



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARMAKOĞNOZİ ANABİLİM DALI

***Cirsium aytatchii* ÜZERİNDE FİTOKİMYASAL
ÇALIŞMALAR**

Ecz. Gaye SEÇKİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Ufuk ÖZGEN

TRABZON-2017

ONAY

Bu tez Yüksek Lisans Standartlarına Uygun Bulunmuştur

Prof. Dr. Ufuk ÖZGEN

Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı

.....

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Gaye SEÇKİN'nin hazırladığı “*Cirsium aytatchii* Üzerinde Fitokimyasal Çalışmalar” başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof. Dr. Ufuk ÖZGEN

.....

Yüksek Lisans/Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Ufuk ÖZGEN

.....

Prof. Dr. Nurettin YAYLI

.....

Prof. Dr. Leyla BİTİŞ

.....

Tarih:/.../201...

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/.../.... tarih ve ... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....

Prof. Dr. Ali Osman KILIÇ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Gaye SEÇKİN

TEŞEKKÜR

Tüm yüksek lisans öğrenciliğim sürecinde bilgi ve tecrübesinden faydalandığım, hiç bir zaman benden desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Ufuk ÖZGEN'e,

Lisans ve yüksek lisans öğrencilik sürecim boyunca emeği geçen tüm hocalarıma,

Manevi desteğini esirgemeyen başta Merve BADEM, Sıla Özlem ŞENER ve Nuriye KORKMAZ olmak üzere tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Tez konusu olan türü toplayan Prof. Dr. Tuncay DİRMENCİ ve Doç. Dr. Turan ARABACI' ya

Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenen, 116Z475 nolu, “Türkiye’nin endemik *Cirsium* Mill. (Asteraceae) Türleri Üzerinde Fitokimyasal ve biyolojik Aktivite Çalışmaları” konulu proje ile, tez çalışmamızın gerçekleştirilmesine katkılarından dolayı, TÜBİTAK’a,

Desteklerini her zaman yanımda hissettiğim ve bildiğim eşim Gökhan SEÇKİN, babam İrfan BAYRAMOĞLU, annem Fatma BAYRAMOĞLU, ablam Gamze KELEŞ, abim Uğur BAYRAMOĞLU’ na

Teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL ve ONAY

BEYAN

TEŞEKKÜR

TABLolar DİZİNİ..... viii

ŞEKİLLER DİZİNİ..... ix

KISALTMALAR dizini..... x

1. ÖZET 1

2. SUMMARY 2

3. GİRİŞ VE AMAÇ 3

4. GENEL BİLGİLER..... 4

4.1. Botanik Bilgiler..... 4

4.1.1. Asteracea Familyası 4

4.1.2. *Cirsium* Miller Cinsi 4

4.1.3. *Cirsium aytatchii* H.Duman & R.R. Mill..... 5

4.1.3.1. *Cirsium* Türlerinin İsimlendirmesi 5

4.1.3.2. *Cirsium aytatchii*'nin Yayılışı 6

4.2. *Cirsium* Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar 6

4.2.1. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Flavonoidler..... 7

4.2.1.1. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Flavon Bileşikleri 7

4.2.1.2. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Flavonol Bileşikleri..... 8

4.2.1.3. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Flavanon Bileşikleri 8

4.2.2. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Triterpenik Bileşikler..... 9

4.2.3. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Seskiterpenler 10

4.2.4. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Kumarin Halkası İçeren Bileşikler 10

4.2.5. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Steroidal Bileşikler 11

4.2.6. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Fenolik Asitler 12

4.2.7. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Yağ Asitleri 12

4.2.8. *Cirsium* türlerinde Bulunan Lignanlar 13

4.2.9. *Cirsium* türlerinde Bulunan Uçucu Yağ Bileşikleri 13

4.3. <i>Cirsium</i> Türlerinin Kullanılışı ve Biyolojik Aktiviteleri	17
4.3.1. <i>Cirsium</i> Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı	17
4.3.2. <i>Cirsium</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Biyolojik Aktivite Çalışmaları	18
5. GEREÇ ve YÖNTEM	20
5.1. Fitokimyasal Çalışmalar	20
5.1.1. Kullanılan Materyal, Alet ve Yöntemler	20
5.1.1.1. Bitki Materyali	20
5.1.1.2. Kimyasal Maddeler ve Aletler	20
5.1.1.2.1. Çözücüler	20
5.1.1.2.2. Kimyasal Katı Maddeler	20
5.1.1.2.3. Belirteç	20
5.1.1.2.4. Çözücü Sistemleri	20
5.1.1.2.5. Adsorbanlar	21
5.1.1.2.6. Aletler ve Cihazlar	21
5.1.1.3. Kromatografik Yöntemler	22
5.1.1.3.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)	22
5.1.1.3.2. Kolon Kromatografisi (KK)	22
5.1.2. Ekstraksiyon	22
5.1.3. İzolasyon Çalışmaları	23
5.1.3.1. Etil Asetat Ekstresi Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları	23
5.1.3.1.1. CAE-1, CAE-2 ve CAE-3 Bileşiklerinin İzolasyonu	23
5.1.4. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) ile Fenolik Bileşiklerin Analizi Standart Çözeltilerin Hazırlanması	24
5.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	26
5.2.1. Tirozinaz Enzim İnhibisyonu /Aktivasyonu	26
5.2.2. Metanol Ekstresinin Asetilkolinesteraz ve Butirilkolinesteraz Enzimi Üzerine Etkilerinin Araştırılması	27
6. BULGULAR	29
6.1. Fitokimyasal Çalışmalar	29
6.1.1. İzolasyon Çalışmaları	29
6.1.1.1. Luteolin	29
6.1.2. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) ile Fenolik Bileşiklerin Tayini	33

6.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	35
6.2.1. Metanol ekstresinin Tirozinaz Enzimi Üzerine Etkisi.....	35
6.2.2. Metanol Ekstresinin Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz Enzimleri Üzerine Etkisi	35
7. TARTIŞMA ve SONUÇLAR.....	36
8. SONUÇLAR.....	38
9. KAYNAKLAR	39
10. ÖZGEÇMİŞ	48



TABLolar DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1. <i>Cirsium</i> Türlerinde Bulunan Bazı Kimyasal Bileşikler	14
Tablo 2. YBSK Analiz Şartları	25
Tablo 3. Gradient Elüsyon Basamakları	25
Tablo 4. Luteolin (CAE-1)'in ¹ H-NMR Spektral Değerleri	30
Tablo 5. Luteolin (CAE-1)'in ¹³ C-NMR Spektral Değerleri	30
Tablo 6. YBSK Metod Parametreleri	34



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.	Türkiye’de <i>Cirsium aytatchii</i> ’nin Yayılışı.....	6
Şekil 2.	<i>Cirsium</i> Türlerinde Bulunan Bazı Flavon Bileşikleri	7
Şekil 3.	<i>Cirsium</i> Türlerinde Bulunan Bazı Flavonol Bileşikleri.....	8
Şekil 4.	<i>Cirsium</i> Türlerinde Bulunan Bazı Flavonon Bileşikleri	8
Şekil 5.	<i>Cirsium</i> Türlerinde Bulunan Bazı Triterpenik Bileşikler	9
Şekil 6.	<i>Cirsium</i> Türlerinde Bulunan Bazı Seskiterpenler	10
Şekil 7.	<i>Cirsium</i> Türlerinde Bulunan Bazı Kumarin Halkası İçeren Bileşikler.....	10
Şekil 8.	<i>Cirsium</i> Türlerinde Bulunan Bazı Steroidal Bileşikler.....	11
Şekil 9.	<i>Cirsium</i> Türlerinde Bulunan Bazı Fenolik Asitler.....	12
Şekil 10.	<i>Cirsium</i> Türlerinde Bulunan Bazı Yağ Asitleri	12
Şekil 11.	<i>Cirsium</i> Türlerinde Bulunan Bazı Lignanlar	13
Şekil 12.	<i>C. aytatchii</i> Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları	24
Şekil 13.	Luteolin.....	29
Şekil 14.	Luteolin (CAE-1)‘in ¹ H-NMR Spektrumu (CD ₃ OD, 400 MHz).....	31
Şekil 15.	Luteolin (CAE-1)‘in ¹³ C-NMR Spektrumu (CD ₃ OD, 100 MHz).....	32
Şekil 16.	Fenolik Standartların YBSK Kromatogramları	33
Şekil 17.	<i>Cirsium aytatchii</i> Metanol Ekstresi Fenolik Bileşiklerin YBSK Kromatogramı	35

KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar

ACeH	Asetilkolinesteraz
CHCl₃	Kloroform
¹³C-NMR	¹³ C-Nükleer Manyetik Rezonans
<i>d</i>	Dublet
<i>dd</i>	Dublet dublet
dk	Dakika
g	Gram
EtOAc	Etil asetat
Fr.	Fraksiyon
¹H-NMR	¹ H Nükleer Manyetik Rezonans
H₂O	Su
H₂SO₄	Sülfürik asit
Hz	Hertz
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
<i>J</i>	Etkileşme Sabiti
KK	Kolon Kromatografisi
L-DOPA	3,4-dihidroksi-L-fenilalanin
m	Metre
Me	Metil
mg	Miligram
mL	Mililitre
µg	Mikrogram
MHz	Megahertz
nm	Nanometre
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
-OH	Hidroksi
ppm	Milyonda bir parça

1. ÖZET

Cirsium aytatchii Üzerinde Fitokimyasal Çalışmalar

Cirsium cinsi ülkemizde 3 seksiyona ait 66 tür ile temsil edilmektedir ve bu türlerden 30'u endemiktir. *C. aytatchii* H. Duman & R.R. Mill çok yıllık, endemik bir türdür .

Günümüze kadar yapılan literatür taramalarında, *Cirsium* türlerinin antioksidan, antibakteriyal, antifungal ve sitotoksiste üzerine sınırlı sayıda bilimsel çalışmaların bulunduğu saptanmıştır. Günümüzde bitkisel droglara ilginin artması ve bu bitki droglarının ticari önemi düşünüldüğünde, *C. aytatchii*'nin fitokimyasal içeriğinin belirlenmesinin kimya, eczacılık ve tıp bilimlerinde literatüre katkı sağlayacağı düşünülmüştür.

C. aytatchii üzerinde fitokimyasal çalışmalarda, bitki topraküstü kısımlarının metanol ekstresinden hareketle hazırlanan etil asetat altfraksiyonu üzerinde çeşitli kromatografik yöntemler kullanılarak CAE-1 kodlu bileşik saflaştırılmıştır. ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopik yöntemleri ile CAE-1'in yapısı flavon aglikonu yapısında olan luteolin olarak aydınlatılmıştır. Bitkinin metanol ekstresinin tirozinaz, asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimleri üzerine etkileri araştırılarak, bu enzimler üzerinde inhibitör ya da aktivatör etki göstermediği saptanmıştır. Ayrıca, bitkinin metanol ekstresinin fenolik bileşiklerinin parmakizi analizi Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (YBSK) yöntemi ile gerçekleştirilmiş ve parmakizi kromatogramı elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz enzimleri, Astraceae, *Cirsium*, *Cirsium aytatchii*, Fitokimyasal çalışmalar, Flavon, Tirozinaz enzimi, YBSK Parmakizi Kromatogramı

2. SUMMARY

Phytochemical Studies on *Cirsium aytatchii*

Cirsium in Turkey is represented by 66 species in 3 sections and 30 taxon of these species are endemic. *Cirsium aytatchii* H. Duman & R.R. Mill is an endemic perennial species.

Our studies on the literature to date revealed a limited number of studies of the antioxidant, antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of *Cirsium* species. Because of the increasing interest in different natural drugs and their commercial importance, determination of the phytochemical content of *Cirsium aytatchii* may make a significant contribution to chemistry, pharmacy, and medicine.

In the phytochemical studies on *C. aytatchii*, CAE-1 was purified using several chromatographic techniques on the ethyl acetate subfraction obtained from methanolic extract of the aerial parts of the plant. The structure of CAE-1 was elucidated as luteolin belonging to flavon . The structure of the compound was elucidated using ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectroscopic methods. In addition, the methanolic extract of the plant was investigated in terms of the effects on tyrosinase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase enzymes. It has been shown that methanolic extract has not any activity on tyrosinase, acetylcholinesterase, and butyrylcholinesterase enzymes. Fingerprint analysis and quantification of phenolic compounds of the methanolic extract of the plant was performed using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Fingerprint chromatogram of the methanolic extract has been obtained.

Key Words: Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase enzymes, Astraceae, *Cirsium*, *Cirsium aytatchii*, Flavone, HPLC Fingerprint Chromatograms, Phytochemical studies, Tyrosinase enzyme

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Asteraceae familyasından olan *Cirsium* Miller cinsinin, ülkemizde bulunan 31'i endemik olan 63 türü üzerinde sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. (1, 2, 3) Ancak, dünya üzerinde bu cinse ait türler üzerinde yapılmış olan birçok fitokimyasal analiz ve biyolojik aktivite çalışmaları mevcuttur.

Halk arasında genel olarak Köygöçerten ya da Köygöçüren olarak bilinen *Cirsium* türleri, ülkemizin farklı yörelerinde Eşek kangalı ve Eşek otu (Kırklareli), Hamurkesen (Zonguldak), Kazankulpu (Erzurum-Kars), Kör Kenger (Tunceli), Su diken (Kastamonu), Çahır (Sivas) gibi isimlerle de anılan bu türler tedavi amaçlı kullanılmaktadır (4).

Cirsium türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucunda, türlerde lignanlar, fenolik asitler, flavonoidler, terpenik bileşikler saptanmıştır (5).

İçerdikleri bu bileşiklerden ötürü halk arasında kuvvet verici ve iştah açıcı olarak kullanımları mevcuttur (6). Yapılmış biyolojik aktivite çalışmaları ile bazı *Cirsium* türlerinin ekstrelerinin antimikrobiyal, sitotoksik, antioksidan (7, 8), antihemorajik, antidepresan ve antihepatotoksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (9).

Bu çalışmada, *C. aytatchii*'nin topraküstü kısımlarının metanol ekstresi üzerinde bazı fitokimyasal çalışmalar yapılarak, ana bileşiklerin saflaştırılması, saflaştırılan bu bileşiklerin yapılarının aydınlatılması ve metanol ekstresinin tirozinaz, asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (YBSK) yöntemi ile fenolik bileşiklerinin analizi gerçekleştirilmesi hedeflenmiştir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Botanik Bilgiler

4.1.1. Asteraceae Familyası

Ülkemiz endemik bitki türleri açısından oldukça zengin olduğu ve bu bakımdan ülkemizde bulunan en zengin familyanın Asteraceae familyası olduğu bilinmektedir (10).

Asteraceae familyası dünyada 1100 cins ve yaklaşık 20000 tür ile ülkemizde ise 134 cins ve 1209 tür ile temsil edilmektedir, bu türlerin 447'si endemiktir (11-14).

Familiya bitkileri çoğunlukla tek, iki veya çok yıllık otsu, çalimsı, tırmanıcı veya nadiren ağaçsı çalılardır. Yaprakları alternan veya bazen karşılıklı dizilimli, stipulasız (nadiren stipulaya benzemektedir), yaprak ayası tam, dişli, loblu veya farklı parçalanma şekillerine sahiptir. Çiçekler genellikle çok sayıda, nadiren tek, sapsız ve fillari halkasından oluşan bir involukrum ile korunmuş kapitulum üzerinde kümelenmiştir. Reseptakulum çıplak, üzeri palea ile örtülü, uzun tüylüdür. Çiçekler alt durumlu, ya hepsi hermafrodit ve erkek organlar dişi organdan önce olgunlaşır ya da dişi organ önce olgunlaşır veya erkek organ verimsiz kalır. Kaliks, ovaryumun tepesinde, kılsı, pulsu veya dallanmış tüylü bir yapıdadır, bazen tamamen dökülür. Korolla birleşik petalli, tubular, filiform, dilsli veya nadiren 2 dudaklı, genellikle 3-5 dişli, nadiren yoktur. Stamenler 4(-5) petale bağlı, filamentler genellikle serbest, anterler lateral olarak stilus etrafında bir halka oluşturacak şekilde birleşmiş, nadiren serbest, iç tarafa doğru açılır. Ovaryum alt durumlu, tek lokuslu, stilus genellikle ikiye çatallanmış, tüy şeklindeki stiluslar, anterlerden polenleri alabilecek yapıdadır. Meyva aken, papus kalıcı veya düşücü, sapsız veya gagalıdır (2).

4.1.2. *Cirsium* Miller Cinsi

Tek, iki veya çok yıllık otsu, nadiren dioik bitkiler. Gövde dikenli-kanatlı veya dikensiz, dallanmış veya dallanmamıştır. Yaprak kenarları dikenli, üst yüzey tüylü ve küçük dikenli, kenarları tam veya pinnatisekt. Kapitula homogam, tablamsı, tek veya çok. Fillariler çok sıralı, kiremit şeklinde dizilmiş, üst kısımlarda yatık veya az çok yüzeye dik, uç kısmın hemen altında salgı cebi var veya yok, bazen ek yapılı, genellikle uçta bir iğne, kenarları düz-küçük dikenli veya çentiklidir. Reseptakulum uzun tüylü.

Çiçekler erdişi nadiren tek eşeyli, tüp şeklinde genellikle eşit olmayan 5 parçalı, beyazdan mora kadar kadar, bazen sarımsı; korolla tübünün tabanı hafifçe genişlemiştir. Polen taneleri küresidir. Akenler az çok oblong, yassı, pürüzsüz, çıplak, az çok yarıküremsi tümsekçikli, hilum oval, tabandan az yukarda. Papus çok sıralı, kuş tüyü gibi yumuşak, tabanda bir halka üzerinde bağlı, kalıcı veya düşücü, iç taraftaki tüyler daha uzun, çoğunlukla skabrit veya tepede kalınlaşmış; çok nadiren tamamen skabrittir (2).

4.1.3. *Cirsium aytatchii* H. Duman & R.R. Mill

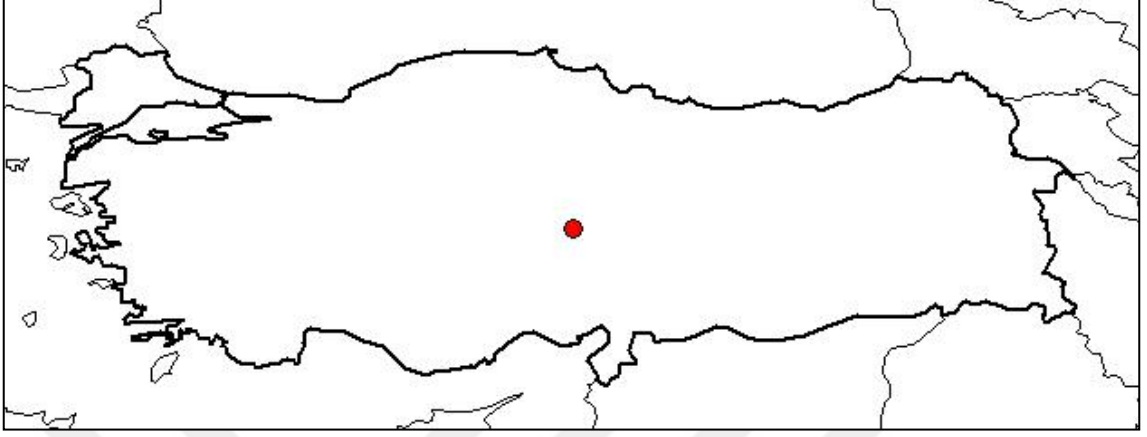
Çok yıllıktır, 50-70 cm boyundadır ve iğ şeklinde kökleri bulunmaktadır. Gövdesi incedir; yeşilimsiden az çok morumsu kırmızıya değişen renktedir; 3-4 mm çapında, üstünde dallanmış, oluklu, seyrek olarak örümcek ağına benzer şekilde ipliksi tüylü görünümündedir. Ortadaki gövde yaprakları dikdörtgensel şekilde; loplar, lamina orta damarına kadar giden pinnat damarlı yaprak şeklindedir; yaklaşık 10 cm uzunluğunda, lateral lopları ikiye yarı, 5-9 çift halinde, mızraksıdan şeritsi şekle kadar değişen şekildedir; 10-25×3-6 mm, terminal lobları laterallerden daha uzundur, 40×6 mm'ye kadar boyutlardadır; bütün loblarda 4-7 mm uzunluğunda kalın dikenlidir, tabanı şişkin sert tüylü olup, üzerinde 0.5-1.5 mm uzunluğunda kılsı tüyler bulunur veya tüysüz olabilir; veya damarların alt yüzeyinde seyrek olarak örümcek ağına benzer şekilde ipliksi tüylüdür. Yan dalları 1-7, 1-3 kapitulumlu, en üst yaprakları 3-5 adet, involukrumlu, kısa veya involukruma az çok eşittir. Involukrum diktir, genişçe ters yumurtamsıdır, 20-25 mm boyutlarındadır. Brakteler tüysüz veya kenarlarında seyrek olarak örümcek ağına benzer şekilde ipliksi tüylü, 10-11 sıralı, tepedeki dikenleri 12- 13 mm uzunluğundadır; tepe dikenini biz şeklindedir. Korolla morumsu-kırmızı renkte, 23-24 mm'dir. Akenler yaklaşık 5 mm büyüklüğündedir. Papus 17-18 mm'dir; kuş tüyü gibi yumuşak ince uzun sık tüylü veya kısa sert tüylerden dolayı pürüzlü bir yapıya sahiptir. 1350 m'de yetişmektedir (29).

4.1.3.1. *Cirsium* Türlerinin İsimlendirmesi

Halk arasında genel olarak Köygöçerten ya da Köygöçüren olarak bilinen *Cirium* türleri, ülkemizin farklı yörelerinde Eşek kangalı ve Eşek otu (Kırklareli), Hamurkesen (Zonguldak), Kazankulpu (Erzurum-Kars), Kör Kenger (Tunceli), Su dikenini (Kastamonu), Çahır (Sivas) gibi isimlerle de anılmaktadır (4).

4.1.3.2. *Cirsium aytatchii*'nin Yayılışı

Ülkemizde Kayseri ve civarında yaygın olarak bulunmaktadır.



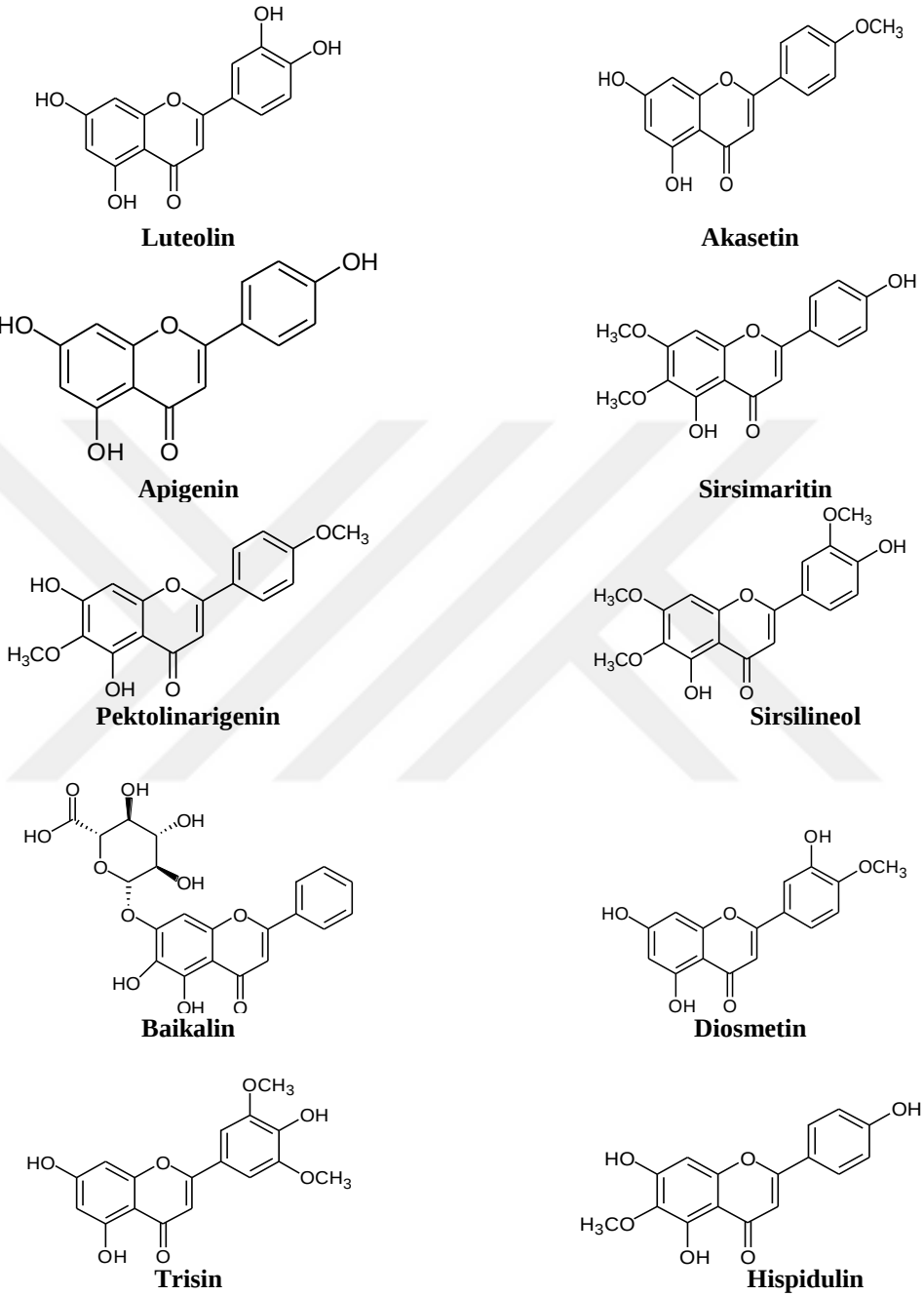
Şekil 1. Türkiye’de *C. aytatchii*’nin Yayılışı

4.2. *Cirsium* Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Cirsium türleri üzerinde yapılmış olan fitokimyasal çalışmalar sonucu elde edilen bazı kimyasal bileşikler gruplarına göre aşağıda belirtilmiştir.

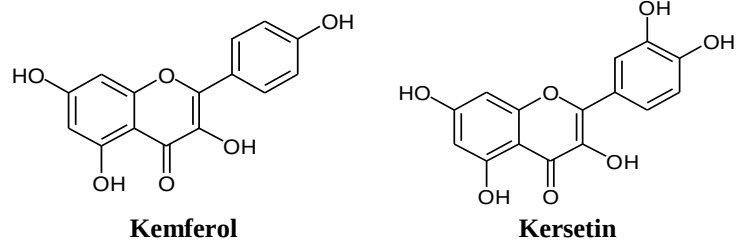
4.2.1. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Flavonoitler

4.2.1.1. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Flavon Bileşikleri



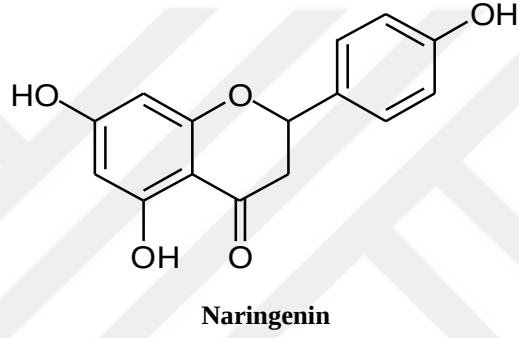
Şekil 2. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Flavon Bileşikleri

4.2.1.2. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Flavonol Bileşikleri



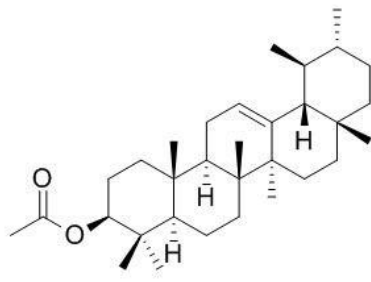
Şekil 3. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Flavonol Bileşikleri

4.2.1.3. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Flavanon Bileşikleri

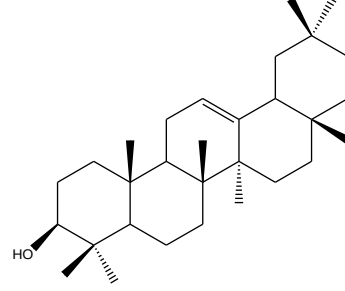


Şekil 4. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Flavanon Bileşikleri

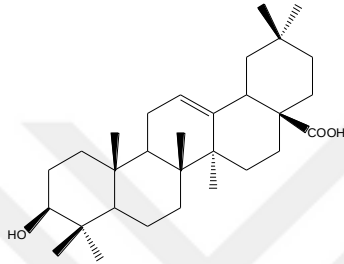
4.2.2. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Triterpenik Bileşikler



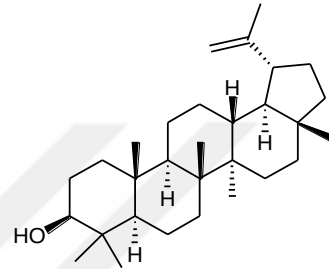
Asetil- α -Amirin



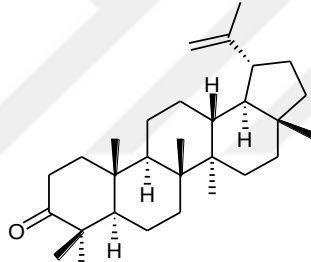
β -Amirin



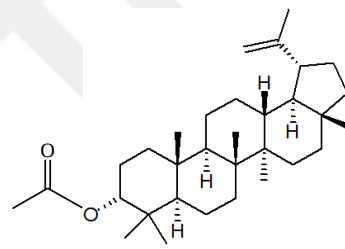
Oleanolik asit



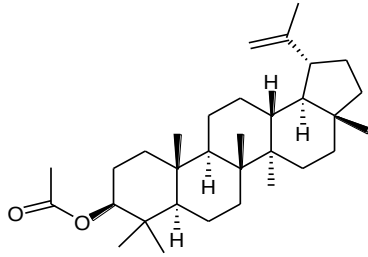
Lupeol



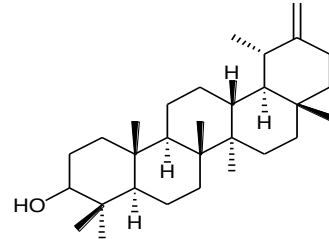
Lupenon



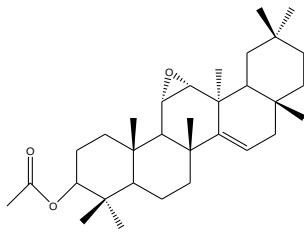
Epilupeolasetat



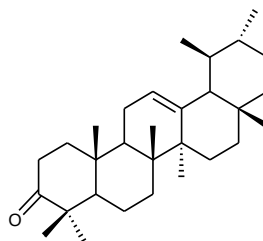
Lupeol asetat (lupenil asetat)



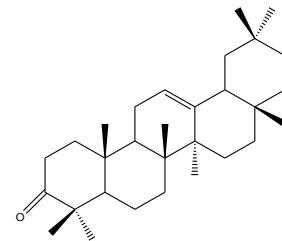
Taraksasterol



Marsformoksit B



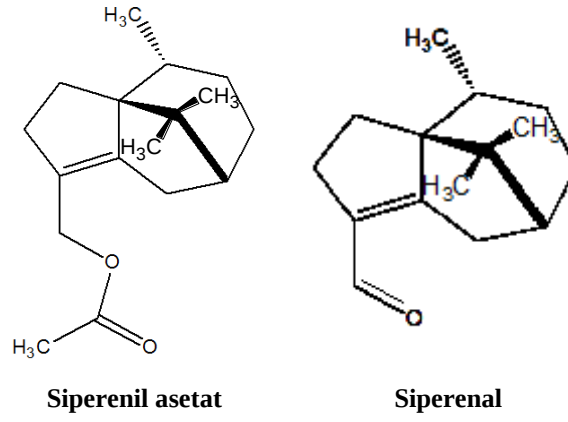
α -Amirenol



β -Amirenol

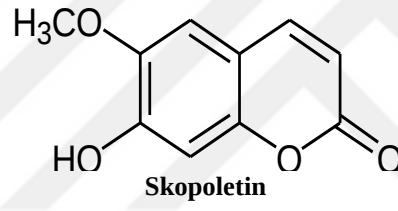
Şekil 5. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Triterpenik Bileşikler

4.2.3. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Seskiterpenler



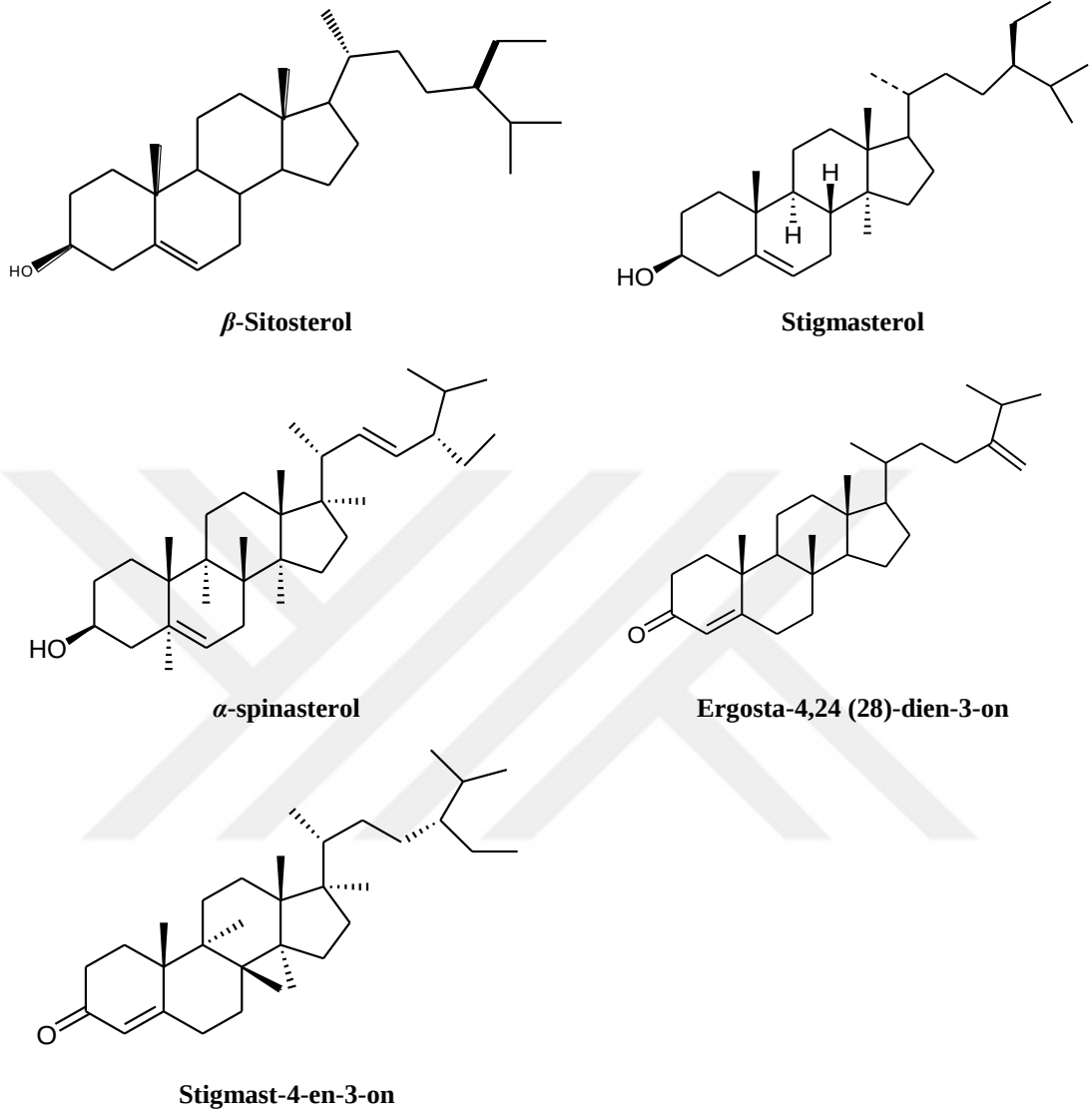
Şekil 6. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Seskiterpenler

4.2.4. *Cirsium* Türlerinde Kumarin Halkası İçeren Bileşikler



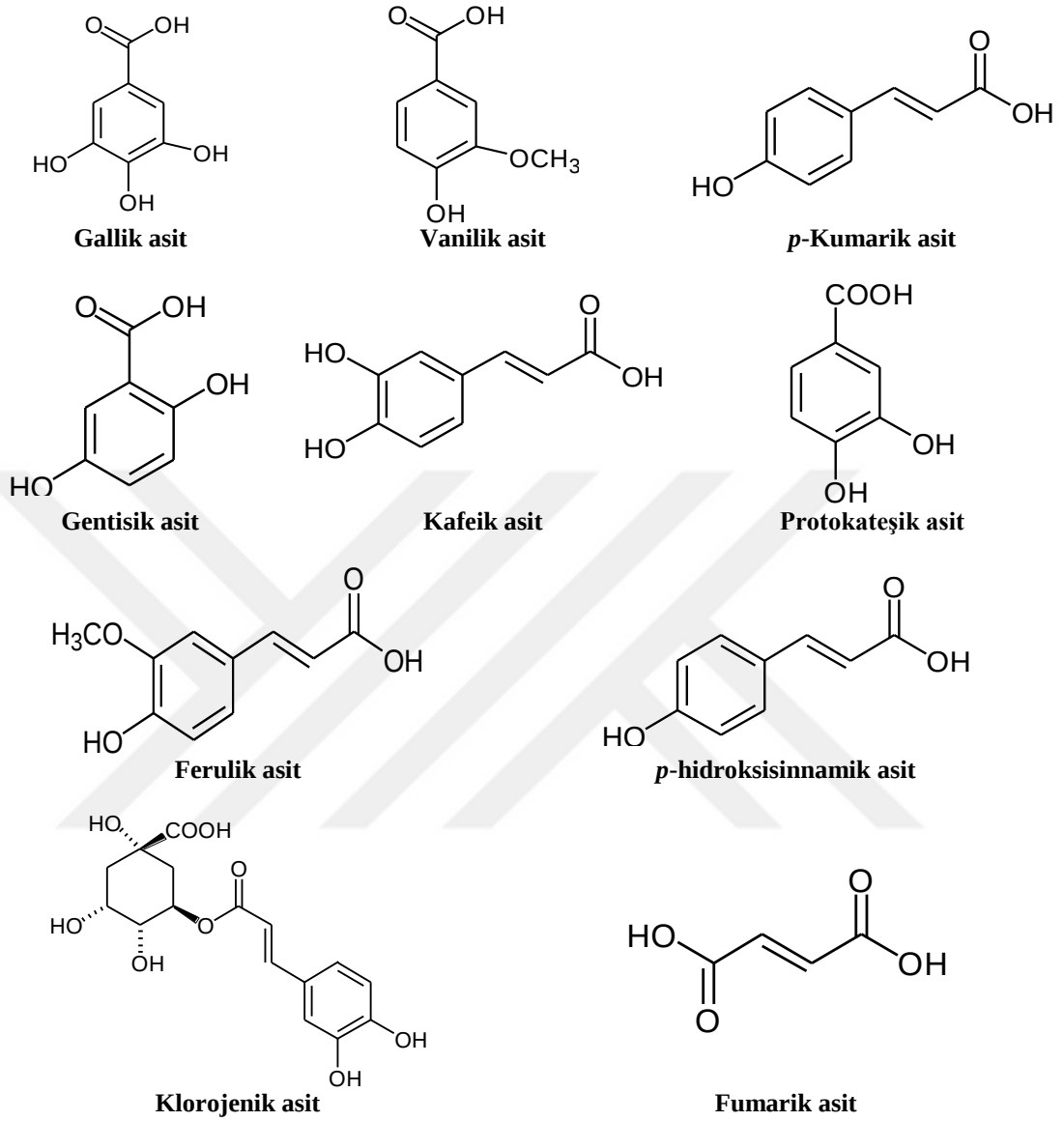
Şekil 7. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Kumarin Halkası İçeren Bileşikler

4.2.5. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Steroidal Bileşikler



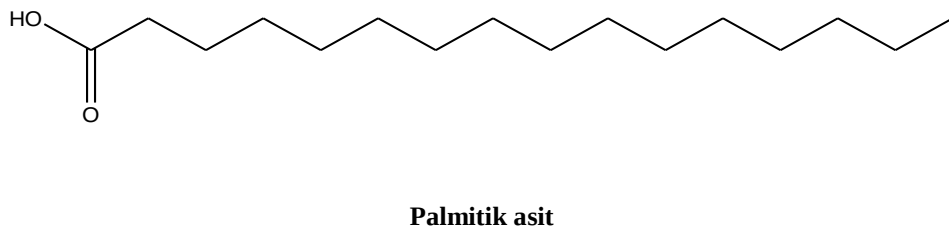
Şekil 8. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Steroidal Bileşikler

4.2.6. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Fenolik Asitler



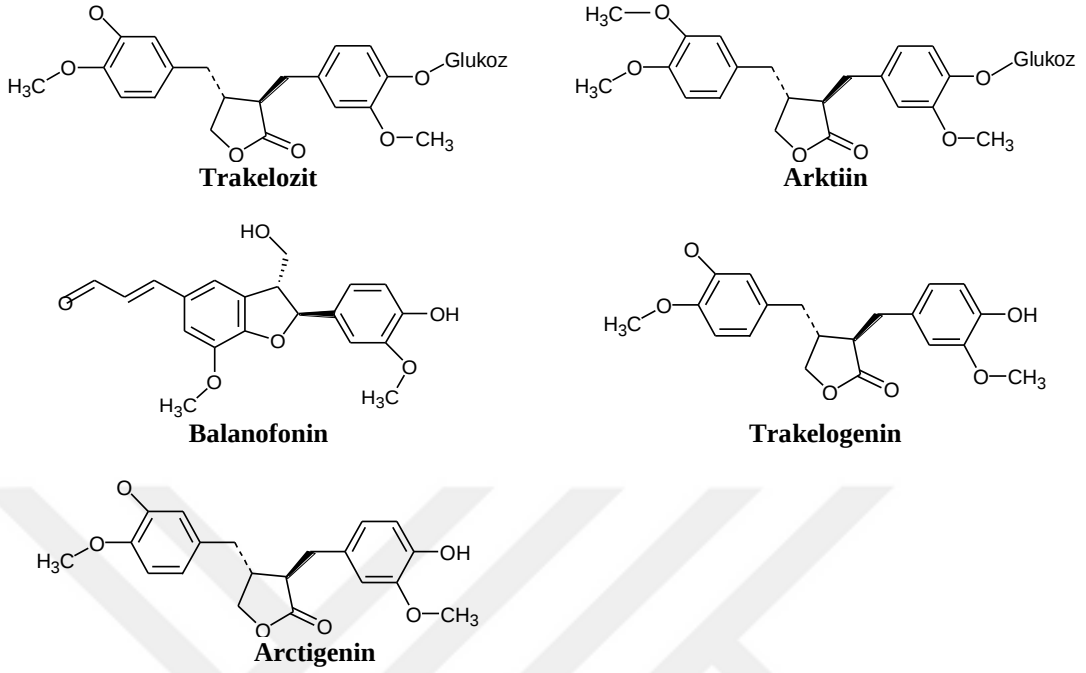
Şekil 9. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Fenolik Asitler

4.2.7. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Yağ Asitleri



Şekil 10. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Yağ Asitleri

4.2.8. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Lignanlar



Şekil 11. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Lignanlar

4.2.9. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Uçucu Yağ Bileşikleri

Bazı *Cirsium* türlerinde bulunan uçucu yağların ana bileşenleri Tablo 1’de gösterilmiştir.

Cirsium türlerinde bulunan bazı kimyasal bileşikler Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Kimyasal Bileşikler

TÜR	BİLEŞİK	KAYNAK
<i>Cirsium albesens</i>	Luteolin	16
<i>Cirsium arvense</i>	Luteolin	17,18,19
	Akasetin	20
	Apigenin	18,19
	Sirsimaritin (Sirsitakaogenin)	21
	Pektolinarigenin	21
	Kemferol	18
	Taraksasterol	22
	Stigmasterol	22
	Kafeik asit	23
	Klorojenik asit	23
	Skopoletin	20
	Arktiin	24
	Arctigenin	24
	Trakelozit	24
	Linalol	25
<i>Cirsium chanroencium</i>	Luteolin	26
	Akasetin	26
	Apigenin	27
	Pektolinarigenin	28
<i>Cirsium echinus</i>	Luteolin	29
	β -Sitosterol	29
<i>Cirsium hosogawa</i>	Luteolin	18
<i>Cirsium japonicum</i>	Luteolin	30,31
	Apigenin	32
	Diosmetin	33
	Hispidulin	32
	Kersetin	33
	β -Sitosterol	34
	Stigmasterol	34
	<i>p</i> -Kumarik asit	32
	Kafeik asit	32
	Klorojenik asit	35,36
	Palmitik asit	37
	Trakelozit	32
	Trakelogenin	24
	Pentadekanoik asit	37
	Miristik asit	37
<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>australe</i>	Luteolin	16
<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>spinosissimum</i>	Luteolin	38
	Apigenin	26,38
<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>ussuriense</i>	Luteolin	26,38
	Akasetin	26
	Apigenin	38
<i>Cirsium kawakamii</i> f. <i>Variegatum</i>	Luteolin	18
<i>Cirsium lineare</i>	Luteolin	26
	Akasetin	26
	Apigenin	26
	Sirsilineol	39,40
	Kersetin	41
	β -Sitosterol	41
	Stigmasterol	41

Tablo 1. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Kimyasal Bileşikler (Devamı)

<i>Cirsium maackii</i>	Luteolin	42
<i>Cirsium nipponicum</i>	Luteolin	26,38
	Akasetin	26
	Apigenin	26,38,43
	Pektolinarigenin	43
	Epilupeolasetat	43
	β -Sitosterol	43
<i>Cirsium oleraceum</i>	Luteolin	18,44
	Apigenin	18,44
	Kemferol	18
	Kersetin	45
	β -amirin	46,47
	Lupeol	46,47
	Taraksasterol	22
	β -Sitosterol	46
	Stigmasterol	46
<i>Cirsium palustre</i>	Luteolin	18,48
	Apigenin	18,48
	Trisin	48
	Kemferol	18
	α -Pinen	49
	β -Pinen	49
	Kamfen	49
<i>Cirsium pendulum</i>	Luteolin	26,38
	Akasetin	26
	Apigenin	26,38
	β -Sitosterol	50
	α -spinasterol	50
	Klorojenik asit	50
<i>Cirsium rhinoceros</i>	Luteolin	27
	Akasetin	51
	Apigenin	27,52
	Sirsimaritin	21
	Pektolinarigenin	52
	Skopoletin	51
<i>Cirsium rivulare</i>	Luteolin	18,53
	Apigenin	18,53
	Trisin	53
	Hispidulin	53
	Kemferol	18
	Limonen	49
	α -Pinen	49
	β -Pinen	49
	Kamfen	49
<i>Cirsium setidens</i>	Luteolin	26,38
	Akasetin	26
	Apigenin	26,38
	Palmitik asit	54
	Klorojenik asit	55
<i>Cirsium setosum</i>	Luteolin	56,31
	Akasetin	57,58
	Apigenin	56,59,60,61,62
	Trisin	59

Tablo 1. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Kimyasal Bileşikler (Devamı)

<i>Cirsium setosum</i>	β -amirin	63
	Lupeol	63
	Lupenon	63
	Ergosta-4,24 (28)-dien-3-on	64
	Stigmast-4-en-3-on	64
	Klorojenik asit	56, 65
	Marsformoksit B	63
	Lupeol asetat	63
	Taraksasterol	61,62,63
	α -Amirenol	63
	β -Amirenol	63
	β -Sitosterol	59,60,64
	Stigmasterol	64
	Kafeik asit	56,59
<i>Cirsium syriacum</i>	Luteolin	66,67
	Apigenin	66,67
	Kemferol	67
	β -Sitosterol	67
<i>Cirsium vallis-demonii</i>	Luteolin	68
	Apigenin	68
	Naringenin	68
	Asetil- α -amirin	68
	Lupeol	68
<i>Cirsium vulgare</i>	Luteolin	18
	Apigenin	18
	Kemferol	18
	Gallik asit	69
	Trakelozit	70
	Protokatesik asit	69
	Kafeik asit	69
	Gentisik asit	69
	Vanilik asit	69
	Balanofonin	70
<i>Cirsium souliei</i>	Akasetin	71,72
	Apigenin	71,72
	β -Sitosterol	71,72
<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>takaoense</i>	Sirsimaritin	21
<i>Cirsium segetum</i>	Baikalın	73,74
	Oleanolik asit	74
	Taraksasterol	75
	β -Sitosterol	46
	Stigmasterol	75
	Kafeik asit	73
	Klorojenik asit	73
<i>Cirsium oligophyllum</i>	Hispidulin	32
<i>Cirsium canum</i>	β -amirin	76
	Lupeol	76
	Taraksasterol	22
<i>Cirsium carolinianum</i>	β -amirin	76
	Lupeol	76
	Taraksasterol	76
<i>Cirsium hypoleucum</i>	β -amirin	76
	Lupeol	76

Tablo 1. *Cirsium* Türlerinde Bulunan Bazı Kimyasal Bileşikler (Devamı)

<i>Cirsium hypoleucum</i>	Taraksasterol	76
<i>Cirsium dipsacolepis</i>	Siperenil asetat	77
	Siperenal	77
<i>Cirsium esculentum</i>	β -Sitosterol	78
	Klorojenik asit	78,79
<i>Cirsium henryi</i>	β -Sitosterol	80
	Vanilik asit	81
	Protokateşik asit	81
	<i>p</i> -hidroksisinnamik asit	80,81
	Fumarik asit	80
<i>Cirsium lanceolatum</i>	Vanilik asit	82
	<i>p</i> -Kumarik asit	82
	Ferulik asit	82
	Kafeik asit	82
	Protokateşik asit	82
<i>Cirsium arisanense</i>	Fumarik asit	83
<i>Cirsium kawakamii</i>	Fumarik asit	84
<i>Cirsium wallichii</i>	Fumarik asit	84

4.3. *Cirsium* Türlerinin Kullanılışı ve Biyolojik Aktiviteleri

4.3.1. *Cirsium* Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı

Ülkemizde *Cirsium* türlerinin halk arasında kullanılışı aşağıda belirtildiği gibidir;

- Gövde kısmı öksürük ve bronşit hastalığının tedavisinde,
- Tohum ve köklerinin dekoksasyonu hemoroit ağrılarında,
- Çiçekleri peptik ülser tedavisinde (85).

Cirsium türleri Kore’de halk arasında kanama, karaciğer ve böbrek iltihaplanması, karın ve bağırsak ağrısı gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (42). *Cirsium* bitkisinin kökleri Japon ve Çin farmakopelerinde kanamayı durdurucu ajan olarak kayıtlıdır ve Çin tıbbında idrar söktürücü olarak kullanılmaktadır (37).

C. tenoreanum İtalya’da varisli damarların tedavisinde kullanılmaktadır (7). *Cirsium* cinsinin birçok türü kolagog olarak kullanılmaktadır (86).

C. rivulare Polonya’da geleneksel olarak anksiyeteye karşı kullanılmaktadır, ayrıca antimitotik özelliği olduğu da belirtilmektedir (87).

C. setidens Kore’de kanamayı durdurma, kan kusma, idrarda kan görülmesi ve hipertansiyon gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (88).

C. japonicum Çin’de halk arasında romatoit artrit, kan kusma, akciğer kanseri, rahim kanseri, kan kanserinin tedavisinde kullanılmaktadır, ayrıca ağız kokusunun tedavisi için hazırlanan diş macununda kullanılan bitkiler arasındadır (79, 91). *C. japonicum* dekoksionu iyi huylu prostatın gelişimi ile ilgili olarak idrarda kan görülmesinin tedavisinde kullanılmaktadır (92). Ayrıca, *C. japonicum* farklı bitkilerle karışım halinde hazırlanmış dekoksionu, akut sinüzit tedavisinde de kullanılmaktadır (93). Japon farmakopesinde *C. japonicum* bitkisinin kanama ve iltihap tedavisinde dahili ve harici kullanımı kayıtlıdır (31).

C. japonicum var. *ussuriense*’nin toprak üstü kısmı doğu tıbbında tonik, midede sindirimi kolaylaştırıcı, iltihabı önleyici, panzehir, idrar söktürücü ve sinir ağrısına karşı kullanılmaktadır (9).

C. chanroenicum’un toprak üstü kısımları Çin tıbbında detoksifikasyon için, ateş düşürücü olarak ve kan dolaşımını artırmada kullanılmaktadır (28).

C. dipsacolepsis Japonya’da “yamagobo” olarak bilinmekte, kökleri yenilmekte, salamurası yapılmakta, güzel tadından dolayı etli yemeklerde kullanılmaktadır (94).

C. arisanense sulu ekstresi Tayvan’da halk arasında karaciğeri koruyucu olarak kullanılmaktadır (95).

Çin farmakopesinde *C. setosum*, bitkilerinin kanama ve iltihap tedavisinde dahili ve harici kullanımı kayıtlıdır (31). *C. setosum* geleneksel Çin tıbbında kanamayı durdurucu ve iltihap önleyici olarak kullanılmaktadır (56). Ayrıca, prostat tedavisi için kullanılmaktadır (96).

4.3.2 *Cirsium* Türleri Üzerinde Yapılmış Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Cirsium türleri üzerinde yapılmış bazı biyolojik aktivite çalışmaları ile, antioksidan (30, 97-98), antienflamatuvar (28), antidepresan (99-100), tümör hücrelerinde apoptozis (101), lipolizi destekleyici (102), antiobezite (103) ve karaciğer koruyucu (95, 104-105) özellik gösteren türler bulunduğu gözlenmiştir.

Cirsium türlerinin kimyasal analizi ile ilgili yapılan bir çalışmada, flavonoit, steroid, triterpen, alkaloid, poliasetilen, asetilen, hidrokarbon, seskiterpen lakton, fenolik asit, lignan ve bazı diğer maddelerin bulunduğu rapor edilmiştir. Yine bu türlerin antienflamatuvar, antispazmotik, antibakterial, antimikrobial etkilere sahip olduğu

belirtilmektedir (106). *Cirsium* türlerinden izole edilen pektolinarin'in sedatif etkisi olduğu belirtilmektedir (55).

C. setidens'in antioksidan etkisi ile sıçanlarda karaciğer hasarını önlediği (88); *C. japonicum* var. *ussuriense*'nin hepatik lipid peroksidasyonunu azalttığı gözlenmiştir (9).

C. setosum ve *C. japonicum* flavonlarının kanser hücrelerini inhibe ettikleri (89); *C. japonicum* türünün antioksidan ve antidiyabetik aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır (107).



5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Fitokimyasal Çalışmalar

5.1.1. Kullanılan Materyal, Alet ve Yöntemler

5.1.1.1. Bitki Materyali

C. aytatchii'nin topraküstü kısımları Adana: Aladağ, Gerdibi - Aladağ arası 2. km (920 m, 13.08.2014, N37 54 516 E35 15 526)'den toplanmıştır (Dirmenci 4248, Arabacı & Yazıcı).

Tür teşhisi Prof. Dr. Tuncay Dirmenci tarafından yapılmıştır. Bitkinin toprak üstü çiçekli kısımları açık havada ve gölgede kurutulup, laboratuvarında bir değirmen yardımıyla toz edilmiş ve çalışmamızda kullanılmıştır.

5.1.1.2. Kimyasal Maddeler ve Aletler

5.1.1.2.1. Çözücüler

Etil asetat, metanol, *n*-hekzan, kloroform, su.

5.1.1.2.2. Kimyasal Katı Maddeler

Vanilin (Fluka)

5.1.1.2.3. Belirteç

Vanilin / H₂SO₄: Vanilin'in derişik sülfürik asit'teki % 1'lik çözeltisi. Püskürtmeden sonra 110 °C'de ısıtılır.

5.1.1.2.4. Çözücü Sistemleri

Kromatografik yöntemlerde kullanılan çözücü sistemleri;

Silika jel ince tabaka kromatografisi için:

CHCl₃:MeOH:H₂O (80:20:2)

CHCl₃:MeOH:H₂O (70:30:3)

CHCl₃:MeOH:H₂O (50:50:5)

Silika jel kolon kromatografisi için:

CHCl₃:MeOH:H₂O (90:10:1)

CHCl₃:MeOH:H₂O (80:20:2)

CHCl₃:MeOH:H₂O (70:30:3)

CHCl₃:MeOH:H₂O (50:50:5)

n-Hekzan:EtOAc (95:5-70:30)

Etil asetat

Sefadeks LH-20 kolon kromatografisi için:

MeOH

Ters faz silika jel kolon kromatografisi için:

H₂O:MeOH (95:5-0:100)

Preparatif ince tabaka kromatografisi için:

CHCl₃:MeOH:H₂O (80:20:2)

CHCl₃:MeOH:H₂O (70:30:3)

5.1.1.2.5. Adsorbanlar

Kromatografik çalışmalarda kullanılan adsorbanlar;

İTK: Normal faz silika jel (Hazır alüminyum plak, Kieselgel 60 F₂₅₄, 0.2 mm, 20x20 cm, Merck 5554)

Preparatif İTK: Normal faz silika jel (Hazır alüminyum plak, Kieselgel 60 F₂₅₄, 0.2 mm, 20x20 cm, Merck 5554)

Kolon Kromatografisi: Normal faz silika jel (Kieselgel 60, 0.040-0.063 mm Merck 9385 ve Kieselgel 60, 0.063-0.2 mm, Merck 7734)

Ters faz silika jel (LiChroprep RP-18, 25-40 µm, Merck 9303)

Sephadex LH-20, Sigma-Aldrich, LH-20-100

5.1.1.2.6. Aletler ve Cihazlar

Rotavapor : Heidolph WB Laborota 4000

UV Lambası : Mineralight UVGL -58

Vakum Pompası : Millipore Model No: WP6122050

Ultrasonik Banyo : Bandelin Sonorex RK 255 H

Terazi : Precisa XB 620M

Mantolu ısıtıcı : Barnstead Electrothermal EM5000/C

Etüv : Memmert Typ: UM 500
Hassas Terazi : Scaltec SBA 31
Kolon : IsoLab Germany
NMR Spektrometresi : Varian Mercury plus 400 MHz

5.1.1.3. Kromatografik Yöntemler

5.1.1.3.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Kromatografik çalışmaların sürdürülmesi sırasında, normal faz silika jel kaplı hazır alüminyum plaklar kullanılmıştır.

Tatbikler kılcallar yardımıyla plağın alt ucunun 1 cm yukarısından ve 0.6 cm aralıklarla yapılmış; kromatografi tankına (29×27×10 cm veya 14×12×10 cm) konulan plaklar oda sıcaklığında 7-10 cm mesafe boyunca sürüklenmiştir.

Lekeler UV₂₅₄ / UV₃₆₆ nm dalga boyunda UV lambası altında ve belirteç kullanılarak belirlenmiştir.

5.1.1.3.2. Kolon Kromatografisi (KK)

Kolon kromatografisi çalışmalarımızda, adsorban olarak, normal faz silika jel, ters faz silika jel ve Sefadeks LH-20 kullanılmıştır. Çözücü yardımıyla veya kuru tatbik yöntemi ile numune tatbiği yapılmıştır. Fraksiyonlar ön fraksiyonlama işleminde 50'şer mL, saflaştırma aşamalarında ise 5-10 mL toplanmıştır ve kontrolleri İTK ile yapılmıştır. Aynı R_f değerine sahip maddeleri içeren fraksiyonlar birleştirilerek kuruluğa kadar uçurulmuştur.

5.1.2. Ekstraksiyon

Kurutulmuş ve toz edilmiş *C. aytatchii* (122 g) üzerine 1000 mL metanol eklenerek 40 °C'lik su banyosunda, çalkalayıcıda 2 saat ekstre edilmiş ve süzölmüştür. Bu işlem bir kez daha tekrarlandıktan sonra, süzüntüler birleştirilerek evaporatör yardımıyla kuruluğa kadar uçurulmuştur. Elde edilen 12,2 g ham metanol ekstresi 300 mL su:metanol (9:1) karışımında süspansiyon edilmiştir. 1 L'lik ayırma hunisine alınan süspansiyona sırasıyla, kloroform (300 mL x 2 kez) ve etil asetat (300 mL x 2 kez) eklenmiş ve partitasyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kloroform, etil asetat ve arta kalan su fazları, evaporatörde kuruluğa kadar yoğunlaştırılarak alt fraksiyonlar elde

edilmiştir. Bu işlemler sonucunda klorofom ekstresi 2,8 g, etil asetat ekstresi 1,7 g ve arta kalan su ekstresi 7,1 g olarak bulunmuştur.

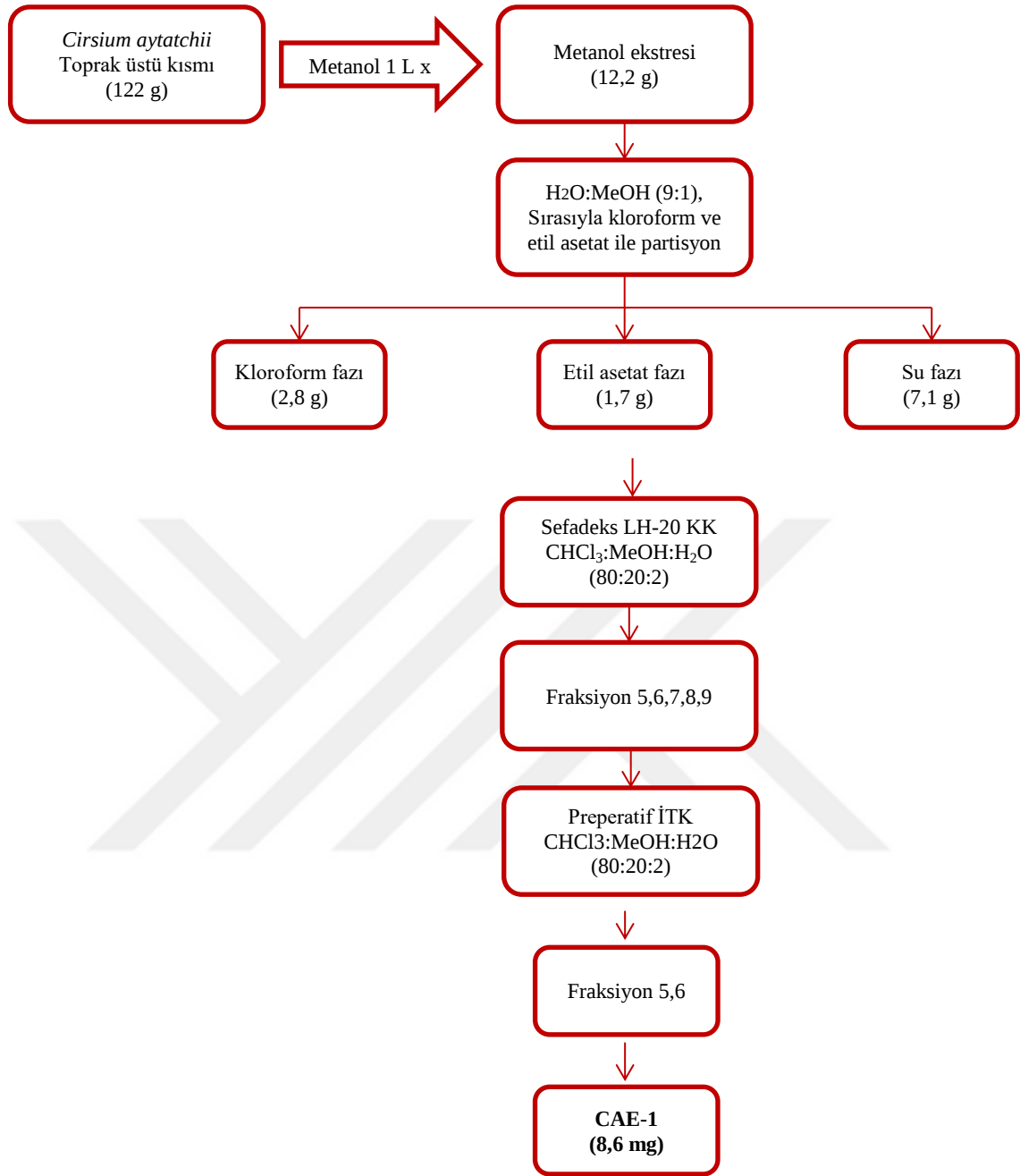
5.1.3. İzolasyon Çalışmaları

5.1.3.1. Etil Asetat Ekstresi Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları

Elde edilen 1,7 g etil asetat ekstresi 10 mL metanolde çözülmüştür. Sefadeks kolona (2,5×25) tatbik edilmiştir. 15'er mL'lik 12 adet fraksiyon toplanmıştır. Fraksiyonlar, İTK'da kloroform:metanol:su (80:20:2) solvan sisteminde çalışılmıştır.

5.1.3.1.1. CAE-1'in İzolasyonu

İTK sonuçlarına göre belirlenmiş fraksiyonlara, preparatif ince tabaka kromotografisi uygulanmıştır. Solvan sistemi olarak kloroform:metanol:su (80:20:2) kullanılmıştır. Ayrılan bileşikler preparatif İTK yöntemi ile plaktan kazınarak alınmıştır. Uygun çözücü (metanol) kullanılarak çözünen bileşikler süzölmüştür. Süzöntüde bulunan maddelerin saflıkları kloroform:metanol:su (80:20:2) solvan sistemi kullanılarak İTK'da kontrol edilmiştir. Çıkan sonuçlara göre saf olan bileşikler evaporatörde yoğunlaştırılarak miktarı belirlenmiştir. Preparatif İTK ile elde edilen saf bileşiğe CAE-1 kodu verilmiştir.



Şekil 12. *C. aytatchii* Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları

5.1.4. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) ile Fenolik Bileşiklerin Analizi Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Standart maddelerin ayrı ayrı stok çözeltileri (100 ppm) hazırlanmış ve 0.45 µm membran filtreden süzülmüştür. Ayrıca bütün standart çözeltilerin karışımıyla bir stok çözelti daha hazırlanmıştır (100 ppm). Kalibrasyon eğrisi elde etmek için, standartların karışımının stok çözeltisi 5-100 ppm konsantrasyon aralığında seyreltilmiştir. Standart

bileşikler olarak, 13 fenolik bileşik, gallik asit, protokateşik asit, protokatekuikaldehit, p-hidroksi benzoik asit, klorojenik asit, vanilik asit, kafeik asit, vanilin, siringaldehit, p-kumarik asit, ferulik asit, sinapik asit, benzoik asit kullanılmıştır.

YBSK Çalışma Şartları

Modifiye edilmiş bir yöntem kullanılarak, 13 fenolik bileşiğin ve metanol ekstresinin parmakizi kromatogramları alınmış ve metanol ekstresinde bulunan fenolik bileşikler ve miktarları tayin edilmiştir.

C. aytatchii Metanol Ekstresinin YBSK Çalışmaları için Hazırlanması

C. aytatchii'nin kurutulmuş ve toz edilmiş topraküstü kısmı 12 saat metanolde oda sıcaklığında ekstre edilmiş, süzölmüş ve vakum altında yoğunlaştırılmıştır. Ekstre YBSK grade metanolde (10 mg/mL) çözölmüş, 0.45 µm membrandan süzölmüştür.

Kromatografik Analiz Koşulları

Metanol ekstresinde fenolik bileşiklerin YBSK analizi Tablo 2'de belirtilen şartlarda incelenmiştir.

Tablo 2. YBSK Analiz Şartları

Kolon	C18 kolon (15 cm × 4.6 mm, 5 µm)	
Kolon sıcaklığı	25 °C	
Dalga Boyu	270 nm	
Enjeksiyon Hacmi	20 µL	
Analiz Süresi	41 dk	
Akış Hızı	1.2 mL/dk	
Elüsyon Tipi	Gradient Elüsyon	
Mobil Faz	A	B
	%0.5 (v/v) asetik asit (su/asetonitril (50:50))	%2 (v/v) asetik asit (su)

Tablo 3. Gradient Elüsyon Basamakları

Mobil Faz (A)	Mobil Faz (B)	Zaman (dk)
%5	%95	0
%65	%35	41

5.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

5.2.1. Tirozinaz Enzim İnhibisyonu/Aktivasyonu

Ekstrelerin tirozinaz inhibisyon/aktivasyon kapasitesi, Likhitwitayawuid ve Sritularak tarafından modifiye edilen, 3,4-dihidroksi-L-fenilalanin (L-DOPA) 'in substrat olarak kullanıldığı yöntem ile spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. 10 mg/mL konsantrasyonda hazırlanan metanol ekstresi potasyum fosfat tamponu (pH= 6,8) ile 25, 50, 100 ve 500 µg/mL konsantrasyonlarda olacak şekilde dilüsyonları hazırlanmıştır (108). İnhibisyon için Pozitif kontrol olarak alfa-kojik asit, aktivasyon için pozitif kontrol olarak 8-metoksipsoralen'in farklı konsantrasyonlarda (25, 50, 100 ve 500 µg/mL) dilüsyonları hazırlanarak kullanılmıştır. Örneklerin ölçümleri 96-kuyucuklu mikropalak kullanılarak, ELISA okuyucuda gerçekleştirilmiştir. Deney protokolü A, B, C ve D karışımları olarak hazırlanmıştır.

A: 120 µL fosfat tamponu (pH 6.8), 40 µL tirozinaz solüsyonu (46 ünit/ mL)

B: 160 µL fosfat tamponu (pH 6.8)

C: 80 µL fosfat tamponu (pH 6.8), 40 µL tirozinaz solüsyonu (46 ünit/ mL), 40 µL örnek solüsyonu;

D: 120 µL fosfat tamponu (pH 6.8), 40 µL örnek solüsyonu eklenmiştir.

Karışımlar 23 °C'de 10 dk inkübasyona bırakıldıktan sonra her bir karışıma 40 µL L-DOPA çözeltisi konulmuş ve tekrar 23 °C'de 10 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında mikropalaklar ELISA cihazına yerleştirilerek, örnekler ve kontrol numunesinin absorbansları 490 nm dalga boyunda okunarak, ilgili kuyucuklara ait absorbanslar formülde yerlerine yazılarak hesaplanmıştır. Her örnek 4 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 4 deneyden elde edilen % inhibisyonların / %aktivasyonlarının ortalaması ± standart sapma olarak hesaplanmıştır (109).

$$\%İnhibisyon = [[(A-B) - (C-D)] / (A-B)] \times 100$$

$$\%Aktivasyon = [[(A-B) - (C-D)] / (A-B)] \times 100$$

5.2.2. Metanol Ekstresinin Asetilkolinesteraz ve Butirilkolinesteraz Enzimi Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Ellman Yöntemi: Her iki enzim inhibisyon çalışması bazı modifikasyonlar yapılarak yine Ellman metodu kullanılarak yapılmıştır. 96 kuyucuklu plakalar kullanılarak ekstrelerin yarı yarıya seyreltilerek hazırlanan konsantrasyonları her bir kuyucuğa 25 µL eklenmiştir. Üzerine 15 mM, 25 µL ATCI veya bütiriltiyokolin iyodür (BTCl)'ün sudaki çözeltileri ve 3 mM, 125 µL DTNB'nin tamponda hazırlanmış çözeltisi ve bunu takiben 50 µL tampon her bir kuyucuğa eklenmiştir. Bu karışımın 405 nm'de her 45 sn'de bir toplam 3 kez olmak üzere absorbans değerleri ölçülmüştür. Ardından her bir kuyucuğa 25 µL 0.2 U/mL konsantrasyonda Tris HCl tamponunda hazırlanmış asetilkolinesteraz veya bütirilkolinesteraz çözeltileri eklenmiştir. Absorbans değerleri yine her 45 sn'de bir, toplam 5 kez olmak üzere ölçülmüş ve % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır (63).

Kolinesteraz inhibitör aktivite Ellman's yöntemi kullanılarak 96 kuyucuklu mikropalaklarda ölçülmüştür (63).

Asetilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu: Asetilkolinesteraz (AChE) inhibitör aktivite Ellman ve ark. tarafından geliştirilen, modifiye edilmiş spektrofotometrik Ellman yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir. Enzim kaynağı olarak elektrikli yılan balığı AChE'ı kullanılırken, substrat olarak asetiltiyokolinyodür, 5,5'-Ditiyo-bis(2-nitrobenzoik)asit ise renklendirici madde olarak kullanılmıştır. Hazırlanan metanol ekstreleri tartılarak etanolde (% 75) çözülmüş ve örneklerden hareketle 25, 50, 100 ve 200 µg/mL konsantrasyonlarda olacak şekilde dilüsyonları hazırlanmıştır. Deney protokolüne göre; 96 kuyucuklu mikropalakta bütün kuyucuklara ilk önce 140 µL 0.1 M fosfat tamponu çok kanallı mikropipet (Eppendorff) yardımı ile konulmuştur. Mikropalağın ilk 4 ve son 8 kuyucuğu kontrol olarak ayrılmıştır. Bu ayrılan kuyucuklara kontrol olarak kullanılan etanol (20 µL) yine mikropipet (Eppendorff) yardımıyla eklenmiştir. Hazırlanmış olan örneklerden 20'şer µL, her örnek 4 paralel olacak şekilde geriye kalan kuyucuklara ilave edilmiştir. AChE enzim çözeltisinden 20 µL bütün kuyucuklara eklendikten sonra mikropalaklar 10 dakika 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda, mikropalakta tüm kuyucuklara 10 µL DTNB çözeltisi, hemen arkasından 10 µL 0.4 mM substrat çözeltisinden (asetiltiyokolinyodür) eklenmiştir. Mikropalaklar 412 nm dalga boyunda 96 kuyucuklu enzyme-linked

immunosorbent assay (ELISA) mikropalak okuyucuda okutulmuştır. Örneklerin %AChE inhibisyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmış ve referans olarak galantamin ile karşılaştırılmıştır. Her örnek 4 paralel çalışılacak ve sonuçlar 4 deneyden elde edilen %inhibisyonların ortalaması $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

$$\%İnhibisyon = 100 - [(A1 / A2) \times 100]$$

A1= Örnek çözeltilerinin 412 nm dalga boyundaki absorbansı

A2= Kontrol çözeltilerinin 412 nm dalga boyundaki ortalama absorbansı

Sonuçların değerlendirilmesinde Softmax PRO 4.3.2.LS bilgisayar programı kullanılmıştır.

Bütirilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu

AChE enzim inhibisyonu ölçümünde verilen yöntem aynen uygulanmıştır. Enzim kaynağı olarak at serum bütirilkolinesterazı, substrat olarak ise bütiriltiyokolinklorür kullanılmıştır. Renklendirici madde olarak DTNB uygulanmıştır.

Örneklerin %BChE inhibisyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmış ve referans olarak galantamin ile karşılaştırılmıştır. Her örnek 4 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 4 deneyden elde edilen %inhibisyonların ortalaması $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

$$\%İnhibisyon = 100 - [(A1 / A2) \times 100]$$

A1= Örnek çözeltilerinin 412 nm dalga boyundaki absorbansı

A2= Kontrol çözeltilerinin 412 nm dalga boyundaki ortalama absorbansı

Sonuçların değerlendirilmesinde Softmax PRO 4.3.2.LS bilgisayar programı kullanılmıştır.

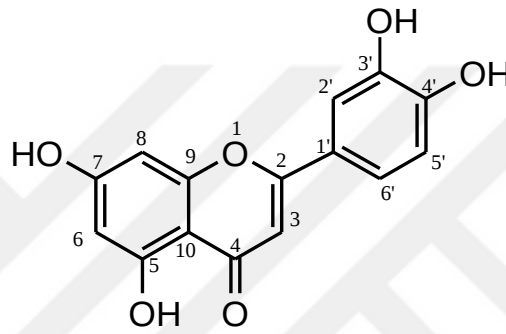
6. BULGULAR

C. aytatchii'nin toprak üstü kısmının etil asetat fraksiyonundan ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik yöntemleri kullanılarak CAE-1 flavon aglikonu yapısında, luteolin olarak aydınlatılmıştır.

6.1. Fitokimyasal Çalışmalar

6.1.1. İzolasyon Çalışmaları

6.1.1.1. Luteolin



Şekil 13. Luteolin

Bileşiğin İTK analizinde, gün ışığında CAE-1 bileşiğinin (8,6 mg) sarı renkli olduğu görülmüştür. UV_{254} nm'de sönük zon şeklinde, UV_{366} nm'de koyu mor, vanilin/ H_2SO_4 reaktif püskürttükten sonra 110 °C'de ısıtılınca sarı olması maddenin flavonoid olabileceğini gösterir.

Bileşiğin ^1H -NMR spektrumuna (Şekil 14) bakıldığında 7.36 ppm'de görülen sinyal (2H, bs) H-2' ve H-6' protonlarına; 6.89 ppm'de görülen sinyal (1H, d, $J=7.2$) H-5' protonuna; 6.52 (1H, s), 6.41 (1H, d, $J=2.0$) ve 6.18 (1H, d, $J=2.0$) ppm'de görülen sinyaller de sırasıyla, H-3, H-8 ve H-6 protonlarına ait olduğu tespit edilmiştir. 6.52 (1H, s) ppm'de singlet olarak görülen sinyal molekülümüzün flavon olduğunu göstermektedir.

^{13}C -NMR spektrumunda, 98.3 ppm ve 95.9 ppm'de görülen sinyaller C-6 ve C-8'e atfedilmiştir. C-3' ve C-4' konumunda iki OH grubu bulunması nedeniyle bu karbon atomlarına ait sinyaller (sırasıyla, 145.9, 149.3 ppm) aşağı alanda gelmiştir (Şekil 15).

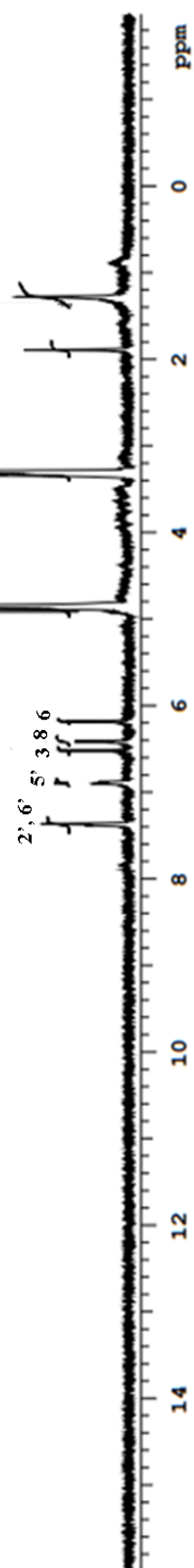
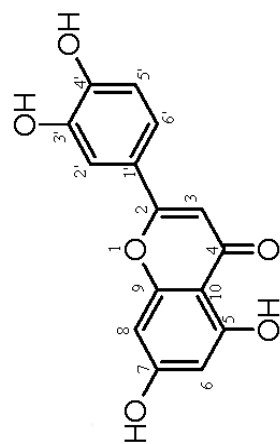
Tablo 4 ve Tablo 5’de verilen spektral değerler literatürlerdeki luteolin için kayıtlı değerlere uygunluk göstermektedir (110- 111)

Tablo 4. Luteolin (CAE-1)'in ^1H -NMR Spektral Değerleri

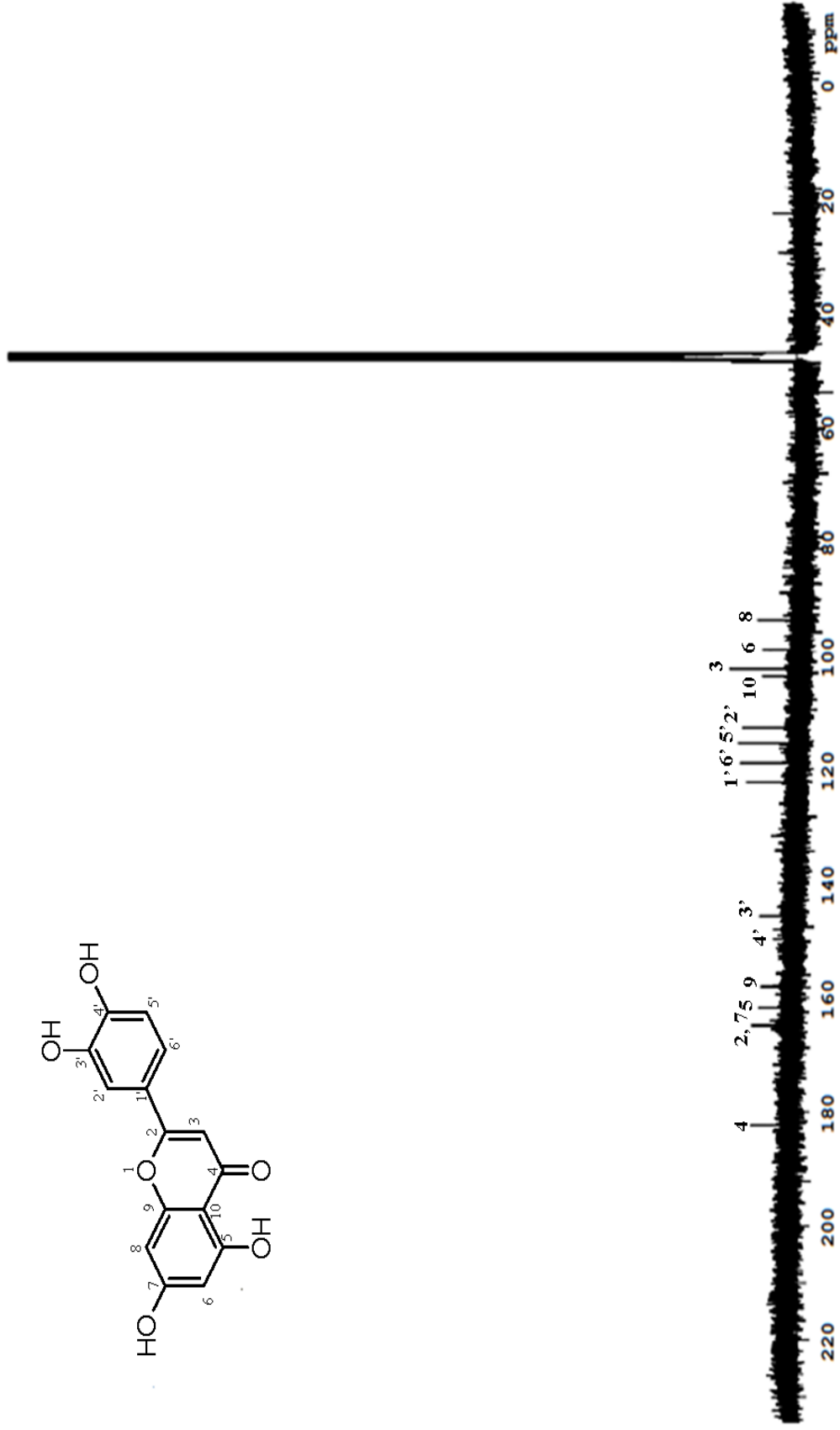
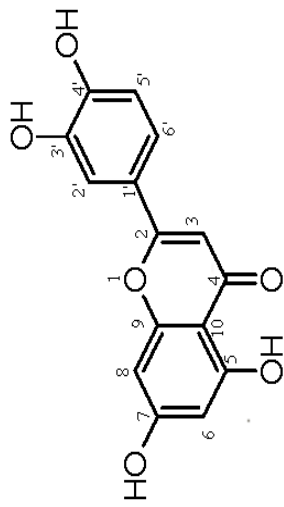
H	δ_{H} (ppm)
H-3	6.52 (1H, s)
H-6	6.18 (1H, d, $J= 2.0$)
H-8	6.41 (1H, d, $J= 2.0$)
H-2' ve H-6'	7.36 (2H, bs)
H-5'	6.89 (2H, d, $J= 7.2$)

Tablo 5. Luteolin (CAE-1)'in ^{13}C -NMR Spektral Değerleri

C/H	δ_{C} (ppm)
2	164.9
3	102.3
4	182.3
5	158.8
6	98.3
7	164.9
8	95.9
9	157.3
10	104.1
1'	122.2
2'	112.7
3'	145.9
4'	149.3
5'	115.4
6'	118.8



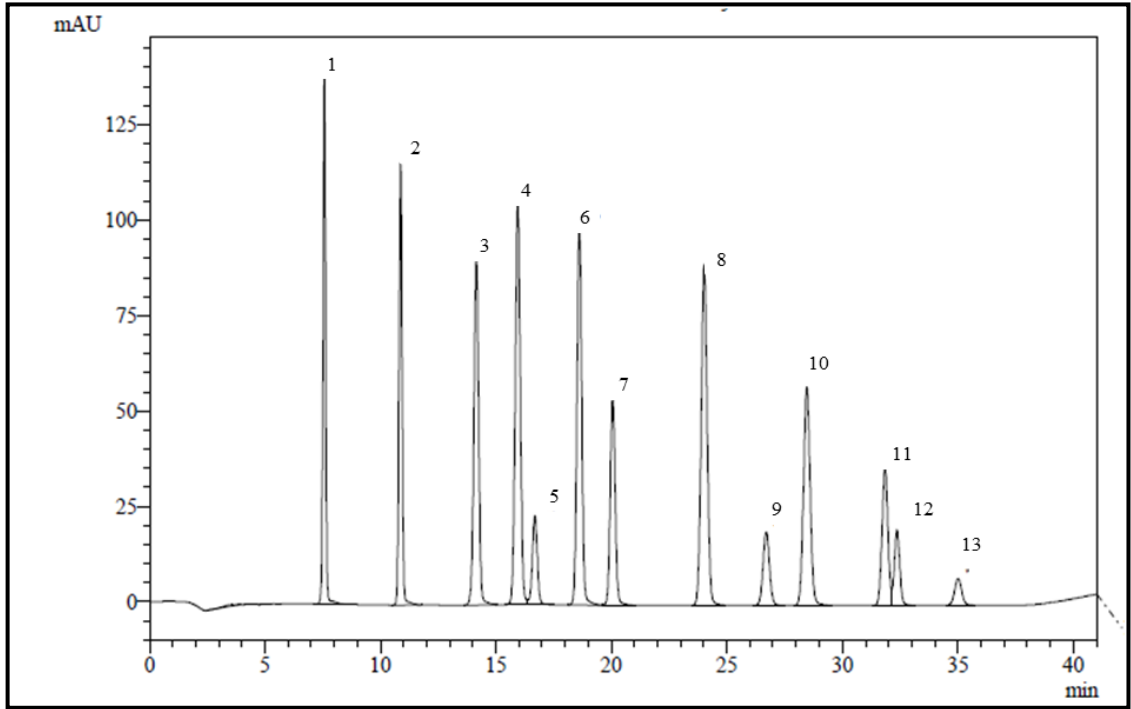
Şekil 14. Luteolin (CAE-1)'in $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)



Şekil 15. Luteolin (CAE-1)'in ^{13}C -NMR Spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)

6.1.2. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) ile Fenolik Bileşiklerin Tayini

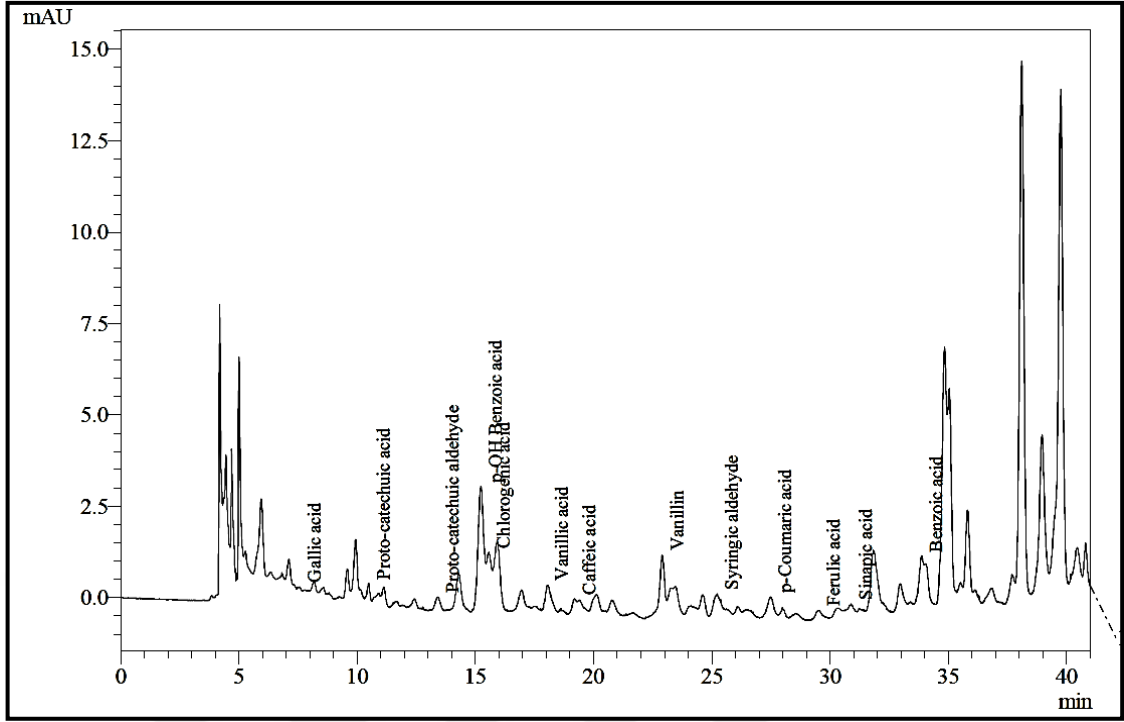
Bir maddenin fenolik yapısı o maddenin antioksidan etkisinin bir göstergesi olabilir. *C. aytatchii*'in fenolik yapısı YBSK ile belirlenmiştir (112). 13 standarda göre yapılan analizin sonucu ana fenolik bileşik, benzoik asit olarak tespit edilmiştir. Kantitatif analiz çalışmalarında benzoik asit miktarı 0,64 mg/g (MeOH Ekstresi) olarak bulunmuştur.



Şekil 16. Fenolik Standartların YBSK Kromatogramları. Gallik asit (1), protokateşik asit (2), protokatekuik aldehit (3), *p*-OH benzoik asit (4), klorojenik asit (5), vanilik asit (6), Kafeik asit (7), Vanilin (8), Siringaldehit (9), *p*-kumarik asit (10), ferulik asit (11), sinapik asit (12) ve benzoik asit (13).

Tablo 6. YBSK Metod Parametreleri

	Alıkonma zamanı			Regresyon denklemini	Kolerasyon katsayısı (R)	Lineer aralık (mg/mL)	LOD (mg/mL)	LOQ (mg/mL)
	Ortalama (min)	%RSD	Std					
Gallik asit	7,317	0,605	0,044	$Y=46685x-33209$	0,9935	2,5-25	1,783	5,404
Protokateşik asit	10,515	0,505	0,531	$Y=39214x-27944$	0,9984	2,5-25	1,205	3,652
Protokateşik aldehit	13,534	0,595	0,080	$Y=46438x+6147,1$	0,9968	2,5-20	1,337	4,0524
p-OH Benzoik asit	15,076	0,743	0,112	$Y=39080x-10794$	0,9974	2,5-100	3,945	11,957
Klorojenik Asit	15,750	0,702	0,110	$Y=9208,8x-399,4$	0,9930	2,5-50	4,068	12,328
Vanillik Asit	17,825	0,528	0,094	$Y=49369x-631102$	0,9980	2,5-50	1,175	3,561
Kafeik Asit	19,036	0,640	0,121	$Y=27764x-9126,7$	0,9973	2,5-100	5,122	15,523
Vanillin	23,076	0,456	0,105	$Y=38753x-1671,6$	0,9976	2,5-100	3,768	11,418
Siringaldehit	25,631	0,423	0,108	$Y=13655x-2503,5$	0,9982	2,5-20	0,866	2,624
p-Kumarik Asit	26,840	0,661	0,177	$Y=53747x-39534$	0,9955	2,5-25	1,634	4,861
Ferulik Asit	30,297	0,445	0,134	$Y=81674x-55584$	0,9975	2,5-25	1,427	4,325
Sinapik Asit	31,023	0,400	0,124	$Y=63367x-44638$	0,9997	2,5-100	1,651	5,006
Benzoik Asit	33,870	0,434	0,147	$Y=6422x-11532$	0,9967	5-100	3,194	9,679



Şekil 17. *C. aytatchii* Metanol Ekstresi Fenolik Bileşiklerin YBSK Kromatogramı

6.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

6.2.1. Metanol Ekstresinin Tirozinaz Enzimi Üzerine Etkisi

Yapılan deneysel çalışma sonunda, metanol ekstresinin tirozinaz enzimi üzerine etkisi olmadığı gözlenmiştir.

6.2.2. Metanol Ekstresinin Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz Enzimleri Üzerine Etkisi

Yapılan deneysel çalışma sonunda, metanol ekstresinin asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimleri üzerine etkisi olmadığı gözlenmiştir.

7. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Asteraceae familyasından olan *Cirsium* Miller cinsinin, ülkemizde bulunan 31'i endemik olan 63 türü üzerinde sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (1-3). Ancak, dünya üzerinde bu cinse ait türler üzerinde yapılmış olan birçok fitokimyasal analiz ve biyolojik aktivite çalışmaları bulunmaktadır.

Cirsium türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucunda, türlerde lignanlar, fenolik asitler, flavonoidler, terpenik bileşikler saptanmıştır.

Bu çalışma, ülkemiz için endemik bir tür olan *C. aytatchii* üzerinde yapılacak ilk kimyasal çalışma niteliği taşımaktadır ve *C. aytatchii*'nin topraküstü kısımlarında bulunan ana bileşiklerin saflaştırılması ve saflaştırılan bu bileşiklerin yapılarının aydınlatılması amaçlanmıştır.

Literatür taramaları sonunda, *Cirsium* türleri üzerinde bugüne kadar çok sayıda fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları yapıldığı görülmüştür.

Cirsium türleri üzerinde yapılmış bazı biyolojik aktivite çalışmaları sonunda, antioksidan (30, 97, 98), antienflamatuvar (28), antidepresan (99-100) tümör hücrelerinde apoptozis (101), lipolizi destekleyici (102), antiobezite (103) ve karaciğer koruyucu (95, 104-105) özellik gösteren türler bulunduğu gözlenmiştir.

Bu çalışmada kullanılan *C. aytatchii*'nin topraküstü kısımları Adana: Aladağ, Gerdibi - Aladağ arası 2. km (920 m, 13.08.2014, N37 54 516 E35 15 526)'den toplanmıştır. Bitkinin topraküstü kısımları gölgede kurutularak ve değirmende toz edilmiştir. Toz edilmiş materyal, metanol ile ekstre edilmiştir. Metanol ekstresi su:metanol (9:1) karışımında süspande edilmiş ve, sırasıyla, kloroform ve etil asetat ile, 1 litrelik ayırma hunisinde partitasyon gerçekleştirilmiştir. Etil asetat altfraksiyonundan, kromatografik yöntemler yardımıyla CAE-1 saflaştırılmıştır.

C. aytatchii'nin ana bileşiklerinin saflaştırılmasında İTK, kolon kromatografisi ve jel permeasyon kromatografisi teknikleri kullanılmıştır. Maddelerin saf olarak elde edilmesinde preparatif İTK çalışmaları da gerçekleştirilmiştir.

Saf madde üzerinde ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik yöntemleri kullanılarak yapı tayini çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemler sonucunda NMR spektrumlarının alınmasında 400 MHz NMR cihazından yararlanılmıştır.

^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik yöntemleri kullanılarak CAE-1'in yapısı flavon aglikonu yapısında, luteolin olarak aydınlatılmıştır.



8. SONUÇLAR

1. Bu çalışmada *C. aytatchii* bitkisinin topraküstü kısmı üzerinde izolasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.
2. Yapılan çalışmalar sonucunda etil asetat fraksiyonundan flavon aglikonu yapısında olan luteolin izole edilmiştir. Elde edilen bileşiğin kimyasal yapı tayinleri spektroskopik yöntemlerle gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla NMR (Nükleer Manyetik Rezonans) spektroskopisinden yararlanılmıştır. ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları alınmıştır.
3. Bitkiden elde edilen metanol ekstresi, metanol ekstresinden hareketle elde edilen kloroform, etil asetat ve arta kalan su fraksiyonları üzerinde bazı biyolojik aktivite çalışmaları yapılmış ve aktivite varlığı gözlenmemiştir.
4. Bitkiden elde edilen metanol ekstresi üzerinde 13 fenolik bileşik standart alınarak yapılan yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi analizi sonucu ana fenolik bileşik, benzoik asit olarak tespit edilmiştir. Kantitatif analiz çalışmalarında benzoik asit miktarı 0,64mg/g (MeOH Ekstresi) olarak bulunmuştur.

9. KAYNAKLAR

1. Yıldız B, Şahin A, Dirmenci T, Arabacı T, Çelenk S, Kelch D (2010). Türkiye’de Yetişen *Cirsium* Mill. (Asteraceae) Türleri Üzerinde Taksonomik, Moleküler, Karyolojik ve Palinolojik Araştırmalar, Tübitak Projesi, TBAG-106T167.
2. Davis PH, Parris BS (1975). *Cirsium* Mill. In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands.(Ed: Davis PH). Edinburgh: Edinburgh University Press 5: 382-383.
3. Davis PH, Tan K, Mill RR (1988). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh: Edinburgh University Press 10.
4. Baytop T (2007). Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. Türk Dil Kurumu Yayınları, Ankara; 578.
5. Nalewajko-Sieliwoniuk E, Malejko J, Mozolewska M, Wołyniec E, Nazaruk J (2015). Determination of polyphenolic compounds in *Cirsium palustre* (L.) extracts by high performance liquid chromatography with chemiluminescence detection. Talanta 133: 38-44.
6. Baytop T (1999). Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
7. Loizzo MR, Statti GA, Tundis R, Conforti F, Ando S, Menichini F (2004). Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Cirsium tenoreanum*. Fitoterapia, 75: 577-580.
8. Orhan DD, Ergun F, Yesilada E, Tsuchiya K, Takaishi Y, Kawazoe K (2007). Antioxidant activity of two flavonol glycosides from *Cirsium hypoleucum* DC. through bioassay-guided fractionation. Turk J Pharm Sci 4: 1-14.
9. Park JC, Hur JM, Park JG, Kim SC, Park JR, Choi SH, Choi JW (2004). Effects of methanol extract of *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* and its principle, hispidulin-7-O-neohesperidoside on hepatic alcohol-metabolizing enzymes and lipid peroxidation in ethanol-treated rats. Phytother Res 18: 19-24.
10. Erik S, Tarıkahya B (2004). Türkiye Florası Üzerine (About Flora of Turkey), Kebikeç 17: 139-163.
11. Heywood VH (1978). Flowering Plants of the World. Oxford, London, Oxford University Press.
12. Hickey M, King CJ (1981). 100 Families of Flowering Plants, Cambridge: Cambridge University Press.

13. Doğan B (2007). Türkiye *Jurinea cass.* (Asteraceae) Cinsinin Revizyonu. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
14. Özhatay N, Kültür Ş (2006). Check-List of Additional Taxa to the Supplement Flora of Turkey III, Turk J Bot 30:281-316.
15. Güner A (2000). *Cirsium aytatchii*, In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Ed: Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer KHC). Edinburgh, Edinburgh University Press 11: 162.
16. Wu TS, Kuoh CS, Jen SI (1981). Constituents of Formosan folk medicine. VIII. Flavonoids of the leaves of *Cirsium albescens*, *C. japonicum* var. *australe*, *C. kawakamii* f. *variegatum* and *C. Hosogawa*. Taiwan Yaoxue Zazhi 32: 88-90.
17. Khan ZU, Khan S, Chen Y, Wan P (2013). In vitro antimicrobial activity of the chemical constituents of *Cirsium arvense* (L.) Scop. J Med Plants Res 7: 1894-1898.
18. Nazaruk J, Szoka L (2009). The qualitative and quantitative analysis of phenolic acids and flavonoids in *Cirsium* sp. Herba Pol 55: 32-37.
19. Shelyuta VL, Glyzin VI, Ban'kovskii AI (1970). Flavonoids from *Cirsium arvense*. Khim Priro Soedin 6: 365-366.
20. Khan ZUH, Ali F, Khan SU, Ali I (2011). Phytochemical study on the constituents from *Cirsium arvense*. Mediterranean Journal of Chemistry 1: 64-69.
21. Wallace JW (1974). Tricin-5-O-glucoside and other flavonoids of *Cirsium arvense*. Phytochemistry 13: 2320-2321.
22. Dutta CP, Ray LPK, Roy DN (1972). Taraxasterol and its derivatives from *Cirsium arvense*. Phytochemistry 11: 2267-2269.
23. Palade M (1971). o-Dihydrophenolic derivatives from *Cirsium arvense*. Farmacia 4: 233-240.
24. Szokol-Borsodi L, Solyomvary A, Molnar-Perl I, Boldizsar I (2012). Optimum Yields of Dibenzylbutyrolactone-type Lignans from Cynareae Fruits, During their Ripening, Germination and Enzymatic Hydrolysis Processes, Determined by On-line Chromatographic Methods. Phytochemical Analysis 23:598-603
25. Theis N (2006). Fragrance of Canada thistle (*Cirsium arvense*) attracts both floral herbivores and pollinators. J Chem Ecol 32: 917-927.

26. Jeong DM, Jung HA, Choi JS (2008). Comparative antioxidant activity and HPLC profiles of some selected Korean thistles. *Arch Pharm Res* 31:28-33.
27. Lee HB, Kwak JH, Zee OP, Yoo SJ (1994). Flavonoids from *Cirsium rhinoceros*. *Arch Pharm Res* 17: 273-7.
28. Lim H, Son KH, Chang HW, Bae K, Kang SS, Kim HP (2008). Anti-inflammatory activity of pectolarigenin and pectolarin isolated from *Cirsium chanroenicum*. *Biol Pharm Bull* 31: 2063-2067.
29. Rasulov FA, Serkerov SV, Ismailov NM, Novruzov EN (1989). Chemical investigation of *Cirsium echinus*. *Izvestiya Akademii Nauk Azerbaidzhanskoi SSR, Seriya Biologicheskikh Nauk* 6:14-16.
30. Liu Y, Tian X, Gou L, Sun L, Ling X, Yin X (2013). Luteolin attenuates diabetes-associated cognitive decline in rats. *Brain Res Bull* 94: 23-29.
31. Ganzera M, Poecher A, Stuppner H (2005). Differentiation of *Cirsium japonicum* and *C. setosum* by TLC and HPLC-MS. *Phytochem Analysis* 16: 205-209.
32. Lu Y, Duan S, Pan J, Yu P (2009). Phytochemical investigation of *cirsium japonicum* DC. *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa* 21: 563-565.
33. Jiang X, Fan C, Ye W (2006). Study on chemical components in the roots of *Cirsium japonicum* DC. *Zhongcaoyao* 37: 510-512.
34. Gu Y, Tu Y (1992). Chemical constituents of *Cirsium japonicum* DC. *Zhongguo hongyao Zazhi* 17: 489-490.
35. Miyaichi Y, Matsuura M, Tomimori T (1995). Phenolic compound from the roots of *Cirsium japonicum* DC. *Natural Medicines* 49: 92-94.
36. Li B (2011). Determination of chlorogenic acid in *Cirsium japonicum* in Xinjiang by RP-HPLC. *Zhonghua Yixue Shijian Zazhi* 10: 15-17.
37. Miyazawa M, Yamafuji C, Kurose K, Ishikawa Y (2003). Volatile components of the rhizomes of *Cirsium japonicum* DC. *Flavour Frag J* 18: 15-17.
38. Nguyen TT, Cuong T, Hung T, Lee J, Na M, Son J, Jung H, Fang Z, Woo M, Choi J (2011). Simultaneous determination of bioactive flavonoids in some selected Korean thistles by high-performance liquid chromatography. *Arch Pharm Res* 34: 455-461.
39. Morita N, Shimizu M, Arisawa M (1973). Two new flavone glycosides from *Cirsium lineare*. *Phytochemistry* 12: 421-423.

40. Devi G, Kapil RS, Popli SP (1979). 4',5-Dihydroxy-3',6,7-trimethoxyflavone from *Anisomeles malabarica* R.Br. *Indian J Chem B* 17: 84-85.
41. Liu X, Zhong Y, Wang J (2009). Chemical constituents of *Cirsium lineare*. *Zhongcaoyao* 40: 874-876.
42. Jung HA, Kim YS, Choi JS (2009). Quantitative HPLC analysis of two key flavonoids and inhibitory activities against aldose reductase from different parts of the Korean thistle, *Cirsium maackii*. *Food Chem Toxicol* 47: 2790-2797.
43. Lee JH, Lee KR (2005). Phytochemical constituents of *Cirsium nipponicum* (MAX.) Makino. *Saengyak Hakhoechi* 36: 145-150.
44. Shelyuto VL, Glyzin VI, Ban'kovskii AI, Bubon NT (1971). Flavanoids of *Cirsium oleraceum* flowers. *Khim Prir Soedin* 7: 371.
45. Shelyuto VL, Glyzin VI, Yurchenko GN, Smirnova LP (1978). Flavonoids from *Cirsium oleraceum* flowers. *Khim Prir Soedin* 3: 400.
46. Krzysztolik B, Ludwiczak RS (1970). Triterpenes and sterols of *Cirsium oleraceum*. *Herba Hungarica* 9: 99-104.
47. Krzysztolik B, Ludwiczak RS (1971). Triterpenes and sterols from *Cirsium oleraceum*. *Rocz Chem* 45: 355-364.
48. Nazaruk J (2009). Flavonoid compounds from *Cirsium palustre* (L.) Scop. flower heads. *Biochem Syst Ecol* 37: 525-527.
49. Nazaruk J, Wajs-Bonikowska A, Bonikowski R (2012). Components and antioxidant activity of fruits of *Cirsium palustre* and *C. rivulare*. *Chem Nat Compd* 48: 8-10.
50. Chen G, Li X, Shi L, Zhang S (2007). Chemical constituents from *Cirsium pendulum* Fisch. ex DC. *Zhongyaocai* 30: 291-294.
51. Yim S, Kim HJ, Lee I (2003). A polyacetylene and flavonoids from *Cirsium rhinoceros*. *Arch Pharm Res* 26: 128-131.
52. Chung AK, Kwon HC, Choi SZ, Min YD, Lee SO, Lee WB, Yang MC, Lee KH, Nam JH, Kwak JH (2002). Norisoprenoids from *Cirsium rhinoceros*. *Saengyak Hakhoechi* 33: 81-84.
53. Nazaruk J, Gudej J (2003). Flavonoid compounds from the flowers of *Cirsium rivulare* (Jacq.) All. *Acta Pol Pharm* 60: 87-89.

54. Lee WB, Kwon HC, Cho OR, Lee KC, Choi SU, Baek NI, Lee KR (2002). Phytochemical constituents of *Cirsium setidens* Nakai and their cytotoxicity against human cancer cell lines. Arch Pharm Res 25: 628-635.
55. Nugroho A, Kim M, Lim S, Choi J, Choi JS, Park H (2011). Validation of high-performance liquid chromatography analysis on phenolic substances of *Cirsium setidens* and sedative effect of pectolinarin as the active principle. Natural Product Sciences 17: 342-349.
56. Lu Y, Song W, Liang X, Wei D, Zhou X (2009). Chemical fingerprint and quantitative analysis of *Cirsium setosum* by LC. Chromatographia 70:125-131
57. Pan K, Yin Y, Kong L (2006). Chemical constituents of *Cirsium setosum* (Willd.) MB. Zhongguo Xiandai Zhongyao 8: 7-9.
58. Rendyuk TD, Krivut BA, Glyzin VI (1978). Spectrophotometric method for determining acacetin in the leaves of *Cirsium setosum* (Willd.). Farmatsiya 27: 68.
59. Han B, Li N, Li X (2008). Isolation and identification of chemical constituents from *Cirsium setosum* (Willd.) MB. Shenyang Yaoke Daxue Xuebao 25: 793-795.
60. Feng Z, Yang Y, Jiang J, Zhang P (2012). Chemical constituents from *Cirsium setosum*. Zhongguo Shiyen Fangjixue Zazhi 18: 87-89.
61. Syrchina AI, Semenov AA, Zinchenko SV(1998). Investigation of chemical composition of *Cirsium setosum* (Wild) Bess. Rastitel'nye Resursy 34: 47-49.
62. Syrchina AI, Semenov AA, Zinchenko SV (1997). Chemical investigation of *Cirsium setosum*. Chem Nat Comp 33: 212.
63. Li L, Sun Z, Shang X, Li J, Wang R, Zhu J (2012). Triterpene compounds from *Cirsium setosum*. Zhongguo Zhongyao Zazhi 37: 951-955.
64. Sun Z, Li L, Yuan Z, Wang A, Li J, Shang X (2012). Isolation, purification and structural elucidation of steroids from *Cirsium setosum* (Willd.) MB. Shipin Kexue 33: 124-127.
65. Hou K, Xu J, Zhang T (2010). Determination of contents of chlorogenic acid and acaciin in *Cirsium setosum* (Willd.) MB. by HPLC method. Zhongguo Shiyen Fangjixue Zazhi 16: 62-64.
66. Aboul-Ela MA, Abdul-Ghani MM, El-Fiky FK, El-Lakany AM, Mekky HM, Ghazy NM (2002). Chemical constituents of *Cirsium syriacum* and *Cichorium intybus* (Asteraceae) growing in Egypt Alexandria. J Pharm Sci 16: 152-156.

67. Khafagy SM, Halim AF, Gohar AA (1981). Chemical study of *Cirsium syriacum*. Fitoterapia 52: 21-23.
68. Statti G, Menichini F, Delle Monache F (1997). Constituents of *Cirsium vallis-demonii*. Fitoterapia 68: 472.
69. Kozyra M, Glowniak K (2013). Phenolic acids in extracts obtained from the flowering herbs of *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. growing in Poland. Acta Soc Bot Pol 82: 325-329.
70. Boldizsar I, Kraszni M, Toth F, Toth G, Solyomvary A, Noszal B, Zaray Gy, Molnar-Perl I (2012). The role of harmonized, gas and liquid chromatography mass spectrometry in the discovery of the neolignan balanophonin in the fruit wall of *Cirsium vulgare*. J Chromatogr A 1264: 143-147.
71. Lu M, Ge H, Liu S, Liao Z (2013). Studies on chemical constituents of *Cirsium souliei* (Franch.) Mattf. Xibei Yaoxue Zazhi 28: 118-121.
72. He Z, Lu C, Wu W, Zhu Y (2007). Lipophilic chemical constituents from *Cirsium souliei*. Xibei Zhiwu Xuebao 27: 1884-1887.
73. Cao Q, Chen J (2010). Studies on the chemical constituents of *Cirsium segetum*. Yaoxue Shijian Zazhi 28: 271-273.
74. Zhou Q, Chen L, Liu Z, Deng Q (2007). Studies on chemical components of *Cirsium segetum*. Zhongyaocai 30: 45-47.
75. Gu Y, Tu Y (1992). Chemical constituents of *Cirsium segetum* (Bge.) Kitam. Zhongguo Zhongyao Zazhi 17: 547-548.
76. Bohlmann F, Abraham WR (1981). Apilotaxene epoxide from *Cirsium hypoleucum*. Phytochemistry 20: 855-866.
77. Takano S, Kawaminami S (1988). Cyperenyl acetate and cyperenal from *Cirsium dipsacolepis*. Phytochemistry 27:1197-1199.
78. Takano S, Kawaminami S (1988). Cyperenyl acetate and cyperenal from *Cirsium dipsacolepis*. Phytochemistry 27:1197-1199.
79. Chen Y, Yi J, Deji LQ (2010). Study on quality standard of Tibetan medicine *Cirsium esculentum*. Zhongchengyao 32: 1377-1379.
80. Zhang Y, Ruan H, Zhang Y, Pi H, Wu J (2007). Chemical compositions of *Cirsium henryi*. Yiyao Daobao 26: 1425-1426.

81. Zhang Y, Ruan H, Zhang Y, Pi H, Wu J (2010). Studies on the chemical constituents of *Cirsium henryi*. Natural Product Research & Development 22: 58-59.
82. McGowan SG, Wallace JW (1972). Flavonoids and phenolic acids from *Cirsium lanceolatum*. Phytochemistry 11: 1503-1504.
83. Lin C, Chang C, Wu T (1975). Components of Formosa *Cirsium* sp.. II. Components of *Cirsium arisanense*. J Chin Chem Soc 22: 53-55.
84. Lin C (1975). Components of Formosan *Cirsium* species. III. Flavonoids of *Cirsium kawakamii* and *Cirsium wallichii*. J Chin Chem Soc-Taip 22: 275-277.
85. Deliorman-Orhan D, Ergun F, Yeşilada E, Tsuchiya K, Takaishi Y, Kawazoe K (2007). Antioxidant activity of two flavonol glycosides from *Cirsium hypoleucum* DC. through bioassay-guided fractionation. Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences 4: 1-14.
86. Aquino R, Behar I, Simone FD, Menichini F (1987). Preliminary investigation on *Cirsium vallis demoni*. Fitoterapia 58: 428-429.
87. Nazaruk J, Jakoniuk P (2005). Flavonoid composition and antimicrobial activity of *Cirsium rivulare* (Jacq.) All. Flowers. J Ethnopharmacol 102: 208-212.
88. Yoo YM, Nam JH, Kim MY, Choi J, Park HJ (2008). Pectolinarin and pectolinarigenin of *Cirsium setidens* prevent the hepatic injury in rats caused by D-galactosamine via an antioxidant mechanism. Biol Pharma Bull31: 760-764.
89. Liu S, Zhang J, Li D, Liu W, Luo X, Zhang R, Li L, Zhao J (2007). Anticancer activity and quantitative analysis of flavone of *Cirsium japonicum* DC. Nat Prod Res 21: 915-922.
90. Yuejin W (2008). Herbal toothpaste for treating halitosis. Faming Zhuanli Shenging Gongkai Shuomingshu, CN 101305976 A 20081119.
91. Yang R, Guo Y (2006). Method for determining rutin content in *Cirsium setosum* by HPLC. Xiandai Zhongyiyao 26: 52-55.
92. Yaping L (2008). Oral Chinese medicines decoction for treating hematuria associated with benign prostatic hyperplasia and its preparation. Faming Zhuanli Shenging Gongkai Shuomingshu, CN 101301324 A 20081112.

93. Aixian Y, Junjun F, Zhiquan Y (2007). Manufacture of traditional Chinese medicine decoction for treating acute sinusitis, Faming Zhuanli Shenging Gongkai Shuomingshu, CN 1916299 A 20070221.
94. Bracca ABJ, Kaufman TS (2008). An alternative and convenient synthesis of oct-7-enal, a naturally-occurring aldehyde isolated from the Japanese thistle *Cirsium dipsacolepis* J. Brazil Chem Soc 19: 1125-1128.
95. Ku K-L, Tsai C-T, Chang W-M, Shen M-L, Wu C-T, Liao H-F (2008). Hepatoprotective Effect of *Cirsium arisanense* Kitamura in Tacrine-Treated Hepatoma Hep 3B Cells and C57BL Mice. Am J Chinese Med 36: 355-368.
96. Hualin L (2007). Oral solution for treating prostatitis, Faming Zhuanli Shenging Gongkai Shuomingshu, CN 1903338 A 20070131.
97. Nazaruk J, Czechowska SK, Markiewicz R, Borawska MH (2008). Polyphenolic compounds and in vitro antimicrobial and antioxidant activity of aqueous extracts from leaves of some *Cirsium* sp. Nat Prod Res 22: 1583-1588.
98. Jang M, Hong E, Cheong JH, Kim G-H (2012). Antioxidative components and activity of domestic *Cirsium japonicum* extract. Han'guk Sikp'um Yongyang Kwahak Hoechi 41: 739-744.
99. de la Pena JBI, Kim CA, Lee HL, Yoon SY, Kim HJ, Hong EY, Kim GH, Ryu JH, Lee YS, Kim KM (2014). Luteolin mediates the antidepressant-like effects of *Cirsium japonicum* in mice, possibly through modulation of the GABAA receptor. Arch Pharm Res 37: 263-269.
100. Hyung K, Yoon SY, Choi JH, Ko HS, Suh YW, Lee YS, Kim G, Chung MS, Cheong JH (2006). The antidepressant effects of *Cirsium japonicum* in ICR mice Park. Yakhak Hoechi 50: 429-435.
101. Liu S, Guo H, Pan M, Yang Z, Zhang J (2010). Influence of *Cirsium japonicum* flavonoid on apoptosis of tumor cells. Shizhen Guoyi Guoyao 21: 294-295.
102. Mori S, Satou M, Kanazawa S, Yoshizuka N, Hase T, Tokimitsu TY, Nishizaw Y, Yada T (2009). Body fat mass reduction and up-regulation of uncoupling protein by novel lipolysis-promoting plant extract. Int J Biol Sci 5: 311-318.
103. Inafuku M, Nugara RN, Kamiyama Y, Futenma I, Inafuku A, Oku H (2013). *Cirsium brevicaulis* A. Gray leaf inhibits adipogenesis in 3T3-L1 cells and C57BL/6 mice. Lipids Health Dis 12: 124.

104. Hou K, Xu J, Zhang T (2010). Advance in studies on chemical constituents in medicinal plants of *Cirsium* Mill. and their pharmacological effects. *Zhongcaoyao* 41: 6-9.
105. Lee SH, Heo S-I, Li L, Lee MJ, Wang M-H (2008). Antioxidant and hepatoprotective activities of *Cirsium setidens* Nakai against CCl₄-induced liver damage. *The American journal of Chinese Medicine* 36: 107-114.
106. Jordon-Thaden IE, Louda SM (2003). Chemistry of *Cirsium* and *Carduus*: A role in ecological risk assessment for biological control of weeds? *Biochem Syst Ecol* 31: 1353-1396.
107. Yin J, Heo SI, Wang MH (2008). Antioxidant and antidiabetic activities of extracts from *Cirsium japonicum* roots. *Nutr Res Pract* 2: 247.
108. Likhitwitayawuid K, Sritularak B (2001). A new dimeric stilbene with tyrosinase inhibitory activity from *Artocarpus gomezianus*. *J Nat Prod* 64: 1457-1459.
109. Masuda T, Yamashita D, Takeda, Y, Yonemori S (2005). Screening for tyrosinase inhibitors among extracts of seashore plants and identification of potent inhibitors from *Garcinia subelliptica*. *Biosci Biotech Bioch* 69: 197-201.
110. Malikov VM, Yuldashev MP (2002). Phenolic compounds of plants of the *Scutellaria* L. Genus. Distribution, structure and properties. *Chemistry of Natural Products* 38: 358-402.
111. Markham KR, Ternai B, Stanley R, Geiger H, Mabry TJ (1978). Carbon-13 NMR Studies of Flavonoids III. Naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivatives. *Tetrahedron* 34:1389-1397.
112. Aliyazıcıoğlu R, Demir S, Badem M, Sener SO, Korkmaz N, Demir Ayazoğlu E, Ozgen U, Karaoğlu Alpay S, Aliyazıcıoğlu Y (2017). Antioxidant, Antigenotoxic, Antimicrobial Activities and Phytochemical Analysis of *Dianthus carmelitarum*. *Rec Nat Prod* 11: 270-284.

10. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

T.C. Kimlik/Pasaport No : 31538335z8
Soyadı, Adı : SEÇKİN Gaye
Uyruğu : T.C
Doğum tarihi ve yeri : 07.02.1985 – TRABZON
Medeni hali : Evli
Telefon : 0 462 230 22 85
E-Posta : ga_ye85@yahoo.com.tr

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı	2014-
Lisans	Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2002-2007
Lise	Denizli Acıpayam Anadolu Lisesi	1999-2000
	Trabzon Kanuni Anadolu Lisesi	2000-2002

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl -Yıl)
1. Eczacı	Sürmene Devlet Hastanesi	
	Eczane Birimi	2008-2016
2. Eczacı	Fatih Devlet Hastanesi	2017-

YABANCI DİL

İngilizce