Tanacetum haussknechtii (BORNM.) GRIERSON UÇUCU YAĞININ KİMYASAL, ENANTİOMERİK ve BİYOLOJİK AKTİVİTE AÇISINDAN ARAŞTIRILMASI

Süleyman Yur

Yüksek Lisans Tezi

Tanacetum haussknechtii (BORNM.) GRIERSON UÇUCU YAĞININ KİMYASAL, ENANTİOMERİK ve BİYOLOJİK AKTİVİTE AÇISINDAN ARAŞTIRILMASI

Süleyman Yur

Yüksek Lisans Tezi

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakognozi Anabilim Dalı
Eskişehir, Şubat 2016

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Gülmira Özek

Bu tez çalışması, Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje No. 1504S164)

Jüri ve Enstitü Onayı

Süleyman Yur'un *Tanacetum haussknechtii* (Bornm.) Grierson Uçucu Yağının Kimyasal, Enantiomerik ve Biyolojik Aktivite Açısından Araştırılması başlıklı, Farmakognozi Anabilim Dalı'ndaki Yüksek Lisans tezi, 17.02.2016 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	**İmza**
Üye (Tez Danışmanı)	Doç Dr. Gülmira Özek Anadolu Üniversitesi	.....
Üye	Prof. Dr. Murat Kartal Bezmialem Üniversitesi	.....
Üye	Prof. Dr. Fatih Demirci Anadolu Üniversitesi	.....

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 08.03.2016 tarih ve .....10..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Dilek Ak
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı ve soyadı	: Süleyman YUR
Doğum tarihi ve yeri	: 25/02/1988, Adapazarı
Uyruğu	: T.C.
Medeni durumu	: Bekar
İletişim adresleri	
Ev adresi	:Yenibağlar Mah. Hacı Hüsnü Sok. No:26/9 Tepebaşı/Eskişehir
E-posta	:yursuleyman@gmail.com
Telefon	:+90 546 588 28 46

Eğitim Durumu

İlköğretim	: Özel Tansel Okulları (2002)
Ortaöğretim	: Adapazarı Atatürk Yabancı Dil Ağırlıklı Süper Lisesi (2006)
Lisans	: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi FEF-Biyoloji Bölümü (2011)
Lisansüstü	: Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü-Farmakognozi Anabilim Dalı (devam ediyor)
Yabancı dil	: İngilizce

Yayınlar

Poster Bildiriler :

1.ISEO 2014-International Symposium on Essential Oils - Chemical diversity of *Peucedanum longicarpum* volatiles (Özek G., Yur S., Duran A., Öztürk M., Başer K.H.C.)

2.SCNC 2015- 11th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds Essential oil composition and biological activities of *Tanacetum haussknechtii* (Bornm.) Grierson (Özek G., Yur S., Tekin M., Türk M., Göger F., Başer K.H.C.)

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini sabırla benimle paylaşan çok değerli danışman hocam Doç. Dr. Gülmira ÖZEK'e,

Tüm çalışmalarım süresince fikir ve bilgilerini benden esirgemeyen ve enantiomer analizlerin gerçekleştirilmesinde yardımcı olan değerli hocam Prof. Dr. Temel ÖZEK'e,

Bana Anadolu Üniversite Eczacılık Fakültesi'nde yükseklisans yapma şansı tanıyan Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Neş'e KIRIMER'e ve Anabilim Dalı üyelerine,

Arazi çalışmalarımda değerli vaktini benimle paylaşıp yardımını esirgemeyen Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı Başkanı Yrd. Doç. Dr. Mehmet TEKİN'e,

Deney aşamalarımda bana yol gösteren ve yardımcı olan Uzm. Dr. Fatih Göger'e,

Eczacılık Fakültesinde eğitim gören, tüm çalışmalarım sırasında manevi desteğini gördüğüm tüm çalışma arkadaşlarıma,

Lisansüstü eğitimim boyunca benden manevi desteğini hiç esirgemeyen sevgili arkadaşım Tuğçe ARSLAN'a,

Eskişehir'de geçirdiğim süre boyunca bana maddi ve manevi destekte bulunan fedakar annem Neriman Kıyak, değerli ağabeyim Savaş YUR ve dayım Nevzat KIYAK'a,

Tüm içtenliğimle, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tanacetum haussknechtii (BORNM.) GRIERSON UÇUCU YAĞININ KİMYASAL, ENANTİOMERİK ve BİYOLOJİK AKTİVİTE AÇISINDAN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Türkiye'nin endemik bitkisi olan *Tanacetum haussknechtii* (Bornm.) Grierson üzerinde kimyasal kompozisyon ve biyolojik aktivite araştırması gerçekleştirildi.

Bitkinin sap-yaprak, çiçek ve kök kısımlarından hidrodistilasyon yöntemi ile uçucu yağları elde edilerek kompozisyonları Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi ve Gaz Kromatografisi-Alev İyonlaşma Dedektörü teknikleri ile araştırıldı. Ana bileşikler olarak sap-yaprak ve çiçek uçucu yağlarında borneol (%17.2, %20.5) ve α-pinen (%14.5, %12.3), kök uçucu yağında ise geranil izovalerat (%41.6) bulundu.

Yağlardaki α-pinen, β-pinen, sabinen, terpinen-4-ol, borneol, limonen, *trans*-pinokarveol enantiomer bileşiklerin enantiomer oranları şiral kolonda tespit edildi.

Bitkinin topraküstü kısmından Folch metodu ile sabit yağ asitleri elde edilerek kompozisyonları gaz kromatografi yöntemiyle araştırıldı. Palmitik (%25.5), linoleik (%17.6) ve linolenik (%25.4) asit ana bileşikler olarak saptandı.

Bitkinin farklı kısımlarından metanol, etilasetat ve su kullanılarak maserasyon yöntemiyle elde edilen ekstrelerde toplam fenolik ve toplam flavonoit bileşiklerin miktarları spektrofotometrik olarak tayin edildi.

Uçucu yağ ve ekstrelerin *in vitro* deneylerde serbest radikal süpürme ve lipit peroksidasyonunu inhibe etme etkileri araştırılarak antioksidan aktiviteleri değerlendirildi.

İnce Tabaka Kromatografisi-Otografi ve Ellman metotlarıyla uçucu yağ ve ekstrelerin asetilkolinesteraz enzimi üzerine etkileri araştırıldı.

Metanollü ekstreler ve çiçek kısmından elde edilen etilasetatlı ekstrenin BHT ve gallik Asit'e göre orta derecede antioksidan etkiye sahip olduğu tespit edildi, ancak uçucu yağlar uygulanan deney sistemlerinde antioksidan etkili görülmedi. AChE enzim deneylerinde ise ekstreler zayıf etkili görülürken, çiçek uçucu yağı galantamin ile kıyaslandığında orta derecede etkili olduğu saptandı.

Anahtar kelime: *Tanacetum haussknechtii*, uçucu yağ, enantiomer, ekstre, aktivite, GC/MS.

INVESTIGATION of *Tanacetum haussknechtii* (BORNM.) GRIERSON ESSENTIAL OIL for CHEMICAL COMPOSITION, ENANTIOMERS and BIOLOGICAL ACTIVITY

ABSTRACT

Chemical composition, enantiomeric distrubition and biological activity of Turkey's endemic plant *Tanacetum haussknechtii* (Bornm.) Grierson was done.

The essential oils were obtained by hydrodistillation of different parts of the plant and analyzed by GC/MS and GC-FID techniques. Borneol (%17.2, %20.5) and α-pinene (%14.5, %12.3) were found to be the main compounds of the leaf-stem and the flower oils, geranyl isovalerate (%41.6) was detected as main constituent of the root oil.

Enantiomeric ratios of α-pinene, β-pinene, sabinene, terpinen-4-ol, borneol, limonene, *trans*-pinocarveol was determined by using chiral columns.

Fatty acids were obtained with Folsch method from the plant aerial parts and investigated by gas chromatographic techniques. Palmitic (%25.5), linoleic (%17.6) and linolenic acids were found as the main fatty acids.

The methanol, ethyl acetate and water extracts were obtained from different parts of the plant by maceration and the total phenolic and total flavonoid contents were evaluated spectrophotometrically.

The essential oils and extracts were evaluated for antioxidant activity using free radical scavenging activity and lipid peroxidation inhibition tests.

The efects of essential oils and extracts on AChE enzyme were investigated by using TLC-autography and Ellman's methods.

The methanolic extracts and the extract obtained with ethyl acetate from flowers demonstrated moderate antioxidant activity on tests. Essential oils didn't show any significant activity. In AChE enzyme assays the flower oil showed moderate neuroprotective properties, however the extracts were inactive.

Keywords: *Tanacetum haussknechtii*, essential oil, enantiomer, extract, activity, GC/MS.

İÇİNDEKİLER

ÖZGEÇMİŞ	**i**
ÖNSÖZ	**ii**
ÖZET	**iii**
ABSTRACT	**iv**
İÇİNDEKİLER	**v**
ŞEKİLLER DİZİNİ	**vii**
ÇİZELGELER DİZİNİ	**x**
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	**xi**
GİRİŞ ve AMAÇ	**1**
KAYNAK BİLGİSİ	**3**
Asteraceae Familyası	**3**
***Tanacetum* L. cinsi**	**3**
***Tanacetum haussknechtii* (Bornm.) Grierson**	**3**
Kimyasal Bölüm	**4**
Tanacetum Türleri Uçucu Yağ Üzerine Yapılmış Araştırmalar	**4**
Tanacetum Türleri Üzerine Yapılmış Diğer Fitokimyasal Çalışmalar	**7**
Biyolojik Aktivite	**12**
Antioksidan Aktivite Araştırmalarının Önemi	**16**
Asetilkolinesteraz Enzimi İnhibisyonun Önemi	**17**
Enantiomer Oranlarının Belirlenmesinin Önemi	**18**
GEREÇ ve YÖNTEMLER	**19**
Bitkisel Materyal	**19**
Kimyasal Maddeler	**20**
Cihaz ve Apareyler	**21**
Uçucu Yağ Eldesi	**22**
Sabit Yağ Asitlerinin Eldesi	**22**
Ekstrelerin Elde Edilmesi	**23**

Uçucu Yağın ve Sabit Yağ Asitlerinin Kimyasal Kompozisyonunun Aydınlatılması **24**

Enantiomerik Oranların Belirlenmesi **24**

Biyolojik Aktivite Çalışmaları **27**

ABTS serbest radikalini süpürme etkisi **27**

β-Karoten soldurma yöntemi **27**

Asetilkolinesteraz enzim inhibisyonu **28**

Toplam Fenol Miktar Tayini **30**

Toplam Flavonoit Miktar Tayini **31**

BULGULAR **32**

Uçucu Yağın Özellikleri **32**

Uçucu Yağ Kimyasal Kompozisyonu **32**

Enantiomer Madde Oranları **39**

Metillenmiş Sabit Yağ Asitleri Kimyasal Kompozisyonu **43**

Ekstrelerin Özellikleri **44**

Toplam Fenol Miktarı **44**

Toplam Flavonoit Miktarı **45**

Antioksidan Aktivite **46**

ABTS radikalini süpürme etkisi **46**

β-Karoten soldurma gücü **47**

Asetilkolinesteraz enzim inhibisyonu **48**

TARTIŞMA **51**

SONUÇ ve ÖNERİLER **60**

KAYNAKLAR **61**

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL NO ve ADI		SAYFA
Şekil 1	Antioksidan Etki Mekanizmaları	16
Şekil 2	Son Beş Yıl İçerisinde Antioksidan Aktivite Araştırmalarına Yapılan Atıflar	17
Şekil 3	Son Beş Yıl İçerisinde AChE İnhibisyonu Araştırmalarına Yapılan Atıflar	18
Şekil 4	Enantiomerik Bileşiklerin (+) ve (-) Formlarının Temsili Yapısı	18
Şekil 5	Bitkisel Materyalin Toplanması ve Herbaryum Örneği	19
Şekil 6	*Tanacetum haussknechtii* Bitkisinin Yayılışı	20
Şekil 7	Uçucu Yağ Eldesinde Kullanılan Su Distilasyon Apareyi	22
Şekil 8	Borontriflorür Reaktifi ile Yağ Asitlerinin Metil Esterlere Dönüşme Reaksiyonu	23
Şekil 9	Yağ Asitlerinin Dietil Eterli Fazda Toplanması	23
Şekil 10	Bitkisel Materyalin Farklı Çözücülerle Maserasyonu	23
Şekil 11	GC/MS GC-FID Sistemi	24
Şekil 12	ABTS, Potasyum Persulfat ve Antioksidan Arasındaki Tepkime	27
Şekil 13	ITK-Otografide Kullanılan Renk Reaksiyonu	28
Şekil 14	Ellman Metodunda Gerçekleşen Renk Reaksiyonu	30
Şekil 15	Toplam Fenol Miktar Tayini	30
Şekil 16	Toplam Flavonoit Miktar Tayini	31
Şekil 17	*T. haussknechtii* Bitkisinden Clevenger Apareyinde Uçucu Yağının Elde Edilmesi	32
Şekil 18	*T. haussknechtii* Sap+Yaprak Uçucu Yağının Gaz Kromatografik Profili	37
Şekil 19	*T. haussknechtii* Çiçek Uçucu Yağının Gaz Kromatografik Profili	37

Şekil 20 *T. haussknechtii* Kök Uçucu Yağının Gaz Kromatografik Profili 38

Şekil 21 *Tanacetum hauskknechtii* Sap-Yaprak ve Çiçek Uçucu Yağlarında Tanımlanmayan Bileşiğin Kütle Spektrumu 39

Şekil 22 *Tanacetum haussknechtii* α-Pinen Enantiomerlerinin Şiral Kolondaki Ayrımı ve Kütle Spektrumu 39

Şekil 23 *Tanacetum haussknechtii* β-Pinen Enantiomerlerinin Şiral Kolondaki Ayrımı ve Kütle Spektrumu 40

Şekil 24 *Tanacetum haussknechtii* Sabinen Enantiomerlerinin Şiral Kolondaki Ayrımı ve Kütle Spektrumu 40

Şekil 25 *Tanacetum haussknechtii* Limonen Enantiomerlerinin Şiral Kolondaki Ayrımı ve Kütle Spektrumu 41

Şekil 26 *Tanacetum haussknechtii* Terpinen-4-ol Enantiomerlerinin Şiral Kolondaki Ayrımı ve Kütle Spektrumu 41

Şekil 27 *Tanacetum haussknechtii* Borneol Enantiomerlerinin Şiral Kolondaki Ayrımı ve Kütle Spektrumu 42

Şekil 28 *Tanacetum haussknechtii* trans-Pinokarveol Enantiomerlerinin Şiral Kolondaki Ayrımı ve Kütle Spektrumu 42

Şekil 29 *Tanacetum haussknechtii* Sabit Yağ Asitleri Gaz Kromatografik Profili 44

Şekil 30 Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisi 45

Şekil 31 Kersetin Kalibrasyon Eğrisi 46

Şekil 32 Trolox Kalibrasyon Eğrisi 47

Şekil 33 *Tanacetum haussknechtii* Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin İTK-otografi Yöntemi ile AChE Enzimi İnhibisyon Etkisinin Taranması (1. Aşama) 48

Şekil 34 *Tanacetum haussknechtii* Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin İTK-otografi Yöntemi ile AChE Enzimi İnhibisyon Etkisinin Taranması (Aşama 2) 49

Şekil 35 *Tanacetum haussknechtii* Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin Ellman Metodu ile AChE Enzimi İnhibisyon Etkisinin Tespiti 49

Şekil 36 *Tanacetum haussknechtii* Uçucu Yağlarındaki Ana Madde Gruplarının Dağılımı 51

Şekil 37 *Tanacetum haussknechtii* Uçucu Yağlarında Bulunan Ana Bileşikler 52

Şekil 38 *Tanacetum haussknechtii* Sabit Yağ Asitleri Kompozisyonunun Ana Bileşikleri 54

Şekil 39 *Tanacetum haussknechtii* Değişik Organlardaki Toplam Fenol Bileşiklerinin Dağılımı 55

Şekil 40 *Tanacetum haussknechtii* Değişik Organlardaki Toplam Flavanoit Bileşiklerinin Dağılımı 55

Şekil 41 *Tanacetum haussknechtii* Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin $ABTS^{\bullet}$ Radikalini Süpürme Etkisi 56

Şekil 42 *Tanacetum haussknechtii* Ekstrelerinin β-karoten-linoleik Asit Oksidaysonunda Yüzde Antioksidan Aktiviteleri 56

Şekil 43 Ekstrelerdeki Toplam Fenol Miktarları ve Antioksidan Aktivite Arasındaki Korelasyon (β-Karoten-linoleik Asit Testi) 57

Şekil 44 Ekstrelerdeki Toplam Fenol Miktarları ve Antioksidan Aktivite Arasındaki Korelasyon (TEAK Testi) 57

Şekil 45 Ekstrelerdeki Toplam Flavonoit Miktarları ile Antioksidan Aktivite Arasındaki İlişki (β-Karoten-linoleik Asit Testi) 58

Şekil 46 Toplam Flavonoit Miktarları ve Antioksidan Aktivite Arasındaki İlişki (TEAK Testi) 58

Şekil 47 *Tanacetum haussknechtii* Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin Ellman Metodunda AChE İnhibisyonları 62

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE NO ve ADI		SAYFA
Çizelge 1	*Tanacetum* Türleri Uçucu Yağları Üzerine Yapılmış Araştırmalar	4
Çizelge 2	*Tanacetum* Türlerinden İzole Edilen Sekonder Metabolitler	7
Çizelge 3	Türkiyede *Tanacetum* Türlerinin Halk İlacı Olarak Kullanımı	12
Çizelge 4	*Tanacetum* Türlerinin Bilimsel Olarak Kanıtlanmış Biyolojik Aktiviteleri	13
Çizelge 5	α-Pinenin gaz kromatografi analiz şartları	25
Çizelge 6	β-Pinen, Sabinen ve Limonen'nin Gaz Kromatografi Analiz Şartları	25
Çizelge 7	Terpinen-4-ol ve Borneol'ün Gaz Kromatografi Analiz Şartları	26
Çizelge 8	*trans*-Pinokarveol'ün Gaz Kromatografi Analiz Şartları	26
Çizelge 9	*Tanacetum haussknechtii* Uçucu Yağlarının Kimyasal Kompozisyonu	32
Çizelge 10	*Tanacetum haussknechtii* Uçucu Yağlarındaki Ana Grupların Dağılımı	38
Çizelge 11	*Tanacetum haussknechtii* Sabit Yağ Asitlerinin Kompozisyonu	43
Çizelge 12	*Tanacetum haussknechtii* Farklı Kısımlardan Elde Edilen Ekstrelerin Verimleri	44
Çizelge 13	*Tanacetum haussknechtii* Ekstrelerinin İçerdiği Gallik Asite Eşdeğer Toplam Fenol Miktarı	45
Çizelge 14	*Tanacetum haussknechtii* Ekstrelerinin İçerdiği Kersetine Eşdeğer Toplam Flavonoit Miktarları	46
Çizelge 15	*Tanacetum haussknechtii* Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin Trolox'a Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi	47
Çizelge 16	*Tanacetum haussknechtii* Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin β-Karoten-Linoleik Asit Deneyinde Yüzde Antioksidan Aktivitesi	48
Çizelge 17	Yüzde Asetilkolinesteraz Enzim İnihibisyonu	50
Çizelge 18	*Tanacetum haussknechtii* Uçucu Yağlarının İçerdiği Enantiomerik Maddelerin Oranları	53

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

Abs	: Absorbans
ACh	: Asetilkolin
ABTS	: 2,2'-Azino-bis(3-etilbenztiyazoline-6-sulfonik asit)
AChE	: Asetilkolinesteraz
AH	: Alzheimer Hastalığı
ATCI	: Asetiltiyokolin iyodur
GC-FID	: Gaz Kromatografisi-Alev İyonlaşma Detektörü
BHT	: Bütillenmiş Hidroksi Toluen
BSA	: Bovin Serum Albumin
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikril hidrazil radikali
DTNB	: 5,5'-Ditiyo-bis-(2-nitrobenzoik asit)
FCR	: Folin-Ciocalteu Reaktifi
g	: Gram
GAE	: Gallik Asit'e Eşdeğer Miktar
GC/MS	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
IOU	: İnhibe Edilmiş Oksijen Harcama
KE	: Kersetine Eşdeğer Miktar
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
uL	: Mikrolitre
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre
ORAC	: Oksijen Radikali Absorblama Kapasitesi
TRAP	: Toplam Radikal Yakalama Parametresi
RTI	: Relatif Tutunma İndisi
TEAC, TEAK	: Trolox'a Eşdeğer Antioksidan Kapasite
U	: Ünite

WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
%AA	: Yüzde Antioksidan Aktivite
%İnh	: Yüzde İnhibisyon

GİRİŞ ve AMAÇ

Doğal ürün preparatlarının geliştirilmesi gıda, kozmetik, ilaç, organik tarım, sağlık ve hijyen ürünleri dahil olmak üzere birçok üretim alanında önemli bir konu haline gelmiştir. Dünya sağlık örgütü (WHO) 'ne göre dünyanın 2/3'si hala çeşitli hastalıkların giderilmesinde geleneksel ilaçlar kullanmaktadır. Bitkiler alemi 300.000 türden fazla üyesiyle bu doğal ürünlerin ana kaynağıdır. Ancak bunun yanında bu bitkilerin birçok kısmı özellikleri ve kimyasal kompozisyonlarıyla sanayide üretilecek değerli ürünlere fikir oluşturabilecek iken henüz araştırılmamıştır (Baranauskienė ve ark., 2014; Zahid ve ark., 2015).

Uçucu yağlar günden güne bilimsel araştırmaların ve kimya endüstrisinin dışına taşarak günlük hayatımıza kadar girmiştir. Öyle ki modern tıbbın ilerlemesi ve sentetik ilaçların gelişmesiyle bir kenara bıraktığımız doğal ilaçlar çok eski zamanlardan beri kullanılagelmiştir. Geleneksel ilaçların çoğu bitkisel kökenlidir. Bunların arasında uçucu yağlar en yaygın kullanılan doğal ürünler olarak bilinmektedir. Geleneksel Çin tıbbında ilaçların aktif bileşenlerinin sadece bir kısmı aydınlatılmış olsa da ilaçların veya preparatların çoğunun sıcak suyla hazırlanması aktif bileşenlerden bazılarının ısı etkisiyle suya geçen uçucu yağ bileşenleri olduğunu işaret etmektedir. Dünya üzerinde değişik coğrafyalarda yaşayan birçok kişi modern ilaçlara tercihan iyi bilinen halk ilaçlarını daha yaygın bir şekilde kullanmaktadır. 19.y.y. sonlarında başlayan uçucu yağların izolasyon ve yapı tayini araştırmaları uçucu yağların içerdiği aromatik moleküller üzerine odaklanmıştır. Uçucu yağlar, başta terpenoitler olmak üzere, fenolikler, aromatikler, siklik ve asiklik bileşikler, sülfür ve azotlu bileşiklerden oluşur. Uçucu yağları bulunan terpenoitler 5 karbon içeren hemiterpenlerden 30 karbonlu triterpenlere kadar farklılık gösterirler. Uçucu yağı oluşturan bileşenlerin molekül ağırlıkları genel olarak 500 daltondan düşüktür ve 1-3 oksijen atomu içerebilir. Öyle ki uçucu yağlar literatürlerde aromatik ve uçucu bitki ekstresi olarak tanımlansa da bir çok uçucu yağ kokusuz ve/veya uçucu olmayan triterpenler içerebilir (Nakatsu ve ark., 2000).

Günümüzde birçok uçucu yağın biyolojik aktiviteye sahip olduğu bilimsel olarak saptanmıştır. Bunların arasında antioksidan, antienflamatuar, anti-kolinesteraz aktiviteler sayılabilir (Bakkali ve ark., 2008). Uçucu yağların biyolojik aktivitelerinin araştırılmasının sebepleri arasında piyasada bulunan sentetik veya yarı-sentetik ilaçların yan etkileri, pahalı olmaları, kanserojen, toksik, alerjen olmaları sayılabilir. Diğer taraftan elde edilen uçucu yağın doğal olması, yan etkilerinin düşük veya olmaması, ucuz olması ve yurdumuz topraklarında yetişmesi sentetik ilaçlara karşı tercih edilme sebebidir.

Asteraceae, dünya üzerinde yaklaşık 23,000 türü içerisinde barındıran bir familyadır. Türkiye florasının büyük bir kısmı bu familya bitkilerinden oluşmaktadır. *Tanacetum* L. bu familya içerisindeki en büyük 3. cinstir ve dünya çapında 160 türe sahiptir. *Tanacetum* türleri Avrupa, Asya, Kuzey Afrika ve Kuzey Amerika'ya yayılmıştır. Türkiye'de bu 160 türün 46'sı yetişmektedir. (Korkmaz ve ark., 2015; Grierson, 1965).

Tanacetum türleri de yıllardır Dünya üzerinde geleneksel yöntemlerle bazı hastalıkların tedavisinde veya ağrılarının giderilmesinde kullanılmaktadır. En yaygın olarak *Tanacetum vulgare* L. bitkisinin antihelmintik ve *Tanacetum*

parthenium (L.) Schultz Bip. bitkisinin ateş düşürücü kullanımları öne çıksa da diğer türler sedatif, tonik, stomaşik, ekspektoran, antiseptik, antibiyotik, antioksidan, antienflamatuar etkili kullanımlar da görülmüştür (Gören ve ark., 2002; Kumar ve Tyagi, 2013).

Tanacetum türleri Anadolu'da da yıllardır halk ilacı olarak kullanılmaktadır. *Tanacetum argyrophyllum* var. *argyrophyllum* (C. Koch) Tvzel. göğüs hastalıkları, antienflamatuar, soğuk algınlığı, antipiretik, *Tanacetum balsamita* L. tonik, stimulan, antipiretik, baş ağrısı, diüretik, stomaşik, safra kesesi rahatsızlıkları, sikatrizan, *Tanacetum ciliophyllum* var *ciliophyllum* (Fisch. et Mey.) Schultz göğüs hastalıkları, soğuk algınlığı, antipiretik, böbrek taşları, *Tanacetum parthenium* stimulan, antipiretik, baş ağrısı, diüretik, stomaşik, safra kesesi taşları, *Tanacetum punctatum* (Desr.) Grierson, antienflamatuar etkili dekoksiyon veya infüzyon şeklinde harici veya dahili olarak kullanılagelmiştir (Altundag ve Ozturk, 2011).

Tanacetum türlerinin üzerinde yapılan fitokimyasal araştırma ve aydınlatmalar sonucu bitkilerin kompozisyonlarının yoğunlukla seskiterpenoit ve flavonoitlerden oluştuğu tespit edilmiştir. Cinsin ana bileşenleri olarak görülen seskiterpenoitler bitkilerin gösterdiği biyolojik aktivitenin sorumlusu olarak görülmektedir. Bazı türlerde flavonoitlerin ve bitkilerin uçucu yağlarının da biyolojik aktivite gösterdikleri görülmüştür (Gören ve ark., 2002).

Tanacetum haussknechtii (Bornm.) Grierson bitkisi ülkemizde doğal olarak yetişen türlerden bir tanesidir. *Tanacetum* cinsi üzerine yapılan kapsamlı kaynak taraması sonucunda bu cinsin diğer türleri üzerinde oldukça fazla çalışmaların yapıldığı ve bitkilerin çeşitli aktiviteler gösterdiği görülmüştür. Ancak *T. haussknechtii* bitkisi üzerine herhangi bir bildiriye rastlanmamıştır. Bu bakımdan bitkinin içerdiği madde kompozisyonun aydınlatılması ve biyolojik aktivitesinin ortaya konulma ihtiyacı bulunmaktadır.

Bu tez kapsamında endemik *Tanacetum haussknechtii* bitkisinin çiçek ve sap-yaprak kısımlarından uçucu yağ ve sabit yağ asitlerinin kompozisyonlarının GC-FID ve GC/MS teknikleri ile belirlenmesi, uçucu yağın kompozisyonundaki ana bileşenlerin şiral kolonda enantiomerik oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca bitkinin topraküstü, çiçek ve sap-yaprak kısımlarından farklı polaritedeki çözücüler ile elde edilen ekstrelerin içerdiği toplam fenolik ve flavonoit yapıdaki bileşik miktarları tespit edilerek, uçucu yağ ve ekstrelerin *in-vitro* şartlarda biyolojik aktivitesinin aydınlatılması hedeflenmiştir. Bu amaçla numunelerin indirgeme kapasitesi, serbest radikal süpürme, lipit peroksidasyonu ve AChE enzimi inhibe etme etkileri araştırılacaktır. Tüm bu çalışmalar *Tanacetum haussknechtii* üzerinde ilk defa yapılacak olup, bilim dünyasına katkı sağlayacaktır.

KAYNAK BİLGİSİ

Asteraceae Familyası

Familyadaki üyelerinin bazıları süt içeren otsular, çalılar veya nadiren ağaç veya tırmanıcılardır. Yaprak genellikle alternat veya karşılıklı, nadiren dairesel, basit veya bileşiktir. Çiçekler kapitulum durumunda, kapitulumun çevresi birçok serili involukrum brakterleri ile örtülmüş, erdişi veya tek eşeyli, ışınsal veya zigamorf simetrilidir. Kaliks genellikle papus halini almış veya hemen hemen yoktur. Petaller 4-5 tane birleşiktir. Korolla 2 şekilde, tüpsü veya dilsi; tüpsü korolla uçta belirgin 5 dişli, dilsi korolla ise 3-5 dişli veya dişler belirgin değildir. 5 tane stamen petallere bağlı, filamentler serbest, anterler birleşiktir. 1 tane pistil bulunur. Ovaryum alt durumlu, tek lokuluslu, 2 karpelli, tek ovül, anatroptur. Plasentasyon bazaldır. Meyveleri aken tipte ve ucunda genellikle bir papus veya kaliks kalıntısı taşır (Davis, 1965; Seçmen ve ark., 2008).

Yaklaşık 23.000 türle temsil edilen Asteraceae familyası dünyanın en büyük familyalarından bir tanesidir (Korkmaz 2015). Compositae olarak da bilinen bu büyük familya damarlı bitkilerden oluşur. 1620 genus ve 12 alt familyayı kapsamaktadır. Önemli bir kısmı otsu bitkilerden oluşmakta olup, sarmaşık ve ağaç formları da bulunur (Kumar ve Tyagi, 2013).

Tanacetum L. Cinsi

Toplamda yaklaşık 160 türe sahip olan *Tanacetum* cinsi Batı Asya'dan Avrupa'ya, Kuzey Afrika ve Kuzey Amerika'da yayılış göstermektedir. Türkiyede cinse ait 46 tür bulunmaktadır (Korkmaz 2015). 200 metreye kadar yayılış göstermekte olan *Tanacetum* türlerinin birçoğu güçlü kokuludur ve tek yıllık veya çok yıllık olabilirler (Kumar ve Tyagi, 2013; Davis, 1965).

Tanacetum haussknechtii (Bornm.) Grierson

Çok yıllık otsu endemik bir bitki olan *Tanacetum haussknechtii* Orta Anadolu'da Sivas-Tokat illeri civarında yetişmektedir. Bulunduğu rakım 1700-1800 m olup habitatı kayalık yamaçlardır. Sinonimleri *Chrysanthemum haussknechtii* (Bornm.) Bornm. ve *Pyrethrum haussknechtii* Bornm. dir (http-1).

Kimyasal Bölüm

Tanacetum Türleri Uçucu Yağ Üzerine Yapılmış Araştırmalar

Bugüne kadar ülkemizde ve dünyada *Tanacetum* türlerinin uçucu yağ ve seskiterpen laktonları üzerine birçok kimyasal aydınlatma çalışması rapor edilmiştir. Uçucu yağ üzerine yapılmış çalışmalar **Çizelge 1**'de özetlenmiştir.

Çizelge 1. *Tanacetum* Türleri Uçucu Yağları Üzerine Yapılmış Araştırmalar

Tür	Ana Madde,%	Kaynak
T. argenteum (Lam.) Willd. ssp. *argenteum* (L.) All. ve *T. argenteum* (Lam.) Willd. subsp. *canum* (C. Koch) Grierson var. *canum* (C. Koch) Grierson	α-Pinen (67.9, 53.6), β-pinen (4.8, 1.0), 1,8-sineol (2.2, 14.8)	(Ali ve ark., 2014)
T. argenteum ssp. *argenteum*	α-Pinen (36.7), β-pinen (27.5), 1,8-sineol (9.8)	(Polatoglu ve ark., 2010c)
	α-Pinen (27.9), 1,8-sineol (6.8)	(Bagci ve Kocak, 2010)
T. mucroniferum Hub. – Mor. et Grierson	1,8-Sineol (21.9) ve kafur (6.4)	(Polatoglu ve ark., 2012)
T. chiliophyllum (Fisch. et Mey.) Schultz Bip. var. *monocephalum* Grierson	Çiçek ve sap: 1,8-sineol (8.3,2.5), kafur (17.3, 10.4), kök: hekzadekanoik asit (37.5)	(Polatoğlu ve ark., 2012c)
T. chiliophyllum (Fisch. Et Mey.) Schultz Bip. var. *chiliophyllum* (Fisch. Et Mey.) Schultz	Kamfen (7.1), 1,8-sineol (17.1), kafur (28.5)	(Bagci ve ark., 2008)
	Kafur (19.7), 1,8-sineol (16.6), borneol (15.4)	(Salamci ve ark., 2007)
	Kafur (17.0)	(Başer ve ark., 2001)
T. densum (Lab.) Schultz Bip. ssp. *eginense* Heywood	Çiçek, sap ve yaprak: kafur (30.9 , 25.7, 27.7) çiçek ve sap: kamfen (10.6, 7.0), sap ve yaprak: borneol (5.1, 5.2)	(Polatoğlu ve ark., 2012b)

Çizelge 2. (devam) *Tanacetum* Türleri Uçucu Yağları Üzerine Yapılmış Araştırmalar

Tür	Ana Madde,%	Kaynak
T. densum (Lab.) Schultz Bip. ssp. *amani* Heywood	α-Pinen (9.7), β-pinen (27.2), 1,8-sineol (13.1)	(Polatoglu ve ark., 2010c)
	1,8-Sineol (14.7), borneol (31.3), endoborneol (21.0)	(Bagci, 2009)
T. densum (Lab.) Schultz Bip. ssp. *laxum* Grierson	α-Pinen (5.0), epi-bisikloseskifellandren (31.4), α-kadinol (7.0)	
T. densum (Lab.) Schultz Bip. ssp. *sivasicum* Hub.-Mor. et Grierson	Çiçek ve sap: 1,8-sineol (21.1, 28.3), kafur (19.2, 16.4) ve borneol (5.8, 6.4)	(Polatoğlu ve ark., 2009)
T. kotschyi (Boiss.) Grierson	Çiçek ve sap artemisia keton (54.6, 26.5), longiverbenon (9.2, 8.9) ve artemisia alkohol (4.6, 5.2)	(Polatoglu ve ark., 2011)
T. zahlbruckneri (Nab.) GRIERSON	Germakren D (29.7) ve spatulenol (12.0)	(Polatoğlu ve ark., 2011)
T. tabrisianum (Boiss.) Sosn. et Takht	Çiçek ve sap: 1,8-sineol (17.6, 22.5), hekzadekanoik asit (10.3, 8.0)	
Tanacetum argyrophyllum (C. Koch) Tvzel. var. *argyrophyllum* (C. Koch) Tvzel.	*cis*-Tuyon (69.9)	(Akpulat ve ark., 2005)
	Çiçek: kafur (29.7, 1,8-sineol 8.4), borneol (12.0), sap: kafur (26.6), 1,8-sineol (17.5), borneol (15)	(Polatoglu ve ark., 2010b)
T. parthenium (L.) Schultz Bip. Varyeteleri	Kamfen (9.4), kafur (49.0), *trans*-krsentanil asetat (22.1)	(Polatoglu ve ark., 2010a)
	Kamfen (6.8), Kafur (60.8)	
	Kafur (56.9), kamfen (12.7)	(Akpulat ve ark., 2005)
	Kafur (28.0) ve krizantenil asetat (30.0)	(Hendriks ve ark., 1996)

Çizelge 3. (devam) *Tanacetum* Türleri Uçucu Yağları Üzerine Yapılmış Araştırmalar

Tür	Ana Madde,%	Kaynak
T. nitens (Boiss. et NOE) Grierson	α-Pinen (4.6), 1,8-sineol (27.6)	(Bagci ve Kocak, 2010)
T. macrophyllum (Waldst. et Kit.) Schultz Bip.	β-Ödesmol (89.5)	(Javidnia ve ark., 2010)
	β-Ödesmol (21.4) ve *cis*-krizantenol (12.0)	(Demirci ve Başer, 2007)
T. alyssifolium (Bornm.) Grierson	Borneol (35.2), α-tuyon (24.6)	(Salamci ve ark., 2007)
T. aucheranum (DC.) Schultz Bip.	1,8-Sineol (23.8) , kafur (11.6)	
T. sorbifolium (Boiss.) Grierson	Kafur (54.3)	(Özer ve ark., 2006)
T. argyrophyllum var. *argyrophyllum*	α-Tuyon (52.0)	(Gören ve ark., 2001)
T. argenteum ssp. *canum* var. *canum*	Karyofillen oksit (13.0), α-Tuyon (12.0)	
T. praeteritum (Horwood) Heywood ssp. *praeteritum* (Horwood) Heywood	Borneol (28.0), 1,8-Sineol (12.0), Bornil asetat (10.0)	
T. praeteritum (Horwood) Heywood ssp. *massicyticum* Heywood	α-Tuyon (51.0), β-Tuyon (10.0)	
T. armenum (DC.) Schultz Bip.	Yaprak ve topraküstü: 1,8-sineol (31.0, 11.0), kafur (9.0, 27.0)	(Başer ve ark., 2001)
T. haradjanii (Rech. Fil.) Grierson	Kafur (16.0)	
T. balsamita L.	Karvon (52.0)	

Çizelge 4. (devam) ***Tanacetum*** **Türleri Uçucu Yağları Üzerine Yapılmış Araştırmalar**

Tür	Ana Madde,%	Kaynak
T. balsamita L. ssp. *balsamita* L.	Karvon (51.0) ve β-tuyon (20.8)	(Yousefzadi ve ark., 2009)
	trans-Krizantenol (22.3) linalool oksit (11.5), 1,8-sineol (2.7), kafur (7.5), krizantenil asetat (19.7)	(Bagci ve ark., 2008)
T. punctatum (Desr.) Grierson	*trans*-β-Farnesen (30.6), karyofilen oxit (26.1), β-karyofilen (21.1)	(Shafaghat, 2012)
T. audibertii (Req.) DC	Artemisia keton (39.8), *trans*-linalil oxit asetat (32.0), 1,8-sineol (15.9)	(Maxia ve ark., 2015)

Tanacetum Türleri Üzerine Yapılmış Diğer Fitokimyasal Çalışmalar

Tanacetum türleri sekonder metabolitlerini konu alan birçok fitokimyasal aydınlatma çalışması yapılmıştır. Bu çalışmalar kapsamında izole edilen sekonder metabolitlerden *Tanacetum* türleri içerisinde en yaygın olanları **Çizelge 2**'de özetlenmiştir.

Çizelge 5. ***Tanacetum*** **Türlerinden İzole Edilen Sekonder Metabolitler**

İzolen edilen Bileşik	Tür	Kaynak
Dentatin A	*T. argenteum* ssp. *flabellifolium*	(Gören ve ark., 1996a)
	T. vulgare	(Yunusov ve ark., 1980)
	T. chiliophyllum var. *heimerlei*	(Gören ve ark., 1994a)
l-*epi*-Ludovisin C	*T. vulgare*	(Sanz ve Marco, 1991)
	T. densum ssp. *eginense*	(Gören ve Tahtasakal, 1994)
	T. praeteritum ssp. *praeteritum*	(Gören, 1995)
Deasetil-β-siklopiretrosin	*T. argenteum* ssp. *argenteum*	(Gören ve ark., 1994b)
	T. argenteum ssp. *flabellifolium*	(Gören ve ark., 1996a)
	T. densum ssp. *eginense*	(Gören ve Tahtasakal, 1997)
	T. ferulaceum	(Gonzalez ve ark., 1990)

Çizelge 6. (devam) *Tanacetum* Türlerinden İzole Edilen Sekonder Metabolitler

İzolen edilen Bileşik	Tür	Kaynak
Deasetil-β-siklopiretrosin	*T. argyrophyllum* var. *argyrophyllum*	(Gören ve ark., 1990)
	T. densum ssp. *sivasicum*	(Gören ve ark., 1992)
	T. densum ssp. *amani*	(Goren ve ark., 1993)
	T. chiliophyllum var. *heimerlei*	(Gören ve Tahtasakal, 1993)
Reynosin	*T. parthenium*	(Milbrodt ve ark., 1997)
	T. vulgare	(Gören ve ark., 2002)
	T. praeteritum ssp. *praeteritum*	
Sivasinolit	*T. densum* ssp. *sivasicum*	(Gören ve ark., 1992)
	T. argenteum ssp. *flabellifolium*	(Gören ve ark., 1996a)
	T. argenteum ssp. *canum* var.*canum*	(Gören ve Tahtasakal, 1997)
1-α-Hidroperoksi-1-desokzo krizanolit	*T. densum* ssp. *sivasicum*	(Gören ve ark., 1992)
	T. chiliophyllum var. *heimerlei*	(Gören ve Tahtasakal, 1994)
	T. densum ssp. *eginense*	(Gören ve ark., 2002)
Kostunolit	*T. parthenium*	(Bohlmann ve Zdero, 1982)
	T. vulgare	(Nano ve ark., 1980)
	T. ferulaceum	(Gonzalez ve ark., 1990)
Santamarin	*T. vulgare*	(Appendino ve ark., 1982)
	T. parthenium	(Milbrodt ve ark., 1997)
	T. santolina	(De Vivar ve Jimenez, 1965)
	T. argenteum ssp. *canum* var. *canum*	(ABDYASIMOV ve ark., 1980)
	T. praeteritum ssp. *praeteritum*	(Gören ve Tahtasakal, 1997)
	T. tanacetioides	(Gören, 1995)
Deasetillaurenobiolit	*T. densum* ssp. *sivasicum*	(Gören ve ark., 1992)
	T. densum ssp. *amani*	(Goren ve ark., 1993)
	T. chiliophyllum var. *heimerlei*	(Gören ve Tahtasakal, 1993)

Çizelge 7. (devam) *Tanacetum* Türlerinden İzole Edilen Sekonder Metabolitler

İzolen edilen Bileşik	Tür	Kaynak
Deasetillaurenobiolit	*T. densum* ssp. *eginense*	(Gören ve Tahtasakal, 1994)
	T. argenteum ssp. *flabellifolium*	(Gören ve ark., 1996a)
	T. argenteum ssp. *argenteum*	(Gören ve ark., 1994b)
Partenolit	*T. vulgare*	(Sanz ve Marco, 1991)
	T. parthenium	(Milbrodt ve ark., 1997)
	T. densum ssp. *amani*	(Begley ve ark., 1989)
	T. argenteum ssp. *flabellifolium*	(Goren ve ark., 1993)
	T. argenteum ssp.*canum* var. *canum*	(Gören ve Tahtasakal, 1997)
Spisiformin	*T. densum* ssp. *sivasicum*	(Gören ve ark., 1992)
	T. densum ssp. *amani*	(Goren ve ark., 1993)
	T. argenteum ssp. *argenteum*	(Gören ve ark., 1994b)
	T. densum ssp.*eginense*	(Gören ve Tahtasakal, 1994)
	T. argenteum ssp. *flabellifolium*	(Gören ve ark., 1996a)
	T. chiliophyllum var. *heimerlei*	(Gören ve Tahtasakal, 1993)
Tamirin	*T. vulgare*	(Sanz ve Marco, 1991)
	T. chiliophyllum var. *heimerlei*	(Gören ve Tahtasakal, 1993)
	T. densum ssp. *eginense*	(Gören ve Tahtasakal, 1994)
	T. argenteum ssp. *flabellifolium*	(Gören ve ark., 1996a)
	T. myricophyllum	(Mnatsakanyan ve Revazova, 1973)
	T. argyrophyllum	(Gören ve ark., 2002)
Tanaşin	*T. vulgare*	(Sanz ve Marco, 1991)
	T. densum ssp. *sivasicum*	(Gören ve ark., 2002)
	T. argyrophyllum var. *argyrophyllum*	(Yunusov ve ark., 1976a)
	T. densum ssp. *amani*	(Yunusov ve ark., 1976b)
	T. chiliophyllum var. *heimerlei*	(Gören ve ark., 1992)
	T. argenteum ssp. *canum* var. *canum*	(Goren ve ark., 1993)

Çizelge 8. (devam) *Tanacetum* Türlerinden İzole Edilen Sekonder Metabolitler

İzolen edilen Bileşik	Tür	Kaynak
Tanaşin	*T. praeteritum* ssp. *praeteritum*	(Gören ve Tahtasakal, 1993)
	T. densum ssp. *eginense*	(Gören ve Tahtasakal, 1997)
	T. argenteum ssp. *flabellifolium*	(Gören ve Tahtasakal, 1994)
Tatridin A	*T. vulgare*	(Nano ve ark., 1980)
	T. cinerariaefolium	(Sanz ve Marco, 1991)
	T. argyrophyllum var. *argyrophyllum*	(Gören ve ark., 1990)
	T. densum ssp. *sivasicum*	(Gören ve ark., 1992)
	T. chiliophyllum var. *heimerlei*	(Gören ve Tahtasakal, 1993)
	T. argenteum ssp. *argenteum*	(Gören ve ark., 1994b)
	T. densum ssp. *eginense*	(Gören ve Tahtasakal, 1994)
	T. argenteum ssp. *flabellifolium*	(Gören ve ark., 1996a)
	T. ferulaceum	(Gonzalez ve ark., 1990)
	T. ptarmicaeflorum	(González ve ark., 1992)
Deasetiltulipinolid-1-β,10-α-epoksit	*T. densum* ssp. *sivasicum*	(Gören ve ark., 1992)
	T. densum ssp. *amani*	(Gören ve ark., 1994b)
	T. argenteum ssp. *argenteum*	(Gören ve Tahtasakal, 1994)
Artekanin	*T. parthenium*	(Begley ve ark., 1989)
	T. macrophillum	(Todorova ve Ognyanov, 1985)
	T. parthenifolium	(Yunusov ve Sidyakin, 1983)
Kanin	*T. cilicium*	(Öksüz, 1990)
	T. vulgare	(Gören ve ark., 2002)
	T. parthenium	(Begley ve ark., 1989)
	T. macrophillum	(Romo ve ark., 1970)
Apigenin	*T. vulgare*	(Adikhodzhaeva ve ark., 1977)
	T. cinerariifolium	(Sashida ve ark., 1983)
	T. albipannosum	(Gören ve Jakupovic, 1990)

Çizelge 9. (devam) *Tanacetum* Türlerinden İzole Edilen Sekonder Metabolitler

İzolen edilen Bileşik	Tür	Kaynak
Luteolin	*T. cinerariifolium*	(Sashida ve ark., 1983)
	T. vulgare	(Adikhodzhaeva ve ark., 1977)
	T. boreale	(Stepanov ve Glyzin, 1980)
Hispidulin	*T. sibiricum*	(Stepanov ve ark., 1981a)
	T. albipannosum	(Gören ve Jakupovic, 1990)
	T. vulgare	(Wollenweber ve ark., 1989)
	T. chiliophyllum	
Kersetin	*T. vulgare*	(Adikhodzhaeva ve ark., 1977)
	T. boreale	(Stepanov ve Glyzin, 1980)
Aksillarin	*T. vulgare*	(Adikhodzhaeva ve ark., 1977)
	T. boreale	(Stepanov ve Glyzin, 1980)
Naringenin	*T. sibiricum*	(Stepanov ve ark., 1981b)

Yapılan kapsamlı kaynak taraması sonucunda *Tanacetum* türleri uçucu yağ kompozisyonlarında ana bileşikler olarak *α*-pinen, *β*-pinen, kamfen, sabinen, limonen, *γ*-terpinen, *α*-tuyen, *α*-fellandren, α–terpinen, *p*-simen, bornil asetat, borneol, mirtenal, krizantenil asetat, terpinen-4-ol, kafur, α–terpineol, timol, karvakrol, pinokarvon, β-karyofillen, *(E)-β*-farnesen, valensen, β-bisabolen, verbenon, karyofillen oksit, tetradekan ve benzaldehit olarak bildirilmiştir (Kumar ve Tyagi, 2013). Ekstrelerde ise yoğunlukla seskiterpenoitler ve flavonoitler bulunmuştur (Gören ve ark., 2002; Abad ve ark., 1995). Ancak *Tanacetum haussknechtii* bitkisinin uçucu yağı veya ekstresi üzerine yapılan bir fitokimyasal aydınlatma çalışmasına rastlanmamıştır.

Biyolojik Aktivite

Anadolu'da halk ilacı olarak kullanılan bitkilerin tespiti için yapılan araştırmalarda *Tanacetum* türlerinin kullanımına sıkça rastlanmaktadır. Yöreye göre bitkinin çeşitli kısımları farklı amaçla kullanılmaktadır. Türkiyede halk ilacı olarak kullanılan *Tanacetum* türleri pireotu, solucanotu, marsuvanotu, gümüşdüğme, bevüjan, bağayağrağı, kılıçotu, çeren ve sendel isimleriyle tanınmaktadır. Kaynak tarama sonucu **Çizelge 3**'de özetlenmiştir.

Çizelge 3. Türkiyede *Tanacetum* Türlerinin Halk İlacı Olarak Kullanımı

Bitki	Kısım	Halk arasında Kullanımı	Kullanım şekli	Kaynak
Tanacetum argyrophyllum (C. Koch) Tvzel. var. *argyrophyllum*	Toprak üstü	Akciğer rahatsızlıkları, soğuk algınlığı, antipiretik, antienflamatuvar	Harici-Dekoksiyon Dahili-İnfüzyon	(Sezik ve ark., 1997)
Tanacetum balsamita L.	Toprak üstü	Tonik, stimulan , antipiretik, baş ağrısı, diüretik, stomaşik, safra kesesi rahatsızlıkları, sikatrizan, apse	Dahili-İnfüzyon	
*Tanacetum punctatum (*Desr.) Grierson	Toprak üstü	Adet söktürücü ve antienflamatuvar	Dahili-İnfüzyon	(Altundag ve Ozturk, 2011)
Tanacetum coccineum subsp. *chamaemelifolium*	Çiçek	İnsektisit, antihelmintik	Toz halinde	(Baytop, 1984)
Tanacetum cinerariifolium	Çiçek	İnsektisit	Toz halinde	
Tanacetum vulgare	Toprak üstü	Kuvvet verici, stomaşik ve antihelmintik	İnfüzyon	
Tanacetum parthenium	Çiçek	Kuvvet verici, stimulan, antipiretik, adet düzensizlikleri, insektisit	Dekoksiyon	

Çizelge 3. (devam) Türkiyede *Tanacetum* Türlerinin Halk İlacı Olarak Kullanımı

Bitki	Kısım	Halk arasında Kullanımı	Kullanım şekli	Kaynak
Tanacetum balsamita subsp. *balsamitoides*	Çiçekli dallar	Diüretik, gaz söktürücü, safra kesesi taşları ve stomaşik	İnfüzyon	(Kaval ve ark., 2014)
Tanacetum chiliophyllum (Fisch. & Meyer) Schultz var. *chiliophyllum*	Kapitulum	Akciğer rahatsızlıkları, soğuk algınlığı, böbrek taşı, antipiretik	Dahili-Dekoksiyon	
Tanacetum cadmeum Boiss.. Heywood ssp. *cadmeum*	Topraküstü	Ülsere karşı	Dekoksiyon	(Tuzlacı ve Erol, 1999)
	Meyve, Kapitulum	Karın ağrısı	İnfüzyon	

Tanacetum türleri üzerine yapılmış olan çalışmalar ile bitkilerin bilimsel olarak kanıtlanmış biyolojik aktiviteleri Gören ve arkadaşları tarafından yayınlanan makalede geniş olarak araştırılmış ve açıklanmıştır (Gören ve ark., 2002). *Tanacetum* türlerinin kanıtlanmış biyolojik aktiviteleri **Çizelge 4**'de özetlenmiştir.

Çizelge 4. *Tanacetum* Türlerinin Bilimsel Olarak Kanıtlanmış Biyolojik Aktiviteleri

Biyolojik aktivite	Bitki	Aktif Kısım	Kaynak
Alerjen	*T. parthenium*	Doğrudan veya ekstre (eter, etanol)	(Maiden, 1909)
	T. vulgare	Doğrudan veya ekstre (eter)	(Guin, 1987; Mark ve ark., 1999)
	T. cinerariaefolium	Doğrudan	(Mark ve ark., 1999)
Antikoagulan	*T. corymbosum*	Uçucu yağ veya ekstre (kloroform, su)	(Thomas, 1989c)
	T. macrophyllum		(Thomas, 1989e)
	T. cilicium		(Thomas, 1989d)
Anthelmintik	*T. vulgare*	Ekstre (eter), Uçucu yağ	(Kumar ve Tyagi, 2013)

Çizelge 4. (devam) *Tanacetum* Türlerinin Bilimsel Olarak Kanıtlanmış Biyolojik Aktiviteleri

Biyolojik aktivite	Bitki	Aktif Kısım	Kaynak
Antienflamatuvar	*T. vulgare*	Ekstre (etanol)	(Benoit ve ark., 1975)
		Ekstre (kloroform)	(Mordujovich-Buschiazzo ve ark., 1996)
		Ekstre (aseton)	(Brown ve ark., 1997)
	T. parthenium	Ekstre	(Makheja ve Bailey, 1982)
	T. microphyllum	Ekstre (diklorometan)	(Abad ve ark., 1993)
	T. corymbosum	Ekstre (kloroform, su)	(Rodriguez ve ark., 1976)
	T. macrophyllum		
	T. ptarmiciflorum	Ekstre (aseton)	(Brown ve ark., 1997)
	T. niveum		
Antimikrobiyal	*T. parthenium*	Ekstre (etanol)	(Kalođera ve ark., 1996)
		Uçucu yağ	(Kalođera ve ark., 1997)
	T. vulgare	Uçucu yağ	(Hethelyi ve ark., 1981)
	T. densum ssp. *amani*	Seskiterpen laktonları	(Goren ve ark., 1993)
	T. argyrophyllum	Seskiterpen laktonları	(Gören ve ark., 2002)
	T. argyrophyllum var. *argyrophyllum*	Seskiterpen laktonları	(Gören ve ark., 1990)
	T. balsamita	Ekstre (hekzan)	(Kubo ve Kubo, 1995)
	T. densum ssp. *sivasicum*	Seskiterpen laktonları	(Gören ve ark., 1992)
	T. praeteritum spp. *praeteritum*	Seskiterpen laktonları	(Gören ve ark., 1996b)
	T. cilicium	Uçucu yağ	(Thomas, 1989d)
	T. corymbosum	Uçucu Yağ	(Thomas, 1989a)
	T. macrophyllum	Uçucu yağ	(Thomas, 1989b)

Çizelge 4. (devam) *Tanacetum* Türlerinin Bilimsel Olarak Kanıtlanmış Biyolojik Aktiviteleri

Biyolojik aktivite	Bitki	Aktif Kısım	Kaynak
Antimikrobiyal	*T. indicum* var. *tuneful*	Seskiterpen laktonları	(Gören ve ark., 2002)
Ülsere karşı	*T. vulgare*	Ekstre (kloroform)	(Tournier ve ark., 1999)
	T. microphyllum	Seskiterpen laktonları	(Abad ve ark., 1994)
Sitotoksik	*T. parthenium*	Ekstre	(Lee ve ark., 1971)
	T. densum spp. *sivasicum*	Seskiterpen laktonları	(Gören ve ark., 1992)
	T. argenteum	Seskiterpen laktonları	(Gören ve ark., 1994b)
	T. praeteritum spp. *praeteritum*	Seskiterpen laktonları	(Gören ve ark., 1996b)
İnsektisidal	*T. cierariaefolium*	Piretroitler	(Staudinger ve Ruzicka, 1924)
	T. argenteum	Seskiterpen laktonları	(Gören ve ark., 1994b)
	T. vulgare	Uçucu yağ	(Schearer, 1984)
Fitotoksik	*T. cierariaefolium*	Seskiterpen laktonları	(Sashida ve ark., 1983)
Profilaktik	*T. parthenium*	Taze ve kurutulmuş yapraklar	(Johnson ve ark., 1985)
	T. parthenium	Ekstre (etanol)	(Marles ve ark., 1992)
	T. vulgare		
	T. corymbosum		
	T. poteriifolium		
	T. siculum		
	T. sericeum		
	T. macrophyllum		

Tanacetum türleri Dünyada ve Anadoluda yüzyıllardır geleneksel halk ilacı olarak çeşitli rahatsızlıkların giderilmesinde kullanılmaktadır. Cinsin yaygın olarak kullanılması bilimsel açıdan kanıtlanma ihtiyacını ortaya çıkarmıştır. Bitkilerin ekstre veya uçucu yağları üzerinde yapılan çok sayıda *in-vitro* ve *in-vivo* biyolojik aktivite çalışmaları ile türlerin geniş yelpazede etkilere sahip olduğunu kanıtlanmıştır.

Tanacetum haussknechtii bitkisinin üzerine yapılmış herhangi bir fitokimyasal aydınlatma olmadığı gibi literatürde halk ilacı olarak kullanım veya bilimsel olarak saptanmış bir biyolojik aktivite bildirisine rastlanmamıştır.

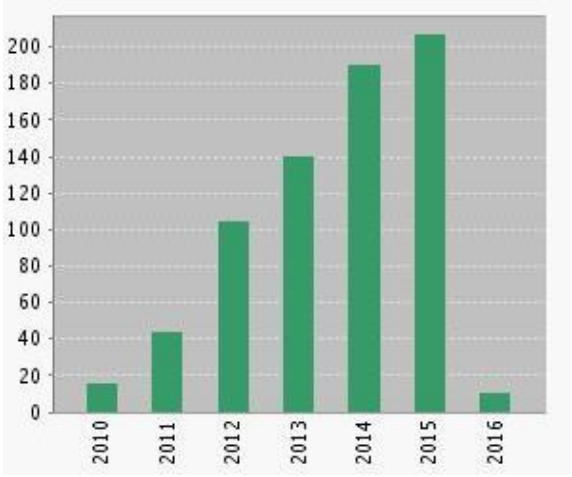
Antioksidan Aktivite Araştırmalarının Önemi

Reaktif oksijen türlerinin oksidatif stresin oluşmasında büyük bir rol oynadığı bilinmektedir. Oksidatif stres kalp rahatsızlıkları, şeker hastalığı, inflamasyon, dejeneratif rahatsızlıklar, kanser, anemi ve damar tıkanıklığı gibi rahatsızlıkları tetikleyen bir unsurdur. Oksidatif stresi kontrol altına almak için birçok sentetik ilaç üretilmiştir. Ancak bu sentetik ilaçların mali yükümlülükleri, erişilebilirlik sorunları ve özellikle yan etkileri oksidatif stresi önlemede engeller olarak ortaya çıkmıştır. Doğal antioksidanlar birçok bitkisel kaynaktan elde edilmesi, yan etkilerinin minimum düzeyde olması ve mali avantajıyla sentetik ilaçlara karşı önem kazanmıştır. Bitkisel kaynaklı antioksidan bileşikler serbest radikallerin oluşmasını engelleyerek veya oluşmuş radikalleri etkisiz hale getirerek oksidatif stresten dolayı ortaya çıkan rahatsızlıkları azaltmaktadır. Reaktif oksijen metabolitlerini süpüren antioksidanlar inflamasyon önleyici, doku onarıcı ve yara iyileştirici olarak kullanılmaktadır. Örneğin, apigenin, kersetin, luteolin, silimarin gibi birçok sekonder metabolit, sahip oldukları antioksidan özellikleriyle inflamasyon prosesleri önlemektedir (Zahid ve ark., 2015; Cao ve ark., 1997; Romanova ve ark., 2000). Antioksidan aktivitelerin saptanması için değişik yöntemler kullanılmaktadır. Hidrojen atomu transferine dayanan ORAC (oksijen radikali absorblama kapasitesi), TRAP (toplam radikal yakalama parametresi), krosin soldurma yöntemi, IOU (inhibe edilmiş oksijen harcama), linoleik asit oksidasyonunu inhibe etme, LDL oksidasyonunu inhibe ve elektron transferine dayanan TEAC (trolox'a eşdeğer antioksidan kapasite), FRAP (demir iyonu indirgeme antioksidan parametresi), DPPH radikalini süpürme etkisi, bakır(II) indirgeme kapasitesi, FCR ile toplam fenolik madde miktar tayini antioksidan aktivitenin belirlenmesindeki başlıca yöntemler olarak sayılabilir (**Şekil 1**) (Huang ve ark., 2005).

Hidrojen transferi	**Elektron transferi**
$\mathbf{ROO^{\cdot} + AH \longrightarrow ROOH + A^{\cdot}}$ $\mathbf{ROO^{\cdot} + LH \longrightarrow ROOH + L^{\cdot}}$	$M(n) + e \longrightarrow AH^{\cdot +} + M\ (n\text{-}1)$

Şekil 1. Antioksidan Etki Mekanizmaları

Son yedi yıl içinde bitkisel kaynaklı antioksidan maddelerin üzerine yapılmış bilimsel araştırmaların sayısı gittikçe artmaktadır (**Şekil 2**) (http-2).



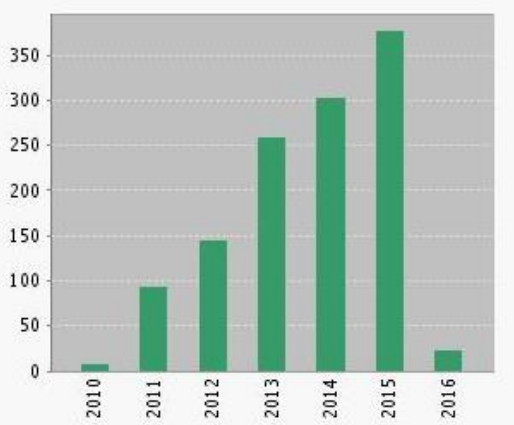
Şekil 2. Son 7 İçerisinde Antioksidan Aktivite Araştırmalarına Yapılan Atıflar

Asetilkolinesteraz Enzimi İnhibisyonun Önemi

Nörolojik rahatsızlıklardan yaşlı populasyon birincil olarak etkilenmektedir. Alzheimer hastalığı (AH) nörodejenaratif bozukluktan kaynaklanan en yaygın rahatsızlıktır, hafıza ve bilinç kaybıyla karakterizedir. Dünyada görülen ölüm sebepleri arasında kardiyovasküler hastalıklar, inme ve kanserden sonra 4. sıraya yükselmiştir. AH 65 yaş üstü kişilerde oluşan demansın %50-60 oranında sebebidir. ABD'de yaşlılıktan kaynaklı nörodejenarasyonun 2000 yılında 25.5 milyon kişiye ulaştığı saptanmıştır ve 2050 yılında bu sayının yaklaşık 114 milyon kişi olacağı öngörülmektedir. Gelişmiş ülkelerde sayının artması AH'nı ana sağlık, bakıcılara ayrılan bütçeyle birlikte, finansal bir sorun haline getirmiştir. AH'larında asetilkolin (ACh) asetilkolinesteraz (AChE) enzimi tarafından hidrolize edilmesinin önlenmesi tedavideki ana unsurdur. Geleneksel olarak kullanılan bitkiler AChE inhibitörü olarak sentetiklere karşı iyi bir seçenek sunmaktadır. Amaryllidaceae (Nergisgiller) familyası bitkilerinden elde edilen galantamin AH tedavisinde önemli bir yere sahiptir. Galantamin kolinerjik sinapslarda AChE'ı inhibe ederek ACh'in işlevini gerçekleştirmesini sağlamaktadır. Galantamin Avrupa'da AH tedavisi için lisanslı olarak kullanılmaktadır (Adewusi ve Steenkamp, 2011).

AH'nda AChE inhibitörlerinin klinik uygulamaları 1980'lerde *Physostigma venenosum* L. bitkisinden elde edilen fizostigmin (ezerin) alkaloiti ile başlamıştır. Fizostigmin AH'nda kullanılan ilaçlara (Exelon) model oluşturmuştur. Ülkemizde de yetişen ve kardelen olarak bilinen *Galanthus nivalis* L.'ten elde edilen galantamin alkoloiti bir diğer bitkisel kökenli AChE inhibitörüdür. Galantamin hidrobromür tuzu halinde Nivalin (Avusturya), Reminyl (ABD ve Avrupa) isimleriyle ruhsatlandırılıp Aricept ve Exelon gibi AChE inhibitörü olarak AH tedavisinde kullanılmaktadır. Son zamanlarda keşfedilen bir diğer AChE inhibitörü ise *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev. bitkisinden izole edilen huperzin A alkoloitidir. Huperzin A Çin'de faz-III aşamasında denenmekte olup, muhtemel ilaç adayı olarak görülmektedir (Orhan, 2008).

Son yedi yıl içinde bitkisel kaynaklı AChE enzim inhibitörleri üzerine yapılmış bilimsel araştırmaların sayısındaki artış **Şekil 3**'de gösterilmiştir (http-2).

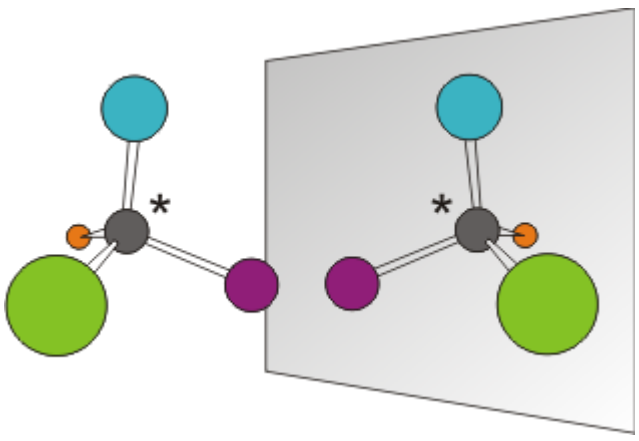


Şekil 3. Son Yedi Yıl İçerisinde AChE İnhibisyonu Araştırmalarına Yapılan Atıflar

Enantiomer Oranlarının Belirlenmesinin Önemi

Şiral bileşikler bitki ekstrelerinde sık sık rastlanan maddelerdir. Optik izomer veya enantiomerler üst üste gelemeyen ayna tersi şeklinde bulunurlar ve sadece polarize ışık altında farklılık gösterirler. Enantiomerik bileşiklerin (+) ve (-) formlarının temsili yapısı **Şekil 4'**te gösterilmektedir. Enantiomerlerin kaynama noktaları, erime noktası, spektroskopik özellikler gibi fiziksel özellikleri aynıdır. Ancak, enantiomerler sahip oldukları farklı aroma ve tatlarla uçucu yağın veya ekstrenin özelliklerini etkilerler. Ayrıca linalool (Özek ve ark., 2010), limonen ve karvon enantiomerlerinde görüldüğü gibi (Tabanca ve ark., 2007) şiral bileşikler farklı toksisite ve farklı biyolojik aktivite değerlerine sahiptir.

Enantiomerik maddelerin oranlarının aydınlatılması uçucu yağlarda yapılan tahşiş uygulamalarını da ortaya çıkarmakta, yani bir parmak izi olarak kullanılabilmektedir. Örneğin kaliteli bir bergamot yağının ana bileşenleri saf (-)-linalol ve (-)-linalil asetattır. Ancak uçucu yağ verimini arttırmak için yapılan tağşişler yağın kimyasal kompozisyonunda diğer enantiomerlerin görülmesiyle tespit edilebilmektedir (Tabanca ve ark., 2007).



Şekil 4. Enantiomerik Bileşiklerin (+) ve (-) Formlarının Temsili Yapısı

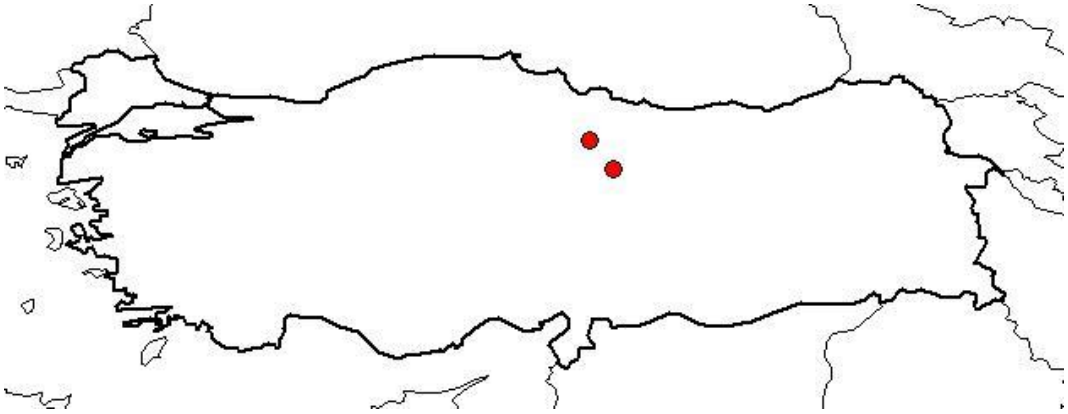
GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bitkisel Materyal

Deneysel çalışmalarda kullanılan *Tanacetum haussknechtii* (Bornm.) Grierson bitkisi Sivas-Gürün yolu üzerinde 16. Km.'de yol kenarı 39° 07' 52,0" N, 37° 14' 33,2" 1545 m lokasyonundan 23.08.2015 tarihinde toplandı. Bitkinin tayini Dr. Mehmet Tekin (Cumhuriyet Üniversitesi) tarafından yapılmış olup ESSE №15011 numarası ile Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumunda kayıtlıdır (**Şekil 5**). Toplanan bitkisel materyal direk güneş ışığı almayan havadar ortamda kurutuldu. Bitkinin yayılışı **Şekil 6**'da gösterilmiştir.



Şekil 5. Bitkisel Materyalin Toplanması ve Herbaryum Örneği



Şekil 6. ***Tanacetum haussknechtii*** **Bitkisinin Yayılışı**

Kimyasal Maddeler

1-Naftil asetat (Sigma-Ald., Almanya)

ABTS-2,2'-Azino-bis (3-etilbenztiyazolin-6-sülfonik asit) (Sigma-Ald., Almanya)

AChE-Asetilkolinesteraz (Sigma-Ald., Almanya)

$AlCl_3$ (Merck, Almanya)

Asetik asit (Sigma-Ald., Almanya)

Aseton (Panreae, İspanya)

ATCI-Asetiltiyokolin iyodur (Sigma-Ald., İngiltere)

BF_4 –Borontriflorid (Merck, Almanya)

BHT-Bütillenmiş hidroksi toluen (Sigma-Ald., Almanya)

BSA-Bovin serum albümin (Sigma-Ald., ABD)

$CaCl_2$ (Fluka, Almanya)

Dietil eter (J.T. Baker, Hollanda)

DMSO-Dimetil sülfoksit (Sigma-Ald., ABD)

DTNB-5-5'-Ditiyo-bis-(2-nitrobenzoik asit) (Sigma-Ald., ABD)

Etanol (Sigma-Ald., Almanya)

Etil asetat (Sigma-Ald., Almanya)

Fast Blue B Salt (Sigma-Ald., Almanya)

FCR-Folin-Ciocalteu reaktifi (Sigma-Ald., İsviçre)

Gallik asit (Sigma-Ald., Çin)

HCl (Sigma-Ald., Almanya)

n-Hekzan (Merck, Almanya)

$K_2S_2O_8$ (Sigma-Ald., Almanya)

Kersetin (Sigma- Ald., Almanya)

Kloroform (Sigma-Ald., Fransa)

Linoleik asit (Sigma-Ald., ABD)

Metanol (Sigma-Ald., Polonya)

$MgCl_2$ (Sigma-Ald., Almanya)

Na_2CO_3 (Merck, Almanya)

Na_2SO_4 (Sigma-Ald., Almanya)

NaCl (Riedel de Haen, Almanya)

NaOH (Merck, Almanya)

Tris (Sigma-Ald., ABD)

Trolox (Sigma-Ald., Almanya)

Tween 20 (Merck, Almanya)

β-Karoten (Fluka, ABD)

Tip 1 ultra saf su

Cihaz ve Apareyler

Biotek Powerwave XS mikro-plak okuyucu

Clevenger (EP'ne uygun)

Çeker ocak

Etüv, WTB Binder

GC/FID Agilent 6890N (SEM Ltd, İstanbul, Türkiye)

GC/MSD sistemi, Agilent 5975 (USA; SEM Ltd., İstanbul, Türkiye)

Hassas Terazi, Metler Toledo, NewClassic MS

İTK sistemi (HP-TLC)- CAMAG YP

Manyetik karıştırıcı, IKO KS260

pH Metre, WTW series, InoLab, pH720

ITK Reaktif Püskürtücü

Rotavapor sistemi, Heidolph Instrument, Laborota 4010-Digital

Santrifüj, Eppendorf, 5804

Spektrofotometre, Shimadzu, UV-PharmaSpec 1700

Ultrasonik su banyosu, Elma, S100H

Uçucu Yağ Eldesi

Kurutulmuş bitkisel materyal sap-yaprak, çiçek ve kök olarak 3 kısma ayrıldıktan sonra uygun boyutlara getirilerek Avrupa Farmakopesine uygun Clevenger apareyinde 3 saat boyunca su distilasyonuna tabi tutulup uçucu yağı elde edildi (Ph. Eur.) (**Şekil 7**).



Şekil 7. Uçucu Yağ Eldesinde Kullanılan Su Distilasyon Apareyi

Sabit Yağ Asitlerinin Eldesi

Kurutulmuş bitkisel materyal uygun boyutlara getirilerek kloroform:MeOH[1] (2:1) karışımıyla 24 saat maserasyona tabi tutuldu. Daha sonra süzülerek 2 kez 30'ar dakika aynı çözücü karışımıyla tekrar masere edildi. İşlem sonunda süzüntüler birleştirilerek çözücünün yarısı rotavaporda uzaklaştırıldı. Üzerine kalan hacim kadar kloroform eklendi. Süzüntü 3 kez ayırma hunisinde 0.4%'lük $CaCl_2$ çözeltisiyle yıkanarak lipitler dışındaki kirliliklerden (protein, karbonhidrat, glikozit vb.) arındırıldı. $CaCl_2$ elektrolit olarak lipit dışındaki birçok maddenin çözünürlüğünü azaltır, kloroform ve sulu faz arasındaki emülsiyon oluşumunu minimuma indirir. İşlemin ardından ekstre susuz Na_2SO_4'tan geçirilerek su kalıntısından arındırıldı. Daha sonra kloroformlu kısım rotavaporda uçurularak kuru ekstre elde edildi.

Sabit yağ asitlerinin tuzlarını elde etmek için kuru ekstre saponifikasyon işlemine tabi tutuldu. Ekstre KOH-H_2O-MeOH (1:1:8) karışımıyla 1:10 oranında çözülüp, geri dönüşümlü olarak 2 saat kaynatıldı. Ardından karışıma 1-2 mL hekzan eklenerek saponifike olmayan bileşenler uzaklaştırıldı. Ayırma hunisinde sulu faz alınıp %15'lik HCl eklenerek (pH:2-3) tuzlardan serbest yağ asitleri elde edildi. Daha sonra yağ asitleri dietil eter ile 3 kez ekstre edildi. Dietil eter rotavaporda uzaklaştırıldı, kuru bakiye tartılarak serbest yağ asitlerinin verimi kuru bitki

[1] Bitki dokusunda lipitler serbest ve proteinler ile bağlı şekilde bulunmaktadır. Lipit ve protein arasındaki bağı kırmak için metanol gibi polar bir çözücüye ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sebeple ekstraksiyon için kloroform ve metanol karışımı kullanılmıştır.

üzerinden %1.7 olarak hesaplandı (Folch ve ark., 1957). Elde edilen yağ asitleri Boron triflorür reaktifi ile metilleme işlemine tabi tutuldu (Godswill ve ark., 2014). (**Şekil 8 ve 9**)



BF3:MeOH Kompleksi Yağ asidi Metil ester

Şekil 8. Boron triflorür Reaktifi ile Yağ Asitlerinin Metil Esterlere Dönüşme Reaksiyonu



Şekil 9. Yağ Asitlerinin Dietil Eterli Fazda Toplanması

Ekstrelerin Elde Edilmesi

Kurutulmuş bitkisel materyal (toprak üstü, sap-yaprak ve çiçek) uygun boyuta getirilerek metanol, etil asetat ve su ile masere edildi (48 saat) (**Şekil 10**). İşlem sonunda ekstreler süzülerek çözücüleri uzaklaştırıldı (metanol ve etil asetat rotavaporda, su ise liyofilizatörde).



Şekil 10. Bitkisel Materyalin Farklı Çözücülerle Maserasyonu

Uçucu Yağın ve Sabit Yağ Asitlerinin Kimyasal Kompozisyonunun Aydınlatılması

Uçucu yağların ve sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonları GC-FID ve GC/MS teknikleriyle aydınlatıldı (**Şekil 11**). Her iki analiz için de HP-Innowax FSC kolonu (60 m × 0.25 um, 0.25 um film kalınlığı, Agilent, Walt & Jennings Scientific, Wilmington, DE, USA) ve taşıyıcı gaz olarak helyum gazı kullanıldı. Fırın 60 ˚C'de 10 dakika kaldıktan sonra 220 ˚C'ye dakikada 4 ˚C ile çıkıp, 220 ˚C'de 10 dakika kalıp, 240 ˚C'ye dakikada 1 ˚C ile çıkmak üzere programlandı. Split oranı 40:1 olarak seçildi. Alev iyonlaşma detektörü ve enjektör 250 ˚C'de tutuldu. Kütle spektrumu 70 eV, kütle menzili 35-450 m/z seçildi. Maddelerin tanımlanmasında tutunma zamanları ve kütle spektrumları standartlara ve literatür bilgilerine paralel olarak değerlendirildi. Wiley GC/MS Library (Wiley, New York, NY, USA), MassFinder software 4.0 (Dr. Hochmuth Scientific Consulting, Hamburg), Adams Library, NIST Library ve Başer Library of Essential Oil Constituents kaynak olarak kullanıldı. Madde miktarların belirlenmesinde alev iyonlaşma dedektöründen elde edilen piklerin yüzde alanları kullanıldı.



Şekil 11. GC/MS ve GC-FID Sistemi

Enantiomerik Oranların Belirlenmesi

Tanacetum hausknechtii sap-yaprak ve çiçek uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonunda yer alan enantiomerik bileşiklerin oranları şiral kolonda analiz edilerek saptandı. α-Pinen, β-pinen, sabinen, limonen, terpinen 4-ol ve *trans*-pinokarveol enantiomerik bileşiklerinin ayrımı için geliştirilen farklı gaz kromatografik analiz şartları **Çizelge 5-8**'de verilmiştir. Enantiomerik maddelerin tanımlanma çalışmaları mevcut kütle spektrum kütüphanelerindeki (Wiley GC/MS Library, MassFinder software 3.0, Adams Library, NIST Library ve özel "Başer Uçucu Yağ Bileşikleri Kütüphanesi" spektrumlarının karşılaştırılması ile

gerçekleştirildi. Bileşiklerin miktar hesaplamaları için GC-FID integrasyon alanları dikkate alındı.

Çizelge 5. α-Pinen'in Gaz Kromatografi Analiz Şartları

	α-Pinen
Kolon	Lipodex-G
Taşıyıcı Gaz	He (5mL/dk)
Ort.Akış Hızı	77.985 cm/sn
Sıcaklık Programı	50 dk 35 °C'de; 40 °C/dk ile 180 °C'ye; 11.375 dk 180 °C'de; Toplam: 65 dk
Enjeksiyon modu	Split (40:1)
Enjeksiyon sıcaklığı	250 °C
Spektrum enerjisi	70 eV
Kütle Aralığı	*m/z* 35-450
GC detektörü	FID 250 °C'de

Çizelge 6. β-Pinen, Sabinen ve Limonen'nin Gaz Kromatografi Analiz Şartları

	β-Pinen	**Sabinen**	**Limonen**
Kolon	Rt™-β-DEXse		
Taşıyıcı Gaz	He (2 mL/dk)		
Ort.Akış Hızı	32.693 cm/sn		
Sıcaklık Programı	1 dk 40 °C'de; 2 °C/dk ile 200 °C'ye; Toplam: 81 dk		
Enjeksiyon modu	Split (40:1)		
Enjeksiyon sıcaklığı	250 °C		
Spektrum enerjisi	70 eV		
Kütle Aralığı	*m/z* 35-450		
GC detektörü	FID 250 °C'de		

Çizelge 7. Terpinen-4-ol ve Borneol'ün Gaz Kromatografi Analiz Şartları

	Terpinen-4-ol	**Borneol**
Kolon	Rt™-β-DEXse	
Taşıyıcı Gaz	He (5mL/dk)	
Ort.Akış Hızı	63.943 cm/sn	
Sıcaklık Programı	0 dk 40 °C'de; 2 °C/dk ile 200 °C'ye; Toplam: 80 dk	
Enjeksiyon modu	Spit (40:1)	
Enjeksiyon sıcaklığı	250 °C	
Spektrum enerjisi	70 eV	
Kütle Aralığı	*m/z* 35-450	
GC detektörü	FID 250 °C'de	

Çizelge 8. *trans*-Pinokarveol'ün Gaz Kromatografi Analiz Şartları

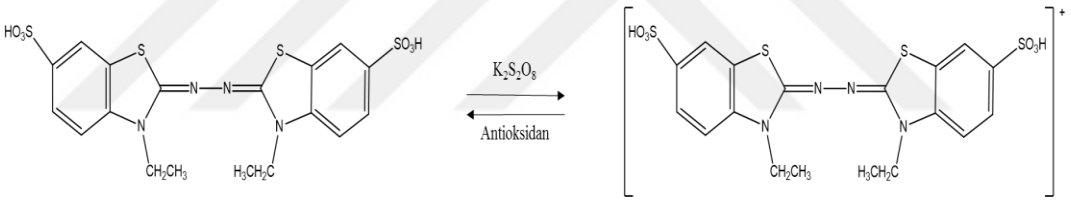
	***trans*-Pinokarveol**
Kolon	Rt™-β-DEXse
Taşıyıcı Gaz	He (7 mL/dk)
Ort.Akış Hızı	63.943 cm/sn
Sıcaklık Programı	10 dk 35 °C'de; 2 °C/dk ile 130 °C'ye; 57.5 dk 130 °C'de; 40 °C/dk ile 230 °C'ye; 2.5 dk 230 °C'de; Toplam: 120 dak
Enjeksiyon modu	Spit (40:1)
Enjeksiyon sıcaklığı	250 °C
Spektrum enerjisi	70 eV
Kütle Aralığı	*m/z* 35-450
GC detektörü	FID 250 °C'de

Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Deney aşamalarında kullanılacak numunler 10 mg/mL olmak üzere metanolde çözülerek hazırlandı. Sulu ekstrelerin çözünürlük sorunundan dolayı üzerine DMSO eklendi, son konsantrasyonlar 9.2 mg/mL olarak ayarlandı.

ABTS˙ serbest radikalini süpürme etkisi

36 mg (7 mM) ABTS ve 6.6 mg (2.5 mM) $K_2S_2O_8$ tartılıp 10 mL suda çözeltisi hazırlandı. Daha sonra 16 saat boyunca karanlık ortamda reaktifin aktif hale gelmesi için beklendi. Potasyum persulfat etkisi ile ABTS oksitlenir ve aktif $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyon oluşur. Hazırlanan stok çözelti karanlık serin ortamda kapağı kapatılarak muhafaza edildi (**Şekil 12**). Daha sonra bu stok çözeltiden 1 ml alınarak spektrofotometrede 734 nm'de absorbansı 0.700-0.800 arasında olana kadar absolü etanol ile seyreltildi. Standart olarak Trolox çözeltileri (mM) 3; 2; 1; 0.5; 0.25; 0.125 konstantrasyonlarında hazırlandı (absolü etanolde). 10 uL Trolox çözeltisi 990 uL ABTS ile karıştırılarak 734 nm'de 30 dakika sonra absorbansı ölçüldü. Trolox için linear doğru denklemi elde edildi. Bu doğru denklemi kullanılarak numunelerin 30. dakikada ortaya koyduğu inhibisyon etkileri ile Trolox'a eşdeğer antioksidan süpürücü etki hesaplandı (Papandreou ve ark., 2006; Obón ve ark., 2005; El Rayess ve ark., 2014; Apak ve ark., 2007).



Şekil 12. ABTS, Potasyum Persulfat ve Antioksidan Arasındaki Tepkime

β-Karoten soldurma yöntemi

Uçucu yağ ve ekstrelerin toplam antioksidan aktivitesi lipit peroksidasyonunu inhibe etme etkisine göre tespit edildi. Bu amaçla β-karoten soldurma yöntemi kullanıldı. Deney için 1.2 mL β-karoten çözeltisi (1 mg/mL kloroform içinde) ve içerisinde 1200 mg Tween 20 ve 120 mg linoleik asit bir balonda karıştırıldı. Rotavapor ve azot gazı kullanılarak kloroform tamamen uzaklaştırıldıktan sonra balona 300 mL tip 1 ultra saf su eklendi. Tüm işlemler sırasında β-karoten ışık etkisinden korundu. İçerisinde 10 uL numune veya standart (BHT, 1 mg/mL) bulunan deney tüplerine 2 mL β-karoten emülsiyonu eklendi. Bu karışımdan 300 uL alınarak 96 kuyucuklu mikroplağa aktarıldı. Mikroplak okuyucu 50 ˚C'de 0. dakikadan başlamak üzere her 15 dakikada bir 470 nm dalga boyunda ölçüm alacak şekilde programlandı (kinetik ölçüm). Sonuçlar 3×5 tekrar üzerinden aşağıda verilen formüle göre hesaplandı (Marco, 1968; Koşar ve ark., 2008).

$$\%AA = [1 - (Abs_{0numune} - Abs_{120numune}) \div (Abs_{0kontrol} - (Abs_{120kontrol}) \times 100$$

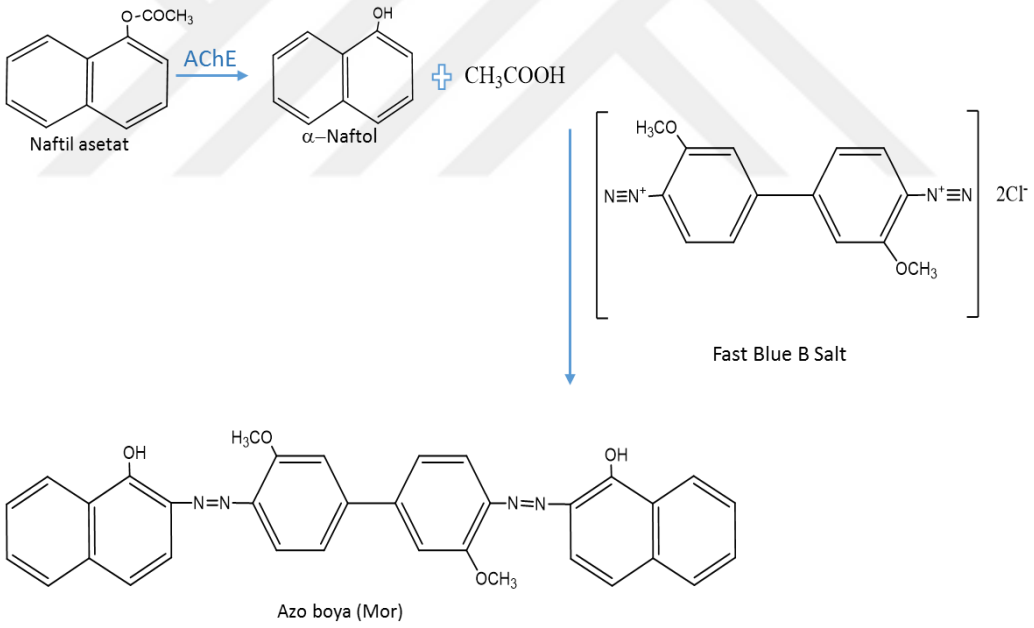
Asetilkolinesteraz enzim inhibisyonu

İTK-otografi-metodu

Marston tarafından AChE enzimi inhibisyonun hızlıca belirlenmesi için geliştirilen İTK metodu kullanılarak uçucu yağ ve ekstrelerin etkileri araştırıldı (Marston ve ark., 2002).

Deneyin yapılışı:

Uygulama yapılacak İTK plağı uygun boyutta kesilerek aseton ile yıkandı ve kurutuldu, olası kirliliklerden arındırıldı. Plağa her numuneden 3 farklı miktarda (ekstreler 0.1, 0.02, 0.005, uçucu yağlar 0.4, 0.1, 0.04 mg) spot şeklinde uygulandı ve çözücü azot altında uzaklaştırıldı. Spotlar kuruduktan sonra 2 mL 3.33 U/mL enzim solüsyonu İTK-püskürtücü ile plağa uygulandı. İTK plağı daha önceden oluşturulan 37 C'de nemli bir ortamda (etüvde) 20 dakika boyunca inkübe edildi. Aktivitenin tespiti için nemli plağa kullanımdan hemen önce hazırlanmış 1-naftil asetat ve Fast Blue B Salt (1:4) karışımı püskürtüldü (4 mL). Aktif numuneler mor zemin üzerinde oluşan renksiz alanlardan saptandı (30 dk içerisinde) (Marston ve ark., 2002). Deneyde gerçekleşen reaksiyon **Şekil 13**'de gösterilmiştir.



Şekil 13. ITK-Otografide Kullanılan Renk Reaksiyonu

Reaktiflerin hazırlanması

AChE: 0.67 mg AChE (500 U) 50 mL tampon A çözeltisi (pH=8.0) içinde çözüldü ve 1'er mL'lik alikvot olarak cryo tüplere paylaştırıldı. Her biri için 10 U/mL'lik konsantrasyon sağlanmış oldu. Alikvotlar daha sonra kullanılmak üzere derin dondurucuda (-80 ˚C) bekletildi. Stok çözeltiden 660 uL alınarak 2 mL'ye tampon B çözeltisi ile son konsantrasyon 3.33 U/mL olacak şekilde tamamlandı.

Naftil asetat: 2.5 mg 1-naftil asetat tartılıp 1.0 mL absolü etanolde çözüldü(Taze hazırlanmalı).

Fast Blue B salt: 10.0 mg Fast Blue B Salt tartılıp 4 mL ultra saf suda çözüldü(Taze hazırlanmalı).

Tampon A:1.514 gr Tris tartılıp 250 mL ultra saf suda çözüldü. pH değeri (8.0) derişik HCl ile ayarlandı.

Tampon B: 25 mg BSA tartılıp 25 mL tampon A içerisinde çözüldü.

Galantamine: Maddenin 2 mg/mL çözeltisi metanolde hazırlandı

Ellman metodu

96-kuyucuklu plak içerisine 25 uL numune (uçucu yağ/ekstre/standart madde), 50 uL B tamponu ve 25 uL asetilkolinesteraz enzimi çözeltisi eklenerek 15 dakika 25 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonrası kuyucuklara 125 uL Ellman reaktifi DTNB (3.0 mM) ilave edildi. Son olarak 25 uL substrat Asetiltiyokolin iyodür (ATCI) (15 mM) eklendi. Substratın eklenmesini takiben 15. dakikada 412 nm dalga boyunda absorbans değerleri kaydedildi. Deneyin kontrolü olarak numune yerine numunenin çözüldüğü çözücü eklendi. Numuneden gelen rengi elimine etmek için ayrıca "blank" testi yapıldı (tampon+numune+substrat). Deney 3×3 tekrar yapıldı ve kontrole göre numunelerin asetilkolinesteraz enzimini inhibe etme etkileri yüzde inhibisyon olarak hesaplandı (Ali-Shtayeh ve ark., 2014; Adsersen ve ark., 2006). Deneyde gerçekleşen reaksiyon **Şekil 14**'de gösterilmiştir.

$$\%Inh = \left[\frac{(Kontrol - Kontrol_{blank}) - (Numune - Numune_{blank})}{Kontrol - Kontrol_{blank}}\right] x100$$

Reaktiflerin hazırlanması

AChE: 0.67 mg AChE (500 U) 50 mL tampon A çözeltisi (pH:8.0) içinde çözüldü ve 1'er mL'lik alikvot olarak cryo tüplere paylaştırıldı. Her biri için 10 U/mL'lik konsantrasyon sağlanmış oldu. Alikvotlar daha sonra kullanılmak üzere derin dondurucuda (-80 C) bekletildi. Stok çözeltiden 1 mL alınarak üzerine 44.5 mL A tamponu eklendi. Böylece 0.22 U/mL konsantrasyonda enzim çözeltisi elde edildi.

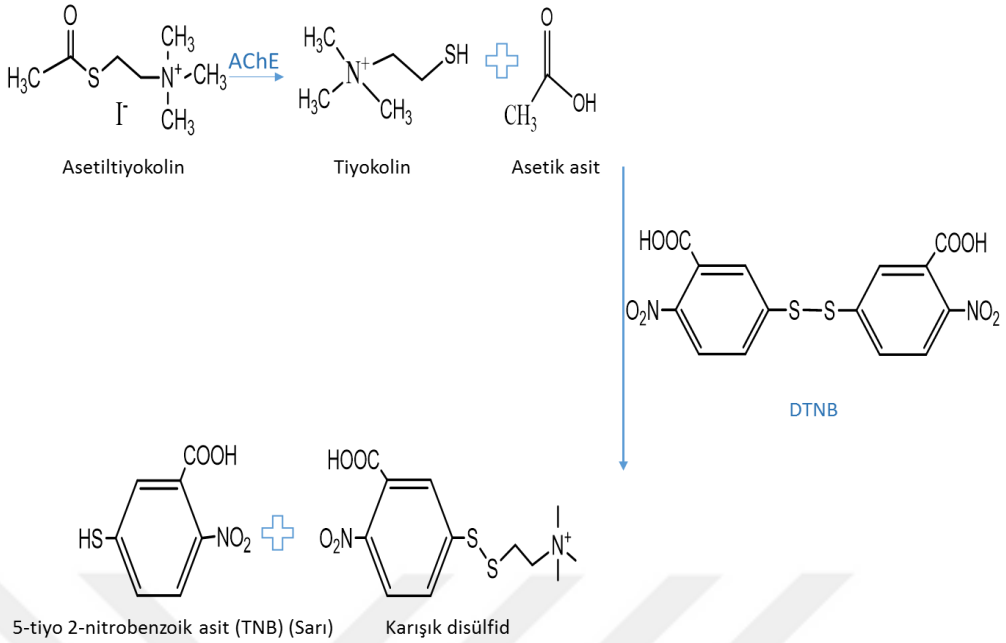
Tampon A ve tampon B: İTK-otografi metodunda açıklanan şekilde hazırlandı.

Tampon C: 0.29 gr NaCl ve 0.2 gr $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ tartılarak 50 mL A tamponu içerisinde çözüldü.

DTNB: 60 mg madde tartıldı ve 50 mL tampon C içerisinde çözülerek 3 mM'lık çözeltisi hazırlandı.

ATCI: 43 mg substrat tartıldı ve 10 mL ultra saf su içerisinde çözülerek 15 mM'lık çözeltisi hazırlandı.

Galantamin: Maddenin 0.1 mg/mL çözeltisi metanolde hazırlandı.



Şekil 14. Ellman Metodunda Gerçekleşen Renk Reaksiyonu

Toplam Fenol Miktar Tayini

Ekstrelerdeki toplam fenol miktarı mg Gallik Asit'e eşdeğer olarak Folin-Ciocalteu reaktifi yöntemiyle tayin edildi. 50 uL numune üzerine, 3.9 mL saf su ve 750 uL Folin-Ciocalteu reaktifi eklendi. 1-8 dakika beklendikten sonra 750 uL %20'lik Na_2CO_3 çözeltisi ilave edilip, 2 saat 25 °C'de inkübasyona bırakıldı (**Şekil 15**). Süre sonunda 760 nm'de absorbans ölçümleri alınarak Gallik Asit kalibrasyon eğrisiyle karşılaştırıldı. Sonuçlar 3×3 tekrar üzerinden hesaplandı (Singleton ve ark., 1999; Koşar ve ark., 2008).



Şekil 15. Toplam Fenol Miktar Tayini

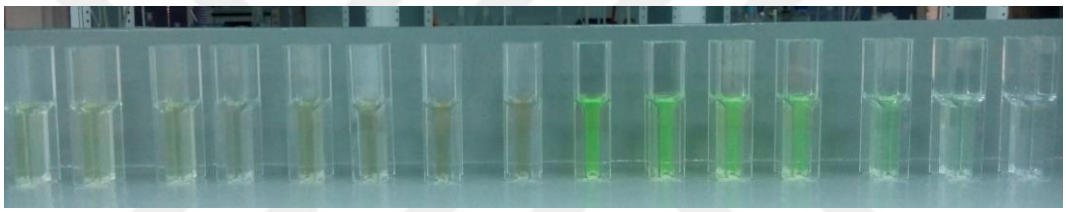
Reaktiflerin hazırlanması

Na_2CO_3: 20 gr Sodyum karbonat tartılıp 100 mL suda çözüldü

Gallik asit: Maddenin 1 mg/mL lik konsantrasyonda çözeltisi hazırlanıp 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1 mg/mL'lik konsantrasyonlara seyrelti.

Toplam Flavonoit Miktar Tayini

Ekstrelerdeki toplam flavonoit miktarı kersetin'e eşdeğer miktarlar üzerinden $AlCl_3$ reaktifi kullanılarak tayin edildi. 200 uL numune üzerine sırasıyla 200 uL $AlCl_3$ çözeltisi ve 4.6 ml absolü etanol eklendi. 40 dakika 25 ˚C'de inkübasyonun ardından 415 nm'de absorbans değerleri kaydedildi. Numunelerin boş ("blank") deneyleri olarak $AlCl_3$ yerine 1 damla asetik asit (%15'lik) kullanıldı. Kersetin'in kalibrasyon eğrisi aynı şartlarda hesaplanarak ekstreler ile karşılaştırıldı (**Şekil 16**). Deney 3×3 tekrar yapılarak toplam flavonoit miktarları hesaplandı (Miliauskas ve ark., 2004; Koşar ve ark., 2008).



Şekil 16. Toplam Flavonoit Miktar Tayini

Reaktiflerin Hazırlanması

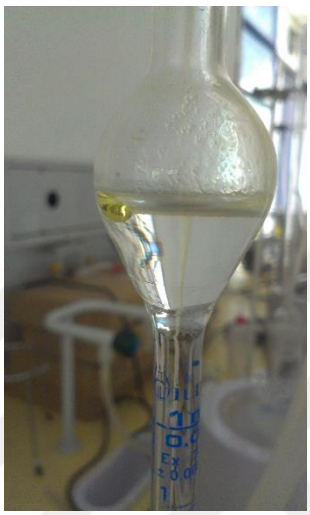
$AlCl_3$: 2 gr madde tartılıp 100 mL suda çözüldü.

Kersetin: Maddenin 1 mg/mL lik konsantrasyonda çözeltisi hazırlanıp 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1 mg/mL'lik konsantrasyonlara seyrelti.

BULGULAR

Uçucu Yağın Özellikleri

Tanacetum haussknechtii bitkisinin değişik kısımlarının Clevenger apareyinde hidrodistilasyonu sonucunda açık sarı renkli ve hoş kokulu uçucu yağları elde edildi (**Şekil 17**). Uçucu yağ verimi kuru bitki üzerinden sap-yaprak, çiçek ve kök için %0.09 (a/a), %0.08 (a/a) ve %0.05 (a/a) olarak hesaplandı.



Şekil 17. *T. haussknechtii* Bitkisinden Clevenger Apareyinde Uçucu Yağının Elde Edilmesi

Uçucu Yağ Kimyasal Kompozisyonu

Tanacetum haussknechtii sap-yaprak, çiçek ve kök uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonu gaz kromatografi tekniği ile araştırıldı. Bileşenlerin kalitatif analizi GC/MS, kantitatif analizi için GC-FID sonuçları kullanıldı. **Çizelge 9**'da bileşenlerin HP-Inowax kolondan çıkış sırasına göre listelenmiştir. Sap-yaprak, çiçek ve kök kısımlarından elde edilen uçucu yağların kimyasal kompozisyonlarını sırasıyla %92.0, %91.4 ve %93.8'ini temsil eden 60, 56, 36 bileşik tanımlandı. Uçucu yağların kromatografik profilleri **Şekil 18-20**'de gösterilmiştir.

Çizelge 9. *Tanacetum haussknechtii* Uçucu Yağlarının Kimyasal Kompozisyonu

No.	RTİ	Bileşik	%		
			A	B	C
1.	1032	α-Pinen	14.5	12.3	2.4
2.	1043	Santolinatrien	1.7	7.4	0.5

Çizelge 9 (devam). ***Tanacetum haussknechtii*** **Uçucu Yağlarının Kimyasal Kompozisyonu**

No.	RTİ	Bileşik	%		
			A	B	C
3.	1072	α-Fenken	-	-	0.6
4.	1076	Kamfen	1.3	2.8	e
5.	1118	β-Pinen	7.2	6.4	0.7
6.	1132	Sabinen	1.0	1.1	-
7.	1174	Mirsen	-	0.4	-
8.	1203	Limonen	e	0.9	-
9.	1213	1,8-Sineol	3.6	3.1	-
10.	1246	(*Z*)-β-Osimen	e	-	-
11.	1280	*p*-Simen	e	-	-
12.	1285	Izoamil izovalerat	-	0.6	-
13.	1474	*trans*-Sabinen hidrat	0.6	-	-
14.	1482	Longipinen	0.6	0.7	-
15.	1497	α-Kopaen	0.7	1.0	-
16.	1499	α-Kamfolen aldehit	0.6	-	-
17.	1532	Kafur	0.7	0.8	-
18.	1541	Benzaldehit	-	e	-
19.	1544	α-Gurjunen	e	0.2	-
20.	1548	1-Okten-3-il 3-metilbutirat	-	-	0.6
21.	1553	Linalol	e	0.4	-
22.	1556	*cis*-Sabinen hidrat	E	-	-
23.	1586	Pinokarvon	0.3	-	-
24.	1590	Bornil asetat	-	-	e
25.	1604	Timol metil eter (= *Metil timol*)	-	-	1.0
26.	1604	Izobornil asetat	-	-	0.9

Çizelge 9 (devam). ***Tanacetum haussknechtii*** **Uçucu Yağlarının Kimyasal Kompozisyonu**

No.	RTİ	Bileşik	%		
			A	B	C
27.	1611	Terpinen-4-ol	e	0.6	-
28.	1612	β-Karyofillen	0.9	0.6	-
29.	1664	1-Nonanol	-	-	e
30.	1668	(*Z*)-β-Farnesen	1.1	1.1	0.2
31.	1670	*trans*-Pinokarveol	e	-	-
32.	1684	*trans*-Krisantemol	-	0.8	-
33.	1695	(*E*)-β-Farnesen	-	e	-
34.	1704	γ-Muurolen	-	4.5	-
35.	1706	α-Terpineol	2.4	1.4	0.6
36.	1709	α-Terpinil asetat	2.4	1.4	-
37.	1719	Borneol	17.2	20.5	2.2
38.	1726	Germakren D	7.4	-	-
39.	1733	γ-Amorfen	-	-	0.6
40.	1740	α-Muurolen	e	-	-
41.	1742	Geranial	e	-	-
42.	1743	Eremofilen	-	0.3	-
43.	1755	Bisiklogermakren	1.3	0.7	-
44.	1756	1-Heptadesen (=Hekzahidroaplotaksen)	-	-	0.3
45.	1773	δ-Kadinen	0.6	0.9	-
46.	1776	γ-Kadinen	-	e	-
47.	1783	β-Seskifellandren	-	0.2	-
48.	1786	Neril propionat	-	-	1.9
49.	1805	α-Kamfolen alkol	1.8	0.8	-
50.	1808	Nerol	-	-	1.8

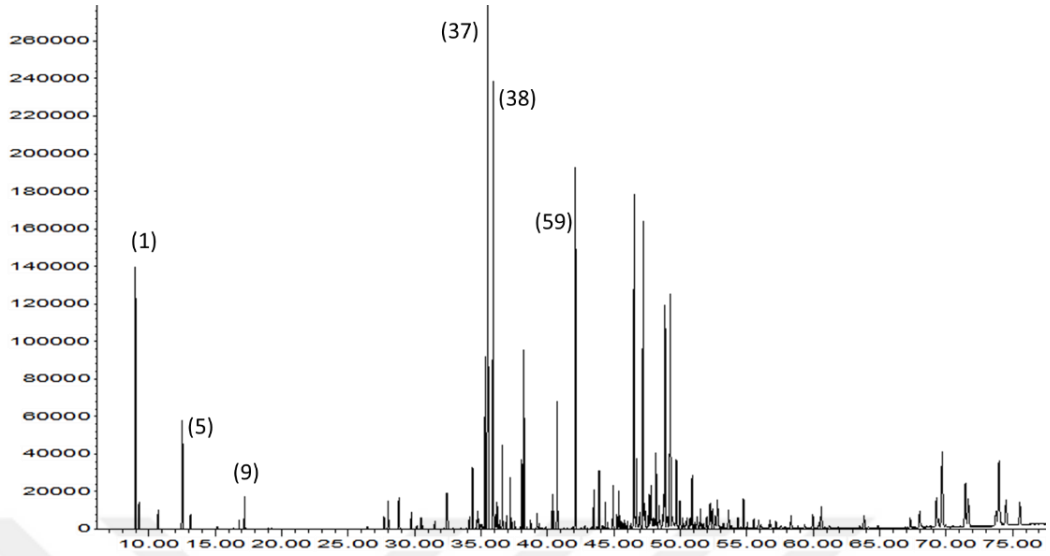
Çizelge 9 (devam). ***Tanacetum haussknechtii*** **Uçucu Yağlarının Kimyasal Kompozisyonu**

No.	RTİ	Bileşik	%		
			A	B	C
51.	1830	2,6-Dimetil-3(*E*),5(*E*),7-oktatrien-2-ol	e	-	1.2
52.	1845	*trans*-Karveol	0.5	-	-
53.	1871	Neril izovalerat	-	-	8.6
54.	1878	2,5-Dimetoksi-*p*-simen	-	-	0.8
55.	1893	Geranil izovalerat	0.5	-	41.6
56.	1900	*epi*-Kubebol	1.4	0.6	0.8
57.	1904	Geranil 2-metil butirat	e	-	-
58.	1932	Izoamilbenzoat	-	0.7	-
59.	1957	Kubebol	3.9	1.4	0.9
60.	1986	Fenil etil butirat	-	0.6	-
61.	1988	2-Feniletil-2-metil butirat	-	e	-
62.	2008	Karyofillen oksit	0.5	0.3	-
63.	2030	Metil öjenol	0.6	0.5	-
64.	2037	Salvial-4(14)-en-1-on	e	-	-
65.	2069	1(10),5-Germakradien-4-β-ol (= Germakren D-4-ol)	0.6	-	-
66.	2080	Kubenol	0.1	0.1	-
67.	2081	1,10-di-*epi*-Kubenol	0.4	-	-
68.	2088	1-*epi*-Kubenol	-	0.3	-
69.	2089	Epikubebol izomer	0.1	-	-
70.	2104	Viridiflorol	e	-	-
71.	2131	1-αH-Himakhal-4-en-1β-ol	3.3	2.5	1.5
72.	2144	Spatulenol	0.6	0.4	4.3
73.	2161	Tanımlanmayan bileşik*	2.6	2.5	-
74.	2187	T-Kadinol	0.4	0.2	-

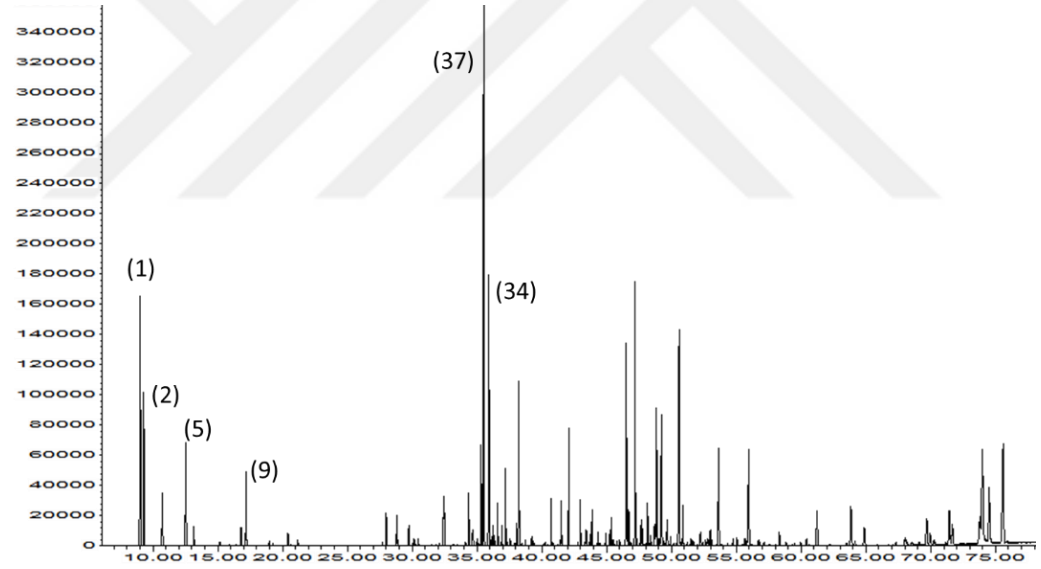
Çizelge 9 (devam). ***Tanacetum haussknechtii*** **Uçucu Yağlarının Kimyasal Kompozisyonu**

No.	RTİ	Bileşik	%		
			A	B	C
75.	2204	Eremoligenol	-	-	3.9
76.	2209	T-Muurolol	0.7	0.5	-
77.	2219	δ-Kadinol (=α-Muurolol; Torreyol)	-	0.2	-
78.	2232	α-Bisabolol	0.3	-	-
79.	2234	2-Himakhalen-7-ol	2.3	1.5	1.0
80.	2247	*trans*-α-Bergamotol	-	-	e
81.	2255	α-Kadinol	-	0.9	1.8
82.	2257	β-Ödesmol	2.7	0.8	-
83.	2277	Torilenol	-	-	e
84.	2289	Alismol (=Guaia-6,10(14)-dien-4-β-ol)	0.7	-	9.3
85.	2290	(*E*)-β-Atlanton	-	-	2.5
86.	2300	Trikosan	-	2.0	-
87.	2304	α-Siperon	-	-	0.3
88.	2356	(*Z*)-9-Trikosen	-	-	0.2
89.	2368	Ödesma-4(15),7-dien-1-β-ol	0.2	-	0.4
90.	2380	10-Hidroksi kalamen	0.2	-	-
91.	2467	Aristolon	0.2	-	-
92.	2500	Pentakosan	-	0.9	-
93.	2655	Benzil benzoat	-	0.4	-
94.	2700	Heptakosan	-	0.3	-
95.	2733	Fenil etil benzoat	-	0.3	-
96.	2781	Geranil geraniol	0.7	0.4	-
97.	2900	Nonakosan	0.3	0.5	-
98.	2931	Hekzadekanoik asit	0.2	0.7	0.4
		Toplam	**92.0**	**91.4**	**93.8**

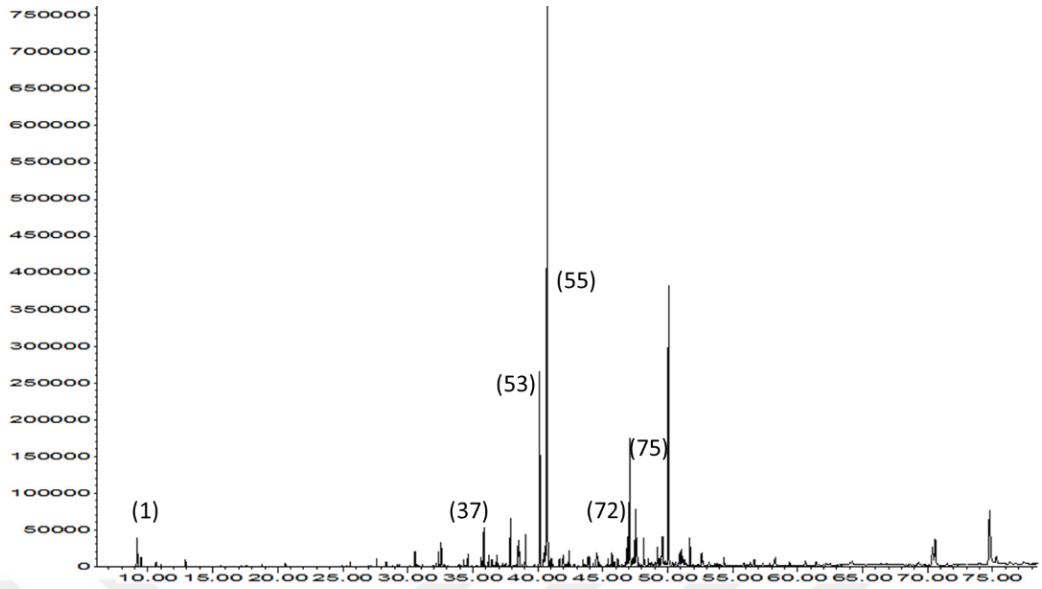
A: Sap-yaprak, B: Çiçek, C: Kök; RTI: Relatif Tutunma İndisi; e: %0.1'in altındaki bileşikler; * Tanımlanmayan bileşik: EI-MS, 70 eV, $C_{15}H_{24}O$. (**Şekil 21**)



Şekil 18. *T. haussknechtii* Sap+Yaprak Uçucu Yağının Gaz Kromatografik Profili



Şekil 19. *T. haussknechtii* Çiçek Uçucu Yağının Gaz Kromatografik Profili



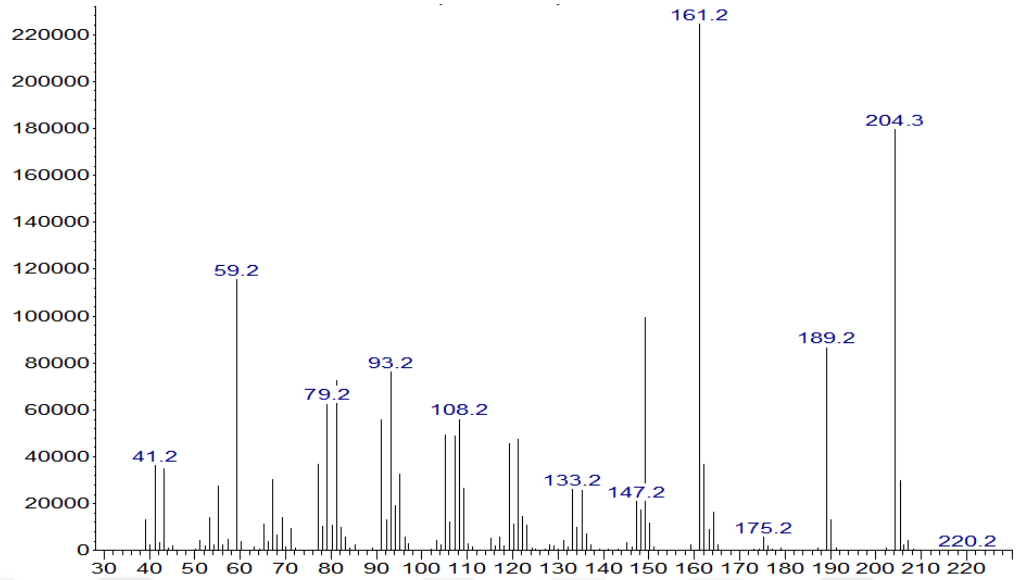
Şekil 20. *T. haussknechtii* Kök Uçucu Yağının Gaz Kromatografik Profili

Uçucu yağların içinde tespit edilen bileşikler mono- ve seskiterpenler olarak 2 ana grup altında sınıflandırıldı. Üç uçucu yağın içerisindeki major grupların dağılımı **Çizelge 10**'da gösterilmiştir.

Çizelge 10. *Tanacetum haussknechtii* Uçucu Yağlarındaki Ana Grupların Dağılımı

Grup	A, %	B, %	C, %
Monoterpen hidrokarbonlar	28.1	32.7	4.2
Oksijenli monoterpenler	28.3	28.9	7.6
Seskiterpen hidrokarbonlar	13.3	10.5	0.8
Oksijenli seskiterpenler	18.4	11.0	80.3
Diğer	3.9	8.3	0.9

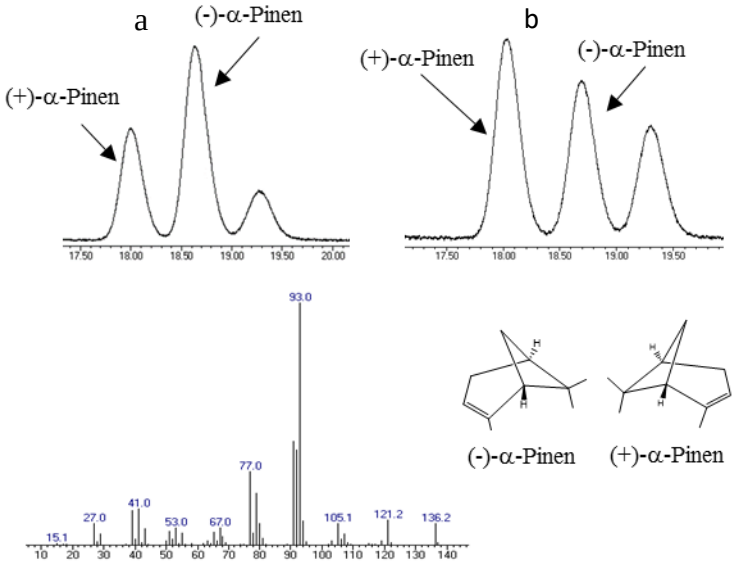
*A: Sap-yaprak, B: Çiçek, C: Kök



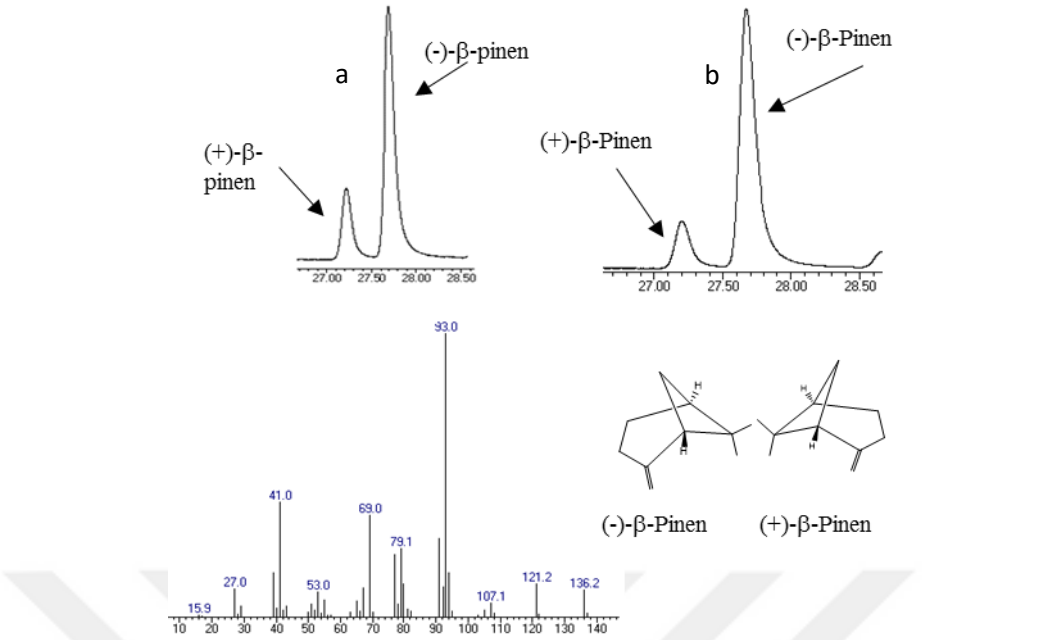
Şekil 21. ***Tanacetum hauskknechtii*** **Sap-Yaprak ve Çiçek Uçucu Yağlarında Tanımlanmayan Bileşiğin Kütle Spektrumu**

Enantiomer Madde Oranları

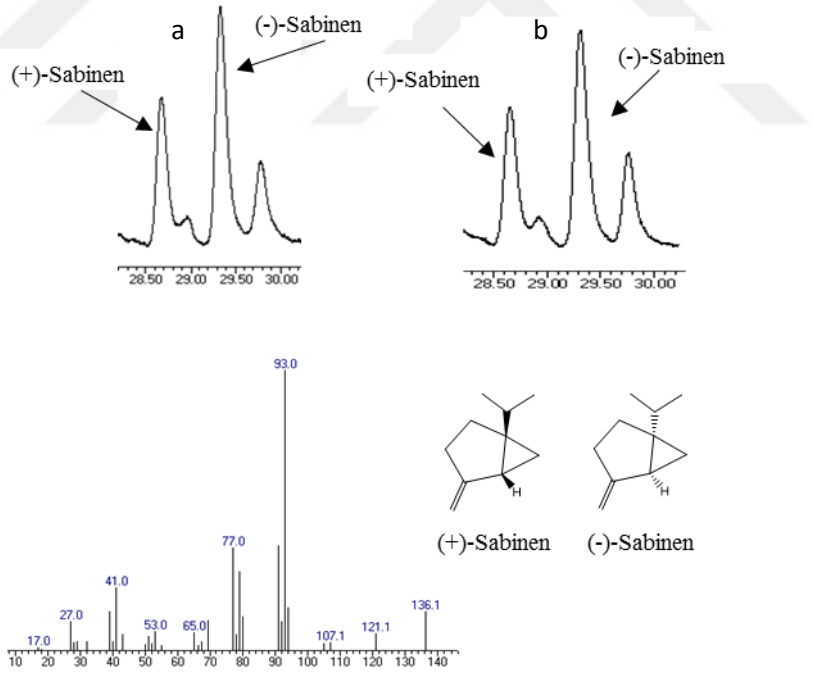
Tanacetum haussknechtii sap-yaprak ve çiçek uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonunda yer alan ana bileşiklerin enantiomerik oranları şiral kolon kullanılarak gaz kromatografi tekniği ile araştırıldı. Bileşiklerin kalitatif analizi GC/MS, kantitatif analizi için GC-FID sonuçları kullanıldı. Enantiomerlerin ayrımlarını gösteren GC kromatogramları ve spektrum bilgileri **Şekil 22-28**'de verilmiştir.



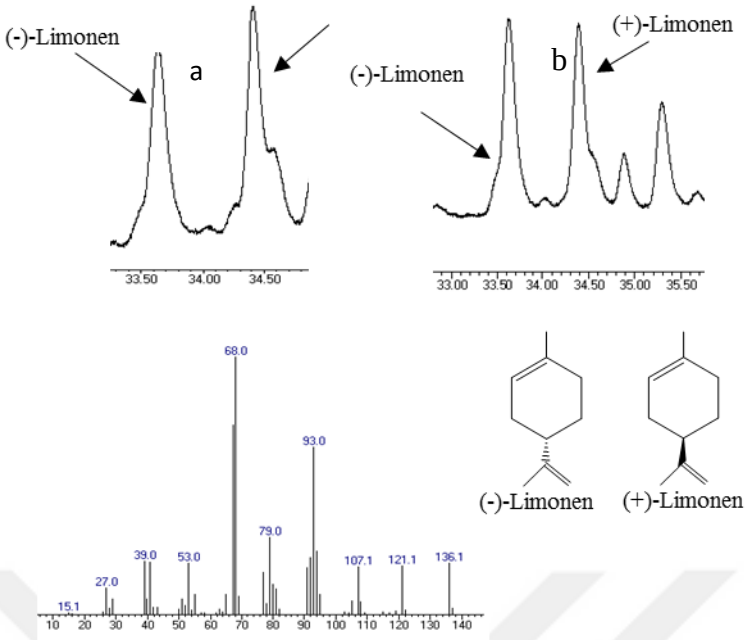
Şekil 22. ***Tanacetum haussknechtii*** **α-Pinen Enantiomerlerinin Şiral Kolondaki Ayrımı ve Kütle Spektrumu. a: Sap-Yaprak Yağı; b: Çiçek Uçucu Yağı**



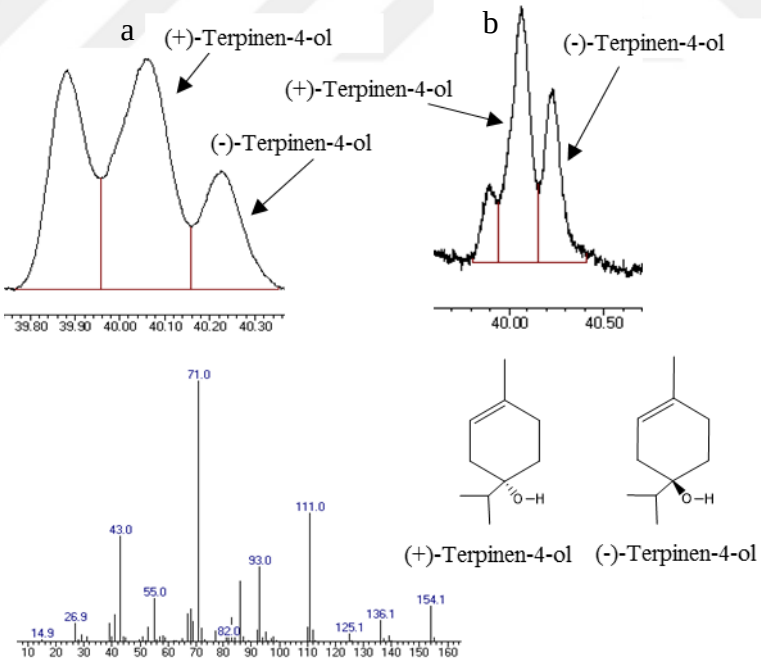
Şekil 23. ***Tanacetum haussknechtii*** **β-Pinen Enantiomerlerinin Şiral Kolondaki Ayrımı ve Kütle Spektrumu. a: Sap-Yaprak Yağı; b: Çiçek Uçucu Yağı**



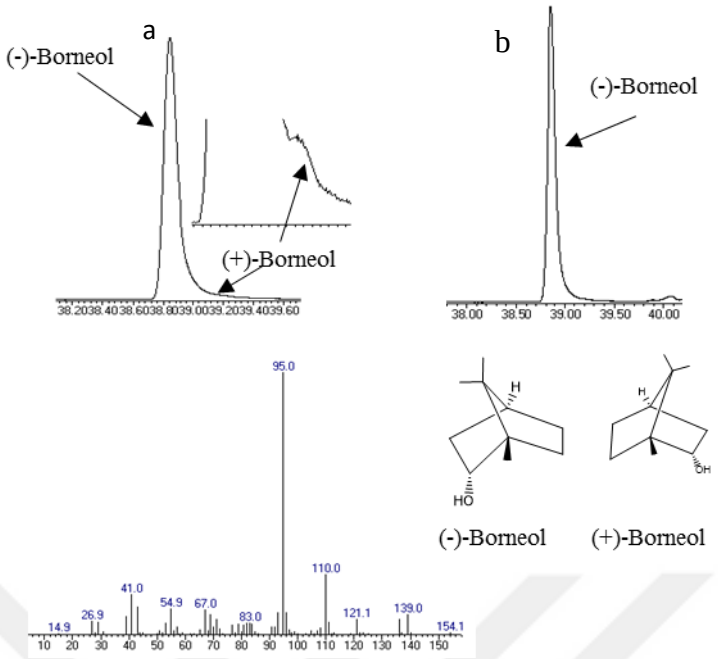
Şekil 24. ***Tanacetum haussknechtii*** **Sabinen Enantiomerlerinin Şiral Kolondaki Ayrımı ve Kütle Spektrumu. a: Sap-Yaprak Yağı; b: Çiçek Uçucu Yağı**



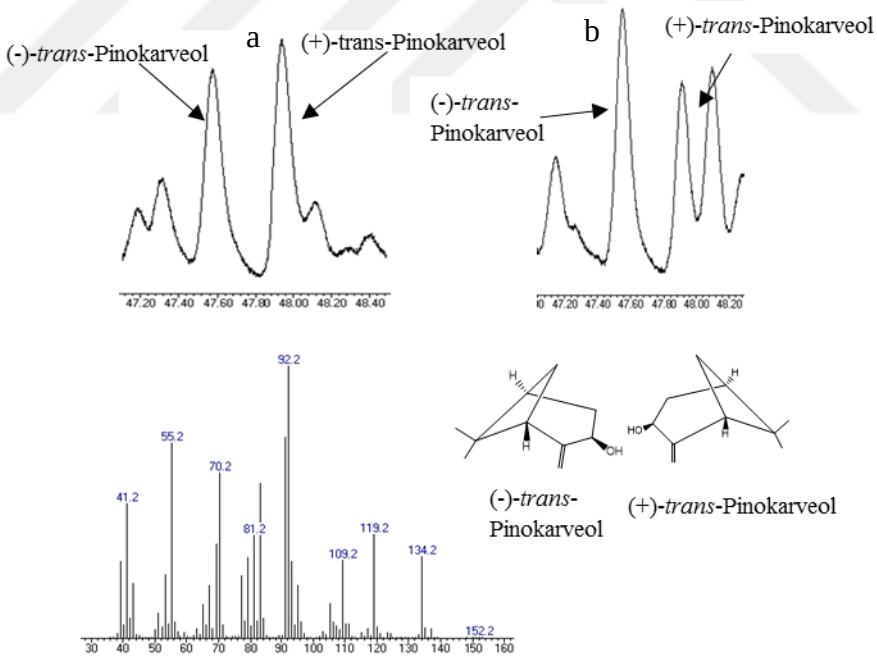
Şekil 25. ***Tanacetum haussknechtii*** **Limonen Enantiomerlerinin Şiral Kolondaki Ayrımı ve Kütle Spektrumu. a: Sap-Yaprak Yağı; b: Çiçek Uçucu Yağı**



Şekil 26. ***Tanacetum haussknechtii*** **Terpinen-4-ol Enantiomerlerinin Şiral Kolondaki Ayrımı ve Kütle Spektrumu. a: Sap-Yaprak Yağı; b: Çiçek Uçucu Yağı**



Şekil 27. ***Tanacetum haussknechtii*** **Borneol Enantiomerlerinin Şiral Kolondaki Ayrımı ve Kütle Spektrumu. a: Sap-Yaprak Yağı; b: Çiçek Uçucu Yağı**



Şekil 28. ***Tanacetum haussknechtii trans*****-Pinokarveol Enantiomerlerinin Şiral Kolondaki Ayrımı ve Kütle Spektrumu. a: Sap-Yaprak Yağı; b: Çiçek Uçucu Yağı**

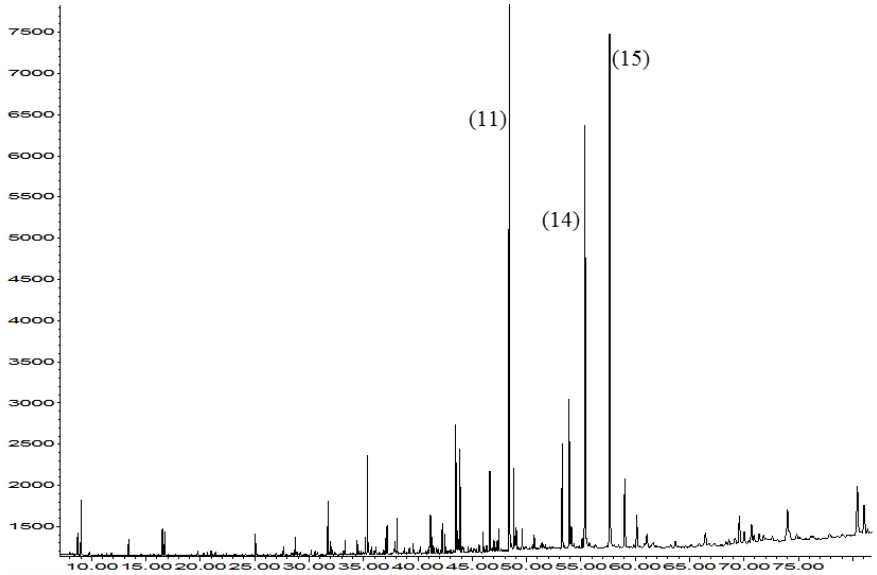
Metillenmiş Sabit Yağ Asitleri Kimyasal Kompozisyonu

Tanacetum haussknechtii bitkisinden elde edilen sabit yağ asitleri metil esterlerinin kimyasal kompozisyonu GC-FID ve GC/MS teknikleriyle araştırıldı. **Çizelge 11**'de bileşiklerin HP-Inowax kolondan çıkış sırasına göre listesi verilmiştir. Yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonun % 99.2'sini oluşturan 18 bileşik tespit edildi. Yağ asitlerinin kromatografik profili **Şekil 29**'da gösterilmiştir.

Çizelge 11. *T. haussknechtii* Sabit Yağ Asitlerinin Kompozisyonu

No	RTİ	Bileşik	%
1.	1018	Metil 2-metil-butirat	0.7
2.	1024	Metil 3-metil-butirat (=Metil izovalerat)	1.4
3.	1197	Metil hekzanoat	e
4.	1199	Metil tiglat (=E-Metil 2-metilen butanoik asit)	e
5.	1588	α-Kamfolenik asit metilester	1.6
6.	1779	Metilfenil asetat	0.9
7.	1810	Metil dodekanoat (=Metil laurat)	1.0
8.	2021	Metil tetradekanoat (=Metil miristat)	3.6
9.	2124	Metil pentadekanoat	0.8
10.	2151	Metil nonan-1,9-dioat (= Metil azelat)	2.2
11.	2226	Metil hekzadekanoat (=Metil palmitat)	25.5
12.	2431	Metil oktadekanoat (=Metil stearat)	4.1
13.	2456	(*Z*)-9-Metil oktadekanoat (=Metil oleat)	5.9
14.	2509	(*Z*,*Z*)-9,12-Metil oktadekadienoat (=Metil linoleat)	17.6
15.	2583	Metil linolenat	25.4
16.	2644	Metil eikosanoat (=Metil araşidat)	2.1
17.	2845	Metil behenat (=Metil dokosanoat)	2.1
18.	3050	Metil tetrakosanoat	4.3
		Toplam	**99.2**

RTİ: Relatif Tutunma İndisi; **e**: %0.1'in altındaki maddeler



Şekil 29. ***Tanacetum haussknechtii*** **Sabit Yağ Asitleri Gaz Kromatografik Profili**

Ekstrelerin Özellikleri

Tanacetum haussknechtii topraküstü, sap-yaprak ve çiçek kısımları metanol, etilasetat ve su ile masere edilerek ekstreleri elde edildi. Ekstrelerin verimleri kuru bitkisel materyal üzerinden hesaplanarak **Çizelge 12**'de verilmiştir.

Çizelge 12. ***Tanacetum haussknechtii*** **Farklı Kısımlardan Elde Edilen Ekstrelerin Verimleri**

Bitki kısmı	Verim, %		
	Metanol	**Etilasetat**	**Su**
Topraküstü	8.92	3.3	10.4
Sap+yaprak	6.2	2.3	5.7
Çiçek	8.4	2.6	5.44

*g ekstre / 100 g bitki

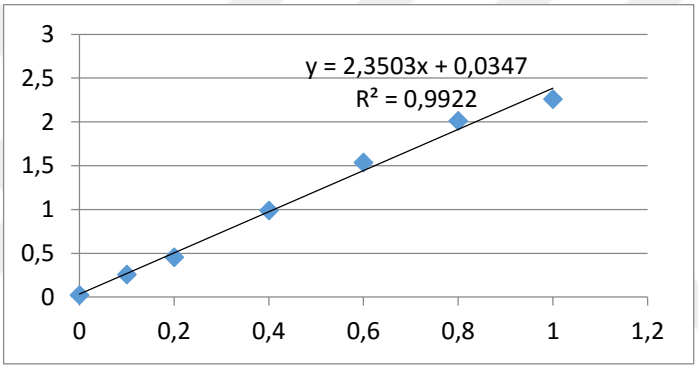
Toplam Fenol Miktarı

Ekstrelerin içerdikleri toplam fenol miktarları Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak spekrofotometrik yöntemle tayin edildi. **Çizelge 13**'de ekstrelerin toplam fenol miktarları gallik asit'e eşdeğer olarak verilmiştir. Hesaplamalarda kullanılan gallik asidin kalibrasyon eğrisi ve eğri denklemi **Şekil 30**'da gösterilmiştir.

Çizelge 13. *Tanacetum haussknechtii* Ekstrelerinin İçerdiği Gallik Asite Eşdeğer Toplam Fenol Miktarı

Bitki kısmı	GAE		
	Metanollü ekstre	**Etilasetatlı ekstre**	**Sulu ekstre**
Topraküstü	34.14 ±	16.59 ±	5.94 ±
SH	0.70	0.01	0.07
Sap+yaprak	36.00 ±	14.78 ±	6.90 ±
SH	0.46	0.23	0.19
Çiçek	34.82 ±	33.40 ±	16.61 ±
SH	0.26	0.35	0.30

*GAE: mg/g Gallik asit'e eşdeğer fenol miktarı



Şekil 30. Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisi

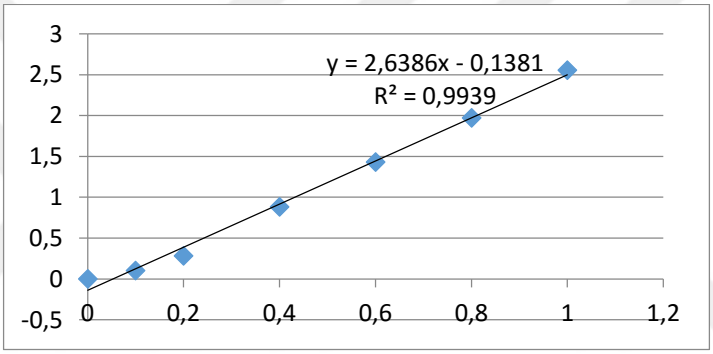
Toplam Flavonoit Miktarı

Tanacetum haussknechtii ekstrelerinin içerdikleri toplam flavonoit miktarları spektrofotometrik olarak $AlCl_3$ reaktifi ile tayin edildi. **Çizelge 14**'de ekstrelerin içerdiği toplam flavonoit miktarı kersetin'e eşdeğer olarak verilmiştir. Hesaplamalarda kullanılan kersetin'in kalibrasyon eğrisi ve eğri denklemi **Şekil 31**'de gösterilmiştir.

Çizelge 14. ***Tanacetum haussknechtii*** **Ekstrelerinin İçerdiği Kersetine Eşdeğer Toplam Flavonoit Miktarları**

Bitki kısmı	KE		
	Metanollü ekstre	**Etilasetatlı ekstre**	**Sulu ekstre**
Topraküstü SH	12.82 ± 0.02	12.47 ± 0.08	5.59 ± 0.14
Sap+yaprak SH	10.00 ± 0.54	10.65 ± 0.06	5.99 ± 0.29
Çiçek SH	18.39 ± 0.27	30.44 ± 0.56	6.51 ± 0.36

*KE: mg/g Kersetin'e eşdeğer flavonoit miktarı



Şekil 31. Kersetin Kalibrasyon Eğrisi

Antioksidan Aktivite

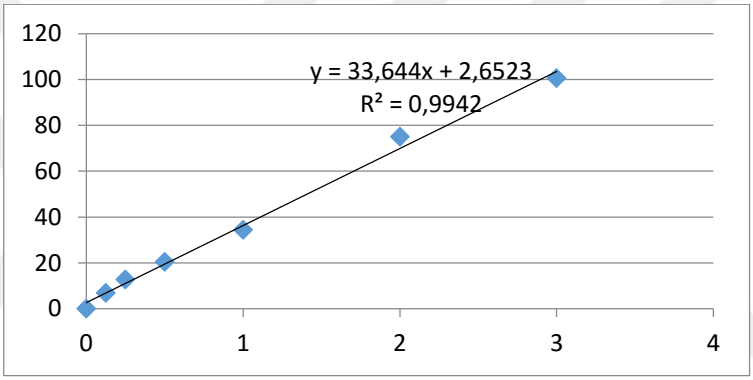
ABTS radikalini süpürme etkisi

Tanacetum haussknechtii uçucu yağ ve ekstrelerinin antioksidan etkisi serbest ABTS• radikalini süpürme etkisine göre spektrofotometrik olarak tayin edildi. Numunelerin antioksidan etkileri Trolox'un (standart madde) ABTS• radikalini süpürme etkisi ile karşılaştırılarak saptandı. Numunelerin Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasiteleri **Çizelge 15**'te verilmiştir. Hesaplamalarda kullanılan Trolox maddesinin kalibrasyon eğrisi ve eğri denklemi **Şekil 32**'de gösterilmiştir.

Çizelge 15. ***Tanacetum haussknechtii*** **Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin Trolox'a Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi**

Bitki kısmı	TEAK, mM					
	Uçucu yağ	Metanollü ekstre	Etilasetatlı ekstre	Sulu ekstre	GA	BHT
Topraküstü	-	2.688 ±	1.785 ±	0.684 ±	2.898 ±	2.713 ±
SH		0.160	0.021	0.029	0.004	0.055
Sap+yaprak	0.024 ±	2.640 ±	1.626 ±	0.735 ±		
SH	0.005	0.053	0.029	0.063		
Çiçek	0.100 ±	2.583 ±	2.642 ±	1.581 ±		
SH	0.007	0.136	0.107	0.217		

*Tüm numuneler %1'lik, BHT %0.1'lik, Gallik asit %0.01'lik konsantrasyonda



Şekil 32. Trolox Kalibrasyon Eğrisi

β-Karoten soldurma gücü

Uçucu yağ ve ekstrelerin β-karoten-linoleik asit oksidasyonunu inhibe etme etkisi β-karoten'in reaksiyon sonunda solma derecesine göre saptandı. Numunelerin ve stardart maddenin (BHT) yüzde antioksidan aktivite değerleri istatiksel olarak hesaplanarak **Çizelge 16**'da verilmiştir.

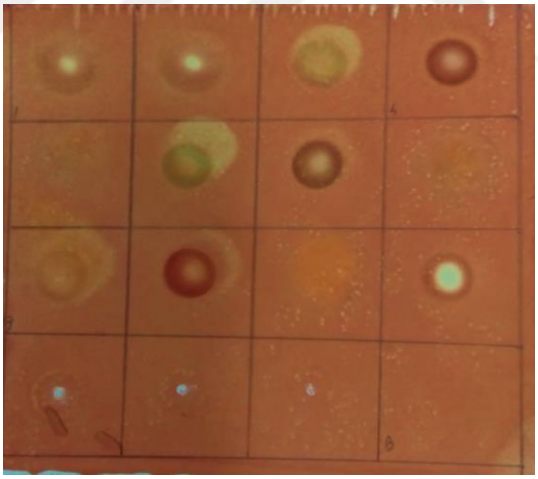
Çizelge 16. *Tanacetum haussknechtii* Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin β-Karoten-Linoleik Asit Deneyinde Yüzde Antioksidan Aktivitesi

Bitki kısmı	%AA				
	Uçucu yağ	Metanollü ekstre	Etilasetatlı ekstre	Sulu ekstre	BHT*
Topraküstü		44.36 ±	24.45 ±	9.54 ±	58.45 ±
SH		4.68	2.89	8.83	6.26
Sap+yaprak	AD	46.89 ±	42.22 ±	14.65 ±	
SH		4.65	2.27	3.35	
Çiçek	AD	49.95 ±	53.68 ±	43.90 ±	
SH		4.35	5.19	4.83	

AD: Aktif değil; *Tüm numuneler %1'lik, BHT %0.1'lik konsantrasyonda

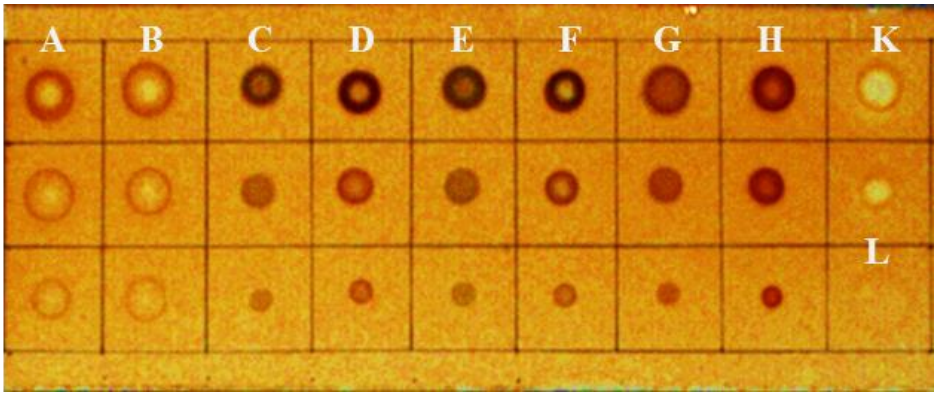
Asetilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu

Tanacetum haussknechtii uçucu yağ ve ekstrelerin antiasetilkolinesteraz etkisi İTK-otografi ve Ellman yöntemleriyle araştırıldı. Değerlendirmenin birinci aşamasında İTK-otografi yöntemiyle tüm numunelerin "dot-blot" tekniğine benzer şekilde AChE enzimi üzerine etkisi genel olarak tarandı (**Şekil 33**).



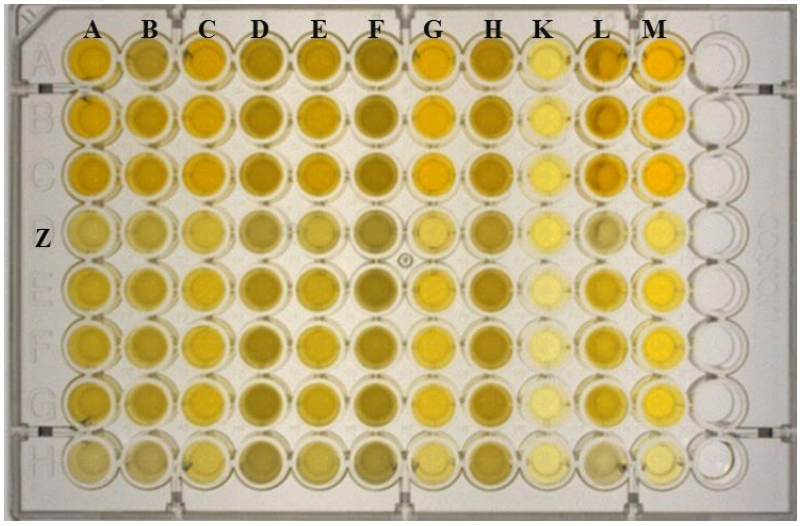
Şekil 33. *Tanacetum haussknechtii* Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin İTK-otografi Yöntemi ile AChE Enzimi İnhibisyon Etkisinin Taranması (1. Aşama)

Etki gösteren numuneler değerlendirmenin 2. aşamasına seçildi ve 3 farklı miktarda İTK plağına uygulanarak tarama işlemine devam edildi. Sulu ekstreler deneyin ilk aşamasında etki göstermediğinden dolayı elimine edildi. Uçucu yağlar, metanollü ve etil asetatlı ekstreler 2. aşama değerlendirilmeye tabi tutuldu (**Şekil 34**).



Şekil 34. ***Tanacetum haussknechtii*** **Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin İTK-otografi Yöntemi ile AChE Enzimi İnhibisyon Etkisinin Taranması (Aşama 2). A: Sap+Yaprak Uçucu Yağı; B: Çiçek Uçucu yağı; C: Metanollü topraküstü; D: Etilasetatlı topraküstü; E: Metanollü sap+yaprak; F: Etilasetatlı sap+yaprak; G: Metanollü çiçek; H: Etilasetatlı çiçek; K:Galantamin; A ve B 0.4 mg-0.2 mg-0.04 mg, C-D-E-F-G-H 0.1 mg-0.02 mg-0.005 mg, K 0.05 mg-0.0025 mg, L 5 µL MeOH**

İTK-otografi deneyinde uçucu yağlar, metanollü ve etilasetatlı ekstreler AChE enzimini inhibe eden numuneler olarak tespit edildi. Daha sonra bu numunelerin aktivitesi Ellman metodu ile spektrofotometrik olarak saptandı (**Şekil 35**). Numunelerin AChE enzimini inhibe etme etkileri yüzde inhibisyon olarak hesaplandı ve **Çizelge 17**'de verildi.



Şekil 35. ***Tanacetum haussknechtii*** **Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin Ellman Metodu ile AChE Enzimi İnhibisyon Etkisinin Tespiti. A: Sap+Yaprak Uçucu yağı, B: Çiçek Uçucu yağı, C: Metanollü topraküstü, D: Etilasetatlı topraküstü, E: Metanollü sap+yaprak, F: Etilasetatlı sap+yaprak, G: Metanollü çiçek, H: Etilasetatlı çiçek, K: Galantamin, M: Kontrol, Z: Kör ("blank"). Numuneler 10 mg/mL, Galantamin 1mg/mL**

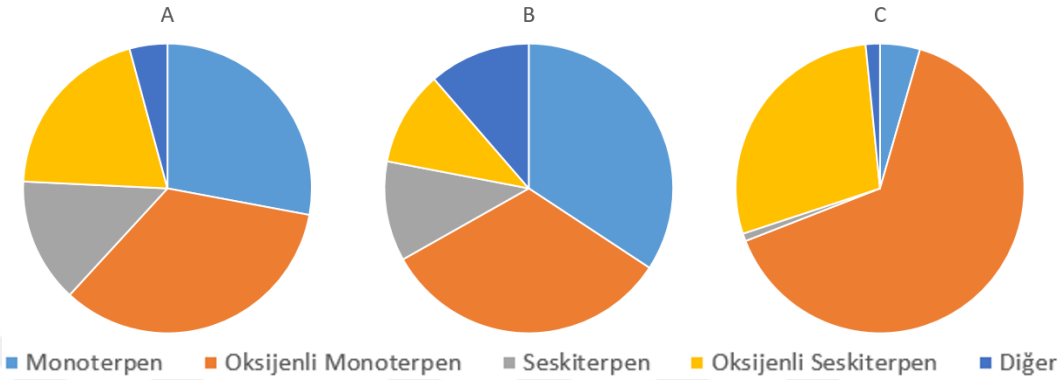
Çizelge 17. Yüzde Asetilkolinesteraz Enzim İnihibisyonu

	İnhibisyon, %			
	Uçucu yağ	**Metanol**	**Etilasetat**	**Galantamin**
Topraküstü		19.2	23.1	100.0
		±	±	±
SH		2.0	1.2	4.4
Sap+yaprak	28.7	20.6	34.9	
	±	±	±	
SH	2.5	3.3	3.7	
Çiçek	51.2	19.4	37.1	
	±	±	±	
SH	2.5	1.2	3.1	

*Numuneler %1, Galantamin (standart) %0.1 konsantrasyonda uygulandı

TARTIŞMA

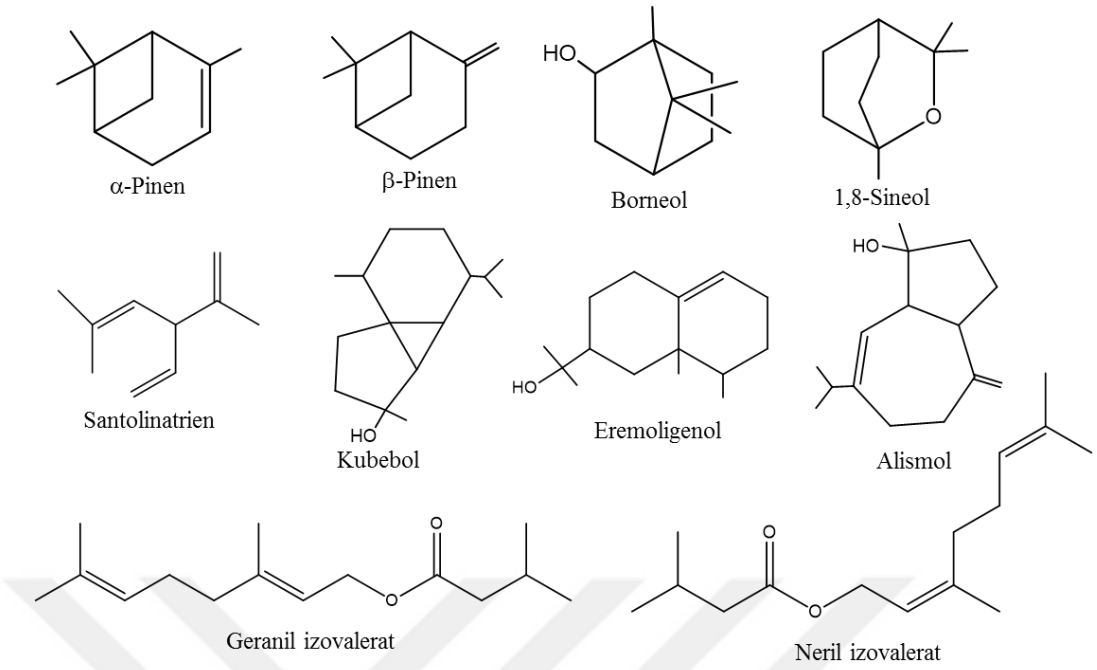
Tanacetum haussknechtii bitkisinin değişik kısımlarından elde edilen uçucu yağların gaz-kromatografik analiz sonucunda tespit edilen bileşikleri dört ana grup altında toplayabiliriz: oksijenli ve oksijensiz mono- ve seskiterpenler. Yağların içerisindeki ana grupların dağılımı **Şekil 36**'da gösterilmiştir.



Şekil 36. *Tanacetum haussknechtii* Uçucu Yağlarındaki Ana Madde Gruplarının Dağılımı. A: Sap-yaprak; B: Çiçek; C: Kök

Kimyasal kompozisyonlarının sap-yaprak (% 56.9), çiçek (% 61.1) ve kök (% 64.8) uçucu yağının monoterpen bileşiklerce zengin olduğu tespit edildi. Seskiterpen grubu bileşikler sap-yaprak, çiçek ve kök uçucu yağlarında sırasıyla % 31.2, % 19.9 ve % 27.5 olarak saptandı.

Sap-yaprak uçucu yağında ana bileşik olarak α-pinen (% 14.5), borneol (% 7.4) ve β-pinen (%7 .2), çiçek uçucu yağında ise borneol (% 20.5), α-pinen (% 12.3), santolinatrien (% 7.4) ve β-pinen (% 6.4) saptandı. Kök uçucu yağının ana bileşenleri ise oksijenli monoterpen (ester halinde) geranil isovalerat (% 41.6) ve neril isovalerat (% 8.6) olarak tespit edildi. Bununla birlikte oksijenli seskiterpen alismol (% 9.3) kök uçucu yağının ana bileşiklerinin arasındadır. *T. haussknechtii* uçucu yağlarında tespit edilen ana bileşiklerin formülleri **Şekil 37**'de verilmiştir.



Şekil 37. *Tanacetum haussknechtii* Uçucu Yağlarında Bulunan Ana Bileşikler

T. haussknechtii bitkisinin uçucu yağlarının ana bileşiği olarak tespit edilen borneol birçok *Tanacetum* türleri içinde rapor edilmiştir: *T. densum* ssp. *eginense, T. argyrophyllum* var. *argyrophyllum, T. densum* ssp. *amani, T. densum* ssp. *sivasicum, T. alyssifolium* ve *T. chiliophyllym* var. *chiliophyllum* (Polatoğlu ve ark., 2012b; Polatoglu ve ark., 2010b; Polatoglu ve ark., 2010c; Polatoğlu ve ark., 2009; Kandemir ve ark., 2008; Polatoğlu ve ark., 2012a).

α-Pinen bileşiği birçok *Tanacetum* türleri uçucu yağlarında da bulunmuştur: *T. argenteum* ssp. *argenteum, T. argenteum* ssp. *canum* var *canum, T. densum* ssp. *amani, T. nitens, T. densum* ssp. *laxum* (Ali ve ark., 2014; Polatoglu ve ark., 2010c; Bagci ve Kocak, 2010; Bagci, 2009).

T. hausknechtii kök yağında ana bileşik olarak tespit edilen geranil isovalerat daha önce *T. chiliophyllum* var. *monocephaplum* kök yağında da (% 5.3) bulunmuştur (Polatoğlu ve ark., 2012c).

T. haussknechtii sap-yaprak uçucu yağının ana bileşiklerinden biri olan germakren D daha önce *T. zahlbruckneri* uçucu yağı içinde bildirilmiştir (Polatoğlu ve ark., 2011).

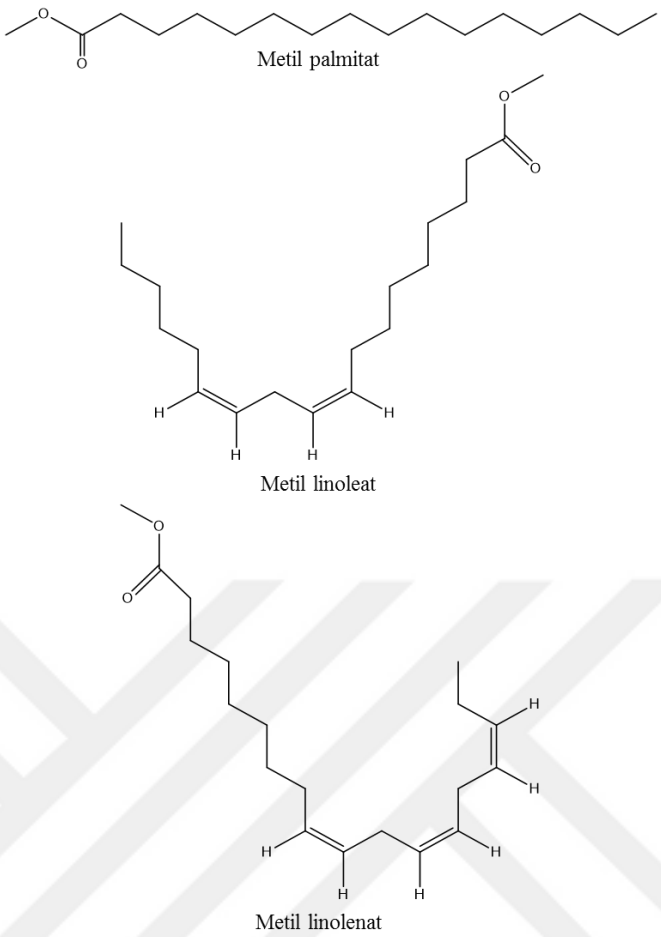
T. haussknechtii uçucu yağlarının şiral kolonda analizi sonucunda enantiomerik bileşiklerin oranları tespit edildi. Yağların içerisinde β-pinen ve sabinen bileşiklerinin (-) enantiomerlerinin daha yüksek oranda bulunduğu saptandı. Borneol ise neredeyse saf (-) formunda bulundu. Terpinen-4-ol sap-yaprak ve çiçek yağlarının her ikisinde de (+) formunda baskın olarak bulundu. Limonen ve *trans*-pinokarveol bileşiklerinin enantiomerleri sap-yaprak ve çiçek yağlarında α-pinen'in enantiomerleri ise sadece çiçek uçucu yağında hemen hemen rasemat formunda tespit edildi (**Çizelge 18**).

Çizelge 18. ***Tanacetum haussknechtii*** **Uçucu Yağlarının İçerdiği Enantiomerik Maddelerin Oranları**

Enantiomer	Yaprak-Sap	Çiçek
	Oran, %	Oran, %
(*1R*)-(+)-α-Pinen	35	56
(*1S*)-(-)-α-Pinen	65	44
(*1R*)-(+)-β-Pinen	21	14
(*1S*)-(-)-β-Pinen	79	86
(*1S,5S*)-(-)-Sabinen	64	64
(*1R,5R*)-(+)-Sabinen	36	36
(*4R*)-(+)-Limonen	53	47
(*4S*)-(-)-Limonen	47	53
(*4R*)-(+)-Terpinen-4-ol	70	63
(*4S*)-(-)-Terpinen-4-ol	30	37
(*1R,2S,4R*)-(+)-Borneol	0.3	-
(*1S,2R,4S*)-(-)-Borneol	99.7	100
(*1S,3R,5S*)-(+)-*trans*-Pinokarveol	50	42
(*1R,3S,5R*)-(-)-*trans*-Pinokarveol	50	58

Daha önce *Tanacetum* uçucu yağlarındaki enantiomerler üzerine çok az sayıda çalışma rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda kafur, linalol ve α-pinen'in enantiomer oranları bildirilmiştir. *T. argenteum* ssp. *flabellifolium* uçucu yağınında (-)-α-pinen % 86 olarak tespit edilmiştir (Tabanca ve ark., 2007; Başer ve ark., 2001).

Sabit yağ asit analizleri sonucunda toplam kompozisyonun % 99.2'sini oluşturan 18 sabit yağ asiti saptanmış olup ana bileşikler olarak metil palmitat (% 25.5), metil linolenat (% 25.4) ve metil linoleat (% 17.6) tespit edildi. Ana bileşiklerin formülleri **Şekil 38**'de gösterilmiştir.

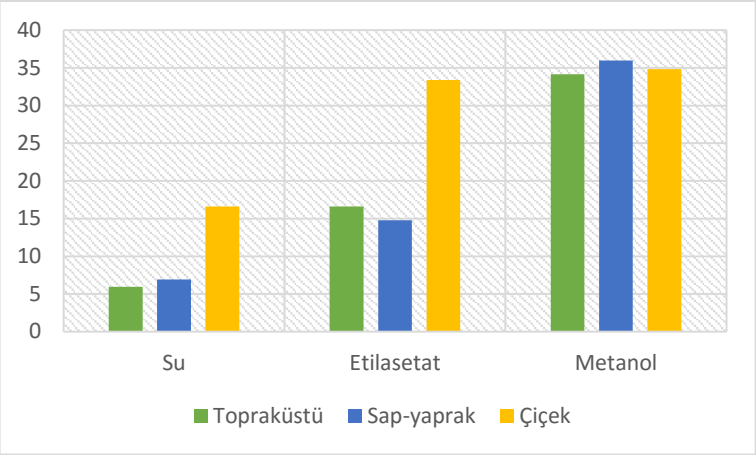


Şekil 38. ***Tanacetum haussknechtii*** **Sabit Yağ Asitleri Kompozisyonunun Ana Bileşikleri**

Toplam fenolik ayıracı olarak bilinen Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) bazlı yöntem, örneğin indirgeme kapasitesini tayin etmektedir. Ekstrelerde bulunan fenolik bileşikler FCR içerisindeki molibdenyum elementi ile alkali ortamda elektron transfer reaksiyonuna girerek oksitlenir, metal ise redüklenir:

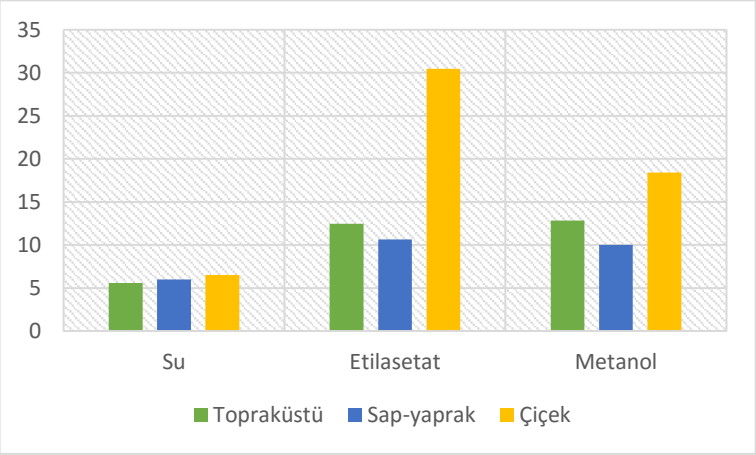
$$Mo(VI) + e \rightarrow Mo(V)$$

T. haussknechtii değişik kısımlarından farklı polaritedeki çözücüler ile elde edilen ekstrelerde en yüksek toplam fenolik bileşik miktarı (% 34-36) metanollü ekstrede tespit edildi. Sulu ekstreler fenolik bileşikler açısından zayıf bulundu (% 5-6) (**Şekil 39**).



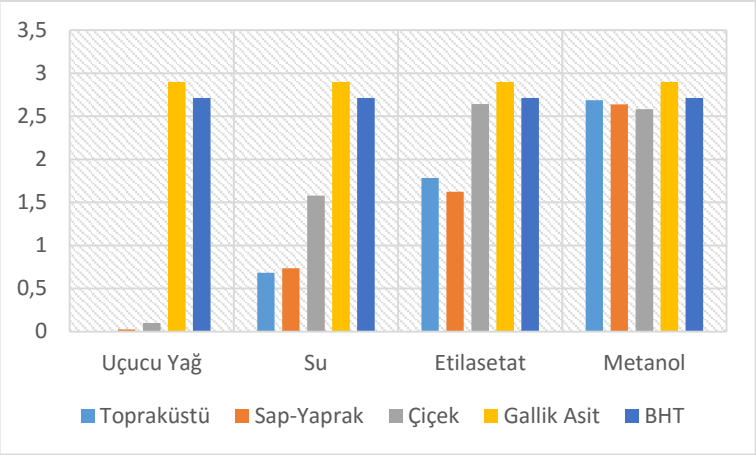
Şekil 39. ***Tanacetum haussknechtii*** **Değişik Organlardaki Toplam Fenol Bileşiklerinin Dağılımı**

Ekstrelerde bulunan flavonoit yapıdaki bileşiklerin miktarı $AlCl_3$ ile oluşturduğu renkli kompleks bileşenlerin UV alanındaki (415 nm) absorbansları ölçülerek kersetine eşdeğer olarak hesaplandı. *T. haussknechtii* değişik kısımlarındaki toplam flavonoit bileşiklerinin dağılımı **Şekil 40**'da gösterilmiştir. Tüm organlardan etilasetat ile elde edilen ekstrelerin flavonoit miktarı açısından en zengin olduğu saptandı. Bununla birlikte çiçeklerin diğer organlara göre daha yüksek miktarda flavonoit içerdiği görüldü.



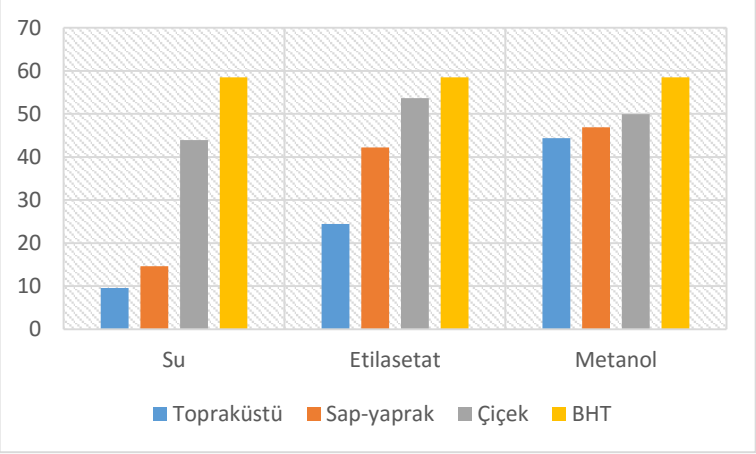
Şekil 40. ***Tanacetum haussknechtii*** **Değişik Organlardaki Toplam Flavonoit Bileşiklerinin Dağılımı**

T. haussknechtii uçucu yağ ve ekstrelerin $ABTS^{\bullet}$ serbest radikalini süpürme etkisi Trolox'un etkisine eşdeğer olarak hesaplandı. Uçucu yağların bu test içerisinde kayda değer etkiye sahip olmadığı görüldü (% 1'lik konsantrasyonda). Ancak ekstreler arasında metanollü ekstrelerin ve çiçek kısmından etilasetat ile elde edilen ekstrenin belirgin bir etki ortaya koyduğu gözlemlendi (**Şekil 41**).



Şekil 41. ***Tanacetum haussknechtii*** **Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin ABTS• Radikalini Süpürme Etkisi**

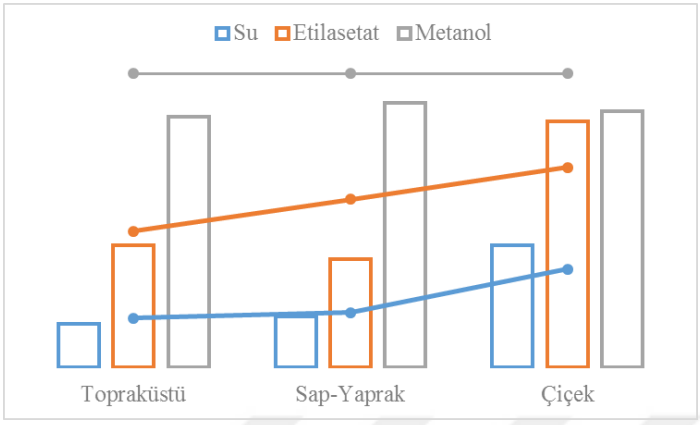
T. haussknectii uçucu yağ ve ekstrelerinin lipit peroksidasyonunu inhibe etme etkisi β-karoten'in solmasını engelleme gücüne göre değerlendirildi. Antioksidan aktivite karşılaştırmalarında standart olarak BHT kullanıldı. Uçucu yağların % 1'lik konsantrasyonda linoleik asidin peroksidasyonunu inhibe etme etkisinin olmadığı gözlemlendi. Ancak çiçek kısmından elde edilen tüm ekstrelerin en güçlü şekilde lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği saptandı. Bununla birlikte metanol ile elde edilen diğer ekstrelerinde iyi bir antioksidan ajan olduğu bu testte görülmektedir (**Şekil 42**).



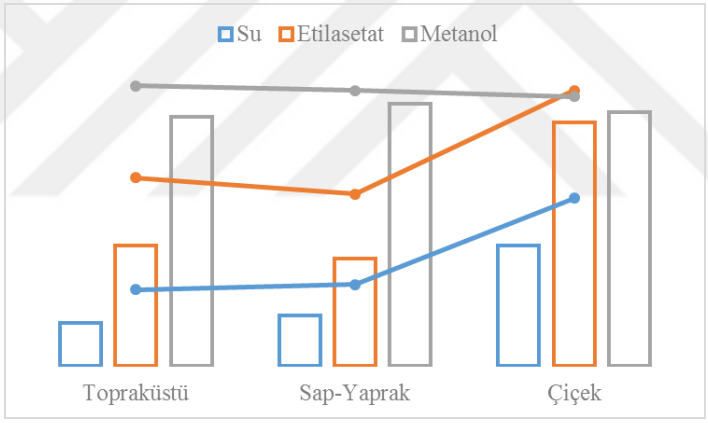
Şekil 42. ***Tanacetum haussknechtii*** **Ekstrelerinin β-karoten-linoleik Asit Oksidaysonunda Yüzde Antioksidan Aktiviteleri**

Ekstrelerde bulunan toplam fenol miktarlarının numunelerin gösterdiği antioksidan etkiler ile karşılaştırılması, aradaki korelasyonu ortaya koymaktadır. Toplam fenol miktarı arttıkça ekstrelerin ABTS• serbest radikalini süpürme etkisi ve lipit peroksidasyonunu inhibe etme etkisi de artmakta olduğu görülmektedir

(**Şekil 43-44**). Ortaya çıkan bu korelasyon antioksidan etkilerden fenolik yapıdaki bileşiklerin sorumlu olduğunu işaret etmektedir.

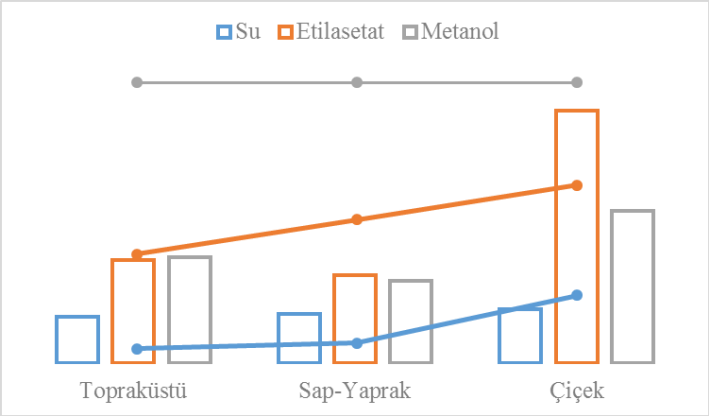


Şekil 43. Ekstrelerdeki Toplam Fenol Miktarları ve Antioksidan Aktivite Arasındaki Korelasyon (β-Karoten-linoleik Asit Testi)

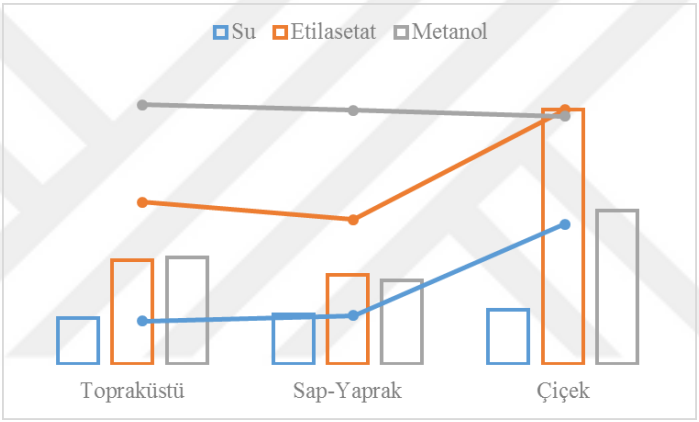


Şekil 44. Ekstrelerdeki Toplam Fenol Miktarları ve Antioksidan Aktivite Arasındaki Korelasyon (TEAK Testi)

Ekstrelerde bulunan toplam flavonoit miktarlarının antioksidan etkiler ile karşılaştırıldığında aralarında bir korelasyonun olmadığı belirlendi (**Şekil 45-46**). *T. haussknechtii* ekstrelerinin gösterdiği antioksidan etkilerden sadece flavonoit yapıdaki bileşiklerin değil, fenolik yapıdaki diğer bileşiklerin de katkısı olduğu düşünülmektedir.

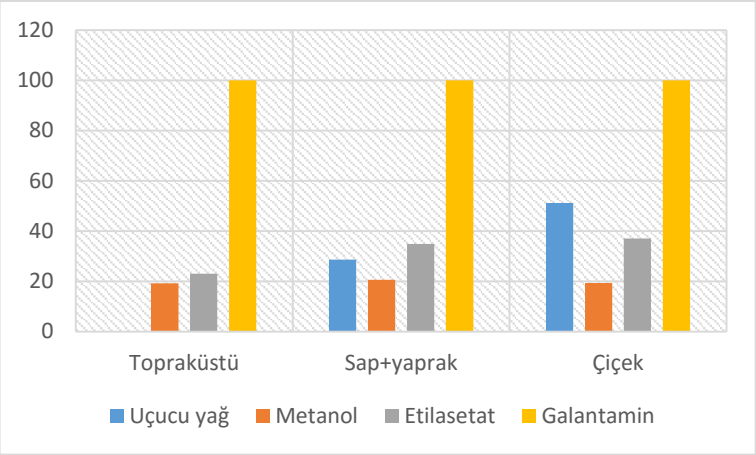


Şekil 45. Ekstrelerdeki Toplam Flavonoit Miktarları ile Antioksidan Aktivite Arasındaki İlişki (β-Karoten-linoleik Asit Testi)



Şekil 46. Ekstrelerdeki Toplam Flavonoit Miktarları ve Antioksidan Aktivite Arasındaki İlişki (TEAK Testi)

T. haussknechtii uçucu yağ ve ekstrelerinin asetilkolinesteraz enzimini inhibe etme etkileri İTK-otografi ve Ellman metodu olmak üzere iki aşamada değerlendirildi. Enzimi inhibe etme karşılaştırmalarında galantamin hidrobromür (*Lycoris* spp. kaynaklı) standart olarak kullanıldı. Deneyin ilk aşaması olan İTK-otografi sisteminde sulu ekstrelerin uygulanan miktarlarda AChE enzimini inhibe etmediği gözlemlendi. Bu yüzden deneyin ikinci aşamasına sadece etki gösteren numuneler ile devam edildi ve yüzde inhibisyon değerleri saptandı. Teste tabii tutulan numuneler arasında çiçek kısmından elde edilen uçucu yağ ve etilasetatlı ekstrenin diğerlerine göre AChE enzimini daha etkin şekilde inhibe ettiği görüldü (**Şekil 47**).



Şekil 47. ***Tanacetum haussknechtii*** **Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin Ellman Metodunda AChE İnhibisyonları**

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada Türkiyenin endemik bitkisi olan *Tanacetum haussknechtii* değişik kısımlarından uçucu yağ, sabit yağ asitleri ve ekstreler elde edilerek verimleri tespit edildi.

Uçucu yağ ve yağ asitlerinin kompozisyonları gaz kromatografik teknikler ile aydınlatıldı. Sap-yaprak ve çiçek uçucu yağ kimyasal kompozisyonunda borneol ve α-pinen, kök uçucu yağında ise geranil izovalerat ana bileşikler olarak bulundu.

Yağlardaki bazı enantiomer bileşiklerin enantiomer oranları tespit edildi.

Yağ asitlerinin analizi sonucunda palmitik, linolenik ve linoleik asit ana bileşikler olarak saptandı.

Farklı polaritedeki çözücüler ile *T. haussknechtii* bitkisinin farklı kısımlarından elde edilen ekstreler üzerinde gallik asite eşdeğer toplam fenolik bileşik ve kersetine eşdeğer toplam flavonoit bileşiklerin miktar tayinleri gerçekleştirildi.

Bitkinin uçucu yağ ve ekstrelerinin toplam antioksidan aktivitesi, lipid peroksidasyonunu inhibisyon etkisine ve Trolox'a eşdeğer ABTS serbest radikalini süpürme gücüne göre değerlendirildi. Karşılaştırmalı analiz sonucunda tüm metanollü ekstreler ve çiçek kısmından elde edilen etilasetatlı ekstrenin her iki test sisteminde de orta derecede antioksidan etkiye sahip olduğu, ancak uçucu yağların aktivite sergilemediği görüldü.

Ekstrelerin antioksidan aktivitesi ve toplam fenol miktarları arasındaki ilişkiden dolayı bu etkilerden fenolik yapıdaki bileşiklerin sorumlu olabileceği düşünülmektedir.

Bitkinin uçucu yağ ve ekstrelerinin nöroprotektif özellikleri AChE enzimini inhibe etme etkisine göre değerlendirildi. Çiçek uçucu yağının nispeten anti-AChE aktivite gösterdiği saptandı. Etilasetatlı ekstrenin diğerlerine göre AChE enzimini daha etkin şekilde inhibe ettiği görüldü.

Tanacetum haussknechtii uçucu yağlarının antioksidan aktiviteye sahip olmamasına karşın, çiçek yağının AChE enzimine karşı etkili olması bitkinin nöroprotektif ajan olarak kullanılması konusunda daha detaylı araştırmalara tabii tutulması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Araştırma kapsamında endemik *Tanacetum haussknechtii* bitkisinin uçucu bileşenleri ile sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonları, enantiomerik bileşiklerin oranları, taşıdığı toplam fenol ve flavonoit miktarları, serbest radikal süpürme, lipit peroksidasyonunu inhibe etme ve anti-AChE etkileri ilk kez rapor edildi.

KAYNAKLAR

Abad, M.J., Bermejo, P., Valverde, S., Villar, A., Anti-inflammatory activity of hydroxyachillin, a sesquiterpene lactone from *Tanacetum microphyllum*, Planta Med., 60(3), 228-231 (1994).

Abad, M.J., Bermejo, P., Villar, A., An approach to the genus *Tanacetum* L.(Compositae): phytochemical and pharmacological review, Phytother. Res., 9(2), 79-92 (1995).

Abad, M.J., Bermejo, P., Villar, A., Valverde, S., Anti-inflammatory activity of two flavonoids from *Tanacetum microphyllum*, J. Nat. Prod., 56(7), 1164-1167 (1993).

ABDYASIMOV, B., Yunusov, A.I., Sidyakin, G.P., Santamarin, Ridentin-B and isoridentin from *Tanacetum santolina*, Khim. Prir. Soedin., 6, 844 (1980).

Adewusi, E.A., Steenkamp, V., In vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from southern Africa, Asian Pac. J. Trop. Med., 4(10), 829 (2011).

Adikhodzhaeva, K.B., Bankovskiĭ, A.I., Glyzin, V.I., Smirnova, L.P., Chemical composition of the preparation tanacin from the flowers of *Tanacetum vulgare* L., Farmatsiia, 27(3), 24-28 (1977).

Adsersen, A., Gauguin, B., Gudiksen, L., Jäger, A.K., Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity, J. Ethnopharmacol., 104(3), 418-422 (2006).

Akpulat, H.A., Tepe, B., Sokmen, A., Daferera, D., Polissiou, M., Composition of the essential oils of *Tanacetum argyrophyllum* (C. Koch) Tvzel. var. *argyrophyllum* and *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip.(Asteraceae) from Turkey, Biochem. Syst. Ecol., 33(5), 511-516 (2005).

Ali-Shtayeh, M.S., Jamous, R.M., Zaitoun, S.Y.A., Qasem, I.B., In-vitro screening of acetylcholinesterase inhibitory activity of extracts from Palestinian indigenous flora in relation to the treatment of Alzheimer's disease, J. Func. Foods Health Dis., 4(9), 381-400 (2014).

Ali, A., Tabanca, N., Kurkcuoglu, M., Duran, A., Blythe, E.K., Khan, I.A., Baser, K.H.C., Chemical composition, larvicidal, and biting deterrent activity of essential oils of two subspecies of *Tanacetum argenteum* (Asterales: Asteraceae) and individual constituents against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), J. Med. Entomol., 51(4), 824-830 (2014).

Altundag, E., Ozturk, M., Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey, Procedia Soc. Behav. Sci., 19, 756-777 (2011).

Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S.E., Bektaşoğlu, B., Özyurt, D., Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays

applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay, Molecules, 12(7), 1496-1547 (2007).

Appendino, G., Valle, M.G., Nano, G.M., On a new chemotype of *Tanacetum vulgare*, 53(1), 15-1., Fitoterapia, 53(4), 115 (1982).

Bagci, E., Composition of the essential oils of *Tanacetum densum* (Lab.) Schultz Bip. subsp. *amani* and *T. densum* (Lab.) Schultz Bip. subsp. *laxum* (Asteraceae) from Turkey, Asian J. Chem., 21, 6547-6554 (2009).

Bagci, E., Kocak, A., Essential oil composition of two endemic *Tanacetum* (*T. nitens* (Boiss. &Noe) Grierson and *T. argenteum* (Lam.) Willd. subsp. *argenteum*)(Asteraceae) taxa, growing wild in Turkey, Ind. Crops Prod., 31(3), 542-545 (2010).

Bagci, E., Kursat, M., Kocak, A., Gur, S., Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* and *T. chiliophyllum* (Fisch. et Mey.) Schultz Bip. var. *chiliophyllum* (Asteraceae) from Turkey, J. Ess. Oil Bear. Plants, 11(5), 476-484 (2008).

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., Biological effects of essential oils–a review, Food. Chem. Toxicol., 46(2), 446-475 (2008).

Baranauskienė, R., Kazernavičiūtė, R., Pukalskienė, M., Maždžierienė, R., Venskutonis, P.R., Agrorefinery of *Tanacetum vulgare* L. into valuable products and evaluation of their antioxidant properties and phytochemical composition, Ind. Crops Prod., 60, 113-122 (2014).

Başer, K., Demirci, B., Tabanca, N., Özek, T., Gören, N., Composition of the essential oils of *Tanacetum armenum* (DC.) Schultz Bip., *T. balsamita* L., *T. chiliophyllum* (Fisch. & Mey.) Schultz Bip. var. *chiliophyllum* and *T. haradjani* (Rech. fil.) Grierson and the enantiomeric distribution of camphor and carvone, Flavour Frag. J., 16(3), 195-200 (2001).

Baytop, T., Türkiyede bitkiler ile tedavi (geçmişte ve bugün), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul Üniversitesi, 317-318 1984.

Begley, M.J., Hewlett, M.J., Knight, D.W., Revised structures for guaianolide α-methylenebutyro-lactones from feverfew, Phytochemistry, 28(3), 940-943 (1989).

Benoit, P.S., Fong, H.H., Svoboda, G.H., Farmsworth, N.R., Biological and phytochemical evaluation of plants. XIV. Antiinflammatory evaluation of 163 species of plants, Lloydia, 39(2-3), 160-171 (1975).

Bohlmann, F., Zdero, C., Sesquiterpene lactones and other constituents from *Tanacetum parthenium*, Phytochemistry, 21(10), 2543-2549 (1982).

Brown, A.M.G., Edwards, C.M., Davey, M.R., Power, J.B., Lowe, K.C., Effects of extracts of *Tanacetum* species on human polymorphonuclear leucocyte activity in vitro, Phytother. Res., 11(7), 479-484 (1997).

Cao, G., Sofic, E., Prior, R.L., Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships, Free Radic. Biol. Med., 22(5), 749-760 (1997).

Davis, P.H., Flora of Turkey and the east Aegean islands, Edinburgh University Press, Edinburg 1965.

De Vivar, A.R., Jimenez, H., Structure of santamarine, a new sesquiterpene lactone, Tetrahedron, 21(7), 1741-1745 (1965).

Demirci, B., Başer, K.H.C., The Essential Oil Composition of *Tanacetum macrophyllum* (Waldst. et Kit.) Schultz. Bip., J. Essent. Oil Res., 19(3), 255-257 (2007).

El Rayess, Y., Barbar, R., Wilson, E.A., Bouajila, J., Analytical methods for wine polyphenols analysis and or their antioxidant activity evaluation, Wine: Phenolic Composition, Classification and Health Benefits, El Rayess, Y., Nova Publishers, 71-102 (2014).

Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, G.H., A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues, J. Biol. Chem., 226(1), 497-509 (1957).

Godswill, N.N., Frank, N.E.G., Edson, M.Y.J., Emmanuel, Y., Martin, B.J., Hermine, N.B., Armand, N.M., GC-FID Method Development and Validation Parameters for Analysis of Palm Oil (*Elaeis guineensis* Jacq.) Fatty Acids Composition, Res. Plant Sci., 2(3), 53-66 (2014).

González, A.G., Barrera, J.B., Méndez, J.T., Sanchez, M.L., Martínez, J.L.E., Sesquiterpene lactones and other constituents of *Tanacetum* species, Phytochemistry, 31(5), 1821-1822 (1992).

Gonzalez, A.G., Mendez, J.T., Sanchez, M.L., Martinez, J.L.E., Sesquiterpene lactones from *Tanacetum ferulaceum*, Phytochemistry, 29(7), 2339-2341 (1990).

Goren, N., Ulubelen, A., Bozok Johansson, C., Tahtasakal, E., Sesquiterpene lactones from *Tanacetum densum* subsp. *amani*, Phytochemistry, 33, 1157–1159 (1993).

Gören, N., Sesquiterpene lactones from *Tanacetum praeteritum*, Phytochemistry, 38(5), 1261-1264 (1995).

Gören, N., Arda, N., Çaliskan, Z., Chemical characterization and biological activities of the genus *Tanacetum* (Compositae), Stud. Nat. Prod. Chem., 27, 547-658 (2002).

Gören, N., Bozok-Johansson, C., Jakupovic, J., Lee-Juian, L., Hui-Ling, S., Cordell, G.A., Çelik, N., Sesquiterpene lactones with antibacterial activity from*Tanacetum densum* subsp. *sivasicum*, Phytochemistry, 31(1), 101-104 (1992).

Gören, N., Demirci, B., Başer, K., Composition of the essential oils of *Tanacetum spp.* from Turkey, Flavour Frag. J., 16(3), 191-194 (2001).

Gören, N., Jakupovic, J., Glaucolide-like sesquiterpene lactones from *Tanacetum albipannosum*, Phytochemistry, 29(9), 3031-3032 (1990).

Gören, N., Jakupovic, J., Topal, Ş., Sesquiterpene lactones with antibacterial activity from *Tanacetum argyrophyllum* var. *argyrophyllum*, Phytochemistry, 29(5), 1467-1469 (1990).

Gören, N., Tahtasakal, E., Sesquiterpenes of *Tanacetum chiliophyllum* var. *heimerlei*, Phytochemistry, 34(4), 1071-1073 (1993).

Gören, N., Tahtasakal, E., Constituents of *Tanacetum densum* subsp. *eginense*, Phytochemistry, 36(5), 1281-1282 (1994).

Gören, N., Tahtasakal, E., Sesquiterpenoids from *Tanacetum argenteum* subsp. *canum* var. *canum*, Phytochemistry, 45(1), 107-109 (1997).

Gören, N., Tahtasakal, E., Arda, N., A further investigation on *Tanacetum chiliophyllum* var. *heimerlei*, Turk. J. Bot., 18, 296 (1994a).

Gören, N., Tahtasakal, E., Krawiec, M., Watson, W.H., A guaianolide from *Tanacetum argenteum* subsp. *flabellifolium*, Phytochemistry, 42(3), 757-760 (1996a).

Gören, N., Tahtasakal, E., Pezzuto, J.M., Cordell, G.A., Shwarzt, B., Prokscht, P., Sesquiterpene lactones from *Tanacetum argenteum*, Phytochemistry, 36(2), 389-392 (1994b).

Gören, N., Woerdenbag, H.J., Bozok-Johansson, C., Cytotoxic and antibacterial activities of sesquiterpene lactones isolated from *Tanacetum praeteritum* subsp. *praeteritum*, Planta Med., 62(5), 419-422 (1996b).

Grierson, Tanacetum L., In: Flora of Turkey and east aegen islands, Davis, P.H., Edinburgh University Press. Edinburgh, 500-550 (1965).

Guin, J.D., Compositae dermatitis in childhood, Arch. Dermatol., 123(4), 500-502 (1987).

Hendriks, H., Bos, R., Woerdenbag, H.J., The Essential Oil of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip., Flavour Frag. J., 11(6), 367-371 (1996).

Hethelyi, E., Tetenyi, P., Kettenes-Van Den Bosch, J.J., Salemink, C.A., Heerma, W., Versluis, C., Sipma, G., Essential oils of five *Tanacetum vulgare* genotypes, Phytochemistry, 20(8), 1847-1850 (1981).

http-1, http://www.tubives.com/, (2.02.2016).

http-2, http://apps.webofknowledge.com/, (2.02.2016).

Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., The chemistry behind antioxidant capacity assays, J. Agric. Food Chem., 53(6), 1841-1856 (2005).

Javidnia, K., Gholami, M., Firuzi, O., Özer, H., Kandemir, A., Antimicrobial and Antioxidant Activity and Chemical Composition of the Essential Oil of *Tanacetum macrophyllum* (Waldst. et Kit.) Schultz. Bip., J. Essent. Oil Res., 22(2), 186-188 (2010).

Johnson, E.S., Kadam, N.P., Hylands, D.M., Hylands, P.J., Efficacy of feverfew as prophylactic treatment of migraine, Brit. Med. J., 291(6495), 569-573 (1985).

Kalođera, Z., Pepeljnjak, S., Petrak, T., The antimicrobial activity of *Tanacetum parthenium* extract, Pharmazie, 51(12), 995-996 (1996).

Kalođera, Z., Pepeljnjak, S., Petrak, T., Blažević, N., Chemical composition and antimicrobial activity of *Tanacetum parthenium* essential oil, Pharmazie, 52(11), 885-886 (1997).

Kandemir, A., Ozer, H., Kilic, H., Cakir, A., Demir, Y., Essential oil composition of *Tanacetum alyssifolium*, an endemic species from Turkey, Chem. Nat. Compd., 44(4), 530-531 (2008).

Kaval, I., Behçet, L., Cakilcioglu, U., Ethnobotanical study on medicinal plants in Geçitli and its surrounding (Hakkari-Turkey), J. Ethnopharmacol., 155(1), 171-184 (2014).

Korkmaz, M., Kandemir, A., Ilhan, V., Dogan, N.Y., *Tanacetum erzincanense* (Asteraceae), a new species from Erzincan, Turkey, Turk. J. Bot., 39(1), 96-104 (2015).

Koşar, M., Göger, F., Can Başer, K.H., In vitro antioxidant properties and phenolic composition of *Salvia virgata* Jacq. from Turkey, J. Agric. Food Chem., 56(7), 2369-2374 (2008).

Kubo, A., Kubo, I., Antimicrobial agents from Tanacetum *balsamita*, J. Nat. Prod., 58(10), 1565-1569 (1995).

Kumar, V., Tyagi, D., Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils of Genus *Tanacetum*-a review 2(3), 155-159., J. Pharmacogn. Phytochem., 2(3), 155-159 (2013).

Lee, K.H., Huang, E.S., Piantadosi, C., Pagano, J.S., Geismann, T.A., Cytotoxicity of sesquiterpene lactones, Cancer Res., 31, 1649-1654 (1971).

Maiden, J.H., On some plants which cause inflammation or irritation of the skin., South Africa., Agric. Gaz. New South Wales, 20, 1073 (1909).

Makheja, A.N., Bailey, J.M., A platelet phospholipase inhibitor from the medicinal herb feverfew (*Tanacetum parthenium*), Prosta. Leukotr. Med., 8(6), 653-660 (1982).

Marco, G.J., A rapid method for evaluation of antioxidants, J. Am. Oil Chem. Soc., 45(9), 594-598 (1968).

Mark, K.A., Brancaccio, R.R., Soter, N.A., Cohen, D.E., Allergic contact and photoallergic contact dermatitis to plant and pesticide allergens, Arch. Dermatol., 135(1), 67-70 (1999).

Marles, R.J., Kaminski, J., Arnason, J.T., Pazos-Sanou, L., Heptinstall, S., Fischer, N.H., Crompton, C.W., Kindack, D.G., Awang, D.V., A bioassay for inhibition of serotonin release from bovine platelets, J. Nat. Prod., 55(8), 1044-1056 (1992).

Marston, A., Kissling, J., Hostettmann, K., A rapid TLC bioautographic method for the detection of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors in plants, Phytochem. Anal., 13(1), 51-54 (2002).

Maxia, A., Sanna, C., Piras, A., Porcedda, S., Falconieri, D., Gonçalves, M.J., Salgueiro, L., Chemical composition and biological activity of *Tanacetum audibertii* (Req.) DC.(Asteraceae), an endemic species of Sardinia Island, Italy, Ind. Crops Prod., 65, 472-476 (2015).

Milbrodt, M., Schröder, F., König, W.A., 3, 4-β-Epoxy-8-deoxycumambrin B, A sesquiterpene lactone from *Tanacetum parthenium*, Phytochemistry, 44(3), 471-474 (1997).

Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., Van Beek, T.A., Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts, Food Chem., 85(2), 231-237 (2004).

Mnatsakanyan, V.A., Revazova, L.V., Phytochemical analysis of the plant *Tanacetum myricophyllum*-Sesquiterpene Lactone Tamirin, Arm. Khim. Zh., 26(914-919) (1973).

Mordujovich-Buschiazzo, P., Balsa, E.M., Buschiazzo, H.O., Mandrile, E., Rosella, M., Schinella, G., Fioravanti, D., Anti-inflammatory activity of *Tanacetum vulgare*, Fitoterapia, 67(4), 319-322 (1996).

Nakatsu, T., Lupo, A.T., Chinn, J.W., Kang, R.K., Biological activity of essential oils and their constituents., 21, 571-631., Stud. Nat. Prod. Chem., 21, 571-631 (2000).

Nano, G.M., Appendino, G., Bicchi, C., Frattini, C., Wild Piedmontese Plant. Part III. On a chemotype of *Tanacetum vulgare* L. containing sesquiterpene lactones with germacrene skeleton., Fitoterapia, 51, 135-137 (1980).

Obón, J.M., Castellar, M.R., Cascales, J.A., Fernández-López, J.A., Assessment of the TEAC method for determining the antioxidant capacity of synthetic red food colorants, Food Res. Int., 38(8), 843-845 (2005).

Orhan, İ., Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan bitkisel ekstreler ve bitkisel kökenli bileşikler, Fitomed (Türkiye), 5, 49-52 (2008).

Öksüz, S., Sesquiterpenoids and other constituents from *Tanacetum cilicium*, Phytochemistry, 29(3), 887-890 (1990).

Özek, T., Tabanca, N., Demirci, F., Wedge, D.E., Baser, K.H.C., Enantiomeric distribution of some linalool containing essential oils and their biological activities, Rec. Nat. Prod., 4(4), 180-192 (2010).

Özer, H., Kılıç, H., Güllüce, M., Şahin, F., Essential oil composition of *Tanacetum sorbifolium* (Boiss.) Grierson from Turkey, Flavour Frag. J., 21(3), 543-545 (2006).

Papandreou, M.A., Kanakis, C.D., Polissiou, M.G., Efthimiopoulos, S., Cordopatis, P., Margarity, M., Lamari, F.N., Inhibitory activity on amyloid-β aggregation and antioxidant properties of *Crocus sativus* stigmas extract and its crocin constituents, J. Agric. Food Chem., 54(23), 8762-8768 (2006).

Polatoglu, K., Demirci, B., Goren, N., Baser, K.H.C., Essential oil composition of *Tanacetum kotschyi* from Turkey, Chem. Nat Compd., 47(2), 297-299 (2011).

Polatoglu, K., Demirci, F., Demirci, B., Baser, K.H.C., Gören, N., Antibacterial activity and the variation of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. essential oils from Turkey, J. Oleo Sci., 59(4), 177-184 (2010a).

Polatoglu, K., Demirci, F., Demirci, B., Gören, N., Can Baser, K.H., Antimicrobial activity and essential oil composition of a new *T. argyrophyllum* (C. Koch) Tvzel var. *argyrophyllum* chemotype, J. Oleo Sci., 59(6), 307-313 (2010b).

Polatoglu, K., Demirci, F., Demirci, B., Gören, N., Hüsnü Can Baser, K., Essential oil composition and antibacterial activity of *Tanacetum argenteum* (Lam.) willd. ssp. *argenteum* and *T. densum* (Lab.) Schultz Bip. ssp. *Amani* Heywood from Turkey, J. Oleo Sci., 59(7), 361-367 (2010c).

Polatoglu, K., Sen, A., Kandemir, A., Gören, N., Essential oil composition and DPPH scavenging activity of endemic *Tanacetum mucroniferum* Hub.–Mor. & Grierson from Turkey, J. Ess. Oil Bear. Plants, 15(1), 66-74 (2012).

Polatoğlu, K., Demirci, B., Demirci, F., Gören, N., Başer, K.H.C., Biological activity and essential oil composition of two new *Tanacetum chiliophyllum* (Fisch. & Mey.) Schultz Bip. var. *chiliophyllum* chemotypes from Turkey, Ind. Crops Prod., 39(97-105) (2012a).

Polatoğlu, K., Demirci, B., Demirci, F., Gören, N., Başer, K.H.C., The Essential Oil Composition of *Tanacetum densum* (Labill.) Heywood ssp. *eginense* Heywood from Turkey, Rec. Nat. Prod., 6(4), 402-406 (2012b).

Polatoğlu, K., Demirci, B., Gören, N., Başer, K.H.C., Essential oil composition of endemic *Tanacetum zahlbruckneri* (Náb.) and *Tanacetum tabrisianum* (Boiss.) Sosn. and Takht. from Turkey, Nat. Prod. Res., 25(6), 576-584 (2011).

Polatoğlu, K., Demirci, F., Demirci, B., Gören, N., Baser, K.H.C., Essential oil composition and antimicrobial activities of *Tanacetum chiliophyllum* (Fisch. & Mey.) Schultz Bip. var. *monocephalum* Grierson from Turkey, Nat. Prod. Res., 6(2), 184-188 (2012c).

Polatoğlu, K., Gören, N., Başer, K.H.C., Demirci, B., The essential oil composition of *Tanacetum densum* (Labill.) Heywood ssp. *sivasicum* Hub.-Mor. & Grierson from Turkey, J. Essent. Oil Res., 21(3), 200-202 (2009).

Rodriguez, E., Towers, G.H.N., Mitchell, J.C., Biological activities of sesquiterpene lactones, Phytochemistry, 15(11), 1573-1580 (1976).

Romanova, D., Vachalkova, A., Cipak, L., Ovesna, Z., Rauko, P., Study of antioxidant effect of apigenin, luteolin and quercetin by DNA protective method, Neoplasma, 48(2), 104-107 (2000).

Romo, J., De Vivar, A.R., Trevino, R., Joseph-Nathan, P., Diaz, E., Constituents of *Artemisia* and *Chrysanthemum* species-the structures of chrysartemins A and B, Phytochemistry, 9(7), 1615-1621 (1970).

Salamci, E., Kordali, S., Kotan, R., Cakir, A., Kaya, Y., Chemical compositions, antimicrobial and herbicidal effects of essential oils isolated from Turkish *Tanacetum aucheranum* and *Tanacetum chiliophyllum* var. *chiliophyllum*, Biochem. Syst. Ecol., 35(9), 569-581 (2007).

Sanz, J.F., Marco, J.A., NMR studies of tatridin A and some related sesquiterpene lactones from *Tanacetum vulgare*, J. Nat. Prod., 54(2), 591-596 (1991).

Sashida, Y., Nakata, H., Shimomura, H., Kagaya, M., Sesquiterpene lactones from pyrethrum flowers, Phytochemistry, 22(5), 1219-1222 (1983).

Schearer, W.R., Components of oil of tansy (*Tanacetum vulgare*) that repel Colorado potato beetles (*Leptinotarsa decemlineata*), J. Nat. Prod., 47(6), 964-969 (1984).

Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., Leblebici, E., Tohumlu Bitkiler Sistematiği, Ege Üniv. Basımevi, İzmir, 335-336 2008.

Sezik, E., Yeşilada, E., Tabata, M., Honda, G., Takaishi, Y., Fujita, T., Tanaka, T., Takeda, Y., Traditional Medicine in Turkey VIII. Folk Medicine in East Anatolia; Erzurum, Erzincan, Ağri, Kars, Iğdir Provinces, Econ. Bot., 195-211 (1997).

Shafaghat, A., Antibacterial Activity and Sesquiterpenoid Contents of the Essential Oil of *Tanacetum punctatum* (Desr.) Grierson, J. Ess. Oil Bear. Plants, 15(2), 270-275 (2012).

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, Methods in Enzymology, San Diego,CA, 152-178 1999.

Staudinger, H., Ruzicka, L., Isolation and constitution of the active portion of Dalmatian insect powder; Constitution of *Chrysanthemum* mono and di-carboxylic acids; Constitution of Pyrethrolone etc., Helv. Chim. Acta, 7, 177-259 (1924).

Stepanov, T.A., Glyzin, V.I., Flavonoids of *Tanacetum boreale*, Khim. Prir. Soedin., 4, 566 (1980).

Stepanov, T.A., Glyzin, V.I., Smirnova, L.P., Isaikima, A.P., *Tanacetum sibiricum* flavonoids, Khim. Prir. Soedin., 4, 519-520 (1981a).

Stepanov, T.A., Sheichenko, V.I., Smirnova, L.P., *Tanacetum sibiricum* flavanones, Khim. Prir. Soedin., 6, 721-728 (1981b).

Tabanca, N., Demirci, F., Demirci, B., Wedge, D.E., Baser, K.H.C., Composition, enantiomeric distribution, and antimicrobial activity of *Tanacetum argenteum* subsp. *flabellifolium* essential oil, J. Pharm. Biomed. Anal., 45(5), 714-719 (2007).

Thomas, O.O., Antibacterial properties of the leaf and flower oils of *Tanacetum corymbosum*, Fitoterapia, 60(229-230) (1989a).

Thomas, O.O., Antibacterial properties of the leaf and flower oils of *Tanacetum macrophyllum*, Fitoterapia, 60(327-328) (1989b).

Thomas, O.O., Anticoagulant and antifibrinolytic properties of *Tanacetum corymbosum*, Fitoterapia, 60, 231-233 (1989c).

Thomas, O.O., Phytochemistry of the leaf and flower oils of *Tanacetum cilicium*, Fitoterapia, 60, 131-134 (1989d).

Thomas, O.O., Phytochemistry of the leaf and flower oils of *Tanacetum macrophyllum*, Fitoterapia, 60, 323-326 (1989e).

Todorova, M., Ognyanov, I., Sesquiterpene lactones in *Tanacetum macrophillum*, Planta Med., 51(2), 174-175 (1985).

Tournier, H., Schinella, G., De Balsa, E.M., Mordujovich de Buschiazzo, P., Effect of the chloroform extract of *Tanacetum vulgare* and one of its active principles, parthenolide, on experimental gastric ulcer in rats, J. Pharm. Pharmacol., 51(2), 215-219 (1999).

Tuzlacı, E., Erol, M.K., Turkish folk medicinal plants. Part II: Eğirdir (Isparta), Fitoterapia, 70(6), 593-610 (1999).

Wollenweber, E., Mann, K., Valant-Vetschera, K.M., External flavonoid aglycones in *Artemisia* and some further *Anthemideae* (Asteraceae), Fitoterapia, 60, 460-463 (1989).

Yousefzadi, M., Ebrahimi, S.N., Sonboli, A., Miraghasi, F., Ghiasi, S., Arman, M., Mosaffa, N., Cytotoxicity, antimicrobial activity and composition of essential oil from *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*, Nat. Prod. Commun., 4(1), 119-122 (2009).

Yunusov, A.I., Abduazimov, B.K., Sidyakin, G.P., Dentatine A from *Tanacetum vulgares*, Khim. Prir. Soedin., 4, 573 (1980).

Yunusov, A.I., Abdullaev, N.D., Kasymov, S.Z., Sidyakin, G.P., Tanakhin, A new sesquiterpene lactone from *Tanacetum pseudoachillea*, Khim. Prir. Soedin., 2, 263 (1976a).

Yunusov, A.I., Abdullaev, N.D., Kasymov, S.Z., Sidyakin, G.P., Yagudaev, M.R., Structure of tanachin, Khim. Prir. Soedin., 4, 462 (1976b).

Yunusov, A.I., Sidyakin, G.P., Pyrethrin-A new guaianolid from *Pyrethrum parthenifolium*, Khim. Prir. Soedin., 19(4), 532-533 (1983).

Zahid, H., Rizwani, G.H., Khan, M., Khalid, S., Anti-inflammatory and Antioxidant Activities of *Mimusops elengi* L., Br. J. Pharm. Res., 9(3), 1-10 (2015).