalı formülünü (calc. 357,3003) önerdi. Yapıdan ayrılan gliserin, *m/z* 265,2521'deki (calc. 265,2531) $[M\text{-}C_3H_7O_3]^{+}$ pik ile izlendi.^{1}H-NMR verileri literatürde rapor edilen yapı ile uyumludur (Atta-Ur-Rahman vd, 2008). Tüm spektroskopik veriler ve literatür çalışmaları sonucunda bileşiğin yapısı 2,3-dihidroksipropil-1-oleat olarak tespit edilmiştir (Atta-Ur-Rahman vd, 2008). IG.As.3.13 (**34**) bileşiği *Rhazya stricta* bitkisinin kökünün etanol ekstresinden izole edilmiştir. ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR değerleri Çizelge 3.48'de verilmektedir.

Çizelge 3.48. IG.As.3.13 (34)'ün NMR spektral değerleri

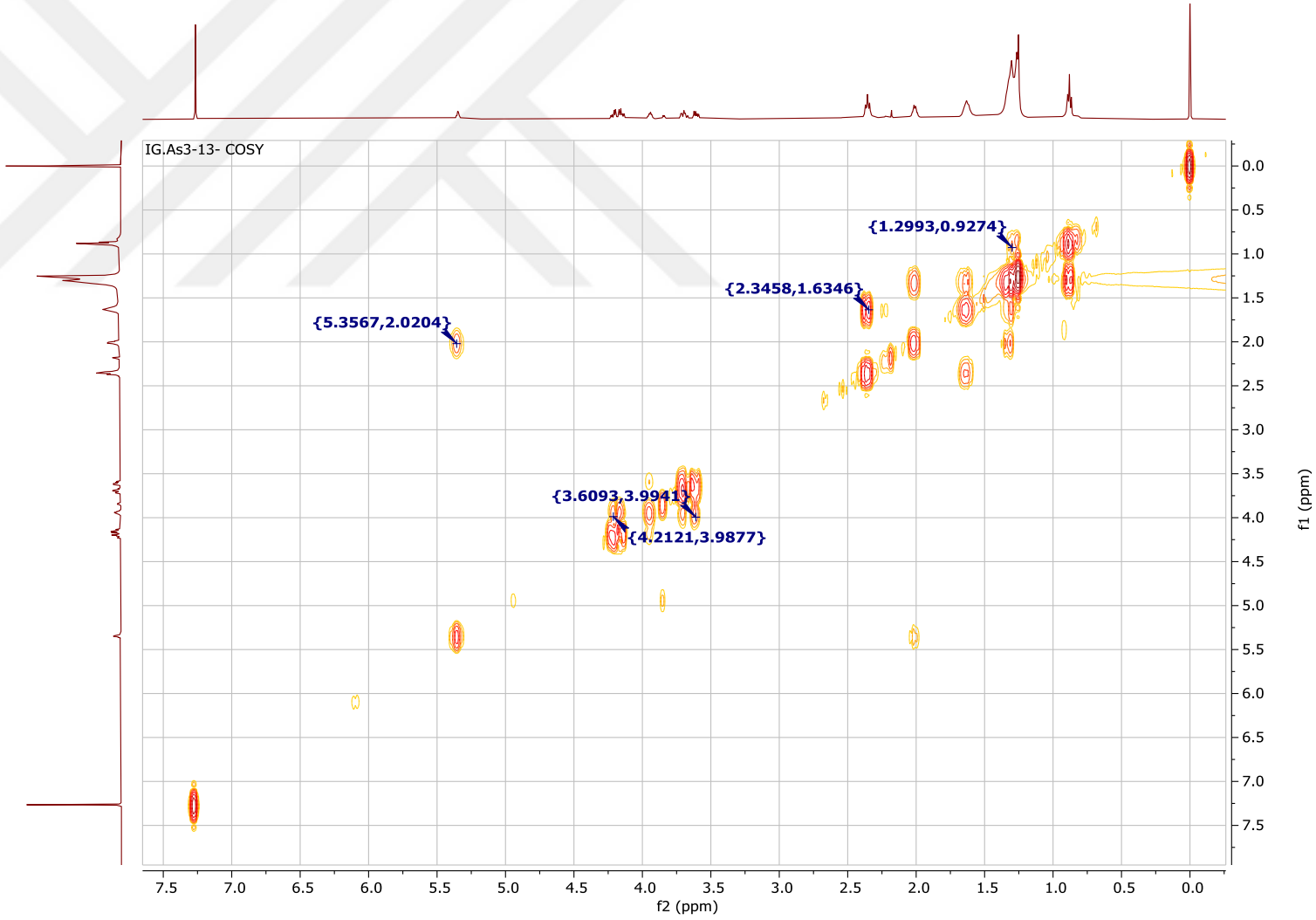
Pozisyon	^{13}C-NMR(δ)	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	175,2	C	
2	34,2	CH_2	2,36 (*t*, *J* = 7,59 Hz, 1H)
3	24,9	CH_2	1,63 (br, *s*, 2H)
4	29,1	CH_2	1,25 (*m*, 2H)
5	29,3	CH_2	1,26 (*m*, 2H)
6	29,7	CH_2	1,32 (*m*, 2H)
7	29,8	CH_2	1,29 (*m*, 2H)
8	27,2	CH_2	2,01 (*q*, *J* = 6,29 Hz, 1H)
9	129,7	CH	5,37 (*m*, 1H)
10	130,1	CH	5,33 (*m*, 1H)
11	27,2	CH_2	2,01 (*q*, *J* = 6,29 Hz, 1H)
12	29,8	CH_2	1,25 (*m*, 2H)
13	29,7	CH_2	1,30 (*m*, 2H)
14	29,7	CH_2	1,30 (*m*, 2H)
15	29,5	CH_2	1,25 (*m*, 2H)
16	31,9	CH_2	1,29 (*m*, 2H)
17	22,7	CH_2	1,26 (*m*, 2H)
18	14,2	CH_3	0,88 (*t*, *J* = 6,80 Hz, 1H)
1'	65,2	CH_2	4,15 (*dd*, *J* = 11,66; 6,18 Hz, 1H) 4,21 (*dd*, *J* = 11,69; 6,18 Hz, 1H)
2'	70,2	CH	3,94 (*ddd*, *J* = 10,33; 5,90; 4,15 Hz, 1H)
3'	63,3	CH_2	3,61 (*dd*, *J* = 11,55; 3,98 Hz, 1H) 3,70 (*dd*, *J* = 11,44; 5,80 Hz, 1H)



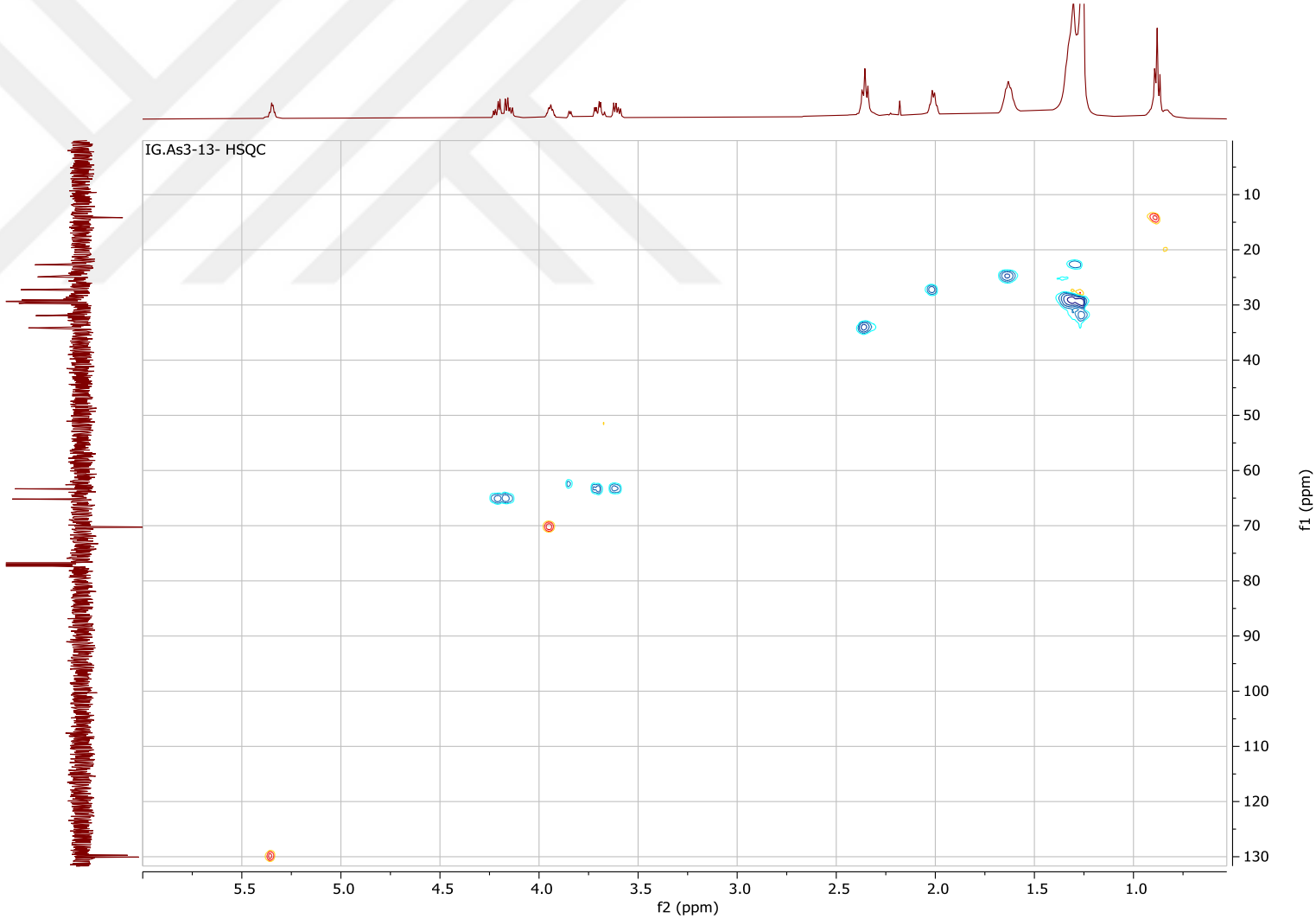
Şekil 3.232. IG.As.3.13 (34)'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)



Şekil 3.233. IG.As.3.13 (34)'ün ^{13}C-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 125 MHz)

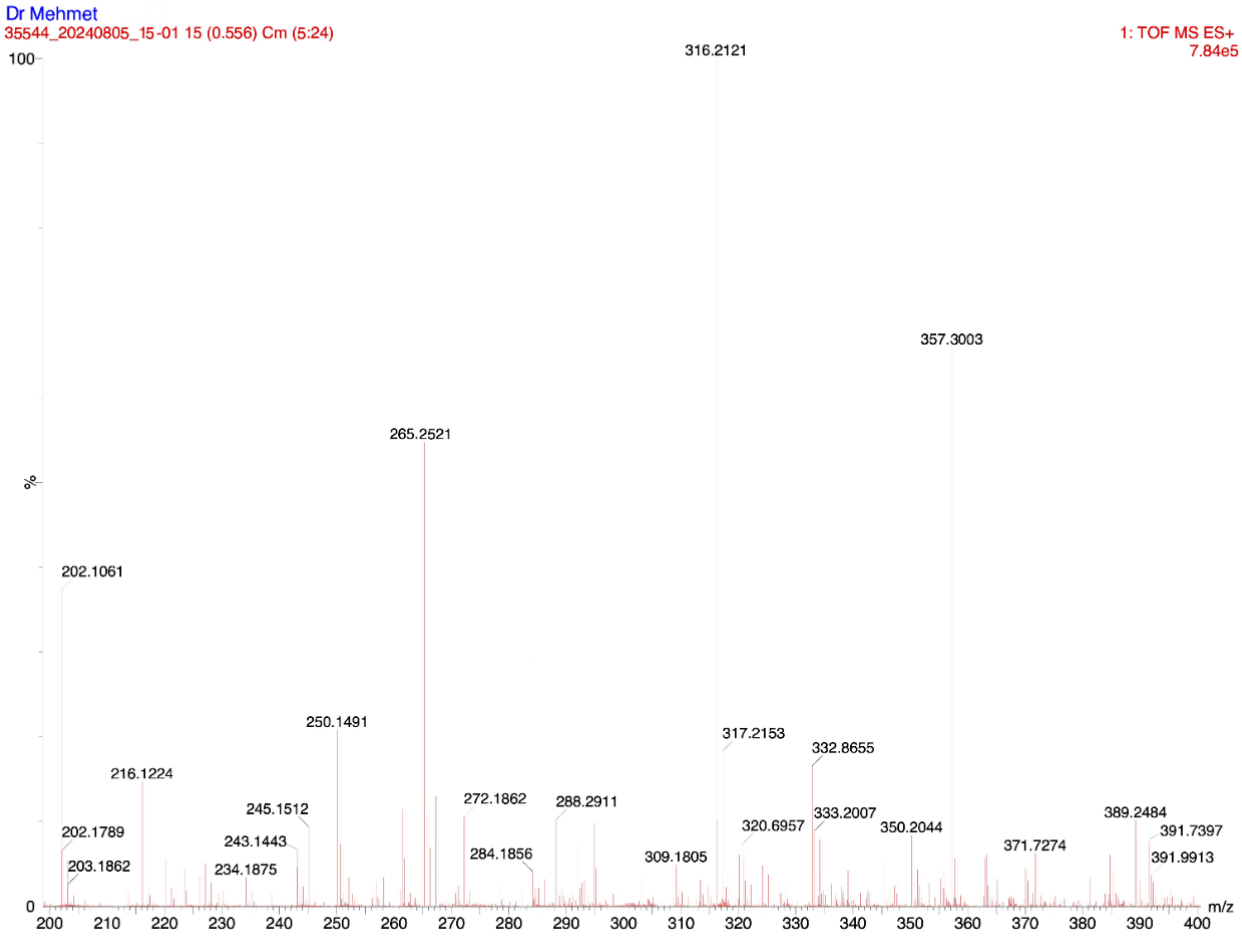


Şekil 3.234. IG.As.3.13 (34)'ün COSY spektrumu



Şekil 3.235. IG.As.3.13 (34)'ün HSQC spektrumu

Şekil 3.236. IG.As.3.13 (34)'ün HMBC spektrumu



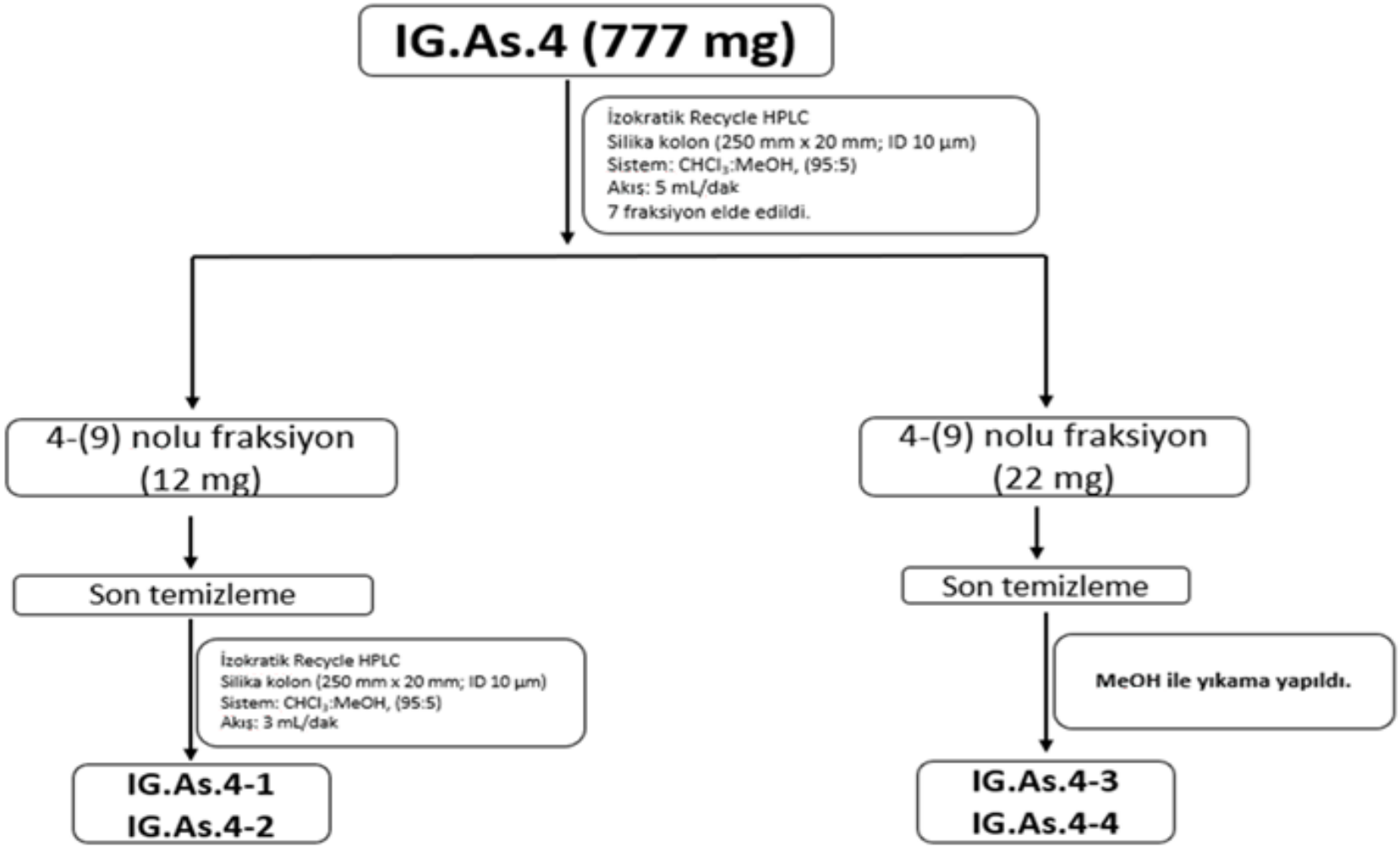
Şekil 3.237. IG.As.3.13 (34)'ün ESI$^+$-TOF kütle spektrumu

3.11.3. IG.As.4 biyoaktif fraksiyonunun alt fraksiyonlara ayrılması

IG.As.4 kodlu fraksiyon (777 mg) JAIGEL-SIL, SH-043-15, (250 x 20 mm ID, 10 µm) kolon bağlı izokratik Preoperatif Recycle HPLC-UV-RI cihazında çalışıldı. Bu amaçla izokrotik çözücü sistemi $CHCI_3$:MeOH (95:5) kullanıldı. Akış hızı dakikada 3 mL ve dedektör 254 nm olarak ayarlandı. UV aktif olmayan maddeler RI dedektörde izlendi. IG.As.4 fraksiyondan IG.As.4.1 ve IG.As.4.2 maddeleri saflaştırıldı. TLC'de iki maddenin yakın Rf değerlerinin aynı olduğu izlendi. ^{1}H-NMR spektrumları aynı olduğu için iki madde birleştirilip (6,7 mg) 2D NMR spektrumları alınarak yapı tayini yapıldı.

IG.As.4'ün izokratik Preperatif Recycle HPLC-UV-RI ile elde edilen 4 nolu alt fraksiyonunun (22 mg) MeOH ile yıkanması yapılarak IG.As.4.3 ve IG.As.4.4 maddeleri saflaştırıldı. TLC'de iki maddenin yakın Rf değerleri olduğu izlendi. ^{1}H-NMR spektrumları aynı olduğu için iki madde birleştirilip (7,1 mg) 2D NMR spektrumları alınarak yapı tayini yapıldı.

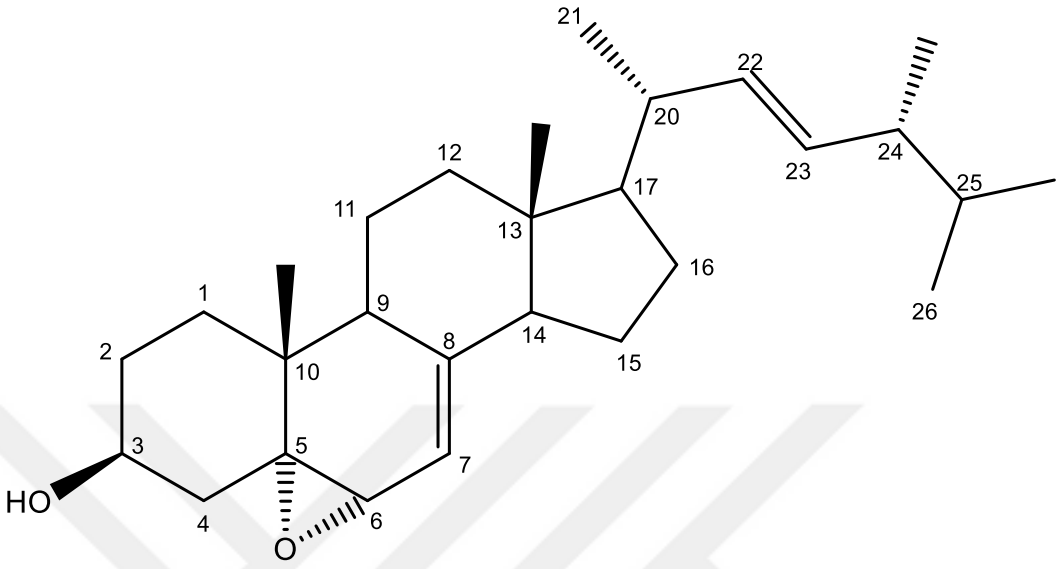
IG.As.4 fraksiyonunun tekrar fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen saf bileşiklerin elde edilme şeması verildi (Şekil 3.238). IG.As.4'ün fraksiyonundan saflaştırılan 2 maddenin yapılarını aydınlatmak ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, APT, DEPT, COSY, HSQC ve HMBC spektrumları alınarak yapı tayinleri yapıldı.



Şekil 3.238. IG.As.4 alt fraksiyonundan saf bileşiklerin (1-4) izolasyonu şeması

3.11.4. IG.As.4 biyoaktif fraksiyonunun elde edilen saf maddelerin yapı tayini

*3.11.4.1. IG.As.4.1 ve IG.As.4. 2 (**35**) = 5α,6α-epoksi ergosta-7,22-dien, 3β-ol*



Şekil 3.239. IG.As.4.1 ve IG.As.4.2 (35)'nin yapısı

IG.As.4.1 ve 2 (**35**) maddesi (6,7 mg) amorf halde elde edildi (Şekil 3.239). Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105˚C) koyu kahve renk aldı.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δ (ppm), 500 MHz), (Şekil 3.240) spektrumunda δ 0,55 (*s*, 3H, H-18), δ 0,76 (*d*, *J*= 6,7 Hz, 3H, H-26), δ 0,78 (*d*, *J*= 6,8 Hz, 3H, H-27), δ 0,86 (*dd*, *J= 6.8 Hz*, H-21), δ 0.86 (*d*, *J*= 6,9 Hz, 3H, H-28), ve δ 1,00 (*s*, H-19) ppm'de rezonans olan 6 tane metil piki karbonlu ergostan tipi steroidi andırdı. δ 3,92 (*tt*, *J*= 11,6; 5,0 Hz, 1H, H-3) ppm'de rezonans olan multiplet yapıdaki pik 3 pozisyonundaki hidroksilin β olduğunu gösterdi. δ 3,52 (*m*, 1H, H-6) ppm'de rezonans olan pik 6 pozisyonundaki karbona serbest olmayan oksijenin bağlandığı göstermektedir. δ 5,25 (*dt*, *J*= 4,9; 2,2 Hz, 1H,H-7) ile δ 5,11 (*dd*, *J* = 15,3, 8,0 Hz, 1H, H-22) ve δ 5,17 (*dd*, J = 15,3, 7,3 Hz, 1H, H-23) ppm'de rezonans olan pikler vinilik hidrojen piklerine aittir.

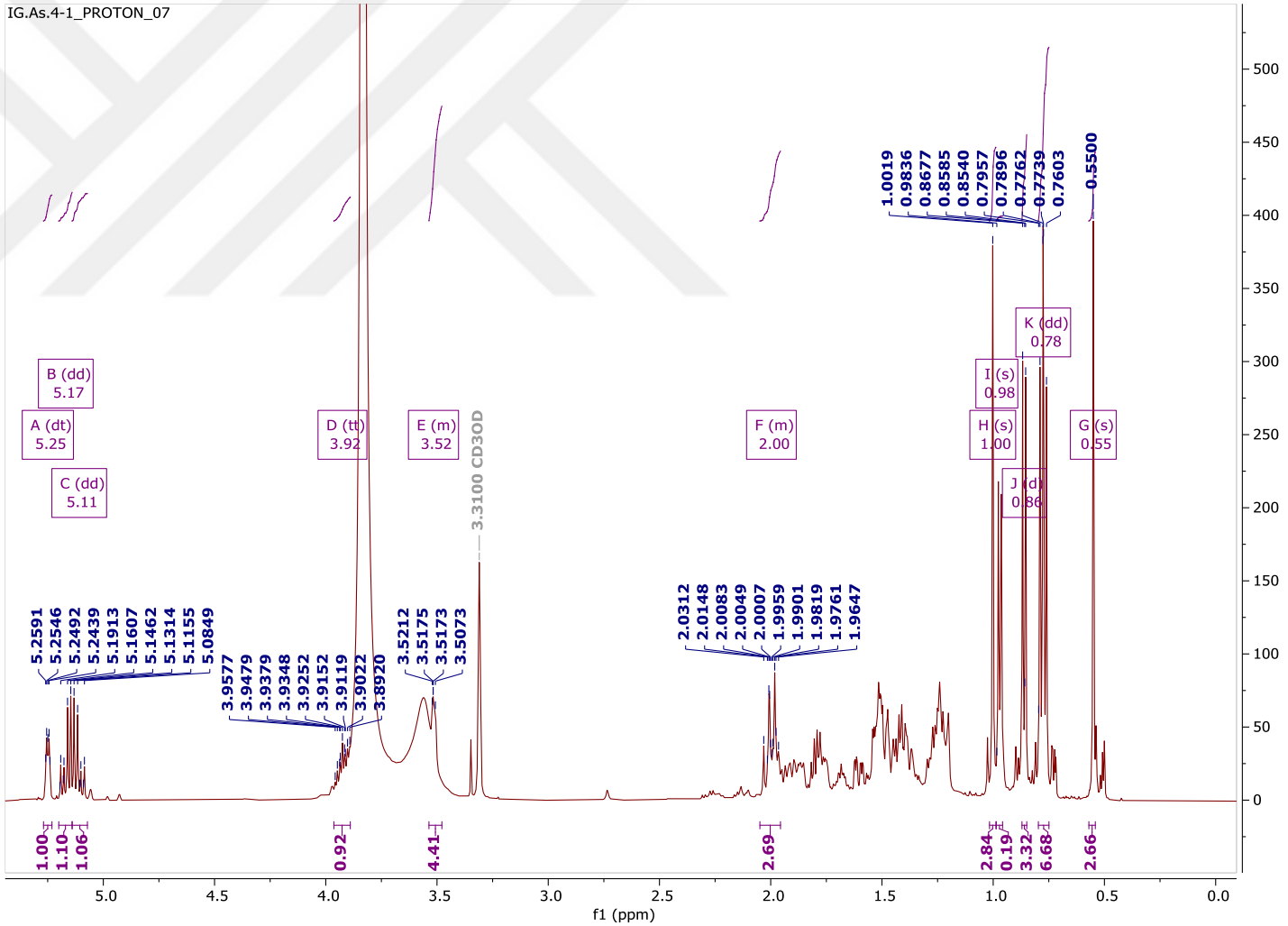
BB ($CDCl_3$, δ (ppm), 125 MHz), (Şekil 3.241) ve DEPT135 (Şekil 3.242) spektrumları beraber değerlendirildiğinde yapıda 6 metil, 7 metilen, 11 metin ve 4 katerner karbon izlendi. Bunların arasında 3 adet oksijene bağlı, 3 adet vinilik karbon atomu görüldü. δ 143,2 (C-8), 135,3 (C-22), 131,8 (C-23), 117,3 (C-7), ve 67,1 (C-3) ppm'de rezonans olan pikler metin karbonlara aittir. δ 20,8 (C-21), 19,9 (C-26), 19,3 (C-27), 18,1 (C-19), 17,3 (C-28) ve 11,9 (C-18), ppm'de rezonans olan pikler molekülde bulunan 6 adet metil karbon sinyalleridir. δ 67,1 ppm'de rezonans olan pik 3 numaralı karbonda hidroksil olduğunu gösterdi. HMBC ile BB spektrumları beraber değerlendirildiğinde δ 75,7 (C-5) ve δ 72,9 (C-6) ppm'de rezonans olan sinyaller C-5 ile C-6 pozisyonları arasında oksijen köprüsünün olduğunu ispatladı. COSY (Şekil 3.243), HSQC (Şekil 3.244) ve HMBC (Şekil 3.245) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde steroid yapısı doğrulandı.

Elektrosprey uçuş zamanlı kütle spektrometrisinde (ESI^+-TOF-MS) (Şekil 3.246) *m/z* 412,3340'deki (calc. 412,3341) $[M]^+$ piki $C_{28}H_{44}O_2$ yapısını verdi. Suyun ayrılmasıyla görülen *m/z* 394,3233'deki (calc. 394,3226) $[M\text{-}H_2O]^+$ ve epoksi yapısının ayrılmasıyla görülen *m/z* 379,3361'daki (calc. 379,3391) $[M\text{-}O\text{-}O]^+$ pik fragmanları NMR değerleri ile uyuşmaktadır

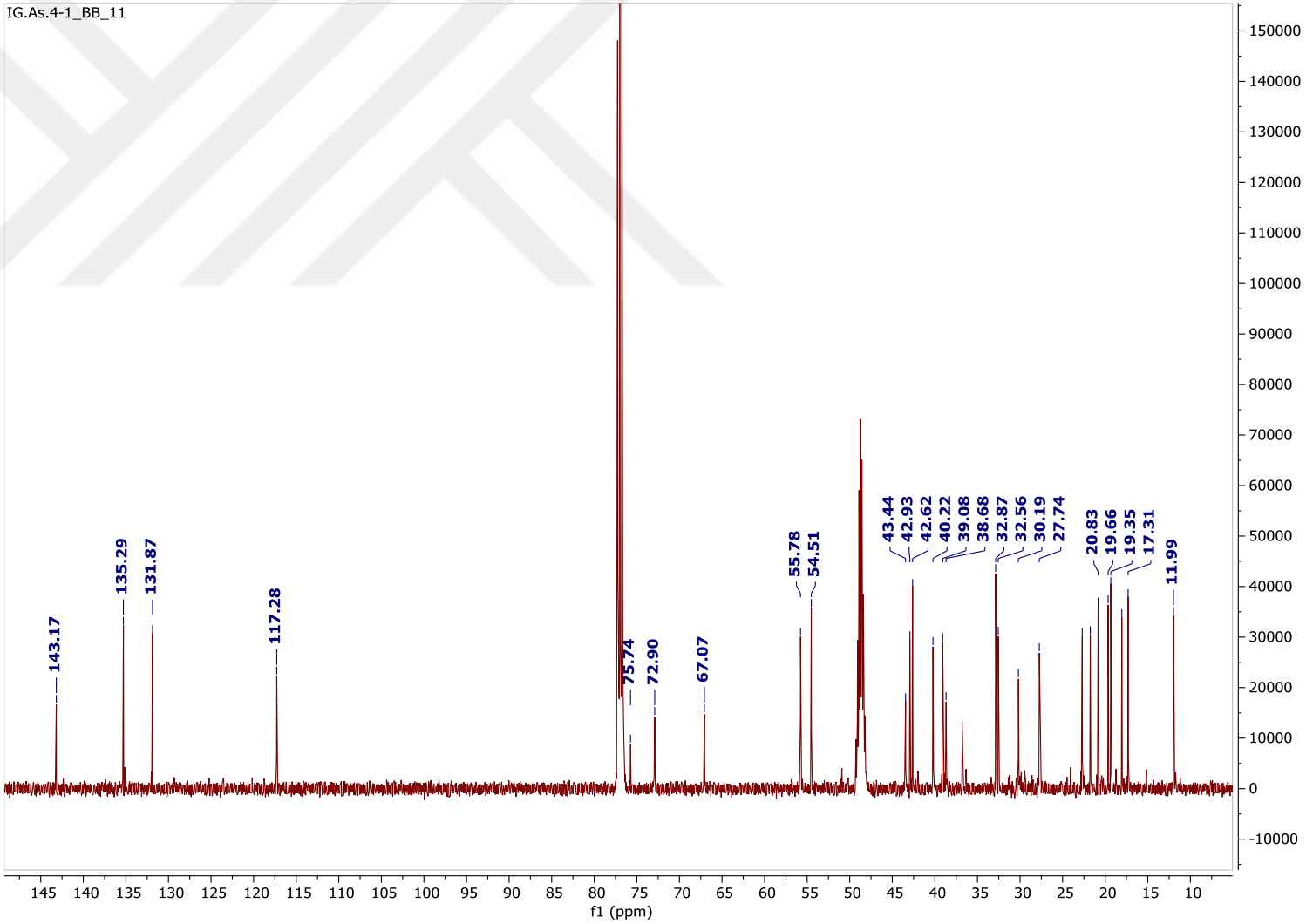
Spektral veriler değerlendirildiğinde ve literatür ile karşılaştırıldığında IG.As.4.1-2 (**35**) maddesinin 5α,6α-epoksi ergosta-7,22-dien, 3β-ol olduğu belirlendi (Xiao vd, 2001). IG.As.4.1-2 (**35**) bileşiğinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR değerleri Çizelge 3.47'de verilmektedir.

Çizelge 3.49. IG.As.4.1 ve 2 (35)'nin NMR spektral değerleri

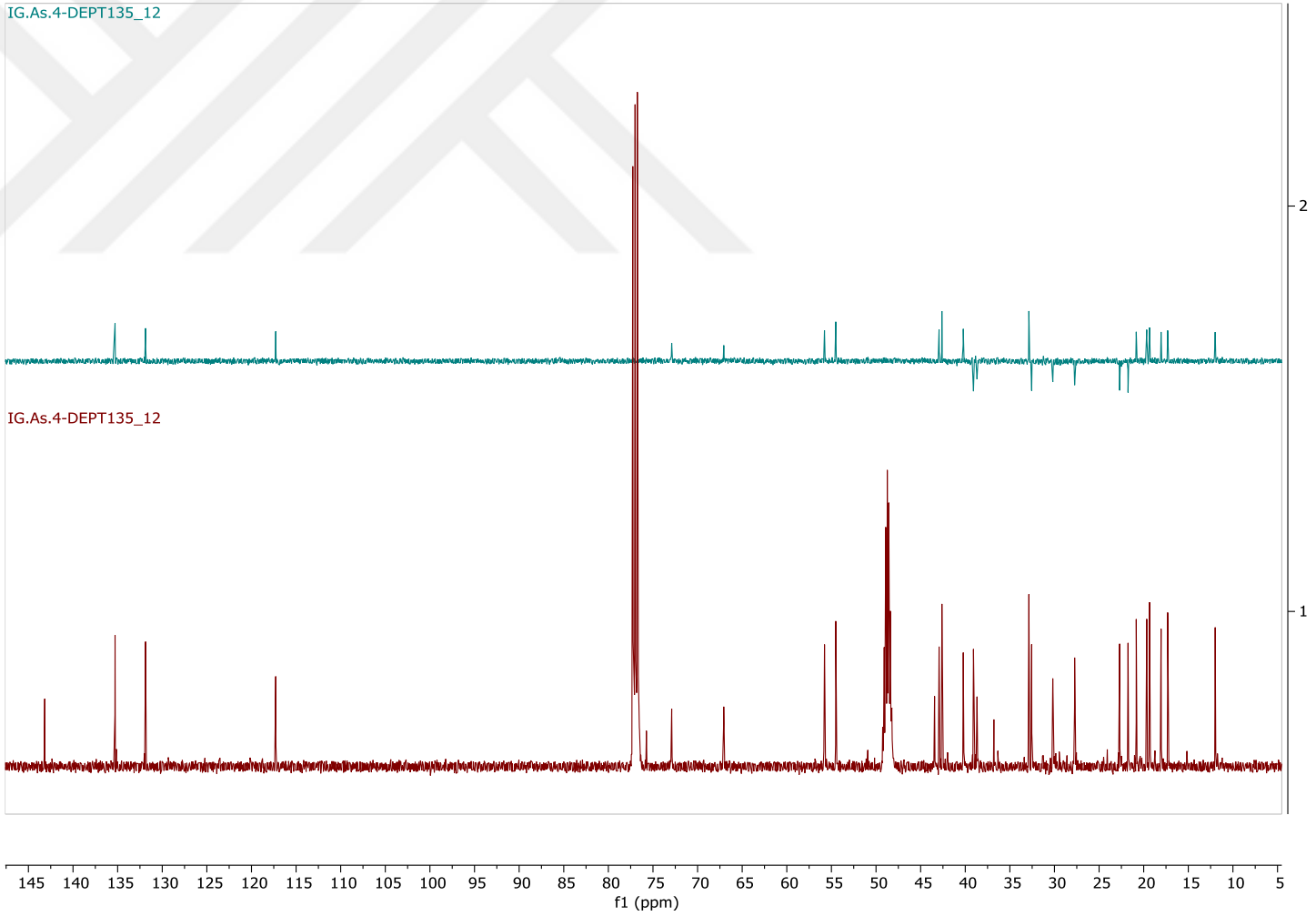
Pozisyon	^{13}C-NMR(δ)	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	32,6	CH_2	1,44 (*m*, 1H); 1,52 (*m*, 1H)
2	30,2	CH_2	1,21 (*m*, 1H); 1,71 (*m*, 1H)
3	67,1	CH	3,92 (*tt*, *J*= 11,6; 5,0 Hz, 1H)
4	38,7	CH_2	1,95 (*m*, 1H); 1,98 (*m*, 1H)
5	75,7	C	
6	72,9	CH	3,52 (*m*, 1H)
7	117,3	CH_2	5,25 (*dt*, *J* = 4,9, 2,2 Hz, 1H)
8	143,2	C	1,46 (*m*, 1H)
9	42,9	CH	1,78 (*m*, 1H)
10	36,8	C	
11	21,7	CH_2	1,39 (*m*, 1H); 1,47 (*m*, 1H)
12	39,1	CH_2	1,24 (*m*, 1H); 1,96 (*m*, 1H)
13	43,4	C	
14	54,5	CH	1,85 (*m*, 1H)
15	22,7	CH_2	1,01 (*m*, 1H); 1,52 (*m*, 1H)
16	27,7	CH_2	1,29 (*m*, 1H); 1,47 (*m*, 1H)
17	55,8	CH	1,55 (*m*, 1H)
18	11,9	CH_3	0,55 (*s*, 3H)
19	18,1	CH_3	1,00 (*s*, 3H)
20	40,2	CH	2,00 (*m*, 1H)
21	20,8	CH_3	0,86 (*dd*, *J*= 6.8 Hz, 3H)
22	135,3	CH	5,11 (*dd*, *J* = 15,3, 8,0 Hz, 1H)
23	131,8	CH	5,17 (*dd*, *J* = 15,3, 7,3 Hz, 1H)
24	42,6	CH	1,77 (*m*, 1H)
25	32,8	CH	1,37 (*m*, 1H)
26	19,6	CH_3	0,76 (*d*, *J*= 6,7 Hz, 3H)
27	19,3	CH_3	0,78 (*d*, *J*= 6,8 Hz, 3H)
28	17,3	CH_3	0,86 (*d*, *J*= 6,9 Hz, 3H)



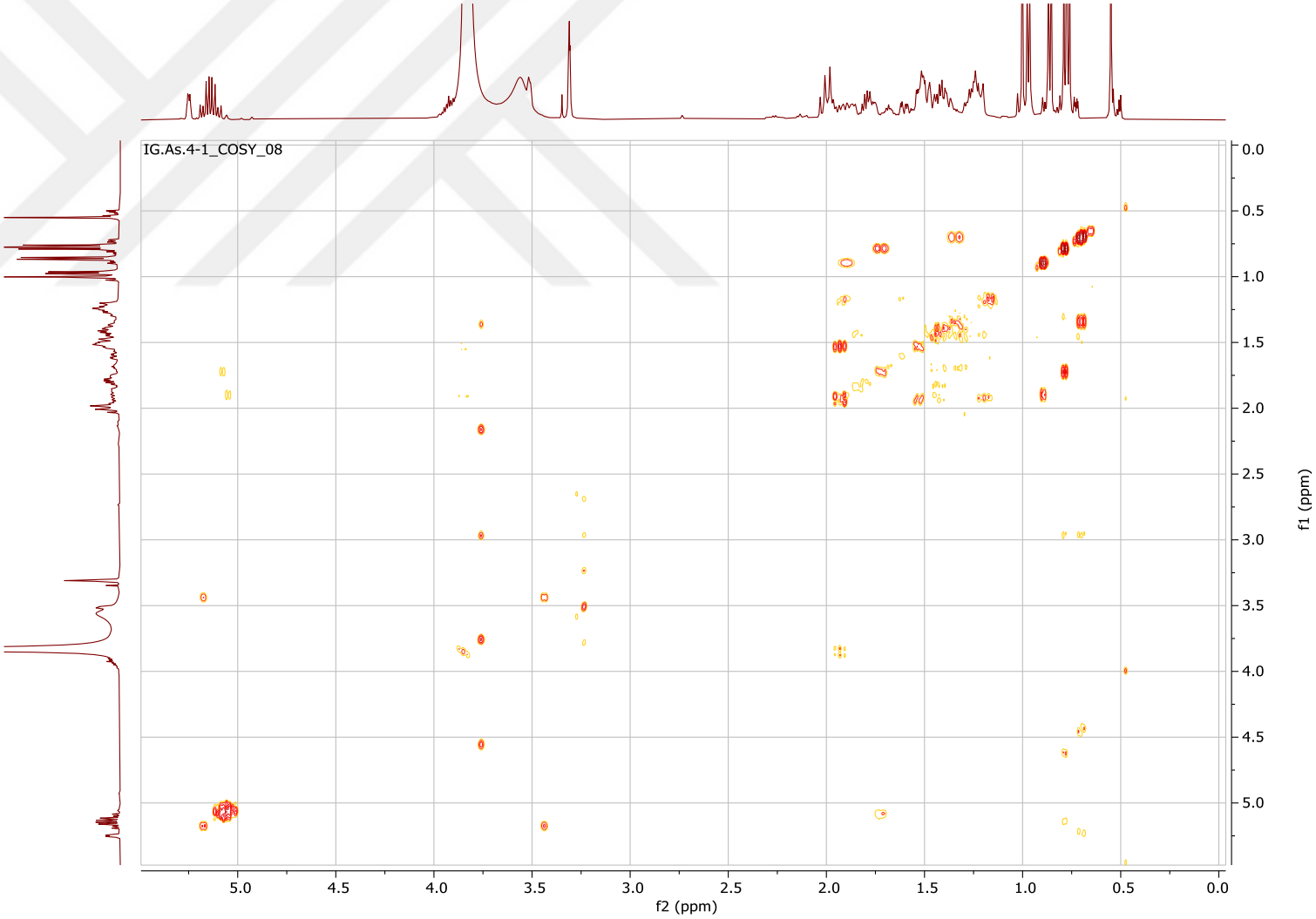
Şekil 3.240. IG.As.4.1 ve 2 (35)'nin ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)



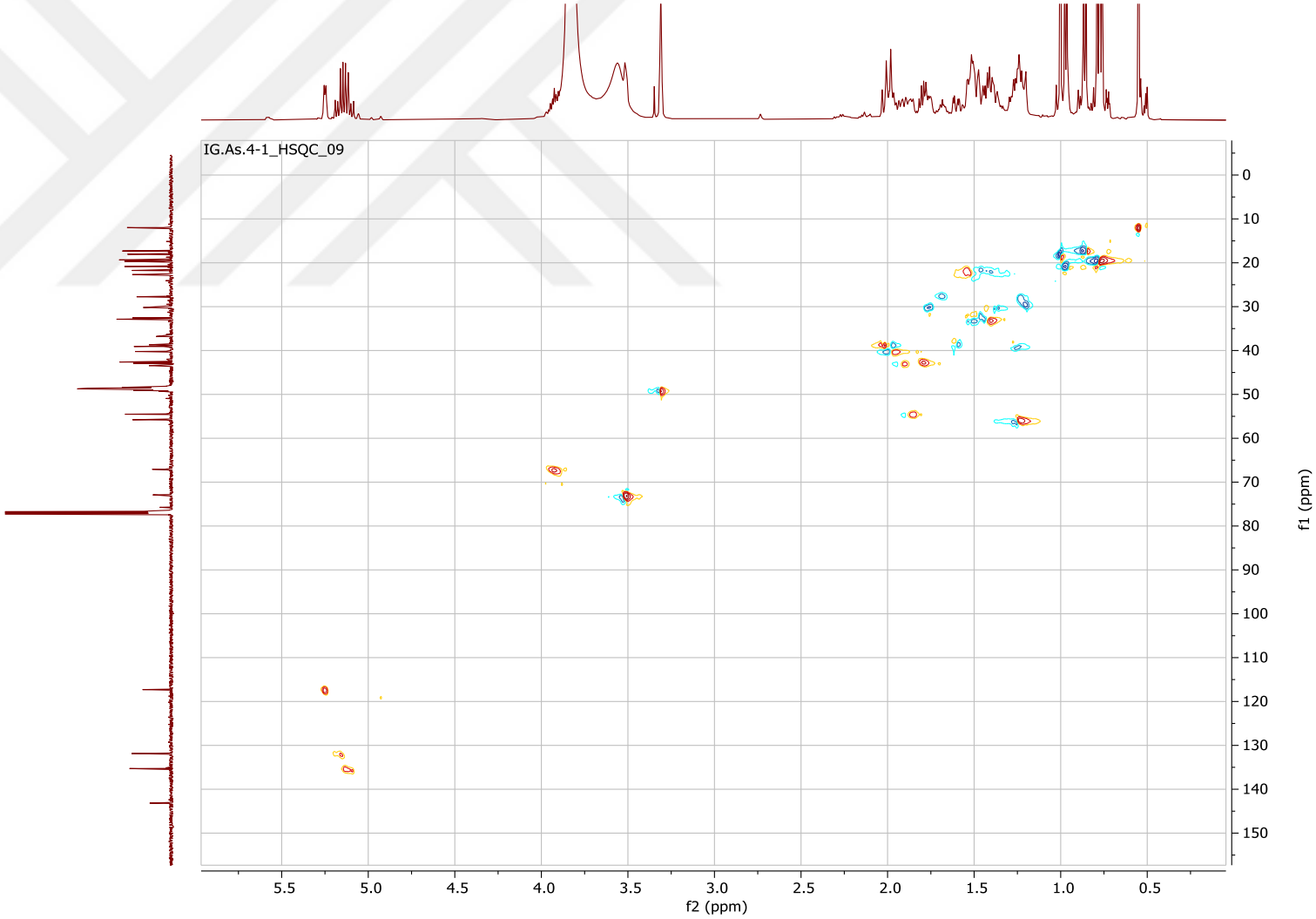
Şekil 3.241. IG.As.4.1 ve 2 (35)'nin BB spektrumu ($CDCl_3$, 125 MHz)



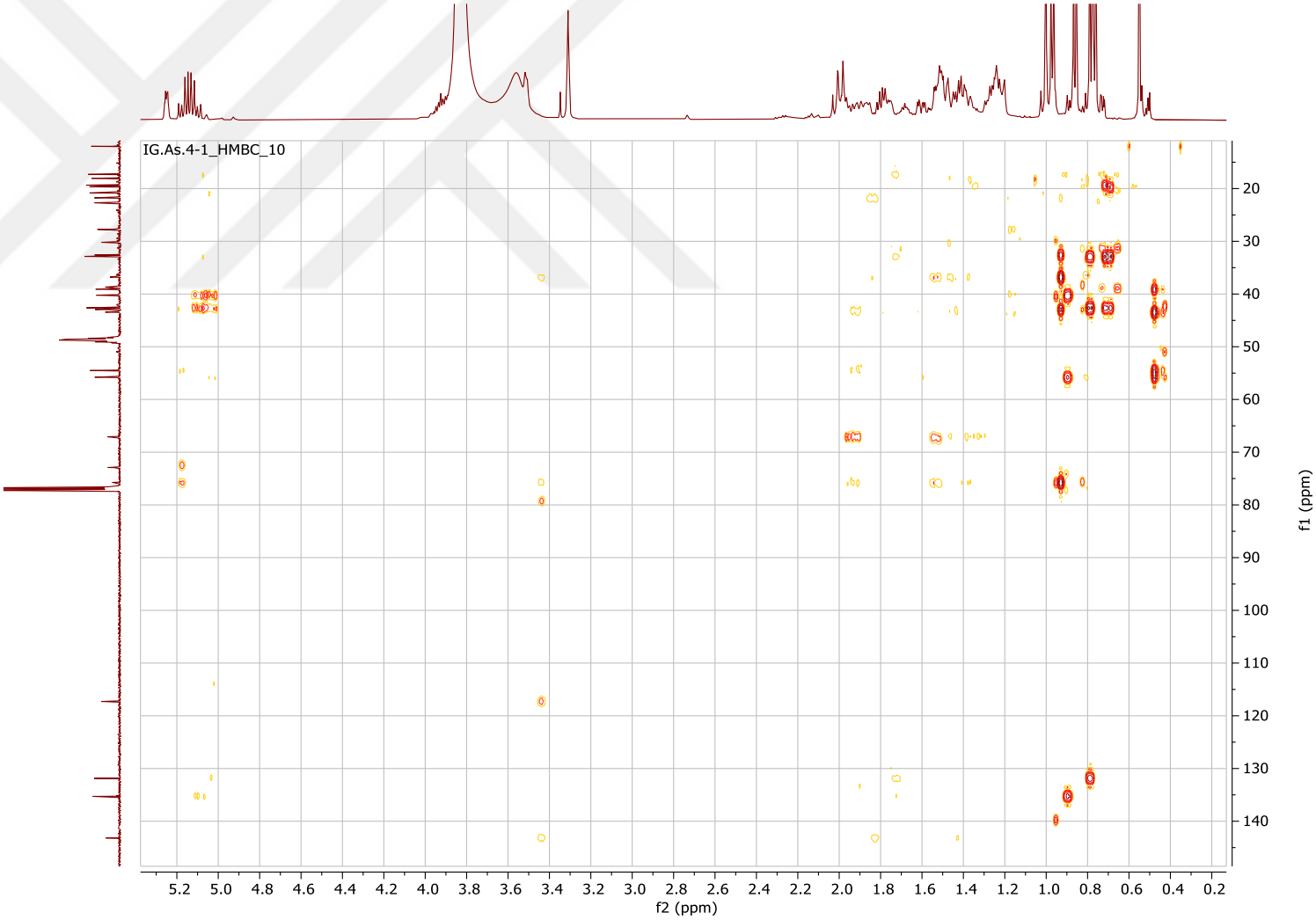
Şekil 3.242. IG.As.4.1 ve 2 (35)'nin DEPT135 spektrumu



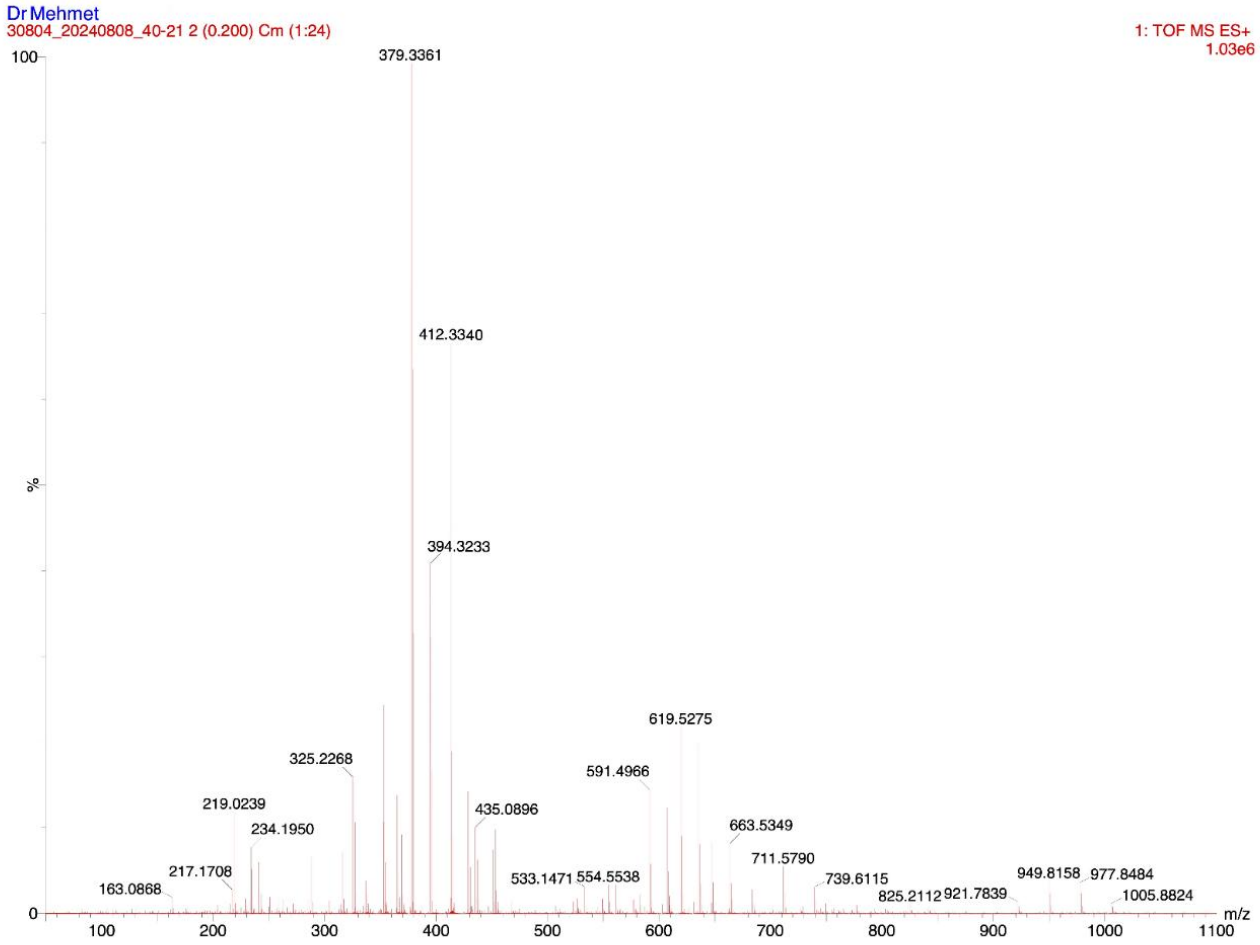
Şekil 3.243. IG.As.4.1 ve 2 (35)'nin COSY spektrumu



Şekil 3.244. IG.As.4.1 ve 2 (35)'nin HSQC spektrumu

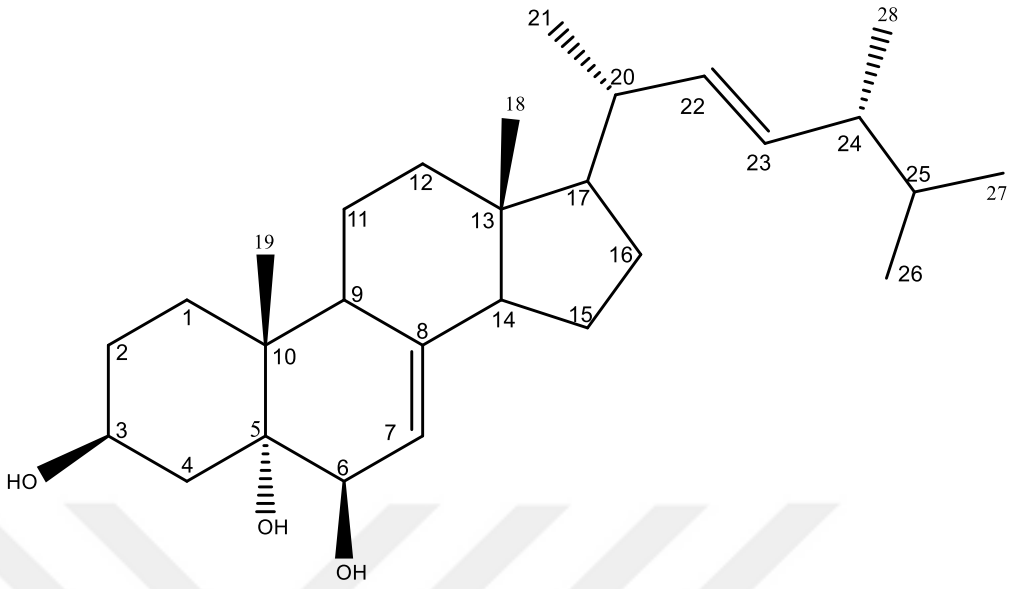


Şekil 3.245. IG.As.4.1 ve 2 (35)'nin HMBC spektrumu



Şekil 3.246. IG.As.4.1 ve IG.As.4.2 (35)'nin ESI$^+$-TOF kütle spektrumu

*3.11.4.2. IG.As.4.3 ve IG.As.4.4 (**36**) = Serevisterol*



Şekil 3.247. IG.As.4.3 ve 4 (36)'ün yapısı

IG.As.4.3 ve IG.As.4.4 (**36**) maddesi (7,0 mg) amorf halde elde edildi (Şekil 3.247). Bileşik seryum sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105˚C) kahverengimsi renk oldu.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$+CD_3OD, δ (ppm), 500 MHz), (Şekil 3.248) spektrumunda δ 5,27 (*td*, *J* = 5,3; 2,7 Hz, 1H, H-7), δ 5,12 (*dd*, *J* = 15,4; 7,5 Hz, 1H, 22-H,), δ 5,18 (*dd*, *J* = 14,8; 7,5 Hz, 1H, 23-H,) ppm'de vinilik hidrojen pikleri ve δ 3,94 (*ddt*, *J* = 16,4; 10,9; 5,4 Hz, 1H, H-3) ile δ 3,53 (*m*, H-6, 1H) ppm'de hidroksile bağlı olan hidrojen pikleri izlenmektedir. Ergostan tipi steroidlere karakteristik olan 6 adet metil piki sırasıyla δ 1,02 (*s*, 3H, H-19), δ 0,98 (*d*, *J* =6,63 Hz, 3H, H-21), δ 0,95 (*d*, *J*= 6,91 Hz, 3H, H-28), δ 0,82 (*d*, *J*=7,45 Hz, 3H, H-26), δ 0,88 (*d*, *J*=7,30 Hz, 3H, H-27), δ 0,58 (*s*, 3H, H-18) ppm'de izlendi.

APT spektrumu ($CDCl_3$, δ (ppm), 125 MHz), (Şekil 3.249) ve HSQC (Şekil 3.251) spektrumu ile birlikte değerlendirildiğinde 6 metil, 8 metilen, 10 metin ve 4 katerner karbon izlendi. δ 11,7 (C-18), 17,8 (C-19), 17,1 (C-28), 19,1 (C-26), 19,4 (C-27), 20,6 (C-21) sinyalleri karakteristik metil karbonlarına aittir. δ 66,9 (C-3), 75,5 (C-5), 72,7 (C-6) ppm'de rezonans olan pikler oksijene bağlı karbonlar ve δ 117,1 (C-7), 135,2

(C-22), 131,7 (C-23) ve 142,9 (C-8) ppm'de rezonans olan pikler ise moleküldeki vinilik karbonlara aittir. Proton ve APT spektrumları beraber değerlendirildiğinde ergostan tipi bir yapıyı düşündürdü. COSY (Şekil 3.250) ve HMBC (Şekil 3.252) spektrumları ile yapı doğrulandı.

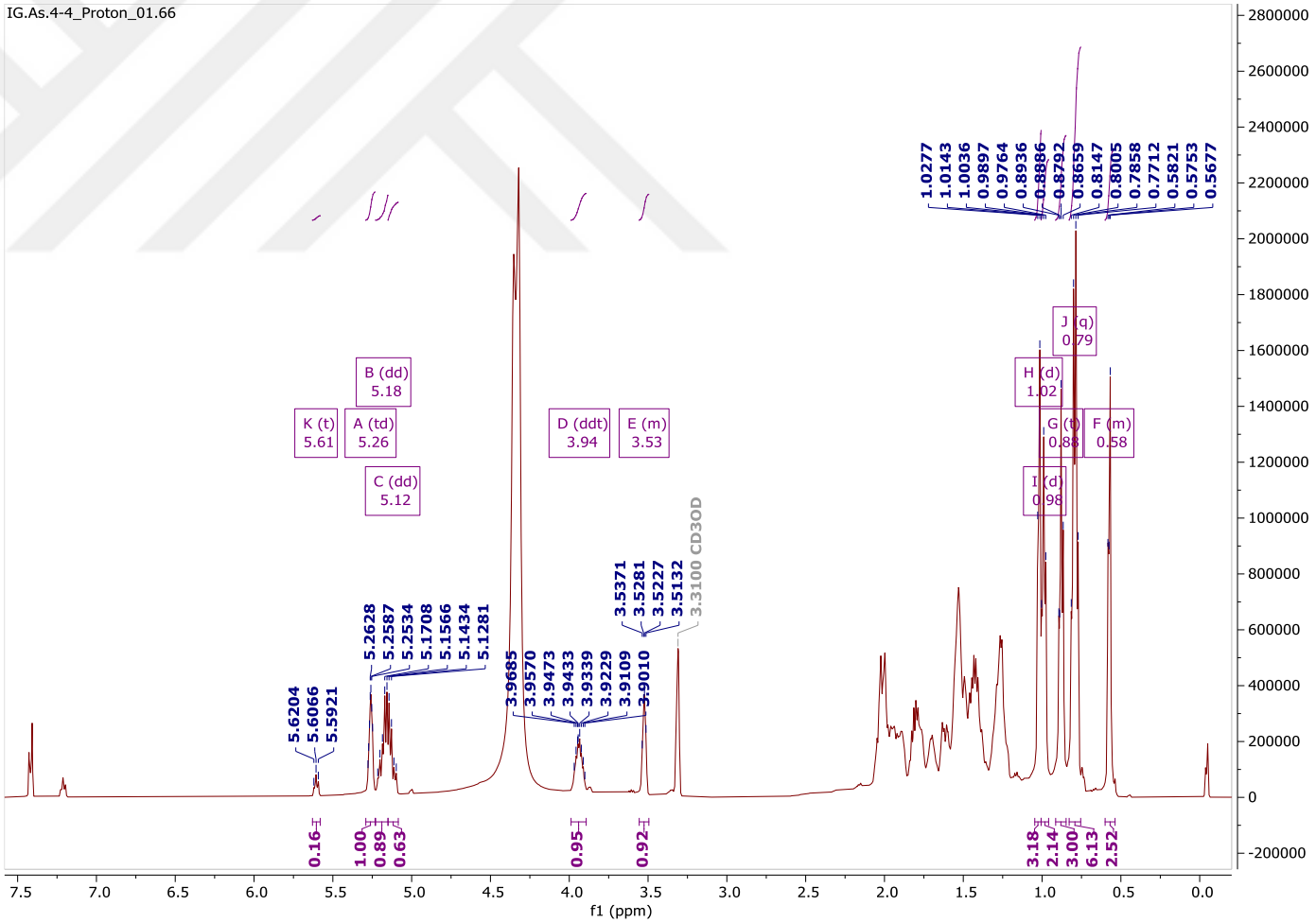
Elektrosprey uçuş zamanlı kütle spektrometrisinde (ESI^+-TOF-MS) (Şekil 3.253) *m/z* 430,3446'daki (calc. 430,3447) $[M]^+$ piki $C_{28}H_{46}O_3$formülünü verdi. Yapıdan suyun ayrılmasıyla *m/z* 412,3339'deki (calc. 412,3341) $[M\text{-}H_2O]^+$ ($C_{28}H_{44}O_2$) ve oksijenin ayrılmasıyla *m/z* 379,3391'de (calc. 379,3391) $[M\text{-}O\text{-}O]^+$pikleri izlendi.

Serevisterol'ün göreceli konfigürasyonunu tayin etmek için *J* bazlı konfigürasyon analizi kullanıldı (Kawagishi vd, 1988; Kaplaner vd, 2023). δ 3,94 (*ddt*, *J* = 16,4; 10,9; 5,4 Hz, 1H, H-3) ppm'de görülen triplet yapıdaki pikler 3 numaralı karbonun hidroksilin β olduğunu gösterdi. Literatür ile karşılaştırıldığında 3,52 (*m*, 1H, H-6) ppm'de rezonans olan yarılma sabiti hidroksil grubunun β konumunu önerdi. Diğer kiral merkezlerin konfigürasyonuda literatürde rapor edilen Serevisterol ile aynıdır (Piccialli ve Sica, 1987; Kawagishi vd, 1988; Kaplaner vd, 2023).

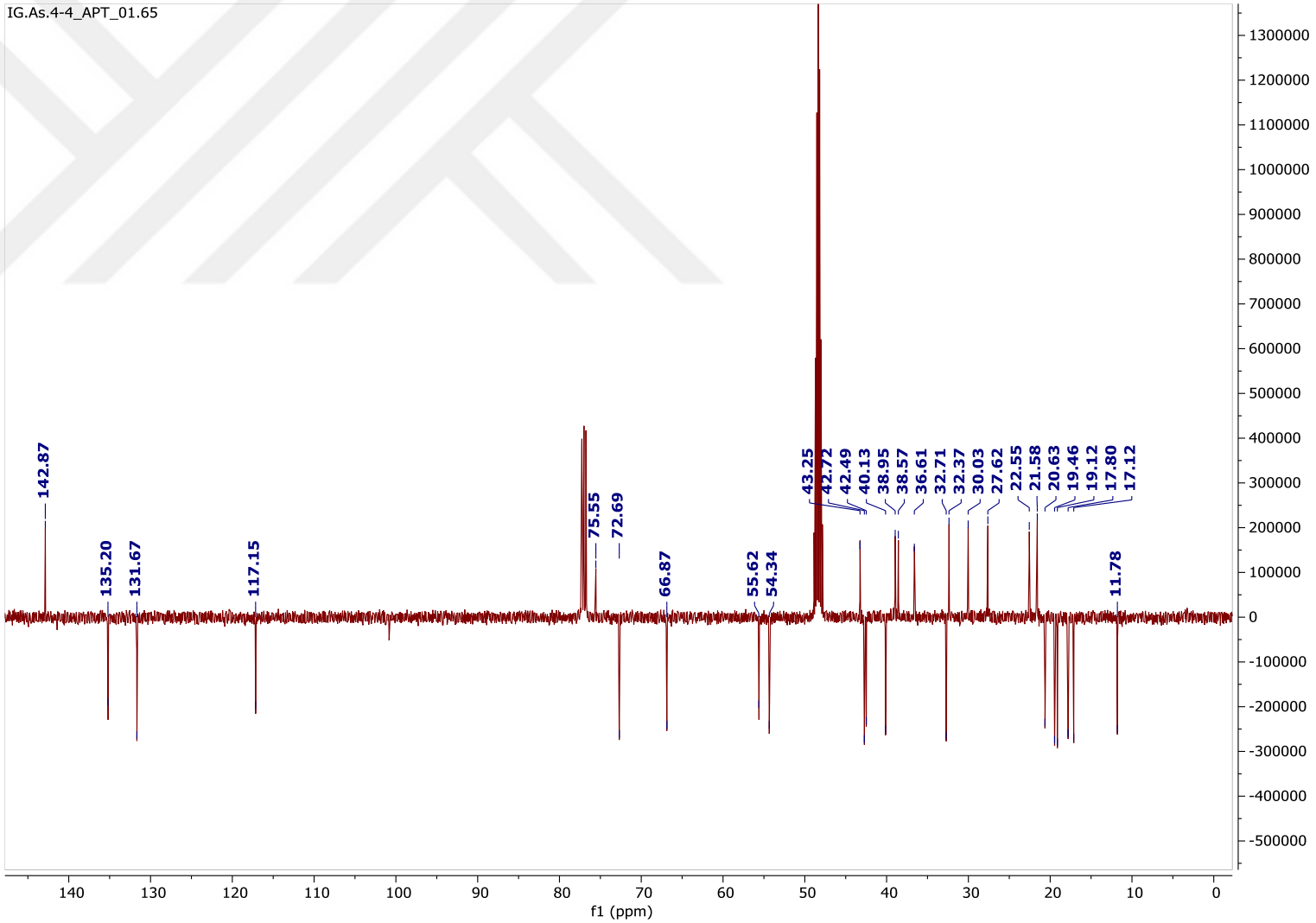
Tüm spektroskopik veriler ve literatür çalışmaları değerlendirildiğinde IG.As.4.4 (**36**) bileşiğin yapısı Serevisterol olarak belirlendi (Piccialli ve Sica, 1987; Kawagishi vd, 1988; Kaplaner vd, 2023). Serevisterol bileşiği daha önce *T. scalpturatum* mantarının TS.As.7.1 (**19**) (Bölüm 3.9.6.1'de) fraksiyonundan da izole edilmiştir. Bileşiğin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR değerleri Çizelge 3.48'de verilmektedir.

Çizelge 3.50. IG.As.4.3 ve 4 (36)'ün NMR spektral değerleri

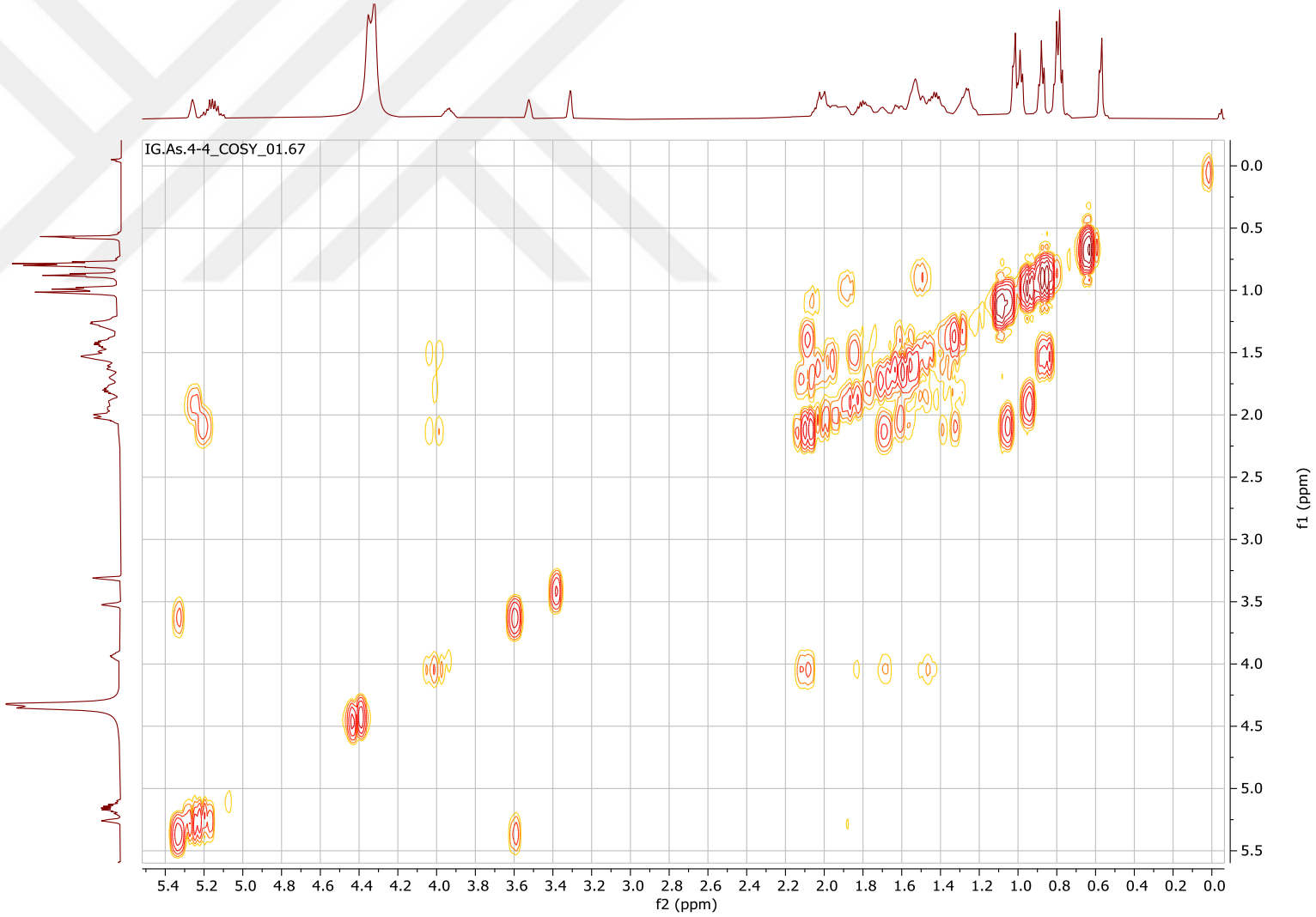
Pozisyon	^{13}C-NMR(δ)	Karbon Türü	^{1}H-NMR (δ)
1	32,4	CH_2	1,56 (*m*, 1H); 1,60 (*m*, 1H)
2	30,0	CH_2	1,47 (*m*, 1H); 1,85 (*m*, 1H)
3	66,9	CH	3,94 (*ddt*, *J* = 16,4; 10,9; 5,4 Hz, 1H)
4	38,9	CH_2	1,35 (*m*, 1H); 2,09 (*m*, 1H)
5	75,5	C	
6	72,7	CH	3,53 (*m*, 1H)
7	117,1	CH	5,26 (*td*, *J* = 5,3; 2,7 Hz, 1H)
8	142,9	C	
9	42,5	CH	1,88 (*m*, 1H)
10	36,6	C	
11	21,5	CH_2	1,59 (*m*, 1H); 1,67 (*m*, 1H)
12	38,5	CH_2	1,69 (*m*, 1H); 2,09 (*m*, 1H)
13	43,2	C	
14	54,3	CH	1,97 (*t*, *J* = 4,55 Hz, 1H)
15	22,5	CH_2	1,51 (*m*, 1H); 1,60 (*m*, 1H)
16	27,6	CH_2	1,33 (*m*, 1H); 1,77 (*m*, 1H)
17	55,6	CH	1,33 (*m*, 1H)
18	11,7	CH_3	0,58 (*s*, 3H)
19	17,8	CH_3	1,02 (*s*,3H)
20	40,1	CH	2,06 (*m*, 1H)
21	20,6	CH_3	0,98 (*d*, *J* =6,63 Hz, 3H)
22	135,2	CH	5,12 (*dd*, *J* = 15,4; 7,5 Hz, 1H)
23	131,7	CH	5,18 (*dd*, *J* = 14,8; 7,5 Hz, 1H)
24	42,7	CH	2,02 (*m*, 1H)
25	32,7	CH	1,49 (*m*, 1H)
26	19,4	CH_3	0,82 (*d*, *J* =7,45 Hz, 3H)
27	19,1	CH_3	0,88 (*d*, *J* =7,30 Hz, 3H)
28	17,1	CH_3	0,95 (*d*, *J* =6,91 Hz, 3H)



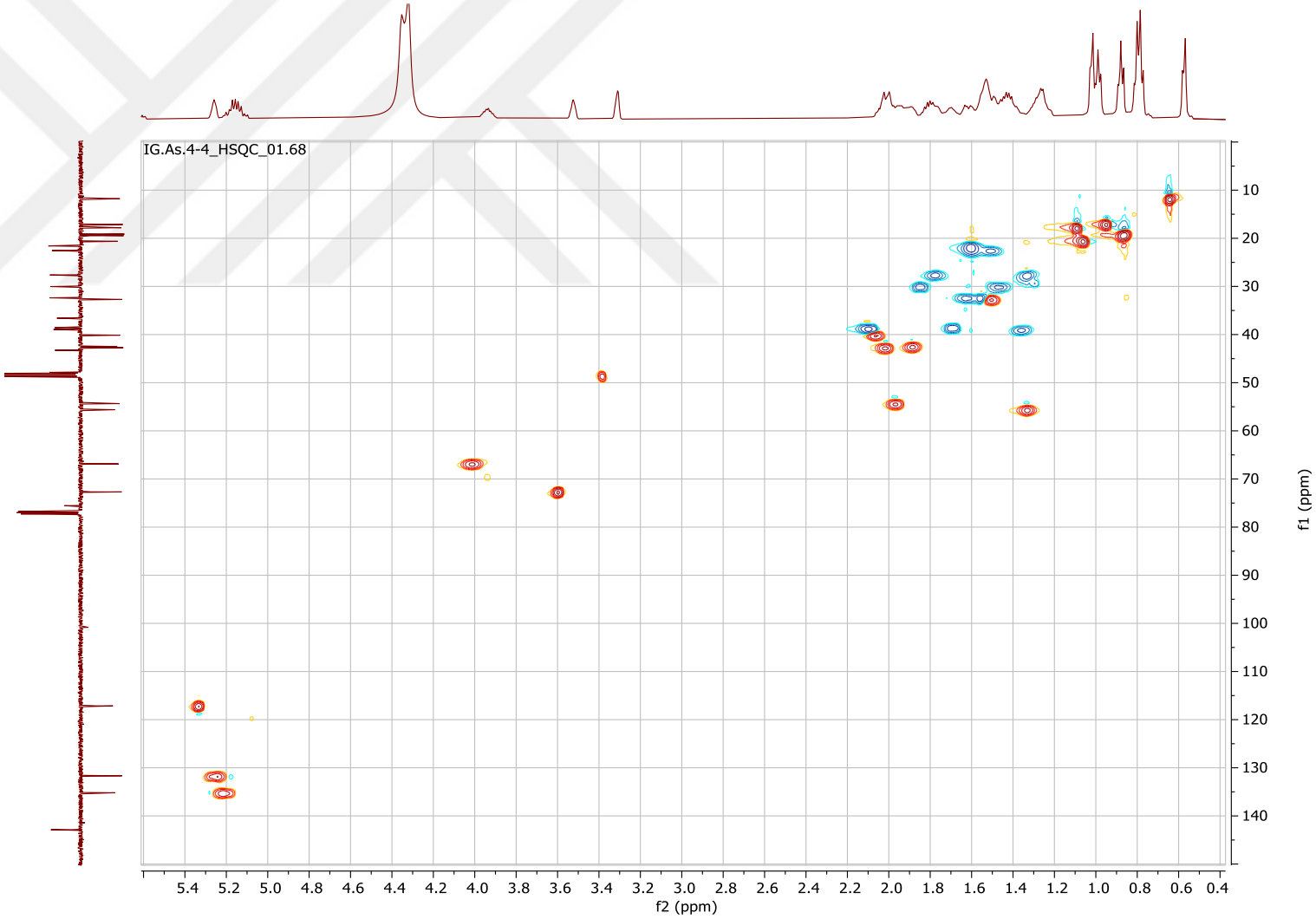
Şekil 3.248. IG.As.4.3 ve 4 (36)'ün ^{1}H-NMR spektrumu ($CDCl_3$, 500 MHz)



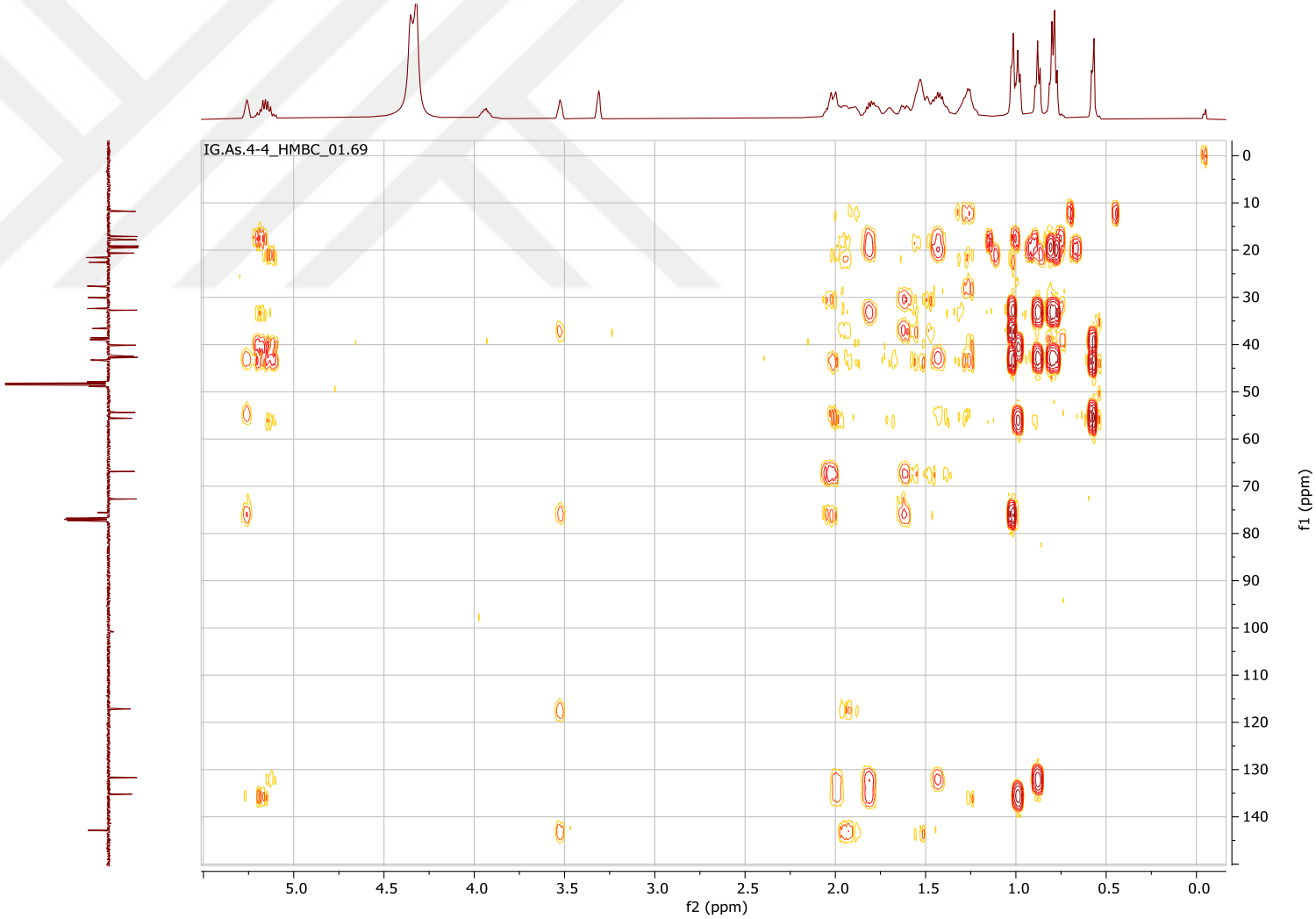
Şekil 3.249. IG.As.4.3 ve 4 (36)'ün APT spektrumu ($CDCl_3$, 125 MHz)



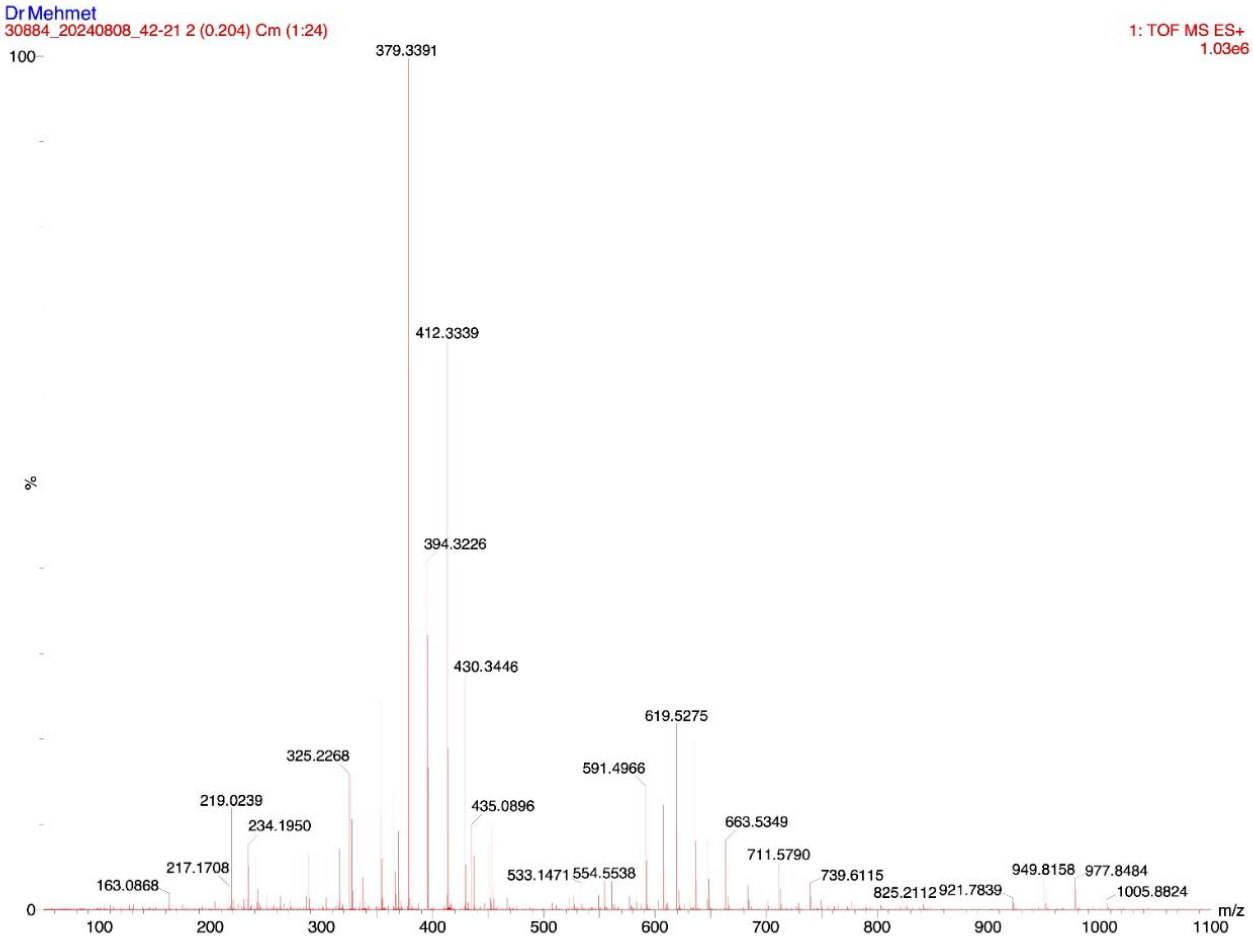
Şekil 3.250. IG.As.4.3 ve 4 (36)'ün COSY spektrumu



Şekil 3.251. IG.As.4.3 ve 4 (36)'ün HSQC spektrumu



Şekil 3.252. IG.As.4.3 ve 4 (36)'ün HMBC spektrumu



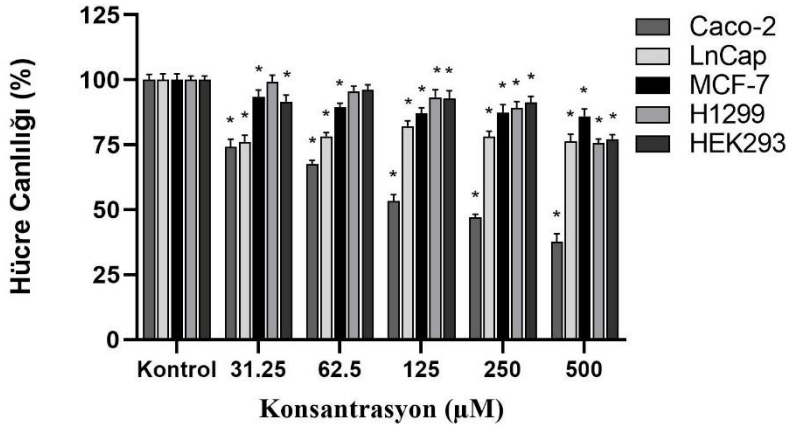
Şekil 3.253. IG.As.4.3-4 (36)'ün ESI^{+}-TOF kütle spektrumu

3.12. *I. geotropa* ve *T. scalpturatum*'dan Elde Edilen Saf Maddelerin Sitotoksik Aktivite Test Sonuçları

I. geotropa ve *T. scalpturatum* mantarından izole edilen toplam 23 bileşiğin tez çalışmasında yer alan hücre hatları üzerinde farklı konsantrasyonlarda 24 saat uygulanması sonucunda hücre canlılığının belirlenmesi amacıyla MTT metodu kullanılmış ve tüm basamaklar yöntem kısmında verilmiştir. Absorbans değerleri kullanılarak, bileşiklerin sitotoksisiteleri ve yarı maksimal etkili konsantrasyonları (EC_{50}) belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

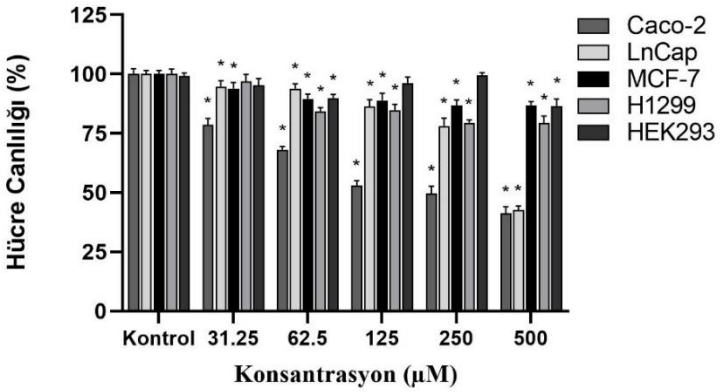
Caco-2, LnCap, MCF-7, H1299 ve HEK293 hücre hatları üzerinde, farklı konsantrasyonlarda (7,8; 15,6; 31,25; 62,5; 125; 250 ve 500 µM) uygulanan saf bileşiklerin ardından hücre canlılığına ilişkin veriler elde edilmiş; kontrol grubu %100 kabul edilerek doz gruplarındaki değişim bu temel üzerinden analiz edilmiştir. Bulgular, birbirinden bağımsız olarak gerçekleştirilen üç tekrarlı deneyin ortalamaları esas alınarak raporlanmıştır. (Şekil 3.254-3.274).

Şekil 3.254'de görüldüğü gibi, TS.As.3.1 (**1**) bileşiğinin Caco-2 kanser hücre hattına karşı belirlenen doz aralığına göre orta derecede sitotoksik etki (EC_{50}: 174,68±0,10 µg/mL) göstermiştir. İzole edilen etil oleat (**1, 2**) bileşiği, diğer kanser hücre hatlarına ve sağlıklı böbrek hücre hattına (HEK293) karşı ise etkili sitotoksik etki göstermemiştir.



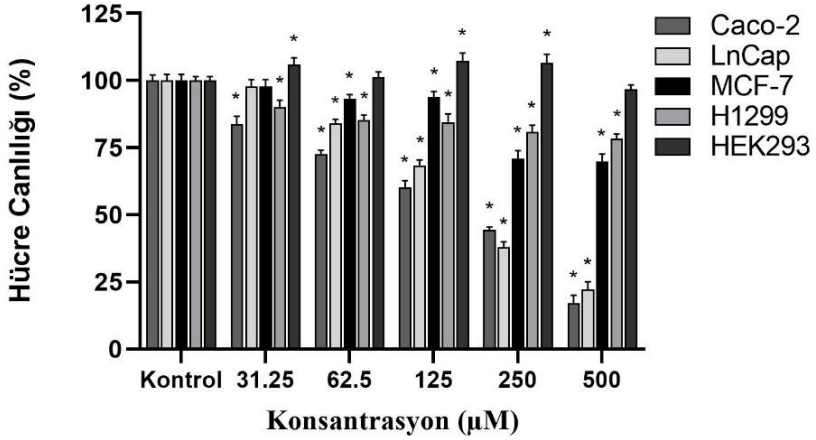
Şekil 3.254. TS.As.3.1 (1) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.255'de görüldüğü gibi, ergosta-7,24(28)-dien-3*β*-ol (TS.As.3.3 (**3**)) bileşiğinin CaCo-2 ve LnCap kanser hücre hatlarına karşı (EC_{50}: 204,65±0,09 µg/mL ve 453,26±0,10 µg/mL) düşük toksisite gösterirken; diğer kanser hücre hatlarına ve sağlıklı böbrek hücre hattına (HEK293) karşı ise etkili sitotoksik etki göstermedi.



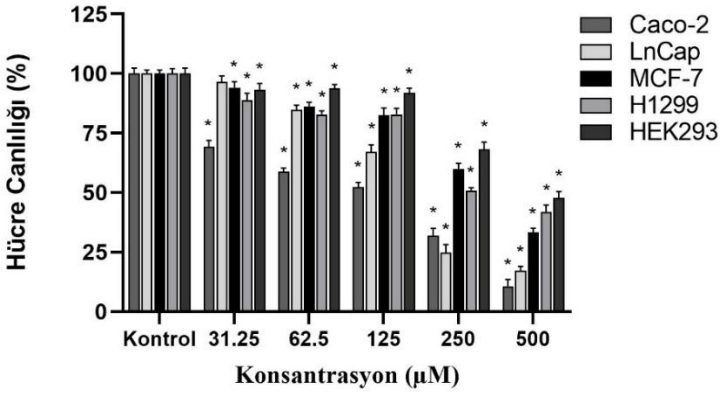
Şekil 3.255. TS.As.3.3 (3) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.256'da görüldüğü gibi, TS.As.3.5 (**5**) (*N*-(1,3,4-trihidroksikosan-2-*il*)-dokosanamid) bileşiğinin CaCo-2 (EC_{50}: 205,47±0,19 µg/mL) ve LnCap (EC_{50}:192,65±0,21 µg/mL) kanser hücre hatlarına karşı etki gösterirken; diğer kanser hücre hatlarına ve sağlıklı böbrek hücre hattına (HEK293) karşı ise etkili sitotoksik etki göstermedi.



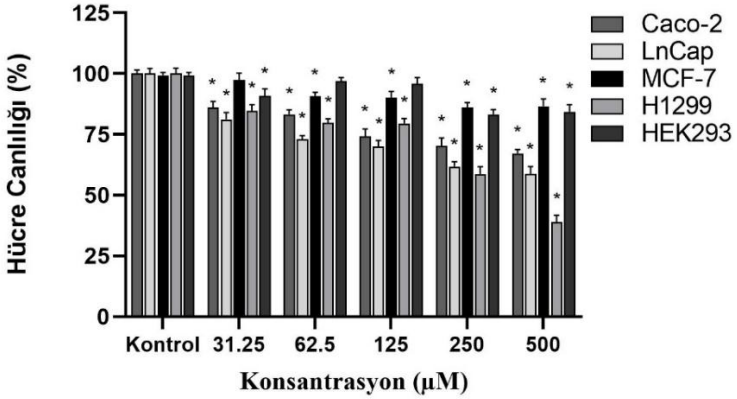
Şekil 3.256. TS.As.3.5 (5) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.257'de görüldüğü gibi, TS.As.3.6 (**6**) (oleik asit+palmitik asit) bileşiğinin CaCo-2 (EC_{50}: 99,96±0,09 µg/mL), LnCap (EC_{50}: 164,79±0,09 µg/mL), MCF-7 (EC_{50}: 341,92±0,19 µg/mL) ve H1299 (EC_{50}: 260,68±0,13 µg/mL) kanser hücre hatlarına ve sağlıklı böbrek hücre hattına (HEK293) (EC_{50}: 444,13±0,20 µg/mL) karşı sitotoksik etki göstermiştir.



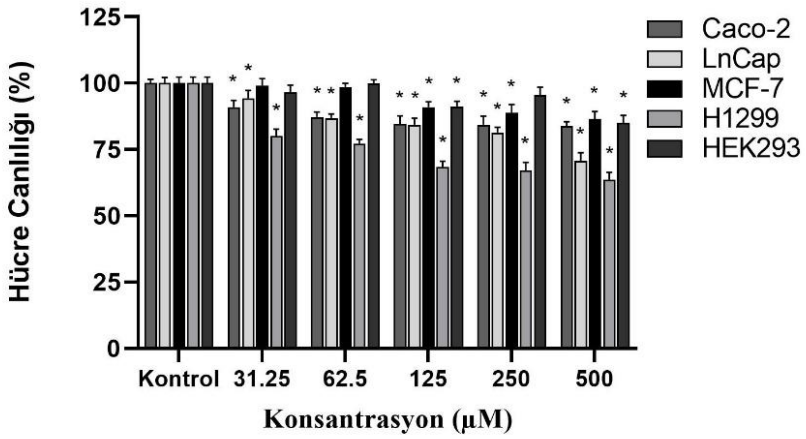
Şekil 3.257. TS.As.3.6 (6) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubundan farklı, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.258'de görüldüğü gibi, TS.As.3.7 (**7**) bileşiğinin H1299 kanser hücre hattına karşı EC_{50}: 371,04±2,05 µg/mL etki gösterirken; diğer kanser hücre hatlarına ve sağlıklı böbrek hücre hattına (HEK293) karşı ise etkili sitotoksik etki göstermedi. Çalışılan her iki mantar türünden de izole edilen oleik asit (**7**, **30**, **31**) kontrol grubuna göre düşük aktivite göstermiştir.



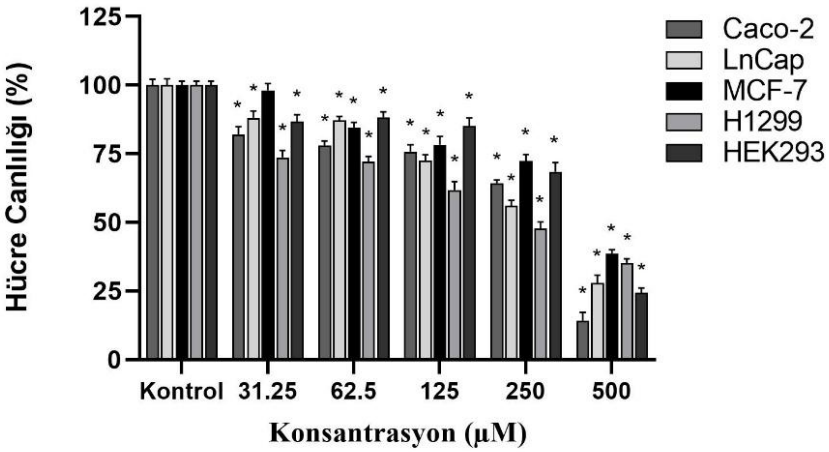
Şekil 3.258. TS.As.3.7 (7) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.259'da görüldüğü gibi, TS.As.3.8 (**8**) (3*β*-hidroksi ergosterol-5-en) bileşiğinde kontrol grubuna göre kıyasla kayda değer sitotoksik etki görülmemiştir.



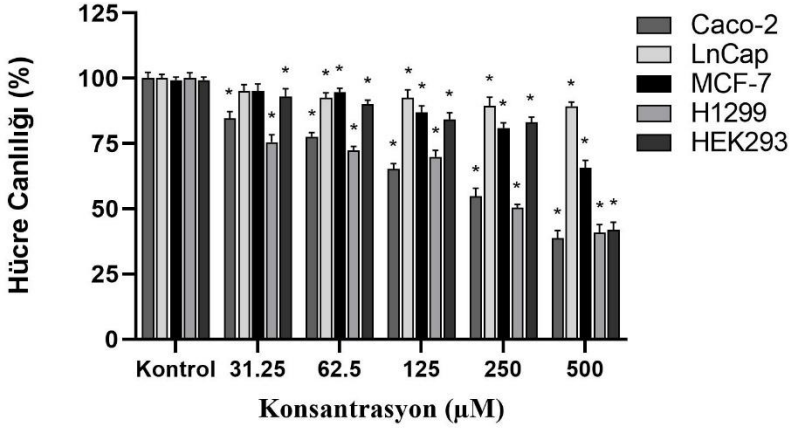
Şekil 3.259. TS.As.3.8 (8) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.260'da görüldüğü gibi, TS.As.3.9 (**9**) bileşiğinin CaCo-2 (EC_{50}: 349,48±0,09 µg/mL), LnCap (EC_{50}: 303,36±0,09 µg/mL), MCF-7 (EC_{50}: 425,26±0,19 µg/mL) ve H1299 (EC_{50}: 239,55±0,13 µg/mL) kanser hücre hatlarına ve sağlıklı böbrek hücre hattına (HEK293) (EC_{50}: 370,84±0,20 µg/mL) karşı sitotoksik etki göstermiştir. Çalışılan her iki mantar türünden de izole edilen ergosta-5,22-dien 3*β*-ol (**9**, **10**, **28**) bileşiği kontrol grubuna göre düşük aktivite göstermiştir.



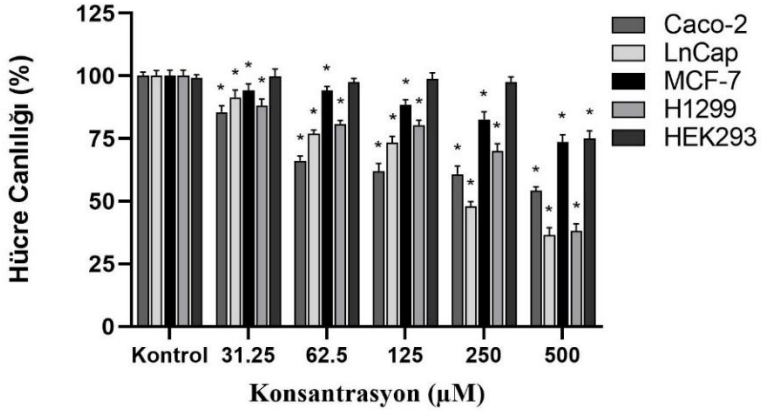
Şekil 3.260. TS.As.3.9 (9) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.261'de görüldüğü gibi, TS.As.3.11 (**11**) bileşiğinin CaCo-2 (EC_{50}: 326,42±1,10 µg/mL) ve H1299 (EC_{50}: 317,61±0,03 µg/mL) kanser hücre hatlarına ve sağlıklı böbrek hücre hattına (HEK293) (EC_{50}: 460,31±2,20 µg/mL) karşı sitotoksik etki göstermiştir. İzole edilen ergosta-5,22 dienil 3-*O*-*β*-tetradekanoat bileşiği kontrol grubuna göre düşük aktivite göstermiştir.



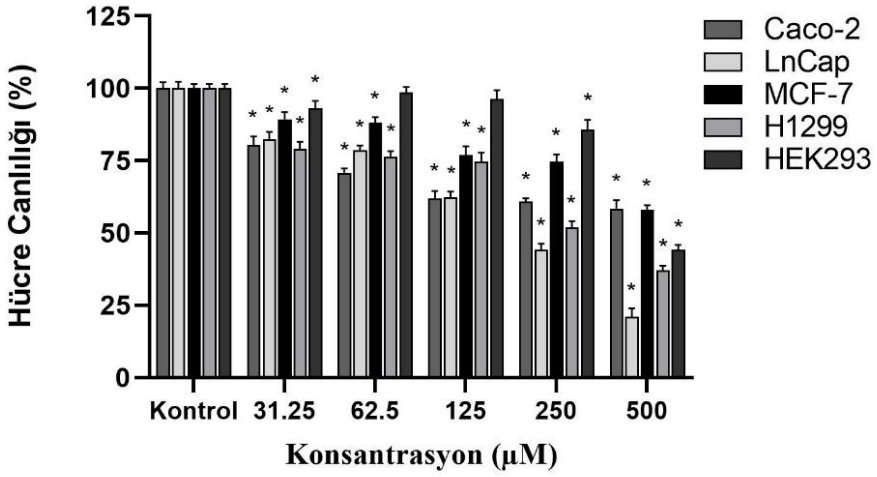
Şekil 3.261. TS.As.3.11 (11) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.262'de görüldüğü gibi, TS.As.4.2 (**13**) bileşiğinin LnCap (EC_{50}: 246,59±0,40 µg/mL) ve H1299 (EC_{50}: 423,32±0,33 µg/mL) kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik etki göstermiştir. İzole edilen 3,4-dihidroksi benzaldehit bileşiği kontrol grubuna göre düşük aktivite göstermiştir.



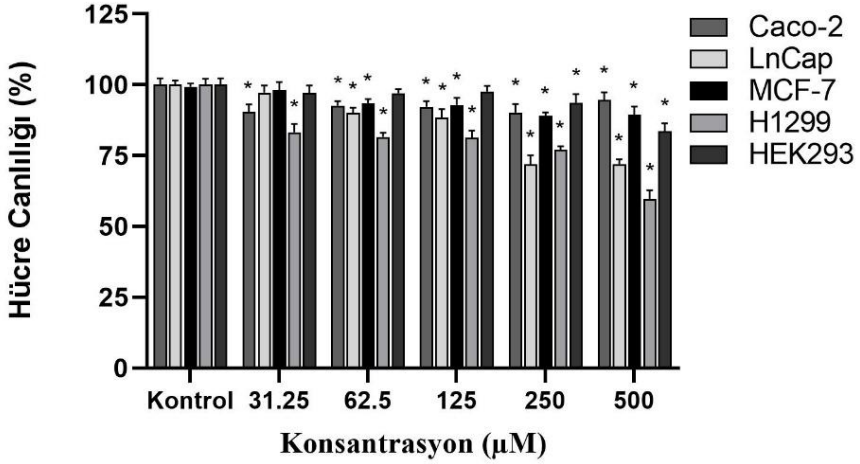
Şekil 3.262. TS.As.4.2 (13) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubundan farklı, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.263'de görüldüğü gibi, TS.As.4.3 (**14**) bileşiğinin LnCap (EC_{50}: 209,56±0,29 µg/mL) ve H1299 (EC_{50}: 305,54±2,13 µg/mL) kanser hücre hatlarına ve sağlıklı böbrek hücre hattına (HEK293) (EC_{50}: 469,66±3,20 µg/mL) karşı sitotoksik etki göstermiştir. 4-(3,4-dihidroksifenil)-3-büten-2-on (**14**, **15**) bileşiği kontrol grubuna göre düşük aktivite göstermiştir.



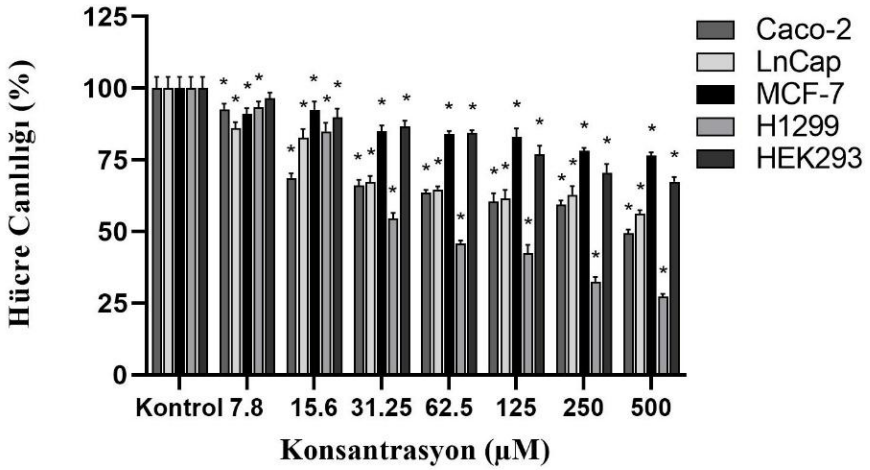
Şekil 3.263. TS.As.4.3 (14) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.264'de görüldüğü gibi, TS.As.4.5 (**16**) (*trans* sinnamik asit) bileşiğinde kontrol grubuna göre kıyasla kayda değer sitotoksik etki görülmemiştir.



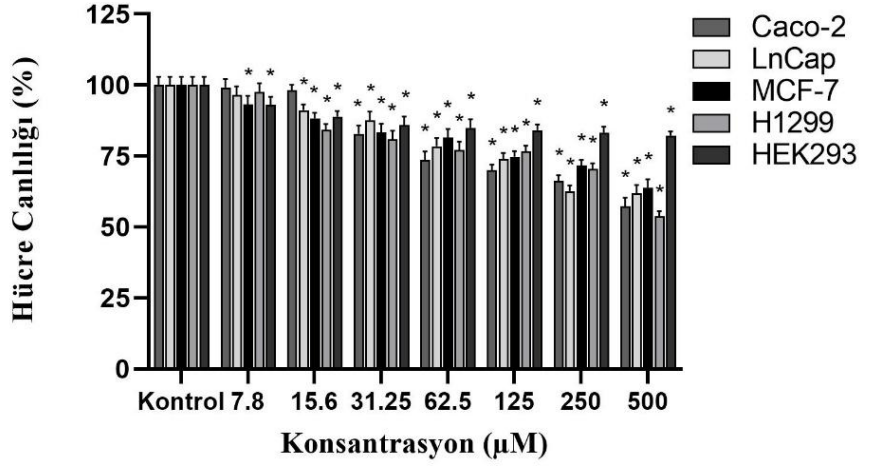
Şekil 3.264. TS.As.4.5 (16) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.265'de görüldüğü gibi, TS.As.7.2 (**20**) bileşiğinin CaCo-2 (EC_{50}: 475,10±0,30 µg/mL) ve H1299 (EC_{50}: 50,14±2,33 µg/mL) kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik etki göstermiştir. İzole edilen 5*α*,9*α*-epoksi ergosta-7,22-dien 3*β*,6*β*-diol bileşiği H1299 kanser hücre hattında kontrol grubuna göre yüksek aktivite göstermiştir.



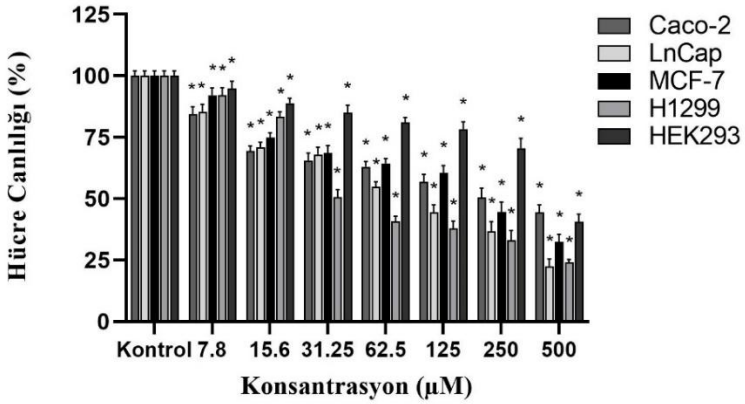
Şekil 3.265. TS.As.7.2 (20) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.266'da görüldüğü gibi, TS.As.8.1 (**21**) (*N*-[3-hidroksi, 9-metil-1-glukopiranozil, aykosa-4,8-dienil]-2-hidroksi hekzadesenamit) bileşiğinde kontrol grubuna göre kıyasla kayda değer sitotoksik etki görülmemiştir.



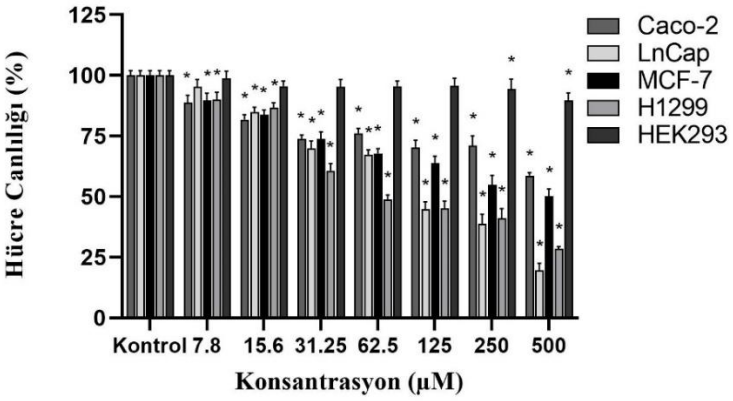
Şekil 3. 266. TS.As.8.1 (21) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.267'de görüldüğü gibi, IG.As.3.3 (**24**) bileşiğinin CaCo-2 (EC_{50}: 334,12±1,25 µg/mL), LnCap (EC_{50}: 72,1±0,09 µg/mL), MCF-7 (EC_{50}: 224,72±0,59 µg/mL) ve H1299 (EC_{50}: 42,33±0,33 µg/mL) kanser hücre hatlarına ve sağlıklı böbrek hücre hattına (HEK293) (EC_{50}: 431,37±0,20 µg/mL) karşı sitotoksik etki göstermiştir. İzole edilen ergosta-5,22-dien-3*β*-il-monokosanoat bileşiği LnCap ve H1299 hücre hatlarında kontrol grubuna göre daha iyi aktivite göstermiştir.



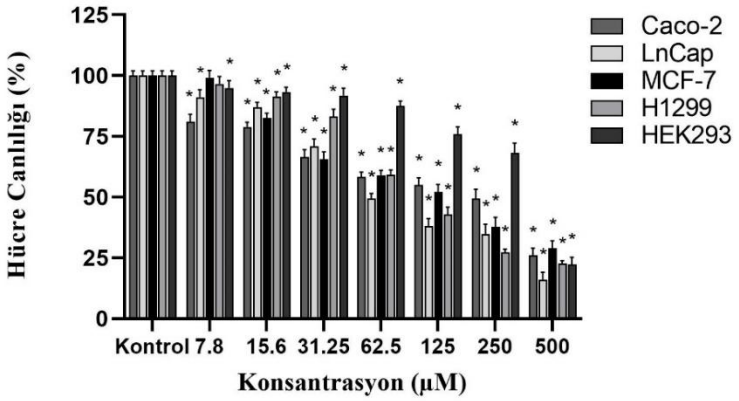
Şekil 3. 267. IG.As.3.3 (24) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.268'de görüldüğü gibi, IG.As.3.4 (**25**) bileşiğinin LnCap (EC_{50}: 122,17±0,40 µg/mL) ve H1299 (EC_{50}: 58,25±1,33 µg/mL) kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik etki göstermiştir. İzole edilen ergosta-5,22-dien 3*β*-*ol*-oktanat bileşiği H1299 kanser hücre hattında kontrol grubuna göre daha yüksek aktivite göstermiştir.



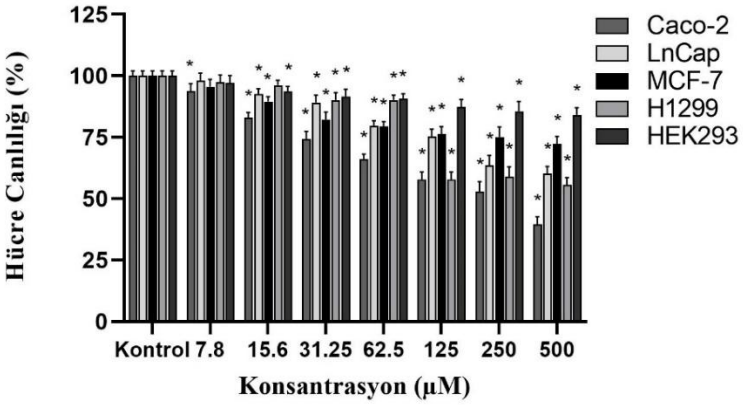
Şekil 3. 268. IG.As.3.4 (25) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.269'da görüldüğü gibi, IG.As.3.6 (**27**) bileşiğinin CaCo-2 (EC_{50}: 248,43±2,18 µg/mL), LnCap (EC_{50}: 55,35±2,09 µg/mL), MCF-7 (EC_{50}: 128,55±3,19 µg/mL) ve H1299 (EC_{50}: 100,55±0,13 µg/mL) kanser hücre hatlarına ve sağlıklı böbrek hücre hattına (HEK293) (EC_{50}: 350,88±5,20 µg/mL) karşı sitotoksik etki göstermiştir. İzole edilen ergosta-4,6,8(14)-22-tetraen-3-on (**26**, **27**) bileşiğinin LnCap kanser hücre hattında yüksek; H1299 kanser hücre hattında kontrol grubuna yakın aktivite göstermiştir.



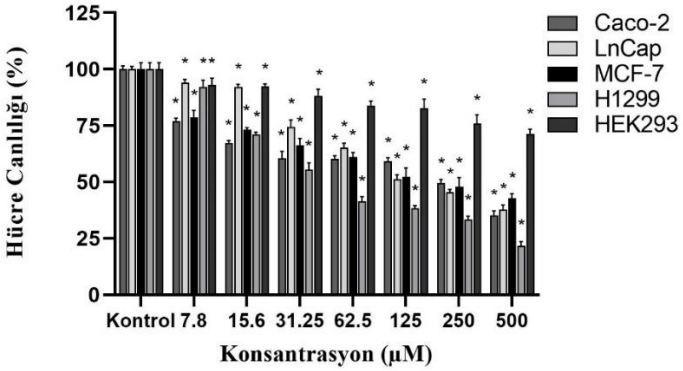
Şekil 3. 269. IG.As.3.6 (27) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.270'de görüldüğü gibi, IG.As.3.8 (**29**) bileşiğinin CaCo-2 (EC_{50}: 309,82±5,18 µg/mL) kanser hücre hattına sitotoksik etki göstermiştir. İzole edilen urasil bileşiği kontrol grubuna göre daha düşük aktivite göstermiştir.



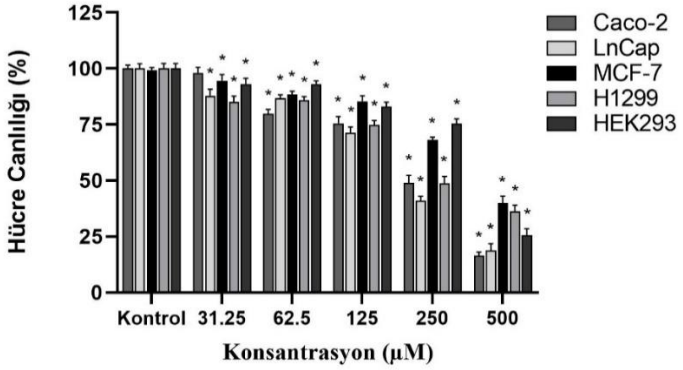
Şekil 3. 270. IG.As.3.8 (29) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.271'de görüldüğü gibi, IG.As.3.11 (**32**) bileşiğinin CaCo-2 (EC_{50}: 242,96±2,08 µg/mL), LnCap (EC_{50}: 162,31±2,11 µg/mL), MCF-7 (EC_{50}: 222,45±1,19 µg/mL) ve H1299 (EC_{50}: 41,94±0,10 µg/mL) kanser hücre hatlarına sitotoksik etki gösterirken; sağlıklı böbrek hücre hattına karşı sitotoksik etki göstermemiştir. İzole edilen miristik asit (**32**) bileşiği, H1299 kanser hücre hattında kontrol grubuna göre daha yüksek aktivite göstermiştir.



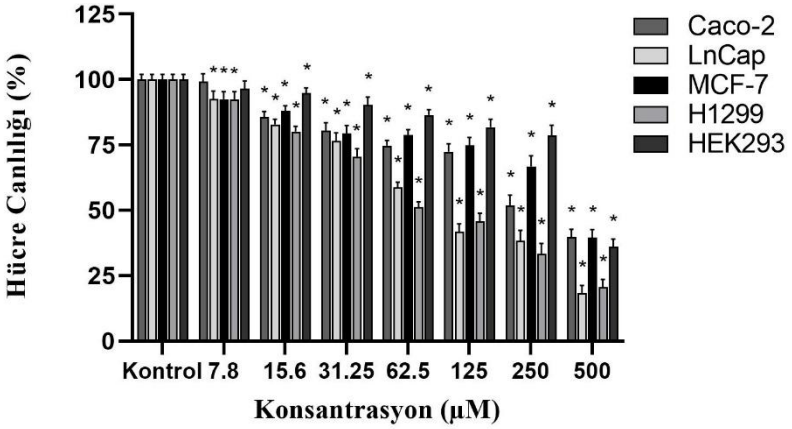
Şekil 3. 271. IG.As.3.11 (32) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.272'de görüldüğü gibi, IG.As.3.12 (**33**) bileşiğinin CaCo-2 (EC_{50}: 245,64±3,01 µg/mL), LnCap (EC_{50}: 204,03±0,05 µg/mL), MCF-7 (EC_{50}: 415,14±0,12 µg/mL) ve H1299 (EC_{50}: 245,94±1,17 µg/mL) kanser hücre hatlarına ve sağlıklı böbrek hücre hattına (HEK293) (EC_{50}: 391,26±2,14 µg/mL) karşı sitotoksik etki göstermiştir. Çalışılan her iki mantar türünden de izole edilen ergesterol peroksit (**4**, **12**, **17**, **22**, **23**, **33**) bileşiği kontrol grubuna göre daha düşük aktivite göstermiştir.



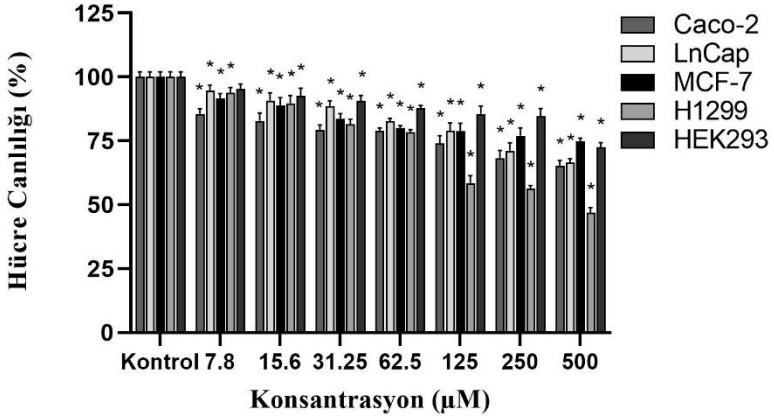
Şekil 3. 272. IG.As.3.12 (33) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.273'de görüldüğü gibi, IG.As.3.13 (**34**) bileşiğinin CaCo-2 (EC_{50}: 328,58±2,11 µg/mL), LnCap (EC_{50}: 100,69±0,07 µg/mL), MCF-7 (EC_{50}: 417,55±1,12 µg/mL) ve H1299 (EC_{50}: 73,86±1,10 µg/mL) kanser hücre hatlarına ve sağlıklı böbrek hücre hattına (HEK293) (EC_{50}: 426,73±2,44 µg/mL) karşı sitotoksik etki göstermiştir. İzole edilen 2,3-dihidroksipropil-1-oleat (**34**) bileşiği H1299 kanser hücre hattına karşı yüksek; LnCap hücre hattında kontrol grubuna göre yüksek aktivite göstermiştir.



Şekil 3. 273. IG.As.3.13 (34) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, $p \leq 0,05$)

Şekil 3.274'de görüldüğü gibi, IG.As.4.4 (**36**) bileşiğinin H1299 (EC_{50}: 357,07±3,22 µg/mL) kanser hücre hattına karşı sitotoksik etki göstermiştir. Çalışılan her iki mantar türünden de izole edilen serevisterol (**19**, **36**) bileşiği kontrol grubuna göre düşük aktivite göstermiştir.



Şekil 3. 274. IG.As.4.4 (36) bileşiğinin sitotoksisite sonuçları (*: Kontrol grubuna göre anlamlı fark, $p \leq 0,05$)

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmada, Türkiye'de doğal olarak yetişen yenilebilir *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* türlerine ait mantar örneklerinden petrol eteri, aseton ve metanol çözücüleri kullanılarak elde edilen; ekstrelerin antioksidan, antikolinesteraz, antidiyabetik, timidin fosforilaz (TP) enzimi inhibisyonu, sitotoksik ve apoptotik aktiviteleri, madde izolasyonu, yapı aydınlatması çalışmaları bu tez çalışmasında detaylı olarak çalışıldı.

Ekstrelerin antioksidan aktivitesi spektroskopik olarak ABTS katyon radikali giderimi, CUPRAC, *β*-karoten renk açılım ve DPPH serbest radikali giderimi yöntemleri *in vitro* metotlar kullanılarak belirlendi. Sitotoksik aktivite *in vitro* hücre kültürü ortamında LnCap, H1299, MCF-7 ve Caco-2 hücre hatlarına karşı belirlendi. HEK293 hücre hattı ise kontrol olarak kullanıldı.

Aktivitesi yüksek olan *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* mantarının aseton fraksiyonları silika jel adsorban üzerinden fraksiyonlandırıldı. Doğal ürün araştırmalarında yaygın olarak kullanılan aktivite kontrollü izolasyon, kromatografik saflaştırma ve spektroskopik yapı aydınlatma teknikleri kullanıldı.

Antioksidan analizlerde (DPPH, ABTS, CUPRAC, *β*-karoten renk açılımı), özellikle her iki mantarın metanol ve aseton ekstrelerinin orta düzeyde aktivite gösterdiği belirlendi. *I. geotropa*'nın metanol ekstresi, ABTS testinde IC_{50} değeri 75,03 µg/mL ile en yüksek antioksidan etkiyi gösterdi. Elde edilen veriler, bu türlerin düşük fakat kayda değer düzeyde antioksidan potansiyel taşıdığını göstermektedir.

Enzim inhibisyon analizlerinde, timidin fosforilaz inhibisyonu açısından özellikle *I. geotropa* petrol eteri ekstresinin (%74,9 inhibisyon) ve *T. scalpturatum* aseton ekstresinin (%54,8 inhibisyon) yüksek aktivite gösterdiği izlendi. Bu bulgu, çalışılan mantar ekstrelerinin metastazla ilişkili bu enzimi inhibe etme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

T. scalpturatum ve *I. geotropa*'nın petrol eteri ve aseton ekstreleri kanser hücre hatlarında farklı sitotoksik aktivite göstermiştir. Özellikle *T. scalpturatum*'un aseton

ekstresi Caco-2 hücre hattına karşı EC_{50} değeri 46,86 µg/mL ile en yüksek aktivite gösterirken***;*** ***I. geotropa'nın*** petrol eteri ekstresi LnCap hücre hattında EC_{50} değeri 63,19 µg/mL'dır. Tüm fraksiyonların HEK293 sağlıklı hücre hattına karşı toksik olmadığı belirlendi. Bu da seçici toksisiteleri açısından önem arz etmektedir.

Apoptoz analizleri üç farklı yaklaşımla incelendi. Annexin-V/PI boyama yöntemi ile yapılan analizlerde, seçili mantar ekstrelerinin Caco-2 ve MCF-7 hücrelerinde apoptotik hücre yüzdelerinde anlamlı artışa neden olduğu belirlendi. Gen ekspresyon analizlerinde pro-apoptotik genlerin (BAX, kaspaz 3, kaspaz 8, kaspaz 9) ekspresyon seviyelerinde artış, anti-apoptotik BCL-2 geninde ise azalma saptandı. Western blot analizleri, bu genetik bulguları destekler nitelikte olup, protein düzeylerinde paralel değişimlerin gerçekleştiğini gösterdi. Bu bulgular, mantar ekstraktlarının kanser tedavisinde değerlendirilebileceğine işaret etmektedir.

Tez çalışmasında *T. scalpturatum* aseton ekstresinden 21 adet; *I. geotropa* aseton ekstresinden 15 adet olmak üzere toplamda 36 madde (1-36) saflaştırıldı ve yapıları spektroskopik yöntemlerle belirlendi. Çizelge 4.1'de iki mantar türünden izole edilen maddelerin kodları, yapıları ve sitotoksik aktivite sonuçları verilmektedir.

Tez çalışmasınddan elde edilen, etil oleate (**1, 2**), ergosta-7,24(28)-dien-3*β*-ol (**3**), ergesterol peroksit (**4, 12, 17, 22, 23, 33**), *N*-(1,3,4-trihidroksikosan-2-*il)* dokosanamid (**5**), palmitik asit, oleik asit karışımı (**6**), oleik asit (**7, 30, 31**), 3*β*-hidroksi ergosterol-5-en (**8**), ergosta-5,22-dien 3*β*-ol (**9, 10, 28**), ergosta-5,22-dien-*il*-tetradekanoat (**11**), 3,4-dihidroksi benzaldehit (**13**), 4-(*3,4*-dihidroksifenil)-3-büten-2-on (**14, 15**), *trans* sinnamik asit (**16**), palmitik asit (**18**), serevisterol (**19, 36**), 5*α*,9*α*-epoksiergosta-7,22-dien-3*β*,6*β*-diol (**20**), *N*-[3-hidroksi, 9-metil-1-glukopiranozil, aykosa-4,8-dienil]-2-hidroksi hekzadesenamit (**21**), ergosta-5,22-dien-*il*-monokosanoat (**24**), ergosta-5,22-dien-*il*-oktanat (**25**), ergosta-4,6,8(14)-22-tetraen-3-on (**26, 27**), urasil (**29**), miristik asit (**32**), 2,3-dihidroksipropil-1-oleat (**34**), 5*α*,6*α*-epoksi ergosta-7,22-dien-3*β*-ol (**35**) yapısı aydınlatılan maddelerdir. Bu maddeler hem literatürde bilinen hem de farmakolojik etkileri raporlanmış sekonder metabolitlerdir.

I. geotropa ve *T. scalpturatum* mantarlarından saf bileşiklerin izolasyonu yapıldı. Saf bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri, bu tez çalışması ile detaylı olarak tarafımızdan incelendi. Ekstrelerin biyoaktivite sonuçlarına göre, aseton fraksiyonlarından izole

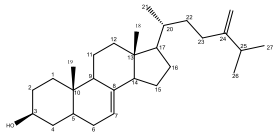
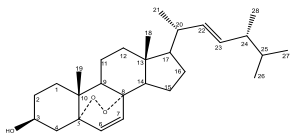
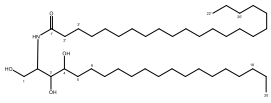
edilen toplam 36 bileşik içerisinden, 23 farklı maddenin yapısal tanımlamaları gerçekleştirildi. Tanımlanan bileşikler arasında 17 adet ergostan tipi steroid, 2 oleat türevi, 6 doymamış yağ asidi, 1 ester, 1 seramid, 1 serebrosit, 1 urasil türevi ve 4 fenolik bileşik yer almaktadır.

Ergosta-5,22-dien-il-monokosanoat (**24**), özellikle H1299 akciğer kanseri hücre hattında 42.33 µg/mL, LnCap hücrelerinde 72.1 µg/mL ve MCF-7 hattında 224.72 µg/mL EC_{50} değeri ile yüksek aktivite göstermiştir. Ergosterol türevleri, literatürde apoptotik mekanizmaları indükleyerek antikanser etki gösterdiği bilinen bileşikler arasında yer almaktadır (Zhang vd, 2018). Ergosta-4,6,8(14)-22-tetraen-3-on bileşiği (**26**, **27**) LnCap hattında 55.35 µg/mL, MCF-7'de 128.55 µg/mL ve H1299'da 100.55 µg/mL EC_{50} değerleri ile güçlü sitotoksik etki göstermiştir. Bu bileşik yapısında yer alan çoklu çift bağlar, membran destabilizasyonuna neden olarak sitotoksisiteyi artırabilir. Miristik asit (**32**), H1299 hücrelerinde 41.94 µg/mL ile en düşük EC_{50} değerine sahip bileşiklerden biri olup, bu zincirli yağ asidi türevinin hücre içi metabolizmaları etkileyerek apoptozu tetikleyebileceği düşünülmektedir (Lee vd, 2019). Ergosta-5,22-dien-*il*-oktanat (**25**) ve 2,3-dihidroksipropil-1-oleat (**34**) gibi ester yapılar, H1299 hattında sırasıyla 58,24 µg/mL ve 73,86 µg/mL EC_{50} değerleri ile orta düzeyde sitotoksik aktivite göstermiştir.

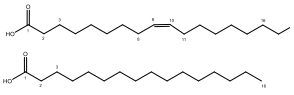
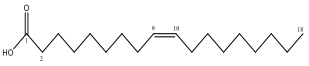
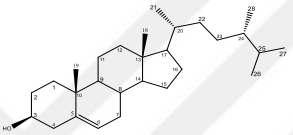
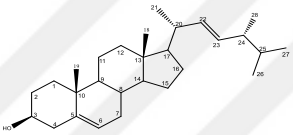
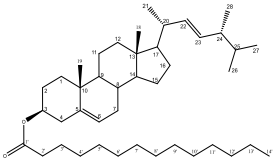
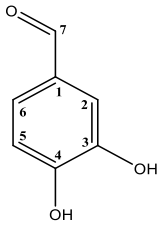
Oleik asit + Palmitik asit karışımı (**6**), özellikle Caco-2 hücre hattında 99.96 µg/mL EC_{50} değeri ile etkili bulunmuştur. Bu bileşiklerin kombinasyonlarının literatürde hücre zarında akışkanlığı değiştirerek apoptoz sinyali oluşturduğu bildirilmektedir (Kim vd, 2020). 3β-hidroksi ergosterol-5-en (**8**), trans sinnamik asit (**16**) ve *N*-[3-hidroksi, 9-metil-1-glukopiranozil, aykosa-4,8-dienil]-2-hidroksi hekzadesenamit (**21**) gibi bileşikler tüm hücre hatlarında düşük veya ihmal edilebilir düzeyde etki göstermiştir. HEK293 hücre hattında, ergosta-5,22-dien-*il*-monokosanoat (**24**), ergosta-4,6,8(**14**)-22-tetraen-3-on (**26, 27**), palmitik asit, oleik asit karışımı (**6**), ergosta-5,22-dien-*il*-tetradekanoat (**11**), 4-(*3,4*-dihidroksifenil)-3-büten-2-on (**14, 15**), 2,3-dihidroksipropil-1-oleat (**34**) bileşiklerinin EC_{50} değerlerinin oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durum, söz konusu bileşiklerin sağlıklı hücreler üzerinde düşük toksisiteye sahip olduğunu ve dolayısıyla seçici sitotoksik potansiyele sahip adaylar olabileceklerini göstermektedir.

Bu çalışmada, *I. geotropa* ve *T. scalpturatum* türlerinden izole edilen doğal bileşiklerin bir kısmının, özellikle sterol türevleri ve yağ asidi esterlerinin, çeşitli insan kanser hücre hatları üzerinde anlamlı düzeyde sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. Literatürde, doğal sterol türevlerinin hücre zarının bütünlüğünü bozarak veya apoptoz yolaklarını aktive ederek antikanser etkiler gösterebildiği bildirilmektedir (Zhang vd, 2018; Kim vd, 2020). Benzer şekilde, doymamış ve orta zincirli yağ asitlerinin de mitokondriyal bozulma, oksidatif stres artışı ve hücre içi sinyal yolları üzerindeki etkileri ile sitotoksik aktiviteye katkı sağladığı bilinmektedir (Lee vd, 2019).

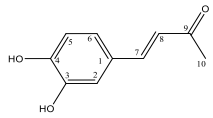
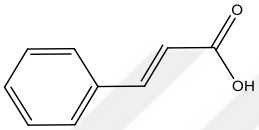
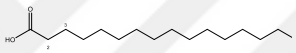
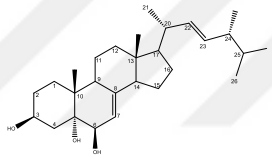
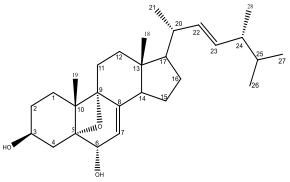
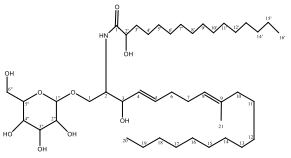
Çizelge 4.1. Tez çalışmasında *Tricholoma scalpturatum* ve *Infundibulicybe geotropa* mantarlarının aseton ekstresinden izole edilen bileşiklerin yapısı, adları ve sitotoksik aktivitelerinin sonuçları

No	Kod	İzole edilen maddeler	Sitotoksik Aktivite				
			Caco-2 EC_{50} (µg/mL)	**LnCap** EC_{50} (µg/mL)	**MCF-7** EC_{50} (µg/mL)	**H1299** EC_{50} (µg/mL)	**HEK293** EC_{50} (µg/mL)
1	TS.As.3.1 (**1**) TS.As.3.2 (**2**)	 Etil oleat	174,68	*	*	*	*
2	TS.As.3.3 (**3**)	 Ergosta-7,24(28)-dien 3β-ol	204,65	453,26	*	*	*
3	TS.As.3.4 (**4**) TS.As.4.1 (**12**) TS.As.4G.6 (**17**) IG.As.3.1 (**22**) IG.As.3.2 (**23**) IG.As.3.12 (**33**)	 Ergesterol peroksit	245,64	204,03	415,14	245,94	391,26
4	TS.As.3.5 (**5**)	 *N*-(1,3,4-trihidroksikosan-2-il) dokosanamid	205,47	192,65	*	*	*

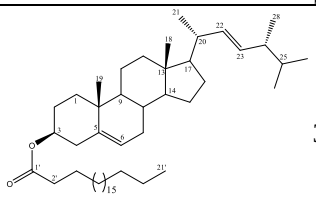
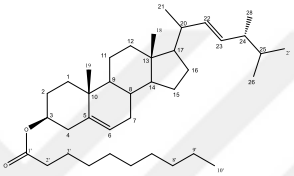
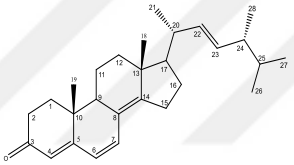
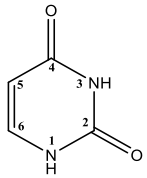
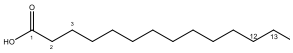
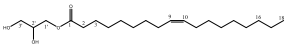
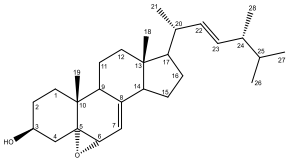
Çizelge 4.1. (devam)

No	Kod	İzole edilen maddeler	Sitotoksik Aktivite				
			Caco-2 EC_{50} (µg/mL)	**LnCap** EC_{50} (µg/mL)	**MCF-7** EC_{50} (µg/mL)	**H1299** EC_{50} (µg/mL)	**HEK293** EC_{50} (µg/mL)
5	TS.As.3.6 (**6**)	 Oleik asit+Palmitik asit karışımı	**99,96**	164,79	341,92	260,68	444,13
6	TS.As.3.7 (**7**) IG.As.3.9 (**30**) IG.As.3.10 (**31**)	 Oleik asit	*	*	*	371,04	*
7	TS.As.3.8 (**8**)	 3*β*-hidroksi ergosterol-5-en	*	*	*	*	*
8	TS.As.3.9 (**9**) TS.As.3.10 (**10**) IG.As.3.7 (**28**)	 Ergosta-5,22-dien 3*β*-*ol*	349,48	303,36	425,26	239,55	370,84
9	TS.As.3.11 (**11**)	 Ergosta-5,22-dien-il-3-*O*-*β* tetradekanoat	326,42	*	*	317,61	460,31
10	TS.As.4.2 (**13**)	 3,4-dihidroksi benzaldehit	*	246,59	*	423,32	*

Çizelge 4.1. (devam)

No	Kod	İzole edilen maddeler	Sitotoksik Aktivite				
			Caco-2 EC_{50} (µg/mL)	**LnCap** EC_{50} (µg/mL)	**MCF-7** EC_{50} (µg/mL)	**H1299** EC_{50} (µg/mL)	**HEK293** EC_{50} (µg/mL)
11	TS.As.4.3 (**14**) TS.As.4.4 (**15**)	 4-(3,4-dihidroksifenil)-3-büten-2-on	*	209,56	*	305,54	469,66
12	TS.As.4.5 (**16**)	 *trans* sinnamik asit	*	*	*	*	*
13	TS.As.4.7 (**18**)	 Palmitik asit					
14	TS.As.7.1 (**19**) IG.As.4.3 ve 4 (**36**)	 Serevisterol	*	*	*	357,07	*
15	TS.As.7.2 (**20**)	 5α,9α-epoksi ergosta-7,22-dien 3β,6β -diol	475,10	*	*	**50,14**	*
16	TS.As.8.1 (**21**)	 *N*-[3-hidroksi, 9-metil-1-glukopiranozil, aykosa-4,8-dienil]-2-hidroksi hekzadesenamit	*	*	*	*	*

Çizelge 4.1. (devam)

No	Kod	İzole edilen maddeler	Sitotoksik Aktivite				
			Caco-2	**LnCap**	**MCF-7**	**H1299**	**HEK293**
			EC_{50} (µg/mL)	EC_{50} (µg/mL)	EC_{50} (µg/mL)	EC_{50} (µg/mL)	EC_{50} (µg/mL)
17	IG.As.3.3 (**24**)	 Ergosta-5,22-dien-*il*-monokosanoat	334,12	**72,1**	224,72	**42,329**	431,37
18	IG.As.3.4 (**25**)	 Ergosta-5,22-dien-*il*-oktanat	*	**122,17**	*	**58,25**	*
19	IG.As.3.5 (**26**) IG.As.3.6 (**27**)	 Ergosta-4,6,8(14)-22-tetraen-3-on	248,43	**55,35**	128,55	**100,55**	350,88
20	IG.As.3.8 (**29**)	 Urasil	309,82	*	*	*	*
21	IG.As.3.11 (**32**)	 Miristik asit	242,96	162,31	222,45	**41,94**	*
22	IG.As.3.13 (**34**)	 2,3-dihidroksipropil-1-oleat	328,58	**100,69**	417,55	**73,86**	426,73
23	IG.As.4.1 ve 2 (**35**)	 5*α*,6*α*-epoksi ergosta-7,22-dien, 3*β*-ol	*	*	391,14	225,94	*

Doktora tez çalışması kapsamında, *T. scalpturatum* ve *I. geotropa* türlerinden elde edilen sekonder metabolitlerin antioksidan, enzim inhibisyon ve sitotoksik etkilerinin çok yönlü olarak değerlendirildiği ilk kapsamlı araştırmalardan biri olup, özellikle antikanser potansiyelleri açısından literatüre önemli katkılar sunmaktadır. Elde edilen sonuçlar, her iki türün farklı kanser hücre hatları üzerinde sitotoksik etki gösterdiğini, sağlıklı hücre hattında ise daha düşük toksisiteye göstererek seçici öldürücü özellik taşıdığını ortaya koymuştur. Bununla birlikte, her iki türe ait ekstraktların timidin fosforilaz enzimi üzerinde anlamlı düzeyde inhibitör etki gösterdiği. Yapısal olarak tanımlanan ergosta-5,22-dien-*il*-monokosanoat (**24**), ergosta-4,6,8(14)-22-tetraen-3-on (**26, 27**), miristik asit (**32**),2,3-dihidroksipropil-1-oleat (**34**) bileşikleri, sahip oldukları biyolojik aktiviteler ve yapısal özellikleri nedeniyle antikanser potansiyelleri açısından umut vadetmektedir. Bu nedenle, ileriye dönük olarak bu maddelerin *in vivo* biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi ve yapısal optimizasyonlarının yapılması önem arz etmektedir.

5. KAYNAKLAR

Akata, I., Altuntaş, D. ve Kabaktepe, Ş. (2019) Fungi determined in Ankara University Tandoğan Campus Area (Ankara-Turkey), Trakya Universitesi, *J Nat Sci*, 20 (1): 47-55.

Akata, I., Ergonul, B. ve Kalyoncu, F. (2012) Chemical compositions and antioxidant activities of 16 wild edible mushroom species grown in Anatolia, *Inter J Pharm*, 8 (2), 134-138.

Akata, I., Kalyoncu, F., Solak, M.H. ve Kalmış, E. (2012) Growth of mycelium of three ectomycorrhizal macrofungi, *Infundibulicybe geotropa*, *Tricholoma anatolicum* and *Lactarius deliciosus* in culture media containing various carbon sources, *African J. Micro. Res*, 6 (12). doi: 10.5897/ajmr12.196.

Akyüz, E. (2011) *Digitalis ferruginea* ssp. schischkinii ve bazı endemik Digitalis türlerinin ekstratlarında mevcut kardiyak glikozitleri ve fenolik bileşiklerin kromatografik yöntemlerle belirlenmesi, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon, 119s.

Al-Azzawi, S.H. ve Hasan, A.A. (2021) Efficacy of ergosterol and ergosterol peroxide in different anti-inflammatory models: A comparison study, *IJS*, 62 (12): 4614–4622. https://https://doi.org/10.24996/ijs.2021.62.12.25.

Alsherif, M.A. ve Al-Saidi, M.A. (2023) Health-based evaluation of propyl gallate as food antioxidant: A systematic review, *J. Food Sci. and Health*, 15 (2): 120–135.

Altinsoy, B., Konca, S.F., Aksu, H., Kurt, B., Allı H. ve Şakalar, Ç. (2017) *Clitocybe geotropa* türü mantardan elde edilen ekstraktlarin MDA-MB-231 hücre hatti üzerindeki sitotoksik aktivitesinin incelenmesi, *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 26, 13-17.

Altuner, E.M.ve Akata, I. (2010) Antimicrobial activity of some macrofungi extracts, *SAU Fen Bilimleri Dergisi*, 14, 45-49.

Altuntaş, D., Allı, H., Kaplaner, E. ve Öztürk, M. (2016) Determination of fatty acid constituents and macro-nutritional properties of some *Lactarius* species, *Turkish JAF Sci.Tech*, 4 (3), 216-220.

Alves, M.J., Ferreira, I.C., Martins, A. ve Pintado, M. (2012) Antimicrobial activity of wild mushroom extracts against clinical isolates resistant to different antibiotics, *J Appl Microbiol*, 113 (2): 466-475.

An, G.H., Cho, J.H., Lee, K.H. ve Han, J.G. (2019) Physiological activities of extracts of wild mushrooms collected in Korea, *J Mushrooms*, 17 (2): 70-77.

Anggärd, E. (1994) Nitric oxide: Mediator, murderer and medicine, Lancet 343: 1199–1206.

Arinç, E., Arslan, S., Bozcaarmutlu, A. ve Adali, O. (2007) Effects of diabetes on rabbit kidney and lung CYP2E1 and CYP2B4 expression and drug metabolism and potentiation of carcinogenic activity of *N*-nitrosodimethylamine in kidney and lung, *Food Chem Toxicol*, 45 (1):107-18.

Athanasakis, G., Aligiannis, N., Gonou-Zagou, Z., Skaltsounis, A.L.ve Fokialakis, N. (2013) Antioxidant properties of the wild edible mushroom *Lactarius salmonicolor*, *J Med Food*, 16 (8):760–764

Atta-Ur-Rahman, Sultana, N., Shahwar, D. ve Choudhary, M.I. (2008) Two new fatty esters from *Rhazya stricta* roots (Apocynanaceae), *Nat. Prod. Res*, 22 (15), 1350–1354. https://doi.org/10.1080/14786410701712897

Aruoma, O.I. ve Cuppett, S.L. (1997) Antioxidant methodology *in vivo* and *in vitro* concept, Champaign, Illinois, *AOCS Press*; 241.

Awadh Ali, N.A., Mothana, R.A.A., Lesnau, A., Pilgrim, H. ve Lindequist, U. (2003) Antiviral activity of *Inonotus hispidus*, *Fitoterapia*, 74 (5): 483–485.

Ayinde, B.A., Onwukaeme, D.N. ve Omogbai, E.K. (2007) Isolation and characterization of two phenolic compounds from the stem bark of *Musanga cecropioides* R. Brown (Moraceae), *Acta Pol Pharm*. 64 (2): 183 5. *PMID*: 17665870.

Babior, B.M. ve Woodman, R.C. (1990) Chronic granulomatous disease, Sem Hematol 27: 247–259.

Balasundram, N., Sundram, K. ve Samman, S. (2006) Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, *Food Chem*. 99: 191–203.

Bankova, V., Ivanova, P., Christov, R., Popov, S. ve Dimitrova-Konaklieva, St. (1995) Secondary metabolites of *Ceratophyllum demersum*, *Hydrobiologia*, 316 (1), 59-61.

Barros, L., Duenas, M., Ferreira, I.C.F.R, Baptista, P. ve Santos-Buelga, C. (2009) Phenolic acids determination by HPLC-DAD-ESI/MS in sixteen different Portuguese wild mushrooms species, *Food and Chem Toxicol*, 47 (6): 1076-1079.

Barros, L., Venturini, B.A., Baptista, P., Estevinho, L.M. ve Ferreira, I.C.F.R. (2008) Chemical composition and biological properties of Portuguese wild mushrooms: A Comprehensive Study, *J Agric Food Chem*, 56 (10): 3856-3862.

Basso, M.T. (1999) *Lactarius* Pers. Fungi Europei, Mykoflora I-Alassio, Italy.

Bayram, O.F., Marah, S., Turkekul, I. ve Ozen, T. (2024) Phytochemical profile, bioactivity, and molecular docking studies of natural edible mushrooms grown in Tokat and Sivas provinces of Turkey, *J. Food Sci*, 89: 5928–5950. https://doi.org/10.1111/1750-3841.1729.

Bell, J.M., Erfle, J.D., Spencer, J.F.T. ve Reusser, F. (1958) *Tricholoma nudum* as a source of amino acids, vitamins, and unidentified factors, *Can. J. Anim. Sci*, 38: 122-128.

Benevelli, F., Carugo, O., Invernizzi, A.G. ve Vidari, G. (1995) The structures of trichoaurantianolides B, C and D, novel diterpenes from *Tricholoma aurantium*, *Tetrahedron Lett*, 36 (17): 3035–3038. doi.org/10.1016/0040 4039(95)00420-H

Béni, Z., Dékány, M., Sárközy, A., Kincses, A., Spengler, G., Papp, V., Hohmann, J. ve Ványolós, A. (2021) Triterpenes and phenolic compounds from the fungus *Fuscoporia torulosa*: Isolation, structure determination and biological activity, *Molecules*, 26 (6): 1657. https://doi.org/10.3390/molecules26061657.

Black, J.A., Cunningham, G., Ebeling, J., Flückiger-Hawker, E., Robson, E., Taylor, J. ve Zólyomi, G. (1998-2006) The electronic text corpus of Sumerian literature, *Oxford*, [The Marriage of Martu is text 1.7.1]

Bonito, G., Smith, M.E., Nowak, M., Healy, R.A., Guevara, G., Cázares, E., Kinoshita, A., Nouhra E.R., Dominguez, L.S., Tedersoo, L., Wang, Y., Moreno, B.A., Pfisher, D.H, Nara, K., Zambonelli, A., Trappe, J.M. ve Vilgalys, R. (2013) Historical biogeography and diversification of truffles in the tuberaceae and their newly identified southern hemisphere sister lineage, *PLoS ONE*, 8 (1): e52765.

Breheret, S., Talou, T., Rapior, S. ve Bessière, J.M. (1997) Monoterpenes in the aromas of fresh wild mushrooms (Basidiomycetes), *J. Agric. Food Chem*, 45 (3): 831-836.

Breitenbach, J. ve Kränzlin, F. (1991) *Fungi of Switzerland*, Boletes and Agarics 1. Part, Verlag Mykologia CH-6000 Luzern, Switzerland, 3 (9): 361 p.

Bronckaers, A., Gago, F., Balzarini, J. ve Liekens, S. (2009) The dual role of thymidine phosphorylase in cancer development and chemotherapy, *Med. Res. Rev*, 29 (6): 903–953. https://doi.org/10.1002/med.20159

Buchanan, B.B., Schurmann, P., Decottignies, P.T., Lozano, R.M. (1994) Perspectives in biochemistry and biophysics: thioredoxin: a multifunctional regulatory protein with a bright future in tecnology and medicine, *Arch Biochem Biophys*, 314: 257–260.

Budzikiewicz, H., Djerassi, C. ve Williams, D.H. (1964) *Structure elucidation of natural products by mass spectrometry 2*, Holden-day Inc, San Francisco, s.137.

Çağlarirmak, N., Ünal, K. ve Ötleş, S. (2002) Nutritive value of edible wild mushrooms grown in Black Sea region of Turkey, *Micol. App. Int*, 14:1–5.

Çakır, C., Çam, D., Aydoğmuş-Öztürk, F., Akata, I., Öztürk, M. (2022). *Yenilebilir Bazı Mantarların Metastaz İnhibisyonu Potansiyellerinin Belirlenmesi: Timidin Fosforilaz İnhibisyon Aktivitesi*, 10. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 7-11 Eylül 2022, Muğla.

Çam, D., Çakır, C., Karaman, A.H., Abdelsalam, A.H., Sıcak, Y., Akata, I., Arslan, S. ve Öztürk, M. (2024) Characterization of the cytotoxic compounds of *Lactarius salmonicolor* by gas chromatography-mass spectrometry and chemometrics, Anal. Lett. DOI: 10.1080/00032719.2024.2372670.

Campos, J.A. ve Tejera, N.A. (2011) Bioconcentration factors and trace elements bioaccumulation in sporocarps of fungi collected from quartzite acidic soils, *Biol Trace Elem Res*, 143 (1): 540-554. DOI: 10.1007/s12011-010-8853-4.

Cancer; https://www.who.int/news-room/ fact-sheets/detail/cancer; assessed on 1 January 2022; Global Burden of Disease Cancer Collaboration vd, 2017).

Casalicchio, G., Bernicchia, A., Govi, G. ve Giovanni, L. (1975a) Extraction, separation and identification of several organic components of Basidiomycetes carpophores. II. Unsaponifiable and hydrocarbon components, *Micol. Ita*, 4(2): 29-41.

Casalicchio, G., Paoletti, C., Bernicchia, A. ve Govi, G. (1975b) Research on the amino acid composition of some fungi, *Micol. Ital*, 4(1): 21-32.

Chen, X. ve Wu, L. (2024) Toxicity and carcinogenic risks of TBHQ: Recent toxicological research and safety assessment, Crit. Rev. Food Sci, 64 (5): 1023–1041.

Chaffer, C.L. ve Weinberg, R.A. (2011) A perspective on cancer cell metastasis. *Science*, 331 (6024): 1559-1564.

Chang, S.T. ve Buswell, J.A. (1999) *Ganoderma lucidum* (Curt.:Fr.) P. Karst. (Aphyllophoromycetideae)-A mushrooming medicinal mushroom, *Inter J Med Mush*, 1: 139–48.

Chatterjee S., Saha G.K. ve Acharya K. (2011) Antioxidant activities of extracts obtained by different fractionation from *Tricholoma giganteum* basidiocarps, *Pharmacologyonline*, 3: 88-97.

Chen, C.Y. (2010) Steroids from the Whole Plants of Leucaena *Leucocephala*, *Am J Analyt Chem*, 01 (01): 31–33.

Chen, L., Chen, Q., Zhang, Z. ve Wan, X. (2009) A novel colorimetric determination of free amino acids content in tea infusions with 2,4-dinitrofluorobenzene, *J Food Compos Anal*, 22 (2): 137-141.

Chen, Y., Wang, C., Wang, R., Hu, M., Duan, P. ve Zhai T. (2012) Method for preparation of natural antioxidant *Tricholoma giganteum* polysaccharide, Faming Zhuanli Shenqing, Patent no: CN 102603908 A 20120725.

Chen, S., Liu, J., Gong, H. ve Yang, D. (2009) Identification and antibacterial activity of secondary metabolites from Taxus endophytic fungus, *Chin J Biotech*, 25 (3): 368-374.

Cheng, C.R., Yue, Q.X., Wu, Z.Y., Song, X.Y., Tao, S.J., Wu, X.H., Xu, P.P., Liu, X., Guan, S.H. ve Guo, D.A. (2010) Cytotoxic triterpenoids from *Ganoderma lucidum*, *Phytochemistry*, 71: 1579–1585.

Cheng, H., Jia, Y., Wang, L., Liu, X., Liu, G., Li, L., ve He, C. (2016) Isolation and structural elucidation of a novel homogenous polysaccharide from *Tricholoma matsutake*, *Nat Prod Res*, 30: 58–64.

Cheng, X.D., Zhao, J., Su, T., Wang, Y., Wu, Q.X., Chen, Y., Lu, Y.M., Zhang, W. N. (2019) Immunomodulatory effect of a polysaccharide fraction on RAW 264.7 macrophages extracted from the wild *Lactarius deliciosus*, *Int. J. Biol. Macromol*, 128732-128739.

Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y.Y., Arai, Y. ve Fukuoka, F. (1970) Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan, from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (an edible mushroom), *Cancer Res*, 30: 2776–2781.

Cho, I.H. Kim, S.Y. Choi, H.K. Kim, Y.S. (2006b) Characterization of aroma active compounds in raw and cooked pine-mushrooms (*Tricholoma matsutake* Sing.), *J. Agr. Food Chem*, 54: 6332–6335.

Cho, I.H., Choi, H.K. ve Kim, Y.S. (2006a) Difference in the volatile composition of pine-mushrooms (*Tricholoma matsutake* Sing.) according to their grades, *J. Agr. Food Chem*, 54: 4820–4825.

Cho, I.H., Lee, S.M., Kim, S.Y., Choi, H.K., Kim, K.O. ve Kim, Y.S. (2007) Differentiation of aroma characteristics of pine-mushrooms (*Tricholoma matsutake* Sing.) of different grades using gas chromatography-olfactometry and sensory analyses, *J. Agr. Food Chem*, 55: 2323-2328.

Cho, I.H., Namgung, H.J., Choi, H.K. ve Kim, Y.S. (2008) Volatiles and key odorants in the pileus and stipe of pine-mushroom (*Tricholoma matsutake* Sing.), *Food Chem*, 106: 71-76.

Cho, W.C. (2010). Supportive cancer care with Chinese medicine, *Springer*, 1-8.

Choi, H.S. (2012) *Method for extracting active ingredients from natural materials using honey as solvent*, Korean Taeho Kongbo, Patent no: KR 2012060313 A 20120612.

Choy, H.Y., Lee, K.S. ve Kim, Y.J. (2023) Sterol distribution modulates membrane protein trafficking in *Cryptococcus neoformans*. *mBio*, 16 (2): e03550-24. https://https://doi.org/10.1128/mbio.03550-24.

Cirillo, P., Montano, N., Mencherini, T. ve Keller, S. (2022) A review of the health-protective effects of phenolic acids against various pathologies, *Antioxidants*, 11 (10): 1921. https://https://doi.org/10.3390/antiox11101921

Clitocybe marginella, (2025) Wikipedia. Erişim: 18.03.2025

Clinton, S.K. ve Giovannucci, E. (1998) Diet, nutrition and prostate cancer, *Annu Rev. Nutr*, 18: 413-440.

Cocchi, L., Vescovi, L., Petrini, L.E. ve Petrini, O. (2006) Heavy metals in edible mushrooms in Italy, *Food Chem*, 98 (2): 277-284. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.05.068.

Costa, R., De Grazia, S., Grass, E. ve Trozzi, A. (2015) Headspace-solid-phase microextraction-gas chromatography as analytical methodology for the determination of volatiles in wild mushrooms and evaluation of modifications occurring during storage, *J Anal Meth Chem*, 951748.

Croteau, R., Kutchan, T.M. ve Lewis, N.G. (2000) Natural products (secondary metabolites), *BMC Plant Biol, ASPP*, 1250–1318.

Dang, N.Q. ve Dang, D.B. (2008) Ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one from Vietnamese *Xylaria* sp. possessing inhibitory activity of nitric oxide production, *Nat. Prod. Res*, 22 (10): 901–906. https://doi.org/10.1080/14786410701642706.

Danishefsky, S.J., Chou, T.C., Lei, X., Yun, H., Ng, F., Hartung, J. ve Sames, D. (2010) *Compounds, compositions and methods for reducing toxicity and treating or preventing diseases*, PCT Int. Appl. Patent no: WO 2010025272 A1 20100304.

Davis, A.L., Mc Neill, G.P. ve Caswell, D.C. (1999) Analysis of conjugated linoleic acid isomers by ^{13}C NMR spectroscopy, *Chem Phys Lipids*, 97 (2): 155-165.

da Silva, V.M., Santos, M.R. C., Alves Silva, I.R., Macedo Viana, E.B., Dos Anjos, D.A., Santos, I.A., Barbosa de Lima, N.G., Wobeto, C., Jorge, N. ve Lannes, S.C.D.S. (2022) Synthetic and natural antioxidants used in the oxidative stability of edible oils: an overview, *Food Rev. Int*, 38 (4): 349–372. https://https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1869775

De Bernardi, M., Garlaschelli, L., Gattl, G., Vidari, G. ve Vita-Finzi, P. (1988) Fungal metabolites xxii, *Tetrahedron*, 44: 235-240.

De Bernardi, M., Garlaschelli, L., Toma, L., Vidari, G. ve Vita-Finzi, P. (1991) Fungal metabolites XXVI: The structure of saponaceolides B, C and D, new C 30 terpenoids from *Tricholoma saponaceum*, *Tetrahedron*, 47: 7109-7116.

De Cianni R, Pippinato L. ve Mancuso T. (2023) A systematic review on drivers influencing consumption of edible mushrooms and innovative mushroom-containing products, *Appetite*, 1 (182): 106454. doi: 10.1016/j.appet.2023.106454. PMID: 36623772.

De Luca, F., Roda, E., Rossi, P. ve Bottone, M.G. (2024) Medicinal mushrooms in metastatic breast cancer: What is their therapeutic potential as adjuvant in clinical settings? *Curr. Issues Mol. Biol*, 46 (7): 7577-7591. https://https://doi.org/10.3390/cimb46070450

Dekanski, D., Pirković, A., Lupulović, D., Petrović, P. ve Jovanović, A.A. (2025) Antioxidant potential of ergosterol–phospholipid liposomes with *Thymus serpyllum* extract, *Proceedings*, 119 (1): 1. https://https://doi.org/10.3390/proceedings2025119001.

Demain, A. L. ve Vaishnav, P. (2010) Natural products for cancer chemotherapy, *Microb. Biotechnol*, 4(6): 687–699. doi:10.1111/j.1751-7915.2010.00221.x

Deveci, E., Tel-Çayan, G., Çayan, F., Yılmaz Altınok, B. ve Sinan A. (2023) Chemical characterization, in vitro antioxidant, anti-cancer and enzyme inhibition activities of three edible mushroom species, *Food Measure,* 17: 5518–5533 https://doi.org/10.1007/s11694-023-02066-5.

Deves, C., Rostirolla, D.C., Martinelli, L.K.B., Bizarro, C.V., Santos, D.S. ve Basso, L.A. (2014) The kinetic mechanism of human thymidine phosphorylase – A molecular target for cancer drug development, *Mol. Biosyst*, 10 (3): 592–604.

Dewieck, P.M. (2002). The biosynthesis of C5-C25 Terpenoid compounds, *Nat. Prod, Rep*, 19: 181-222.

Diez, V. ve Alvarez, A. (2001) Compositional and nutritional studies on two wild edible mushrooms from northwest Spain, *Food Chem*, 75 (4): 417–422. https:// doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00229-1

Ding, L., Gao, Q., Feng, M., Yang, B., Ren, J., Gu, L., Cui, C. ve Zhao, M. (2013) Structural characterisation of polysaccharides from *Tricholoma matsutake* and their antioxidant and antitumour activities, *Food Chem*, 138: 2242–2249.

Ding, Q., Yang, D., Zhang, W., Lu, Y., Zhang, M., Wang, L., Li, X., Zhou, L., Wu, Q., Pan, W. ve Chen, Yan. (2016) Antioxidant and anti-aging activities of the polysaccharide TLH-3from *Tricholoma lobayense*, *Int J Biol Macromol*, 85: 133–140.

Ding, X., Tang, J., Cao, M., Guo, C.X., Zhang, X., Zhong, J., Zhang, J., Sun, Q., Feng, S., Yang, Z.R. ve Zhao, J. (2010) Structure elucidation and antioxidant activity of a novel polysaccharide isolated from *Tricholoma matsutake*, *Int. J Biol. Macromol*, 47 (2): 271–275.

Dizeci, N., Onar, O., Karaca, B., Demirtas, N., Coleri Cihan, A. ve Yildirim, Ö. (2021) Comparison of the chemical composition and biological effects of *Clitocybe nebularis* and *Infundibulicybe geotropa*, *Mycologia*, 113 (6): 1156–68, doi: 10.1080/00275514.2021.1951076.

Doğan, H.H. ve Akata, I. (2011) Ecological features of *Tricholoma anatolicum* in Turkey, *Afr. J. Biotechnol*, 10 (59): 12626-12668.

Doğan, H.H., Sanda, M.A. ve Akata, I. (2012) Mn, Fe, K, Na, and P contents in some *Tricholoma* (Fr.) staude (Tricholomataceae) taxa from central Anatolia, Turkey, *Fresen Environ Bull*, 21 (11b): 3389-3393.

Duru, M. E. ve Tel-Çayan, G. (2015) Biologically active terpenoids from mushroom origin: A review, *Rec Nat Prod*, 9 (4): 456–483.

Dzubak, P., Hajduch, M., Vydra, D., Hustova, A., Kvasnica, M., Biedermann, D. ve Sarek, J. (2022) Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications, *Nat. Prod. Rep*, 39 (4): 504–529. https://https://doi.org/10.1039/D1NP00060F.

Enman, J., Rova, U. ve Berglund, K.A. (2007) Quantification of the bioactive compound eritadenine in selected strains of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*), *J. Agr. Food Chem*, 55 (4): 1177–1180. https://doi.org /10. 1021/jf062559

Erdogan, S., Yilmaz-Ersela, F. ve Merdivan, M. (2006) Macro and micro element contents in fruiting bodies of wild edible mushrooms from Mugla in Southwest Anatolia, Turkey, *Asian J Chem*, 18(3): 2159-2167.

Erjavec, J., Ravnikar, M., Brzin, J., Grebenc, T., Blejec, A., Gosak, M.Z., Dreo, T., Sabotic, J. ve Kos, J. (2016) Antibacterial activity of wild extracts on bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*, *Plant Dis*, 100 (2): 453-464.

Erol E. (2018) *Tricholoma caligatum (Viv.) Ricken ve T. fracticum (Britzelm.) Kreisel türlerinden biyoaktivite gösteren sekonder metabolitlerin izolasyonu ve yapilarinin aydinlatilmasi*, Doktora Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla, 273s

Erol, E., Ali, Z., Öztürk, M., Shabana, S. ve Khan, I.A. (2020) Inhibition of iNOS induction and NF-κB activation by taste compounds from the edible mushroom *Tricholoma caligatum* (Viv.) Ricken, *Rec. Nat. Prod*. 14 (1): 77-82.

Ersel, F.Y. ve Cavas, L. (2008) Enzyme-based scavengers and lipid peroxidation in some wild edible *Agaricales s.l.* mushrooms from Mugla (Turkey), *Int J Med Mushrooms*, 10: 269-277.

Falandysz, J., Brzostowski, A., Wieliczko, M., Danisiewicz, D., Apanasewicz, D. ve Bielawski, L. (2000). Mercury contamination in edible mushrooms from the Koszalin area, *Bromat. Chem. Toksykol*, 33 (3): 237-240.

Fang, S.T., Zhang, L., Li, Z.H., Li, B. ve Liu. J.K. (2010) Cyathane diterpenoids from fruiting bodies of *Phellodon niger*, *Chem. Pharm. Bull*, 58: 1176–1179.

Ferreira, I.C.F.R., Baptista, P., Vilas-Baos, M. ve Barros, L. (2007) Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity, *Food Chem*, 100: 1511-1516.

Ferreira, I.C.F.R., Vaz, J.A., Vasconcelos, M.H., Martins, A. (2010) Compounds from wild mushrooms with antitumor potential, *Anti-Cancer Agents Med. Chem*, 10: 424-436.

Figueiredo, L. ve Régis, W.C.B. (2017) Medicinal mushrooms in adjuvant cancer therapies: an approach to anticancer effects and presumed mechanisms of action, *Nutrire*, 42: 28.

Fırat, D. ve Çelik, İ. (1998) Cancer statistics in Turkey and in the world (1993-1995), *Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu*, Ankara.

Floyd R.A., Watson J.J., Harris J, West M. ve Wong P.K. (1986) Formation of 8 hydroxydeoxyguanosine, hyroxyl free radical adduct of DNA in granulocytes exposed to tumor promoter, tetradecanoylphorbolacetate, *Biochem Biophys Res Commun*, 137: 841–846.

Fogedal, M., Mickos, H. ve Norberg, T. (1986) Isolation of *N*-2'-hydroxyhexadecanoyl-1-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-9-methyl-4,8-D-erythro-sphingadienine from fruiting bodies of two Basidiomycetes fungi, *Glycoconjugate J*, 3 (3): 233-237.

Fons, F., Rapior, S. ve Fruchier, A. (2006) Volatile composition of *Clitocybe amoenolens, Tricholoma caligatum* and *Hebeloma radicosum, Cryptogamie Mycol*, 27 (1): 45-55.

Franks, K.N., Sun, Y., Vittori, S., Sagratini, G. ve Caprioli, G. (2022) Conversion of ergosterol into vitamin D_2 and other photoisomers in *Agaricus bisporus* mushrooms under UV-C irradiation, *SSRN*.

Fridovich, I. (1986) Superoxide Dimutases, Meth, *Enzymol*, 58: 61–97.

Frontiers in Nutrition Editors (2022) Radical scavenging and antioxidant assays: hydrogen-atom transfer (HAT) and electron transfer (SET) mechanisms of phenolic compounds, *Front. Nutr*, 9: Article 882458. https://https://doi.org/10.3389/fnut.2022.882458.

Fu, Z., Wang, J. ve Aisa, H. (2016) Determination of chemical composition and antioxidant properties of a novel wild edible mushroom, *Toxicol Environ Chem*, 98 (3-4): 439-449.

Fujii, T., Ishida, N., Maeda, H., Mizutani, I. ve Suzuki, F. (1979) *KS-2-A.US*, Patent 4163780.

Galli, R. (2001) I Le Amanite. Edinatura, Milano, 216 p.

Galli, R. (2004) I Lattari.Dalla Natura, Milano, 299p.

Gao, Y., Zhou, S.H., Chen, G., Dai, X. ve Ye, J. (2003) A phase I/II study of a *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. extract (ganopoly) in patients with advanced cancer, *Int J Med Mushroom*, 4: 207–214.

Garlaschelli, L., Magistrali, E., Vidari, G. ve Zuffardi, O. (1995) Tricholomenyns A and B, novel antimitotic acetylenic cyclohexenone derivatives from the fruiting 205 bodies of *Tricholoma acerbum*, *Tetrahedron Lett*, 36 (31): 5633–5636. https: //doi.org/10.1016/0040-4039(95)01033

Garlaschellil, L., Pang, Z., Sterne, O., Vida, G., Organica, C., Pavia, U. ve Taramelli, V. (1994) New Indole Derivatives from the Fruit Bodies of *Tricholoma sciodes* and *T. virgatum*, *Tetrahedron*, https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)87033-2.

Geissman, T.A. ve Crout, D.H.G. (1969) Organic chemistry of secondary plant metabolism. California, *Freeman, Cooper and Company*, 4: 217, 241, 291, 293, 300,305, 309.

Gezer, K. ve Kaygusuz, O. (2015) Soil and habitat characteristics of various species of mushroom growing wild in the Gireniz valley, Turkey, *Oxid Commun*, 38 (1A): 389-397.

Gezer, K., Duru, M.E. Kivrak, I., Türkoğlu, A., Mercan, N., Türkoğlu, H. ve Gülcan, S. (2006) Free-radical scavenging capacity and antimicrobial activity of wild edible mushroom from Turkey, *Afr. J. Biotechnol*, 5: 1924–1928.

Ghodsi, R., Pourazar, A. ve Moein, M. (2024) Eco-friendly phenolic antimicrobial materials: mechanisms of action and applications, *Acc. Chem. Res*, 57 (4): 575–590. https://https://doi.org/10.1021/acs.accounts.3c10407.

Globocan (2012) Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., Bray, F. *Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalance Worldwide in 2012*, *Int Aganecy Res Cancer*, IARC CancerBase No. 11.Prevalence

Global Cancer Statistics (2020) Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., Bray, F. GLOBOCAN *Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries*, *CA Cancer J Clin*, 2021 May;71(3):209-249. doi: 10.3322/caac.21660. Epub 2021 Feb 4. PMID: 33538338.

Gilardoni, G., Negri, F., Vita Finzi, P., Hussain, F.H.S. ve Vidari, G. (2023) New tricholidic acid triterpenoids from the mushroom *Tricholoma ustaloides* collected in an Italian beech wood, *Molecules*, 28: 3864. https://doi.org/10.3390/ molecules28093864.

Gulcin, I. (2024) Antioxidant mechanisms of phenolics and polyphenolics: Hydrogen atom transfer, metal chelation, enzyme inhibition, and protein interactions, *Arch. Toxicol*, 98 (4): 567–587. https://https://doi.org/10.1007/s00204-025-03997-2.

Gunc Ergonul, P., Akata I., Kalyoncu F. ve Ergonul B. (2013) Fatty acid compositions of six wild edible mushroom species, *Sci Word J*, 163964.

Gupta, G. P. ve Massagué, J. (2006) Cancer metastasis: building a framework, *Cell*, 127 (4): 679-695.

Gutiérrez, A., Prieto, A. ve Martínez, A.T. (1996) Structural characterization of extracellular polysaccharides produced by fungi from the genus *Pleurotus*, *Carbohydr Res*, 281: 143–154.

Guyton K.Z. ve Kensler T.W. (1993) Oxidative mechanism in carcinogenesis, *Br Med Bull*,49: 523–544.

Halliwell, B. (1994) Free radicals and antioxidants: a personal view, *Nutr Rev*, 52: 253–265.

Hansen, L. ve Knudsen, H. (1992) *Nordic Macromycetes*, Polyporales, Boletales, Agaricales, Russulales. Nordsvamp, Copenhagen, Denmark, 2: 474.

Hanson, J.R. (1972) *In: chemistry of terpenes and terpenoids*, Ed. Newmann, A.A. Academic Press, London, p. 155.

Hatano, T., Edamatsu, R., Mori, A., Fujita, Y. ve Yasuhara, E. (1989) Effects of Tannins and Related Polyphenols on Superoxide Anion Radical and on DPPH Radical, *Chem. Pharm. Bull*, 37: 2016–2021.

Harborne, J.B. (2023) Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis (4th ed.), *Springer*.

Hasan, G.Q. and Abdulhadi, S.Y. (2022) Molecular characterization of wild *Pleurotus ostreatus* (MW457626) and evaluation of *β*-glucans polysaccharide activities, *KIJOMS*, 8 (1): 53-62, https://doi.org/10.33640/2405-609X.3204

Hatipoğlu, A.A. ve Tuncer AM. (2007) *Kanser erken tanı ve tarama problemleri*, Türkiye'de Kanser Kontrolü.1. Baskı. Ankara: Onur Matbaacılık, 381-388.

Heleno, S. A., Barros, L., Sousa, M. J., Martins, A. ve Ferreira, I.C.F.R. (2009a) Study and characterization of selected nutrients in wild mushrooms from Portugal by gas chromatography and high-performance liquid chromatography, *Microchem J*, 93 (2): 195-199.

Heleno, S. A., Barros, L., Sousa, M. J., Martins, A. ve Ferreira, I.C.F.R. (2009b) Tocopherols composition of Portuguese wild mushrooms with antioxidant capacity, *Food Chem*, 119 (4): 1443-1450.

Hernández, D., Sánchez, J.E. ve Yamasaki, K. (2003) A simple procedure for preparing substrate for *P. ostreatus* cultivation, *Bioresour Technol*, 90: 145 150.

Hess, D. (1975) *Plant Physiology: Terpenoids*, Chapter 6, pp. 99-116, Springer Verlap press New York.

Hill, M., Arrio, B. (1997) Determination of inorganic phosphate by coupling thymidine phosphorylase and reversed-phase high-performance liquid chromatography: Application to tonoplast pyrophosphatase activity, *Anal. Biochem*, 254 (2): 249–253.

Hiroi, M. ve Tsuyuki, H. (1988) Comparison of fatty acid composition in fruit body and spore of mushrooms, *Nihon Daigaku Nojuigakubu Gijutsu Kenkyu Hokoku*, 45: 104-109.

Hong, Y.J., Jang, A.R., Jang, H.J. ve Yang, K.S. (2012) Inhibition of nitric oxide production, iNOS and COX-2 expression of ergosterol derivatives from *Phellinus pini*, *Nat Prod Sci*, 18 (3): 147–152.

Hoshi, H., Yagi, Y., Iijima, H., Matsunaga, K., Ishihara, Y. ve Yasuhara T. (2005) Isolation and characterization of a novel immunomodulatory a-glucan-protein complex from the mycelium of *Tricholoma matsutake* in basidiomycetes, *J Agric Food Chem*. 53 (23): 8948–8956.

Hou, Y., Ding, X., Hou, W., Song, B., Wang, T., Wang, F. ve Zhong, J. (2013) Immunostimulant activity of a novel polysaccharide isolated from *Lactarius deliciosus* (l. ex fr.) gray, *IJPS*, 75 (4): 393-399.

Hu, S.H., Cheung, P.C.K., Hung, R.P., Chen, Y.K., Wang, J.C. ve Chang, S.J. (2015) Antitumor and immunomodulating activities of exopolysaccharide produced by big cup culinary-medicinal mushroom *Clitocybe maxima* (higher basidiomycetes) in liquid submerged culture, *Int J Med Mushrooms*, 17 (9): 891-901.

Hu, A.R.A., Ruthes, Andrea, C., Cadena, S.M.S.C., Acco, A., Gorin, P.A.J. ve Lacomini, M. (2013) Cytotoxic effect of *Agaricus bisporus* and *Lactarius rufus* -*D*-glucans on HepG2 cells, *Int J Biol Macromol*, 58: 95-103.

Hu, H., Zhang, Z., Lei, Z., Yang, Y. ve Sugiura, N. (2009) Comparative study of antioxidant activity and antiproliferative effect of hot water and ethanol extracts from the mushroom *Inonotus obliquus*, *J Bioscience Bioeng*, 107: 42 – 48.

Hu, L.L., Ma, Q.Y., Huang, S.Z., Guo, Z.K., Ma, H.X., Guo, J.C., Dai, H.F.ve Zhao, Y.X. (2013a) Three new lanostanoid triterpenes from the fruiting bodies of *Ganoderma tropicum*, *J Asian Nat Prod Res*, 15: 357–362.

Huang, Q.L., Jin, Y., Zhang, L.N., Cheung, C.K. ve Kennedy, J.F. (2007) Structure, molecular size and antitumor activities of polysaccharides from *Poria cocos* mycelia produced in fermenter, *Carbohyd Polym*, 70: 324–333.

Hudson, B.J.F. (1990) *Food Antioxidants*, Elsevier Applied Science, London and New York, pp. 137s.

Ikekawa, T., Ikeda, Y., Yoshioka, Y., Nakanishi, K., Yokoyama, E. ve Yamazaki, E. (1982) Antitumor polysaccharides of *Flammulina velutipes* 2. The structure of EA-3 and further purification of EA-5, *J Pharmacobio-Dyn*, 5: 576–81.

Ina, K., Kataoka, T. ve Ando, T. (2013) The use of lentinan for treating gastric cancer, *Anti Cancer Agents Med. Chem*, 13: 681-88.

Infundibulicybe geotropa (2025, Ocak) Wikipedia. Erişim tarihi: [18.03.2025].

Işik, H., Hepokur, C., Tutar, U. ve Dinçer, E. (2024) Evaluation of antibiofilm, antimicrobial, cytotoxic and antioxidant effects of some wild mushroom species, 15: 60–69. doi: 10.30708/mantar.1469051.

Ito, T. ve Harada, E. (2010) *Anti-inflammatory compositions containing hot water extracts of edible mushrooms or ergothioneine and their manufacture*, Jpn. Kokai Tokkyo Koho. Patent no: JP 2010189284 A 20100902.

Ivanova, T.S., Krupodorova, T.A., Barshteyn, V.Y., Artamonova, A.B. ve Shlyakhovenko, V.A. (2014) Anticancer substances of mushroom origin, Review. *Exp Oncol*, 36 (2): 58–66.

Jang, M.S., Kang, Y. ve Jang, T.H. (2008) *Cosmetic composition containing natural complex extracts with excellent antioxidation, whitening, and anti inflammatory effects*, Korean Kongkae Taeho Kongbo. Patent no: KR 2008104672 A 20081203.

Javed, R., Khan, R.A. ve Lee, Y.S. (2023) Phenolic metabolites as therapeutic agents in inflammation and neoplasms: A review, *Pharmacol. Res*, 186: 106812. https://https://doi.org/10.1016/j.phrs.2023.106812.

Jayakumar, T., Ramesh, E. ve Geraldine, P. (2006) Antioxidant activity of the oyster mushroom, *P. ostreatus*, on CCl_4-induced liver injury in rats, *Food Chem Toxicol*, 44:1989–1996.

Jayakumar, T., Thomas, P.A. ve Geraldine, P. (2007) Protective effect of an extract of the oyster mushroom, *P. ostreatus*, on antioxidants of major organs of aged rats, *Exp Gerontol*, 42: 183–191.

Jeitler, M., Michalsen, A., Frings, D., Hübner, M., Fischer, M., Koppold, Liebscher, D.A., Murthy, V. ve Kessler, C.S. (2020) Significance of medicinal mushrooms in integrative oncology: A narrative Review, *Front. Pharmacol*, 11: 580656. doi: 10.3389/fphar.2020.580656.

Jiang, J. ve Sliva, D. (2010) Novel medicinal mushroom blend suppresses growth and invasiveness of human breast cancer cells, *Int. J. Oncol*, 37: 1529-36.

Jiang, Y., Wong, J.H., Fu, M., Ng, T.B., Liu, Z.K., Wang, C.R., Li, N., Qiao, W.T., Wen, T.Y. ve Liu, F. (2011) Isolation of adenosine, iso-sinensetin and dimethylguanosine with antioxidant and HIV-1 protease inhibiting activities from fruiting bodies of Cordyceps militaris, *Phytomedicine*, 18(2-3): 189-193.

Johnson, P.T. ve Lee, K.Y. (2024) Recent advances in steroid discovery: structural diversity from marine and terrestrial sources, *Front. Mol. Biosci*, 10: 356.

Kalac, P. (2012). *Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms*, Nova Science Publisher, In S. Andres & N. Baumann (Eds.), Mushrooms: Types, properties and nutrition, 130-51.

Kalač, P. (2013). A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms, *J. Sci. Food Agric*, 93(2): 209-218.

Kalmış, E., Nuri, A., Hasan, Y. ve Fatih, K. (2008) Feasibility of using olive mill effluent (OME) as a wetting agent during the cultivation of oyster mushroom, *P. ostreatus*, on wheat straw, *Bioresour Technol*, 99: 164–169.

Kalmis, E., Yildiz, H. ve Ergonul, B. (2011) Chemical composition and nutritional value of a wild edible ectomycorrhizal mushroom, *Tricholoma anatolicum*, *Turkish J. Biol*, 35(5): 627-633.

Kalyoncu, F. ve Oskay, M. (2008) *Antimicrobial activities of four wild mushroom species collected from Turkey. In Mushroom biology and mushroom products*, Proceedings of the Sixth International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, Bonn, Germany, 29 September-3 October, 2008 (pp. 31-35). GAMU GmbH, Institut für Pilzforschung.

Kalyoncu, F., Oskay, M. ve Kayalar, H. (2010) Antioxidant activity of the mycelium of 21 wild mushroom species, *Mycology*, 1 (3): 195-199. DOI: 10.1080/21501203.2010.511292.

Kang, C.K., Cho, S.A., Kim, J.H., Chang, H.K., Park, N.H. ve Cho, J.C. (2011) *Anti inflammatory and antioxidant cosmetic composition containing green tea polysaccharide and Tricholoma matsutake extract*, U.S. Pat. Appl. Publ. Patent no: US20110097356 A1 20110428.

Kang, H.Y., Heo, N.E., Yoon, S.J., Baek, H., Jung, H.J., Jeon, H.Y. ve Kim, J.H. (2012) *Antiaging cosmetic composition containing mushroom extracts*, Korean Taeho Kongbo. Patent no: KR 2012032690 A 20120406.

Kanserle Savaş Politikası ve Kanser Verileri (1995-1999) T.C. Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı, Ankara, 2002.

Kanwal, A., Bilal, M., Rasool, N., Zubair, M., Shah, S.A.A. ve Zakaria, Z.A. (2022) Total synthesis of terpenes and their biological significance: A critical review, *Pharmaceuticals*, 15 (11): 1392. https://https://doi.org/10.3390/ph15111392.

Karadeniz, M., Bakır, T.K. ve Ünal, S. (2024) Doğal tüketilebilir bazı mantar türlerinin fenolik içeriklerinin ve antioksidan aktivitelerinin araştırılması, *Kastamonu Üniversitesi Doğa Dergisi*, Yayınlandı 29 Ocak 2024.

Kaplaner E., (2017) *Tricholoma İmbricatum (Fr.) P. Kumm. ve Tricholoma Anatolicum H.H. Doğan & Intini türlerinin antioksidan ve sitotoksik aktivite gösteren bileşiklerinin HPLC ile izolasyonu ve yapılarının aydınlatılması*, Doktora Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla, 225s

Kaplaner, E., Aydoğmuş Öztürk, F., Öztürk, M., Akata, I., Duru, M.E. (2023) Anatoluin A and B isolated from medicinal *Tricholoma anatolicum* are new cytotoxic ergostanoids against the most common cancers, *Nat. Pro.Res*, 37 (22): 3787-3797. doi: 10.1080/14786419.2022.2153360.

Kaplaner, E., Singeç, M.H., Öztürk, M. (2017) Fatty acid composition and antioxidant activity of *Tricholoma imbricatum* and *T. focale, TURJAF*, 5 (9): 1080-1085.

Kawagishi, H., Tonomura, Y., Yoshida, H., Sakai, S. ve Inoue, S. (2004) Orirubenones A, B and C, novel hyaluronan-degradation inhibitors from the mushroom *Tricholoma orirubens*, *Tetrahedron*, 60: 7049-7052.

Kawagishi, H., Katsumi, R., Sazawa, T., Mizuno, T., Hagiwara, T. ve Nakamura, T. (1988) Cytotoxic steroids from the mushroom *Agaricus blazei*, *Phytochemistry*, 27 (9): 2777-2779.

Kaya, A., Genccelep, H., Uzun, Y. ve Demirel, K. (2011) Analysis of trace metal levels in wild mushrooms, *Asian J Chem*, 23 (3): 1099-1103.

Keles, A., Koca, I. ve Genccelep, H. (2011) Antioxidant properties of wild edible mushrooms, *J Food Process Technol*, 2 (6): 130.

Kim, G.H., Kim, H.J., Lee, G. N. ve Kim, S.H. (2010) *Method for manufacturing low-molecular-weight fucoidan from brown algae*, Korean Kongkae Taeho Kongbo. Patent no: KR 2010001375 A 20100106.

Kim, J.K., Park, J., Min, B.S. ve Shim, S.H. (2011) Chemical constituents from the Sclerotia of *Inonotus obliquus*, *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem*, 54 (2): 287 294.

Kim, M.Y., Seguin, P., Ahn, J.K., et al. (2008) Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea, *JAFC*, 56 (16): 7265-7270.

Kim, S., Park, T.H. ve Lim, J.H. (2020) Oleic acid induces apoptosis in human cancer cells through reactive oxygen species generation, *Mol. Cell. Biochem*, 468 (1–2): 89–99. https://doi.org/10.1007/s11010-019-03632-y.

Khursheed, R., Singh, S.K., Wadhwa, S., Gulati, M. ve Awasthi, A. (2020) Therapeutic potential of mushrooms in diabetes mellitus: Role of polysaccharides, *Int J Biol Macromol*, 164:1194 205. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.145.

Kobayashi, S. (1998) *Production of Tricholoma matsutake food capable of withstanding long term storage*, Jpn. Kokai Tokkyo Koho. Patent no: JP 10004913 A 19980113.

Kolayli, S., Sahin, H., Aliyazicioglu, R. ve Sesli, E. (2012) Phenolic components and antioxidant activity of three edible wild mushrooms from Trabzon, Turkey, *Chem Nat Compd*, 48 (1): 137-140.

Konuk M., Afyon A. ve Yagiz D. (2007) Minor element and heavy metal contents of wild growing and edible mushrooms from Western Black Sea Region of Turkey, Fresenius Environ. Bull, 16 (11A): 1359-1362.

Kosanic, M., Petrovic, N. ve Stanojkovic, T. (2020) Bioactive properties of *Clitocybe geotropa* and *Clitocybe nebularis*, *J Food Meas Charact*, 1-8.

Koyama, N., Aoyagi, Y. ve Sugahara, T. (1984) Fatty acid composition and ergosterol content of edible mushrooms, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 31 (11): 732-738.

Kozarski, M., Klaus, A., Niksic, M., Jakovljević, D., Helsper, J.P. ve Van Griensven, L.J. (2011. Antioxidative and immunomodulating activities of polysaccharide extracts of the medicinal mushrooms *Agaricus bisporus*, *Agaricus brasiliensis*, *Ganoderma lucidum* and *Phellinus linteus*, Food Chem, 129: 1667-75.

Kränzlin, F. (2005) *Fungi of Switzerland*, Volume 6. Russulaceae 2. Verlag Mykologia, 319 p., Switzerland.

Krawczyk, E., Kniotek, M., Nowaczyk, M., Dzieciatkowski, T., Przybylski, M., Majewska, A. ve Luczak, M. (2006) *N*-acetylphenylisoserinates of *Lactarius* sesquiterpenoid alcohols-cytotoxic, antiviral, antiproliferative and immunotropic activities in vitro, *Planta Med*, 72 (7):, 615-620.

Krawczyk, E., Luczak, M. ve Majewska, A. (2005b) Antiviral activities and cytotoxicity of new derivatives of natural sesquiterpenes and taxol, *Med. Dośw. Mikrobiol*, 57 (1): 93-99.

Krawczyk, E., Luczak, M., Kniotek, M., Majewska, A., Kawecki, D. ve Nowaczyk, M. (2005a) Immunomodulatory activity and influence on mitotic divisions of *N*-benzoylphenylisoserinates of *Lactarius* sesquiterpenoid alcohols *in vitro*, *Planta Med*, 71 (9): 819-824.

Krenitsky, T.A. ve Bushby, S.R.M. (1979) United States Patent 4,178,212, 1-8, Burroughs Wellcome Co., Res Triangle Park, NC.

Kruk, J., Aboul-Enein, B.H., Duchnik, E. ve Marchlewicz, M. (2022) Antioxidative properties of phenolic compounds and their effect on oxidative stress induced by severe physical exercise, *J Physiol Sci*, 72 (1): 19. https://https://doi.org/10.1186/s12576-022-00845-1.

Kumar, S., Pandey, A.K. ve Mishra, P. (2024) Structural diversity and bioactivity of hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acid derivatives, *Food Biosci*, 52: 102473.

Küçükaydin S., (2017) *Isolation and structure elucidation of antioxidant and anticancer compounds from Inonotus dryadeus and Bjerkandera adusta*, Doktora Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla, 284s.

Kwon, G.Y., Yoon, D.Y., Lee, S.J. ve Jung, U.J. (2010) *Mushroom culture, its producing method, and functional food containing the mushroom culture*, Korea. Patent no: KR 965722 B1 20100624.

Kwon, S.G. ve Jung, B.H. (2012) *Production of eco-friendly functional honey by administering functional material extract to honeybee, and produced eco friendly functional honey*, Korean Kongkae Taeho Kongbo, Patent no: KR 2012028488 a 20120323.

Lankanayaka, A., Lakshan, N.D., Jayathunge, L., Bandara, P., Manatunga, D.C. ve Senanayake, C.M. (2025) A review of sustainable strategies for encapsulating antioxidant-rich plant polyphenolic extracts using nanoemulsification to enhance oxidative stability of edible oils, *Food and Bioprocess Technol*, é-publ ahead. https://https://doi.org/10.1007/s44187-025-00331-8.

Larson RA. (1988) The antioxidants of higher plants, *Phytochemistry*, 27: 969 978.

Lee, S.J., O.R. Hedstrom, K. Fischer, J.L. Wang-Buhler, A. Sen, I. ve Cok Buhler, D.R. (2001) Immunohistochemical localization and differential expression of cytochrome P450 3A27 in the gastrointestinal tract of rainbow trout, *Toxicol Appl Pharm*, 177 (2): 94-102.

Lee, J.Y. ve Zhao, L. (2019) Palmitic acid induces mitochondrial dysfunction and apoptosis in cancer cells via ROS generation, *Cell Death & Disease*, 10 (10): 712. https://doi.org/10.1038/s41419-019-1927-1

Lee, S.H. ve Kim, J.H. (2024) Cytosolic sterol esterification and storage in fungal lipid droplets, *J. Lipid Res*, 65: 87–97.

Lemieszek, M. ve Rzeski, W. (2012) Anticancer properties of polysaccharides isolated from fungi of the Basidiomycetes class, *Cont. Oncology*, 16: 285.

Li, P., Deng, Y.P., Wei, X.X. ve Xu, J.H. (2013) Triterpenoids from *Ganoderma lucidum* and their cytotoxic activities, *Nat. Prod Res*, 27 (1): 17–22. https://https://doi.org/10.1080/14786419.2011.652961.

Li, H., Wu, S. ve Zhang, Z. (2023) Hydroxylases involved in terpenoid biosynthesis: A review, *BIOB*, 10 (1): 56. https://https://doi.org/10.1186/s40643-023-00656-1.

Li, L., Zhu, Y., Cheng, W., Di, F., Zhang, J. ve Wang, C. (2024) Efficacy of Ergosterol and Ergosterol peroxide in different anti-inflammatory models – A comparison study, *Food Agric. Immunol*, 35 (1). https://https://doi.org/10.1080/09540105.2024.2423638.

Li, W., Zhou, W., Song, S.B., Shim, S.H. ve Kim, Y.H. (2014) Sterol fatty acid esters from the mushroom *Hericium erinaceum* and their PPAR transactivational effects, *J Nat Prod*, 77: 2611-2618.

Li, J., Ding, Y. ve Li, A. (2020) Ergosterol targets multiple signaling pathways in cancer cells and exhibits anti-tumor activity, *Biomed. Pharmacother*, 128: 110309. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110309

Llewellyn, D.R. ve Samy, A.M. (2023) Association of dietary phenolic intake with all-cause, cardiovascular, and cancer mortality: A meta-analysis, *Eur. J. Nutr*, 62: 345–358. https://https://doi.org/10.1007/s00394-025-03581-5.

Lim H.W., Yoon J.H., Kim Y.S., Lee M.W., Park S.Y. ve Choi H.K. (2007) Free radical-scavening and inhibition of nitric oxide production by four grades of pine mushroom (*Tricholoma matsutake* Sing.), *Food Chem*, 103 (4): 1337-1342.

Lindequist, U., Niedermeyer, T.H.J. ve Jülich, W.D. (2005) The pharmacological potential of mushrooms, eCAM, 2 (3): 285-299.

Liu, J. (2020) Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid, *J. Ethnopharmacol*, 128 (2): 221–233. https://https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112897

Liu, D.Z. (2014) A review of ergostane and cucurbitane triterpenoids of mushroom origin, *Nat. Pro. Res*, 28:14, 1099-1105, DOI: 10.1080/14786419.2014.900767.

Liu, X., Xiao, X. ve Li, H. (1988) Purification and some physicochemical characteristics of antiinflammatory protein from *Clitocybe geotropa*, *Weishengwu Xuebao*, 28 (4): 346-349.

Liu, R., Li, A. ve Sun, A. (2004) Preparative isolation and purification of hydroxyanthraquinones and cinnamic acid from the Chinese medicinal herb *Rheum officinale* Baill. by high-speed counter-current chromatography, *J. Chrom. A*, 1052 (1–2): 217–221. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.101

Losoya-Sifuentes, C., Cruz, M., del Refugio Rocha-Pizaña, M., Lored-Trevino, A. ve Belmares, R. (2025) Edible mushrooms: A nutrient-rich ingredient for healthier food Products – A Review, *Curr Nutr Rep*, 14 (9). https://doi.org/10.1007/s13668-024-00605-0.

Lucas, E.H. (1957) Tumor inhibition in *Boletus edulis* and other Holobasidiomycetes, *Antibiotic Chemotherapy*, 7: 1-15.

Luo, D.Q., Liang, S.J., Shi, Y.L. ve Tang, H.L. (2009) Mitissimolone, A new sesquiterpene with a novel carbon skeleton from the basidiomycete *Lactarius mitissimus*, *Helv Chim Acta*, 92 (10): 2082-2085.

Lyu, H.N., Lee, D.Y., Lee, M.K., Cho, M.H., Jeong, T.S., Kim, I.H., Baek, N.I. (2009) Inhibition of LDL-oxidation by phenolic compounds from the fruit body of *Phellinus linteus*, *J. Appl. Biol. Chem*, *KSABC*, 52 (3): 147-150. https://doi.org/10.3839/jabc.2009.025

Mahajna, J.A., Yassin, M. ve Wasser, S.P. (2006) *Mushroom extracts having anticancer activity*, (Patent No. US20060045887A1) United States Patent and Trademark Office, https://patents.google.com/patent/US20060045887A1/en

Makropoulou, M., Athanasakis, G., Aligiannis, N., Fokialakis, N., Gonou, Z., Pratsinis, H. ve Skaltsounis, A.L. (2007) Bioactive constituents of the edible wild mushrooms *Gomphus clavatus* and *Lactarius salmonicolor*, *Planta Med*, Meeting abstract: PosterNo:303, 73 (09): 917.

Matsumori, N., Kaneno, D., Murata, M., Nakamura, H. ve Tachibana, K., (1998) Stereochemical determination of acyclic structure based on carbon-proton spin-coupling constants, A method of configuration analysis for natural products, *J. Org. Chem*, 64: 866-876.

Mattila, P., Könkö, K., Eurola, M., Pihlava, J.M., Astola, J. ve Vahteristo, L. (2001) Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms, *J. Agric. Food Chem*, 49: 2343-2348.

Mattila, P., Salo-Väänänen, P., Könkö, K., Aro, H. ve Jalava, T. (2002) Basic composition and amino acid contents of mushrooms cultivated in Finland, *J Agric Food Chem*, 50: 6419–6422.

Mattila, P., Suonpaa, K. ve Piironen, V. (2000) Functional Properties of Edible Mushrooms, *Nutrition*, 16 (7/8): 694-696.

Mau, J.L., Lin, H.C. ve Chen, C.C. (2002) Antioxidant properties of several medicinal mushrooms, *J. Agric. Food Chem*, 50: 6072–6077.

Mau, J.L., Lin, H.C. ve Song, S.F. (2002) Antioxidant properties of several specialty mushrooms, Food Res. Int, 35 (6): 519–526. doi:10.1016/s0963-9969(01)00150-8.

Mercan, N., Duru, M.E., Türkoğlu, A., Gezer, K., Kıvrak, İ. ve Türkoğlu, H. (2006) Antioxidant and antimicrobial properties of ethanolic extract from *Lepista nuda* (Bull.) Cooke, Ann. Microbiol, 56: 339-344.

Micó, E., Aguirrebengoa, M., Quinto, J., Juárez, M., Marmaneu, J. ve Sánchez, Á. (2024) Physical decomposition stage and ergosterol content predict the chemical composition of downed dead wood in Mediterranean dehesas, *Eur. J. For. Res*, 143: 1117–1133. https://https://doi.org/10.1007/s10342-024-01672-2

Miller, K.D., Nogueira, L., Mariotto, A.B., Rowland, J.H., Yabroff, K.R., Alfano, C.M., et al. (2019) Cancer treatment and survivorship statistics, *CA Cancer J. Clin*, 69: 363–385. doi:10.3322/caac.21565.

Miniati, E. (2007) Assessment of phenolic compounds in biological samples, *Ann. Ist. Super. Sanità*, 43: 362–368.

Mizuno, T. (1999) The extraction and development of antitumor-active polysaccharides from medicinal mushrooms in Japan [Review], *Int J Med Mushroom*, 1: 9–30.

Mleczek, M., Magdziak, Z., Golinski, P., Siwulski, M. ve Stuper-Szablewska, K. (2013) Concentrations of minerals in selected edible mushroom species growing in Poland and their effect on human health, *Acta Sci. Pol, Technol. Aliment*, 12 (2): 203-214.

Mohamed, S., Caporali, L., De Giorgio, R., Carelli, V. ve Contin, M. (2014) HPLC-UV analysis of thymidine and deoxyuridine in plasma of patients with thymidine phosphorylase deficiency, *J. Chromatogr. B*, 949–950, 58–62.

Moncada, S, Palmer, R. ve Higgs, E. (1991) Nitric oxide physiology, pathophysiology and pharmacology, *Pharmacol Rev*, 43: 109–142.

Moradali, M.F., Mostafavi, H., Ghods, S. ve Hedjaroude, G.A. (2007) Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi), *Int Immunopharm*, 7: 701–724.

Morales, D., Rutckeviski, R., Villalva, M., Abreu, H., Soler-Rivas, C., Santoyo, S. ve Smiderle, F.R. (2020) Isolation and comparison of α- and β-D-glucans from shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) with different biological activities, *Carbohydr. Polym*, 229: 115521. doi:10.1016/j.carbpol.2019.115521

Morisaki, K., Fushimi, T., Kaneko, S., Kusakabe, I. ve Kobayashi, H. (2001) Screening for phenoloxidases from edible mushrooms, *Biosci Biotech Bioch*, 65 (10): 2334-2336.

Morris, D.C., Safe, S. ve Subden, R.E. (1974) Detection of the ergosterol and episterol isomers lichesterol and fecosterol in nystatin-resistant mutants of *Neurospora crassa*, *Biochem Genet*, 12 (6): 460-466.

Murcia, M.A., Martinez-Tome, M., Jimenez, A.M., Vera, A.M., Honrubia, M. ve Parras, P. (2002) Antioxidant activity of edible fungi (truffles and mushrooms): losses during industrial processing, *J. Food Prot*, 10: 1614–1622.

Muszyńska, B., Kała, K., Radović, J., Sułkowska-Ziaja, K., Krakowska, A., Gdula-Argasińska, J., Opoka, W. ve Kundaković, T. (2018) Study of biological activity of *Tricholoma equestre* fruiting bodies and their safety for human, *Eur Food Res Technol*, 244: 2255–2264.

Mutlu D. (2022), *Mantar polisakkaritlerinin izolasyonu, antikanser, antibiyofilm ve antienflamatuvar etkilerinin belirlenmesi*, Doktora Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, 172s

Mutlu, D., Çakır, C., Öztürk, M., ve Arslan, Ş. (2022) Anticancer and apoptotic effects of a polysaccharide extract isolated from *Lactarius chrysorrheus* Fr. in HepG2 and PANC-1 cell lines, *Arch. Biol. Sci*, 74 (4): 315-324.

Naczk, M. ve Shahidi, F. (2022) Phenolic acids: occurrence, chemistry and health effects, *In Phenolic Comp. Food Health*, 1–30).

Nes, W.D. (2011) Biosynthesis of cholesterol and other sterols, *Chem Rev*, 111 (10): 6423-6451.

Nes, W.D. (2011) Biosynthesis of cholesterol and other sterols, *Compreh. Nat. Prod. II*, 5: 225–259.

Nimura, H., Mitsumori, N. ve Takahashi, N. (2006) S-1 combined with lentinan in patients with unresectable or recurrent gastric cancer, *Gan To Kagaku Ryoho*, 33 (1):106-109.

Ohnuma, N., Amemiya, K., Kakuda, R., Yaoita, Y., Machida, K. ve Kikuchi, M. (2006) Sterol constituents from two edible mushrooms, *Lentinula edodes* and *Tricholoma matsutake*, *Chem Pharm Bull*, 48: 749-751.

Ohuchi, K. ve Aoyagi, Y. (2010) Inhibitory effect of mushroom extracts on α-amylase and α-glucosidase, *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 57 (12): 532-538.

Ooi V.E.C. (2001) Pharmacological studies on certain mushrooms from China, *Int J Med Mushrooms*, 3 (4): 341-354.

Ouzouni, P.K., Veltsistas, P.G., Paleologos, E.K. ve Riganakos, K.A. (2007) Determination of metal content in wild edible mushroom species from regions of Greece, *J Food Compos Anal*, 20 (6): 480-486.

Özgün-Acar, O., Celik-Turgut, G., Gazioglu, I., Kolak, U., Ozbal, S., Ergur, B.U., Arslan, S., Sen, A. ve Topcu, G. (2016) Capparis ovata treatment suppresses inflammatory cytokine expression and ameliorates experimental allergic encephalomyelitis model of multiple sclerosis in C57BL/6 mice, *J Neuroimmunol*, 15 (298):106-16.

Öztürk M. (2008) *Micromeria cilicica ve M. juliana türlerinde antioksidan bileşiklerin hplc ile analizi ve yapılarının aydınlatılması*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Öztürk, M., Duru, M. E., Kivrak, S., Mercan-Doğan, N., Türkoglu, A. ve Özler, M.A. (2011) *In vitro* antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activity studies on three *Agaricus* species with fatty acid compositions and iron contents: a comparative study on the three most edible mushrooms, *Food and Chem Toxicol*, 49 (6): 1353–60. https:// doi.org/ 10. 1016 /j.fct.2011.03.019

Öztürk, M., Tel-Cayan, G., Muhammad, A., Terzioglu, P. ve Duru, M.E. (2015) *Mushrooms: a source of exciting bioactive compounds*, Atta-ur-Rahman (editör), *Nat. Prod. Chem*, vol. 45. Elsevier, Amsterdam, Netherlands, pp. 363–456.

Öztürk, M., Tel-Çayan, G., Muhammad, A., Terzioğlu, P. ve Duru, M.E. (2015) *Mushrooms: a source of exciting bioactive compounds*, Ed.: Atta-ur-Rahman, Chapter *In Studies in Natural Product Chemistry*, Amsterdam: *Elsevier* 45: 363-456.

Palazzolo, E., Gargano M.L. ve Venturella, G. (2012) The nutritional composition of selected wild edible mushrooms from Sicily (southern Italy), *Int J Food Sci Nutr*, 63 (1): 79-83.

Paloi, S., Kumla, J., Paloi, B.P., Srinuanpan, S., Hoijang, S., Karunarathna, S.C., Acharya, K., Suwannarach, N. ve Lumyong, S. (2023) Termite mushrooms (*Termitomyces*), a potential source of nutrients and bioactive compounds exhibiting humanhealth benefits: A Review, *J. Fungi*, 9: 112. https://doi.org/ 10.3390/jof9010112.

Pan, W.J., Ding, Q.Y., Wang, Y., Wang, D.D., Lu, Y.M., Yang, W.W., Cai, Z.N., Cheng, X.D., Zhang, W.N. ve Chen, Yan. (2018) A bioactive polysaccharide TLH-3 isolated from *Tricholoma lobayense* protects against oxidative stress-induced premature senescence in cells and mice, *J Funct Foods*, 42: 159–170.

Panda, S.K., Sahoo, G., Swain, S.S. ve Luyten, W. (2022) Anticancer activities of mushrooms: a neglected source for drug discovery, *Pharmaceuticals*, 15: 176. https://doi.org/10.3390/ ph15020176.

Pang, Z. ve Sterner, O. (1994) The isolation of 2,2'-biindoline-3,3'-diones from injured fruit bodies of *Collybia peronata* and *Tricholoma scalpturatum*, *J Nat Prod*, 57 (6): 852-857.

Pang, Z., Bergquist, K. E. ve Sterner, O. (1994) The isolation of a new isochromanone from injured fruit bodies of *Tricholoma scalpturatum*, *Acta Chem Scand*, 48 (5): 453-454.

Papas, A. M. (1996) Determinants of antioxidant status in humans, *Lipids*, 31 (1): 77 82.

Parkin, D.M. (2000) Global cancer statistics in the year 2000, *Lancet Oncol*, 2: 533-543.

Parkin, D.M., Pisani, P. ve Ferlay, J. (1999) Estimates of the worldwide incidence of major cancers in 1990, *Int J Cancer*, 80: 827-841.

Patel, S. ve Goyal, A. (2012) Recent developments in mushrooms as anti-cancer therapeutics: A review, *3 Biotech*, 2 (1): 1-15.

Patel, S.R. ve Green, M.A. (2023) Sterol regulation of development and 20-hydroxyecdysone biosynthesis in insects, *Insect Biochem Mol Biol*, 152: 103401.

Pereira, D.M., Valentao, P., Pereira, J.A. ve Andrade, P.B. (2009) Phenolics: from chemistry to biology, *Molecules*, 14: 2202–2211.

Piccialli, V. and Sica, D. (1987) Four new trihydroxylated sterols from the sponge *Spongionella gracilis*, *J. Nat. Prod*, 50 (5):915-920.

Pislar, A., Sabotic, J., Slenc, J., Brzin, J. ve Kos, J. (2016) Cytotoxic *L*-amino-acid oxidases from *Amanita phalloides* and *Clitocybe geotropa* induce kaspaz-dependent apoptosis, *Cell Death Disc*, 2: 16021.

Potì, F., Santi, D., Spaggiari, G., Zimetti, F. ve Zanotti, I. (2019) Polyphenol health effects on cardiovascular and neurodegenerative disorders: A review and meta-analysis, *Int. J. Mol. Sci*, 20: 351. https://https://doi.org/10.3390/ijms20020351.

Poyraz, B., Güneş, H., Bahar, T.Ü.L. ve Sermenli, H.B. (2015) Antibacterial and antitumor activity of crude methanolic extracts from various macrofungi species, *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 8 (1): 05-10.

Quang, D.N. ve Bach, D.D. (2008) Ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one from Vietnamese *Xylaria* sp. possessing inhibitory activity of nitric oxide production, *Nat Prod Res*, 22: 901–906.

Quinche, J.P. (1983) Selenium content in 95 species of mushrooms and some soils, *Schweizerische Landwirtschaftliche Forschung*, 22 (3-4): 137-144.

Ragupathi, V., Stephen, A., Arivoli, D. ve Kumaresan, S. (2018) *In vitro* antibacterial activity of methanolic extract of wild mushrooms from southern western ghats, *India Int J Phytopharmacy Res*, 9 (1): 32-39.

Regerat, F., Pourrat, H. ve Pourrat, A. (1976) Study of ergosterol in the carpophores of several macromycetes, *Ann Pharm Fr*, 34 (5-6): 231-235.

Regina, M.M.G., Elisabeth, W., Jamile, R.R., Jorge, L.N. ve Sandra, A.F. (2008) Alternative medium for production of *P. ostreatus* biomass and potential antitumor polysaccharides, *Bioresour Technol*, 99: 76–82.

Reis, F.S., Heleno, S.A., Barros, L., Sousa, M.J., Martins, A., Santos-Buelga, C. ve Ferreira, I.C.F.R. (2011) Toward the antioxidant and chemical characterization of mycorrhizal mushrooms from Northeast Portugal, *J Food Sci*, 76 (6): C824-C830.

Reis, F.S., Martins, A., Vasconcelos, M.H., Morales, P. ve Ferreira, I.C.F.R. (2017) Functional foods based on extracts or compounds derived from mushrooms, *TFST*, 66: 48–62. doi:10.1016/j.tifs.2017.05.010.

Ren, L., Perera, C. ve Hemar, Y. (2012) Antitumor activity of mushroom polysaccharides: A review, *Food & Function*, 3 (11): 1118. doi:10.1039/c2fo10279j.

Ren, M., Ye, L., Hao, X., You, Z., Ren, S., Xu, K. ve Li, J. (2014) Polysaccharides from *Tricholoma matsutake* and *Lentinus edodes* enhance 5-fluorouracil-mediated H22 cell growth inhibition, *J Traditional Chinese Med*, 15, 34 (3): 309-316.

Ribeiro, A.C.R. ve De Moura, S. (2023) Health-promoting and sensory characteristics of phenolic compounds in food: effects on color, flavor, astringency, and aroma, *Revista Ceres*, 70 (2): e20220150. https://https://doi.org/10.1590/0034-737X202370020050.

Riyadi, S.A., Naini, A.A., Mayanti, T., Lesmana, R., Azmi, M.N. ve Supratman, U. (2024) The Cytotoxic evaluation of steroids isolated from *Dysoxylum alliaceum* (Blume) Blume ex A.Juss. *Molekul*, 19 (3): 471-480.

Rodrigues, M.L., Nimrichter, L., Cordero, R.J. ve Casadevall, A. (2011) Fungal polysaccharides: biological activity beyond the usual structural properties, *Front Microbiol*, 2: 171.

Rossi, G. ve Marini, F. (2023) Advances and challenges in plant sterol research, *Molecules*, 28 (18): 6526. https://https://doi.org/10.3390/molecules28186526

Roupas, P., Keogh, J., Noakes, M., Margetts, C. ve Taylor, P. (2012) The role of edible mushrooms in health: Evaluation of the evidence, *J. Funct. Foods*, 4: 687.

Rout, S. ve Banerjee, R. (2007) Free radical scavenging, antiglycation and tyrosinase inhibition properties of a polysaccharide fraction isolated from the rind from *Punica granatum*, *Bioresour Technol*, 98: 3159–3163.

Ruthes, A.C., Carbonero, E.R., Cordova, M.M., Baggio, C.H., Santos, A.R.S., Sassaki, G. L., Cipriani, T.R., Gorin, P.A.J. ve Lacomini, M. (2013) *Lactarius rufus* (13), (16)-D-glucans: Structure, antinociceptive and anti-inflammatory effects, *Carbohyd Polym*, 94 (1): 129-136.

Rzymski, P., Klimaszyk, P. ve Benjamin, D. (2010) Update the comment on "Study of biological activity of Tricholoma equestre fruiting bodies and their safety for human", *Eur Food Res Technol*, 245: 963–965.

Şahin, C., Mutlu, D., Nasirli, F., Mahmoudi, G., Zubkov, I.F., Arslan, S., Dogan, N.M. (2021) New iridium bis-terpyridine complexes: synthesis, characterization, antibiofilm and anticancer potentials, *Biometals*, 34: 701-13.

Şahin, E., Keskin, E. ve Akata, I. (2021) Molecular characterization of a novel partitivirus hosted by the false morel mushroom Gyromitra esculenta, *Arch. Virol*, 166 (4): 1247-51.

Şen, A. ve Arinc, E. (1998) Preparation of highly purified cytochrome P4501A1 from leaping mullet (liza saliens) liver microsomes and its biocatalytic, molecular and immunochemical properties, *Comp. Biochem. Physiol. Part C, Pharm. Toxicol. Endoc,* 121(1-3): 249-265.

Şen, A., Terzioglu, G., Atmaca, P., Celik, G., Ozgun, O. ve Arslan, S. (2015) Modulatory actions of o-coumaric acid on carcinogen-activating cytochrome P450 isozymes and the potential for drug interactions in human hepatocarcinoma cells, *Pharm Biology*, 53 (9):1391-1398.

Şen, İ., Allı, H., Çöl, B., Çelikkollu, M. ve Balcı, A. (2012) Trace metal contents of some wild-growing mushrooms in Bigadiç (Balıkesir), Turkey, *Turk. J. Bot*. 36: 519-528, doi:10.3906/bot-1103-14.

Sabotic, J., Brzin, J., Erjavec, J., Dreo, T., Tušek Žnidaric, M., Ravnikar, M. ve Kos, J. (2020) L-Amino acid oxidases from mushrooms show antibacterial activity against the phytopathogen *Ralstonia solanacearum, Front Microbiol*, 11: 977. doi:10.3389/fmicb.2020.00977.

Sadi, G., Emsen, B., Kaya, A., Kocabas, A., Cinar, S. ve Kartal, D.I. (2015) Cytotoxicity of some edible mushrooms extracts over liver hepatocellular carcinoma cells in conjunction with their antioxidant and antibacterial properties, *Pharmacog Mag*, 11: 6–18.

Sakai, S., Tomomura, Y., Yoshida, H., Inoue, S. ve Kawagishi, H. (2005) Orirubenones D to G, novel phenones from the *Tricholoma orirubens* mushroom, *Biosci. Biotech. Bioch*, 69: 1630-1632.

Sakairi, M., Kambara, H. (1988) Characteristics of a liquid chromatograph/atmospheric pressure ionization mass spectrometer, *Anal. Chem*, 60 (8): 774-780.

Sánchez, C. (2017) Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms, *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 100 (7): 3125-3134.

Sarikurkcu, C., Copur, M., Yildiz, D. ve Akata, I. (2011) Metal concentration of wild edible mushrooms in Soguksu National Park in Turkey, *Food Chem*, 128 (3): 731-734.

Sarikürkcü, C., Tepe, B., Semiz, D.K. ve Solak, M.H. (2010) Evaluation of metal concentration and antioxidant activity of three edible mushrooms from Muğla, Turkey, *Food Chem Toxicol*, 48 (5), 1230-1233.

Schaefer, J. ve Stejskal, E.O. (1974) Carbon13 nuclear magnetic resonance measurement of oil composition in single viable soybeans, *J Am Oil Chem Soc*, 51 (5): 210-213.

Senatore, F. (1992) Chemical constituents of some mushrooms, *J Sci Food Agric*, 58 (4): 499-503.

Servi, H., Akata, I. ve Çetin, B. (2010) Macrofungal diversity of Bolu Abant Nature Park (Turkey), *Afr J Ecol Biotechnol*, 9 (24); 3622-3628.

Sesli, E. ve Denchev, C.M. (2008) Checklists of the Myxomycetes, Larger Ascomycetes, and larger Basidiomycetes in Turkey, *Mycotaxon*, 106: 65-67.

Sesli, E. ve Tuzen, M. (2006) Micro- and macroelement contents of edible wild growing mushrooms in Artvin province of Turkey, *Asian J Chem*, 18 (2):1423 1429.

Severoglu, Z., Sumer, S., Yalcin, B., Leblebici, Z. ve Aksoy, A. (2013) Trace metal levels in edible wild fungi, *Int J Environ Sci Technol*, 10 (2): 295-304.

Sevindik, M., Yıldız, M. ve Demirci, F. (2020) Antioxidant and antigenotoxic potential of *Infundibulicybe geotropa* mushroom collected from northwestern Turkey, *Oxid Med Cell Longev*, Article 7053473. https://https://doi.org/10.1155/2020/7053473

Sezgin, S., Dalar, A. ve Uzun, Y. (2020) Determination of antioxidant activities and chemical composition of sequential fractions of five edible mushrooms from Turkey, *J Food Sci Technol*, 57: 1866–1876.

Sgarbi, D.B.G., Silva, A.J.R., Carlos, I.Z., Silva, C.P., Angluster, J. ve Alviano, C.S. (1997) Isolation of ergosterol peroxide and its reversion to ergosterol in the pathogenic fungus *Sporothrix schenckii*, *Mycopathologia*, 139: 9-14.

Shahidi, F. ve Ambigaipalan, P. (2023) Phenolic acids and their health effects: an updated review, *JAFC*, 71 (25): 8360–8380.

Shavit, E. (2014) *The history of desert truffle use*, Desert truffles, Springer, Berlin Heidelberg, p (217–241).

Shavit, E. (2008) Truffles roasting in the evening fires, *Fungi Mag*, 1: 18−23.

Shavit, E. ve Shavit, E. (2014) *Truffles roasting in the Evening fires the medicinal value of desert truffles*, Kagan-Zur, V., Roth-Bejerano, N., Sitrit, Y., Morte, A. (Editörler), Desert truffles, Springer, Berlin, Heidelberg, p (323-340).

Sheikh, I.A., Vyas, D., Ganaie, M.A., Dehariya, K. ve Singh, V. (2014) HPLC determination of phenolics and free radical scavenging activity of ethanolic extracts of two polypore mushrooms, *Int J of Pharm Pharm Sci*, 6 (2): 679–684.

Siegel, R. L., Miller, K. D. ve Jemal, A. (2020) Cancer statistics, 2020, *CA Cancer J Clin*, 70 (1): 7-30.

Singh, S.S., Wang, H., Chan, Y.S., Pan, W., Dan, X., Yin, C.M., Akkouh O. ve Ng T.B. (2014) Lectins from edible mushrooms, *Molecules*, 20 (1): 446-69.

Smith, J.A. ve Brown, L.M. (2025) Sterols in plant biology: advances in membrane dynamics and functional roles, Plant Sci, 18: 410–432.

Smolskait, L., Venskutonis, P.R. ve Talou, T. (2015) Comprehensive evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of different mushroom species, FS&T, 60 (1): 462–471.

Soylak, M., Saracoglu, S., Tuezen, M. ve Mendil, D. (2005) Determination of trace metals in mushroom samples from Kayseri, *Turkey, Food Chem*, 92 (4): 649-652.

Spratt, J.S., Donegan, W.L. ve Sigdestad, C.P. (1995) *Epidemiology and etiology, In Donegan*, W.L., Spratt, J.S., eds. Cancer of the breast, Philadelphia: WB Saunders, 116-141.

Stachel, S.J., Nilges, M. ve Van Vranken, D. (1997) Synthesis and isomerization of Biindolinones from *Collybia peronata* and *Tricholoma scalpturatum*, *J Org Chem*, 62 (14): 4756-4762.

Stadler, M. ve Sterner, O. (1998) Production of bioactive secondary metabolites in the fruit bodies of macrofungi as a response to injury, *Phytochemistry*, 49 (4): 1013-1019.

Stankeviciene, D. (2000) Heavy metal concentration in certain macromycetes growing near a chemical factory, *Ekologija*, 3: 34-40.

Stankeviciene, D. (2004) Heavy metals in agaricoid fungi from a deciduous forest under direct human impact, *Met Ions Biol Med*, 8: 182-185.

Sterniša, M., Sabotič, J. and Klančnik, A. (2022) A novel approach using growth curve analysis to distinguish between antimicrobial and anti-biofilm activities against *Salmonella*, *Int.J. Food Microbiol*, 364: doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109520.

Stevenson, G. (1964) The Agaricales of New Zealand, *V. Kew Bulletin*, 19 (1): 1-59.

Stijve, T. ve Bourqui, B. (1991) *Arsenic in edible mushrooms*, Deutsche Lebensmittel-Rundschau, 87 (10): 307-310.

Stijve, T., Diserens, H., Oberson, J.M. ve De Meijer, A.A.R. (1998) The natural inorganic bromide content of edible mushrooms, *Deut Lebensm-Rundsch*, 94 (4): 112-117.

Stijve, T. ve De Meijer, A.A.R. (1999) Hydrocyanic acid in mushrooms, with special reference to wild-growing and cultivated edible species, *Deut Lebensm-Rundsch*, 95 (9): 366-373.

Stojkovic, D.S., Barros, L., Calhelha, R.C., Glamoclija, J., Ćiric, A., Van Griensven, L.J.L.D., Sokovic, M. ve Ferreira, I.C.F.R. (2014) A detailed comparative study between chemical and bioactive properties of *Ganoderma lucidum* from different origins, *Int J Food Sci Nutr*, 65 (1): 42–47.

Su, S., Fu, L., Hou, Y. ve Ding, X. (2019) Structural characterization and immune regulation of a novel polysaccharide from Maerkang *Lactarius deliciosus* Gray, *Int J Mol Med*, 44 (2): 713-724.

Sullivan, R., Smith, J.E. ve Rowan, N.J. (2006) Medicinal mushrooms and cancer therapy: translating a traditional practice into Western medicine, *Perspect. Biol. Med*, 49: 159-70.

Sun, W. ve Shahrajabian, M.H. (2023) Therapeutic potential of phenolic compounds in medicinal plants, *Molecules*, 28 (4): 1845. https://doi.org/10.3390/molecules28041845.

Suttiarporn, P., Chumpolsri, W., Mahatheeranont, S., Luangkamin, S., Teepsawang, S. ve Leardkamolkarn, V. (2015) Structures of phytosterols and triterpenoids with potential anti-cancer activity in bran of black non-glutinous rice, *Nutrients*, 7 (3): 1672–1687. doi:10.3390/nu7031672.

Syafni, N., Putra, D.P. ve Arbain, D. (2012) 3,4-dihydroxybenzoic acid and 3,4-dihydroxybenzaldehyde from the fern *Trichomanes chinense* L., isolation, antimicrobial and antioxidant properties, *Indones. J. Chem*, 12 (3): 273-278.

Takashi, M. (1995). Shiitake, *Lentinus edodes*: Functional properties for medicinal and food purposes, *Food Rev. Int*, 11 (1): 111-28.

Takeuchi, T., Nakajima, M. ve Morimoto, K. (1994) Establishment of a human system that generates $O_2^{\bullet-}$ and induces 8-hydroxydeoxyguanosine, typical of oxidative DNA damage, by a tumor promoter, *Cancer Res*, 54: 5837–5840.

Talou, T., Breheret, H.B.S. ve Gaset, A. (2000) Identification of the major key flavor compounds in odorous wild mushrooms, *Frontiers of Flavour Sciences*, Proceedings of the Weurman Flavour Research Symposium, 9th, Freising, Germany, 46-50.

Tanaka, M., Kuie, C. W., Nagashima, Y. ve Taguchi, T. (1998) Applications of antioxidative Maillard reaction products from histidine and glucose to sardine products, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54: 1409-1414.

Tanaka, R., Toyoshima, M. ve Yamada, T. (2011) New lanostane-type triterpenoids, inonotsutriols D, and E, from *Inonotus obliquus*, Phytochem Lett, 4: 328-332.

Taşan, M. (2008) *Fitosterollerin insan Beslenmesindeki Yeri ve Sağlığa Etkileri*, Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.

TC. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü (2017) Türkiye Kanser İstatistikleri.

Tel Çayan G. (2016) *Isolation and structure elucidation of compounds having antioxidant and anticholinesterase activities from Rhizopogon luteolus and Ganoderma adspersum mushroom species*, Doktora Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla, 261s

Tel, G., Apaydın, M., Duru, M.E. ve Öztürk, M. (2012) Antioxidant and cholinesterase inhibition activities of three *Tricholoma* species with total phenolic and flavonoid contents: The edible mushrooms from Anatolia, *Food Anal Methods*, 5 (3): 495–504. https://doi.org/10.1007/s12161-011-9275-4.

Tel, G., Cavdar, H., Deveci, E., Ozturk, M., Duru, M. E. ve Turkoglu, A. (2014) Minerals and metals in mushroom species in Anatolia, *Food Addit Contam, Part B*: *Surveillance,* 7 (3): 226-231.

Tel-Çayan, G., Öztürk, M., Duru, M.E., Rehman, M., Adhikari, A., Türkoglu, A. ve Choudhary, M.I. (2015) Phytochemical investigation, antioxidant and anticholinesterase activities of *Ganoderma adspersum*, *Ind Crops Prod*, 76: 749-75.

Tepe, B., Eminagaoglu, O., Akpulat, H.A. ve Aydin, E. (2007) Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia verticillata* (L.) subsp. *verticillata* and *S. verticillata* (L.) subsp. amasiaca (Freyn & Bornm.) Bornm, *Food Chem*, 100: 985–989.

Tong, H., Liu, X., Tian, D. ve Sun, X. (2013) Purification, chemical characterization and radical scavenging activities of alkali-extracted polysaccharide fractions isolated from the fruit bodies of *Tricholoma matsutake*, *World J Microbiol Biotechnol*, 29 (5): 775–780. https://doi.org/10.1007/s11274-012-1232-x

Tong, H., Xia, N., Feng, K., Sun, G., Gao, X., Sun, L., Jiang, R., Tian, D. ve Sun, X. (2009) Structural characterization and in vitro antitumor activity of a novel polysaccharide isolated from the fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus*, *Bioresour Technol*, 100: 1682–1686.

Topalian, S.L., Taube, J.M. ve Pardoll, D.M. (2016) Mechanisms of response and resistance to immune checkpoint blockade, *ASCO*, 35: 185-196.

Torre, L.A., Bray, F., Siegel, R.L., Ferlay, J., Lortet-Tieulent, J. ve Jemal, A. (2012) Global cancer statistics, *CA Cancer J Clin*, 65 (2): 87-108.

Tsukamoto, S., Macabalang, A. D., Nakatani, K., Obara, Y., Nakahata, N. ve Ohta, T. (2003) Tricholomalides A-C, new neurotrophic diterpenes from the mushroom *Tricholoma* sp., *J Nat Prod*, 66 (12): 1578–1581. https://doi.org/10.1021/np030140

Tuncer, İ., Burgut, R., Bozdemir, N. ve Coşar, E.F. (1994) *Türkiye'de Kanser Sıklığı*, Tübitak ve Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana.

Turhan, Ş., Akata, I., Kumru, E. ve Altuner, E.M. (2024) Heavy metal analysis of wild edible mushrooms grown in Türkiye and assessment of possible carcinogenic and non-carcinogenic risk, *J. Food Compos. Anal*, 135: doi: 10.1016/j.jfca.2024.106581.

Türkmen, M. ve Budur, D. (2018) Heavy metal contaminations in edible wild mushroom species from Turkey's Black Sea region, *Food Chem*, 254: 256-259.

Türkoğlu, A., Duru, M.E., Mercan N, Kıvrak, İ. ve Gezer, K. (2007) Antioxidant and antimicrobial activity of *Laetiporus sulphureus* (Bull. Fr.) Murr, *Food Chem*, 101: 267–273.

Türkoğlu, A., Kıvrak, I., Mercan, N., Duru, M.E., Gezer, K. ve Türkoğlu, H., (2006) Antioxidant and antimicrobial activities of *Morchella conica* Pers., *Afr J Biotechnol*, 5: 1146–1150.

Ullah, Z., Öztürk, M., Ertaş, A., Wahab, A.T., Monsour, R.B. ve Choudhary, M.I. (2022) Insight into isolation and elucidation of cytotoxic ergostanoids from the mushroom *Sarcosphaera crassa* (Santi) Pouzar: An edible mushroom, *Steroids*, 181:108990. doi: 10.1016/j.steroids.2022.108990. Epub 2022 Feb 23. PMID: 35218860.

Ünal, K., Ötleş, S.ve Çağlarirmak, N. (1996) Chemical composition and nutritive value of (A. bisporus) and wild mushroom product grown in Turkey, *Acta Aliment*, 25: 257–266.

Vasdekis, E.P., Karkabounas, A., Giannakopoulos, I., Savvas, D. ve Lekka, M.E. (2018) Screening of mushrooms bioactivity: piceatannol was identified as a bioactive ingredient in the order *Cantharellales*, *Eur Food Res Technol*, 244 (5): 861-871.

Vaz, J.A., Barros, L., Martins, A., Morais, J.S., Vasconcelos, M.H. ve Ferreira, I.C.F.R. (2010) Phenolic profile of seventeen Portuguese wild mushrooms, *LWT--Food Sci. Technol*, 44 (1): 343-346.

Venditti, A., Frezza, C., Sciubba, F., Serafini, M. ve Bianco, A. (2017) Primary and secondary metabolites of a European edible mushroom and its nutraceutical value: *Suillus bellinii* (Inzenga) Kuntze, *Nat Prod Res*, 31 (16): 1910–1919.

Venkateswarlu, S., Ramachandra, M.S., Sethurama, K. ve Subbaraju Gottumukkala, V. (2002) Isolation and characterization of a new hispolone derivative from antioxidant extracts of *Pistacia atlantica*, *Ind. J. Chem. Sect. B Org. Chem. Includ. Med. Chem*. 41: 875–877.

Venturini M.E., Rivera C.S., Gonzalez C. ve Blanco, D. (2008) Antimicrobial activity of extracts of edible wild and cultivated mushrooms against foodborne bacterial strains, *J Food Prot*, 71 (8): 1701-1706.

Vetter, J. (1997) Chromium and nickel contents of some common edible mushroom species, *Acta Aliment*, 26 (2): 163-170.

Vetter, J. (1999) Vanadium content of some common edible, wild mushroom species, *Acta Aliment*, 28 (1): 39-48.

Vetter, J. ve Berta, E. (1997) Mercury content of some wild edible mushrooms, Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A: *Food Res Technol*, 205 (4): 316-320.

Vetter, J., Siller, I. ve Horvath, Z. (1997) Zinc content of sporocarps of basidiomycetous fungi, *Mycologia*, 89 (3): 481-483.

Vetter, Y. (1995) Boron content of edible mushrooms of Hungary, *Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 201 (6): 524-527.

Vetvicka, V. ve Vetvickova, J. (2012) Combination of glucan, resveratrol and vitamin C demonstrates strong anti-tumor potential, *Anticancer Res*, 32 (1): 81-7.

Vibala, B.V., Praseetha, P.K. ve Vijayakumar, S. (2020) Evaluating new strategies for anticancer molecules from ethnic medicinal plants through in silico and biological approach- A review, *Gene Reports*, https://doi.org/10.1016/ j.genrep.2019.100553.

Villares, A., Garcia-Lafuente, A., Guillamon, E. ve Ramos, A. (2012) Identification and quantification of ergosterol and phenolic compounds occurring in *Tuber spp*. Truffles, *J Food Compos Anal*, 26: 177–182.

Villares, A., Mateo-Vivaracho, L., Garcia-Lafuente, A. ve Guillamon, E. (2014) Storage temperature and UV-irradiation influence on the ergosterol content in edible mushrooms, *Food Chem*, 147: 252–256.

Vizzini, A., Contu, M., Musumeci, E. ve Ercole, E. (2011) A New taxon in the *Infundibulicybe Gibba* complex (Basidiomycota, Agaricales, Tricholomataceae) from Sardinia (Italy), *Mycologia*, 103 (1): 203–8. doi: 10.3852/10-137.

Von-Sonntag C. (1987) *The Chemical Basis of Radiation Biology*, London, Taylor & Francis, 15-49.

Wang, H.X., Liu, W.K., Ng, T.B., Ooi, V.E.C. ve Chang, S.T. (1996) The immunomodulatory and antitumor activities of lectins from the mushroom *Tricholoma mongolicum*, *Immunopharmacol*, 31: 205-211.

Wang, H.X., Gao, J.Q. ve Ng, T.B. (2000) A new lectin with highly potent antihepatoma and antisarcoma activities from the oyster mushroom *P. ostreatus*, *Biochem Biophys Res Commun*, 275: 810–816.

Wang, H., Ng, T.B. ve Liu, Q. (2004) Alveolarin, a novel antifungal polypeptide from the wild mushroom *Polyporus alveolaris*, *Peptides*, 25: 693-96.

Wang, Y., Wang, Y. ve Lu, Z. (2006) Antitumor effects of extracellular polysaccharide from *Clitocybe gigantea* AS 5.105 on sarcoma 180 in mice, *Huazhong Nongye Daxue Xuebao*, 25 (5): 568-570.

Wang, H., Lui, G., Zhou, B. ve Hu, X. (2012) Monosaccharide compositional analysis of purified polysaccharide from *Tricholoma matsutake* by capillary gas chromatography, *J Med Plants Res*, 6 (10): 1935-1940.

Wang Hu, L.L., Ma, Q.Y., Huang, S.Z., Guo, Z.K., Guo, J.C., Dai, H.F. ve Zhao, Y.X. (2013b) Two new phenolic compounds from the fruiting bodies of *Ganoderma tropicum*, *Bull Korean Chem Soc*, 34: 884–886.

Wang, J., Zhao, Y., Li, W., Wang, Z. ve Shen, L. (2015) Optimization of polysaccharides extraction from *Tricholoma mongolicum* Imai and their antioxidant and antiproliferative activities, *Carbohyd Polym*, 131: 322–330.

Wang, C., Zhang, J., Dai, Y. ve Wang, J. (2023) Exploring the mechanisms of antioxidants BHA, BHT, and TBHQ: hepatotoxicity, nephrotoxicity, and neurotoxicity insights, *Foods*, 14 (7): 1095. doi.org/10.3390/foods14071095

Wang, X., Liu, Y., Li, J. ve Zhang, L. (2024) Advances in the biosynthesis of plant terpenoids, Plants, 14 (10): 1428. https://https://doi.org/10.3390/plants14101428.

Wang, Q. ve Zhao, H. (2025). Evolution of sterol homeostasis and ergosterol storage in fungal models, *Fungal Biol. Rev*, 40: 120–136.

Ward, V.K.E., Chilvers, M.A. ve Hill, P.J. (2023) Ergosterol extraction: a comparison of methodologies for mycorrhizal fungi, *Access Microbiology*, 5 (4): e000490. https://https://doi.org/10.1099/acmi.0.000490.

Wasser, S.P., Weis, A.L. ve Nevo, E. (1997) Medicinal mushrooms: *Ganoderma lucidum* (Curtis: Fr.) P. Karst. Reishi Mushroom, *Haifa, Israel: Pedelfus Publishing House.*

Wasser, S.P. (2002) Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides, *Appl Microbiol Biotechnol*, 60: 258-74.

Wasser, S. P. (2011) Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms, *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 89 (5): 1323-1332.

Wasser, S.P. ve Weis, A.L. (1999) Medicinal properties of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: current perspectives, *Int. J. Med. Mushrooms*, 1: 31 62,

World Health Organization (WHO). (2008) Cancer.

World Health Organization (WHO). (2022) The World Health Report/Cancer.

World Health Organization (WHO). (2013) Latest world cancer statistics global cancer burden rises to 14.1 million new cases in 2012: Marked increase in breast cancers must be addressed, The World Health Report.

Xiao, S.Y., Guo, S.X., Yu, N.J. ve Xie, F. (2001) Secondary metabolites of *Gliocladium* sp., a growth accelerating fungus for *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 26: 324–326.

Xiao, J. (2020) Guidelines for antioxidant assays for food components: part 2—On the measurement of phenolic compounds, *Food Chem*, 310: 125776. https://https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125776.

Xu, G.H., Kim, J.W., Ryoo, I.J., Choo, S.J., Kim, Y.H., Seok, S.J., Ahn, J.S. ve Yoo, I.D. (2010) Lactariolines A and B: new guaiane sesquiterpenes with a modulatory effect on interferon-g production from the fruiting bodies of *Lactarius hatsudake*, *J Antibiot*, 63 (6): 335-337.

Yagiz, D., Konuk, M., Afyon, A. ve Kok, S.M. (2008) Minor element and heavy metal content of edible wild mushrooms native to Bolu, North-west Turkey, *Fresenius Environ Bulletin*, 17 (2): 249-252.

Yamaç, M. ve Bilgili, F. (2006) Antimicrobial activities of fruit bodies and/or mycelial cultures of some mushroom isolates, *Pharm Biol*, 44 (9): 660-667.

Yamac, M., Yildiz, D., Sarikurkcu, C., Celikkollu, M. ve Solak, M.H. (2007) Heavy metals in some edible mushrooms from the Central Anatolia, Turkey, *Food Chem*, 103 (2): 263-267. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.07.041.

Yamazaki, E., Inagaki, M., Kurita, O. ve Inoue, T. (2007) Antioxidant activity of Japanese pepper (*Zanthoxylum piperitum*) Fruit, *Food Chem*,100: 171–177.

Yaoita, Y., Amemiya, K. ve Ohnuma, H. (1998) Studies on the constituents of mushrooms. Part III. Sterol constituents from five edible mushrooms, *Chem Pharm Bull*, 46: 944–950.

Yermilov, V., Rubio, J. ve Ohshima, H. (1995) Formation of 8-nitroguanine in DNA treated with peroxynitrite in vitro and its rapid removal from DNA by depurination, *FEBS Lett*, 376: 207–210.

Yıldız, H. ve Baysal, T. (2003) Bitkisel fenoliklerin kullanım olanakları ve insan sağlığı üzerine etkileri, *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 14: 29–35.

Yong, F.L., Wang, C.W., Roslani, A.C. ve Law, C.W. (2014) The involvement of miR-23a/APAF1 regulation axis in colorectal cancer, *Int J Mol Sci*, 15 (7):11713-11729.

Yoshida, H., Sugahara, T. ve Hayashi, J. (1983) Composition of organic acids in ethanolic extracts of wild mushrooms, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 30 (6): 375-378.

Yoshida, H., Sugahara, T. ve Hayashi, J. (1984) Free sugars and free sugar alcohols of mushrooms, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 31 (12): 765-771. DOI: 10.3136/nskkk1962.31.12_765.

Yoshikawa, K., Kuroboshi, M., Ahagon, S. ve Arihara, S. (2004) Three novel crustulinol esters, saponaceols A-C, from *Tricholoma saponaceum*, *Chem Pharm Bulletin*, 52: 886, 2004.

Yoshikawa, K., Kuroboshi, M., Arihara, S., Miura, N., Tujimura, N. ve Sakamoto, K. (2002) New triterpenoids from *Tricholoma saponaceum*, *Chem Pharm Bulletin*, 50: 1603, 2002.

You, L., Gao, Q., Feng, M., Yang, B., Ren, J., Gu, L. ve Zhao, M. (2013) Structural characterisation of polysaccharides from *Tricholoma matsutake* and their antioxidant and antitumour activities, *Food Chem*, 138 (4): 2242–2249. https://doi.org/ 10.1016/j.foodchem.2012.11.140

You, Q., Yin, X., Zhang, S. ve Jiang, Z. (2014) Extraction, purification, and antioxidant activities of polysaccharides from *Tricholoma mongolicum* Imai, *Carbohyd Polym*, 99: 1– 10.

Yousfi, M., Djeridane, A., Bombarda, I., Duhem, B., Gaydou, E.M. (2009) Isolation and characterization of a new hispolone derivative from antioxidant extracts of *Pistacia atlantica*, *Phytotherapy Res*, 23 (9):1237-1242.

Zaidman, B.Z., Yassin, M., Mahajna, J. ve Wasser, S.P. (2005) Medicinal mushroom modulators of molecular targets as cancer therapeutics, *Appl Microbiol Biotechnol*, 67 (4): 453-68,

Zeng, P., Li, J., Chen, Y. ve Zhang, L. (2019) The structures and biological functions of polysaccharides from traditional Chinese herbs, *Prog Mol Biol Transl Sci*, 163: 423 44.

Zhang, M., Cui, S.W., Cheung, P.C.K. ve Wang Q. (2007) Antitumor polysaccharides from mushrooms: A review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity, *Trends Food Sci. Technol*, 18: 4–19.

Zhang, A.L., Li, Y.L., Ma, Y.T., Gao, J.M.ve Jia, A.Q. (2009) Phenolic meroterpenoids and steroids from the basidiomycete *Tricholoma imbricatum*, *Biochem Syst Ecol*, 37 (6): 756–758. https://doi.org/10.1016/j.bse.2009.10.002

Zhang, L., Koyyalamudi, S.R., Jeong, S.C., Reddy, N., Smith, P.T., Ananthan, R. ve Longvah, T. (2012) Antioxidant and immunomodulatory activities of polysaccharides from the roots of *Sanguisorba officinalis*, *Int. J. Biol. Macromolec*, 51 (5): 1057 62.

Zhang, L., Reddy, N., Koyyalamudi, S.R. (2014) Chapter 5: *Isolation, characterization and biological activities of polysaccharides from medicinal plants and mushrooms*, In: Stud. Nat. Prod. Chem. Atta-ur-Rahman (Ed.), Elsevier Science Publishers, Oxford, UK.

Zhang, M., Tian, X., Wang, Y., Wang, D., Li, W., Chen, L., Pan, W., Mehmood, S. ve Chen, Yan. (2018a) Immunomodulating activity of the polysaccharide TLH-3 from *Tricholoma lobayense* in RAW264.7 macrophages, *Int J Biol Macromol*, 107: 2679–2685.

Zhang, S.B., Li, Z.H. Stadler, M., Chen H.P. Huang, Y., Gan, X.Q., Feng, T. ve Liu, J.K. (2018b) Lanostane triterpenoids from *Tricholoma pardinum* with NO production inhibitory and cytotoxic activities, *Phytochemistry*, 152: 105-112.

Zhang, Y., Liu, B., Wang, Y. ve Zhang, H. (2018) Anticancer activities of phytosterols from edible and medicinal plants, *Current Medicinal Chemistry*, 25 (35): 4521–4538. https://doi.org/10.2174/0929867325666171117165010

Zhang, T., Du, Y., Liu, X., Sun, X., Cai, E., Zhu, H. ve Zhao, Y. (2019) Study on antidepressant-like effect of protoilludane sesquiterpenoid aromatic esters from *Armillaria mellea*, *Nat. Prod. Res*, 1–4.

Zhang, Q., Du, Z., Zhang, Y., Zheng, Z., Li, Q., Wang, K. (2020) Apoptosis induction activity of polysaccharide from *Lentinus edodes* in H22-bearing mice through ROS mediated mitochondrial pathway and inhibition of tubulin polymerization, *Food Nutr Res*, 21: 64.

Zhou, Y., Chu, M., Ahmadi, F., Agar, O.T., Barrow, C.J., Dunshea, F.R. ve Suleria, H.A.R. (2024) A Comprehensive review on phytochemical profiling in mushrooms: occurrence, biological activities, applications and future prospective, *Food Rev.* Inter. 40 (3): 924-951, DOI: 10.1080/87559129.2023.2202738

Zhou, J., et al. (2025) Ergosterol peroxide disrupts triple-negative breast cancer mitochondrial function and inhibits tumor growth and metastasis, *Sci. Rep*, 14: 19664. https://https://doi.org/10.1038/s41598-024-70516-1.

Zhou, Q., Chen, W. ve Huang, Y. (2025) A comprehensive review of plant volatile terpenoids: functions, synthetic pathways, and molecular engineering, *Biology*, 14 (5): 466. https://https://doi.org/10.3390/biology14050466.

Zhuang, C., Mizuno, T., Ito, H., Shimura, K. ve Sumiya. T. (1994) Chemical modification and antitumor activity of polysaccharides from the mycelium of liquid-cultured *Grifola frondosa*, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 41: 733 40

6. ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı: C** Ç****

Doğum Tarihi: 0*.0*.19**

Doğum Yeri: M***

E-postası: c*****@hotmail.com.tr**

Aldığı Sertifikalar:

1. Glycomics and Glycoproteomics Analysis Workshop (12 October 2023) – Hacettepe University, Ankara, Türkiye, Turkish Proteomics Association (TUPA)

2. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası (3-13 Ocak 2022) - Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Milas Veterinerlik Fakültesi.

3. GMP (İyi Üretim Uygulamaları) 05-06/11/2009 – Kimyagerler Derneği.

4. HACCP (TS EN ISO 22000:2005 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemleri), 15-16/05/2010, Kimyagerler Derneği.

5. TKMG (Tehlikeli Kimyasal Maddeler ve Çalışma Güvenliği), 09/05/2008 – Kimyagerler Derneği.

6. Gıda Sektöründe SM (Sorumlu Müdürlük), 12-13/03/2011 – Kimyagerler Derneği.

Uzmanlık Alanı:

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Kimya	Süleyman Demirel Üniversitesi	2011
Y. Lisans	Analitik Kimya	Süleyman Demirel Üniversitesi	2014
Doktora	Analitik Kimya	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	Devam ediyor

Yüksek Lisans Tez Başlığı (özeti ekte) ve Tez Danışman(lar)ı:

Bazı Sefalosporinlerin Ters Faz Sıvı Kromatografik Yöntemle Ayrılmaları, Fen Bilimleri Enstitüsü, 145 sayfa, Isparta, 2014. Prof. Dr. A. Güleren ALSANCAK.

Doktora Tezi/S.Yeterlik Çalışması/Tıpta Uzmanlık Tezi Başlığı (özeti ekte) ve Danışman(lar)ı:

Infundibulicybe geotropa (Bull.) Harmaja ve *Tricholoma scalpturatum* (Fr.) Quél. mantar türlerinin sitotoksik ve timidin fosforilaz inhibisyon aktivitelerinin belirlenmesi, biyoaktif bileşiklerinin izolasyonu ve yapılarının aydınlatılması, Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla, 2019 (Devam ediyor), Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK.

ESERLER

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

A1. Caliskan, H., Sabudak, T., Orak, H. H., Argon, M., Cakir, C., and Öztürk, M. (2024). Isolation of new isoflavonoid derivatives from *Genista carinalis* Griseb. and biological activity. Nat. Pro. Res. 1–8.

A2. Benmerache, A., Kabouche, A., Kabouche, Z., Öztürk, M., Çakir, C., Yilmaz, M.A., Ertaş, A. (2024). Phenolic Compounds, Antioxidant and Antibacterial Activities of *Cedrus Atlantica* Stem Barks. Pharm Chem J 58, 943–949. https://doi.org/10.1007/s11094-024-03227-6.

A3. Bakhti, S., Bekada, A., Zainol, M.K., Bekada, M.A., Çakir, C., Öztürk, M., Abdelsalam, A.H., Arslan, S. (2024). Chemical composition, cytotoxic potential and antioxidant properties of *Punica granatum* peel extract. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 23 (9), 1596-9827.

A4. Bouhedda, A., Laouer, H., Souilah, N., Çakır, C., Bouriah, N., Abu-Elsaoud A.M., Selamoglu, Z., Ben Hamadi, N., Alomran, M.M., Özdemir, S., Öztürk, M., Boufahja F., Bendif, H. (2024). Does *Erodium trifolium* (Cav.) Guitt exhibit medicinal properties? Response elements from phytochemical profiling, enzyme-inhibiting, and antioxidant and antimicrobial activities. Open Chemistry, 22, 20240049.

A5. Sıcak, Y., Öztürk, İ., Şahin, B., Çam, D., Çakır, C. and Öztürk, M. (2024). Chemical content profile and antixidant activity of *Rhododendron ponticum* extracts. International Journal of Secondary Metabolite, 11(3), 507–513.

A6. Uğraş Z., Tok F., Çakır C., Tuna K., Tatar Yılmaz G., Mutlu D., Sıcak Y., Arslan Ş., Öztürk M., Kaymakçıoğlu B. (2024). Exploring 2-Pyrazoline derivatives as potent antidiabetic agents and cholinesterase inhibitors: Their synthesis and molecular docking studies. Journal of Molecular Structure.

A7. Çam D., Çakır C., Karaman A.H., Abdelsalam A.H., Sıcak Y., Akata I., Arslan Ş., Öztürk M. (2024). Characterization of the Cytotoxic Compounds of *Lactarius salmonicolor* R. Heim and Leclair by Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Chemometrics. Analytical Letters, 1–19. https://doi.org/10.1080/00032719.2024.2372670.

A8. Berdesh T., Çakır C., Çam D., Tuna K., Yeskaliyeva B., Öztürk M. (2024). Determination of Cytotoxic Compounds of *Lepista personata* (Fr.) Cooke by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) and Chemometrics. Analytical Letters, 4(1), 1-12. DOI: 10.1080/00032719.2024.2337767.

A9. Tok, F., Bayrak, İ.R., Karakaraman, E., Soysal, İ., Çakır, C., Tuna, K., Yılmaz Özgüven S., Sıcak, Y., Öztürk, M. and Koçyiğit Kaymakçıoğlu, B. (2024). Synthesis, characterization, molecular docking studies and biological evaluation of some novel 3,5-disubstituted-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazole derivatives. Current Organic Chemistry, 28 (3), 230-240.

A10. Tok F., Cihangir H., Şan K., Çakır C., Tuna K., Sıcak Y., Öztürk M. and Kaymakçıoğlu B. (2023). Synthesis, characterization and biological evaluation of some novel sulfonylurea derivatives. Journal of Research in Pharmacy, 27(6), 2416-2424.

A11. Salhi, S., Chentouf, M., Harrak, H., Rahim, A., Çakir, C., Çam, D., Öztürk, M., Hamidallah, N., Cabaraux, J.F. and El-Amiri B. (2023). Assessment of physicochemical parameters, bioactive compounds, biological activities, and

nutritional value of the most two commercialized pollen types of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) in Morocco. Food Science and Technology International, 16:10820132231168914. doi: 10.1177/10820132231168914. Epub ahead of print. PMID: 37063044.

A12. Mutlu, D., Cakir, C., Öztürk, M. and Arslan, S. (2022). Anticancer and apoptotic effects of a polysaccharide extract isolated from *Lactarius chrysorrheus* Fr. in HepG2 and PANC-1 cell lines. Arch Biol Sci. 74(4), 315-324.

A13. Cakir, C., Orak, H.H., Argon, M., Caliskan, H., Sabudak, T., Öztürk, M. and Güler, N. (2022). Antioxidant and antidiabetic activities of hexane extract of *Genista januensis* var. lydia. Bulgarian Chemical Communications. 54,3, 268-270.

A14. Tok, F., Çakir, C., Çam, D., Kirpat, M.M. and Sicak Y. (2022). Synthesis, Characterization and Biological Evaluation of Novel Thiourea Derivatives, Clinical and Experimental Health Sciences, 2459-1459, 12, 533-540.

A15. Rahim, A., Çakir, C., Öztürk, M., Şahin, B., Soulaimani, A., Sibaoueih, M., Nasser, B., Eddoha, R., Essamadi, A. and El Amiri, B. (2021). Chemical characterization and nutritional value of *Spirulina platensis* cultivated in natural conditions of Chichaoua region (Morocco). South African Journal of Botany. 141, 235–242.

A16. Ertas, A., Fırat, M., Yener, İ., Akdeniz, M., Yigitkan, S., Bakir, D., Cakir, C., Yilmaz, M.A., Öztürk, M. and Kolak U. (2021). Phytochemical Fingerprints and Bioactivities of Ripe Disseminules (Fruit-Seeds) of Seventeen *Gundelia* (Kenger-Kereng Dikeni) Species from Anatolia with Chemometric Approach. Chemistry & Biodiversity, 10, 1, 1-31.

A17. Ölmez-Tokul, Ö., Sahin, B., Cakir, C., and Öztürk, M. (2020). Rapid and easy method for simultaneous measurement of widespread 27 compounds in natural products and foods. Journal of Chemical Metrology, 1307-6183, 14(1), 1-11.

A18. Çubuk Demiralay, E., Koç, D., Daldal, Y.D. and Cakır, C. (2012). Determination of chromatographic and spectrophotometric dissociation constants of some beta lactam antibiotics. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 71, 139-143.

A19. Daldal, Y.D., Cakır, C., Yılmaz, H., Demiralay, E.Ç., Özkan, S.A. and Alsancak, G. (2014). Liquid chromatographic, spectrophotometric and potentiometric determination of dissociation constants of ranitidine and famotidine in acetonitrile-water binary mixtures. Current Drug Therapy, 9(4), 277-284, 10.2174/1574885509041505251644l2.

B. Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

B1. Argon, M., Çalışkan, H., Cakır, C., Öztürk, M. and Şabudak, T. (2024). *Alyssum sibiricum* Willd. Bitkisinin GC-MS Analizi ve Antioksidan Aktivitesinin Tayini. JIST 14(3), 1177-1185. https://doi.org/10.21597/jist.1448296

B2. Şahin B., Çakır C., Sıcak Y., Öztürk M. (2024). Chemical composition and biological activities of essential oils and extract of *Eucalyptus citriodora* Hook. International Journal of Secondary Metabolite, 11(2), 394–407.

B3. Caliskan, H., Orak, H.H., Cakir, C., Argon, M., Sabudak, T., Öztürk, M. and Güler, N. (2023). Anticholinesterase, Antidiabetic and Antioxidant Activities of Chloroform Extract of *Genista carinalis*. Current Perspectives on Medicinal and Aromatic Plants, 6, 1-6.

B4. Abdellatif, R., Öztürk. F.A., Cakir, C., Abdelkhalid, E. and Amiri, B.E. (2022). Mitigating Fluoride, Lead, Arsenic and Cadmium Toxicities in Laboratory Animals and Ruminants through Natural Products, Rec. Agric. Food. Chem., 2792-0763, 2, 1, 1-17.

C. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler:

C1. Çakır, C., Çam, D., Tuna, K., Arslan Ş., Öztürk, M. (2024). Cytotoxıc Potential of *Infundibulicybe geotropa* Acetone Extract in Prostate Cancer (Lncap) Cell Lınes. The 12th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries (CMAPSEEC-2024), October 17-19, 2024 İzmir-Türkiye.

C2. Tuna, K., Çakır, C., Genç, D., Yağcı, G., Arslan Ş., Öztürk, M. (2024). Toxicity of *Infundibulicybe geotropa* Methanol Extract on HEK293 Kıdney Cells And Its Effects on Atopic Dermatitis Cell Culture. The 12th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries (CMAPSEEC-2024), October 17-19, 2024 İzmir-Türkiye.

C3. Çakır, C., Tuna, K., Çam, D., Abdelsalam, A.H., Aydoğmuş-Öztürk F., Arslan Ş., Öztürk, M. (2024). Acetone Extract of *Tricholoma scalpturatum* (Fr.) Quél Induced Apoptosis in Colon (Caco-2) Cancer Cell Lines. 3rd. International Food Chemistry Congress February 29 –March 03, 2024 Antalya Türkiye.

C4. Çam, D., Çakır, C., Sıcak, Y., Mutlu, D., Akata, I., Arslan, S. and Öztürk, M. (2024). Cytotoxic Activity of *Lactarius salmonicolor* R.Heim &Leclair Apolar Extract Against Most Common Cancers and Determination of Cytotoxic Compounds Using GC-MS and Chemometric Techniques. 3rd. International Food Chemistry Congress February 29 –March 03, 2024 Antalya Türkiye.

C5. Tuna, K., Çakır, C., Tokul-Ölmez, Ö. and Öztürk, M. (2024). Enzyme Inhibitory Activities of Anatolian Propolis Collected from 15 Regions of Türkiye with Chemical Ingredients. 3rd. International Food Chemistry Congress February 29 –March 03, 2024 Antalya Türkiye.

C6. İbrahimzade, D., Gümüşbulut-Şener, G., Çakır, C., Çam, D., Tokul-Ölmez, Ö., Sıcak, Y., Öztürk, M. (2024). The Changes in Chemical Ingredients of *Rosmarinus Officinalis* Essential Oils Obtained Under Different Conditions and Chemometric Approach. 3rd. International Food Chemistry Congress February 29 –March 03, 2024 Antalya Türkiye.

C7. Çakır C., Çam D., Abdelsalam A.H., Tuna K., Mutlu D., Tokul-Ölmez Ö., Aydoğmuş-Öztürk F., Arslan Ş., Öztürk M. 2023. The edible mushroom, *Infundibulicybe Geotropa* (Bull.) Harmaja triggers apoptosis in human colon cancer (caco-2) cell line. 12th Aegean Analytical Chemistry Days (AACD2023), 19-22 October, 2023 İstanbul, Türkiye.

C8. Tuna K., Çakır C., Tokul-Ölmez Ö., Öztürk M. 2023. The chemical profile of 15 Turkish propolis with chemometric approach. 12th Aegean Analytical Chemistry Days (AACD2023), 19-22 October, 2023 İstanbul, Türkiye.

C9. Öztürk M., Şahin B., Tuna K., Aydoğmuş-Öztürk F., Çakır C., Çam D., Arslan Ş. 2023. Determination of foreign enzymes in honey: Adulteration detection studies. 12th Aegean Analytical Chemistry Days (AACD2023), 19-22 October, 2023 İstanbul, Türkiye.

C10. Atmaca S., Çakır C., Sıcak Y., Öztürk M. 2023. Determination of chemical contents by HPLC-DAD and GC-MS of *Centaurea cyanus* L. extracts and examination of antioxidant and tyrosinase inhibition activities. 12th Aegean Analytical Chemistry Days (AACD2023), 19-22 October, 2023 İstanbul, Türkiye.

C11. Yiğit S., Çakır C., Sıcak Y., Öztürk M. 2023. Determination of chemical profile contents by HPLC-DAD and GC-MS of *Eucalyptus citriodora* extracts with different techniques and various solvents and examination of their in vitro biological activities. 12th Aegean Analytical Chemistry Days (AACD2023), 19-22 October, 2023 İstanbul, Türkiye.

C12. Çam, D., Çakır, C., Karaman, A.H., Abdulselam, A.H., Sıcak, Y., Akata, I., Arslan, S., Öztürk, M. 2023. chemical composition of *Lactarius salmonicolor* extract cytotoxic to Lncap cancer cell lines. 12th Aegean Analytical Chemistry Days (AACD2023), 19-22 October, 2023 İstanbul, Türkiye.

C13. Şahin B., Öner M., Fındık M., Çakır C., Sıcak Y., Öztürk M. 2023. Investigation of the effect of different extracts of *Fumaria officinalis* on phenolic content and bioactivities. 6th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2023) 11-13 October, Ankara, Türkiye.

C14. Çakır C., Çam D., Tuna K., Karaman A.H., Arslan Ş., Sıcak Y., Akata I., Tokul-Ölmez Ö., Öztürk M. 2023. The cytotoxic activity of *Infundibulicybe geotropa* against prostate (LnCaP) cancer cell lines: The commercial edible mushroom. 2nd. International Food Chemistry Congress, 16-19 March, 2023 Antalya Türkiye.

C15. Çakır C., Çam D., Arslan Ş., Tuna K., Sıcak Y., Akata I., Aydoğmuş-Öztürk F., Öztürk M. 2023. Anti-cancer effect of *Tricholoma scalpturatum* on lung (H1299) cancer cell lines. 2nd. International Food Chemistry Congress, 16-19 March, 2023 Antalya Türkiye.

C16. Ongalbek D., Çakır C., Çam D., Berdesh T., Karatas Ş., Yeskaliyeva B., Öztürk M. 2023. The Aroma Compounds of *Vitex*, *Helianthus*, and *Tamarix* honey collected from Kazakhstan. 2nd. International Food Chemistry Congress, 16-19 March, 2023 Antalya Türkiye.

C17. Öztürk M. Tuna K., Aydoğmuş-Öztürk F., Arslan Ş., Çakır C., Çam D. 2023. A New method to determine the foreign α-Amylases in honey. 2nd. International Food Chemistry Congress, 16-19 March, 2023 Antalya Türkiye.

C18. Tuna K., Tokul-Ölmez Ö., Çakır C., Çam D., Öztürk M. 2023. The Antioxidant Activity of *Silybum marianum* (L.) Gaertn 2nd. International Food Chemistry Congress, 16-19 March, 2023 Antalya Türkiye.

C19. Berdesh T., Çakır C., Çam D., Tuna K., Yağcı G., Yeskaliyeva B., Öztürk M. 2023. Nutritional properties and fatty acid constituents of *Lepista personata* (Fr.) Cooke. 2nd. International Food Chemistry Congress, 16-19 March, 2023 Antalya Türkiye.

C20. Çetintaş Y., Sıcak Y., Çakır C., Öztürk M. 2023. Investigation of the changes in chemical composition of different fingered lemons grown in Türkiye and subjected to different extraction techniques. 2nd. International Food Chemistry Congress, 16-19 March, 2023 Antalya Türkiye.

C21. Çetintaş Y., Sıcak Y., Çakır C., Öztürk M. 2023. Investigation of the chemical composition changes in *Citrus medica* l. Var. Sarcodactylis with different techniques. 2nd. International Food Chemistry Congress, 16-19 March, 2023 Antalya Türkiye.

C22. Öztürk M., Tuna K., Aydoğmuş-Öztürk F., Çakır C., Çam D., Arslan Ş., 2023. Adulteration determination of foreign enzymes in honey. Modern Trends of Higher Education Sciences in The Field of Chemistry and Chemical Engineering, May 10-12, 2023, Al-Farabi KazNU.

C23. Özturk M., Tuna K., Aydoğmuş-Öztürk F., Arslan Ş., Çakır C., Çam D. 2023. Adulteration Determination of Foreign Enzymes in Honey. COMSTECH – THE University of Jordan Training Workshop on, 12-14 March 2023, Jordan.

C24. Çakır C., Çam D., Aydoğmuş-Öztürk F., Akata I., Özturk M. 2022. Yenilebilir bir mantar türü olan *Infundibulicybe geotropa*'nın timidin fosforilaz inhibisyonu aktivitesi. 5th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2022), November 23-25, 2022, Ankara, Turkey.

C25. Çakır C., Çam D., Aydoğmuş-Öztürk F., Sıcak Y., Mutlu D., Arslan Ş., Öztürk M. 2022. *Tricholoma scalpturatum*'un meme kanseri (MCF-7) hücre hattına karşı sitotoksik aktivitesi. 5th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2022), November 23-25, 2022, Ankara, Turkey.

C26. Çakır C., Tokul-Ölmez Ö, Şahin B., Duru M.E., Öztürk M. 2022. Honey does not contain starch-based oligosaccharides: adulteration determination of honey by starch-based sugars. 7th International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress, November 15-19, 2022, Muğla, Turkey.

C27. Öztürk M., Tokul-Ölmez, Ö., Çakır C., Şahin B., Aydoğmuş-Öztürk F., Duru M.E., 2022. What is β-fruktofuranosidase, and what is its role in honey adulteration?. 7th International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress, November 15-19, 2022, Muğla, Turkey.

C28. Öztürk M., Çakır C., Tokul-Ölmez, Ö., Aydoğmuş-Öztürk F., Çam D., Duru M.E. 2022. What is honey *α*-Amylase? Can the adulteration of honey with foreign α-amylase be determined?. 7th International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress, November 15-19, 2022, Muğla, Turkey.

C29. Tuna K., Çakır C., Öztürk M. 2022. Adulteration of honey to stop the formation of HMF (hydroxymethylfurfural). 7th International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress, November 15-19, 2022, Muğla, Turkey.

C30. Çam D., Çakır C., Sıcak Y., Öztürk M. 2022. Preparation of a new apitherapeutic product using honey and red pine (*Pinus brutia*) cones. 7th International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress, November 15-19, 2022, Muğla, Turkey.

C31. Çakır C., Orak H.H., Caliskan H., Argon M., Sabudak T., Öztürk M., Guler N. 2022. Antioxidant, Antidiabetic, and Anticholinesterase Activities of Hexane Extract of *Genista Carinalis*. 8th International Mediterranean Symposium on Medicinal and Aromatic Plants, October 20-22, 2022, İzmir, Turkey.

C32. Çakır C., Orak H.H., Caliskan H., Argon M., Sabudak T., Ozturk M., Guler N. 2022. Antioxidant, Anticholinesterase, Antidiabetic, And Antioxidant Activities of Chloroform Extract of *Genista Carinalis*. 8th International Mediterranean Symposium on Medicinal and Aromatic Plants, October 20-22, 2022, İzmir, Turkey.

C33. Çakır C., Orak H.H., Argon M., Caliskan H., Sabudak T., Ozturk M., Guler N. 2022. "Antioxidant and Antidiabetic Activities of Hexane Extract Of *Genista januensis* var. lydia". 8th International Conference on New Trends in Chemistry, May 16-18, 2022, Famagusta, North Cyprus.

C34. Çakır C., Orak H.H., Argon M., Caliskan H., Sabudak T., Ozturk M., Guler N. 2022. "Inhibitory Effects Against *α*-Glucosidase*, α*-Amylase And Antioxidant *Activity of Methanol Extract of Genista januensis*". 8th International Conference on New Trends in Chemistry, May 16-18, 2022, Famagusta, North Cyprus.

C35. Tuna K., Ulak S., Çakır C., Öztürk M. 2022. "Honey adulterated with ore, and then the hydroxymethyl furfural (HMF) does not increase with heat". Uluslararası Gıda Kimyası Kongresi, 3-6 Mart 2022, Kemer, Antalya.

C36. Çakır C., Tokul-Ölmez Ö., Öztürk M. 2022. "Validation and determination of starch-based oligosaccharides in adulterated honey". Uluslararası Gıda Kimyası Kongresi, 3-6 Mart 2022, Kemer, Antalya.

C37. Cakır C., Sahin B., Aydogmuş-Ozturk F., Sicak Y., Ozturk M., 2019. "Can Turkish Propolis Be Used As Repellent Against Mosquito?". International Workshop New Anti-leishmanial Leads from Natural Sources-Concepts, and Approaches November 8-9, 2019, Karachi, Pakistan.

C38. Cakır C., Sahin B., Aydogmuş-Ozturk F., Sicak Y., Ozturk M., Duru M.E., Choudhary M.I., 2019. "Chemical Composition of Turkish Propolis and Anti-inflammatory Activity". 7th International Symposıum-Cum-Training Course on Molecular Medicine and Drug Research (MMDR-7), November 4-7, 2019, Karachi, Pakistan.

C39. Budak, S., Cakır, C., Poturcu, K., Alsancak G., Demiralay E.C., 2017. "Determination of Dissociation Constant for R- and S-Isomers of Cefpodoxime by Using RPLC Method". 45th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques, 18-22 Haziran 2017, Prag.

C40. Caceres, E.F., Cakır, C., Sekmen, E., Recamales, M.A.F., Alsancak, G., 2013. "Optimization and Validation of a HPLC Method for Simultaneous Determination of Chlortalidone and Atenolol Using an Experimental Design". 6th Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry, 10-14 September 2013, Trabzon/Turkey.

C41. Tunçmen, H., Alsancak, G., Cakır, C., 2013. "Central Composite Design for Investigating Chromatographic Behavior of Some Quinolones by Using Isocratic Reversed Phase Liquid Chromatographic Method". 6th Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry, 10-14 September 2013, Trabzon/Turkey.

C42. Imızoğlu, N., Cakır, C., Alsancak, G., Demiralay, E.Ç., 2012. "Benazepril, Silazapril, Kinapril Ve Enalaprilin Ters Faz Sıvı Kromatografik Davranışının İncelenmesi". 10th International Symposium Pharmaceutical Sciences, 26-29 Haziran 2012, Ankara/Turkey.

C43. Daldal, Y.D., Cakır, C., Demiralay, E.Ç., Özkan, S.A., Alsancak, G., 2012. "Application of Central Composite Design for The Determination of Benazepril with LC Method". 10th International Symposium Pharmaceutical Sciences, 26-29 Haziran 2012, Ankara/Turkey.

C44. Daldal, Y.D., Cakır, C., Demiralay, E.Ç., 2012. "Liquid Chromatographic Determination of pK Values of Beta Lactam Group Antibiotics in Acetonitrile-Water Binary Mixtures". 10th International Symposium Pharmaceutical Sciences, 26-29 Haziran 2012, Ankara/Turkey.

D. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

D1. Çam, D., Çakır, C., Abdelsalam, A.H., Aydoğmuş-Öztürk, F., Akata, I., Arslan, Ş. Öztürk, M. 2024. *Lactarius salmonicolor*'un aseton ekstresinden biyoaktif

maddelerinin sitotoksik aktivite kontrollü izolasyonu, 35. Ulusal Kimya Kongresi, 9-12 Eylül 2024, Dicle Üniversitesi, Diyarbakır.

D2. Çam, D., Gümüşbulut-Şener, G., Çakır, C., Abdelsalam, A.H., Sıcak, Y., Arslan, Ş. Öztürk, M. 2024. *Lactarius salmonicolor*'un aseton esktresinin 3 farklı yaklaşımla apoptotik analizleri, 35. Ulusal Kimya Kongresi, 9-12 Eylül 2024, Dicle Üniversitesi, Diyarbakır.

D3. Şahin, B., Çakır, C., Çam, D., Tokul-Ölmez, Ö., Kırpat, M.M., Sıcak, Y., Öztürk, M. 2022. *Eucalyptus citriodora* Hook ekstrelerinin kimyasal profilinin belirlenmesi, 10. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 7-11 Eylül 2022, Muğla.

D4. Koç, H., Çakır C., Şahin, B., Jabrayilov, N, Öztürk, M. 2022. Türkiye'de Yetişen Bazı Ağaç ve Yer Mantarlarının Poliol Miktarlarının GC-MS Yöntemi ile Tespiti ve Antiinflamatuvar Aktivitelerinin Belirlenmesi, 10. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 7-11 Eylül 2022, Muğla.

D5. Tuna, K, Tokul-Ölmez, Ö, Çakır, C. 2022. Muğla'da farklı rakım ve zamanda yetişen *Silybum marianum* türünün silimarin miktarlarının HPLC-DAD ile belirlenmesi, 10. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 7-11 Eylül 2022, Muğla.

D6. Çakır, C., Çam, D., Aydoğmuş-Öztürk, F., Akata, I., Öztürk, M. 2022. Yenilebilir Bazı Mantarların Metastaz İnhibisyonu Potansiyellerinin Belirlenmesi: Timidin Fosforilaz İnhibisyon Aktivitesi, 10. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 7-11 Eylül 2022, Muğla.

D7. Sıcak, Y., Öztürk, İ., Çam, D., Çakır, C., Şahin, B., Öztürk, M. 2022. *Rhododendron ponticum* Ekstrelerinin Kimyasal İçeriklerinin Aydınlatılması ve Antioksidan Aktivitesi, 10. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 7-11 Eylül 2022, Muğla.

D8. Çam, D., Kadaş, İ., Çakır, C., Tuna, K., Öztürk, M. 2022. Bazı Yenilebilir Mantarların Besinsel Özelliklerinin Belirlenmesi, 10. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 7-11 Eylül 2022, Muğla.

D9. Sıcak, Y., Tokul-Ölmez, Ö., Çetintaş, Y., Koç, H., Çam, D., Çakir, C., Şahin, B., Öztürk, M. 2022. Retinol-Alpha Arbutin-Niasamid-Kojik Asit İçerikli Su Bazlı Cilt Kreminin Tirosinaz İnhibisyon Aktivitesi, 10. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 7-11 Eylül 2022, Muğla.

D10. Tuna, K., Çakir, C., Çam, D., Tokul-Ölmez, Ö., Öztürk, M. 2022. *Silybum marianum* Türünün Bioaktivitesine Rakım ve Toplanma Zamanının Etkisi, 10. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 7-11 Eylül 2022, Muğla.

D11. Polat, E., Çakir, C., Çam, D., Sıcak, Y., Öztürk, M. 2022. Bazı Sirkelerin HPLC İle Kimyasal İçeriklerinin Tespiti ve Üreaz İnhibisyon Aktivitesi, 10. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 7-11 Eylül 2022, Muğla.

D12. Olgun, S., Çakir, C., Çam, D., Sıcak, Y., Öztürk, M. 2022. *Carya illinoinensis* Ekstrelerinin Fenolik Bileşen İçeriğinin Tespiti ve Antikolinesteraz Aktivitesinin Belirlenmesi, 10. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 7-11 Eylül 2022, Muğla.

D13. Kırpat, M.M., Çakir, C., Çam, D., Şahin, B., Sıcak, Y., Öztürk, M. 2022. *Capparis spinosa* Ekstrelerinin Antidiyabet Aktivitesi ve HPLC-DAD İle Kimyasal İçerik Tespiti, 10. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 7-11 Eylül 2022, Muğla.

D14. Akmercan, S., Tokul-Ölmez, Ö., Çetintaş, Y., Çam, D., Çakir, C., Şahin, B, Sıcak Y, Öztürk M. 2022. *Myrtus communis* Ekstrelerinin Antioksidan Aktivitesi ve HPLC-DAD ile Fenolik Bileşenlerinin Belirlenmesi, 10. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 7-11 Eylül 2022, Muğla.

D15. Çakır, C., Poturcu, K., Çubuk Demiralay, E., Alsancak, G., 2017. "Bazı Sefalasporinlerin Oktanol-su Dağılma Katsayılarının Çalkalama Yöntemi Kullanılarak Tayini", 29. Ulusal Kimya Kongresi, 10-14 Eylül 2017, Ankara.

D16. Tunçmen, H., Budak, S., Sekmen, E., Çakır, C., Çubuk Demiralay, E., 2014. "Moksifloksasinin Ters Faz Sıvı Kromatografi Yöntemiyle Tablet Dozaj Formda Tayini". 7. Ulusal Analitik Kimya Kongresi,1-5 Eylül 2014, Kahramanmaraş.

D17. Tunçmen, H., Budak, S., Çınar, N., Çakır, C., Imızoğlu, N., 2014. "Pipemidik asit, Marbofloksasin, Enoksasin ve Siprofloksasinin İyonlaşma/protonasyon Sabitlerinin Ters Faz Sıvı Kromatografi Yöntemiyle Tayini". 7. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 1-5 Eylül 2014, Kahramanmaraş.

D18. Çakır, C., Sekmen, E., Bahşi, O., Koyuöz, G., Alsancak, G., 2014. "Hidroklorotiyazit ve Lisinopril İkili Karışımının Ters Faz Sıvı Kromatografik Yöntemle Ayrılmalarının Optimizasyonu". 7. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 1-5 Eylül 2014, Kahramanmaraş.

D19. Sekmen, E., Çakır, C., Alsancak, G., Çubuk-Demiralay, E., Özkan, S.A., 2014. "Alkilamino Yan Zincirli Fenotiazin Türevlerinin Protonasyon Sabitlerinin Potansiyometrik Yöntemle Tayini". 7. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 1-5 Eylül 2014, Kahramanmaraş.

D20. Çakır, C., Sekmen, E., Budak, S., Alsancak, G., Özkan, S.A., 2014. "Kalıcı Zwitter İyonik Yapılı Sefalasporinlerin İyonlaşma/Protanasyon Sabitlerinin Su-Organik Çözücü İkili Karışımlarında Spektroskopik Yöntemle Tayinleri". 7. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 1-5 Eylül 2014, Kahramanmaraş.

D21. Çakır, C., Alsancak, G., 2014. "Sefepim, Sefiksim, Seftazidim ve Seftizoksimin İyonlaşma/Protonasyon Sabitlerinin Asetonitril-Su İkili Karışımlarında Ters Faz Sıvı Kromatografi Yöntemiyle Tayini". 7. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 1-5 Eylül 2014, Kahramanmaraş.

D22. Imızoğlu, N., Çakır, C., Demiralay, E.Ç., Alsancak, G., 2012. "Benazepril, Silazapril, Kinapril ve Enalaprilin Ters Faz Sıvı Kromatografik Davranışının İncelenmesi". VI. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 3-7 Eylül 2012, Hatay.

D23. Yılmaz, H., Demiralay, E.Ç., Çakır, C., Imızoğlu, N., 2012. "Bazı Amfiprotik Bileşiklerin Sudaki İyonlaşma/Protonasyon Sabitlerinin Potansiyometrik Yöntemle Tayini". VI. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 3-7 Eylül 2012, Hatay.

D24. Çakır, C., Alsancak G., Demiralay, E.Ç., Özkan, S.A., 2012. "Ranitidin Ve Famotidinin Protonasyon Sabitlerinin Spektrofotometrik Yöntemle Tayini". VI. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 3-7 Eylül 2012, Hatay.

E. Projeler:

E1. Yenilebilir bazı mantarların sitotoksik aktiviteden sorumlu bileşiklerinin izolasyonu ve yapılarının aydınlatılması ve metastazı engelleme potansiyellerinin in-vitro belirlenmesi, Araştirmaci, Yürütülen Kuruluş: 112Z551, TÜBİTAK Başkanlık Bilgi İşlem Daire Başkanlığı (Devam ediyor).

E2. *Infundibulicybe geotropa* (Bull.) Harmaja ve *Tricholoma scalpturatum* (Fr.)Quél. mantar türlerinin sitotoksik ve timidin fosforilaz inhibisyon aktivitelerinin belirlenmesi, biyoaktif bileşiklerinin izolasyonu ve yapılarının aydınlatılması, Yürütülen Kuruluş: Fen Bilimleri Enstitüsü (Devam ediyor), Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi.

E3. *Eucalyptus citriodora*'nın Kimyasal Profilinin ve in vitro Tıbbi Biyoaktivitelerinin Belirlenmesi, Yürütülen Kuruluş: Bandirma Onyedi Eylül Üniversitesi, BAP, Araştirmaci, 21 Aralık 2021-21 Aralık 2022. (BAP-21-1004-005).

E4. Uçucu yağ elde edilirken kimyasal içeriğe etki eden faktörlerin araştırılması ve istenmeyen kimyasal içeriklerin oluşmaması için platformlar: Rosmarinus officinalis Uçucu Yağı Örneklerinin Kimyasal İçeriklerindeki ve Tıbbi Biyoaktivitelerindeki Değişimlerin Kemometrik Analizlerle İncelenmesi, Yürütülen Kuruluş: Muğla Sitki Koçman Üniversitesi, Kurumsal, BAP, Araştirmaci, 01 Ocak 2021- 01 Şubat 2022.

E5. Lavantanın esansiyel yağı elde edilirken kimyasal içeriğe etki eden faktörlerin araştırılması için platformlar: *Lavandula angustifolia* Mill. Esansiyel Yağı Örneklerinin Kimyasal İçeriklerindeki değişimlerin Kemometrik Analizlerle İncelenmesi, Yürütülen Kuruluş: Muğla Sitki Koçman Üniversitesi, Kurumsal, BAP, Araştirmaci, 01 Ocak 2021-01 Şubat 2022.

E6. Türkiye'de Üretilen ve Ticari Potansiyeli Olan Çeşitli Bal Türlerinin β-Fruktofuranosidaz Aktivitelerinin, *α*-Amilaz ve Oligosakkarit Miktarlarının Araştırılması, Metotların Validasyonu ve Standardizasyonları, Yürütülen Kuruluş: Muğla Sitki Koçman Üniversitesi, Araştirmaci, 01 Şubat 2019-01 Şubat 2023. (TAGEM/ 18 / AR-GE / 64).

E7. Bazı sefalosporinlerin kromatografik alıkonma tahmini ve oktanol/su dağılma katsayılarının ters faz sıvı kromatografi yöntemi kullanılarak tayini. TÜBİTAK Projesi (1002) -113Z592, 2013-2014.

E8. Bazı sefalasporinlerin ters faz sıvı kromatografik yöntemle ayrılmaları, SDÜ BAP 3302-YL2-12, 2012-2014.

F. Deneyim ve Çalışmalar:

F.1 Laboratuvar Asistanlığı

2021-2022 Bahar döneminde Aletli Analiz Laboratuvarında asistanlık

2022-2023 Güz döneminde Analitik Kimya Laboratuvarında asistanlık

F.2. Yurtdışı Deneyimi:

1. COMSTECH – Hunan University of Chinese Medicine (HUCM), Technician Training Program, Changsha, China | June 22 – July 7, 2025

Selected for a joint international training program organized by COMSTECH and HUCM, including hands-on training in medical and STEM-related technologies and instrumentation.

The program aimed to strengthen the science and technology capacity in OIC member countries.

2. ***Research Cooperative Programı, The Hussain Ebrahim Jamal (H.E.J.) Research Institute of Chemistry, International Center for Chemical and Biological Sciences*** (ICCBS) University of Karachi, Karachi-75270, Pakistan, 2019-2020.