

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DEĞİŞİK YÖRELERDEN TOPLANAN *Tanacetum
parthenium* L. TÜRÜNDE PARTHENOLİDE' İN KISMİ EN
KÜÇÜK KARELER SPEKTROSKOPİK KALİBRASYON
(PLS) YÖNTEMİYLE MİKTAR TAYİNİ VE İNCE
TABAKA KROMATOĞRAFİSİ YÖNTEMİYLE
KARŞILAŞTIRILMASI**

Biyolog Mehtap AYDEMİR

**F.B.E. Biyoloji Anabilim Dalında
Hazırlanan**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nezhun GÖREN (Y.T.Ü.)
İkinci Tez Danışmanı: Prof. Dr. Abdürezzak Bozdoğan (Y.T.Ü.)

İSTANBUL, 2005

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DEĞİŞİK YÖRELERDEN TOPLANAN *Tanacetum
parthenium* L. TÜRÜNDE PARTHENOLİDE' İN KISMİ EN
KÜÇÜK KARELER SPEKTROSKOPİK KALİBRASYON
(PLS) YÖNTEMİYLE MİKTAR TAYİNİ VE İNCE
TABAKA KROMATOĞRAFİSİ YÖNTEMİYLE
KARŞILAŞTIRILMASI**

Biyolog Mehtap AYDEMİR

**F.B.E. Biyoloji Anabilim Dalında
Hazırlanan**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nezhun GÖREN (Y.T.Ü.)
İkinci Tez Danışmanı: Prof. Dr. Abdürezzak Bozdoğan (Y.T.Ü.)

İSTANBUL, 2005

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ	vi
KISALTMA LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ	viii
ÇİZELGE LİSTESİ	ix
ÖNSÖZ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Botanik bilgisi	2
2.2 Parthenolide'in Yapısı, İzolasyonu ve Biyolojik Aktivitesi	3
2.2.1 Parthenolide'in Yapısı	3
2.2.2 Parthenolide'in İzolasyonu ve Tanımlanması İle İlgili Çalışmalar	3
2.2.3 Parthenolide'in Biyolojik Aktivitesi İle İlgili Araştırmalar	5
2.3 Kromatografi ve Ekstraksiyon	7
2.3.1 Kromatografi	7
2.3.1.1 Kolon Kromatografisi	9
2.3.1.2 İnce Tabaka Kromatografisi	9
2.3.2 Ekstraksiyon	10
2.3.2.1 Katı Karışımların Ekstraksiyonu	11
2.3.2.2 Çözeltiden Ekstraksiyon	11
2.4 Çoklu Kalibrasyon Yöntemleri	11
2.4.1 Çoklu Lineer Regresyon (MLR)	12
2.4.2 Ana Bileşen Regresyonu (PCR)	13
2.4.3 Kısmi En Küçük Kareler Kalibrasyonu (PLS)	14
3. DENEYSEL ÇALIŞMA VE KEMOMETRİK ANALİZ	19
3.1 Kullanılan Bitkisel Materyal	19
3.2 Yapılan ekstraksiyon işlemleri ve İnce Tabaka Kromatografileri sırasında kullanılan çözücüler	20
3.3 Kullanılan Aletler	20
3.4 DeneySEL Çalışma	21
3.4.1 Bitki Materyalinin Hazırlanması	21
3.4.2 Ekstrelerin Hazırlanması	22
3.4.3 Parthenolide Tayini	23
3.4.3.1 İnce Tabaka Kromatografisi Sırasında Kullanılan Çözücü Sistemleri	24

3.4.3.2	Parthenolide'in İzole Edilmesi ve Saflaştırılması	24
3.4.4	Ekstrelerdeki Parthenolide Miktarının Ölçülmesi	26
3.4.4.1	Ekstrelerin Bölünmesi	26
3.4.4.2	Örneklerin UV Spektrofotometresine Hazırlanması	27
3.4.4.3	Örneklerin UV Spektrumlarının Alınması	28
3.4.4.4	UV'si Alınması Ekstrelerdeki Parthenolide Miktarının Ölçülmesi.....	54
3.5	Kısmi En Küçük Kareler Kalibrasyonu.....	55
3.5.1	Bilgisayar Programı Hakkında Bilgi	55
3.5.2	Verilerin Bilgisayara Aktarılması.....	55
3.5.3	Kalibrasyon'un Oluşturulması	56
4.	SONUÇ ve TARTIŞMA.....	61
	KAYNAKLAR.....	71
	ÖZGEÇMİŞ.....	75

SİMGE LİSTESİ

AU	Absorbans
bar	Basınç
°C	Celsius Derece
cm	Santimetre
gr	Gram
m	Metre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
%	Yüzde
λ	Dalga Boyu

KISALTMA LİSTESİ

C	Derişim
GC	Gaz Kromatografisi
EA	Etil Asetat
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
ISTE	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
ITK	İnce Tabaka Kromatografisi
MeOH	Metanol
MLR	Çoklu lineer regresyon
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
PCA	Temel Bileşen Analizi
PCR	Ana Bileşen Regresyonu
PLS	Kısmi En Küçük Kareler Kalibrasyonu
<i>T.parthenium</i>	<i>Tanacetum parthenium</i>
<i>T.larvatum</i>	<i>Tanacetum larvatum</i>

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 <i>T.parthenium</i>	3
Şekil 2.2 Parthenolide'in yapısı	4
Şekil 2.3 İnce tabaka kromatografisi düzeneği.....	10
Şekil 2.4 Spektral veri matrisinin PCA ile skor ve faktörlere parçalanması	13
Şekil 2.5 Spektral veri matrisinin ve konsantrasyon matrisinin skor ve faktörlere	15
parçalanması	
Şekil 2.6 PLS yönteminin şematik gösterilişi.....	16
Şekil 3.1 04-1 Grubunun çiçek etil asetat ve metanol ekstrelerine ait ITK kromatogramları..	23
Şekil 3.2 04-4 Grubunun etil asetat ve metanol ekstrelerine ait ITK kromatogramları	24
Şekil 3.3 Parthenolide maddesinin H^1 -NMR spektrumu.....	25
Şekil 3.4 Parthenolide'e ait ITK kromatogramı	26
Şekil 3.5 Örnek 1. 1. A'nın UV spektrumu	29
Şekil 3.6 Örnek 1. 1. B'nin UV spektrumu	30
Şekil 3.7 Örnek 1. 2. A'nın UV spektrumu	31
Şekil 3.8 Örnek 1. 2. B'nin UV spektrumu	32
Şekil 3.9 Örnek 1. 2. C'nin UV spektrumu	33
Şekil 3.10 Örnek 1. 2. D'nin UV spektrumu	34
Şekil 3.11 Örnek 1. 2. E'nin UV spektrumu	35
Şekil 3.12 Örnek 1. 2. F'nin UV spektrumu	36
Şekil 3.13 Örnek 1. 2. G'nin UV spektrumu	37
Şekil 3.14 Örnek 1. 2. H'nin UV spektrumu	38
Şekil 3.15 Örnek 1. 2. J'nin UV spektrumu	39
Şekil 3.16 Örnek 1. 2. K'nin UV spektrumu	40
Şekil 3.17 Örnek 4. 1. A'nın UV spektrumu	41
Şekil 3.18 Örnek 4. 1. B'nin UV spektrumu	42
Şekil 3.19 Örnek 4. 1. C'nin UV spektrumu	43
Şekil 3.20 Örnek 4. 1. D'nin UV spektrumu	44
Şekil 3.21 Örnek 4. 1. E'nin UV spektrumu	45
Şekil 3.22 Örnek 4. 1. F'nin UV spektrumu	46
Şekil 3.23 Örnek 4. 1. G'nin UV spektrumu	47
Şekil 3.24 Örnek 4. 2. A'nın UV spektrumu	48
Şekil 3.25 Örnek 4. 2. B'nin UV spektrumu	49
Şekil 3.26 Örnek 4. 2. C'nin UV spektrumu	50
Şekil 3.27 Örnek 4. 2. D'nin UV spektrumu	51
Şekil 3.28 Örnek 4. 2. E'nin UV spektrumu	52
Şekil 3.29 Parthenolide maddesinin UV spektrumu.....	53

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 3.1 Çalışılan bitkisel materyal ile ilgili bilgiler	19
Çizelge 3.2 Bitki grupları, kodları ve miktarları ile ilgili bilgiler	21
Çizelge 3.3 Bitki grupları, hazırlanan ekstreler ve miktarları hakkında bilgi	22
Çizelge 3.4 Parthenolide içeren ekstreler, kodları, miktarları ve bölünen ekstreler ile ilgili bilgiler	27
Çizelge 3.4'ün devamı	28
Çizelge 3.5 Ekstrelerdeki parthenolide miktarları	54
Çizelge 3.5'in devamı	55
Çizelge 3.6 Bilgisayar'a kaydedilen örnek gruplarının sırası	56
Çizelge 3.7 Model olarak kullanılan örneklerin derişimleri ve absorbens değeri	57
Çizelge 3.7'nin devamı	58
Çizelge 3.7'nin devamı	59
Çizelge 3.7'nin devamı	60
Çizelge 4.1 B katsayıları	62
Çizelge 4.2 Madde miktarı PLS ile tahmin edilen 10 örneğe ait absorbens ve derişim değeri	63
Çizelge 4.2'nin devamı	64
Çizelge 4.2'nin devamı	65
Çizelge 4.2'nin devamı	66
Çizelge 4.3 Kromatografi ve PLS ile bulunan madde miktarlarının karşılaştırılması	67
Çizelge 4.4 PLS yönteminin kromatografik yöntemlere göre avantajları	69

ÖNSÖZ

Bu tezin gerçekleştirilmesi sırasında, değerli fikirleri ve öğretileriyle bana her zaman yol gösteren danışman hocam Prof. Dr. Nezhun Gören'e öncelikle teşekkür eder ve saygılarımı sunarım.

Kemometrik analiz konusundaki bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan ve yoğun ders programı sırasında bana her zaman vakit ayıran danışman hocam Prof. Dr. Abdülrezzak Bozdoğan'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Bölümü Araştırma Görevlisi Dr. Özlem Aksu'ya, UV spektrumlarının alınması sırasındaki yardımları için çok teşekkür ederim.

Topladığım bitki materyalinin tanımlanması ve tez çalışmam sırasındaki öğütleriyle her zaman desteğini hissettiğim hocam Prof. Dr. Abdülkerim Alpınar'a çok teşekkür ederim.

Bitki materyali toplama sırasındaki yardımlarından ötürü Erdenay Vural'a ve ablam Zeynep Aydemir'e, ayrıca topladığım bitki materyalinin öğütülmesi işlemini gerçekleştiren İstanbul Üniversitesi'nden Recep Karaca'ya çok teşekkür ederim.

Tezimi yazarken karşılaştığım güçlükleri, bilgisayar konusundaki bilgi birikimiyle aşmama yardımcı olan Çiğdem Metin'e teşekkürü bir borç bilirim.

Tezimin her aşamasındaki yardımları ve sonsuz dostlukları için arkadaşlarım Ezgi Kılıç ve Lale Özcan'a ve beni her zaman destekleyen ve hep yanımda olacaklarını bildiğim tüm aileme sonsuz teşekkür eder ve minnettarlıklarımı sunarım.

ÖZET

Türkiyede birçok bölgede geniş yayılış gösteren *T. parthenium* türü, dört farklı lokaliteden toplanılmış ve içerisindeki parthenolide madde miktarı tayini yapılmıştır. Bu çalışma hem kromatografik yöntemlerle hem de kısmi en küçük kareler kalibrasyonu ile yapılarak, iki yöntem karşılaştırılmıştır. Bitkilerin çiçek metanol ve etilasetat ekstralarında parthenolide varlığı tespit edilmiştir. Bu ekstralar 24 gruba ayrılarak, gruptaki parthenolide miktarı Kısmi Küçük Kareler Kalibrasyonu ve Kromatografik yöntemlerle tayin edilmiştir. Her iki yöntemle bulunan miktarların birbirine yakın olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, Kısmi Küçük Kareler Kalibrasyonu hızlı ve ucuz bir yöntem olduğu için madde miktarı tayininde kullanışlı bir yöntemdir.

Anahtar Kelimeler: *T. parthenium*, Parthenolide, Madde Miktar Tayini, Kısmi En Küçük Kareler Kalibrasyonu.

ABSTRACT

Parthenolide quantity in which *T.parthenium* collected from four different localities in Turkey was determined. Parthenolide mass quantity was determined and compared Partial Least Square Calibration and Chromatographic methods. Parthenolide was obtained by the extraction of flowers with methanol and ethylacetate. These extractions were separated twenty four groups. Parthenolide quantities were determined both of these methods were close each other. As a result, Partial Least Square Calibration is useful due to rapid and cheap method for mass quantity determination.

Keywords: *T. parthenium*, Parthenolide, Mass Quantity Determination, Partial Least Square Calibration

1. GİRİŞ

Compositae familyasına ait olan, *Tanacetum* cinsi ülkemizde 18'i endemik olmak üzere 60 takson, 44 tür ile doğal olarak yayılış göstermektedir. *Tanacetum*, içerdiği sekonder metabolitlerin birçok alanda ticari olarak kullanılmasından dolayı üzerinde çok fazla araştırma yapılan bir cinsdir. *Tanacetum vulgare*, *Tanacetum parthenium*, *Tanacetum cinerariifolium* bu cinse ait önemli türlerden birkaçıdır (Grierson, 1975).

Bu tezde çalışılan *Tanacetum parthenium* L., içerdiği parthenolide maddesinden dolayı, dünyada çok fazla araştırmaya konu olan bir türdür. Parthenolide'in özellikle migren tedavisinde (Palevitch, 1997) etkili olmasından dolayı, *T. parthenium*'un yaprakları veya parthenolide tabletleri yurt dışında çok yaygın olarak kullanılmaktadır [1, 2, 3]. Ayrıca son yıllarda yapılan bazı araştırmalarda parthenolide'in kanser tedavisinde de etkili olduğu görülmüştür (Zhang, 2004a, Ross, 1999).

Dünyanın birçok bölgesinde yayılış gösteren *T. parthenium*'un içerdiği parthenolide miktarı bölgeden bölgeye değişebilmekte ve dolayısıyla toplanan bitkilerdeki parthenolide miktarı büyük önem kazanmaktadır. Parthenolide miktarının hızlı ve güvenilir bir şekilde hesaplanabilmesi için değişik metotlar geliştirilmekte ve kullanılmaktadır.

Bu tezde, Türkiyede çok geniş yayılış gösteren *T. parthenium* L. türünün dört farklı bölgeden toplanan örneklerinin, içerdiği madde miktarları, kromatografik yöntemlerle ve kısmi en küçük kareler kalibrasyonu ile tayin edilerek karşılaştırılması ve hangi yöntemin daha avantajlı olduğunun saptanması amaçlanmıştır. Laboratuarda kromatografik yöntemlerle madde miktarları tespit edilen 14 örneğin, UV absorbans değerlerinden ve madde miktarlarından yararlanılarak bir kalibrasyon modeli oluşturulmuştur. Kısmi küçük kareler kalibrasyonu (PLS) adı verilen bu yöntem ile, 10 örneğin madde miktarları, bilgisayarda Martens ve Neas'ın algoritması kullanılarak tahmin edilmiş ve daha önceden, kromatografik yöntemlerle bulunan madde miktarlarıyla karşılaştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Botanik bilgisi

Asteraceae (Compositae), en çok çiçekli bitki türü olan ve yeryüzünün her yerinde yayılış gösteren familyalardan biridir. Familyanın Türkiye’de doğal olarak yetişen 130 cins ve 1130 türü bulunmaktadır (Davis, 1975).

Bu tezde bitkisel materyal olarak seçilen *Tanacetum parthenium* L., *Compositae* familyasından, *Tanacetum* cinsine ait bir türdür. *Tanacetum* cinsinin yeryüzünde 18’i endemik, 70 kadar türü olup, bunların 45’i ülkemizde de yetişmektedir (Grierson, 1975).

T. parthenium’u diğer *Tanacetum* türlerinden ayıran en belirgin özellik, 20-60 cm ye kadar varan boyuna karşın, çiçeklerinin çok küçük oluşudur. *T. parthenium* dünyada ve Türkiye’de çok geniş bir yayılış göstermektedir. *T. parthenium*’un Türkiye’de, İstanbul, Bolu, Giresun, Rize, Ankara, Kırklareli, İzmir, Erzincan gibi birçok ilde yetiştiği bilinmektedir. *T. parthenium* türüne daha çok kale içi, duvar dipleri, harabe ve yıkıntılar, akarsu kenarları, bazen gölgelik orman ve kayalar, gibi bölgelerde rastlanmaktadır (5-2400m.) (Grierson, 1975; Çelik, 1980). Şekil 2.1’de *T. parthenium*’un fotoğrafı yer almaktadır

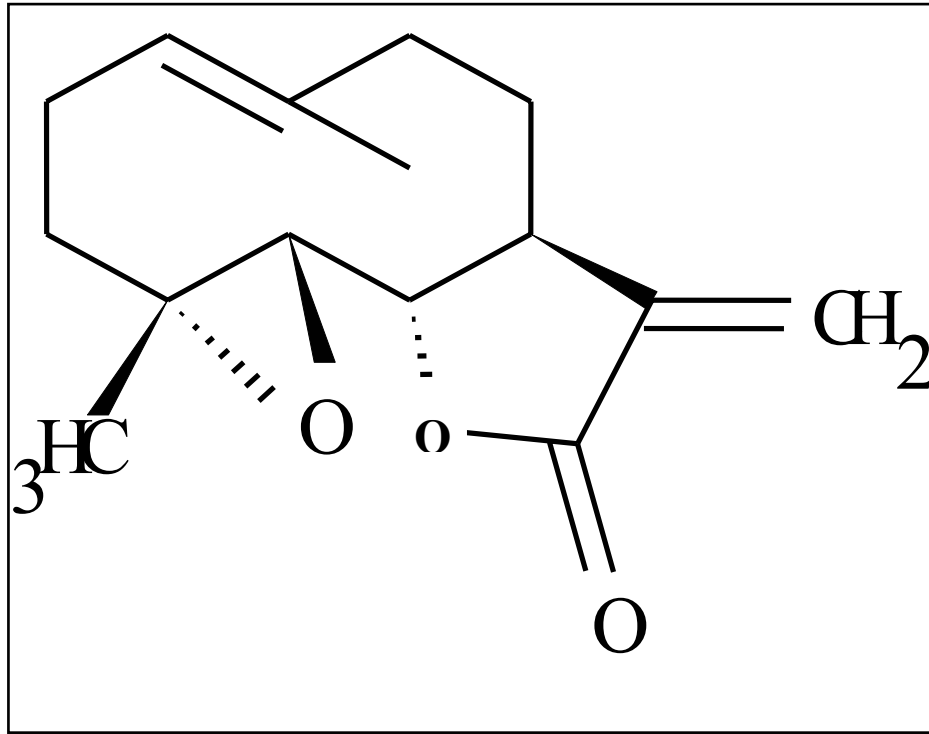


Şekil 2.1 *T. Parthenium* L.

2.2 Parthenolide'in Yapısı, İzolasyonu ve Biyolojik Aktivitesi

2.2.1 Parthenolide'in Yapısı

T. parthenium uzun yıllardan beri halk arasında tedavi amaçlı kullanılan bir bitkidir. Bu sebeple bilim adamları *T. parthenium* ile ilgili birçok araştırma yapmışlardır. Bu araştırmalarda *T. parthenium*'un içerdiği maddelerin yapısı aydınlatılmış ve *T. parthenium*'un içeriğindeki başlıca maddenin parthenolide olduğu gösterilmiştir (Bohlmann & Zdero, 1982). Parthenolide seskiterpen lakton grubuna ait bir germacranolide olup Şekil 2.2' de parthenolide'in yapısı gösterilmektedir.



Şekil 2.2 Parthenolide' in yapısı

Tanacetum cinsi içinde, parthenolide içeren tek tür *T. parthenium* değildir. Yapılan araştırmalarda, *T. larvatum*, *T. densum* subsp *amani* ve *T. argentum* subsp *amani* türlerinde de parthenolide saptanmıştır (Aljancic, 2001; Ulubelen, 1993; Gören, 1997). Fakat miktar bakımından *T. parthenium* daha fazla parthenolide içerdiğinden, araştırmaların çoğu *T. parthenium* türü üzerine yoğunlaşmaktadır.

2.2.2 Parthenolide'in İzolasyonu ve Tanımlanması İle İlgili Çalışmalar

Parthenolide izolasyonu sırasında, birçok çözücü sistemiyle birlikte farklı izolasyon ve

tanımlama yöntemleri kullanılmıştır. Bu yöntemlerin tek amacı kısa sürede ve fazla miktarda parthenolide elde edilmesini sağlamaktır.

Bu amaçla yapılan çalışmalardan birinde, birçok çözücü sistemi ile birlikte devamlı ekstraksiyon (Sohxlet) yöntemi uygulanmıştır. Bu çözücü sistemleri arasında %10 su içeren asetonitril sistemi, şişe karıştırma yöntemi ile ekstraksiyon sonucu *T. parthenium*'dan en yüksek miktarda parthenolide (930 mg/100 gr ham materyal) eldesini sağlayan sistem olmuştur. Ayrıca bu çalışma polar olmayan petrol eteri gibi bazı sistemlerin, parthenolide izolasyonu için doğru bir seçim olmadığını da göstermiştir. Yine bu çalışmada parthenolide'in tanımlanabilmesi ve miktar tayini için kullanılan HPLC yöntemi, en iyi sonucu verecek şekilde geliştirilmiştir (Zhou, 1999).

Bu yapılan çalışmalarda karşımıza çıkan önemli bir kriter ise, yapılan çalışmanın aynı zamanda çok pahalı olmayan çözücü sistemleri ile yürütülebilmesidir. Çünkü tıp alanında çok yaygın olarak kullanılan parthenolide'in, ticari olarak kullanılışlı hale getirilebilmesi için, izolasyon sürecinin ucuza mal edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla yapılan bir çalışmada asetonitril, dietileter ve aseton gibi pahalı çözücüler yerine hekzan ve dioksan kullanılmış ve geliştirilen farklı bir HPLC yöntemiyle parthenolide miktarı hızlı ve pahalı olmayan bir şekilde saptanmıştır (Rey, 1992).

Parthenolide izolasyonu için kullanılan diğer bir yöntem ise süper kritik sıvı ekstraksiyonudur (SFE). Bu yöntemin kullanıldığı bir çalışmada, en fazla miktarda parthenolide izolasyonu için en uygun koşulların 250 bar, 40 °C olduğu gösterilmiştir. Bu koşullarda 100 gr ham materyalden, 70 mg parthenolide elde edilmiştir. Ayrıca ekstraksiyon sırasında %4'lük metanol veya asetonitril ilavesi, elde edilen parthenolide miktarını 2 katına çıkarmaktadır (100 gr ham materyalde 140 mg). Yine bu çalışmada parthenolide'in tanımlanması (determination) için Gaz Kromatografisi (GC) yöntemi kullanılmıştır (Smith & Burford, 1992). Süper kritik karbondioksit kullanılarak yapılan diğer bir çalışmada ise bu yöntem, geleneksel ekstraksiyon yöntemleriyle karşılaştırılmış ve süper kritik sıvı ekstraksiyonu yönteminin, daha avantajlı olduğu ileri sürülmüştür (Cretnik, 2005).

T. parthenium'un parthenolide içeriğinin saptanabilmesi için kullanılan yöntemlerin başında HPLC ve ¹H-NMR spektroskopisi yöntemleri gelmektedir (Awang, 1991; Heptinstall, 1992).Yapılan çalışmalardan birinde *T. parthenium*'un hangi kısmında ne kadar parthenolide bulunduğu hesaplanmıştır. Buna göre en fazla miktarda parthenolide içeren bitki kısmının, çiçek (1380 mg / 100 gr ham materyal) olduğu bulunmuş, onu sırasıyla yaprak (950 mg / 100

gr ham materyal), sap (80mg /100 gr ham materyal) ve kök (10 mg / 100 gr ham materyal) kısımları izlemektedir (Heptinstall, 1992).

Son yıllarda yapılan bir çalışmada ise parthenolide 'in miktar tayini saptaması için HPLC ve ¹H-NMR yöntemleri ile birlikte kemometrik analiz yöntemi kullanılmıştır. Bu çalışmada, parthenolide içeren tabletler kullanılarak elde edilen 14 örneğe ait NMR ve Temel Komponent Analiz (Principal component Analysis) sonuçları karşılaştırılarak aralarındaki farklar tayin edilmiştir. Sonuç olarak geliştirilen bu yeni yöntemle *T. parthenium* içerisindeki parthenolide miktarı, hızlı ve etkin bir şekilde hesaplanmıştır (Bailey, 2002).

Ayrıca, parthenolide'in, mikrobiyal dönüşümü ile, yeni türevleri elde edilmiştir (Galal, 1999).

2.2.3 Parthenolide'in Biyolojik Aktivitesi İle İlgili Araştırmalar

Parthenolide'in başta migren (Palevitch, 1997) olmak üzere, kanser (Ross, 1999; Zhang, 2004a) ve MS (Multiple sclerosis) (Fiebich, 2002) gibi hastalıkların tedavisinde kullanılan bir seskiterpen lakton oluşu, parthenolide üzerindeki araştırmaların çoğalmasına sebep olmuştur.

Yapılan çalışmaların çoğunluğu, parthenolide'in anti-enflammatuar etkisinin mekanizmasını açıklamaya yönelik olup, diğer alanlardaki çalışmalara daha az yer verilmektedir.

Nukleer faktör (NF)-κB yolunun parthenolide tarafından inhibe edilmesi, parthenolide'in anti-enflammatuar etkisini açıklamaya yönelik mekanizmaların başında gelmektedir. NF-κB, bakteriyel enfeksiyonların tetiklemesi sonucu, enflamasyon sırasında aktive edilen bir transkripsiyon faktörüdür (Sheehan, 2002). NF-κB, bakteriyel lipopolisakkaritler ve interlökin-6, Tümör nekrosis faktör gibi sitokinler tarafından aktive edilmektedir (Karin & Delhase, 2000). Yani NF-κB'nin inhibisyonu, enflammatuar cevabın da engellenmesi anlamına gelmektedir. NF-κB'nin inhibisyonuyla birlikte IκB-kinaz' ın aktivasyonunun inhibisyonu da bu mekanizmayı açıklamaya yönelik öne sürülen hipotezlerden biridir (Hegner, 1999; Rüngeler, 1999; Kwok, 2001; Garcia-Pineros, 2004).

Enflammatuar yanıtın oluşması sırasında tetikleyici olarak görev alan sitokinlerin inhibisyonunda, yine parthenolide'in anti-enflammatuar etkisini açıklayan mekanizmalardır. Bunlar arasında TNF-α, IL-6 (Sobota 2000; Smolinski & Pestka, 2003), IL-8 (Mazor, 2000), IL-12 (Kang, 2001) gibi sitokinlerin inhibisyonuna dayanan mekanizmalar yer almaktadır.

Enflammatuar durumundaki hücrelerdeki, Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) tarafından

sentezlenen, Nitrik Oksit (NO)'in aşırı miktardaki üretimi, hücrenin bileşenlerine zarar vererek iltihabi hastalıkların ciddiyetini artırmaktadır. Parthenolide ise INOS geninin promotor aktivitesini inhibe ettiği için, NO üretimini engelleyerek bu etkiyi ortadan kaldırmaktadır (Fukuda, 2000; Aldieri, 2003). NO üretiminin parthenolide tarafından inhibe edilmesi, aynı zamanda Multiple Sclerosis (MS) hastalığının tedavisi amacıyla kullanılan bir mekanizma olarak da araştırılmaktadır (Fiebich, 2002).

Parthenolide'in anti-enflammatuar etkisini açıklamaya çalışan mekanizmalardan bir diğeri, enflammatuar cevabın oluşması sırasında önemli bir rol oynayan, bir çeşit hücre yüzeyi glikoproteini olan ICAM-1 (Intercellular adhesion molecule-1)'in ekspresyonunun, parthenolide tarafından baskılanmasıdır (Dietrich, 1999; Piela-Smith & Liu, 2001). Ayrıca bir diğer araştırmada parthenolide'in, enflammatuar cevabın yanı sıra aşırı ağrı (hyperalgesic) cevabını da inhibe ettiği bulunmuştur (Feltenstein, 2004).

Parthenolide'in, anti-enflammatuar etkisi üzerine dünya çapında birçok çalışma yapılırken, kanser üzerine etkisi ile ilgili çalışmaların sayısı çok fazla değildir. Oysa yapılan araştırmalarda parthenolide'in, kanserli hücrelerin büyümesini durdurduğu gösterilmiştir (Ross, 1999).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda parthenolide'in insan kanser hücrelerindeki apoptatik hücre ölümünü teşvik ettiği bulunmuştur (Wen, 2002; Zhang, 2004a). Ayrıca hücre içi (intracellular) kükürt (Thiol) ve kalsiyum'un parthenolide'in apoptasisi teşvik etmesi üzerinde kritik rol oynadığı gösterilmiştir. Parthenolide'in hücre içi kükürtü tüketmesi, hücre içi kalsiyum miktarının artışına sebep olmaktadır. Kalsiyum miktarının artışıyla devam eden bir seri olay sonucunda kanserli hücrelerde apoptasis olayının gerçekleştiği bulunmuştur (Zhang, 2004b). Parthenolide'in apoptosis olayını teşvik etmesinde; hücreiçi kükürt'ün tüketilmesi, oksidatif stres, endoplazmik retikulum stresi, mitokondrinin görevini yerine getirememesi ve de apoptasis öncüsü (proapoptatic) sinyali oluşturan bir protein olan Bcl-2 ailesi gibi birçok farklı mekanizmanın rol oynadığı düşünülmektedir (Wen, 2002; Zhang, 2004c).

Parthenolide'in kanserli hücreler üzerindeki etkisini açıklamaya yönelik yapılan bir çalışmada da kanserli meme hücreleri kullanılmış ve parthenolide'in tubulin/mikrotubule ilişkisi üzerine aktivitesi incelenmiştir. Bu çalışmada parthenolide'in anti-mikrotubular ve anti-üretken etkisi sonucu kanserli hücrelerin büyümesinin belirgin olarak inhibe edildiği görülmüştür (Miglietta, 2004).

Parthenolide'in kanserli hücreler üzerindeki etkisini açıklamaya çalışan bir mekanizmada ise

nükleer transkripsiyon faktörü (NF- κ B) baskılanırken, c-Jun N-terminal kinas (JNK)'ın desteklenmesi ile parthenolide'in, Tümör nekrosis faktör (TNF)- α 'yı teşvik ettiği bulunmuştur. (TNF)- α 'nın teşvik edilmesi sonucu hücrede apoptasis olayı meydana gelmektedir (Zhang, 2004). Ayrıca parthenolide'in tüysüz farelerdeki UVB'nin tetiklediği deri kanserini de önlediği bulunmuştur (Won, 2004).

Parthenolide'in anti-enflammatuar ve anti-tümör özelliklerinin dışında, ayrıca anti-ülser özelliği gösterdiği de bulunmuştur (Tournier, 1999).

Parthenolide'in tıbbi alandaki kullanımlarının yanı sıra yapılan bir çalışma da, tarımsal alandaki kullanımına yönelik olup, parthenolide'in *Orobancha cumana* bitkisinin germinasyonunu belirgin bir şekilde arttırdığı gösterilmiştir (Luque, 2000).

2.3 Kromatografi ve Ekstraksiyon

2.3.1 Kromatografi

Saflaştırma işlemlerinde oldukça yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir. Kromatografi, az miktardaki ve özellikleri birbirine yakın maddeleri ayırmak için rahatlıkla uygulanabilen bir yöntemdir.

Kromatografide genellikle ayrılacak maddelerin üzerinde tutunduğu katı ya da sıvı sabit faz (yürütücü) bulunmaktadır. Kromatografi sırasında ayrılma işlemi, ayrılacak maddelerin sabit fazda adsorplanması ya da sabit faz ile yürütücü arasında dağılmasına dayanır. Maddelerin sabit faz üzerinde adsorplanma derecelerinin ve hareketli fazdaki çözünürlüklerinin farklı olması ayrılmayı sağlar.

Çeşitli kromatografi türleri vardır:

A. Faz tiplerine göre:

1. Sıvı kromatografi

- Sıvı-katı
- Sıvı-sıvı
- Adsorbsiyon kromatografisi
- Partisyon kromatografisi

- İyon deęiřtirme kromatografisi
- Jel geçirgenlik kromatografisi
- Affinite kromatografisi
- İyon ifti kromatografisi

2. Gaz kromatografi

1. Gaz-katı
2. Gaz-sıvı

B. Uygulama biçimine göre:

1. Sütun kromatografisi
2. Düzlemsel kromatografi
 - Kaęıt kromatografisi
 - İnce tabaka kromatografisi
 - Preparatif kromatografi
3. Gaz kromatografisi
4. Yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC)

C. Ayırma mekanizmalarına göre:

1. Adsorbsiyon kromatografisi
2. Partisyon kromatografisi
3. İyon deęiřtirme kromatografisi
4. İyon ifti kromatografisi
5. Jel geçirgenlik kromatografisi
6. Affinite kromatografisi

Bu kromatografi türleri arasında en çok kolon kromatografisi ve ince tabaka kromatografisi kullanılmaktadır.

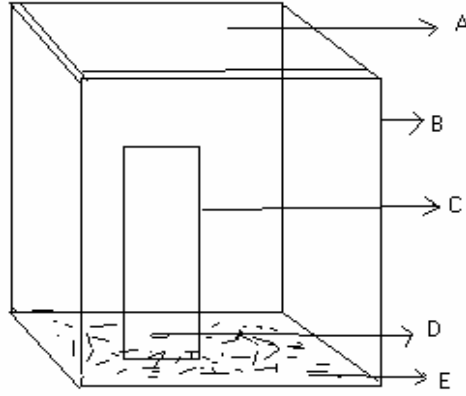
2.3.1.1 Kolon Kromatografisi

Genellikle altı musluklu, çeşitli uzunluk ve kalınlıktaki cam boruların sabit fazı oluşturacak adsorban ile doldurulması, ayrılacak karışımın bu adsorbanın üzerine yerleştirilmesi ve hareketli fazın adsorban kolonunun üzerinden verilerek ayrılan bileşenlerin alttan toplanmasıyla gerçekleştirilen bir kromatografi yöntemidir. Ayrılması istenen karışımdaki bileşenler kolonun üst kısmında adsorban tarafından adsorblanır. Yürütücü çözücünün kolondan sürekli olarak aşağıya doğru akışı sırasında, tutulan maddeler yavaş yavaş adsorbandan ayrılarak sürüklenir; bu sırada yürütücü çözücü, ayrılan madde ve adsorban arasında sabit bir denge kurulur. Bu denge nedeniyle farklı maddeler, adsorban ve çözücüye olan ilgilerine bağlı olarak kolondan aşağıya doğru farklı hızlarda sürüklenerek birbirlerinden ayrılırlar. Karışımdaki bileşenlerin ayrılması sırasında, her bir madde hareketli bantlar ya da bölgeler oluşturur. Kolon yeterince uzunsa ve diğer parametreler doğru olarak seçilmişse bu bantlar birbirinden gittikçe uzaklaşır ve aralarında boşluklar oluşur. Her bir bant kolondan çıkarken ayrı fraksiyonlar halinde toplanabilir.

2.3.1.2 İnce Tabaka Kromatografisi

İnce tabaka kromatografisinin teorik temeli, kolon kromatografisi ile aynıdır. İnce tabaka kromatografisi basit, ucuz, hızlı, hassas, verimli ve miligram düzeyinde madde gerektirmesi açısından oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

İnce tabaka kromatografisinde sabit faz olan adsorban cam, alüminyum ya da plastik plaklara ince bir tabaka halinde (genellikle 0.1-5 mm kalınlığında) kaplanmış olarak kullanılır. Adsorban ve yürütücü seçimi, kolon kromatografisinde olduğu gibidir. İnce tabaka kromatografisinin uygulamasında az miktardaki madde karışımı adsorban tabakanın bir ucuna damlatılır, plaka kapalı bir geliştirme tankına daldırılır, kapiler etkisiyle yürütücü çözücünün tabakanın yukarısına kadar ilerlemesi beklenir, uygun bir şekilde görünür hale getirilen spotlar değerlendirilir. Şekil 2.3 de ince tabaka kromatografisi düzeneği yer almaktadır.



Şekil 2.3 İnce Tabaka Kromatografisi düzeneği

A:Kapak, B:Kromatografi kabı, C:Adsorban tabaka kaplı cam plak, D:Örnek uygulama yeri,
E: hareketli faz

İnce tabaka kromatografi plakları, firmalar tarafından cam, plastik ya da alüminyum plakalara hazır kaplanmış olarak satılabildikleri gibi laboratuarda da kaplanabilmektedirler. Hazır kaplanmış plakalar genellikle 0.1 mm kalınlığında adsorban içerirler. Plastik ve alüminyum plakalar makasla istenen boyutlara rahatlıkla kesilebilmektedirler. Alüminyum plakalar, spotların görünür hale getirilmesi sırasında ısıdan etkilenmezler. Daha kalın kaplanmış ve büyük olan plakalar preperatif ince tabaka kromatografisinde 50-1000 mg madde karışımlarının birbirinden ayrılması için kullanılır.

2.3.2 Ekstraksiyon

Karışmayan bir çözücü yardımı ile bir maddeyi karışımdan ayırma işlemine ekstraksiyon, bu yolla elde edilen çözeltiye o maddenin ekstresi denir. Birbiri ile karışmayan çözücüler arasındaki dağılma dengelerine dayanan üç tip ayırma işlemi vardır:

1. Basit ekstraksiyon
2. Tam ekstraksiyon
3. Ters akım ekstraksiyonu

Ekstraksiyonu iki gruba ayırmak mümkündür.

2.3.2.1 Katı Karışımların Ekstraksiyonu

Katı karışımı, bunu oluşturan maddelerden birini çözen, diğerlerini çözmeyen bir çözücü ile muamele ederek çözünen maddeyi diğerlerinden ayırmak mümkündür. Katı karışımların ekstraksiyonu üç şekilde yapılabilir.

1. Maserasyon: Toz edilmiş bir miktar drog, uygun bir çözücü ile ıslatılıp arada sırada hareket ettirmek sureti ile 12 veya 24 saat bekletilir. Daha sonra üstteki berrak çözeltinin belli bir miktarı alınarak miktar tayini için lüzumlu diğer işlemlere tabi tutulur.
2. Perkolasyon: Toz edilmiş bir miktar drog, uygun bir kapta istenilen çözücü ile tamamıyla doyurulur. Gerekliği kadar bekletilerek masere edildikten sonra, perkolatör denilen kaba yerleştirilerek ekstre edilir. Perkolasyonun sakıncası çok fazla çözücü kullanılmasıdır.
3. Devamlı ekstraksiyon (Sohhlet): Soxhlet cihazıyla yapılan bu ekstraksiyon tekniğiyle, az çözücü ile bir çok defa ekstraksiyon yapılır. Fakat, işlem sırasında sıcaklık arttığından, ısıtma ile bozulabilecek maddelerin ekstraksiyonunda tercih edilmez.

2.3.2.2 Çözeltiden Ekstraksiyon

Çözeltisi halinde bulunan bir maddeyi, bu çözeltiyle karışmayan fakat maddeyi çözen, bir başka çözücü ile çalkalayarak maddenin bir kısmını ikinci çözücüye geçirme işlemine çözeltiden ekstraksiyon, bu yolla elde edilen yeni çözeltiye ise o maddenin ekstresi denir.

İki veya daha fazla madde karışımını da yine aynı esasa göre ayırmak mümkündür. Genellikle çözücülerden biri; bu maddelerden birini, diğerine nazaran daha fazla çözer. Ayrılması istenilen karışımı, birbiriyle karışmayan bu iki sıvıda, birçok kere muamele etmek yolu ile maddeleri birbirinden ayırmak mümkün olur. Buna fraksiyonlu ekstraksiyon denir. Fraksiyonlu ekstraksiyon iki şekilde yapılır.

- Devamlı ekstraksiyon
- Craig usulü ekstraksiyon (Karşı akımla ekstraksiyon)

2.4 Çoklu Kalibrasyon Yöntemleri

Çoklu kalibrasyon, biyokimyada uygulama alanı olan başlıca kemometrik tekniklerdendir. Bileşenlerin miktarı ve diğer özelliklerinin tayininde sıklıkla kullanılır. Geniş uygulama alanına sahiptir. Çoklu kalibrasyon yöntemleriyle;

1. Kimyasal, fiziksel ve başka tür girişimlerin etkili olduğu durumlarda, optimum dalga boyu seçimi zordur ve girişim ile değişebilir. Böyle durumlarda, tek dalga boyunda konsantrasyon tayinine dayanan basit kalibrasyon yerine birden fazla dalga boyu kullanılarak kalibrasyon modeli oluşturulabilir.
2. İyi tasarlanmış bir kalibrasyon modeli kurularak, çok karmaşık örneklerin bileşen analizi, uygulaması yavaş ve pahalı kromatografik teknikler yerine ucuz ve hızlı spektrofotometrik tekniklerle yapılabilir.
3. Özellikle tayin edilecek madde miktarı kesin olarak bilinmeyen ve birçok safsızlık içeren doğal örneklerde, uygun kalibrasyon modelleri kullanılarak analizler yapılabilir (Martens ve Naes, 1989).

Kısmi en küçük kareler kalibrasyonu (PLS), çoklu lineer regresyon (MLR) ve ana bileşen regresyonuna (PCR) dayalı çoklu kalibrasyon yöntemidir.

2.4.1 Çoklu Lineer Regresyon (MLR)

Çoklu lineer regresyon, özellikle kompleks örneklerin analizinde sıklıkla kullanılan bir tekniktir. Temelde MLR, X , absorbans matrisini, Y , konsantrasyon matrisini ifade etmek üzere X ve Y arasındaki regresyona dayanır.

$$Y = XB \quad (2.1)$$

B kalibrasyon sabitleri matrisidir. Denklemin çözümü aşağıdaki gibidir.

$$X'Y = XX'B \quad (2.2)$$

$$(X'X)^{-1} X'Y = (X'X)^{-1}(X'X)B \quad (2.3)$$

$$B = (X'X)^{-1} X'Y = \frac{\sum_{i=1}^I X_i Y_i}{\sum_{i=1}^I X_i^2} \quad I = \text{Örnek sayısı} \quad (2.4)$$

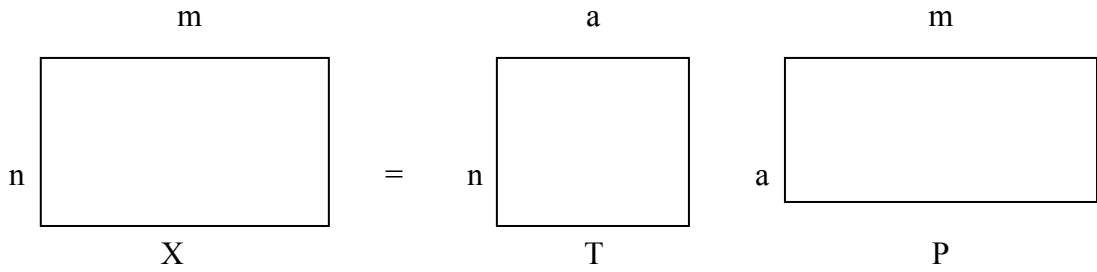
Bileşenler lineer bağımlı ise, $X'X$ matrisinin çözümü zorlaşır. Dolayısıyla, bu yöntemde dalga boyu sayısı bileşen sayısı ile sınırlıdır. Bu yöntemde, dalga boyu seçimi lineer bağımlılığı ortadan kaldıracak ve diğer safsızlıkların absorbansa etkisini giderecek şekilde olmalıdır. MLR'deki bu tür kısıtlamalar özellikle üst üste çakışan piklerde analizi çok zorlaştırır hatta imkansız hale getirir.

2.4.2 Ana Bileşen Regresyonu (PCR)

Ana bileşen regresyonu, Çoklu lineer regresyona benzer. Ancak, burada, ana bileşen analizi (PCA) skor matrisiyle konsantrasyon matrisinin regresyonunu esas alır. (MLR) metodunda, tayin edilecek örneklerdeki bileşenlerin bilinmesi gerekir. (PCA) da önce karışımdaki maddeler için ana bileşen analizi yapılır. Daha sonra kalibrasyon yapılır. Bu avantajından dolayı özellikle içeriği belli olmayan doğal ürünlerdeki etken madde tayinlerinde sıklıkla kullanılır.

Ana bileşen analizi (PCA) X spektral veri matrisinin, skor (T) ve yükleme (P) matrislerine parçalanması işlemini esas alır (Şekil 2.4).

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP} \quad (2.5)$$



Şekil 2.4 Spektral veri matrisinin PCA ile skor ve faktörlere parçalanması

- Skor matrisinin satırları orijinal veri matrisinin satır sayısına eşittir. (Örnek ya da spektrum sayısı)
- Skor matrisinin sütunları veri matrisindeki esas faktörleri sayısını belirtir. Normalde faktör sayısı bileşen sayısı ile aynı olmalıdır. Ancak gürültü ve spektral girişimler bu sayıyı değiştirebilir. Her bir sütun ana bileşene bağlıdır.
- Yükleme matrisinin sütunları orijinal veri matrisinin sütun sayısı ile eşittir (Dalga boyları).
- Yükleme matrisinin satırları esas faktör sayısına eşittir. Her bir satır ana bileşene bağlıdır.

Her bir ana bileşen a ile gösterilecek olursa, $\mathbf{T}$ nin a . sütunundaki a skor vektörü $\mathbf{t}_a$, $\mathbf{P}$ 'nin a . satırındaki a yükleme vektörü $\mathbf{p}_a$ 'yı göstermek üzere, özvektör $\mathbf{g}_a$ aşağıdaki denklemle hesaplanır.

$$\mathbf{g}_a = \sum_{i=1}^I \mathbf{t}_i \mathbf{a}^2 \quad (2.6)$$

Esas bileşenlere ait tüm öz vektörlerin toplamı, orijinal verilerin karelerinin toplamına eşit olmalıdır.

PCR da daha önce söz edildiği gibi PCA çözümlenmesinden elde edilen T skor matrisiyle Y konsantrasyon matrisinin regresyonu söz konusudur. Buradaki B katsayısı ise aşağıdaki denklemlerle ifade edilir (Brereton, 2000).

$$\mathbf{B}=(\mathbf{T}'\mathbf{T})^{-1}\mathbf{T}'\mathbf{Y} \quad (2.7)$$

2.4.3 Kısmi En Küçük Kareler Kalibrasyonu (PLS)

Herman World tarafından teklif edilen, Svanta Wold, Martens ve arkadaşları tarafından geliştirilen kısmi en küçük kareler (PLS), en fazla kullanılan çoklu kalibrasyon tekniklerindendir (Geladi ve Kowalski, 1986a; 1986b; Geladi, 1988). Bu yöntemde PCA dan farklı olarak bileşenlerin konsantrasyon matrisinde, örnek hazırlamadaki seyreltme ve tartma hataları ya da çevre ve biyolojik koşullardan dolayı değişimler dikkate alınarak konsantrasyon matrisi de (Y) faktör analizine tabi tutulur ve spektral matrisle aynı anda parçalanır (Şekil 2.5). Yöntem iki matrisin izdüşümleri arasındaki regresyonu içerir.

$\mathbf{X}$ = Spektral absorbans matrisi

$\mathbf{Y}$ = Konsantrasyon matrisi

$\mathbf{T}$ = Spektral skor matrisi

$\mathbf{U}$ = Konsantrasyon skor matrisi

$\mathbf{P}$ = Spektral yükleme matrisi

$\mathbf{Q}$ = Konsantrasyon yükleme matrisi

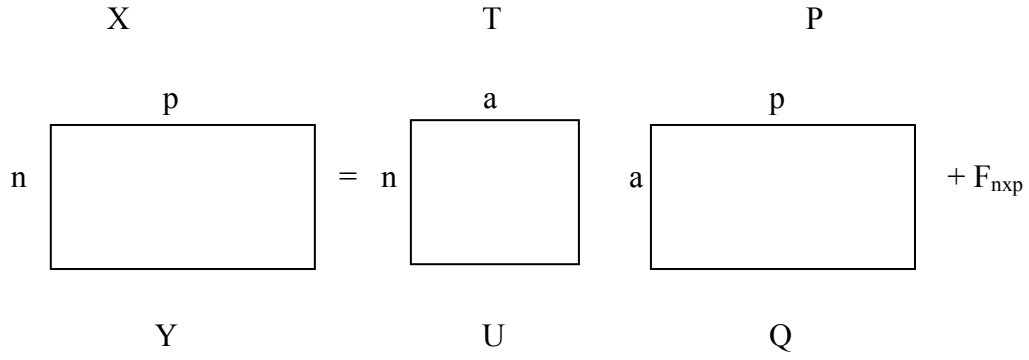
$\mathbf{E}$ ve $\mathbf{F}$ = Hata matrisleri

n = Örnek sayısı(spektrumlar)

m = Dalga boyu sayısı

p = Bilinen bileşenler

$$\begin{matrix} & m \\ n & \boxed{} \end{matrix} = \begin{matrix} & a \\ n & \boxed{} \end{matrix} \begin{matrix} & m \\ a & \boxed{} \end{matrix} + \mathbf{E}_{n \times m}$$



Şekil 2.5 Spektral veri matrisinin ve konsantrasyon matrisinin skor ve faktörlere parçalanması

Kısmi en küçük kareler X ve Y matrisleri için ayrı ayrı ana bileşen analizlerini yapmayı ve her iki matrisi birbirine bağlayan iç bağıntıları bulma işlemlerini içerir. Dış bağlantılar aşağıdaki denklemlerle gösterilebilir

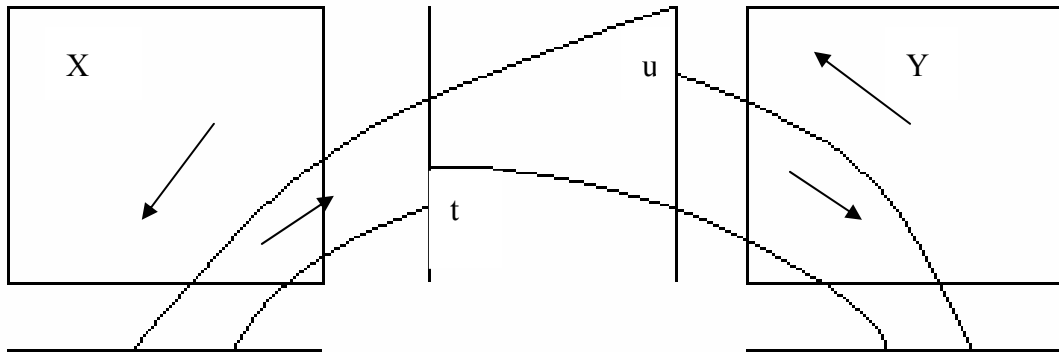
$$X = TP' + E \quad (2.8)$$

$$Y = UQ' + F \quad (2.9)$$

Burada E ve F deneysel belirsizlikten olduğu kadar modelin uygunsuzluğundan ortaya çıkan hata matrisleridir. İç bağıntı ise aşağıdaki şekilde ifade edilir.

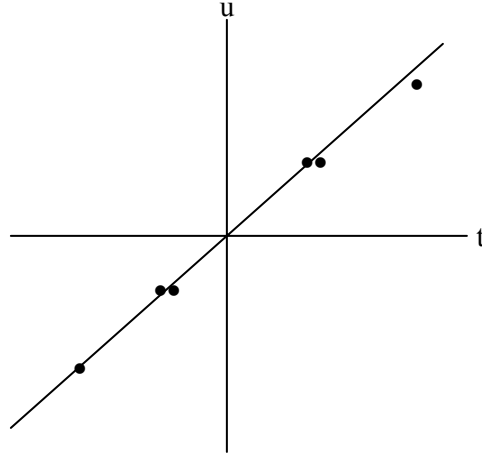
$$U = TW \quad (2.10)$$

Hesaplama $|X - TP'|$ ve $|Y - UQ'|$ farkları minimum oluncaya kadar hesaplamaya devam edilir. Uygulamada bu hesaplama, sırasıyla w_1 , t_1 , q_1 , u_1 ve p_1 'in bulunması ile olur. Bu işlemde bir w_1 değerinden başlanır ve uygunluk sağlanıncaya kadar işlem tekrarlanır (Şekil 2.6).



w

q



Şekil 2.6 PLS yönteminin şematik gösterilişi

Daha sonra, bileşen vektörlerinin dış çarpımları X ve Y matrislerinden çıkarılır ve artık matrisler elde edilir. İkinci ana bileşenleri bulmak için (w_2 , t_2 , q_2 , u_2 ve p_2), X ve Y matrisleri artık matrisleri ile yer değiştirildikten sonra işlem tekrarlanır ve artık kareler toplam yeterli minimuma ulaşınca kadar üçüncü, dördüncü ve diğer öz vektörler benzer şekilde çıkarılır.

PLS-1 modeline ait algoritma aşağıda verilmiştir (Martens ve Naes,1989).

$$X_0 = X - \mathbf{1} \bar{x}' \quad \text{ve} \quad y_0 = Y - \mathbf{1} \bar{y}$$

$$X_{a-1} = \hat{u}_a w_a' + E \quad (2.11)$$

$$\hat{w}_a = c X_{a-1} \hat{u}_a \quad (2.12)$$

$c = w_a$ 'nın son boyutunu 1'e eşitlemek için kullanılan skala faktörü.

$$c = (\hat{u}_a' X_{a-1} X_{a-1} \hat{u}_a)^{-0.5} \quad (2.13)$$

$$X_{a-1} = t_a w_a' + E \quad (2.14)$$

$$\hat{w}_a' \hat{w}_a = 1 \text{ olduğundan,}$$

$$t_a = X_{a-1} \hat{w}_a \quad (2.15)$$

Burada $\hat{w}_a \hat{w}_a' = 1$ olması gerekir.

$$X_{a-1} = \hat{t}_a p_a + E \quad (2.16)$$

$$\hat{\mathbf{p}}_a = \mathbf{X}_{a-1} \hat{\mathbf{t}}_a / \hat{\mathbf{t}}_a' \hat{\mathbf{t}}_a \quad (2.17)$$

$$\mathbf{Y}_{a-1} = \hat{\mathbf{t}}_a \mathbf{q}_a' + \mathbf{F} \quad (2.18)$$

$$\hat{\mathbf{q}}_a = \mathbf{Y}_{a-1}' \hat{\mathbf{t}}_a / \hat{\mathbf{t}}_a' \hat{\mathbf{t}}_a \quad (2.19)$$

$$\mathbf{Y}_{a-1} = \mathbf{u}_a \hat{\mathbf{q}}_a' + \mathbf{F} \quad (2.20)$$

$$\hat{\mathbf{u}}_a = \mathbf{Y}_{a-1} \hat{\mathbf{q}}_a (\hat{\mathbf{q}}_a' \hat{\mathbf{q}}_a)^{-1} \quad (2.21)$$

Faktör çarpımlarının X ve Y matrislerinden çıkarılmasıyla yeni X ve Y artık matrisleri elde edilir.

$$\hat{\mathbf{E}} = \mathbf{X}_{a-1} - \hat{\mathbf{t}}_a \hat{\mathbf{p}}_a' \quad (2.22)$$

$$\hat{\mathbf{F}} = \mathbf{Y}_{a-1} - \hat{\mathbf{u}}_a \hat{\mathbf{q}}_a' \quad (2.23)$$

Daha sonra E ve F, X ve Y matrislerinin yerine geçer.

$$\mathbf{X}_a = \hat{\mathbf{E}}$$

$$\mathbf{Y}_a = \hat{\mathbf{F}}$$

$$\mathbf{a} = \mathbf{a} + 1$$

Kalibrasyon modelinde yeterli sayıda PLS faktörü elde edilene kadar işlemlere devam edilir.

Elde edilen B katsayısı,

$$\hat{\mathbf{B}} = \hat{\mathbf{W}}(\hat{\mathbf{P}}'\hat{\mathbf{W}})^{-1}\mathbf{Q} \quad (2.24)$$

$$\mathbf{b}'_0 = \bar{\mathbf{y}} - \bar{\mathbf{x}}'\hat{\mathbf{B}} \quad (2.25)$$

$$\hat{\mathbf{y}}_i = \mathbf{b}'_0 + \mathbf{x}'_i \hat{\mathbf{b}} \quad (2.26)$$

Kısmi en küçük karelerin çoklu regresyondan en önemli farkı ortagonal vektörleri çıkarma yeteneğidir. Böylece çoklu regresyon analizinde en önemli problem olan lineer bağımlılıktan kaçınılmış olur. (2.4) eşitliğinde görüldüğü gibi $\mathbf{X}'\mathbf{X}$ matrisinin tersi alınmaktadır. Bu ise $\mathbf{X}$ 'in sütunlarının lineer olarak bağımsız olmasını gerektirir. Kısmi en küçük kareler yöntemi ortagonal vektörlerin çıkarılmasında ana bileşen regresyonuna benzer. Fakat PLS de ana bileşenler $\mathbf{X}$ matrisinden hesaplanır ve $\mathbf{Y}$ matrisi ile birleştirilir oysa PCR da bileşenler sadece

X matrisinden hesaplanır. Bundan dolayı PLS, kalibrasyon verilerinin sistemin bütün bileşenlerini içermediği durumlarda daha iyi tahmin gücüne sahip olur.

3. DENEYSEL ÇALIŞMA VE KEMOMETRİK ANALİZ

3.1 Kullanılan Bitkisel Materyal

Bu çalışmada 4 farklı bölgeden toplanan *T. parthenium* türü ile çalışıldı. Çizelge 3.1 de çalışılan bitki gruplarının, toplanma yerleri, zamanları, ISTE numaraları ve kullanılan kısımları yer almaktadır. Deney sırasında kullanılan bitkisel materyal Prof. Dr. Abdülkerim Alpınar tarafından teşhis edildi.

Çizelge 3.1 Çalışılan bitkisel materyal ile ilgili bilgiler

BİTKİ GRUBU	TOPLANMA YERİ	TOPLANMA ZAMANI	ISTE	KULLANILAN KISIM
I. GRUP	İstanbul-Beyazıt	02.06.2004	81461	Kök
				Gövde
				Yaprak
				Çiçek
II.GRUP	İstanbul-Beşiktaş	12.06.2004	81466	Kök
				Gövde
				Yaprak
				Çiçek
III.GRUP	Bolu-Akyazı	11.07.2004	81711	Kök
				Gövde
				Yaprak
				Çiçek
IV.GRUP	Bolu-Çubuk yaylası	11.07.2004	81712	Kök
				Gövde
				Yaprak
				Çiçek

3.2 Kullanılan Kimyasal Madde ve Çözücüler

Yapılan ekstraksiyon işlemleri ve İnce Tabaka Kromatografileri sırasında kullanılan çözücüler:

- Hekzan (Teknik)
- Etil asetat (Teknik)
- Metanol (Teknik, Merck)
- Kloroform (Merck)
- Diklorometan (Merck)
- Eter (Merck)
- Toluen (Teknik)
- Distile su
- Serik sülfat (Belirteç)
- İnce Tabaka Kromatografisi sırasında; 25 TLC aluminium sheets 20x20 Silica gel 60 F₂₅₄ (MERCK) plakları kullanıldı.
- Cam plaklara, Silica gel 60 HF₂₅₄ (MERCK) uygulandı.

3.3 Kullanılan Aletler

- Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi (NMR)
- Ultraviyole Spektrofotometresi
- Ultraviyole Lambası (UV)
- Vakum Distilasyonu (Evaporatör)
- Basit Distilasyon
- Plak Dökme Aleti
- Kaba ve Hassas Terazî (0.01 mg duyarlıkta)
- Etüv

3.4 Deneysel Çalışma

3.4.1 Bitki Materyalinin Hazırlanması

Farklı bölgelerden toplanan *T. parthenium* türünün kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımları ayrı ayrı kurutularak öğütüldü. Çizelge 3.2 de bitki gruplarının kodları ve kullanılan bitki kısımlarının miktarları yer almaktadır.

Çizelge 3.2 Bitki grupları kodları ve miktarları ile ilgili bilgiler

GRUP ADI	KODU	BİTKİ KISMI	MİKTARI
I.GRUP	04-1	Kök	134 gr
		Gövde	542 gr
		Yaprak	240 gr
		Çiçek	325 gr
II.GRUP	04-2	Kök	60 gr
		Gövde	542 gr
		Yaprak	240 gr
		Çiçek	325 gr
III.GRUP	04-3	Kök	60 gr
		Gövde	542 gr
		Yaprak	240 gr
		Çiçek	325 gr
IV.GRUP	04-4	Kök	55 gr
		Gövde	542
		Yaprak	105 gr
		Çiçek	325 gr

3.4.2 Ekstrelerin Hazırlanması

Ekstrelerin hazırlanması sırasında tüm bitki gruplarının kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımları ayrı ayrı sırasıyla, hekzan, etil asetat ve metanol çözücülerinde 2'şer gece bekletildikten sonra çözücülerini uçurularak ekstre edildi. Çizelge 3.3 de bitki grupları, kodları ve yapılan ekstrelerin miktarları yer almaktadır.

Çizelge 3.3 Bitki grupları, hazırlanan ekstreler ve miktarları hakkında bilgi

GRUP ADI	KODU	HEKZAN EKSTRESİ	MİKTARI	ETİL ASETAT EKSTRESİ	MİKTARI	METANOL EKSTRESİ	MİKTARI
I.GRUP	04-1	Kök	345mg	Kök	438mg	Kök	2.9457gr
		Gövde	2.1055gr	Gövde	3.3748gr	Gövde	24.6567gr
		Yaprak	4.9953gr	Yaprak	11.9384gr	Yaprak	25.6994gr
		Çiçek	3.6253gr	Çiçek	6.0561gr	Çiçek	30.3857gr
II.GRUP	04-2	Kök	2gr	Kök	321mg	Kök	1.7230gr
		Gövde	2.6821gr	Gövde	3.5471gr	Gövde	20.2855gr
		Yaprak	9.16gr	Yaprak	10.9889gr	Yaprak	22.5992gr
		Çiçek	5.4402gr	Çiçek	26.4959gr	Çiçek	18.3260gr
III.GRUP	04-3	Kök	115mg	Kök	335mg	Kök	690mg
		Gövde	2.0293gr	Gövde	2.0475gr	Gövde	9.9gr
		Yaprak	4.7139gr	Yaprak	14.5485gr	Yaprak	15.8225gr
		Çiçek	3.7721gr	Çiçek	26.0355gr	Çiçek	19.0242gr
IV.GRUP	04-4	Kök	145mg	Kök	196mg	Kök	773mg
		Gövde	1.9064	Gövde	2.0475gr	Gövde	7.4541gr
		Yaprak	2.9607gr	Yaprak	5.9068gr	Yaprak	8.3431gr
		Çiçek	3.9297gr	Çiçek	21.3561gr	Çiçek	17.3gr

3.4.3 Parthenolide Tayini

Yapılan ekstrelerdeki parthenolide varlığı, ince tabaka kromatografisi ile tespit edildi. Buna göre 04-1 ve 04-4 gruplarının, çiçek etil asetat ve metanol ekstrelerinde, parthenolide varlığı tespit edilirken, 04-2 ve 04-3 gruplarının ekstrelerinde parthenolide olmadığı görüldü. 04-1 grubunun çiçek etil asetat ve metanol ekstrelerine ait ITK kromatogramları Şekil 3.1’de, 04-4 grubunun çiçek etil asetat ve metanol ekstrelerine ait ITK kromatogramları Şekil 3.2’de yer almaktadır.



Şekil 3.1 04-1 Grubunun çiçek etil asetat ve metanol ekstrelerine ait ITK kromatogramları



Şekil 3.2 04-4 Grubunun etil asetat ve metanol ekstraktlarına ait ITK kromatogramları

3.4.3.1 İnce Tabaka Kromatografisi Sırasında Kullanılan Çözücü Sistemleri

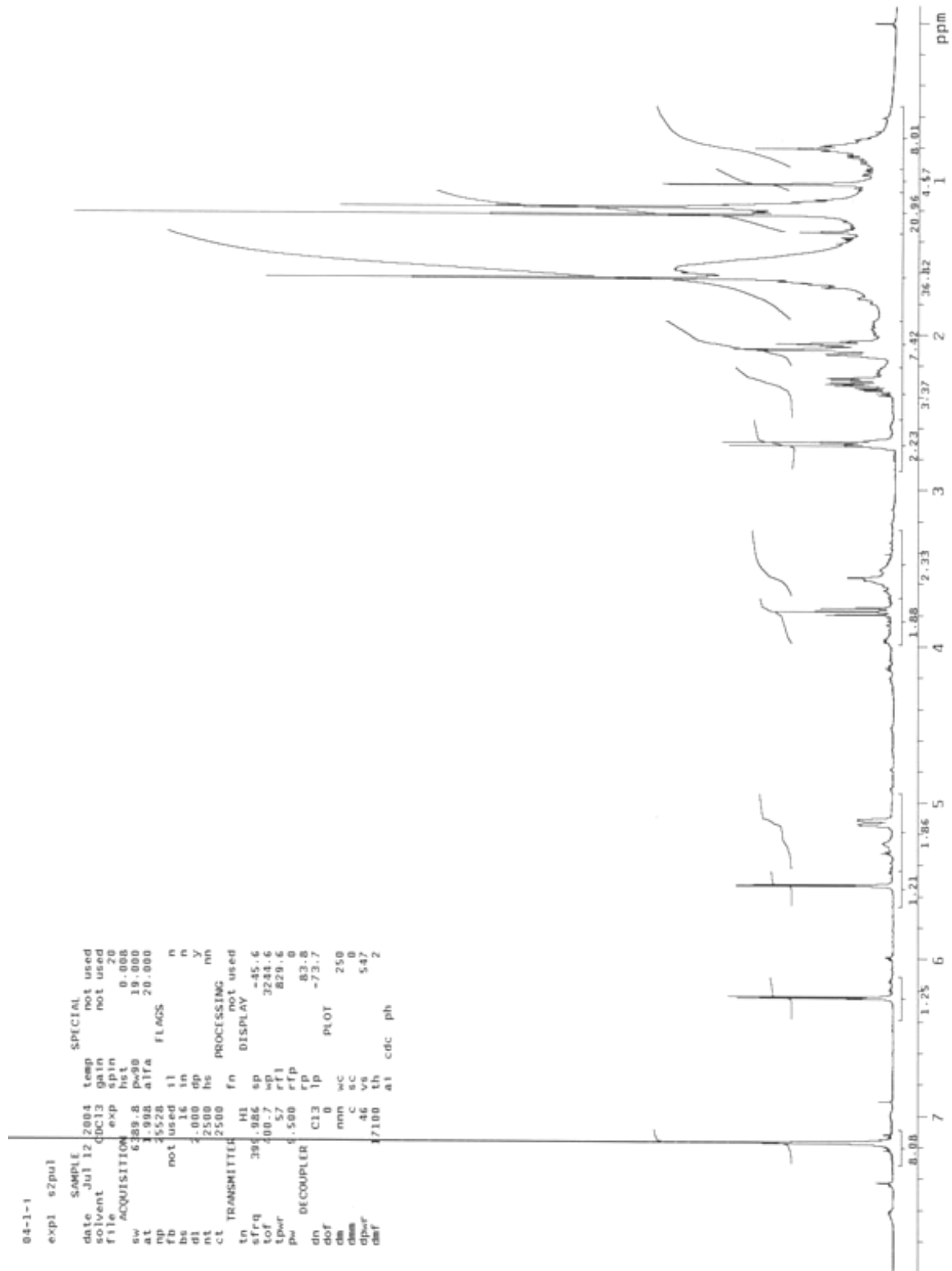
Diklorometan : Eter (8 : 2)

Toluen : Etil asetat (7 : 3)

Kloroform

3.4.3.2 Parthenolide'in İzole Edilmesi ve Saflaştırılması

04-1 çiçek metanol ekstresinden cam plakalar aracılığı ile bir miktar parthenolide izole edildi ve saflığı ITK ile kontrol edildikten sonra NMR'a gönderildi. Spektrum sonuçlarından, ITK ile saflaştırılan maddenin, parthenolide olduğu doğrulandı. Şekil 3.3'de parthenolide'e ait H-NMR spektrumu, Şekil 3.4'de ise Parthenolide ait ITK kromatogramı yer almaktadır.

Şekil 3.3 Parthenolide H¹ NMR spektrumu



Şekil 3.4 Parthenolide'e ait ITK kromatogramı

3.4.4 Ekstrelerdeki Parthenolide Miktarının Ölçülmesi

3.4.4.1 Ekstrelerin Bölünmesi

Parthenolide varlığı tespit edilen ekstreler, 3'er gramlık ekstreler halinde bölündü ve miktar tayini için toplam 24 adet örnek elde edildi. Çizelge 3.4 de hangi ekstrenin kaç bölündüğü ve bu örneklerle verilen kodlar yer almaktadır.

Çizelge 3.4 Parthenolide içeren ekstreler, kodları, miktarları ve bölünen ekstreler ile ilgili bilgiler

EKSTRE ADI	KODU	MİKTARI	BÖLÜNEN EKSTRELER
04-1 ÇİÇEK ETİL ASETAT EKTRESİ	I.I	6.0561 gr	I.I.A
			I.I.B
04-1 ÇİÇEK METANOL EKSTRESİ	I.II	30.3857 gr	I.II.A
			I.II.B
			I.II.C
			I.II.D
			I.II.E
			I.II.F
			I.II.G
			I.II.H
			I.II.J
			I.II.K
04-4 ÇİÇEK ETİL ASETAT EKSTRESİ	IV.I	21.3561 gr	IV.I.A
			IV.I.B
			IV.I.C
			IV.I.D
			IV.I.E
			IV.I.F
			IV.I.G

Çizelge 3.4'ün devamı

EKSTRE ADI	KODU	MİKTARI	BÖLÜNEN EKSTRELER
04-4 ÇİÇEK METANOL EKSTRESİ	IV.II	17.3 gr	IV.2.A
			IV.2.B
			IV.2.C
			IV.2.D
			IV.2.E

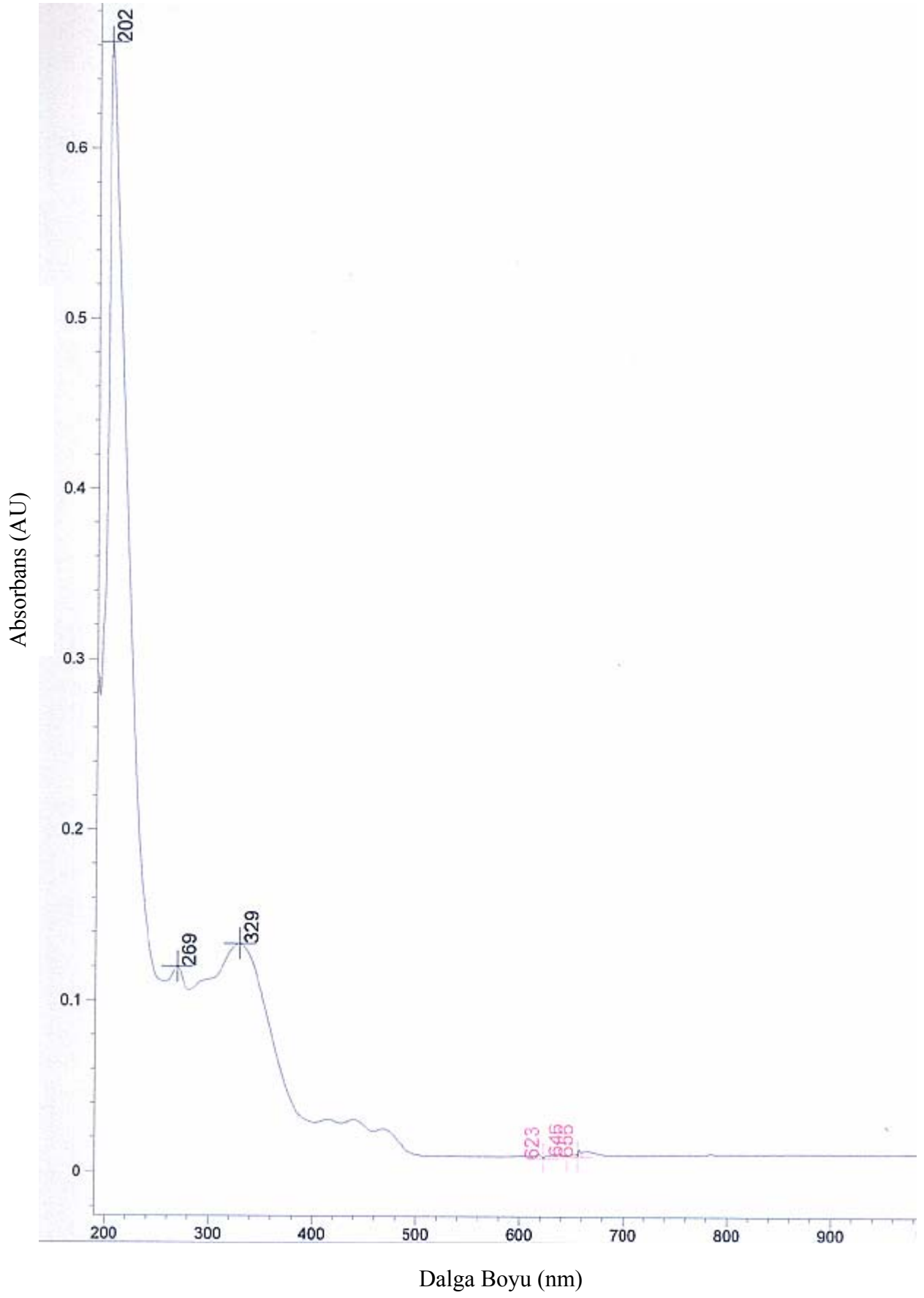
3.4.4.2 Örneklerin UV Spektrofotometresine Hazırlanması

Ekstrelerin bölünmesiyle elde edilen 24 örnek, UV spektrumu çekilmeden önce seyreltildi. Seyreltme işlemi aşağıdaki sıraya göre yapıldı.

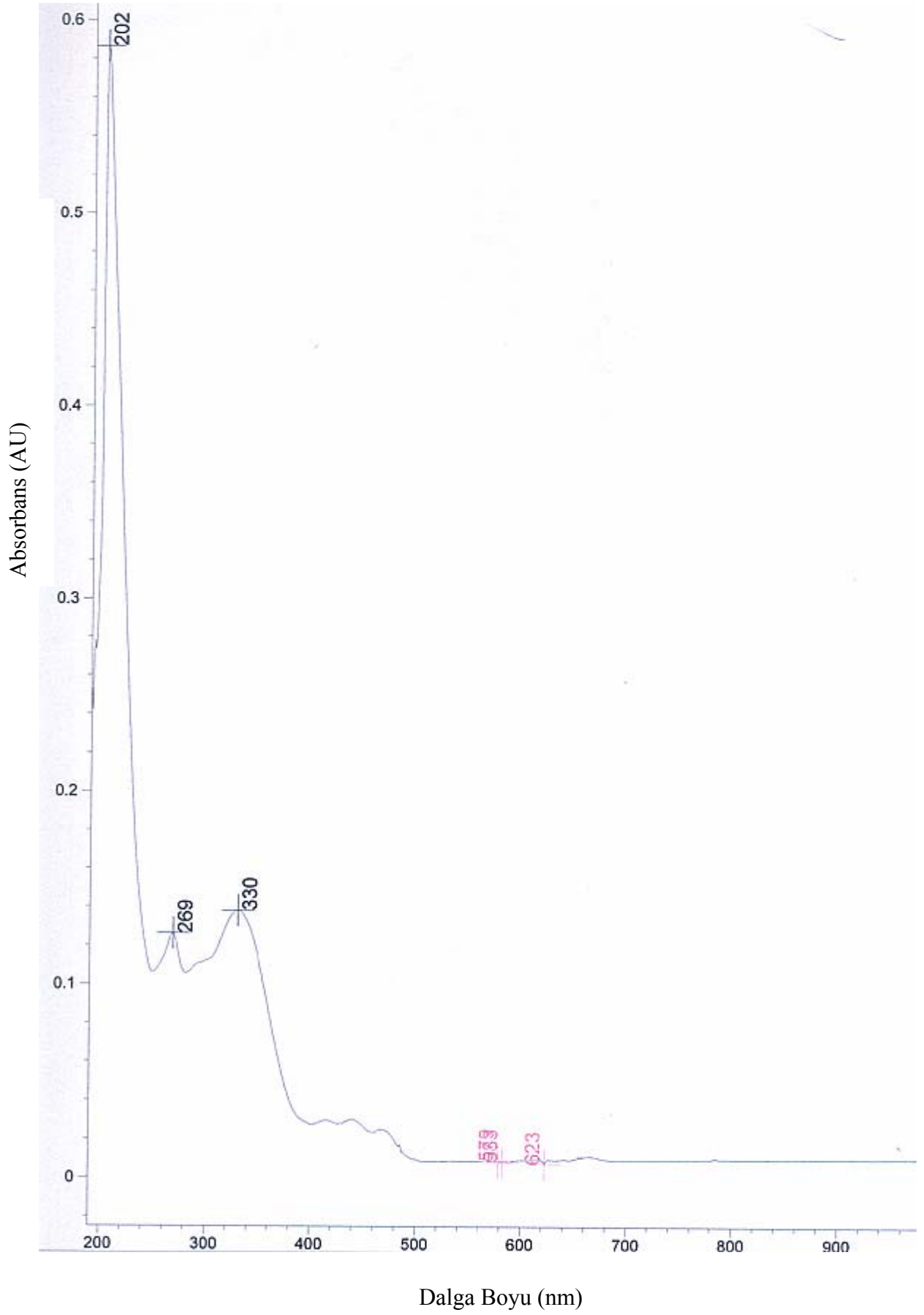
- Örneklerin her birinden 1.4 mg madde alınarak tartıldı.
- Bir miktar metanol (MERCK) ile çözülerek 10ml'ye tamamlandı.
- 10ml'lik çözeltiden 1ml alınarak, tekrar 10ml'ye tamamlandı.

3.4.4.3 Örneklerin UV Spektrumlarının Alınması

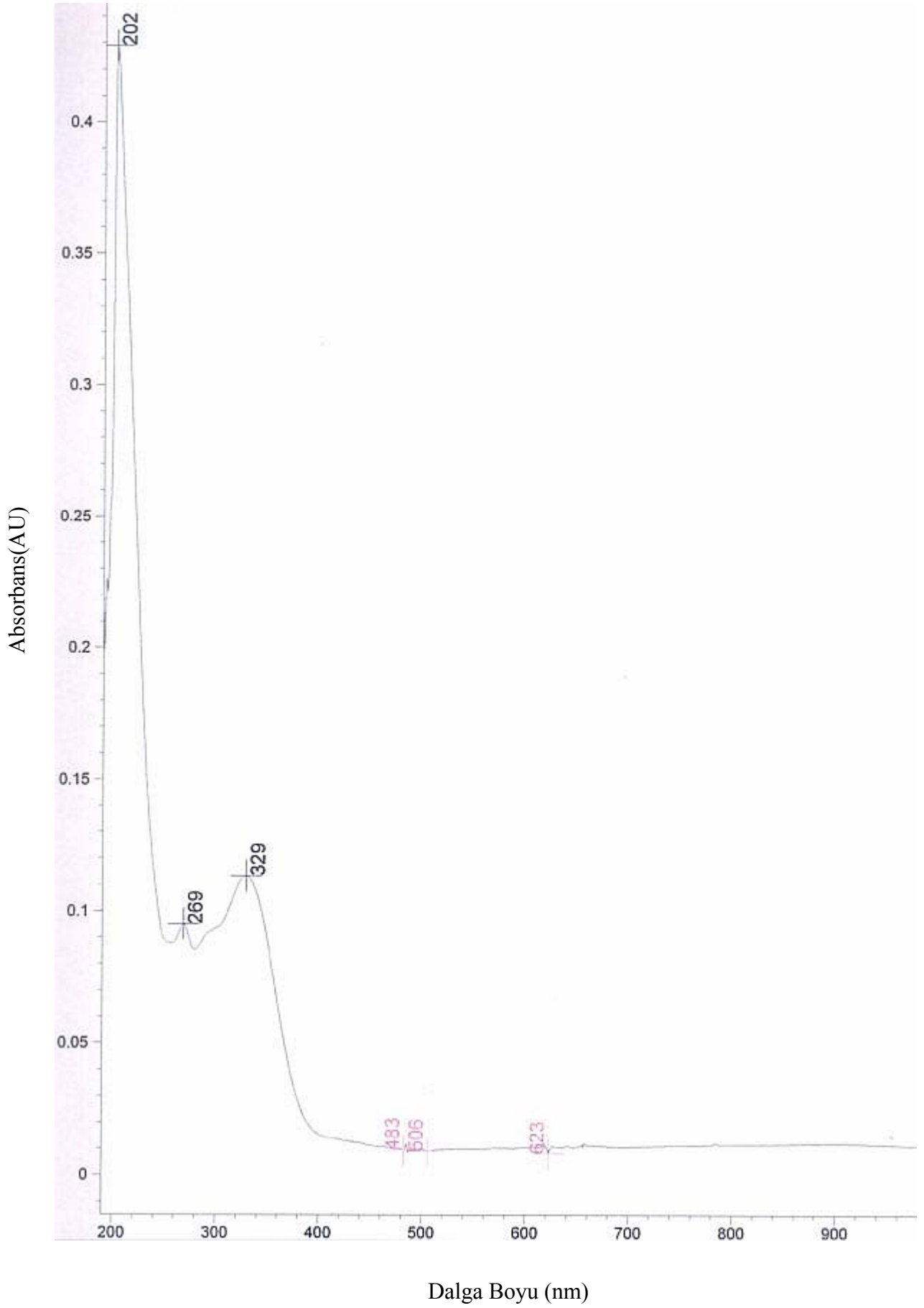
Seyreltilen ekstrelerin UV spektrumları, 190-400 nm aralığında çekildi ve absorbans değerleri 5 nm aralıklarla kaydedildi. Şekil 3.5'den 3.28'e kadar UV spektrumu çekilen örneklerin spektrumları sırasıyla verilmiştir. Ayrıca saf parthenolide'e ait UV spektrumu Şekil 3.29'da yer almaktadır.



Şekil 3.5 Örnek I.I.A'nın UV spektrumu



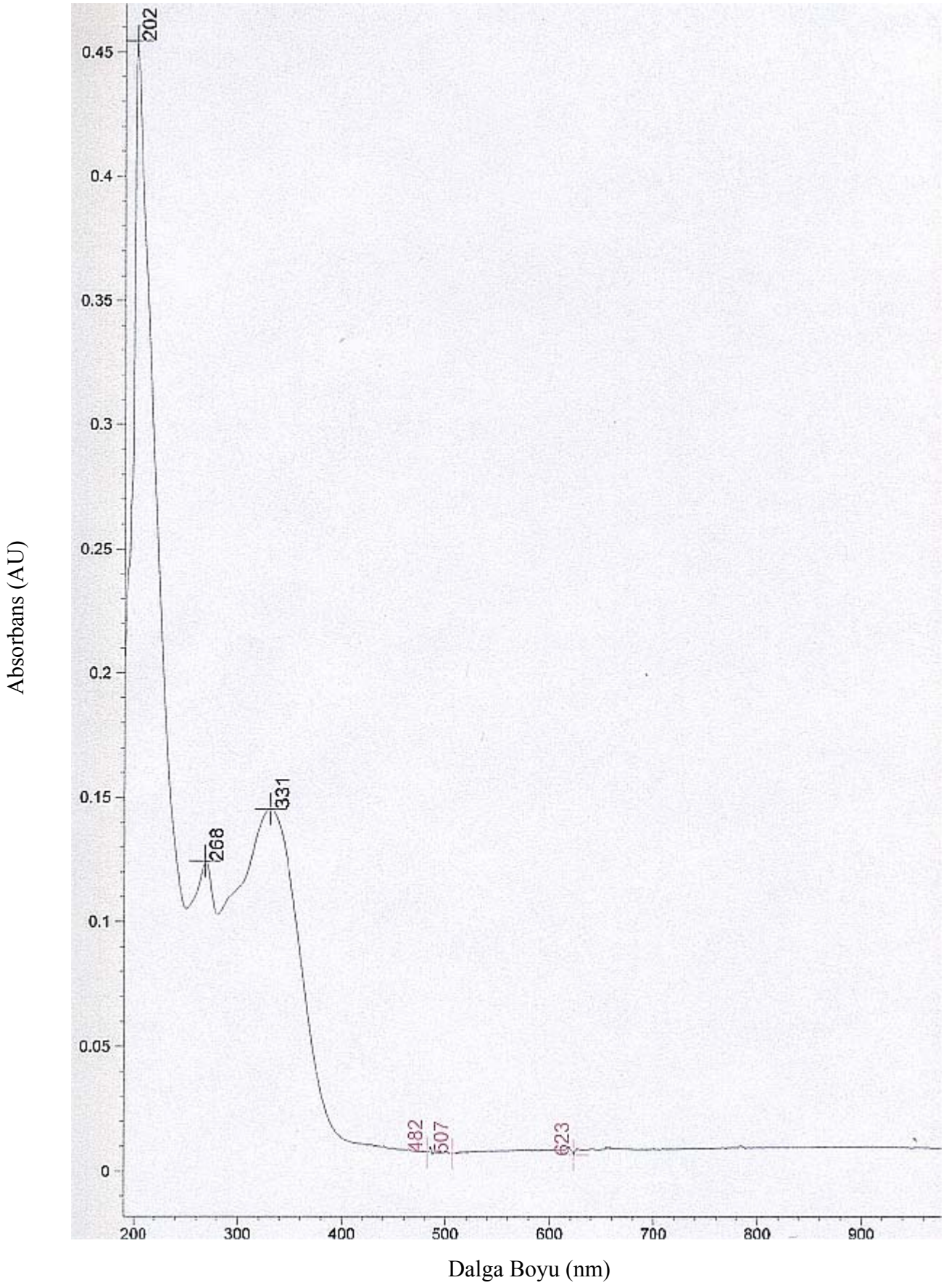
Şekil 3.6 Örnek I.I.B' nın UV spektrumu



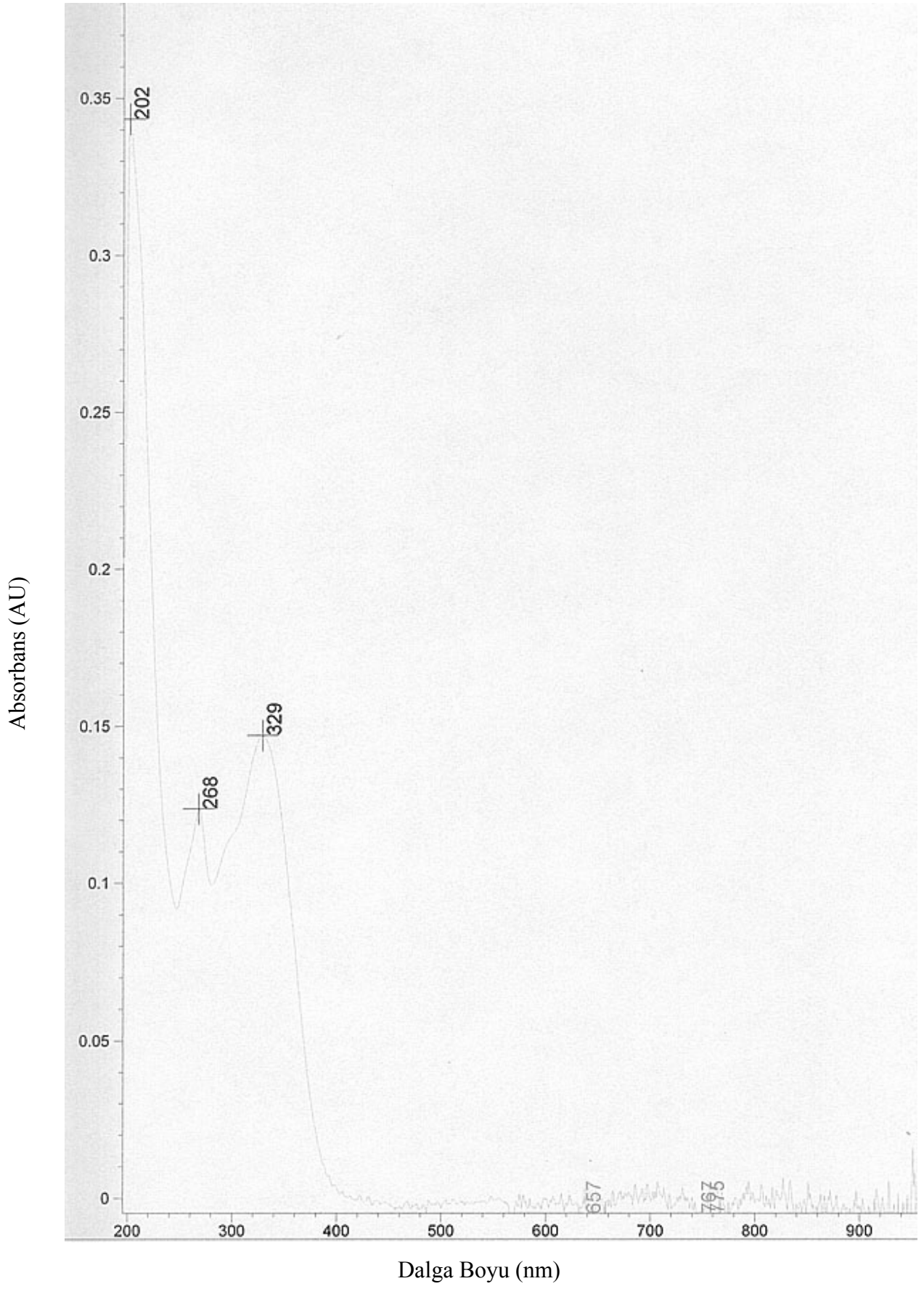
Şekil 3.7 Örnek 1.II.A'nın UV spektrumu



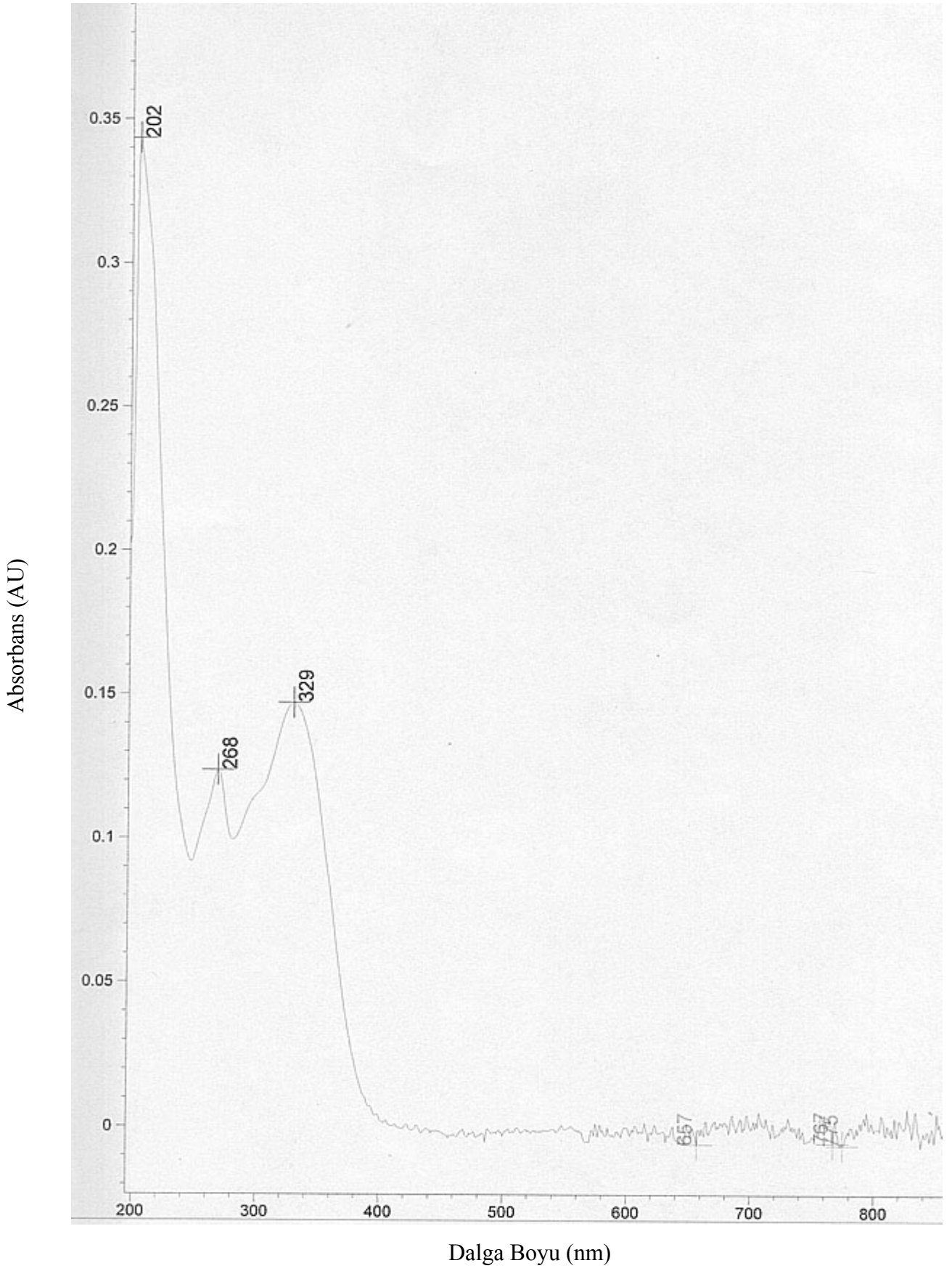
Şekil 3.8 Örnek 1.II.B' nin UV spektrumu



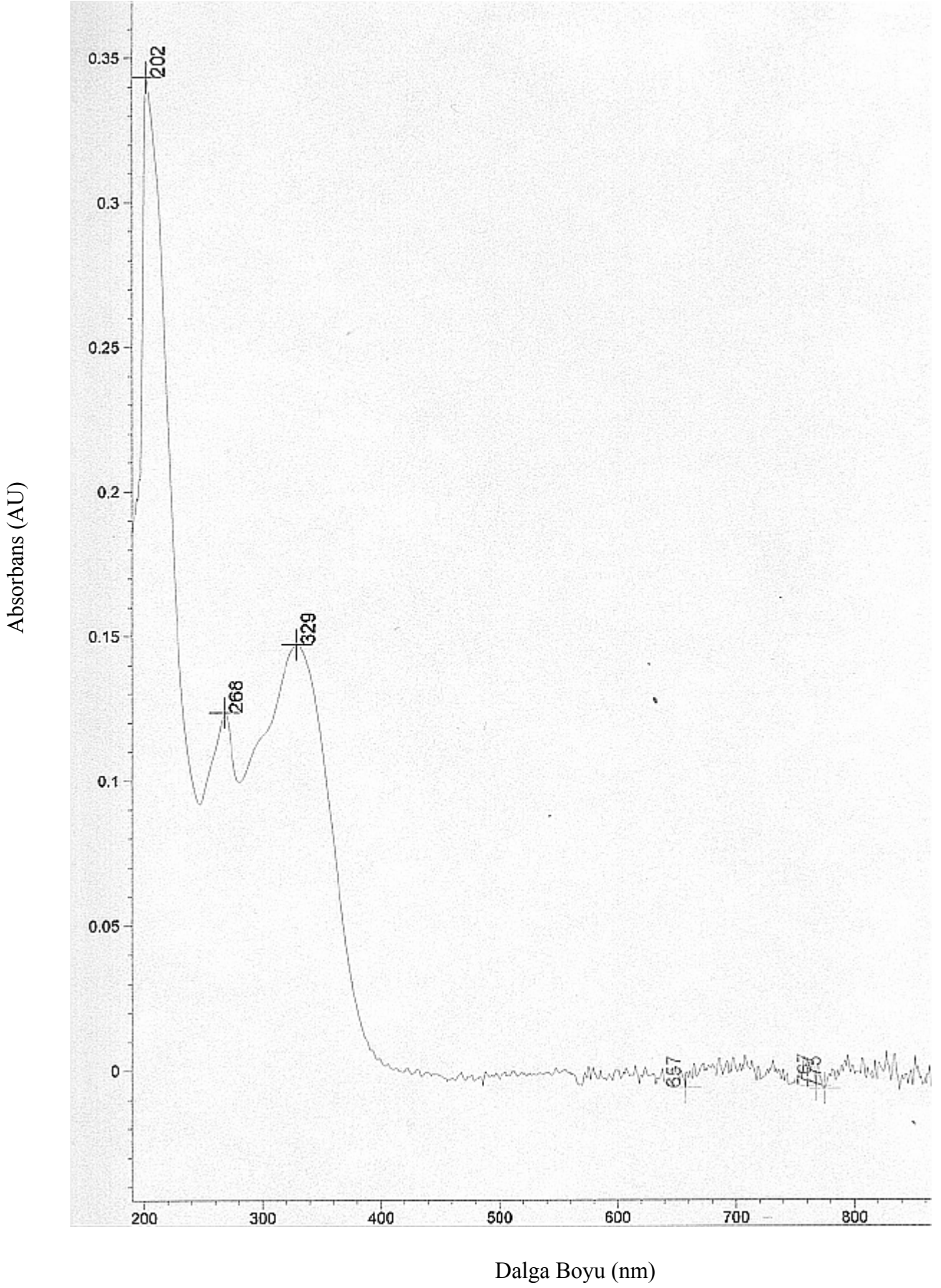
Şekil 3.9 Örnek 1.II.C'nin UV spektrumu



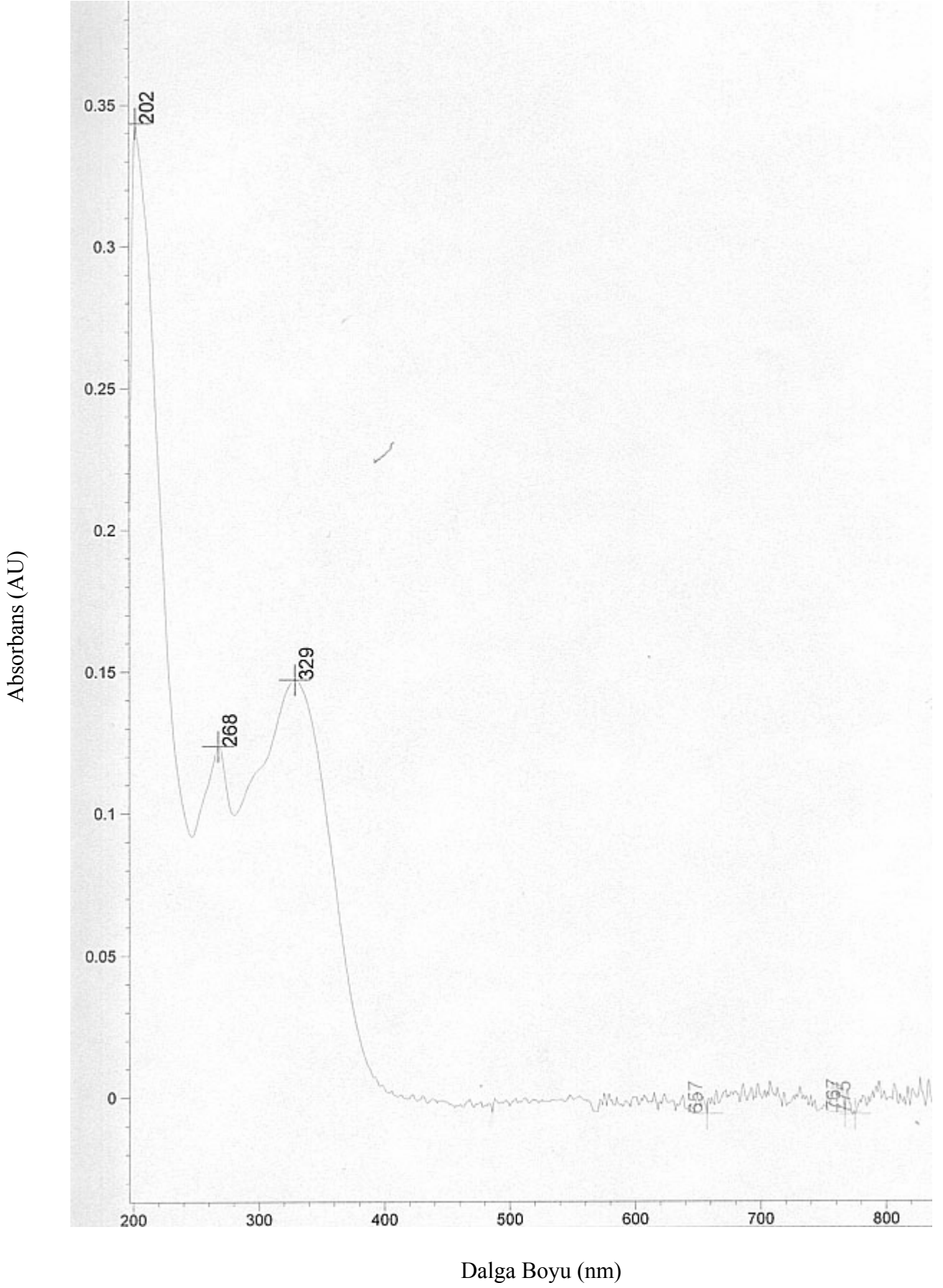
Şekil 3.10 Örnek 1.II.D'nin UV spektrumu



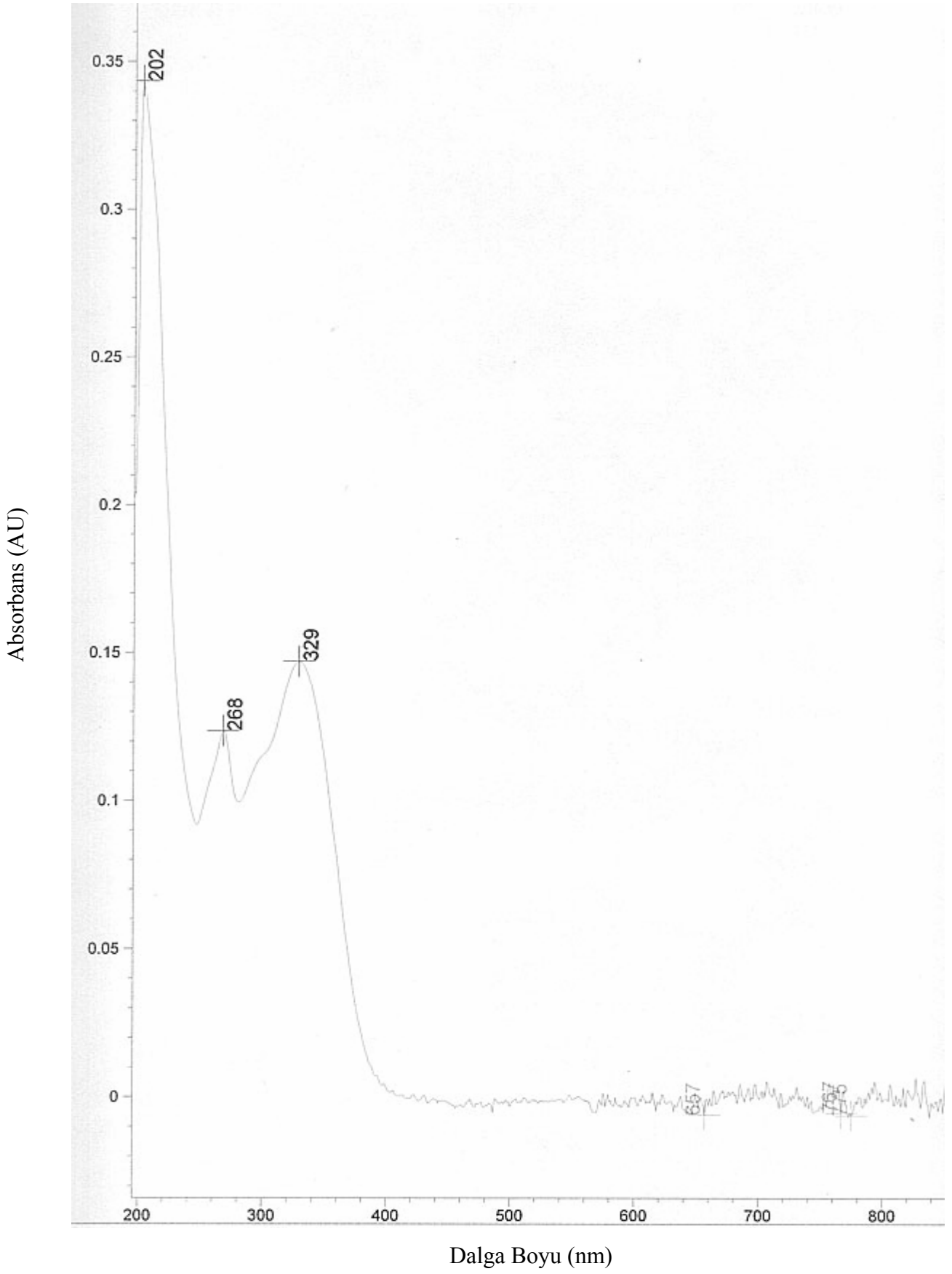
Şekil 3.11 Örnek 1.II.E'nin UV spektrumu



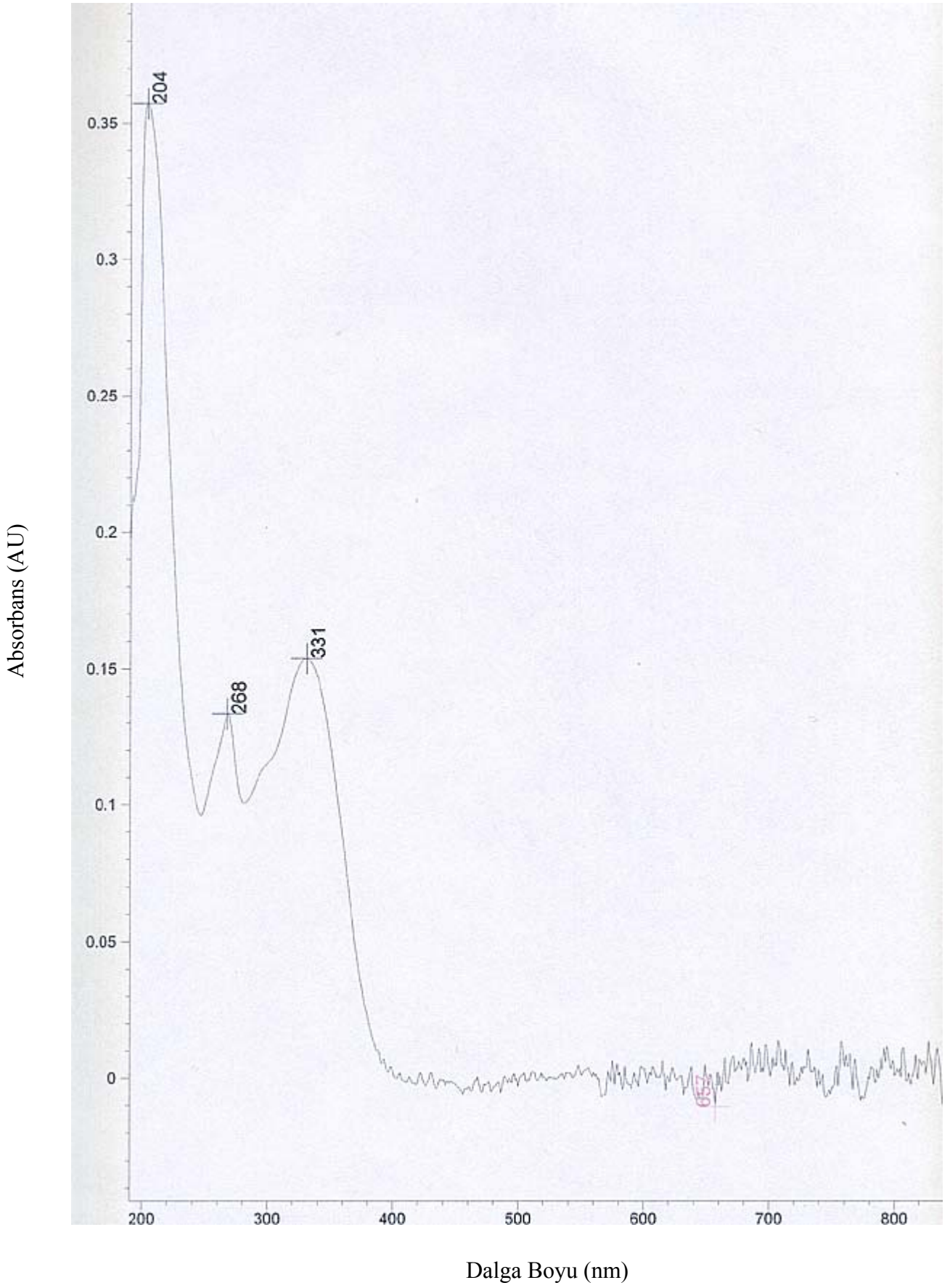
Şekil 3.12 Örnek 1.II.F'nin UV spektrumu



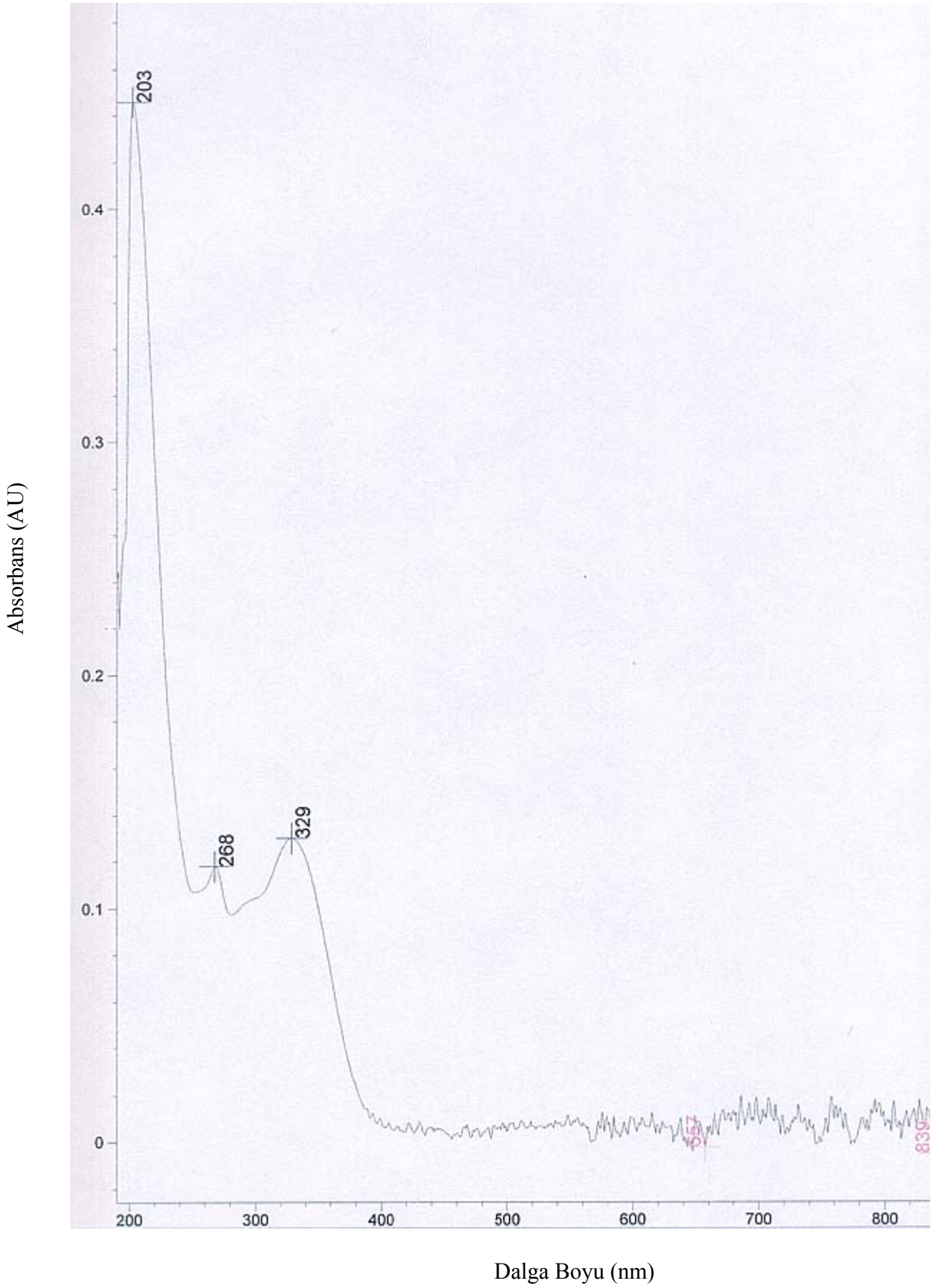
Şekil 3.13 Örnek 1.II.G'nin UV spektrumu



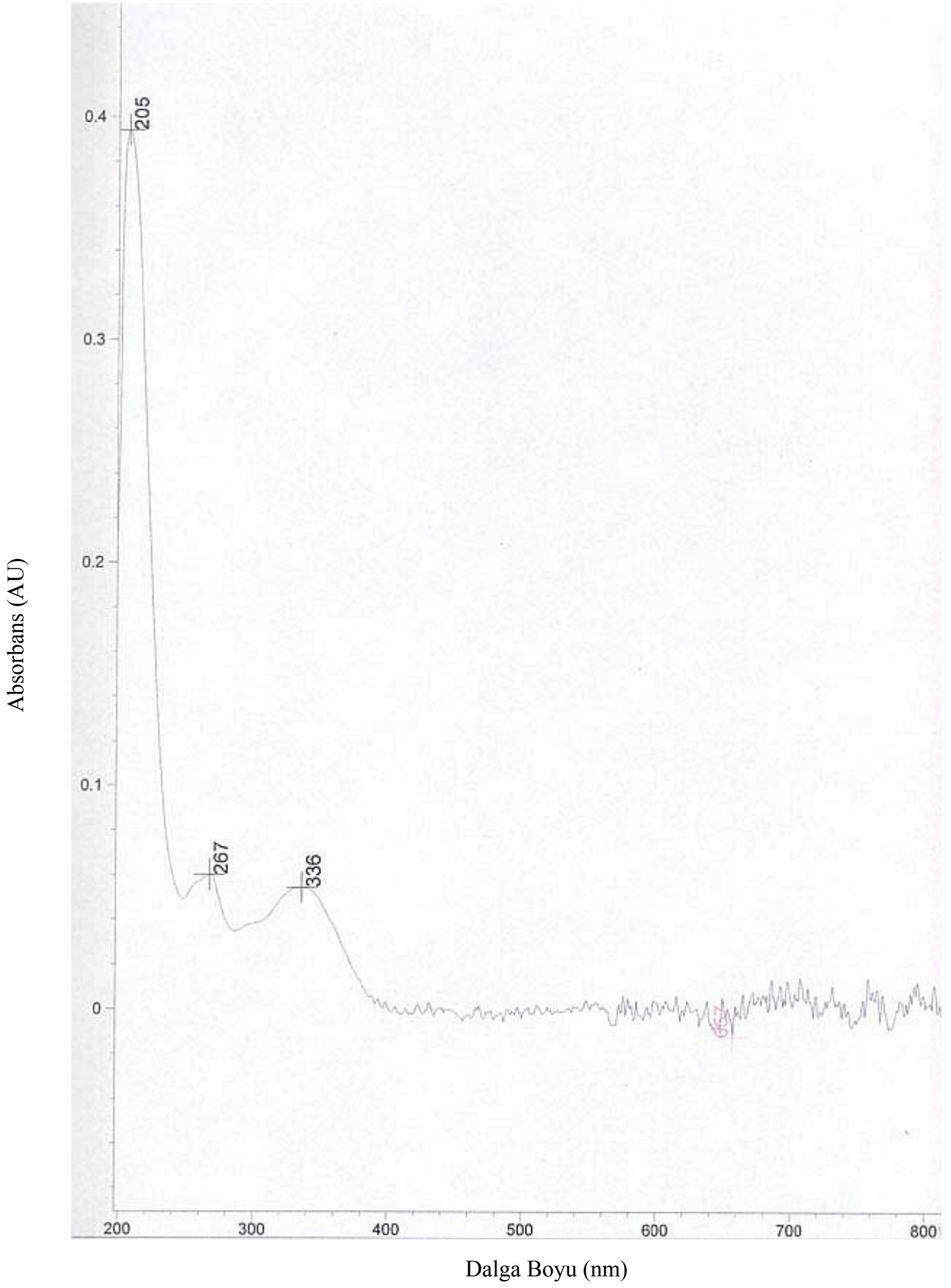
Şekil 3.14 Örnek 1.II.H'nin UV spektrumu



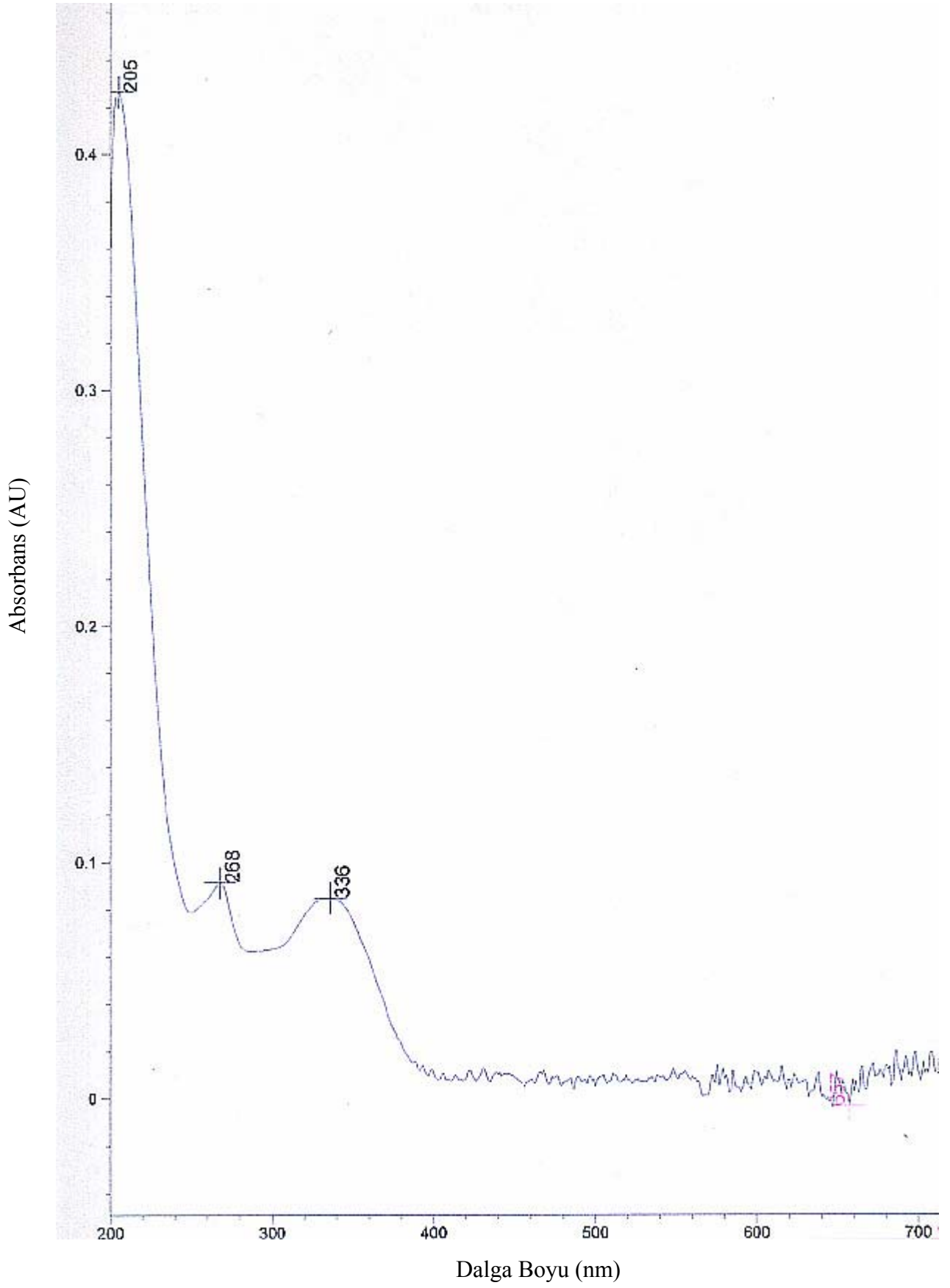
Şekil 3.15 Örnek 1.II.J'nin UV spektrumu



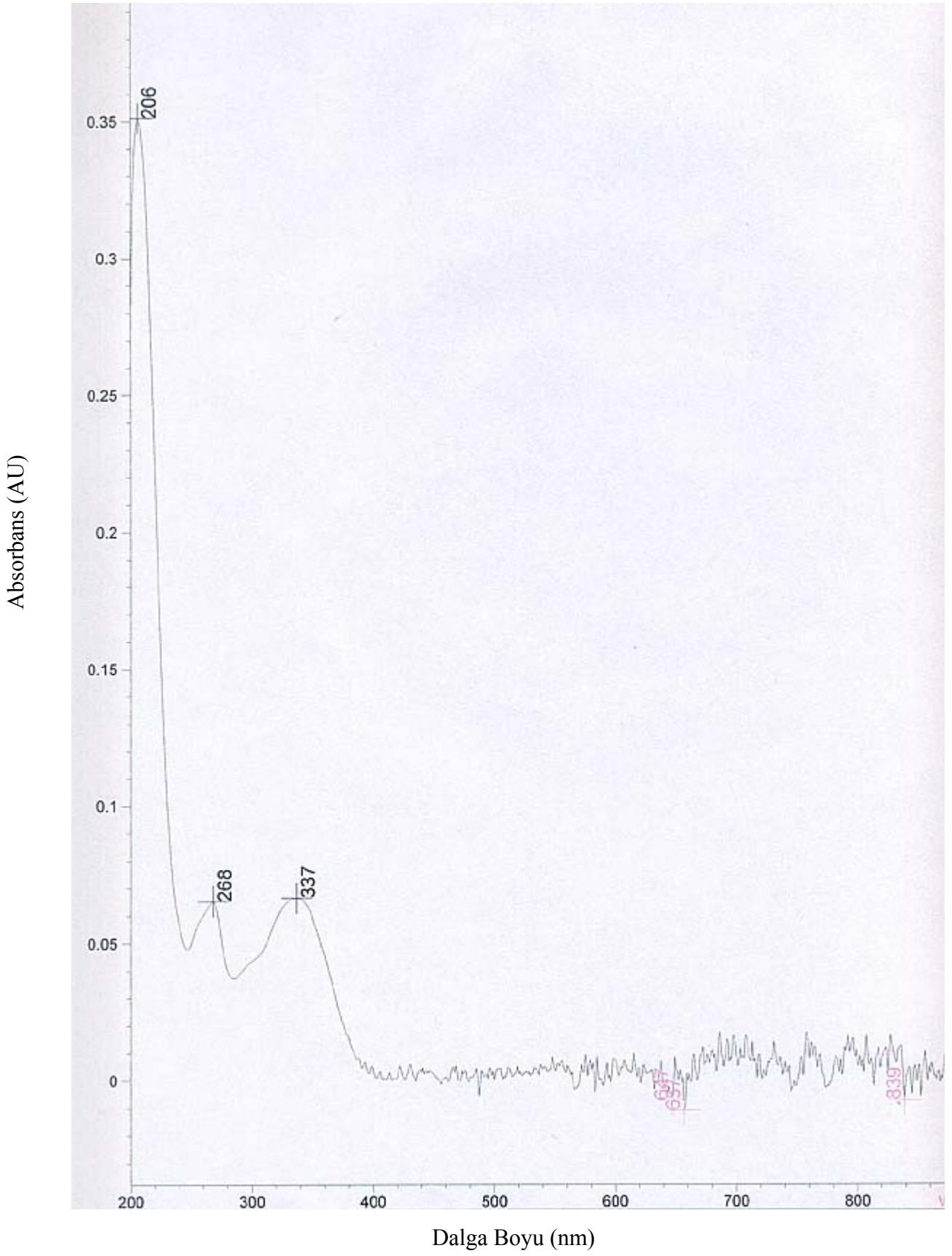
Şekil 3.16 Örnek 1.II.K'nın UV spektrumu



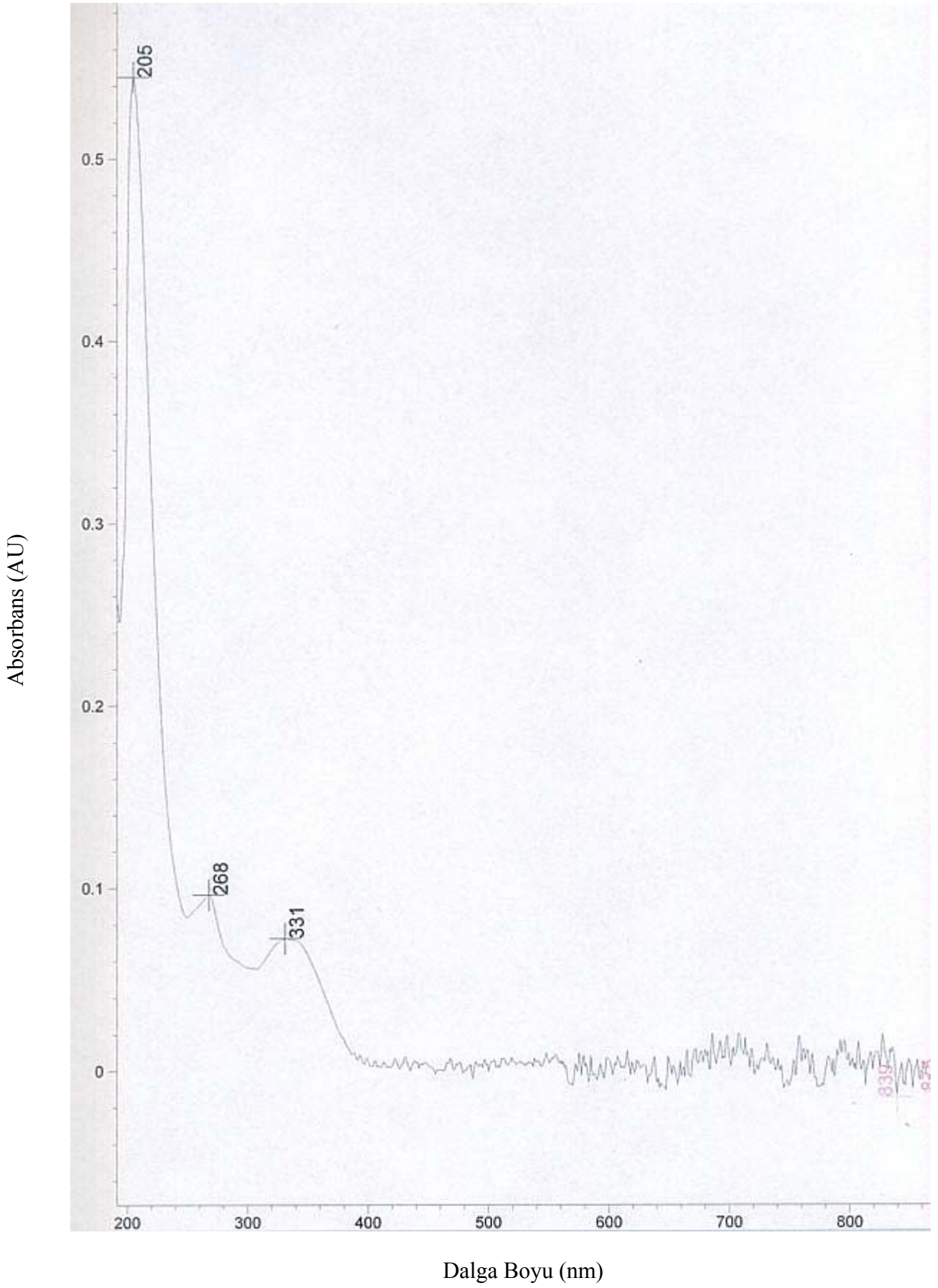
Şekil 3.17 Örnek 4.I.A'nın UV spektrumu



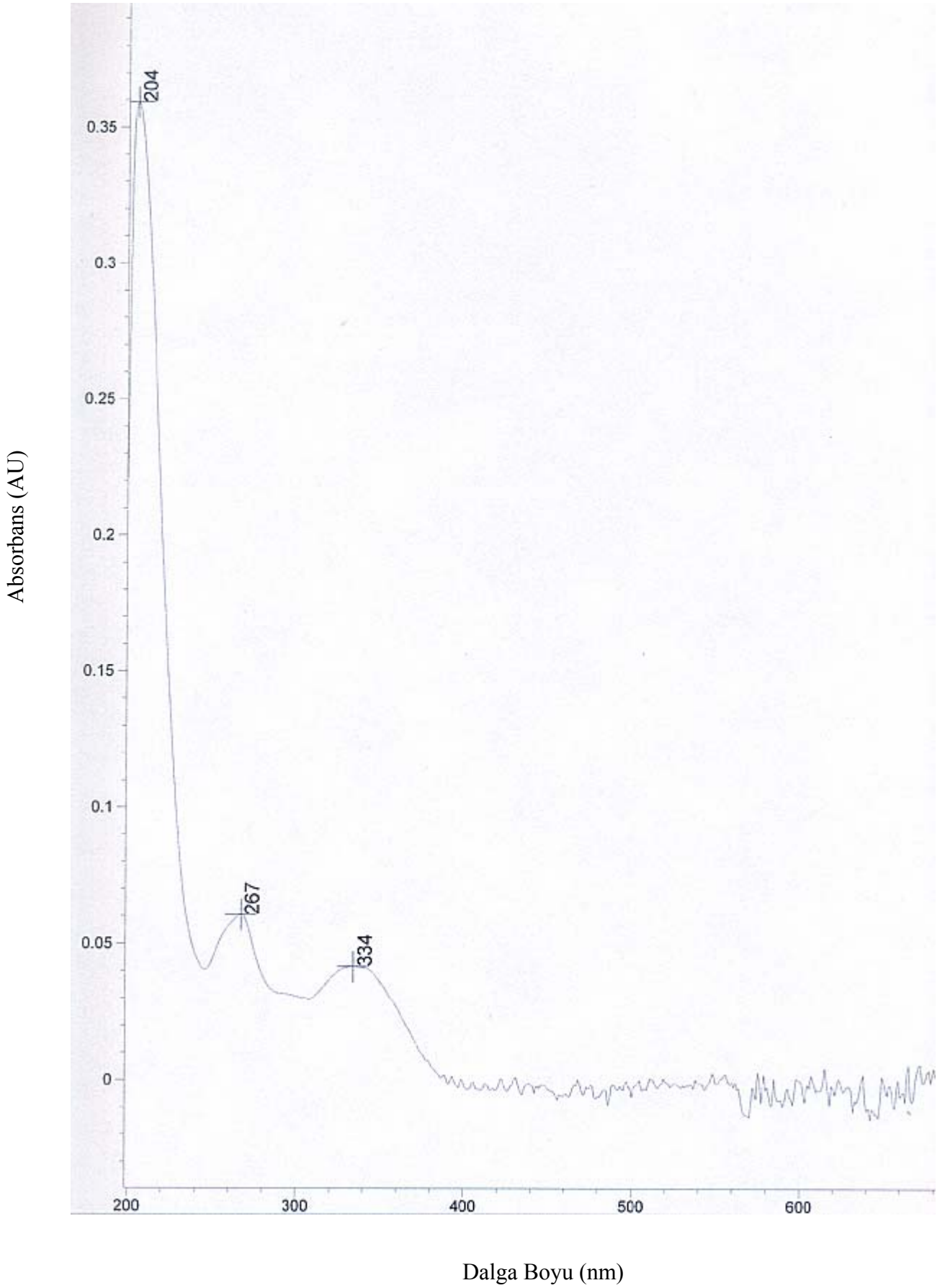
Şekil 3.18 Örnek 4.I.B'nin UV spektrumu



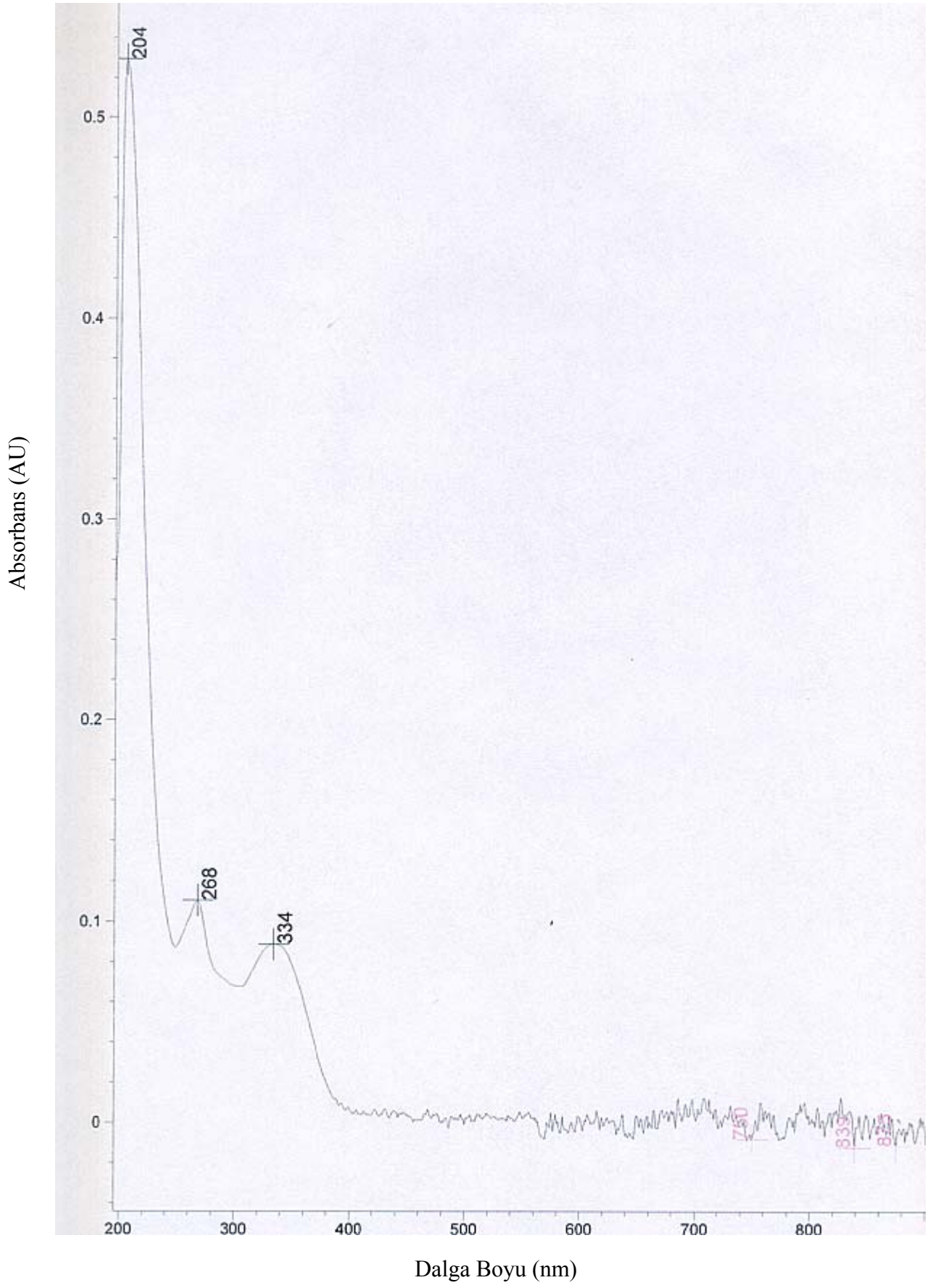
Şekil 3.19 Örnek 4.I.C'nin UV spektrumu



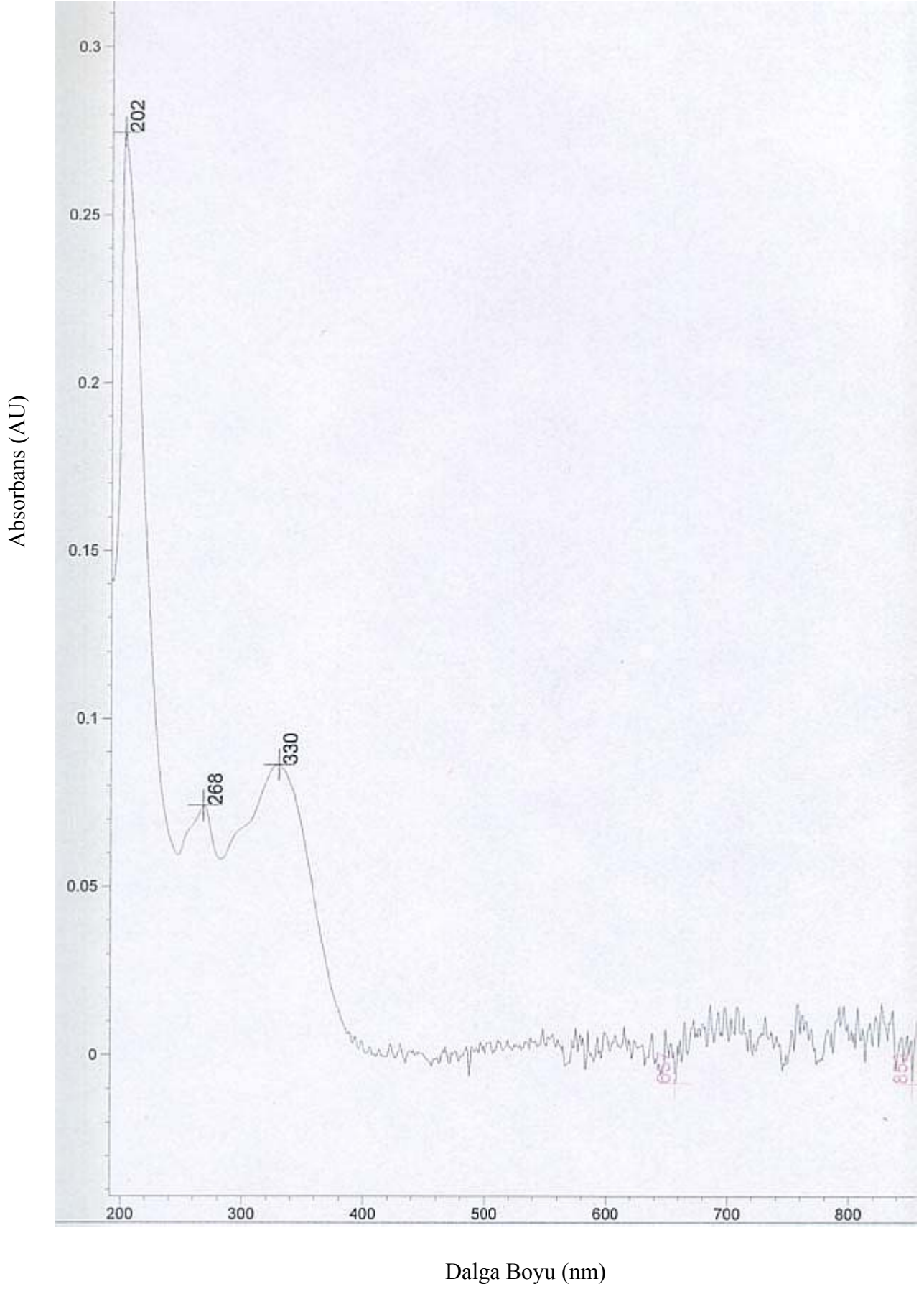
Şekil 3.20 Örnek 4.I.D'nin UV spektrumu



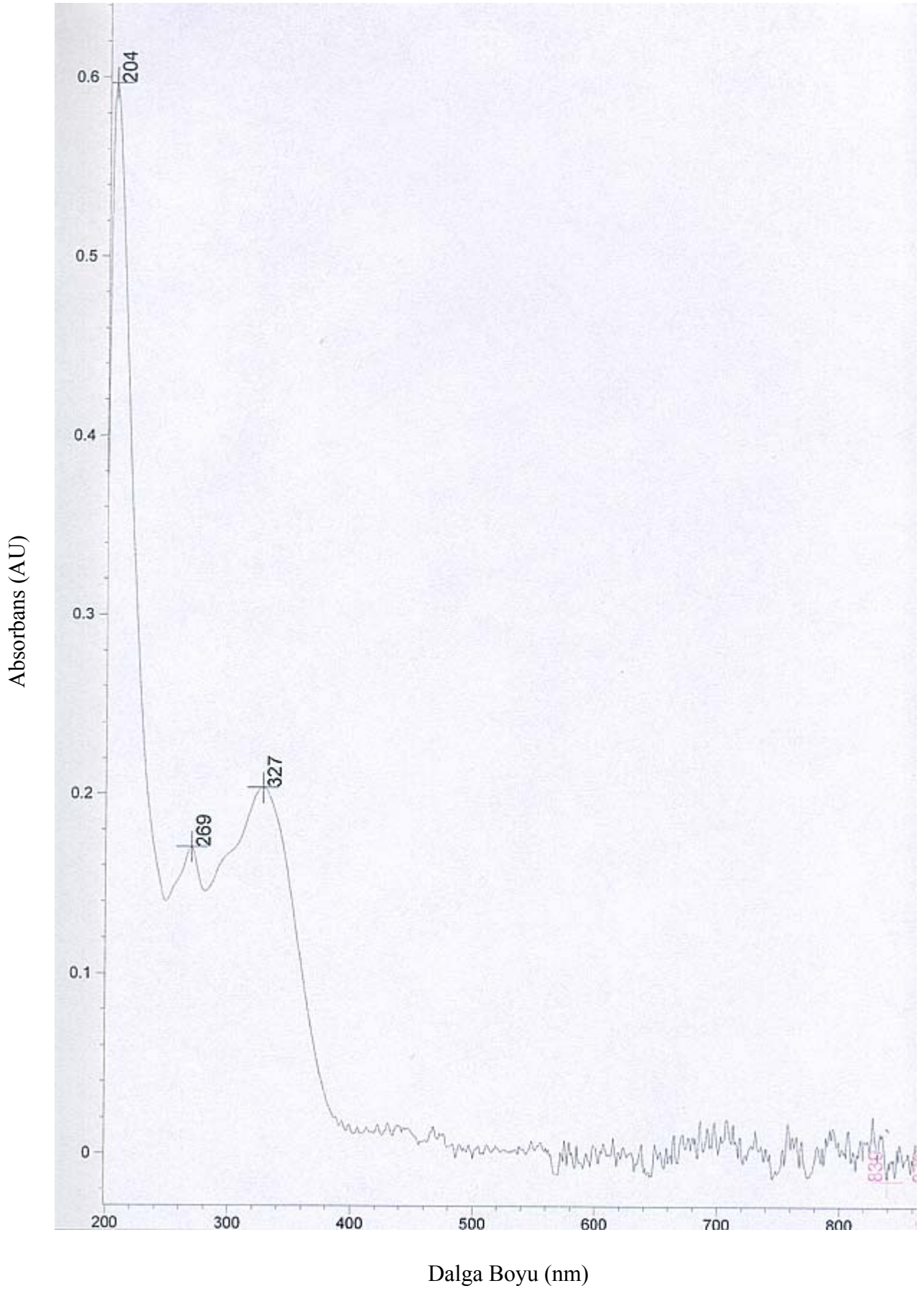
Şekil 3.21 Örnek 4.I.E'nin UV spektrumu



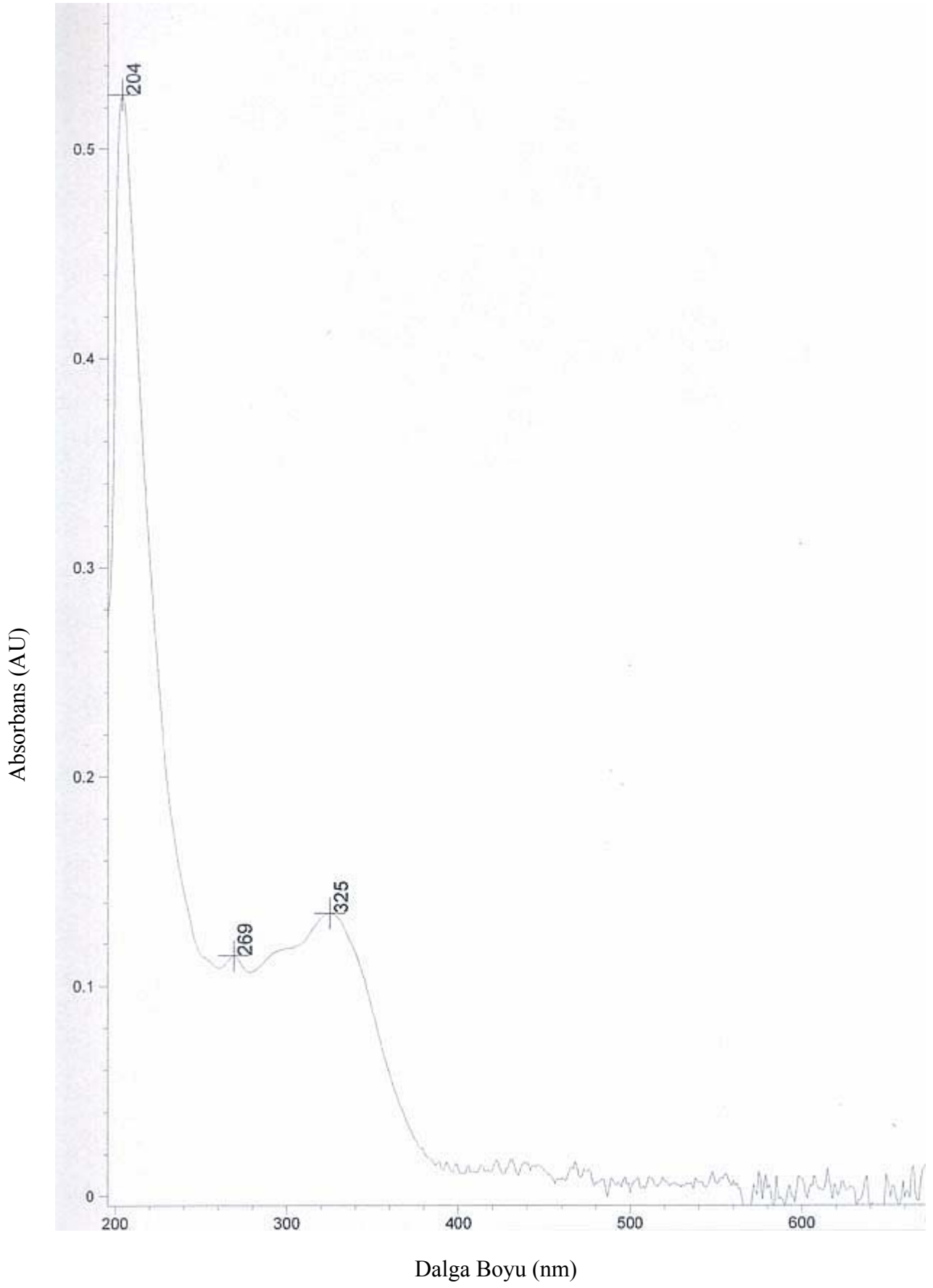
Şekil 3.22 Örnek 4.I.F'nin UV spektrumu



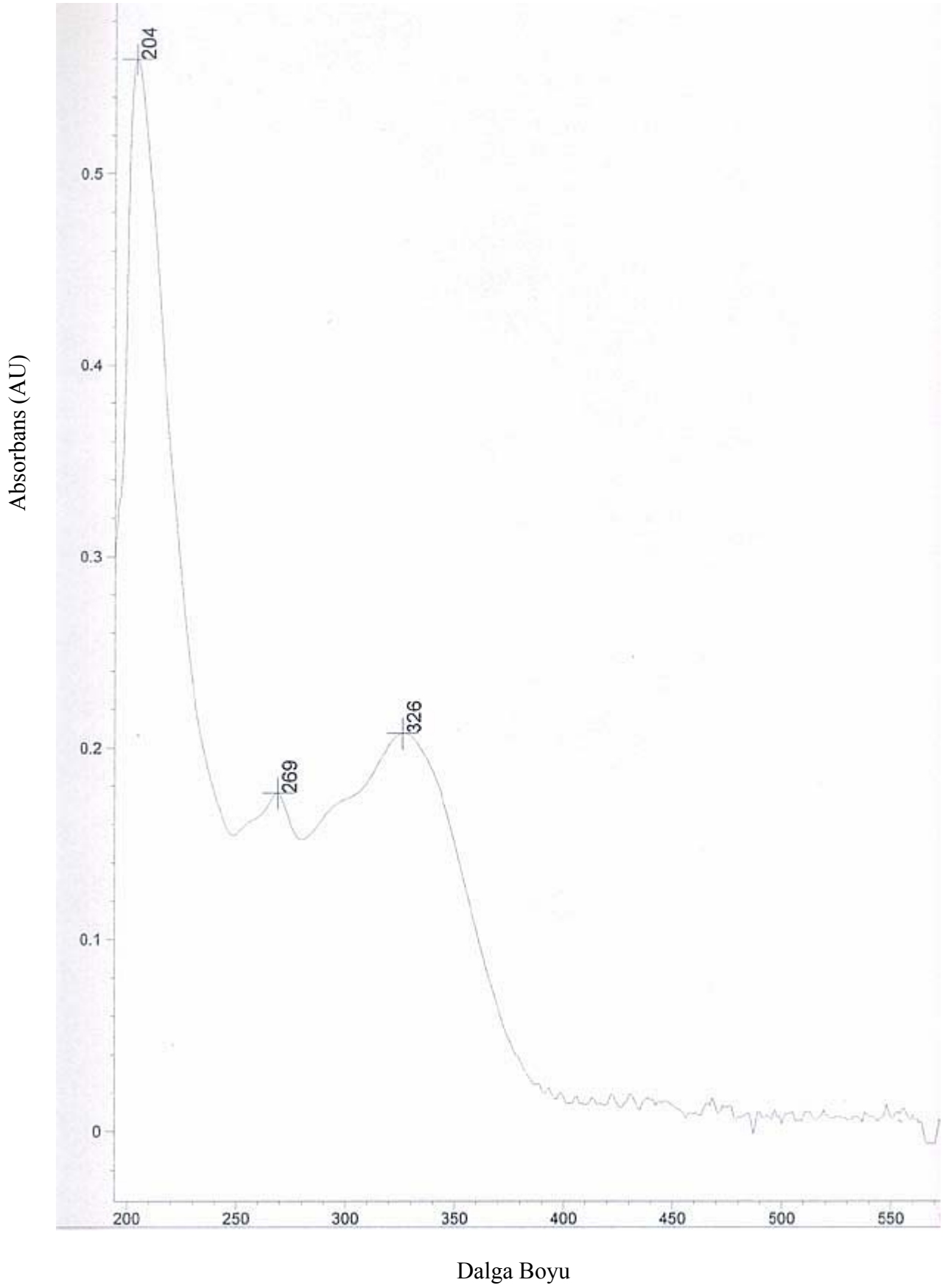
Şekil 3.23 Örnek 4.I.G'nin UV spektrumu



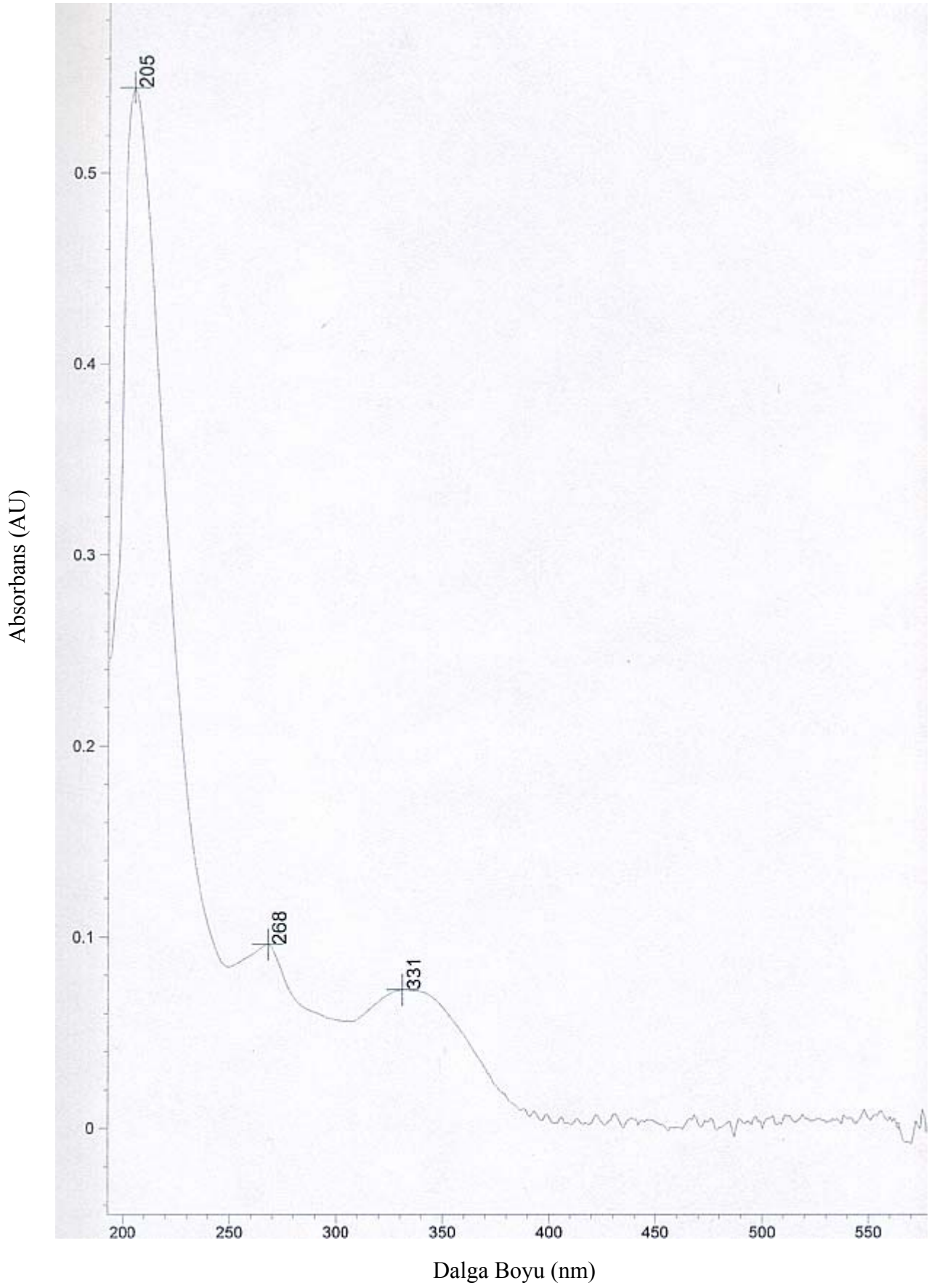
Şekil 3.24 Örnek 4.II.A'nin UV spektrumu



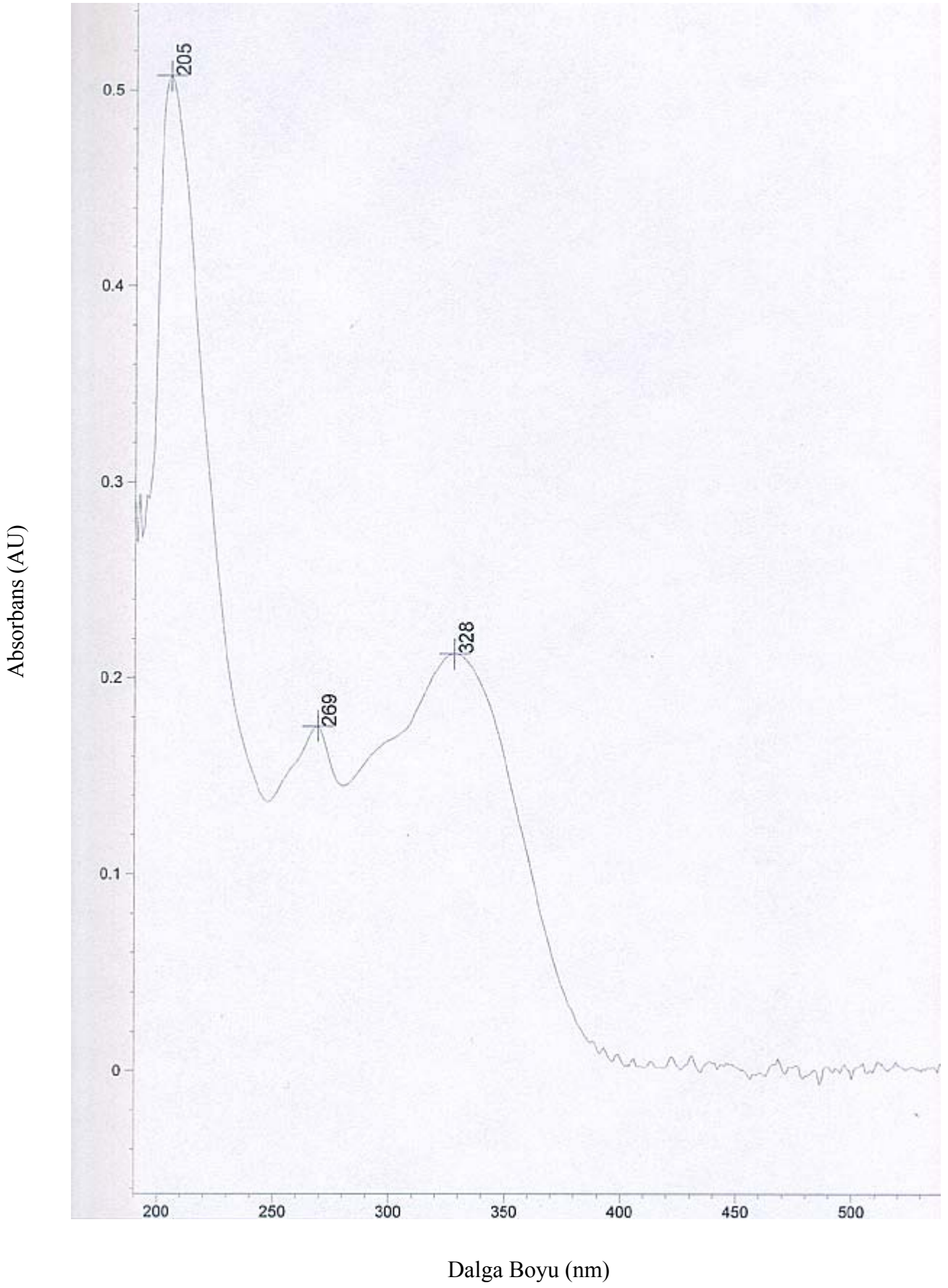
Şekil 3.25 Örnek 4.II.B' nin UV spektrumu



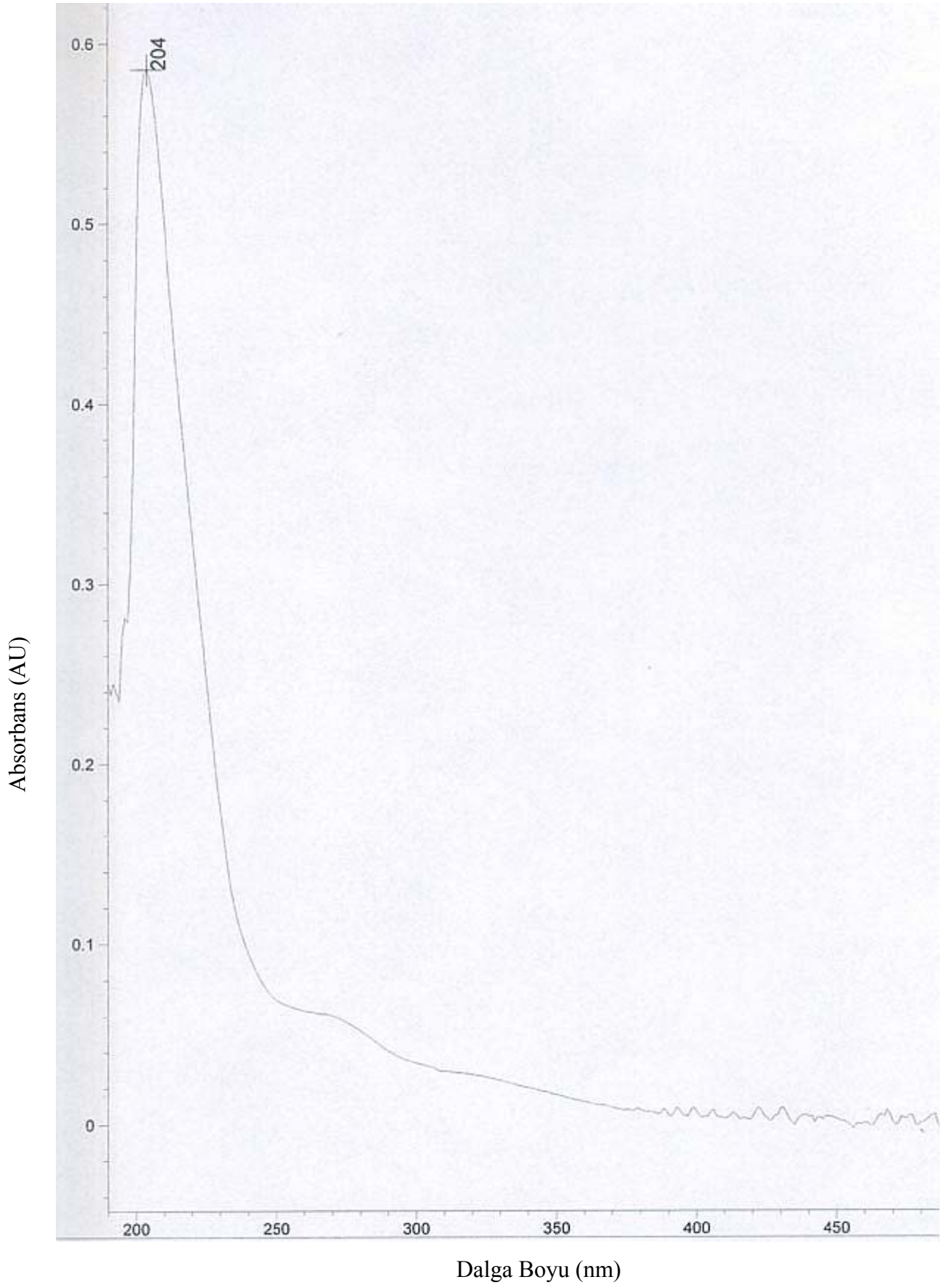
Şekil 3.26 Örnek 4.II.C'nin UV spektrumu



Şekil 3.27 Örnek 4.II.D' nin UV spektrumu



Şekil 3.28 Örnek 4.II.E'nin UV spektrumu



Şekil 3.29 Parthenolide'in UV spektrumu

3.4.4.4 UV'si Çekilen Ekstrelerdeki Parthenolide Miktarının Ölçülmesi

UV'si çekilen 1.4 mg'lık ekstre içinde kaç miligram parthenolide olduğunu hesaplamak için, İnce Tabaka Kromatografisinden yararlanıldı. Çizelge 3.5'de her bir örnekten alınan 1.4mg'lık ekstre içinde, kaçar miligram parthenolide olduğu gösterilmektedir.

Çizelge 3.5 Ekstrelerdeki parthenolide miktarları

BÖLÜNEN EKSTRELER	PARTHENOLİDE MİKTARI(mg)
I.I.A	1.35 mg
I.I.B	1.31 mg
I.II.A	1.19 mg
I.II.B	1.28 mg
I.II.C	1.23 mg
I.II.D	1.17 mg
I.II.E	1.21 mg
I.II.F	1.13 mg
I.II.G	1.05 mg
I.II.H	1.24 mg
I.II.J	1.15 mg
I.II.K	1.21 mg
IV.I.A	1.16 mg
IV.I.B	1.14 mg
IV.I.C	1.11 mg
IV.I.D	1.26 mg
IV.I.E	1.12 mg
IV.I.F	1.30 mg

Çizelge 3.5'in devamı

BÖLÜNEN EKSTRELER	PARTHENOLİDE MİKTARI(mg)
IV.I.G	1.14 mg
IV.II.A	1.30 mg
IV.II.B	1.25 mg
IV.II.C	1.32 mg
IV.II.D	1.27 mg
IV.II.E	1.24 mg

3.5 Kısmi Küçük Kareler Kalibrasyonu

3.5.1 Bilgisayar Programı Hakkında Bilgi

Veriler, Martens ve Naes'in (1989) algoritmasına göre yazılmış PLS-1 programında değerlendirildi.

3.5.2 Verilerin Bilgisayar'a Aktarılması

Parthenolide miktarları saptanan 24 örnekten 14'ü model olarak kullanılırken, kalan 10 tanesi laboratuvarında elde edilen sonuçlarla karşılaştırma yapmak için kullanıldı. Örnekler rastgele seçildi ve absorbans değerleri, bilgisayar'a madde miktarı az olandan çok olana doğru kaydedildi. Çizelge 3.6'da model olarak ve karşılaştırma yapmak için kullanılan örnekler, kaydedilme sırasına göre yer almaktadır.

Çizelge 3.6 Bilgisayar'a kaydedilen örnek gruplarının sırası

MODEL OLARAK KULLANILAN ÖRNEKLER	KARŞILAŞTIRMA YAPMAK İÇİN KULLANILAN ÖRNEKLER
I.II.G	IV.I.E
IV.I.C	I.II.F
IV.I.A	IV.I.G
I.II.D	IV.I.B
I.II.A	I.II.J
I.II.C	I.II.E
IV.II.E	I.II.K
IV.II.B	I.II.H
IV.I.D	IV.II.D
I.II.B	IV.II.C
IV.I.F	
IV.II.A	
I.I.B	
I.I.A	

3.5.3 Kalibrasyon'un Oluşturulması

Rasgele seçilen 14 örnek, kalibrasyonun oluşturulması için kullanıldı. Çizelge 3.7'de model olarak kullanılan örneklerin derişimleri ve absorbens değerleri yer almaktadır.

Çizelge 3.7 Model olarak kullanılan örneklerin derişimleri ve absorbens değeri

C (Derişim) mg/ml	Absorbans (AU)	λ (Dalga Boyu)nm											
		235	230	225	220	215	210	205	200	195	190		
C₁=0.105	A₁	0.0737	0.0903	0.1192	0.1560	0.1986	0.2377	0.2648	0.2525	0.1469	0.1332		
C₂=0.111	A₂	0.0702	0.1009	0.1525	0.2185	0.2905	0.3395	0.3498	0.2873	0.1928	0.1488		
C₃=0.116	A₃	0.0761	0.1122	0.1704	0.3437	0.3201	0.3753	0.3939	0.3319	0.1980	0.1735		
C₄=0.117	A₄	0.1162	0.1397	0.1783	0.2253	0.2765	0.3117	0.3339	0.3153	0.1971	0.1854		
C₅=0.119	A₅	0.1331	0.1642	0.2084	0.2593	0.3118	0.3593	0.4085	0.3847	0.2284	0.2156		
C₆=0.123	A₆	0.1356	0.1526	0.1885	0.2365	0.3279	0.3746	0.4251	0.4138	0.2466	0.2101		
C₇=0.124	A₇	0.1749	0.2078	0.2612	0.3263	0.4041	0.4712	0.5702	0.4157	0.2930	0.2934		
C₈=0.125	A₈	0.1674	0.1992	0.2464	0.3034	0.3735	0.4575	0.5232	0.4324	0.2675	0.2690		
C₉=0.126	A₉	0.1301	0.1726	0.2381	0.3204	0.4168	0.5042	0.5447	0.4245	0.2575	0.2608		
C₁₀=0.128	A₁₀	0.1569	0.1911	0.2389	0.2922	0.3506	0.4033	0.4651	0.4537	0.2600	0.2406		
C₁₁=0.130	A₁₁	0.1285	0.1687	0.2315	0.3102	0.4032	0.4842	0.5278	0.4324	0.2491	0.2434		
C₁₂=0.130	A₁₂	0.1847	0.2194	0.2743	0.3426	0.4295	0.5224	0.5926	0.4917	0.3077	0.3105		
C₁₃=0.131	A₁₃	0.1538	0.2095	0.2757	0.3559	0.4443	0.5326	0.6296	0.5669	0.3172	0.2832		
C₁₄=0.135	A₁₄	0.1659	0.2095	0.2757	0.3559	0.4443	0.5326	0.6296	0.5669	0.3172	0.2832		

Çizelge 3.7'nin Devamı

C (Derişim) mg/ml	Absorbans (AU)	λ (Dalga Boyu)nm											
		285	280	275	270	265	260	255	250	245	240		
C₁=0.105	A₁	0.0590	0.0583	0.0639	0.0732	0.0722	0.0686	0.0662	0.0614	0.0599	0.0645		
C₂=0.111	A₂	0.0372	0.0399	0.0500	0.0634	0.0640	0.0603	0.0567	0.0501	0.0484	0.0559		
C₃=0.116	A₃	0.0350	0.0385	0.0479	0.0584	0.0594	0.0574	0.0553	0.0503	0.0501	0.0590		
C₄=0.117	A₄	0.1020	0.0996	0.1074	0.1225	0.1194	0.1105	0.1033	0.0947	0.0931	0.1019		
C₅=0.119	A₅	0.0875	0.0852	0.0884	0.0948	0.0921	0.0881	0.0877	0.0891	0.0972	0.1124		
C₆=0.123	A₆	0.1051	0.1028	0.1095	0.1232	0.1201	0.1120	0.1075	0.1050	0.1112	0.1268		
C₇=0.124	A₇	0.1494	0.1450	0.1542	0.1740	0.1691	0.1575	0.1497	0.1391	0.1395	0.1542		
C₈=0.125	A₈	0.1100	0.1069	0.1086	0.1142	0.1113	0.1088	0.1118	0.1148	0.1258	0.1444		
C₉=0.126	A₉	0.0631	0.0686	0.0801	0.0942	0.0947	0.0907	0.0875	0.0843	0.0896	0.1059		
C₁₀=0.128	A₁₀	0.1081	0.1053	0.1105	0.1213	0.1180	0.1116	0.1093	0.1090	0.1169	0.1340		
C₁₁=0.130	A₁₁	0.0737	0.0790	0.0917	0.1082	0.1077	0.1005	0.0939	0.0876	0.0908	0.1059		
C₁₂=0.130	A₁₂	0.1497	0.1459	0.1532	0.1693	0.1646	0.1545	0.1489	0.1411	0.1449	0.1617		
C₁₃=0.131	A₁₃	0.1069	0.1059	0.1127	0.1253	0.1221	0.1139	0.1090	0.1061	0.1119	0.1285		
C₁₄=0.135	A₁₄	0.1077	0.1061	0.1108	0.1195	0.1165	0.1117	0.1115	0.1130	0.1217	0.1391		

Çizelge 3.7'nin Devamı

C (Derişim) mg/ml	Absorbans (AU)	λ (Dalga Boyu)nm													
		340	335	330	325	320	315	310	305	300	295	290			
C₁=0.105	A₁	0.0800	0.0841	0.0861	0.0852	0.0818	0.0768	0.0719	0.0688	0.0676	0.0659	0.0625			
C₂=0.111	A₂	0.0662	0.0663	0.0655	0.0631	0.0588	0.0535	0.0483	0.0453	0.0435	0.0416	0.0389			
C₃=0.116	A₃	0.0539	0.0542	0.0540	0.0523	0.0488	0.0446	0.0410	0.0391	0.0382	0.0374	0.0357			
C₄=0.117	A₄	0.1373	0.1440	0.1470	0.1455	0.1401	0.1319	0.1236	0.1179	0.1155	0.1126	0.1077			
C₅=0.119	A₅	0.1054	0.1107	0.1131	0.1123	0.1090	0.1036	0.0984	0.0948	0.0936	0.0924	0.0908			
C₆=0.123	A₆	0.1384	0.1437	0.1452	0.1431	0.1376	0.1294	0.1214	0.1159	0.1136	0.1114	0.1090			
C₇=0.124	A₇	0.1957	0.2062	0.2120	0.2111	0.2376	0.1919	0.1795	0.1720	0.1682	0.1643	0.1576			
C₈=0.125	A₈	0.1156	0.1250	0.1320	0.1345	0.1323	0.1270	0.1214	0.1188	0.1177	0.1166	0.1143			
C₉=0.126	A₉	0.0714	0.0722	0.0722	0.0703	0.0664	0.0616	0.0571	0.0562	0.0566	0.0582	0.0605			
C₁₀=0.128	A₁₀	0.1363	0.1425	0.1450	0.1434	0.1386	0.1311	0.1238	0.1186	0.1166	0.1147	0.1123			
C₁₁=0.130	A₁₁	0.0878	0.0884	0.0879	0.0854	0.0807	0.0749	0.0693	0.0677	0.0678	0.0691	0.0714			
C₁₂=0.130	A₁₂	0.1835	0.1949	0.2027	0.2031	0.1973	0.1873	0.1767	0.1704	0.1670	0.1636	0.1573			
C₁₃=0.131	A₁₃	0.1309	0.1358	0.1379	0.1362	0.1315	0.1247	0.1178	0.1133	0.1122	0.1111	0.1098			
C₁₄=0.135	A₁₄	0.1243	0.1301	0.1331	0.1325	0.1287	0.1228	0.1171	0.1135	0.1128	0.1120	0.1108			

Çizelge 3.7'nin Devamı

C (Derişim) mg/ml	Absorbans (AU)	λ (Dalga Boyu)nm											
		395	390	385	380	375	370	365	360	355	350	345	
C ₁ =0.105	A ₁	0.0027	0.0040	0.0077	0.0126	0.0182	0.0258	0.0347	0.0450	0.0550	0.0649	0.0736	
C ₂ =0.111	A ₂	0.0345	0.0504	0.0903	0.0147	0.0207	0.0284	0.0366	0.0452	0.0524	0.0590	0.0640	
C ₃ =0.116	A ₃	0.0017	0.0033	0.0069	0.0119	0.0169	0.0232	0.0296	0.0368	0.0416	0.0475	0.0520	
C ₄ =0.117	A ₄	0.0517	0.0817	0.0136	0.0216	0.0318	0.0454	0.0613	0.0798	0.0959	0.1129	0.1269	
C ₅ =0.119	A ₅	0.0168	0.0192	0.0227	0.0280	0.0348	0.0435	0.0536	0.0647	0.0765	0.0877	0.0977	
C ₆ =0.123	A ₆	0.0150	0.0182	0.0231	0.0306	0.0407	0.0536	0.0690	0.0854	0.1020	0.1171	0.1294	
C ₇ =0.124	A ₇	0.0068	0.0101	0.0173	0.0282	0.0414	0.0601	0.0820	0.1079	0.1318	0.1573	0.1796	
C ₈ =0.125	A ₈	0.0121	0.0129	0.0161	0.0211	0.0264	0.0347	0.0448	0.0576	0.0711	0.0871	0.1031	
C ₉ =0.126	A ₉	0.0051	0.0068	0.0108	0.0166	0.0225	0.0307	0.0394	0.0482	0.0561	0.0632	0.0687	
C ₁₀ =0.128	A ₁₀	0.0170	0.0203	0.0249	0.0319	0.0414	0.0533	0.0674	0.0829	0.0986	0.1137	0.1266	
C ₁₁ =0.130	A ₁₁	0.0070	0.0093	0.0136	0.0202	0.0279	0.0380	0.0487	0.0599	0.0694	0.0782	0.0845	
C ₁₂ =0.130	A ₁₂	0.0141	0.0165	0.0222	0.0312	0.0421	0.0581	0.0769	0.0996	0.1211	0.1453	0.1679	
C ₁₃ =0.131	A ₁₃	0.0388	0.0307	0.0341	0.0402	0.0489	0.0599	0.0724	0.0859	0.0997	0.1121	0.1229	
C ₁₄ =0.135	A ₁₄	0.0301	0.0318	0.0347	0.0400	0.0476	0.0570	0.0680	0.0800	0.0924	0.1046	0.1156	

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, farklı bölgelerden toplanan *T. parthenium* türündeki parthenolide varlığı ve madde miktarı, kromatografik yöntemlerle ve kısmi en küçük kareler kalibrasyonu yöntemiyle tayin edilmiş ve iki yöntem karşılaştırılmıştır. *T. parthenium* türü, içerdiği parthenolide maddesinin migren, kanser, MS gibi hastalıkların tedavisinde kullanıldığı için, ekonomik değeri yüksek türlerden biridir. Bu nedenle, içerdiği parthenolide maddesinin miktarının fazlalığı ve kolay hesaplanabilmesi büyük önem taşımaktadır.

Bu tez çalışmasında, farklı 4 bölgeden toplanan bitki örneklerinden, sadece iki bölgeden toplanan örneklerde parthenolide olduğu görülmüştür. Bu bölgeler, “İstanbul-Beyazıt” ve “Bolu-Çubuk yaylası” bölgeleridir. “İstanbul-Beşiktaş” ve “Bolu-Göynük” den toplanan bitkilerde ise parthenolide varlığına rastlanılmamıştır. Parthenolide maddesi, bitkilerin sadece çiçek kısımlarının etil asetat ve metanol ekstralarında görülmüştür.

Parthenolide varlığı tespit edilen ekstralar, 3'er gramlık örnekler şeklinde bölünerek toplam 24 adet örnek elde edilmiştir. Bu örneklerden 14'ü kalibrasyon modeli oluşturmak için kullanılırken, diğer 10 örnek, madde miktarları her iki yolla da tayin edilerek, kontrol amacıyla kullanılmıştır.

Seçilen 14 örneğin absorbens değerleri ve kromatografik yollarla saptanan madde miktarları, kalibrasyon oluşturulması için PLS-1 programında değerlendirilmiş ve diğer 10 örneğin absorbens değerleri kaydedilerek madde miktarları yine PLS-1 programı ile tahmin edilmiştir.

Tabloda 3.7'de derişimleri ve absorbensları verilen örnekler için, PLS ile bulunan b katsayıları Çizelge 4.1'de verilmektedir.

Çizelge 4.1 b katsayıları

b katsayıları					
b₁	2.937448E-02	b₁₅	1.700546E-02	b₂₉	3.003437E-02
b₂	7.266260E-02	b₁₆	1.052339E-02	b₃₀	1.997601E-02
b₃	3.8728E-04	b₁₇	1.710182E-02	b₃₁	1.552270E-02
b₄	2.459309E-02	b₁₈	1.004761E-02	b₃₂	8.10580E-03
b₅	8.705974E-02	b₁₉	1.227309E-02	b₃₃	4.0566E-04
b₆	1.891753E-02	b₂₀	1.56028E-03	b₃₄	-7.66350E-03
b₇	2.07315E-03	b₂₁	1.823514E-02	b₃₅	-1.670702E-02
b₈	-6.54804E-03	b₂₂	-9.202386E-02	b₃₆	-5.921236E-02
b₉	4.417729E-02	b₂₃	-2.141841E-02	b₃₇	-3.685842E-02
b₁₀	-5.583410E-02	b₂₄	8.88907E-03	b₃₈	-3.944706E-02
b₁₁	-7.039759E-02	b₂₅	1.0533280E-01	b₃₉	-4.296506E-02
b₁₂	-6.436820E-02	b₂₆	6.933357E-02	b₄₀	-4.025801E-02
b₁₃	-4.419798E-02	b₂₇	9.62614E-03	b₄₁	-3.780313E-02
b₁₄	-2.403648E-02	b₂₈	1.269833E-02	b₄₂	-4.073294E-02
b₀			0.101229400		

Absorbans değerleri bilinen 10 örnek için, b katsayıları ve absorbans değerleri aşağıdaki formülde yerine konularak, her bir örnek için C (mg/ml) derişimleri hesaplanmıştır

$$C \text{ (mg/ml)} = b_0 + b_1A_1 + b_2A_2 + b_3A_3 + b_4A_4 + \dots + b_{42}A_{42} \quad (4.1)$$

Çizelge 4.2’de madde miktarları kalibrasyon yoluyla bulunan, 10 örneğe ait absorbans değerleri ve madde miktarları yer almaktadır.

Çizelge 4.2 Madde miktarı PLS ile tahmin edilen 10 örneğe ait absorbans ve derişim değerleri

C (Derişim) mg/ml	Absorbans (AU)	λ (Dalga Boyu)nm												
		235	230	225	220	215	210	205	200	195	190			
C₁=0.118	A₁	0.0576	0.0847	0.1303	0.1901	0.2612	0.3245	0.3582	0.2944	0.1604	0.1615			
C₂=0.123	A₂	0.1012	0.1249	0.1575	0.1935	0.2329	0.2712	0.3032	0.2941	0.1675	0.1413			
C₃=0.120	A₃	0.0440	0.0656	0.1025	0.2515	0.2116	0.2669	0.2957	0.2426	0.1333	0.1384			
C₄=0.113	A₄	0.1182	0.1542	0.2080	0.2728	0.3456	0.4026	0.4264	0.3652	0.2236	0.2095			
C₅=0.119	A₅	0.1233	0.1504	0.1928	0.2429	0.3000	0.3405	0.3564	0.3224	0.2183	0.1965			
C₆=0.122	A₆	0.1477	0.1808	0.2255	0.2744	0.2946	0.3426	0.3937	0.3864	0.2474	0.2577			
C₇=0.121	A₇	0.1545	0.1876	0.2359	0.2920	0.3522	0.4052	0.4415	0.3973	0.2567	0.2417			
C₈=0.124	A₈	0.1710	0.2074	0.2615	0.3258	0.3950	0.4572	0.5013	0.4512	0.2826	0.2345			
C₉=0.125	A₉	0.2127	0.2519	0.3114	0.3821	0.4672	0.5476	0.5975	0.4942	0.3291	0.3168			
C₁₀=0.130	A₁₀	0.2976	0.2310	0.2842	0.3494	0.4785	0.5056	0.5586	0.4674	0.3105	0.3021			

Çizelge 4.2'nin Devamı

C (Derişim) mg/ml	Absorbans (AU)	λ (Dalga Boyu)nm											
		285	280	275	270	265	260	255	250	245	240		
C₁=0.118	A₁	0.0331	0.0380	0.0476	0.0587	0.0598	0.0566	0.0518	0.0438	0.0404	0.0455		
C₂=0.123	A₂	0.0631	0.0624	0.0671	0.0754	0.0741	0.0710	0.0706	0.0708	0.0758	0.0865		
C₃=0.120	A₃	0.0337	0.0377	0.0452	0.0534	0.0534	0.0496	0.0444	0.0367	0.0326	0.0353		
C₄=0.113	A₄	0.0622	0.0649	0.0751	0.0893	0.0892	0.0844	0.0814	0.0787	0.0834	0.0976		
C₅=0.119	A₅	0.1021	0.1007	0.1117	0.1314	0.1289	0.1186	0.1098	0.0993	0.0974	0.1075		
C₆=0.122	A₆	0.1851	0.1985	0.2166	0.2352	0.2289	0.2098	0.1866	0.1590	0.1390	0.1327		
C₇=0.121	A₇	0.0987	0.0976	0.1046	0.1170	0.1145	0.1090	0.1074	0.1073	0.1154	0.1323		
C₈=0.124	A₈	0.1099	0.1084	0.1147	0.1264	0.1238	0.1187	0.1180	0.1186	0.1276	0.1460		
C₉=0.125	A₉	0.1607	0.1568	0.1664	0.1871	0.1819	0.1699	0.1633	0.1569	0.1639	0.1855		
C₁₀=0.130	A₁₀	0.1563	0.1522	0.1593	0.1751	0.1715	0.1637	0.1608	0.1551	0.1591	0.1753		

Çizelge 4.2'nin Devamı

C (Derişim) mg/ml	Absorbans (AU)	λ (Dalga Boyu)nm										
		340	335	330	325	320	315	310	305	300	295	290
C ₁ =0.118	A ₁	0.0411	0.0414	0.0412	0.0397	0.0368	0.0334	0.0302	0.0300	0.0306	0.0315	0.0317
C ₂ =0.123	A ₂	0.0786	0.0824	0.0842	0.0833	0.0800	0.0753	0.0706	0.0679	0.0668	0.0660	0.0650
C ₃ =0.120	A ₃	0.0382	0.0388	0.0392	0.0382	0.0361	0.0336	0.0314	0.0310	0.0317	0.0325	0.0327
C ₄ =0.113	A ₄	0.0839	0.0847	0.0842	0.0819	0.0777	0.0723	0.0670	0.0643	0.0630	0.0625	0.0622
C ₅ =0.119	A ₅	0.1462	0.1519	0.1536	0.1508	0.1441	0.1346	0.1248	0.1184	0.1154	0.1122	0.1073
C ₆ =0.122	A ₆	0.1223	0.1277	0.1298	0.1279	0.1236	0.1187	0.1170	0.1236	0.1374	0.1542	0.1791
C ₇ =0.121	A ₇	0.1216	0.1273	0.1300	0.1288	0.1242	0.1173	0.1103	0.1061	0.1045	0.1033	0.1017
C ₈ =0.124	A ₈	0.1307	0.1374	0.1409	0.1400	0.1355	0.1285	0.1215	0.1173	0.1160	0.1150	0.1133
C ₉ =0.125	A ₉	0.2048	0.2150	0.2204	0.2192	0.2116	0.1996	0.1868	0.1791	0.1753	0.1720	0.1674
C ₁₀ =0.130	A ₁₀	0.1871	0.1985	0.2059	0.2070	0.2016	0.1921	0.1820	0.1762	0.1733	0.1700	0.1640

Çizelge 4.2'nin Devamı

C (Derişim) mg/ml	Absorbans (AU)	λ (Dalga Boyu)nm													
		395	390	385	380	375	370	365	360	355	350	345			
C₁=0.118	A₁	-0.0001	-0.0006	0.0020	0.0060	0.0097	0.0151	0.0204	0.0265	0.0310	0.0360	0.0394			
C₂=0.123	A₂	0.0048	0.0060	0.0093	0.0140	0.0191	0.0265	0.0353	0.0455	0.0548	0.0645	0.0726			
C₃=0.120	A₃	-0.0010	0.0005	0.0028	0.0062	0.0102	0.0150	0.0199	0.0251	0.0290	0.0333	0.0365			
C₄=0.113	A₄	0.0108	0.0123	0.0165	0.0226	0.0293	0.0382	0.0478	0.0585	0.0666	0.0749	0.0809			
C₅=0.119	A₅	0.0035	0.0064	0.0127	0.0218	0.0331	0.0483	0.0662	0.0867	0.1043	0.1223	0.1364			
C₆=0.122	A₆	0.0017	0.0036	0.0089	0.0167	0.0253	0.0377	0.0523	0.0696	0.0849	0.1006	0.1132			
C₇=0.121	A₇	0.0091	0.0112	0.0162	0.0235	0.0318	0.0433	0.0566	0.0719	0.0860	0.1005	0.1126			
C₈=0.124	A₈	0.0010	0.0128	0.0181	0.0256	0.0345	0.0463	0.0603	0.0761	0.0914	0.1069	0.1204			
C₉=0.125	A₉	0.0127	0.0160	0.0232	0.0343	0.0480	0.0672	0.0900	0.1160	0.1411	0.1666	0.1888			
C₁₀=0.130	A₁₀	0.0180	0.0208	0.0270	0.0362	0.0473	0.0632	0.0818	0.1038	0.1259	0.1493	0.1709			

Her iki yöntemle de bulunan madde miktarlarının birbirine çok yakın olduğu görülmüştür. Çizelge 4.3’de 10 örneğe ait, PLS ve Kromatografi yöntemleri ile bulunan madde miktarları ayrı ayrı verilmiştir.

Çizelge 4.3 Kromatografi ve PLS ile bulunan madde miktarlarının karşılaştırılması

Örnek	Kromatografi yoluyla bulunan madde miktarları (C_1)	PLS ile bulunan madde miktarları (C_2)	Madde miktarları arasındaki mutlak fark $d_i = C_1 - C_2 $
IV.I.E	0.112	0.118	0.006
I.II.F	0.113	0.123	0.01
IV.I.G	0.114	0.120	0.006
IV.II.B	0.114	0.113	0.001
I.II.J	0.115	0.119	0.004
I.II.E	0.121	0.122	0.001
I.II.K	0.121	0.121	0.0
I.II.H	0.124	0.124	0.0
IV.II.D	0.127	0.125	0.002
IV.II.C	0.132	0.130	0.002

İki yöntem ile bulunan madde miktarları arasındaki mutlak farkların toplamı;

$$\sum = 0.0032$$

Buradan mutlak farkların ortalaması;

$$\bar{d} = \frac{\sum}{n} = \frac{0.032}{10} = 0.0032 \quad (4.2)$$

bulunur.

n = Örnek sayısı

Bu sonuca göre eşleşmiş T testi uygulandı ;

Standart sapma aşağıdaki eşitlikten hesaplandıktan sonra t değeri denklem (4.4) den hesaplanır.

$$s_d = \frac{(d_i - \bar{d})^2}{n - 1} = 0.003259 \quad (4.3)$$

$$t = \frac{\bar{d}}{s_d} \sqrt{n} = \frac{0.0032}{0.003259} \sqrt{10} = 3.105 \quad (4.4)$$

$$t = 3.105$$

Hipotez testleri;

$$H_0 : \mu_d = 0$$

$$H_1 : \mu_d \neq 0$$

% 99 anlam seviyesinde, $n-1 = 9$ serbestlik derecesinde, t-tablosundan $t = 3.25$ bulunur. Buna göre hesaplanan t değeri kritik tablo değerinden küçük olduğundan H_0 hipotezi kabul edilir. Yani sonuçlar arasında önemli bir fark yoktur.

Ayrıca, doğal bitkilerdeki madde miktarı hesaplamalarında PLS yönteminin, kromatografik yöntemlere göre bazı avantajları vardır. Çizelge 4.2’de PLS yönteminin kromatografik yöntemlere göre avantaj sayılabilecek özellikleri verilmiştir

Çizelge 4.2 PLS yönteminin kromatografik yöntemlere göre avantajları

PLS YÖNTEMİ	KROMATOĞRAFİK YÖNTEMLER
Ekstre elde edildikten sonra laboratuarda başka çalışma gerektirmediğinden <u>zaman kazandıran hızlı bir yöntemdir.</u>	Miktarını tayin edeceğimiz maddeyi saflaştırıp, tartma yoluyla miktar tayini yaptığımız için <u>zaman kaybı olan yavaş bir yöntemdir.</u>
Ekstreden direkt UV spekturumu alınabildiğinden kullanılan <u>malzeme ve çözücünden tasarruf sağlar.</u>	Saflaştırma sırasında çok miktarda ITK plağı ve çözücü kullanımı olduğundan <u>daha pahalı bir yöntemdir.</u>
Saflaştırma işlemi yapılmadığından, işlem sırasında olabilecek <u>madde kaybını önler.</u>	Saflaştırma işlemleri sırasında <u>madde kaybı olabilir.</u>
Araştırmacının <u>daha az emek harcayarak</u> sonuca ulaşmasını sağlayan kullanılışlı bir yöntemdir.	Araştırmacının sonuca ulaşabilmek için <u>daha çok emek harcaması gereken bir yöntemdir.</u>
Kalibrasyon modeli oluşturulduğundan, aynı bitki türünden aynı maddenin, miktar tayini saptamasında <u>diğer araştırmacılar tarafından tekrar kalibrasyon modeli oluşturulmadan kullanılabilir.</u>	<u>Her araştırmacı aynı çalışmayı</u> - aynı tür ve aynı maddenin miktar tayini için bile olsa - <u>tekrarlamak zorundadır.</u>

Çizelge 4.2’de de açıklandığı gibi PLS yöntemi kromatografik yöntemlere göre madde miktarı hesaplamalarında kullanılabilecek çok daha avantajlı bir yöntemdir. Fakat PLS yöntemiyle madde miktarı hesaplaması yapılabilmesi için, öncelikle oluşturulacak PLS modelinde kullanılacak madde miktarlarının, kromatografi yöntemi ile hesaplanması gerekmektedir. Model oluşturulduktan sonra, yeni örneklerin madde miktarları PLS ile kolayca hesaplanabilir.

Sonuç olarak, PLS yönteminin bitki materyallerinde, madde miktarı hesaplamalarında kullanılabilecek basit, hızlı ve ekonomik bir yöntem olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

- Aldieri, E., Atragene, D., Bergandi, L., Riganti, C., Costamagna, C., Bosia, A. ve Ghigo, D., (2003), "Artemisinin Inhibits Inducible Nitric Oxide Synthase and Nuclear Factor NF- κ B Activation", FEBS Lett., 552: 141-144.
- Aljancik, I., Vajs, V., Bulatovi $\equiv$, V., Menkovi $\equiv$, N. ve Milosavljevi $\equiv$, S., (2001), "Parthenolide from the Aerial Parts of *Tanacetum larvatum*", Biochem. Syst. and Ecol., 29: 655-657.
- Awang, D. V. C., Dawson, B. A. ve Kindack, D. G., (1991), "Parthenolide Content of Feverfew (*Tanacetum parthenium*) Assessed by HPLC and ^1H -NMR Spektroskopy", J. Nat. Prod., Vol. 54, No. 6: 1516-1521.
- Bailey, N. J., Sampson, J., Hylands, P. J., Nicholson, J. K., Holmes, E., (2002), "Multi-component metabolic classification of commercial feverfew preparations via high-field ^1H -NMR spectroscopy and chemometrics", Planta Med., Vol. 68 (8) : 734-8
- Bohlmann, F. ve Zdero, C., (1982), "Sesquiterpene Lactones and Other Constituents from *Tanacetum parthenium*", Phytochemistry, 21(10): 2543-2549.
- Brereton, R.G., (2000), Introduction To Multivariate Calibration in Analytical Chemistry, School of Chemistry, University of Bristol, Cantock's Close, Bristol.
- Cretnik, L., Ćkerget, M. ve Knez, f., (2005), "Separation of Parthenolide from Feverfew: Performance of Conventional and High-Pressure Extraction Techniques", Sep. and Pur. Tech., 41: 13-20.
- Çelik Necati (1980), "Türkiye'nin *Tanacetum* L. Türleri Üzerinde Sistemik ve Kimyasal Bir Araştırma", T.C. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Sayı:387, ANKARA.
- Dietrich, J.-B., Zaepfel, M. ve Kuchler-Bopp, S., (1999), "Dexamethasone Represses 3,5,3'-triiodothyronine-Stimulated Expression of Intercellular Adhesion Molecule-1 in the Human Cell Line ECV 304", Cell Biol. and Toxic., 15: 269-277.
- Feltenstein, M. W., Schühly, W., Warnick, J. E., Fisher, N. H. ve Sufka, K. J., (2004), "Anti-inflammatory and Anti-Hyperalgesic Effects of Sesquiterpene Lactones from Magnolia and Bear's Foot", Pharm.Biochem. and Behav., 79: 299-302.
- Fiebich, B. L., Lieb, K., Engels, S. ve Heinrich, M., (2002) "Inhibition of LPS-Induced p42/44 MAP Kinase Activation and iNOS/NO Synthesis by Parthenolide in Rat Primary Microglial Cells", J. Neuroimmunol., 132: 18-24.
- Fukuda, K., Hibiya, Y., Mutoh, M., Ohno, Y., Yamashita, K., Akao, S. ve Fujiwara, H., (2000), "Inhibition by Parthenolide of Phorbol Ester-Induced Transcriptional Activation of Inducible Nitric Oxide Synthase Gene In A Human Monocyte Cell Line THP-1", Biocem. Pharm., 60: 595-600.
- Galal, A. M., İbrahim, A. R. S., Mossa, J. S. ve El-Feraly, F. S., (1999), "Microbial Transformation of Parthenolide", Phytochemistry, 51: 761-765.
- Garcia-Pineros, A. J., Lindenmayer, M. T. ve Merfort, I., (2004), "Role of Cysteine Residues of P65/NF- κ B on the Inhibition by the Sesquiterpene Lactone Parthenolide and N-Ethyl Maleimide, and on Its Transactivating Potential", Life Sci., 75: 841-856.

- Geladi, P. ve Kowalski B.R., (1986a), "Partial Least Squares Regression: A Tutorial", Anal. Chim. Acta, 185: 1-17.
- Geladi, P. ve Kowalski B.R., (1986b), "An Example of 2-Block Predictive Partial Least-Squares Regression with Simulated Data", Anal. Chim. Acta, 185: 19-32.
- Geladi, P., (1988), "Notes on the History and Nature of Partial Least Squares (PLS) Modelling", Journal of Chemometrics, 2(4): 231-246.
- Gören, N. ve Tahtasakal, E., (1997), "Sesquiterpenoids from *T. argentum* subsp. *canum* var. *canum*", Phytochemistry, 45(1): 107-109.
- Grierson, A. J. C., (1975), "Flora of Turkey and The East Aegan Islands", University of Edingburgh Pres, Vol:5, Edited by Davis P. H. D.Sc., 256-291.
- Hehner, S. P., Hofmann, T. G., Dröge, W. ve Schmitz, L., (1999), "The Antiinflammatory Sesquiterpene Lactone Parthenolide İnhibits NF- κ B by Targeting the İkB Kinase Complex", J.Immunol., 163: 5617-5623.
- Heptinstall, S., Awang, D. V. C., Dawson, B. A., Kindack, D., Knight, D. W. ve May, J., (1992), "Parthenolide Content and Bioactivity of Feverfew (*Tanacetum Parthenium* (L.) Schultz-Bip.). Estimation of Commercial and Authenticated Feverfew Products", J. Pharm. Pharmacol., 44: 391-395.
- Kang, B. Y., Chung, S. W. ve Kim, T. S., (2001), "Inhibition of İnterleukin-12 Production in Lipopolysaccharide-Activated Mouse Macrophages by Parthenolide, a Predominant Sesquiterpene Lactone in *Tanacetum parthenium*: İnvolment of Nuclear Factor- κ B", Immunol. Lett., 77: 159-163.
- Karin, M. ve Delhase, M., (2000), "The İkB Kinase (IKK) and NF- κ B: Key Elemets of Proinflammatory Signalling", Sem.Immunol., 12: 85-98.
- Kwok, B. H. B., Koh, B., Ndubois, M. I., Elofsson, M. ve Crews, C. M., (2001), "The Anti-İnflammatory Natural Product Parthenolide from the Medicinal Herb Feverfew Directly Binds to İnhibits İkB Kinase", Chem. & Biol., 8: 759-766.
- Luque, A. P., Galindo, J. C. G., Macıas, F. A. ve Jorrıen, J., (2000), "Sunflower Sesquiterpene Lactone Models İnduce *Orobanchę cumana* Seed Germination" Phytochemistry, 53: 45-50.
- Martens, H. ve Naes, T., (1989), Multivariate Calibration, Wiley, Chichester.
- Mazor, R. L., Menendez, I. Y., Ryan, M. A., Fiedler, M. A. ve Wong, H. R., (2000), "Sesquiterpene Lactones are Potent İnhibitors of İnterleukin 8 Gene Expression in Cultured Human Respiratory Epithelium", Cytokine, 12(3): 239-245.
- Miglietta, A., Bozzo, F., Gabriel, L. ve Boca, C., (2004), "Microtubule- İnterfering Activity of Parthenolide", Chemico-Biol. Inter., 149:165-173.
- Palevitch, D., Earon, G. ve Carasso, R., (1997), "Feverfew (*Tanacetum parthenium*) as a Prophylactic Treatment for Migrane: A Double-Blind Placebo-Controlled Study", Phytotherapy Res., 11: 508-511.
- Piela-Smith, T. H. ve Liu, X., (2001), "Feverfew Extracts and the Sesquiterpene Lactone Parthenolide İnhibit İntercellular Adhesion Molecule-1 Expression in Human Synovial Fibroblasts", Cell. Immunol., 209: 89-96.

- Rey, J. P., Levesque, J. ve Pousset, L., (1992), "Extraction and High-Performance Liquid Chromatographic Methods for the γ -Lactones Parthenolide (*Chrysanthemum parthenium* Bernh.), Marrubiin (*Marrubium vulgare* L.) and Artemisinin (*Artemisia annua* L.)", J. Chrom., 605: 124-128.
- Ross, J. J., Arnason, T. ve Birnboim, H. C., (1999), "Low Concentrations of the Feverfew Component Parthenolide Inhibits in Vitro Growth of Tumor Lines in a Cytostatic Fashion", Planta Med., 65: 126-129.
- Rüngeler, P., Castro, V., Mora, G., Gören, N., Vichnewski, W., Pahl, H. L., Merfort, I. ve Schmidt, T. J., (1999), "Inhibition of Transcription Factor NF- κ B by Sesquiterpene Lactones: A Proposed Molecular Mechanism of Action", Bioorg. & Med. Chem., 7: 2343-2352.
- Sheehan, M., Wong, H. R., Hake, P. W., Malhotra, V., O'Connor, M. ve Zingarelli, B., (2002), "Parthenolide, an Inhibitor of the Nuclear Factor- κ B Pathway, Ameliorates Cardiovascular Derangement and Outcome in Endotoxic Shock in Rodents", Mol. Pharm., 61 (5): 953-963.
- Smith, R. M. ve Burford, D., (1992), "Supercritical Fluid Extraction and Gas Chromatographic Determination of the Sesquiterpene Lactone Parthenolide in the Medicinal Herb Feverfew (*Tanacetum parthenium*)", J. Chromatogr., 627: 255-261.
- Smolinski, A. T. ve Pestka, J. J., (2003), "Modulation of Lipopolysaccharide-Induced Proinflammatory Cytokine Production in Vitro and in Vivo by the Herbal Constituents Apigenin (Chamomile), Ginsenoside Rb₁ (Ginseng) and Parthenolide (Feverfew)", Food and Chem. Toxicol., 41: 1381-1390.
- Sobota, R., Szwed, M., Kazsa, A., Bugno, M. ve Kordula, T., (2000), "Parthenolide Inhibits Activation of Signal Transducers and Activators of Transcription (Stats) Induced by Cytokines of the IL-6 Family", Biochem. and Biophys. Res. Commun., 267: 329-333.
- Tournier, H., Schinella, G., Balsa, E., Buschiazzi, H., Manez, S. ve Buschiazzi, P. M., (1999), "Effect of the Chloroform Extracts of *Tanacetum vulgare* and One of Its Active Principles, Parthenolide, on Experimental Gastric Ulcer in Rats", J.Pharm. Pharmacol., 51: 215-219.
- Ulubelen, A., Bozok-Johansson, C. ve Tahtasakal, E., (1993), "Sesquiterpene Lactones From *T. densum* subsp *amani* ", Phytochemistry, 33(5): 1157-1159.
- Wen, J., You, K.-R., Lee, S.-Y., Song, C.-H. ve Kim, D.-G., (2002), "Oxidative Stress-Mediated Apoptosis", J.Biol. Chem., 277(41): 38954-38964.
- Won, Y.-K., Ong, C.-N., Shi, X. ve Shen, H.-M., (2004), "Chemopreventive Activity of Parthenolide Against UVB-Induced Skin Cancer and Its Mechanisms", Carcinogenesis, 25(8): 1449-1458.
- Zhang, S., Lin, Z.-N., Yang, C.-F., Shi, X., Ong C.-N. ve Shen, H.-M., (2004a), "Suppressed NF- κ B and Sustained JNK Activation Contribute to the Sensitization Effect of Parthenolide to TNF- α -Induced Apoptosis in Human Cancer Cells", Carcinogenesis, 25(11): 2191-2199.
- Zhang, S., Ong, C.-N. ve Shen, H.-M., (2004b), "Critical Roles of Intracellular Thiols and Calcium in Parthenolide-Induced Apoptosis in Human Colorectal Cancer Cells", Cancer Lett., 208: 143-153.
- Zhang, S., Ong, C.-N. ve Shen, H.-M., (2004c), "Involvement of Proapoptotic Bcl-2 Family

Members in Parthenolide-Induced Mitochondrial Dysfunction and Apoptosis”, *Cancer Lett.*, 211:175-188.

Zhou, J. Z., Kou, X. ve Stevenson, D., (1999), “Rapid Extration and High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Parthenolide in Feverfew (*Tanacetum parthenium*)”, *J. Agric. Food. Chem.*, 47:1018-1022.

INTERNET KAYNAKLARI

[1]www.soulhealer.com

[2]www.1001herbs.com/feverfew

[3]www.herbalremedies.com

[4]www.ibiblio.org/herbmed

ÖZGEÇMİŞ

Doğum tarihi 18.11.1980

Doğum yeri İstanbul

Lise 1993-1996 İhsan Mermerci Lisesi

Lisans 1997-2001 İstanbul Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans 2002-2005 Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Bölümü

Çalıştığı kurum(lar)

2003-2004 İsmail Rüştü Olcay Lisesi Biyoloji Öğretmeni
2005-Devam ediyor Topkim Topkapı İlaç ve Premiks A.Ş de
Biyolog

