

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI

***MELIA AZEDARACH* L. BİTKİSİNİN FARMAKOGNOZİ
AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Elif GÜNER

Tez Danışmanı
Prof. Dr. İlkay ERDOĞAN ORHAN

ANKARA
Haziran 2010

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Farmakognozi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.**

Tez Savunma Tarihi: 23/06/2010

İmza

**Prof.Dr. Turhan BAYKAL
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı**

İmza

**Doç.Dr. Nilgün ÖZTÜRK
Anadolu Üniversitesi**

İmza

**Prof.Dr. İlkay ERDOĞAN
Gazi Üniversitesi**

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	I
İÇİNDEKİLER	II
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
TABLolar LİSTESİ	VII
RESİMLER LİSTESİ	VIII
KISALTMALAR	IX
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Botanik Bölüm	4
2.1.1. Meliaceae familyası	4
2.1.2. <i>Melia</i> Cinsinin Sistematikteki Yeri	6
2.1.3. <i>Melia</i> L. cinsi	6
2.1.4. <i>Melia azedarach</i> L.	6
2.2. Fitokimyasal Bölüm	9
2.2.1. <i>M. azedarach</i> 'da Bulunan Triterpen Türevi Bileşikler	9
2.2.2. Nor-Seskiterpen Türevi Bileşikler	20
2.2.3. Flavonoit Türevleri	20
2.2.4. Sterol Türevleri	21
2.2.5. Diğer Bileşikler	21
2.3. Biyolojik Aktivite Bölümü	23
2.3.1. Pestisit aktivite	25
<i>İnsektisit aktivite</i>	25
<i>Antihelmintik aktivite</i>	34
<i>Antiviral aktivite</i>	36
<i>Antibakteriyel aktivite</i>	39
<i>Antifungal aktivite</i>	42
<i>Antiprotozoal aktivite</i>	44
<i>Fitotoksik aktivite</i>	44
2.3.2. Sitotoksik aktivite	44

2.3.3. Antipiretik aktivite	45
2.3.4. Antiülser aktivite	45
2.3.5. Antilitiyatik aktivite	46
2.3.6. Kontragestastiyonal aktivite	47
2.3.7. İmmünomodülatör aktivite	48
2.3.8. Asetilkolinesteraz enzim inhibitör aktivite	48
3. GEREÇ ve YÖNTEM	49
3.1. Gereç	49
3.2. Yöntemler	49
3.2.1. Ekstrelerin Hazırlanması	49
3.2.2. <i>M. azedarach</i> Ekstrelerinde Kolinesteraz Enzim İnhibisyonu Tayini	50
3.2.2.1. Asetilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu	50
3.2.2.2. Bütirilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu	52
3.2.2.3. Tirozinaz Enzim İnhibisyonu	53
3.2.3. <i>M. azedarach</i> Ekstrelerinde Antioksidan Aktivite Tayini	54
3.2.3.1. 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) Serbest Radikal Süpürücü Aktivite Tayini	54
3.2.3.2. Demir İyonu-Şelasyon Etkinin Tayini	55
3.2.3.3. Demir-İndirgeme Antioksidan Gücünün Tayini	55
3.2.4. <i>M. azedarach</i> Ekstrelerinde Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite Tayini	56
3.2.4.1. Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite Tayininde Kullanılan Mikroorganizmalar ve Referanslar	56
3.2.4.2. Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite Tayini İçin Stok Çözeltilerin Hazırlanması	57
3.2.4.3. İnokulum Hazırlanması	57
3.2.4.4. Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite Tayini	58
3.2.5. Toplam Fenol Miktar Tayini	59

3.2.6. Toplam Flavonoit Miktar Tayini	59
3.2.7. Ekstrelerin İnce Tabaka Kromatografisi İle Analizi	60
3.2.8. MAM Sabit Yağı ve MAY-Hekzan Ekstresinin Metil Esterifikasyonu	60
3.2.9. MAM Sabit Yağı ve MAY-Hekzan Ekstresinin Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GK-KS) İle Analizi	61
4. BULGULAR	63
4.1. Ekstre Verimine Ait Bulgular	63
4.2. MAM ve MAY Ekstrelerinin Kolinesteraz Enzim İnhibisyonuna Ait Bulgular	64
4.2.1. Asetilkolinesteraz Enzim İnhibisyonuna Ait Bulgular	64
4.2.2. Bütilkolinesteraz Enzim İnhibisyonuna Ait Bulgular	65
4.2.3. Tirozinaz Enzim İnhibisyonuna Ait Bulgular	66
4.3. MAM ve MAY Ekstrelerinde Antioksidan Aktivite Tayinine Ait Bulgular	67
4.3.1. 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) Serbest Radikal Süpürücü Aktivite Tayinine Ait Bulgular	67
4.3.2. Demir İyonu-Şelasyon Etkinin Tayinine Ait Bulgular	68
4.3.3. Demir-İndirgeme Antioksidan Gücüne Ait Bulgular	69
4.4. MAM ve MAY Ekstrelerinin Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite Tayinine Ait Bulgular	70
4.4.1. Antibakteriyel Aktivite Tayinine Ait Bulgular	70
4.4.2. Antifungal Aktivite Tayinine Ait Bulgular	73
4.5. Toplam Fenol Miktar Tayini Bulguları	75
4.6. Toplam Flavonoit Miktar Tayini Bulguları	76
4.7. Ekstrelerin İnce Tabaka Kromatografisi İle Analizine Ait Bulgular	77
4.8. MAM Sabit Yağı ve MAY-Hekzan Ekstresinin GK-KS İle Analiz Bulguları	79

5. TARTIŞMA ve SONUÇ	81
6. ÖZET	87
7. SUMMARY	88
8. KAYNAKLAR	89
TEŞEKKÜR	107
9. ÖZGEÇMİŞ	108

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Kulinon (solda) ve kulakton (sağda)	10
Şekil 2: Tosendanin	11
Şekil 3: Salannin	12
Şekil 4: Meliakarpinin E	13
Şekil 5: 12-O-Deasetiltrikilin	13
Şekil 6: Azadiron	14
Şekil 7: Azadirahtin	15
Şekil 8: Sendanin	15
Şekil 9. 12-Hidroksiamorastaton	17
Şekil 10: Azedaralit (solda) ve fraksinellon (sağda)	17
Şekil 11: Melazolit A	18
Şekil 12: Bakayanolit	20
Şekil 13: Toplam fenol miktarı tayininde kullanılan gallik asit'e ait kalibrasyon eğrisi	75
Şekil 14: Toplam flavonoit miktarı tayininde kullanılan kersetin'e ait kalibrasyon eğrisi	76
Şekil 15: MAM sabit yağının (üstte) ve yaprak hekzan ekstresinin (altta) GK-KS analizlerine ait kromatogramlar	79

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstraların % verimleri (a/a)	63
Tablo 2: MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstraların AChE inhibitör etkileri (% İnhibisyon $\pm$ S.S.*)	64
Tablo 3: MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstraların BChE inhibitör etkileri (% İnhibisyon $\pm$ S.S.*)	65
Tablo 4: MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstraların tirozinaz inhibitör etkileri (% İnhibisyon $\pm$ S.S.*)	66
Tablo 5: MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstraların DPPH serbest radikal süpürücü etkileri (%Süpürücü etki $\pm$ S.S.*)	67
Tablo 6: MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstraların demir iyonu-şelasyon etkileri (% Şelasyon $\pm$ S.S.*)	68
Tablo 7: MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstraların demir-indirgeme antioksidan gücü (Absorbans $\pm$ S.S.*)	69
Tablo 8: MAM ve MAY ekstralarının Gram (+) bakteri suşlarına karşı antibakteriyel aktiviteleri	71
Tablo 9: MAM ve MAY ekstralarının Gram (-) bakteri suşlarına karşı antibakteriyel aktiviteleri	72
Tablo 10: MAM ve MAY ekstralarının antifungal aktiviteleri	74
Tablo 11: MAM ve MAY ekstralarında toplam fenol miktarları	75
Tablo 12: MAM ve MAY ekstralarında toplam flavonoit miktarları	76
Tablo 13: MAM sabit yağı ve MAY-Hekzan ekstresinin GK-KS analizi ile belirlenen yağ asidi bileşimleri	80

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1: <i>Melia azedarach</i> L. (genel görünüm)	7
Resim 2: <i>Melia azedarach</i> L. (meyvalar)	8
Resim 3: <i>Melia azedarach</i> L. (çiçekler)	8
Resim 4: MAM ve MAY örneklerine ait etil asetat, metanol ve su ekstrelerinin İTK kromatogramının UV 254 nm dalga boyundaki görünümü	77
Resim 5: MAM ve MAY örneklerine ait etil asetat, metanol ve su ekstrelerinin İTK kromatogramının %5 H ₂ SO ₄ ile revele edildikten sonraki görünümü	78

KISALTMALAR

ATCC:	American type of culture collection
AChE:	Asetilkolinesteraz
BChE:	Bütirikolinesteraz
BF ₃ :	Bortriflorür
BHA:	Bütihidroksi anisol
CFU:	Coloni forming unit
CLSI:	Clinical and laboratory standards institute
DMSO:	Dimetilsülfoksit
DNA:	Deoksiribonükleik asit
DPPH:	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
DTNB:	5-5'-Ditiyo-bis (2-nitrobenzoik) asit
ELISA:	Enzyme-linked immunosorbent assay
ESβL:	Extended spectrum beta lactamase
FMDV:	Food and mouth disease virus
FRAP:	Ferric-reducing antioxidant power
GSK:	Gaz-sıvı kromatografisi
GK-KS:	Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
HIV:	Human immunodeficiency virus
HSV:	<i>Herpes simplex</i> virus
IC ₅₀ :	Inhibitory concentration
IL-6:	İnterlökin-6
INCI:	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients
IR:	İnfrared spektroskopisi
İTK:	İnce tabaka kromatografisi
KS:	Kütle spektrometresi
KSK:	Karşı akım kromatografisi
L-DOPA:	3,4-Dihidroksi-L- fenilalanin
LC ₅₀ :	Lethal concentration
MAM:	<i>Melia azedarach</i> meyva

MAY:	<i>Melia azedarach</i> yapraklı dallar
MBK:	Minimum bakterisidal konsantrasyon
MBSK:	Minimum bakteriyostatik konsantrasyon
MFK:	Minimum fungisidal konsantrasyon
MFSK:	Minimum fungistatik konsantrasyon
MİK:	Minimum inhibitör konsantrasyon
MOPS:	3-[N-morfolino]-propansülfonik asit
NF-κB:	Nükleer Faktör-kappa B
NADPH:	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NMR:	Nükleer manyetik rezonans
PMN:	Polimorfonükleer
RNA:	Ribonükleik asit
RSKK:	Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü Kültür Koleksiyonu
SDA:	Sabouraud dekstrozu agar
TCA:	Trikloroasetik asit
TNF-α :	Tümör nekroze edici faktör-alfa
UV:	Ultraviyole
VSK:	Vakum-sıvı kromatografisi
VSV:	Veziküler stomatit virüsü
WSD:	White spot disease
WSDV:	White spot disease virus
YBSK:	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

1. GİRİŞ ve AMAÇ

İnsanoğlunun varolduğu çok eski dönemlerden günümüze kadar, hem beslenme, hem de tedavi amacıyla kullanılagelen bitkiler, bilimsel araştırmalar için zengin bir kaynak teşkil etmektedir. Bitkiler, bileşimlerinde bulunan biyoaktif bileşikler nedeniyle ilaç adayı moleküllerin keşfinde önemli bir hedef olarak görülmekte ve dünyada yoğun araştırmalar sürdürülmektedir.

Dünyanın hemen hemen her ülkesinde bitkilerin halk tarafından tedavi amacıyla kullanımına dair bilgilerin nesilden nesile sözlü olarak aktarılmasıyla oluşan “halk tababeti” mevcuttur. Ancak bu bilgilerin yazılı kayıt altına alındığı, çeşitli bitkilerin veya hayvansal drogların karışımlarından ve hatta fiziksel ekzersizlerin de dâhil edildiği detaylı reçetelerin yer aldığı “geleneksel tedavi sistemleri” ise dünyada belli başlı üç bölgede bulunmaktadır. Bunlar, Çin geleneksel tedavi sistemi, Hint geleneksel tedavi sistemi (Ayurveda) ve Japon geleneksel tedavi sistemi (Kampo) olarak adlandırılmaktadır.

Bu sistemlerden biri olan Hint geleneksel tedavi sistemi (Ayurveda) içinde yer alan önemli bir bitki olan *Melia azedarach* L. (Meliaceae), anavatanı Hindistan ve Çin olmakla birlikte, dünyanın pek çok bölgesine yayılmıştır. *M. azedarach*, ülkemizde de yetişmekte olup, özellikle güney ve batı Anadolu’da yaygın halde bulunmaktadır. Ancak Hindistan ve diğer ülkelerde yetişen *M. azedarach* bitkisi üzerinde oldukça yoğun araştırmalar yapılmasına rağmen, ülkemizde yetişen *M. azedarach* üzerinde günümüze kadar yapılmış herhangi bir çalışma bulunmaması nedeniyle, bu türün tez materyalimizi teşkil etmesine karar verilmiştir. Ülkemizde “tespih ağacı” olarak bilinen bitkinin, aslında yerli bir tür

olmaması sebebiyle, Anadolu'da halk arasında kullanımına dair bir kayıt bulunmamaktadır. Dolayısıyla, tez kapsamında gerçekleştirilen biyolojik aktivite tarama çalışmalarında, bitkinin çoğunlukla Hint geleneksel tedavi sisteminde kullanılışları göz önüne alınacaktır. Bitki, Hindistan'da böcek öldürücü (insektisit) olarak kullanılmasının yanı sıra,¹⁻³ yine Hindistan'da folklorik olarak bazı mikrobiyal hastalıklara karşı da kullanılmaktadır.⁴ Ayrıca bitkinin Hindistan, Pakistan ve Kenya'da çeşitli cilt hastalıklarına karşı kullanıldığı da bildirilmiştir.⁵⁻⁷

Başta organofosfat ve karbamat türevleri olmak üzere, pek çok insektisit ilaç etkisini asetilkolinesteraz enzimini inhibe etmek suretiyle göstermektedir. İnsan da dâhil olmak üzere, fazla miktarda asetilkolinesteraz inhibitörü maddeye maruz kalan canlılarda, asetilkolin adlı nöromediyatörün sinapslarda aşırı birikmesiyle, sinir sisteminde felce ve sonuçta ölüme kadar gidebilen zehirlenmeler görülebilmektedir. Sinir gazları da aynı mekanizma üzerinden etki ederek, kimyasal silah olarak kullanılmaktadır. Dolayısıyla, tez çalışmaları kapsamında, bitkinin Hindistan'da böcek öldürücü olarak kullanımı göz önüne alınarak, meyva ve yapraklı dallarından ayrı ayrı hazırlanan *n*-hekzanlı, etil asetatlı, metanollü ve sulu ekstrelerin asetilkolinesteraz enzim inhibitör aktivitesi ile asetilkolinesterazın "kardeş enzimi" olarak bilinen bütirilkolinesteraz enzim inhibitör aktivitesi, *in vitro* ve spektrofotometrik bir tarama yöntemi olan Ellman yöntemi⁸ ile mikropalak okuyucuda incelenecektir. Bitkinin cilt hastalıklarında kullanımının kayıtlı olması nedeniyle, hazırlanan ekstrelerin cilt lekeleri (melazma) ve hiperpigmentasyon tedavisinde kullanılan bir enzim olan tirozinaz'a karşı inhibitör aktivitesi de yine mikropalak okuyucu kullanılarak spektrofotometrik yöntemle test edilecektir.

Pestisit toksisitesinde serbest radikaller de önemli bir rol oynamaktadır. Örneğin; organofosfat türevi insektisitler antioksidan sistemde değişikliğe ve serbest radikallerin oluşmasına sebep olurlar.⁹⁻¹⁰

Kolinesteraz inhibisyonu ve serbest radikaller arasındaki bu ilişki nedeniyle, tez kapsamında Türkiye’de yetişen *M. azedarach* örneğinden hazırlanan ekstrelerin antioksidan aktivitelerinin de; 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikal süpürücü aktivite, demir iyonu-şelasyon etki ile demir-indirgeme antioksidan gücü yöntemleri ile incelenmesi amaçlanmaktadır.

Bitkinin Hindistan’da mikrobiyal hastalıklara karşı kullanımı dikkate alınarak; hazırlanan ekstrelerin Gram (-) ve Gram (+) bakteriler olarak; *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145), *Klebsiella pneumoniae* (RSKK 574), *Acinetobacter baumannii* (RSKK 02026), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) ve *Streptomyces pyogenes* (ATCC 10145) ile bunların klinik izolatlarına karşı antibakteriyal aktiviteleri ve yanı sıra *Candida albicans* (ATCC 10231), *C. parapsilosis* (ATCC 90028), *C. tropicalis* (ATCC 13803) ve *C. krusei*’nin (ATCC 6258) standart suşlarına karşı antifungal aktiviteleri de incelenecektir.

Bitki örneği üzerinde yapılan fitokimyasal içerikli deneylerde ise; hazırlanan ekstrelerde spektrofotometrik yöntemle; gallik asit eşdeğeri olarak toplam fenol miktar tayini ile kersetin eşdeğeri olarak toplam flavonoit miktar tayini yapılacaktır. Ayrıca, bitkinin meyvalarından Soxhlet yöntemi kullanılarak elde edilmesi planlanan sabit yağ ile yapraklı dallarından elde edilecek hekzan ekstresi, bortriflorür (BF₃) reaktifi kullanılarak metil esterifikasyona tabi tutulacak ve gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GK-KS) tekniği ile yağ asiti bileşimleri tespit edilecektir. Ayrıca ekstrelerin ince tabaka kromatografisi (İTK) ile kimyasal profilleri hakkında fikir edinilmeye çalışılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Tez içeriğindeki “Genel Bilgiler” kısmı; ilk olarak Meliaceae familyası ile tez materyalini oluşturan bitki türünün ait olduğu *Melia* cinsinin ve *Melia azedarach* L.’in sistematikteki yeri ve botanik özellikleri hakkında bilgi verildiği “Botanik Bölüm” ile başlamaktadır. Botanik bölümü, türün genel olarak ihtiva ettiği bileşiklerin bahsedildiği “Fitokimyasal Bölüm” ile *Melia azedarach* L. türü üzerinde yapılmış biyolojik aktivite çalışmalarının sınıflandırılarak derlendiği ve kronolojik sıralamaya göre verildiği “Biyolojik Aktivite Bölümü” takip etmektedir.

2.1. Botanik Bölüm

2.1.1. Meliaceae Familyası

Tropikal ve subtropikal bölgelerde yetişen, kışın yapraklarını döken, boyları kısa ya da uzun olabilen, odunu sert, çiçekleri kokulu ağaç, ağaçcıklar ya da çalı tipi bitkilerden meydana gelen bir familyadır.¹¹⁻¹³ Yapraklar genellikle alternan, nadiren dekussat dizilişlidir. Yaprak tipi pennat, bipennat, trifoliat, eksstipulat veya stipulalı, bazen de dikenlidir. Folioller tam kenarlı ya da serrat olabilir.^{12,14,15} Çiçekler aktinomorf ve genellikle hermafrodittir. Monoik, dioik veya poligamik de olabilir. Çiçek durumu panikula olup, çiçekleri yıldız şeklindedir. Familyadaki cinslerde çiçek dalları 1/3 veya 2/3 m uzunluğunda, çok dallı ve bol çiçekli olabileceği gibi 1-2 cm uzunluğunda, az çiçekli çeşitlere de rastlanabilir.^{11,16} Petaller serbest olup, 4-5 adettir. Stamenler 8 ile 10 adet arasında ve filamentlerle birlikte bir tüp içinde kaynaşmış halde bulunur.¹² Bazı cinslerde stamen tüpü 5 anter içeren, uzun veya 10 anter içeren kısa bir tüp şeklinde görülebilir.¹⁵ Ovaryum üst durumlu, 2-13 karpelli, sinkarp

olup, merkezi plasentalanma gösterir. Ovaryumda 2 ile 13 adet lokulus mevcuttur. Her lokulusta 1-2 veya daha fazla sayıda anotrop, kampilotrop veya ortotrop tohum taslakları bulunur. Stigma baş veya disk şeklinde olabilir.^{11,14} Meyve tipi kapsül, bakka veya drupadır. Tohumlar odunsu bir tabaka olan kolumella ile çevrilidir. Bazı tohumların çevresinde mantarimsı bir dış tabaka da mevcut olabilir. Tohumlar etli kanatlı veya kanatsız, sarkotestalı veya aril olabilir.^{11,12,14}

Meliaceae familyası kendi içinde 4 alt familyaya ayrılır. Moleküler ve filogenetik araştırmalar, şimdilik yalnızca Melioideae ve Swietenioideae alt familyalarını doğrulamaktadır. Melioideae ve Swietenioideae alt familyaları aşağıda verilen özelliklerine göre ayırt edilmektedir:¹¹

1. Bitkiler dioik;

Meyve kapsül, bakka veya drupadır. Tohumlar kanatsız, etli sarkotestalı veya arildir. Yaklaşık 35 cins ve 550 türü bulunmaktadır. Bu alt familyaya ait cinslere *Aglaia* (familyadaki en geniş cins), *Trichilia*, *Turraea*, *Melia*, *Azadirachta*, *Guarea*, *Chisocheton*, *Dysoxylum* ve *Xylocarpus* örnek verilebilir.....Melioideae

2. Bitkiler monoik;

Meyve sepiptifragal kapsüldür. Tohumlar odunsu veya mantarimsı yapıda testa ile örtülmüştür. Yaklaşık 15 cins ve 50 türden oluşur. Bunlara; *Swietenia*, *Entandrophragma*, *Khaya*, *Cedrela* ve *Toona* cinsleri örnek verilebilir.....Swietenioideae

2.1.2. *Melia* Cinsinin Sistematikteki Yeri

Bölüm:	Spermatophyta
Sınıf:	Dicotyledonae
Alt sınıf:	Dialypetalae
Takım:	Geraniales (Sapindales)
Familya:	Meliaceae
Alt Familya:	Melioideae
Cins:	<i>Melia</i> L.
Tür:	<i>Melia azaderach</i> L.

2.1.3. *Melia* L. Cinsi

Odunsu ağaçlardır. Yaprakları alternan dizilişli, pennat veya bipennat şeklindedir. Çiçek durumu aksiller plasentalanma gösteren panikula tipidir. Serbest halde 5 adet sepal ve 5 adet petal taşır. Staminal tüp silindiriktir ve apekte püskül şeklinde uzantılar oluşturmuştur. Anterler püskülün üstünde sapsız olarak konumlanmıştır. Korolla pembe-leylak renklidir. Meyva etli ve 5 tohumlu drupadır.¹²

2.1.4. *Melia azedarach* L. Türü

Türkiye’de “tespih ağacı, hint leylağı”, İngilizce’de “bead tree, Persian lilac, pride of India, worm root tree, pride of China, Chinaberry, Margosa tree” olarak bilinen, anavatanı Hindistan ve Çin olan bir bitkidir. Dünyada özellikle sıcak bölgelerde ağaçlandırma amacıyla sokak aralarında yetiştirilen, kışın yaprak döken gri kabuklu, kuraklığa dayanıklı ve hızlı büyüyen ağaç veya ağaççıklardır (Resim 1).^{13,16-18} Anadolu’da İzmir, Aydın-Germencik, Adana-Seyhan ve Antakya başta olmak üzere, diğer bölgelerde de kültür formunda görülebilmektedir.¹²

Bitkinin “tespih ağacı” (bead tree) olarak adlandırılmasının sebebi; sert tespih tanesi şeklindeki meyvalarının eski çağlarda Roman Katolik ülkelerinde tespih yapımı için kullanılmasıdır (Resim 2).¹⁷ Yapraklar alternan dizilişli, pennat veya bipennattır. Lamina tepesi akuminat, ovat ya da eliptik şekilli, kenarları serrat veya bazen loblu hafif-parlak yeşil renkli foliollerden ibarettir. Kaliks halkasını oluşturan 5 adet sepal; 2 mm boyunda, pembe-mor renkli petaller ise 8-10 mm boyunda, 5 adet ve linear-oblanseolat olup, sepallerin içinde yayılmış haldedir (Resim 3). İnfloresans sarkık bir panikula şeklindedir. Stamenler mor renkli, anterleri filamentlerle kaynaşmış halde stamen tüpüne birleşik, silindirik şekilli ve sarı renklidir. Ovaryum üst durumludur ve aksiller plasentalanma gösterir. Ginekeum 3-5 karpelli ve tek pistilli olup, sinkarp ovaryum görülür. Meyva tipi; 5 tohum taşıyan bir drupadır. Bitki ilkbahar ile yaz arasında sarı renkli, küremsi, tespih tanesine benzeyen meyvalar verir. Meyvaları bol yağlı ve zehirlidir.^{11-13,16-18}



Resim 1: *Melia azedarach* L. (genel görünüm)



Resim 2: *Melia azedarach* L. (meyvalar)



Resim 3: *Melia azedarach* L. (iekler)

2.2. Fitokimyasal Bölüm

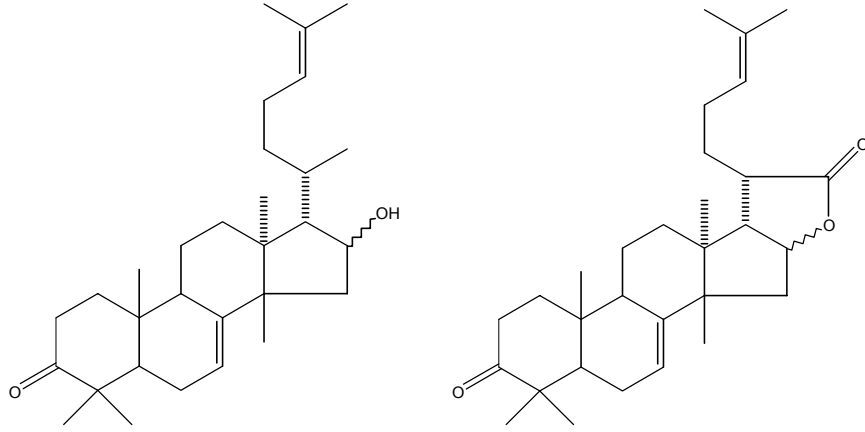
Melia azedarach L. bitkisinin içeriğinde bulunan kimyasal bileşiklerin bahsedildiği bu bölümde; “Triterpen Türevi Bileşikler”, “Nor-Seskiterpen Türevi Bileşikler”, “Flavonoit Türevleri”, “Steroller ve Ketofenol Grubu Bileşikler”, “Polisakkaritler”, “Peptitler ve Steroit Yapıdaki Bileşikler” ve “Diğer Bileşikler” alt başlıklar halinde kronolojik sıraya uygun olarak incelenecektir.

2.2.1. *M. azedarach* Bitkisinde Bulunan Triterpen Türevi Bileşikler

Meliaceae familyasına ait bitkiler triterpen içeriği açısından çok zengin türlerdir. Bilhassa *M. azedarach*, tetranortriterpenler (limonoitler) yönünden yoğun şekilde araştırılmıştır ve bu bileşikler böcek öldürücü (insektisit) aktivite göstermeleri nedeniyle oldukça önemlidir.¹⁹ Bitkide biyoaktivite yönünden en aktif bileşiklerin, azadirahtin tipi C-seko-limonoitler ve apo-öfol türevi limonoitler olduğu düşünülmektedir.²⁰ Meyvalarının toksik özellik gösterdiği bilinen *M. azedarach*’tan bir triterpen türevi bileşik olan “melianon” kristalize halde izole edilmiş ve asetillendikten sonra infrared spektroskopisinde (IR) verdiği spesifik bantlar ile kütle spektroskopisi (KS) ve nükleer manyetik rezonans (NMR) verileri kullanılarak bileşiğin yapısı aydınlatılmıştır.²¹

1971’de Lavie ve Levy, *M. azedarach* meyvalarının kloroformlu ekstresi üzerinde araştırma yapmışlardır.²² Ekstreden elde edilen fraksiyonlar; Jones reajanı kullanılarak oksidasyon, epoksidasyon ve asetilasyon gibi çeşitli kimyasal reaksiyonlara tabi tutulmuş ve bu fraksiyonların içinde meliasin iskeleti ve melian halkasını içeren 7 α , 8 α , epoksit halkası taşıyan melianon türevi bileşiğin yapısı saptanmıştır. Bileşikte her iki grubun da bulunması ile bu çalışma esnasında melian ve meliasin arasındaki biyogenetik ilişki de açığa çıkmıştır.

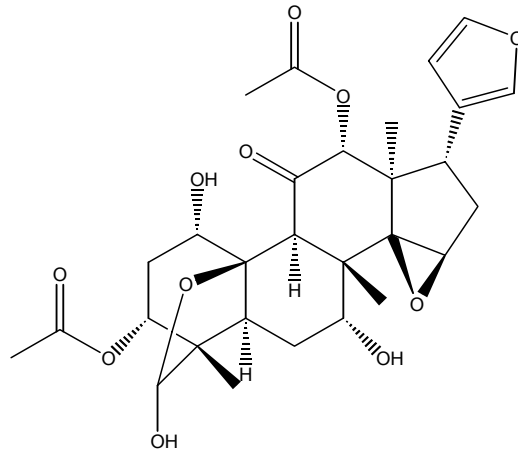
Meliaceae familyasında tetrasiklik triterpenoit türevi bileşikler olan kulakton ve kulinon ilk keşfedilen öfan tipi triterpenoitlerdir (Şekil 1). *M. azedarach*'ın petrol eterli ekstresinin kolon kromatografisi ve prepatif ince tabaka kromatografisine (İTK) tabi tutulması sonucu kulinon ve kulakton'un yanında lakton halkaları taşıyan farklı bileşikler de elde edilmiş ve kimyasal yapıları IR ve NMR gibi spektral yöntemlerle teşhis edilmiştir.²³



Şekil 1: Kulinon (solda) ve kulakton (sağda)

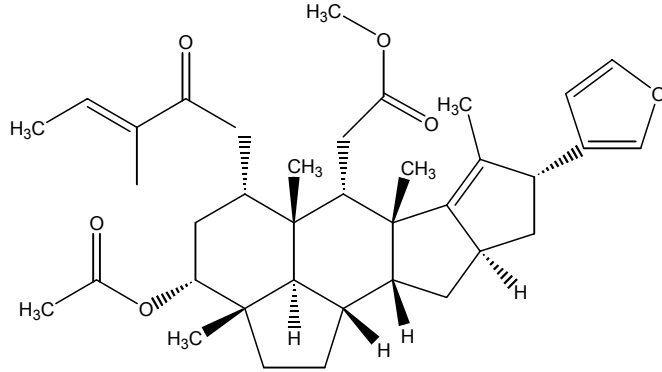
1973 yılında yine *M. azedarach*'ın petrol eterli ekstresinden daha önce izole edilen kulinon ve kulakton'a ilave olarak, metil kulonat da elde edilmiştir. Önceleri Meliaceae familyasındaki tüm triterpenlerin 20S grubu bileşikler oldukları düşünülmese rağmen, bu çalışma ile bunların 20R grubu bileşikler oldukları saptanmıştır. Araştırmacılar kolon kromatografisi ve preparatif İTK ile izole ettikleri tetrasiklik triterpenleri gaz-sıvı kromatografisi (GSK) ile de tespit etmişlerdir. Yapı olarak kulinon; bütirospermol, α -elemonik asit ve mastikadienoik asit gibi triterpenlerle aynı gruptadır. Kulakton ve kulinon'un NMR verileri sonucunda, 16. karbondan aynı konfigürasyona sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca γ -lakton türevi olarak bilinen kulakton'un öfa-7,24-dien grubu *trans* ve *cis* izomerleri olan bir bileşik olduğu da, bu analizler sonucunda ortaya konmuştur. Bir

diğer tetrasiklik triterpen olan kulolakton da, kulakton'un kristalizasyonu ve preparatif İTK yöntemleriyle ayrılması sonucu izole edilmiştir. Metil kulonat ise kulakton'un metanol ile rekristalizasyonu yoluyla elde edilmiş ve bunun kulakton'un biyogenetik prekürsörü olduğu sonucuna varılmıştır.²⁴ Bitkinin meyvası üzerinde ters faz sıvı kromatografisinin ayırma tekniği olarak kullanıldığı bir çalışmada; KS ve ultraviyole spektroskopisi (UV) ile bitkideki tetrasiklik triterpen olan tosendanin'in yapısı aydınlatılmıştır (Şekil 2).²⁵



Şekil 2: Tosendanin

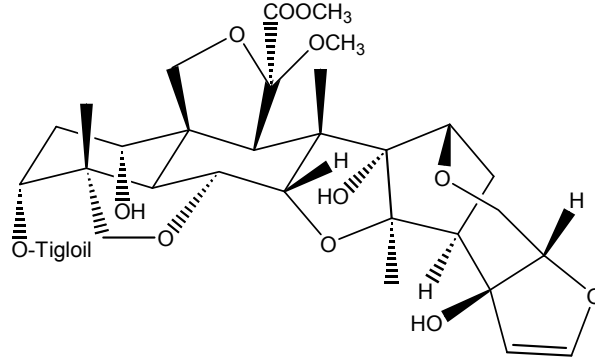
M. azedarach bitkisinde limonoitler heterozit formunda da bulunabilmektedir. Bununla ilgili olarak Srivastava'nın yaptığı bir çalışmada,²⁶ bitkinin tohumlarının etanollü ekstresinden üç limonoit türevi olan salannin (Şekil 3), meldenin ve 6-asetoksi-11 α -hidroksi,7-okso-14 β ,15 β -epoksimeliasin-1,5-dien-3-O- α -L-ramnopiranozit izole edilmiş ve IR, NMR ve KS teknikleri ile moleküllerin yapıları aydınlatılmıştır.



Şekil 3: Salannin

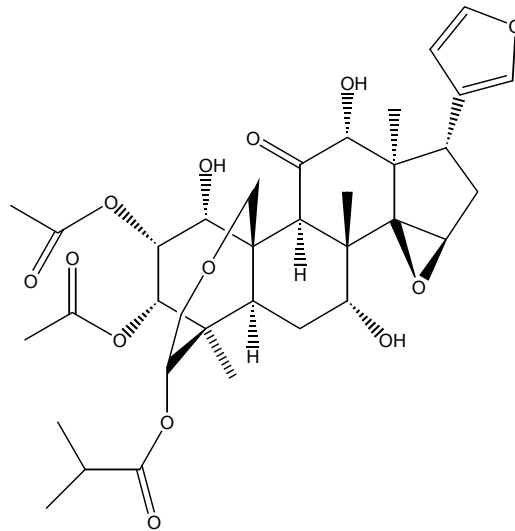
1987 yılında yapılan başka bir araştırmada ise,²⁷ yine tohumların etanollü ekstresinden, glukopiranozit halkası içeren bir limonoit türevi bir bileşik olan 6,11-diasetoksi-7-okso-14 β ,15 β -epoksimeliasin izole edilmiştir.

M. azedarach'ta son yıllarda C-seko-limonoitlerle ilgili araştırmaların sayısı artmıştır. Çin'de yetişen bir *M. azedarach* örneği üzerinde yapılan bir araştırmada; bitkinin köklerinin dietileterli ekstresinin Erlich reaktifi ile İTK'da karakteristik renk vermesi, vakum sıvı kromatografisi (VKS) ve semi-preparatif yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK) gibi yöntemlerle fraksiyonlarına ayrılması sonucu; 2 adet seko-limonoit türevi olan "salannal" ve "meliakarpinin E"nin yapısı spektral yöntemlerle belirlenmiştir (Şekil 4). 4 α -Formil grubu taşıyan salannal'ın salannin sınıfı bileşiklerinin prekürsörü olabileceği düşünülmüştür. Aynı çalışmada, yine seko-limonoit türevi olan salannin, deasetilsalannin, nimbolinin B ve nimbolidin B de spektral metotlarla tespit edilmiştir.²⁸



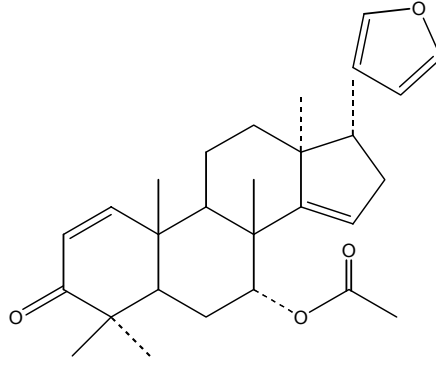
Şekil 4: Meliakarpinin E

Zhou ve ark.'nın yaptığı bir araştırmada,²⁹ bitkinin Brezilya'da yetişen bir örneğinin meyvalarının metanollü ekstresi triterpen içeriği ve bunların biyolojik aktivitesi yönünden araştırılmıştır. Silika jel kolon, ters faz ve preparatif YBSK ile saflaştırılan ekstreden 4 farklı tetranortriterpenoit türevi bileşik izole edilmiştir. Bu bileşiklerden 3'ü C-seko-limonoit grubu olan 15-O-deasetil-15-O-metilnimbolidin A, 15-O-deasetil-15-O-metilnimbolidin B ve 15-O-deasetilnimbolidin B'dir. Bunun yanında bir tetrasiklik limonoit olan 12-O-deasetiltrikilin H de izole edilmiştir (Şekil 5). Bu bileşiklerin kimyasal yapıları IR, çift boyutlu NMR ve KS ile aydınlatılmıştır.



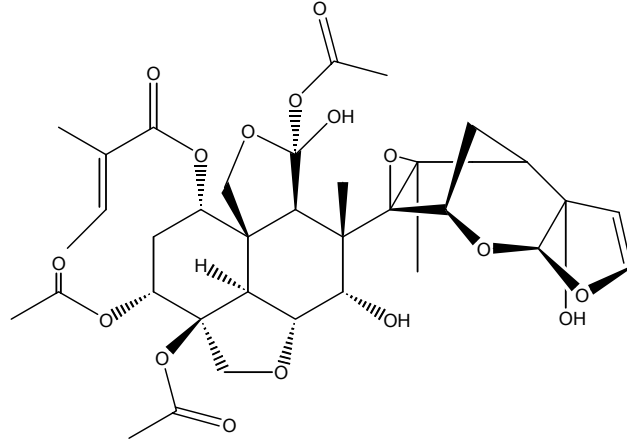
Şekil 5: 12-O-Deasetiltrikilin

Lavie ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada,³⁰ D-lakton halkası taşıyan meliasin tipi 3 yeni limonoit olan azadiron, azadiradion ve epoksiazadiradion izole edilmiş (Şekil 6); 1978'de yapılan başka bir araştırmada yine meliasin tipi bir limonoit olan 17-hidroksiazadiradion bu gruba eklenmiştir. Spektral ve kimyasal analizler neticesinde bileşiklerin yapıları ve stereokimyaları aydınlatılmış ve yapılar arasındaki kimyasal fark ve benzerlikler özetlenmiştir.³⁰⁻³¹



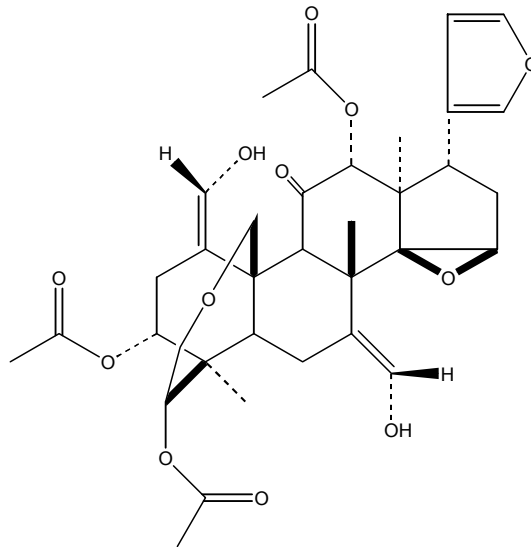
Şekil 6: Azadiron

Azadirahatin, Meliaceae familyasına ait bitkilerde yüksek oranda bulunan hekzanortriterpenoit grubu kompleks bir bileşiktir (Şekil 7). Birçok araştırmada bileşiğin kuvvetli insektisit etki gösterdiği saptanmıştır. Morgan ve Thornton'ın yaptıkları bir çalışmada,³² *M. azedarach* meyvalarının etanollü ekstresinin 3 farklı solvan sistemi kullanılarak İTK analizi yapılmış ve bu analizin preparatif İTK ve KS ile desteklenmesi neticesinde azadirahatin varlığı saptanmıştır.



Şekil 7: Azadirachtin

M. azedarach var. *japonica*'dan elde edilen metanollü ekstre ile yapılan bir çalışmada ise, ekstre fraksiyonlanarak, yeni bir limonoit türevi olan sendanin izole edilmiş, NMR, UV ve IR gibi spektral tekniklerle yapısı aydınlatılmıştır (Şekil 8). Formüldeki kimyasal grupların konfigürasyonu X-ışını difraksiyon yöntemi ile kesin olarak saptanmıştır.³³



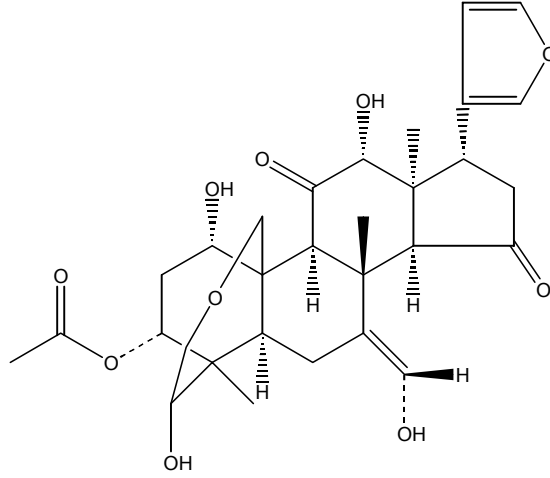
Şekil 8: Sendanin

1983 yılında yapılan bir araştırmada,³⁴ *M. azedarach* var. *australasica*'dan 4 yeni tetranortriterpen olan meliatoksin A1, A2, B1 ve B2 izole edilmiş ve kimyasal yapıları aydınlatılmıştır.

M. azedarach'dan trikilin tipi limonoitler de izole edilmiş ve bunlar birçok çalışmada hem kimyasal yapı analizleri, hem de biyolojik aktiviteleri yönünden değerlendirilmiştir. Bitkinin kök kısımlarından elde edilen ekstreden fraksiyonların saflaştırılması ile trikilin H, 12-asetiltrikilin B ve 7,12- diasetiltrikilin B izole edilmiştir.²⁰

Yine *M. azedarach*'ın köklerinin etanollü ekstresinden 5 farklı trikilin tipi limonoit elde edilmiştir. "12-Deasetiltrikilin I", "1-asetiltrikilin H", "3-deasetiltrikilin H", "1-asetil-3-deasetiltrikilin H" ve "1-asetil-2-deasetiltrikilin H" olarak adlandırılan bileşiklerin yapıları KS ve NMR teknikleri kullanılarak saptanmıştır. Ayrıca meliatoksin B1, trikilin H, trikilin D ve 1,12- diasetiltrikilin B de aynı çalışma esnasında izole edilmiştir.³⁵

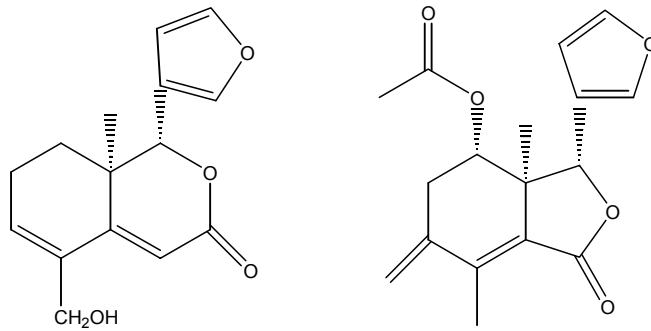
1994 yılında *M. azedarach* var. *japonica*'dan ilk defa "12-hidroksiamorastaton" isimli limonoit izole edilmiş ve yapısı spektroskopik teknikler yardımıyla tespit edilmiştir (Şekil 9). 12-Hidroksiamorastatin yine bitkide bulunan "meliartenin" isimli limonoit ile izomerik karışım halinde izole edilmiş ve stereokimyaları ile ilgili çalışmalar yürütülmüştür.^{36,37}



Şekil 9: 12-Hidroksiamorastaton

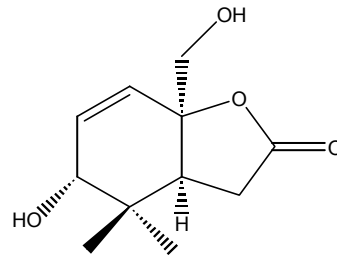
Meliaceae familyası bitkilerine özgü olduğu bilinen azadirahtin tipi tetronortriterpenlerden biri olan azedarahin C, bitkinin köklerinin dietileterli ekstresinden elde edilmiş ve bileşiğin molekül yapısı NMR tekniği ile tayin edilmiştir.³⁸

Nakatani ve ark.'nın bitkinin metanollü ekstresi ile yaptıkları bir çalışmada,³⁹ karşı akış kromatografisi (KAK) ve YBSK gibi ayırma teknikleri kullanılarak elde edilen “azedaralit” ve “12 α -asetoksi fraksinellon”, “fraksinellon” ve “fraksinellanon” adlı bileşiklerin yapıları NMR, IR ve UV spektroskopisi ile aydınlatılmıştır (Şekil 10).



Şekil 10: Azedaralit (solda) ve fraksinellon (sağda)

Bir başka çalışmada, bitkinin kurutulmuş köklerinin ekstresinden limonoit türevi 3 yeni bileşik olan tetrakrilmelazolit A, melazolit A (Şekil 11) ve tetrakrilmelazolit B izole edilmiş ve yapıları spektral teknikler ile tespit edilmiştir.⁴⁰ Yine aynı çalışmada piroangolensolit, fraksinellon ve bunun türevleri olan 30-hidroksi-fraksinellon 9 α - ve 9 β -hidroksifraksinellon da izole edilmiştir.



Şekil 11: Melazolit A

Fukuyama ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada,⁴¹ *M. azedarach* bitkisinin köklerinin metanollü ekstresinden elde edilen 6 fraksiyondan silika jel kolon kromatografisi ve preparatif YBSK ile 2 limonoit türevi olan 9 α -hidroksi-12 α -asetoksifraksinellon ve 7,14-epoksiazedarahin B izole edilmiştir. Bu bileşiklerin yapılarının aydınlatılmasında tek ve çift dimensiyonlu NMR, IR ve KS gibi teknikler kullanılmıştır. Bu limonoit türevlerinin yapıları *M. azedarach*'da bulunduğu önceden saptanan ve bu çalışmada da izole edilen 12 α -hidroksifraksinellon, 9 α -hidroksifraksinellon, azedarahin B ve neoazedarahin B'ye ait spektral verilerle mukayese yoluyla da desteklenmiştir.

Çin'de yetişen *M. azedarach* örneğinin kurutulmuş kök kısımlarından meliakarpinin B, C ve D izole edilmiş; bunların kimyasal formülleri spektral tekniklerle tespit edilmiştir. Bu limonoitlerin yapılarının bazı azadirahtin türevleri ile oldukça benzer olduğu saptanmıştır.

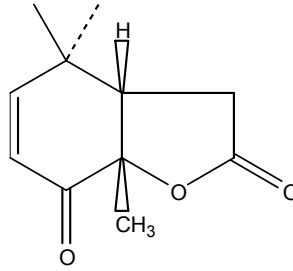
Meliakarpininlerin izolasyonunda yöntem olarak VSK ve YBSK kullanılmıştır.¹⁹

1996'da yapılan başka bir çalışmada,⁴² yine meliakarpinin yapısında azadirahtin türevi limonoitler izole edilmiştir. Kurutulmuş bitki köklerinin etanollü ekstresi kolon kromatografisi ve YBSK'ya tabi tutulmuş; elde edilen bileşiklerin kimyasal formülleri spektral analizler kullanılarak aydınlatılmıştır. Analiz sonuçlarına göre; azadirahtin analogu olan bu bileşiklerin 1-tigloil-3,20,-diasetil-11-metoksimeliakarpinin, 3-tigloil-1,20-diasetil-11-metoksimeliakarpinin,1-sinamoil-3-hidroksi-11-metoksi-meliakarpinin ve 1-deoksi-3-metakrilil-11-metoksimeliakarpinin olduğu belirlenmiştir.

2003 yılında Alche ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada,⁴³ *M. azedarach* yapraklarından elde edilen ve liyofilize edilmiş sulu ekstrenin de etil asetat ile muamele edilmesi ve silika jel kolonda fraksiyonlama işlemine tabi tutulmasının ardından preparatif İTK ve YBSK ile “1-sinamoil-3,11-dihidroksimeliakarpin” isimli limonoit izole edilmiş ve IR ve NMR teknikleri ile yapısı aydınlatılmıştır. 2006 ve 2010 yıllarında Borquero ve ark.,^{44,45} 1-sinamoil-3,11-dihidroksimeliakarpin'i aynı yöntemlerle elde ederek, bileşiğin sitotoksik ve antiviral etkilerini tespit etmişlerdir.

2.2.2. Nor-Seskiterpen Türevi Bileşikler

M. azedarach bitkisinin kurutulmuş köklerinin etanollü ekstresi VSK tekniği ile fraksiyonlanmış ve bazı fraksiyonlardan preparatif İTK ile amorf yapıda ve doğada nadir rastlanan 11 karbonlu bir nor-seskiterpen olan “bakayanolit” izole edilmiştir (Şekil 12).⁴⁶ Yine bu çalışmada, *nor*-seskiterpenler dışında daha önceki bölümde bahsedilmiş olan limonoit türevi iki bileşik olan kulakton ve sendanolakton da izole edilmiştir. Bileşiklerin kimyasal yapıları UV, IR ve KS ile aydınlatılmıştır.



Şekil 12: Bakayanolit

2.2.3. Flavonoit Türevleri

Marco ve ark., *M. azedarach* bitkisinin yapraklarının %80'lik ve %50'lik metanollü ekstrelerinin kimyasal içeriklerini araştırmışlardır.⁴⁷ Ekstredeki metanol uçurulduktan sonra geriye kalan sulu kısım kloroform ve etil asetat ile muamele edilmiş; kloroformlu ekstrede flavonoit aglikonları saptanamazken; etil asetatlı ekstrede İTK yoluyla iki ana bileşik olduğu gözlenmiştir. Kolon kromatografisi ile fraksiyonlarına ayrılan etil asetatlı ekstrede; kemferol-3-O-β-rutinozid ve rutin izole edilmiştir.

2.2.4. Sterol Türevleri

1960 yılında Hindistan'da yapılan bir araştırmada, *M. azedarach* bitkisinin; Soxhlet apareyi kullanılarak benzen ekstraksiyonu ile elde edilen ekstresi üzerinde kromatografik işlemler uygulanmış; sterol türevi bir bileşik olan nimbosterol'ün yanı sıra ketofenol türevi "nimbiol" ve "7-ketoferroginol" olarak da bilinen sugiol tespit edilmiştir.⁴⁸

1973 yılında yapılan bir çalışmada,⁴⁹ *M. azedarach* ekstresinin İTK ve GSK analizleri sonucunda, fraksiyonlardan birinde iki komponentli bir moleküler kompleksin varlığı saptanmıştır. UV, NMR, IR ve KS analizleri sonucu "6 β -hidroksi-4-stigmasten-3-on" ve "6 β -hidroksi-4-kampesten-3-on" isimli steroid yapısındaki 2 bileşiğin yapısı belirlenmiştir.

Faizi ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada ise,⁴⁶ bitkinin metanollü kök ekstresinden preparatif İTK ile β -sitosterol elde edilmiştir.

2.2.5. Diğer Bileşikler

M. azedarach'ın gövde kabuklarından elde edilen ekstreden suda çözünebilen polisakkaritler izole edilmiş ve bu bileşikler "Gla, Glb, Glla ve Gllla" olarak adlandırılmıştır. Bileşikler hem antienflamatuar aktivite açısından değerlendirilmiş, hem de metilasyon, oksidasyon gibi kimyasal reaksiyonlar ve IR, ¹³C-NMR gibi spektral teknikler kullanılarak yapısal özellikleri tespit edilmiştir.⁵⁰ Castilla ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ise,⁵¹ *M. azedarach* yapraklarından peptit türevi bir bileşik olan meliasin elde edilmiş ve antiviral etkisi açısından incelenmiştir.

M. azedarach ile yapılan çalışmalarda, bitkinin çeşitli kısımlarından değişik yapıda bileşikler izole edilmiştir.^{48,52} Bitkinin benzenli ekstresinde parafin bulunduğu tespit edilmiş, meyvalarının etanollü

ekstresinden elde edilen fraksiyonlarda da farklı olarak; hidroksikumarin türevi bir bileşik olan skopoletin ile bunun yanı sıra vanilin, 4-hidroksi-3-metoksisinnamaldehit ve pinorezinol de saptanmıştır. Bileşiklerin izolasyonunda ve yapısının aydınlatılmasında VSK, İTK, NMR ve GK-SK gibi yöntemler kullanılmıştır.

2.3. Biyolojik Aktivite Bölümü

Anavatanı Hindistan ve Çin olmakla beraber, Türkiye de dâhil olmak üzere dünyanın pek çok ülkesinde kültüre alınmak yoluyla yetiştirilen *Melia azedarach* L. bitkisi üzerinde yapılan biyolojik aktivite çalışmalarının çoğunluğunu pestisit aktivitesine yönelik çalışmalar oluşturmaktadır. Pestisitler; “pest” adı verilen zararlı organizmaların üremesini, yayılmasını veya yok edilmesini sağlayan bileşiklerdir. “Pest” kelimesi, köken olarak Latince’den türemiş olup, anlam olarak “zararlı otlar, omurgalılar, böcekler, maytlar, patojenler ve mikroorganizmaları” ifade etmektedir.

Pestisit ilaçlar oldukça geniş bir grup olması nedeniyle, kendi arasında alt gruplara ayrılarak sınıflandırılmaktadır:⁵³

Algisitler (Algicides): Su tankları, yüzme havuzları, kanallar ve göllerde oluşan yosunlaşmayı önleyen bileşikler

Bozulma önleyiciler (Antifoulings): Gemi, bot gibi deniz taşıtlarının suyun altında kalan yüzeylerinde üreyerek bozulmaya sebep olan organizmaları öldüren bileşikler

Antimikrobiyaller (Antimicrobials): Bakteri ve fungus gibi mikroorganizmaların çoğalmasını önleyen veya doğrudan öldüren bileşikler

Attraktantlar (Attractants): Pestleri çeken bileşikler

Avisitler (Avicides): Kuşları öldüren bileşikler

Dezenfektanlar ve hijyenize edenler (Disinfectants and sanitizers): Cansız objeler üzerinde bulunan mikroorganizmaları inaktive eden veya öldüren bileşikler

Defoliantlar (Defoliants): Bitkiden yaprak ve yaprakçıkların dökülmesini önleyen bileşikler

Desikantlar (Dessicants): Hayvan ve bitkileri, ortamdaki nemi çekerek düzgün bir şekilde kurutmaya yarayan bileşikler

Antifungaller (Antifungals): Mantarları yok edici etkiye sahip bileşikler

Fumigantlar (Fumigants): Toprak veya binalardaki pestleri buhar yoluyla yayılarak yok eden bileşikler

Herbisitler (Herbicides): Zararlı veya istenmeyen otları yok eden bileşikler

İnsektisitler (Insecticides): Böcekleri ve diğer artropotları öldüren bileşikler

İnsekt büyüme regülatörleri (Insect growth regulators): Böceklerin hayat siklusunda, pupal evreden yetişkinliğe geçişi önleyen bileşikler

Mayt öldürücüler (Miticides): “Mayt” denilen zararlıları öldüren bileşikler

Mikrobiyal pestisitler (Microbial pesticides): Böcek ve diğer organizmaları inaktive eden veya öldüren mikroorganizmalar

Mollusisitler (Molluscicides): Sümüklüböcek ve salyangoz gibi yumuşakçaları öldüren bileşikler

Nematositler (Nematocides): Nematot tipi solucanları öldüren bileşikler

Antihelmintikler (Antihelminthics): Bağırsak solucanı grubundaki organizmaları inaktive eden veya öldüren bileşikler

Ovisitler (Ovicides): Böcekler ve maytların yumurtalarını yok eden bileşikler

Beslenmeyi önleyiciler (Antifeedants): Pest’in beslenmesini önleme yoluyla inaktive eden bileşikler

Feromonlar (Pheromones): Böceklerin çiftleşme davranışını değiştiren bileşikler

Pisisitler (Piscicides): Balıkları öldüren bileşikler

Bitki büyüme regülatörleri (Plant growth regulators): Bitkinin çoğalma, büyüme ve çiçeklenme gibi özelliklerini değiştiren bileşikler

Kovucular (Repellents): Kuş ve böcek gibi pestleri uzakta tutan bileşikler

Rodentisitler (Rodenticides): Fare ve diğer kemirgenleri öldürmeye yarayan bileşikler

Sentetik pestisitlerin, yüksek ve kalıcı toksisiteleri nedeniyle insan sağlığına ve doğaya oldukça zararlı oldukları bilinmektedir. Bu nedenle, son yıllarda, biyolojik kaynaklardan daha az toksik, çevre-dostu ve biyolojik olarak parçalanma (biodegradable) özelliğine sahip olan etkili pestisitlerin keşfine yönelik araştırmalar yoğunlaşmıştır. Bitki veya mikroorganizma gibi bir biyolojik kaynaktan hareketle elde edilen pestisit ilaçlara “*biopestisitler*” adı verilmektedir.

Pestisit aktivitesi ile ilgili çalışmaların olumlu sonuçları göz önüne alındığında, biopestisit olma potansiyeli yüksek olan *M. azedarach* üzerinde yapılan pestisit aktivite çalışmalarının yanı sıra diğer biyolojik aktiviteleri ile ilgili çalışmalar bu bölümde verilmektedir:

2.3.1. Pestisit aktivite

Insektisit aktivite

M. azedarach'dan izole edilen meliatoksinlerin *Spodoptera litura* adlı böcek larvaları üzerinde beslenmeyi önleyici (antifeedant) etkisi araştırılmış, bileşiklerden özellikle meliatoksin B₁'in güçlü etki gösterdiği bulunmuştur.¹ Bitkinin meyva ve yapraklarından hazırlanan petrol eteri, metanol ve sulu ekstraktların *Locusta migratoria migratorioides* adlı böceğe karşı insektisit aktivitesi incelenmiş ve sulu ekstraktların böceğin hem

üremesini ve gelişimini geciktirdiği, hem de mortaliteye yol açtığı tespit edilmiştir.⁵⁴

49 bitki türünden hazırlanan 94 adet ekstrenin *Rhodnius neglectus* adlı zararlıya karşı tarandığı bir çalışmada, Meliaceae familyasına ait iki bitki olan *M. azedarach* ve *Cabralea* sp.'ne ait ekstreler en güçlü öldürücü aktiviteyi göstermişlerdir.⁵⁵ Japonya'nın Okinawa adasında yetişen *M. azedarach* ağacından izole edilen yeni bir azadirahtin türevi olan "1-sinamoil-3-asetil-11-metoksimeliakarpinin" adlı bileşiğin de beslenme önleyici etkisi nedeniyle güçlü bir insektisit adayı olabileceği belirtilmiştir.²⁰ Huang ve ark. tarafından Çin'de doğal olarak yetişen *M. azedarach*'ın kök kabuklarından elde edilen 3 adet azadirahtin türevi bileşiğin de *Spodoptera exigua* adlı zararlıya karşı yüksek oranda beslenme önleyici etkisi olduğu bulunmuştur.⁵⁶

Brezilya'nın Rio de Janeiro bölgesinden toplanan *M. azedarach* üzerinde yapılan izolasyon çalışması, yapıları pinorezinol, bis-*epi*-pinorezinol ile bunların hemiasetal ve diasit türevleri olarak aydınlatılan 4 adet lignan türevinin elde edilmesiyle sonuçlanmış, ancak bu bileşiklerin *Rhodnius prolixus* adlı böceğe karşı insektisit aktiviteye sahip olmadıkları gözlenmiştir.⁵⁷

Hindistan'da yetişen *M. azedarach*'ın kök ekstresinden izole edilen ve "azesin 1-4" olarak adlandırılan 4 adet yeni limonoit türevinin *Spodoptera litura* ile *Henosepilachna vigintioctopunctata fabricus* adlı böcekler üzerinde insektisit aktivitesi incelenmiş ve bunlardan azesin 1 ile 3'ün hem büyüme hızını düşürerek, hem de pupasyon süresini artırarak insektisit aktivite gösterdikleri saptanmıştır.²

M. azedarach'ın meyvalarından hazırlanan etanol ekstresinin *Xanthogalleruca luteola* (elm leaf beetle) adlı yaprak kurdunun larvaları ve

yetişkinleri üzerindeki etkisi incelenmiş ve larvaların yetişkinliğe geçmeden öldüğü, yetişkin bireylerde de ölüm oranının hızla yükseldiği gözlenmiştir.⁵⁸ Mısır'da yetişen *M. azedarach* meyvalarından hazırlanan metanollü ekstrenin, bu ülkede yaygın görülen iki zararlı olan *Spodoptera littoralis* ve *Agrotis ipsilon*'a karşı insektisit aktiviteye sahip olup olmadığı test edilmiş ve beslenmeyi önleyici etkisinin olduğu, ayrıca her iki larvanın pupal ağırlığının da anlamlı derecede düştüğü görülmüştür.⁵⁹ Bitkinin yapraklarından izole edilen ve "1,3-disinnameoil-11-hidroksimeliakarpin", "1-sinnameoil-3-metakrilil-11-hidroksimeliakarpin" ve "1-sinnameoil-3-asetil-11-hidroksimeliakarpin" olarak adlandırılan 3 adet yeni meliakarpin türevi bileşiğin de *Spodoptera littoralis* üzerinde insektisit ve büyümeyi durdurucu etki gösterdiği tespit edilmiştir.⁶⁰

Küba'da "paraiso" olarak bilinen *M. azedarach* bitkisinin meyva ve tohumlarından elde edilen ekstreler, istenmeyen bir salyangoz (mollusk) türü olan *Lymnaea cubensis*'e karşı denenmiş ve ekstrelerin mollusidal etkisi oldukça ümit vaat edici bulunmuştur.⁶¹ Arjantin'de yetiştirilen *M. azedarach* bitki örneğinin ham ve olgun meyvaları ile yapraklarından hazırlanan etanollü ekstreler, Chagas hastalığının taşıyıcısı olan *Triatoma infestans* adlı sinek türüne karşı ovisidal, öldürücü ve büyüme düzenlenmesi etkileri açısından test edilmiştir.⁶² Ekstreler ovisidal etki göstermemiş, sadece ham meyva ekstresi, gelişmenin 1. ve 4. aşamasındaki larvalar üzerinde uzaklaştırıcı etkiye neden olmuştur. Oluşan larvaların da kontrole göre, daha küçük oldukları gözlenmiştir.

M. azedarach'ın yaprak, meyva ve kallus kültürlerinden elde edilen metanollü ve sulu ekstrelerin, "tatlı patates sineği" (sweet potato whitefly) olarak bilinen *Bemisia tabaci* adlı zararlı sineğin yetişkinlerine karşı etkileri incelenmiş ve ekstrelerin %58.9 ile 67.7 arasında değişen oranlarda kovucu (repellent) etki gösterdikleri saptanmıştır.⁶³ Benzer bir çalışmada, *M. azedarach*'ın dalları, ham ve olgun meyvaları ile

yapraklarından elde edilen sulu ekstrelerin “domates kurdu” (tomato pinworm) olarak bilinen *Tuta absoluta*’nın larval ve pupal dönemdeki gelişimi üzerindeki insektisit etkisi araştırılmış ve en etkili ekstrenin yaprak ekstresi olduğu, bunu ham meyva, dal ve olgun meyva ekstrelerinin takip ettiği bulunmuştur.⁶⁴ 20 ve 50 µg/ml konsantrasyonda buğday filizlerine uygulanan *M. azedarach*’ın meyva metanol ekstresinin “Çöl çekirgesi” olarak bilinen *Schistocerca gregaria* tarafından oral yolla alması sağlanarak, insektisit etkisi laboratuvar koşullarında incelenmiş ve sonuç olarak böceğe ait larvaların gelişimi yavaşlamış, böceğin yumurtlaması engellenmiş ve ölüm oranının yükseldiği gözlenmiştir.⁶⁵ Arjantin’de yetişen *M. azedarach*’ın meyva ekstresinden elde edilen bir limonoit türevi olan “meliartenin” adlı bileşiğin, *Epilachna paenulata* ve *Spodoptera eridania* adlı böceklerin larval gelişimini azadirahtin kadar etkili bir şekilde inhibe ettiği saptanmıştır.³⁷

M. azedarach’ın olgun meyva ekstrelerinden hazırlanan hekzan, kloroform ve hidroalkolik ekstrelerin, bir kene türü olan *Boophilus microplus*’a karşı etkisi larvaları ile dişi bireyleri kullanılarak incelenmiştir.⁶⁶ Ekstrelerin hepsi larvalarda ölüme yol açmış, ancak hekzan ve kloroform ekstrelerinin daha etkili olduğu gözlenmiştir. Aynı şekilde, hekzan ve kloroform ekstreleri, dişi bireylere karşı da hidroalkolik ekstreden daha yüksek mortaliteye neden olmuştur.

Yunanistan’da kültürü yapılan *M. azedarach* bitkisinin ham meyvalarından elde edilen etanollü ekstrenin *Spodoptera frugiperda* adlı zararlı üzerindeki etkisi NADPH-sitokrom C redüktaz ve kolinesteraz enzim seviyeleri ölçülerek tayin edilmiştir.⁶⁷ Ekstre, kolinesteraz’a karşı %31, NADPH-sitokrom C redüktaz’a karşı ise %34 inhibisyon sağlamıştır. Aynı çalışmada, ekstre bir hamamböceği türü olan *Leucophaea maderae*’ye karşı da aynı şekilde test edilmiş ve NADPH-sitokrom C redüktaz’a karşı daha yüksek inhibisyon (%43) göstermiştir.

Liomyza huidobrensis adlı böceğin yetişkin ve larvalarına karşı *M. azedarach*'ın meyva ekstralarının insektisit etkisinin incelendiği bir başka çalışmada,³ ekstre laboratuvar şartlarında yetişkin dişilerin beslenmesini engellemiş, saha çalışmalarında da aynı sonuçlar gözlenmiştir. *Haemonchus contortus* adlı zararlının yumurtaları ile ilk devre ve infektif larvalarına karşı, *M. azedarach* sulu ve alkollü ekstralarının ovisidal ve larvisidal etki gösterdiği bulunmuştur.⁶⁸

M. azedarach'ın kurutulmuş meyvalarından hazırlanan sulu ekstre ve sabit yağının, sıçrayan bir böcek türü olan *Ocneridia volxemi* üzerindeki pestisit aktivitesi, laboratuvar şartlarında incelenmiş ve bitkinin yağının %0.5, 1 ve 2 konsantrasyonlarda uygulanması ile larva beslenmesinin azaldığı ve mortalitenin arttığı tespit edilmiştir.⁶⁹ Bitkinin meyva sulu ekstresi, böceğin yetişkin bireylerinde de aynı etkiyi göstermiştir.

Meliaceae familyasının benzer iki türü olan *M. azedarach* ve *Azadirachta indica*'nın meyva endokarplarından hazırlanan etanolü ekstraların insektisit etkisi, sıtma vektörünü taşıyan bir sivrisinek türü olan *Aedes aegypti* larvaları üzerinde incelenmiştir.⁷⁰ Dünya Sağlık Örgütü tavsiyelerine göre gerçekleştirilen letalite testlerine göre; ekstraların LC₅₀, LC₉₅ ve LC₉₉ değerleri hesaplanmıştır. Sulu ortamda, 24 ve 48 saatlik sürelerde 25 ve 30°C sıcaklıklarda yapılan testler sonucunda; her iki ekstrenin de 3. ve 4. larva gelişim safhalarında letal etkili oldukları gösterilmiştir.

Kemirgenlerin (rodentler), Hindistan'daki yıllık zirai üretimin %5-10 oranında azalmasına yol açarak, tarımsal ekonomiye büyük bir zarar verdiği bildirilmiştir. Ancak yan etkileri yüksek ve doğada kalıcı olan toksik sentetik rodentisitlerin kullanımı da bir diğer önemli sorunu meydana getirmektedir. Hindistan'da "dharek" olarak da bilinen *M. azedarach*

bitkisinin tohumlarından elde edilen sabit yağın rodent kontrolünde; üremelerini önlemek yoluyla kullanılıp kullanılamayacakları araştırılmıştır. Buna göre; dişi albino sıçanlarda yağın, folikulogenezisi inhibe edici etkisi incelenmiş ve sıçanlara 18 gün boyunca günde 24 mg/kg vücut ağırlığı dozunda yağ uygulanmıştır.⁷¹ Buna göre; *M. azedarach* tohum yağı verilen sıçanlarda, kontrole göre anlamlı derecede folikulogenezisin inhibe edildiği belirlenmiştir.

Pirinç bitkisi üzerinde zararlı etkileri olan *Cnaphalocrosis medinalis* (rice leaffolder) adlı böceğe karşı, *M. azedarach*'ın tohum ekstresinin insektisit etkisi böcekte bulunan çeşitli enzimlere karşı aktiviteleri üzerinden incelenmiştir.⁷² Testler, böceğin larval gelişiminin düşük dozda dahi, tohum ekstresi ile baskılandığını, beslenme ve sindirim özelliklerinin de azaldığını göstermiştir. Kontrole göre; ekstre uygulaması sonrasında böcekte bulunan asit fosfataz aktivitesinde %69, alkalın fosfataz aktivitesinde %71, adenosin trifosfataz aktivitesinde %46 ve laktat dehidrogenaz aktivitesinde ise %52 inhibisyona neden olmuştur.

Tik ağacı zararlısı olan *Hyblaea puera*'ya karşı, *M. azedarach*'dan hareketle hazırlanan metanollü tohum ve yaprak ekstreleri test edilmiş ve tohum ekstrelerinin tüm konsantrasyonlarda oldukça etkili iken, yaprak ekstresinin sadece yüksek konsantrasyonlarda insektisit etki gösterdiği saptanmıştır.⁷³ Her iki ekstre de canlı larva oranının düşmesine, hatta yetişkinliğe geçişin tamamlanamamasına neden olmuştur.

Beyrut Amerikan Üniversitesi kampüsünden (Lübnan) toplanan *M. azedarach*'ın meyva ve yaprakları ile kallus kültüründen elde edilen hidroalkolik ekstreler, "tatlı patates beyaz sineği" (sweet potato white fly) olarak bilinen *Bemisia tabaci*'ye karşı kovucu (repellent) etkileri açısından denenmiş ve tüm ekstrelerde %58.9 ile 67.7 arasında değişen oranlarda dikkate değer kovucu etki tespit edilmiştir.⁶³ Ayrıca ekstrelerin,

böceğin yumurtlama süreci üzerinde de olumsuz etkileri olduğu gözlenmiştir. Aynı grup tarafından, *M. azedarach*'ın meyvasından hazırlanan sulu ekstre, *Bemisia argentifolii* adlı zararlının kurtçuklar (nymph) üzerinde de test edilmiş ve yumurta gelişimini engellediği gözlenmiştir.⁷⁴

M. azedarach'ın ham meyvaları ile yapraklarından hazırlanan ekstrelerin, %1-10 arasındaki konsantrasyonlarda, karaağaç yapraklarına zarar veren *Xanthogaleruca luteola* adlı böceğin yetişkin bireylerinin beslenmesini engellediği görülmüştür.⁷⁵ %2, 5 veya 10 konsantrasyonlardaki ekstrelerle beslenen böceklerde mortalite oranı oldukça yüksek bir artış göstermiştir.

Bir diğer çalışmada, Hindistan'ın Rajasthan, Punjab ve Himachal Pradesh bölgelerinden toplanan *M. azedarach* meyvalarının kloroform:metanol (9:1) ekstraksiyonu yoluyla elde edilen ekstreler *Plutella xylostella* adlı böceğe karşı "yaprak disk daldırma" (leaf-disc dip) yöntemi kullanılarak denenmiş ve ekstrelerin LC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.⁷⁶ Buna göre; Rajasthan örneğinin en düşük LC₅₀ değerine (%1.47) sahip olduğu gösterilmiş, bunu Punjab (%1.79) ve Himachal Pradesh örnekleri (%2.29) takip etmiştir. Böcekte yumurtlamanın azaldığı, yetişkinlerinin kontrol grubunda 7.4 gün olan yumurtlama zamanının 3.5 güne düştüğü ve kontrol grubunda 8.9-10.3 gün arasında olan yaşam süresinin 5.5-7.8 gün arasında olmak üzere kısaldığı bulunmuştur. Ayrıca, Rajasthan örneğinin böceğin larvasının oluşma aşamasında hem letal, hem de subletal etki sergilediği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, aynı bitki türüne ait örneklerin lokasyon farkına bağlı olarak, farklı biyolojik etkiler gösterdiğine işaret etmektedir.

Nathan ve ark.,⁷⁷ *M. azedarach*'ın tohum ve meyvalarından hazırlanan metanollü ekstreleri, vektörel (taşıyıcı) bir sinek türü olan

Anopheles stephensi'nin genç ve yetişkin bireylerine karşı laboratuvar şartlarında denemiş ve ekstrelerin larvisidal, pupisidal, adultisidal (yetişkinliğe geçişi önleyici), antiovipozisyonel (yumurtlamayı önleyici), kovucu ve ısırmayı engelleyici etki gösterdiklerini saptamışlardır. Ancak tohum ekstresi, yaprağa göre tüm konsantrasyonlarda daha aktif bulunmuştur.

Carpinella ve ark., *M. azedarach* meyvalarından elde edilen ekstre ve sabit yağın pedikulisidal ve ovisidal etkilerini, kafa biti *Pediculus humanus capitis*'e karşı "filtre kağıdı difüzyon testi" yöntemi ile incelenmiş,⁷⁸ bitkinin hem ekstresi hem de yağı, kafa biti üzerinde yüksek mortaliteye sebep olmuştur. En yüksek mortalite oranı, %20 meyva ekstresi ile %10 yağdan oluşan kombinasyonun kullanımı neticesinde görülmüştür. Bu kombinasyona %10 emülsifiye edici ajan eklenmesi ile oluşan formülasyon %92.3 oranında pedikulisidal aktivite göstermiştir. 2009 yılında yapılan benzer bir çalışmada ise,⁷⁹ aralarında *Ruta graveolens*, *M. azedarach* ve *Sambucus australis*'in bulunduğu 3 bitki ekstresinin, *P. humanus capitis*'e karşı pedikulisidal etkisi incelenmiş ve en yüksek etkiye *M. azedarach*'ın yol açtığı belirlenmiştir.

M. azedarach yaprak ve meyvalarından elde edilen etanollü ekstrelerin, *Aedes albopictus* adlı sineğin larvaları üzerinde larvisidal etkisinin incelendiği bir başka çalışmada,⁸⁰ her iki ekstrenin de larvisidal etkiye sahip olmakla beraber, meyva ekstresinin daha yüksek etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *M. azedarach* ekstresinin, *Trichoplusia ni* ve *Pseudaletia unipuncta* adlı lahana tırtıllarına karşı da insektisit etki gösterdiği bulunmuştur.⁸¹

Brezilya'da yetişen *M. azedarach* örneğine ait ham ve olgun meyvalardan hazırlanan hekzan ekstrelerinin *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* larvalarına ve dişilerine karşı insektisit aktivitesi "dişiler için

kontrol ve ekstre gruplarında üreme oranı” ve “larva mortalitesi” gibi parametreler üzerinden araştırılmış ve en yüksek konsantrasyonda her iki ekstrenin de larvalarda %100 mortaliteye sebep olduğu gözlenmiştir.⁸² Diğer parametrelerde ham meyva ekstresinin daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Aralarında *M. azedarach*’ın da bulunduğu 5 adet bitki ekstresi, %1.25, 2.5 ve 5.0 konsanstrasyonlarda “lahana kelebeği” (cabbage butterfly) olarak bilinen *Pieris brassica* adlı zararlıya karşı incelenmiş ve yumurtlamayı engelleme üzerine en yüksek aktiviteye *M. azedarach*’ın neden olduğu bulunmuştur.⁸³

Genellikle güneydoğu Asya, Pasifik ve Karayip adalarında yaygın görülen “Dang hastalığı” veya “Dengue humması” olarak bilinen hastalığın başlıca vektörü olan *Aedes aegypti* üzerinde *M. azedarach*’ın meyva ve yaşlı yapraklarından hazırlanan ekstrelerin larvisit ve ovisit aktivitesi araştırılmış, yaprak ekstresinin güçlü larvisit etkiye sahip olduğu ve yumurtlamayı engellediği tespit edilmiştir.⁸⁴ Meyva ekstresi ise daha düşük etki göstermiş ve çalışmanın bitkinin yaşlı yapraklarının güçlü larvisit ve ovisit etkisine dair ilk çalışma olduğu vurgulanmıştır. Aynı vektör üzerinde yapılan başka bir benzer çalışmada,⁸⁵ *M. azedarach*’ın taze ve kurutulmuş yapraklarının etanol ekstreleri karşılaştırmalı olarak test edilmiş ve her iki ekstreye de maruziyetten sonraki 24 ve 48 saat içinde *A. aegypti*’nin 3. ve 4. gelişme safhalarındaki larvalarında mortalite meydana gelmiştir.

Pek çok önemli ekine zarar veren bir böcek türü olan *Spodoptera exigua*, pek çok pestisit ilaca karşı direnç geliştirdiği için kontrolü oldukça zor hale gelmiştir. Bu böceğe karşı, *M. azedarach* ile *Amaranthus viridis*’in yaşlı yapraklarından hazırlanan ekstrelerin 2. gelişme safhasındaki larvalarına karşı etkileri incelenmiş ve ekstrele maruziyetten sonraki 24 saat içinde ortaya çıkan etkiye göre, *M. azedarach* yaprak ekstresinin (LC₅₀= 9.793 mg/ml), *A. viridis*’e göre (LC₅₀=

50.5702 mg/ml) oldukça güçlü insektisit etki sergilediği, ayrıca böcekte bulunan glutatyon-S-transferaz enzimini her iki ekstrenin de inhibe ettiği belirlenmiştir.⁸⁶

Bitkinin tohum ekstresi *Musca domestica* adlı başka bir zararlıya karşı test edilmiş ve postembriyonik evrede gelişimi engellediği ve yeni oluşan larvaların yetiştirilme süresini uzattığı saptanmıştır.⁸⁷

Etiyopya’da yapılan bir çalışmada ise, *M. azedarach* ve *A. indica* tohum yağlarının “kum sineği” (sand fly) olarak bilinen ve vektörel leşmaniyazisin taşıyıcısı olan *Phlebotomus orientalis* ve *P. bergeroti* adlı sinek türlerine karşı kovucu (repellent) etkisi incelenmiştir.⁸⁸ Elde edilen sonuçlara göre; %2 ve 5 konsantrasyonlarda hazırlanan *A. indica* sabit yağı *Phlebotomus orientalis*’e karşı sırasıyla 7 saat 20 dk boyunca %96.28 ve 9 saat boyunca %98.26 oranında kovucu etki sağlarken, benzer şekilde %2 konsantrasyonda hazırlanan *M. azedarach* yağı 7 saat 20 dk boyunca %95.13, %5 konsantrasyonda hazırlanan *M. azedarach* yağı ise 8 saat 20 dk boyunca %96.20 kovucu etki göstermiştir.

Antihelmintik aktivite

Andropogon muricatus, *Annona squamosa*, *Argemone mexicana*, *Butea frondosa* ve *M. azedarach*’tan oluşan geleneksel bir Ayurvedik bitkisel karışım, halkalıkurt (ringworm) enfeksiyonundan muzdarip 8 koyunda, kontrol olarak 8 adet sağlıklı koyun kullanılarak denenmiş ve bir aylık tedavi süresi sonunda tüm hayvanların sağlıklarına kavuştuğu bildirilmiştir.⁸⁹ Sharatkumar ve ark., büyükbaş hayvanların gastrointestinal sistemlerinde sık görülen *Ascaris* sp., *Oesophagostomum* sp. ve *Paramphistomum* sp. türü solucanlara karşı, aralarında *M. azedarach*’ın da bulunduğu 8 bitki ekstresini taramış ve *M. azedarach*

ekstresinin bu türlere karşı, sırasıyla %50, 50 ve 40 oranında inhibitör etki gösterdiğini bildirmişlerdir.⁹⁰

Hördegen ve ark.'nın kuzular üzerinde yaptıkları bir çalışmada,⁹¹ solucan taşımadıkları bilinen 48 kuzu, A-H arasında olmak üzere her birinde 6 hayvan taşıyan 8 gruba ayrılmıştır. A-G grupları *Haemonchus contortus* ve *Trichostrongylus colubriformis* adlı solucan türü ile enfekte edilmiş, grup H ise enfekte edilmeden bırakılmıştır. Enfeksiyondan sonraki 30 gün boyunca, kuzulara oral olarak *M. azedarach* (sinonim olarak *A. indica* verilmiştir) tohum ekstresi, *Ananas comosus* yaprak ekstresi, *Vernonia anthelmintica* tohum ekstresi, *Embelia ribes* meyva ekstresi, *Caesalpinia crista* tohum ekstresi ve *Fumaria parviflora* tüm bitki ekstresi uygulanmış, referans ilaç olarak ise pirantel tartarat kullanılmıştır. Ancak bahsi geçen ekstrelerden sadece *F. parviflora* ekstresi antihelmentik etki gösterirken, etkisi referans ile aynı seviyede bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre; *F. parviflora* ekstresi yumurta üretimini %100 oranında engellemişken, *M. azedarach*'ın etkinliği sadece %5.2 olmuştur.

Brezilya'da koyunlarda büyük sağlık sorunlarına sebep olan *Haemonchus contortus* adlı solucan türü üzerinde yapılan benzer bir çalışmada da,⁹² *M. azedarach*'ın yapraklarından hazırlanan kloroform ve etanol ekstreleri ile tohumdan hazırlanan hekzan ve etanol ekstreleri, bu solucan türü ile enfekte edilen koyunlardan alınan feçesteki yumurtalar üzerinde denenmiştir. Buna göre; tohum etanol ekstresi yumurta oluşumunu engellemede (LC₅₀= 0.36 mg/ml), yaprak etanol ekstresi ise larva gelişimini engellemede en aktif ekstre (LC₅₀= 9.18 mg/ml) olarak belirlenmiştir. Hindistan'da yetişen *M. azedarach* bitkisinin yaprak ve tohumlarından hazırlanan metanollü ekstrenin *Haemonchus contortus* adlı solucan türüne karşı yumurta oluşumu ve larva gelişimi üzerindeki etkileri

incelenmiş ve yaprak metanol ekstresinin yumurta oluşumunu oldukça yüksek oranda inhibe ettiğini tespit edilmiştir.⁹³

Arjantin’de “paraiso” olarak bilinen ve geleneksel olarak antihelmintik ve insektisit olarak kullanımı kayıtlı olan *M. azedarach* örneğine ait meyvalardan hareketle hazırlanan %70 etanollü ekstre, bir tenya (tapeworm) türü olan *Taenia solum*, kancalı kurt (hookworm) türü olan *Bunostomum trigonocephalum*, düğümlü kurt (nodular worm) türü olan *Oesophagostomum columbianum* ile yine bir solucan (earthworm) türü olan *Pheretima posthuma* adlı helmintlere karşı test edilmiş ve referans ilaç olarak piperazin fosfat kullanılmıştır.⁹⁴ Sonuçlara göre; ekstre aynı konsanstrasyonlarda referanstan daha etkili bulunmuştur. Örneğin; ekstre *Oesophagostomum columbianum*’da %54 oranında paralize, %100 oranında da ölüme neden olurken, piperazin fosfat aynı türde %42 oranında paralize, %75 oranında ise ölüme yol açmıştır. Referans, diğer 3 türde ölüme neden olmamışken, meyva ekstresi bu türlerin hepsinde %8 ile 46 arasında değişen oranlarda ölüme yol açmıştır.

Antiviral aktivite

“Margosa tree” olarak da bilinen *M. azedarach*’ın antiviral aktivitesi ile ilgili ilk çalışma 1969 yılında Rao ve ark. tarafından yayınlanmış ve bu çalışmada *Vaccinia* ile *Variola* virüsleri üzerine etkisi incelenmiştir.⁹⁵ Daha sonraki bir çalışmada, Buenos Aires’ten toplanan *M. azedarach* yapraklarından hazırlanan liyofilize ekstrenin viral ensefalite neden olan virüslerden biri olan *Tacaribe* virüsüne karşı etkisi fareler üzerinde incelenmiş ve ekstrenin koruyucu etkisi inoküle edilen virüs dozuna bağlı olarak %66 ile 100 arasında değişmiştir.⁹⁶ Ekstrenin bu virüsü doğrudan inhibe etmediği, hücre kültürlerindeki replikasyon sürecindeki ilk basamakları inhibe ettiği belirlenmiştir.

Wachsman ve ark. tarafından *M. azedarach*'ın kısmen saflaştırılmış yaprak ekstralarının *Sindbis* virüsünün replikatif siklusunun farklı evrelerindeki etkisi araştırılmış ve %90 inhibisyona yol açtığı görülmüştür.⁹⁷ *Sindbis* virüsü ile enfeksiyon oluşturulmadan 2 saat önce aynı ekstre ile muamele edilen hücrelerde, viral RNA ve protein sentezinin tamamen inhibe edildiği saptanmıştır. Andrei ve ark. memeli hücrelerinde oluşturulan bir viral enfeksiyona karşı dayanıklılığın artırılması için yaptıkları çalışmada,⁹⁸ *M. azedarach*'tan elde edilen glikopeptit tipi bir bileşik olan "meliasin" adlı bileşiği izole etmişler ve 2 saat maruziyetten sonra meliasin'in hücre kültürlerinde viral enfeksiyona karşı hücrede direnç oluşturduğu ve 15 saat boyunca direncin devam ettiğini göstermişlerdir. Ancak bu araştırmacılar, interferon-tipi bir bileşik olmayan meliasin'in direnci nasıl oluşturduğuna dair mekanizmayı açıklayamamışlardır. Aynı araştırmacılar tarafından 1990 yılında, meliasin'in *in vitro* olarak RNA ve DNA hayvan virüslerinin replikasyonunu inhibe ettiği, meliasin'e maruz bırakılan L929 hücreleri ve New Castle hastalığı virüsü tarafından indüklenen primer fare embriyo fibroblast kültürlerinde interferon üretimini baskıladığı bildirilmiştir.⁹⁹ Bu araştırmacılar, meliasin'i 1994 yılında bitkiden izole ederek, yapısını kısmen karakterize etmiş ve bileşiğin molekül ağırlığının 2200-2300 arasında olup, sadece alifatik amino asit ve bir adet glukoz taşıyan bir siklik peptit olduğu saptanmışlardır.¹⁰⁰ Ayrıca, meliasin *Herpes simplex-1*, *Herpes simplex-2*, *Tacaribe* ve *Sindbis* virüslerinin *in vitro* olarak replikasyonunu da inhibe etmiştir. Villamil ve ark. immünofloresans yöntemi kullanarak meliasin'in *Herpes simplex-1*'in multiplikasyonunu inhibe ettiğini de göstermiştir.¹⁰¹ Bir başka çalışmada,⁵¹ meliasin'in Vero hücrelerinde Junin virüsüne karşı antiviral aktivite gösterdiği, bu aktivitesini de enfekte hücrelerin füzyonunu (birleşmesini) ve viral replikasyon siklusunda virüsün üremesini engellediği belirlenmiştir. Meliasin, "besin ve ağız hastalığı virüsü" (food and mouth disease virus) olarak bilinen FMDV'nin de multiplikasyonunu inhibe etmiş, ancak

herhangi bir virüsidal etki göstermemiş ve virüsün hücreye adsorbsiyonunu ve penetrasyonunu da önlememiştir.¹⁰²

Gözde oluşan rekürren *Herpes simplex* virüs (HSV) enfeksiyonları korneal hasar ve en sonunda görme kaybına neden olmaktadır. Kemirgengillerden bir hayvan olan murinde oluşturulan herpetik stromal keratitis üzerinde meliasin'in antiviral etkisi araştırılmış ve bileşiğin herhangi bir toksik etki yaratmaksızın, enfeksiyonlu gözdeki virüs miktarını azalttığı ve hastalık belirtilerini giderdiği tespit edilmiştir.¹⁰³ Aynı araştırmacılar tarafından benzer bir çalışmada,¹⁰⁴ meliasin'in HSV-nedenli oküler hastalık üzerindeki etkisi farelerde denenmiş ve 3 gün arka arkaya ve günde 3 kez olmak üzere topikal yoldan meliasin uygulanmıştır. Meliasin'in blefariti ve stromal keratitin şiddetini azalttığı bulunmuştur. İlginç bir şekilde, 96 saat sonra meliasin uygulamasının oküler hastalığı önlediği, bunun da bileşiğin immünomodülatör aktivitesinden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür. HSV-2 ile enfekte edilen dişi farelerde yapılan bir deneyde ise, meliasin'in genital herpetik enfeksiyonu ve vajina sıvısına virüs akışını önlediği belirlenmiştir.¹⁰⁵

M. azedarach yapraklarından hazırlanan etil asetat ekstresinden biyoaktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama yöntemi ile bir limonoit türevi olan "1-sinamoil-3,11-dihidroksimeliakarpin" adlı bileşik izole edilmiş ve veziküler stomatitis virüsü (VSV) ($IC_{50}= 6 \mu M$) ile HSV-1'e karşı ($IC_{50}= 20 \mu M$) oldukça etkili olduğu bulunmuştur.⁴³ Aynı bileşiğin daha sonra VSV'ün hücre içine girişini engellediği ve VSV-G proteininin hücre içi taşınımını bloke ettiği belirlenmiştir.⁴⁴ Ayrıca, 1-sinamoil-3,11-dihidroksimeliakarpin, konak hücreden bağımsız olarak, HSV-1 glikoproteinlerini Golgi cisimciğinin içine hapsetmiş ve HSV-1 ile enfekte olmuş konjunktival hücrelerde NF- κ B aktivasyonunu engellemiştir. Böylece bileşiğin, sadece virüslerdeki DNA ve RNA multiplikasyonunu inhibe etmediği, aynı zamanda NF- κ B sinyal yolağını da modüle ettiği sonucuna

varılmıştır. Takip eden çalışmada,¹⁰⁶ 1-sinamoil-3,11-dihidroksimeliakarpin'in anti-HSV etkisi, viral-sebepli ve viral-sebepli olmayan sitokin sekresyonu ve NF- κ B aktivasyonu dikkate alınarak, kornea hücreleri ile makrofajlarda araştırılmıştır. Bileşiğin kornea hücrelerinde potent bir anti-HSV etki gösterdiği, interlökin-6 (IL-6) seviyesinde düşmeye yol açacak şekilde NF- κ B'nin çekirdeğe translokasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca, bileşiğin makrofajlarda IL-6 ve TNF- α cevaplarını da modüle ettiği, ancak NF- κ B aktivasyonu üzerine etki etmediği bulunmuştur.

Diğer bir çalışmada, *M. azedarach*'ın kısmen saflaştırılmış yaprak ekstresinin neonatal farelerde *Tacaribe* virüsünü inhibe ettiği bulunmuştur.¹⁰⁷ Kanyara ve Njagi'nin araştırmasında,¹⁰⁸ Kenya'da yetişen bazı tıbbi bitkilerden hareketle hazırlanan liyofilize ekstraların, HIV-1'e (human immunodeficiency virus) karşı antiviral aktiviteleri HIV-1 revers-transkriptaz enzim inhibisyonu yöntemi ile ölçülmüş ve referans ilaç olarak foscarnet (kristalize fosfonoformik asit) kullanılmıştır. Deney sonucunda, foscarnet'in IC₅₀ değeri 0.15 μ g/ml, *M. azedarach* ekstresinin ise 7.0 μ g/ml olarak bulunmuştur.

Hindistan'da geleneksel olarak kullanılan ve aralarında *M. azedarach*'ın da olduğu 20 adet tıbbi bitkiden hareketle hazırlanan petrol eteri, benzen, dietil eter, kloroform, etil asetat, metanol, etanol ve distile su ekstraları, özellikle kültüre alınan karideslerde yüksek oranlarda ölümlere sebebiyet veren beyaz leke hastalığına (white spot disease, WSD) yol açan virüs (white spot disease virus, WSDV) türüne karşı test edilmiş ve sadece 5 bitki ekstresi anlamlı derecede aktivite göstermiştir. Ancak *M. azedarach* ekstraları, bu virüs türüne karşı etkili bulunmamıştır.¹⁰⁹

Antibakteriyel aktivite

M. azedarach'ın gövde, yaprak ve kök kabuklarından hazırlanan metanol ekstreleri, petrol eteri, diklorometan ve etil asetat ile fraksiyonlanmış ve *Bacillus cereus*, *B. coagulans*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *Lactobacillus casei*, *Micrococcus luteus*, *M. roseus*, *Staphylococcus albus*, *S. aureus*, *Streptococcus faecalis*, *S. mutans* ve *S. pneumoniae* adlı Gram (+) bakteriler ile *Agrobacterium tumefaciens*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *S. typhimurium* ve *Serratia marcescens* adlı Gram (-) bakterilere karşı disk difüzyon yöntemiyle referans ilaç olarak kloramfenikol kullanılarak incelenmiştir.¹¹⁰ Ekstrelerin hepsi kloramfenikol ile aynı oranda veya daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermişlerdir.

Kore geleneksel tıbbında kullanılan 40 adet tıbbi bitkiden hareketle hazırlanan ekstreler, özellikle kümes hayvanlarında hastalığa yol açan *Salmonella gallinarum*'a karşı antibakteriyel aktiviteleri yönünden test edilmiş ve minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) tayin edilmiştir.¹¹¹ Test edilen bitkiler arasında, sadece 4 tanesi etkili bulunmuş ve bunlardan biri olan *M. azedarach*'ın MİK değeri 1.2 mg/ml olarak tespit edilmiştir. Hindistan'tan toplanan 20 adet tıbbi bitkiye ait sulu ve alkollü ekstreler, *Capsicum frutescens*'de hastalık meydana getiren *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* adlı bakteriyel patojene karşı test edilmiş ve *M. azedarach* ile birlikte diğer 5 bitki, bu patojenin büyümesinin inhibe edilmesinde, diğerlerine göre daha güçlü bir aktivite göstermişlerdir.¹¹² Saleem ve ark., Pakistan'ın Karachi şehrinden toplanan *M. azedarach* çiçeklerinden hazırlanan metanol ekstresinin, tavşanlarda *Staphylococcus aureus* ile oluşturulan deri enfeksiyonunda potent antibakteriyel özellik

gösterdiğini ve etkisinin neomisin ile karşılaştırılabilir düzeyde olduğunu bildirmişlerdir.¹¹³

Bir başka çalışmada,¹¹⁴ *M. azedarach*'ın petrol eteri, aseton ve metanol ekstreleri, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Serratia marcescens* ve *S. aureus*'a karşı test edilmiş ve aseton ile metanol ekstrelerinin test edilen türlerin hepsi üzerinde güçlü antibakteriyel etki gösterirken, petrol eteri ekstresinin etkisiz olduğu tespit edilmiştir.

M. azedarach, *Curcuma longa* ile birlikte yara iyileşmesinde kullanılmak amacıyla antimikrobiyal bir emülsiyonun hazırlanmasında kullanılmış, hazırlanan polimerik biyo-adhezif emülsiyon, *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus* ve *S. typhimurium*'a karşı disk difüzyon yöntemi ile denenmiş ve etkili olduğu saptanmıştır.¹¹⁵ Mauritius'tan toplanan 7 adet tıbbi bitkinin hekzan, diklorometan ve metanol ekstrelerinin antibakteriyel aktivitelerinin disk difüzyon yöntemi ile araştırıldığı bir çalışmada,¹¹⁶ ekstreler *B. subtilis*, *S. aureus*, *Enterobacter cloacae*, *E. coli* ve *S. enteritidis*'e karşı taranmış ve *M. azedarach* yaprak ekstrelerinin değişen oranlarda aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bitkinin sadece hekzan ekstresi hiçbir bakteriye karşı etki göstermemiş, ancak diklorometan ekstresi *E. cloacae* ve *B. subtilis*'e, metanollü ekstresi ise *E. coli*, *E. cloacae*, *S. enteritidis* ve *B. subtilis*'e etkili bulunmuştur.

İran'da yetişen *M. azedarach*'ın yaprakları ile *M. indica*'nın meyvalarından hazırlanan metanol ekstrelerinin de dâhil edildiği 10 adet tıbbi bitki ekstresi, Gram (-) bakteri olan *Helicobacter pylori*'nin 12 adet klinik izolatu üzerinde denenmiş ve en yüksek anti-*Helicobacter* etkiyi *M. azedarach*, *M. indica* ve *Stachys setifera* ekstrelerinin gösterdiği saptanmıştır.¹¹⁷

Gende ve ark., *M. azedarach* meyvalarının etanollü ekstresinin antibakteriyel etkisini, arılarda hastalık meydana getiren *Paenibacillus* türü bakteriye karşı incelemiş, ancak ekstrenin aktivitesinin oldukça düşük olduğunu tespit etmişlerdir.¹¹⁸ Hindistan'ın Saurashtra bölgesinde halk tıbbında kullanılan 5 bitkiden hazırlanan petrol eteri, etil asetat, metanol ve su ekstraları, Gram (+) bakteriler olan *B. subtilis* ve *S. aureus* ile Gram (-) bakteriler olan *P. aeruginosa*, *S. thyphymurium* ve *Enterobacter aerogenes* suşlarına karşı disk difüzyon yöntemi ile taranmış ve *M. azedarach*'ın gövde ve yapraklarından hazırlanan ekstraların Gram (-)'lere tamamen etkisizken, Gram (+) suşlara orta derecede aktivite gösterdiği bulunmuştur.¹¹⁹

Antifungal aktivite

Carpinella ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada,¹²⁰ Arjantin'in Cordoba bölgesinden toplanan *M. azedarach*'ın olgun meyvalarından hazırlanan etanollü ekstrenin *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, *Microsporum canis* ve *Candida albicans* adlı suşlar üzerinde fungistatik ve fungisidal etkiye sahip olduğu görülmüştür. Beyrut Amerikan Üniversitesi (Lübnan) kampüsünden toplanan *M. azedarach* örneğine ait petrol eteri ve metanol ekstralarının de aralarından olduğu 9 adet bitki ekstresi, bitki patojenleri olan *Botrytis cinerea*, *Alternaria solani*, *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, *Verticillium dahlia*, *Phytophthora infestans* ve *Rhizoctania solani* adlı mantar suşlarına karşı miseliyal büyüme ve spor germinasyonunun inhibisyonu parametreleri üzerinden incelenmiştir.¹²¹ Sonuçlara göre; *M. azedarach* ekstralarının miseliyal büyüme üzerine etkili olmadığı, ancak incelenen mantar suşlarında spor germinasyonu üzerinde %53 ile 100 arasında güçlü inhibisyona neden olduğu bildirilmiştir. Benzer bir çalışmada da,¹²² Arjantin'de yetişen *M. azedarach*'ın farklı kısımlarından hazırlanan ekstraların bitki patojenlerine karşı agar dilüsyon yöntemi ile antifungal

etkisi araştırılmış ve bitkinin meyva, tohum kabuğu ve yaşlı yapraklarına ait hekzan ve etanol ekstreleri *Aspergillus flavus*, *Diaporthe phaseolorum* var. *meridionales*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. verticilloides* ve *Sclerotinia sclerotium*'a karşı fungistatik aktivite göstermiştir. Yaprakların hekzan ekstresi ile tohum kabuklarının etanol ekstresi, çalışmada kullanılan tüm mantar suşlarına karşı oldukça etkili bulunmuş, ayrıca tüm ekstreler fungisidal aktivite göstermişlerdir. En etkili ekstre olarak tespit edilen tohum kabuklarının etanol ekstresinden 3 adet bileşik izole edilmiş ve vanilin, 4-hidroksi-3-metoksisinnamaldehit ve $\pm$ -pinorezinol olarak teşhis edilmişlerdir. Elde edilen bileşikler *F. verticilloides*'e karşı da test edilmişler ve MİK değerleri, sırasıyla, 0.6, 0.4 ve 1.0 mg/ml olarak hesaplanmıştır. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda bir araya konulduklarında güçlü sinerjik etkileşme gösterdikleri de tespit edilmiştir. Bu çalışmanın devamında, Carpinella ve ark., aynı ekstreden diğer 3 bileşiğe ilaveten bir hidroksikumarin türevi olan skopoletin'i de izole etmişler ve yine *F. verticilloides*'e karşı test etmişlerdir.⁵² Ancak, bileşik zayıf antifungal etki göstermesine rağmen, diğer 3 bileşik ile kombine edildiğinde sinerjizmaya bağlı olarak çok güçlü antifungal etki ortaya çıkmıştır.

Çin'de yetişen *M. azedarach*'ın gövde ve meyvalarından farklı ekstraksiyon teknikleri ile hazırlanan ekstreleri, *Aspergillus niger* ve *Trichoderma viride* mantar suşlarına karşı denenmiş ve gövde etanol ekstresi her iki mantar üzerinde de güçlü fungistatik etki göstermiştir.¹²³

Hindistan'da yapılan bir çalışmada,¹²⁴ Annamalai Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi'ne ağız enfeksiyonu şikâyetiyle başvuran 75 hastadan, 46 adet *Candida* sp. izole edilmiş ve bunların 35 tanesi *C. albicans*, 5 tanesi *C. glabrata*, 2'ser tanesi *C. tropicalis* ve *C. krusei*, 1'er tanesi de *C. parapsilosis* ile *C. guilliermondii* olarak teşhis edilmiştir. Bu suşlara karşı *M. azedarach*'ın da aralarında bulunduğu 5

adet bitkiye ait etanollü ekstre disk difüzyon yöntemi ile taranmış, ancak *M. azedarach*'ın herhangi bir antikandida etkiye sahip olmadığı bildirilmiştir.

Antiprotozoal aktivite

M. azedarach ve *A. indica* bitkilerinin yapraklarından hazırlanan kloroformlu ekstraların, *Trypanosoma cruzi* adlı protozoanın epimastigot gelişimi üzerinde güçlü antitripanazomal etki gösterdiği bulunmuştur.¹²⁵ Aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama sonucunda, aktif alt fraksiyonun yağ asitlerince zengin olduğu tespit edilmiştir.

Kenya'nın Kisii bölgesinde yaşayan yerel halk tarafından sıtmaya karşı kullanılan 11 bitkiden hazırlanan hekzan, kloroform, etil asetat ve metanollü ekstraların *Plasmodium falciparum*'a karşı antiplazmodial aktiviteleri referans ilaç olarak klorokin kullanılarak araştırılmış, ancak *M. azedarach*'ın yapraklarından hareketle hazırlanan ekstraları etkisiz bulunmuştur.¹²⁶

Fitotoksik aktivite

Palacios ve ark., *M. azedarach* meyva ekstresinin fitotoksik etkisini incelemiş ve ekstrenin *Avena sativa*, *Brassica napus*, *Chenopodium album*, *Lactuca sativa* ve *Sorghum halepense* adlı bitkilerin tohum çimlenmesini ve fide büyümesini inhibe ettiğini ve bitkide fitotoksik maddelerin mevcut olabileceğini bildirmişlerdir.¹²⁷

2.3.2. Sitotoksik aktivite

M. azedarach'ın sitotoksik etkisi üzerine yapılmış çalışmalarda,^{34,128-130,135} sitotoksik aktiviteden özellikle bitkideki ana

kimyasal gruplar olan limonoitler ve tetranortriterpenlerin sorumlu olduğu düşünölmektedir. Örneğın; Brezilya'nın Parana bölgesinden toplanan *M. azedarach*'ın olgun meyvalarından hazırlanan metanollü ekstreden, 3'ü bilinen, 7 adeti yeni olmak üzere toplam 10 adet limonoit türevi izole edilmiş ve bunlardan 2 tanesinin HeLa S3 kanser hücrelerine karşı anlamlı inhibitör aktivite gösterdiği bildirilmiştir.¹³¹ Bu araştırma grubu tarafından aynı bitki ekstresinden izole edilen 4 yeni limonoit türevinden 2 tanesi, yine HeLa S3 kanser hücrelerine karşı güçlü inhibisyona sebep olmuştur.²⁹

He ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ise,¹³² *M. azedarach* meyvesinden elde edilen suda-çözünür polisakkarit fraksiyonundan, "MPS-III" kodu verilen ana polisakkarit bileşığı izole edilmiş ve sülfrodamin B yöntemi ile insan mide hücrelerinden oluşan BGC-823 hücre paneline karşı güçlü sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir.

Çin'de yetişen *M. azedarach* örneğinden hazırlanan yaprak ekstresinden izole edilen steroit türevi bileşiklerden 3 tanesi, A549, H460 ve U251 insan kanser hücre panellerine karşı güçlü sitotoksikite göstermişlerdir.¹³³

2.3.3. Antipiretik aktivite

M. azedarach'ın hekzan, kloroform ve sulu ekstralarının antipiretik aktivitesi, tavşanlarda denenmiş ve ekstraların aspirin ile mukayese edilebilir oranda aktivite gösterdiği, aktivitenin hekzan ekstresinde daha fazla olduğu bulunmuştur.¹³⁴

2.3.4. Antiülser aktivite

Bazı ölkelerin geleneksel tıbbında ülsere karşı kullanıldığı bildirilen *M. azedarach*'ın Irak'ta yetişen örneğinin meyvalarından elde

edilen lipit fraksiyonunun antiülser aktivitesi, erkek sıçanlarda stres-nedenli ülser modelinde incelenmiştir.¹³⁵ Buna göre; 24 saat aç bırakılarak oluşturulan stresten sonra sıçanlarda serbest asit ve toplam asitlik seviyeleri ölçülmüştür. Özellikle 5. ve 10. günlerden sonra toplam lipit fraksiyonu ülser indeksinde %25 ile 41.8 oranında belirgin bir azalmaya sebep olurken, 10 gün boyunca verilen toplam lipit fraksiyonunun sabunlaştırılmış kısmı ülser indeksini %41.8 ile 50 oranında azaltmıştır. Toplam lipit fraksiyonunun sabunlaştırılmayan kısmı ise ülser indeksinde %50 ile 83.5 oranında düşmeye yol açmıştır. Ancak yağı alınmış meyvaların %70 etanollü ekstresinin, antiülser etki göstermemesi sebebiyle, araştırmacılar tarafından meyvanın antiülser etkisinin fitosterollerinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür.

2.3.5. Antilitiyatik aktivite

Nefrolitiyazis, böbrek taşı oluşumu olarak bilinen ve erkeklerde insidansı daha yüksek olan rekürren bir hastalık olup, tedavisinde kullanılan ilaçlar “antilitiyatikler” olarak adlandırılmaktadır. Ayurvedik tıpta antilitiyatik olarak kullanımı kayıtlı olan *M. azedarach*’ın bu aktivitesi üzerinde yapılan tek çalışmada; Hindistan’ın Madurai bölgesinden toplanan *M. azedarach* örneğinin yapraklarından hazırlanan sulu ekstrenin, erkek albino Wistar tipi sıçanlar üzerinde antilitiyatik etkisi araştırılmıştır.¹³⁶ Her birinde 6 adet olmak üzere 4 hayvan grubu (G-I, G-II, G-III, G-IV) oluşturulmuş ve G-II grubundaki hayvanların içme suyu içine %0.75 etilenglikol katılarak 28 gün boyunca bu suyu içmeleri sağlanmış ve nefrolitiyaliz oluşturulmuştur. G-III grubundaki hayvanlara %0.75 etilenglikollü içme suyunun yanı sıra 250 mg/kg dozda *M. azedarach*’ın sulu ekstresi de ağız yolundan verilmiştir. 7., 14., 21. ve 28. günlerde hayvanlardan idrar numuneleri alınmış ve idrar kalsiyum, magnezyum, fosfor ve oksalat düzeyleri ile birlikte serum ve idrar kreatinin düzeyleri de ölçülmüştür. Ayrıca taş oluşumundan emin olmak amacıyla hayvanlar

öldürülerek, böbrekleri histopatolojik olarak incelenmiştir. Deney sonucunda, ekstrenin idrar kalsiyum, oksalat ve fosfat düzeylerini düşürdüğü, magnezyum düzeyinde ve idrar hacminde artışa yol açtığı, bu nedenle idrarda kristalizasyon eğilimini azalttığı belirtilmiştir. Histopatolojik inceleme sonucunda, böbrekte taş oluşumunu azalttığı da gözlenmiştir.

2.3.6. Kontragestastiyonal aktivite

M. azedarach bitkisinin çiçek ve yapraklarından hazırlanan dekoksasyonun Doğu Afrika ve Suudi Arabistan'da emenagog ve abortifasiyent amaç ile kullanıldığı bildirilmiştir.¹³⁷ Keshri ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada,¹³⁸ bitkinin kök ve yapraklarından elde edilen etanollü ekstrelerin, hamile Sprague-Dawley türü sıçanlara günde 250 ve 500 mg/kg dozlarda uygulandığında, kök etanol ekstresinin hamileliği sonlandırmada 250 ve 500 mg/kg dozlarda sırasıyla, %60 ve 75 oranında, ekstreden elde edilen kloroform fraksiyonunun ise %80-100 arasında etkili olduğu bulunmuştur. Daha sonra kloroform fraksiyonundan izole edilen başlıca bileşikler olan gedunin, rutin, miristik asit ve D-glukuronik asit'in de 50 mg/kg dozda hamileliği sonlandırmada etkinliği aynı yöntemle çalışılmış ve gedunin ile miristik asit'in %50 oranında sonlandığı tespit edilmiştir. Ayrıca ekstrelerin östrojenik etkiye sahip olmadığı da belirlenmiştir.

Aynı grup tarafından östrojenik etkileri olmadığı bilinen *M. azedarach*'ın kloroform fraksiyonu ile *Ferula asafoetida*'nın etanol ekstresinin kontragestastiyonal aktivitelerinin hangi mekanizma üzerinden ortaya çıktığını aydınlatmak üzere yapılan bir sonraki çalışmada; ekstrelerin enerji metabolizması üzerindeki etkileri incelenmiştir.¹³⁹ Her iki ekstrenin de uygulandığı hamile sıçanların %65-85'inde hamileliğin 1. ve 7. günler arasında sonlandığı bulunmuş ve hamileliğin 7. gününde uterustaki karbonhidrat metabolizmasındaki başlıca enzimler üzerindeki etkilerine bakıldığında, uterustaki glikolitik yolağın başlıca enzimi olan

fosfofruktokinaz'ın, ekstre uygulanan hayvanlarda inhibe edildiği saptanmıştır. Ayrıca, hekzosmonofosfat yolağındaki başlıca enzimler olan glukoz-6-fosfat dehidrogenaz ve 6-fosfoglukonat dehidrogenaz'ın da inhibe edildiği bulunmuştur. Dolayısıyla, her iki ekstrenin de hamilelik esnasında uterusda bulunan enerji metabolizmasını, en azından bahsi geçen enzimleri inaktive etmek yoluyla hamileliğin sonlanmasına katkıda bulunduğu sonucuna varılmıştır.

2.3.7. İmmünomodülatör aktivite

Arjantin'in Buenos Aires şehrinden toplanan *M. azedarach* örneğinin taze yapraklarından hazırlanan sulu ekstrenin, immün sistemin iki önemli ögesi olan kompleman sistem ve polimorfonükleer (PMN) lökositler üzerindeki etkisi incelenmiştir.¹⁴⁰ Kompleman sistem üzerine etki için, sağlıklı gönüllülerden temin edilen kandan ayrılan serumlar kullanılmış ve hemolitik kapasiteleri tayin edilmiştir. Sağlıklı gönüllülerden alınan ve heparinize edilen venöz kan örneklerinde PMN lökositlerce zengin PMN fraksiyonu hazırlanmış ve ekstrenin fagositoz üzerine etkisi incelenmiştir. Sonuç olarak; ekstre hem kompleman yolağında hemolitik kapasiteyi azaltmış, hem de fagositik kapasitede önemli bir inhibisyon yapmış ve araştırmacılar tarafından ekstrenin güçlü bir antikompleman etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Benzer bir çalışmada ise,¹⁴¹ *M. azedarach* yaprak ekstresinin, koyun eritrositlerinde fagositozisi inhibe ettiği bildirilmiştir.

2.3.8. Asetilkolinesteraz (AChE) enzim inhibitör aktivite

Vinutha ve ark.'nın çalışmada,¹⁴² Hindistan'da tonik amaçla kullanıldığı bildirilen *M. azedarach* yapraklarının metanol ekstresinin AChE inhibitör etkisi *in vitro* olarak test edilmiş, ancak ekstrenin herhangi bir inhibisyona neden olmadığı bulunmuştur.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

Deneysel çalışmalarımızda bitkisel materyal olarak kullanılan *Melia azedarach* L. (Meliaceae), İstanbul ili Kartal semtinden, 2008 yılı Ekim ayında toplanmıştır. Bitkinin teşhisi Prof.Dr. Hayri Duman (Gazi Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara) tarafından yapılmıştır. Bitki örneği, Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda "GUE 2755" kod numarası altında muhafaza edilmektedir.

3.2. Yöntemler

3.2.1. Ekstrelerin Hazırlanması

Tez çalışmalarımızda kullanılan *M. azedarach* bitkisinin meyvaları ve yapraklı dalları, ayrı ayrı gölgede ve oda sıcaklığında kurutulmuş, daha sonra toz edilmiştir. Toz edilen *M. azedarach* meyva (MAM) (200 g) ve yapraklı dal (MAY) (50 g) örnekleri dijital terazide (Shimadzu) tartılarak, ekstraksiyon için hazırlanmıştır. İlk önce, meyva örneği, Soxhlet apareyinde *n*-hekzan (Merck) ile 7 saat süre ile ekstraksiyona tabi tutulmuş, süre sonunda toplanan *n*-hekzanlı faz, alçak basınç altında 45°C'de su banyosu kullanılarak evaporatörde (Büchi) yoğunlaştırılmış ve sabit yağ elde edilmiştir (MAM-Hekzan). MAY örneği de, 2.5 L *n*-hekzan (Merck) ile oda sıcaklığında 3 gün boyunca (renk iyice koyulaşana dek) maserasyona bırakılmış ve süzülen *n*-hekzanlı faz, alçak basınç altında 45°C'de su banyosu kullanılarak evaporatörde yoğunlaştırılmış ve *n*-hekzan ekstresi (MAY-Hekzan) elde edilmiştir.

Daha sonra kalan MAM ve MAY bitki örnekleri, sırasıyla etil asetat (EtOAc) ve metanol (MeOH) ile oda sıcaklığında her solvan için yine 3'er gün süreyle olmak üzere maserasyona tabi tutulmuş, süre sonunda filtre kâğıdından süzülen organik fazlar, evaporatörde kuruluğa kadar yoğunlaştırılmıştır. Kalan bitki kısımları, en son distile su (MAM-Su ve MAY-Su) ile 3 gün boyunca oda sıcaklığında masere edilmiş, süzülen sulu kısımlar, alçak basınç altında 40 °C'de evaporatörde yoğunlaştırılmış, yoğunlaştırılan kısımlar -80 °C'de dondurulmuş ve daha sonra fakültemiz merkez laboratuvarında bulunan liyofilizatörde liyofilize edilmiştir.

Böylece, bitkinin hem meyva, hem de yapraklı dal kısımlarından 4'er ekstre olmak üzere (*n*-hekzan, etil asetat, metanol ve su) olmak üzere toplam 8 ekstre elde edilmiş ve elde edilen ekstrelerin verimleri hesaplanmış ve daha sonra aktivite deneylerinde kullanılmak üzere +4°C'de saklanmıştır. Türlerle ait % ekstre verimleri (a/a) Tablo 1'de verilmektedir.

3.2.2. *M. azedarach* Ekstrelerinde Kolinesteraz Enzim İnhibisyonu Tayini

3.2.2.1. Asetilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu

Asetilkolinesteraz (AChE) inhibitör aktivite Ellman ve ark. tarafından geliştirilen, modifiye edilmiş spektrofotometrik Ellman yöntemi⁸ kullanılarak tayin edilmiştir. Enzim kaynağı olarak elektrikli yılan balığı AChE'ı (Sigma, EC 3.1.1.7) kullanılırken, substrat olarak asetiltiyokolinilyodür (Sigma, ABD), 5,5'-Ditiyo-bis(2-nitrobenzoik)asit (DTNB, Sigma, ABD) ise renklendirici madde olarak kullanılmıştır.

Hazırlanan *n*-hekzan, etil asetat, metanol ve su ekstreleri tartılarak etanolde (% 75) çözülmüş ve örneklerden hareketle 25 µg/ml, 50

µg/ml, 100 µg/ml ve 200 µg/ml final konsantrasyonda olacak şekilde dilüsyonları hazırlanmıştır.

Deney protokolüne göre; 96 kuyucuklu mikrolaktaki bütün kuyucuklara ilk önce 140 µl 0.1 M fosfat tamponu çok kanallı mikropipet (Eppendorff) yardımı ile konulmuştur. Mikroplağın ilk 4 ve son 8 kuyucuğu kontrol olarak ayrılmıştır. Bu ayrılan kuyucuklara kontrol olarak kullanılan etanol (20 µl) yine mikropipet (Eppendorff) yardımıyla eklenmiştir. Hazırlanmış olan örneklerden 20'şer µl, her örnek 4 paralel olacak şekilde geriye kalan kuyucuklara ilave edilmiştir. AChE enzim çözeltisinden 20 µl bütün kuyucuklara eklendikten sonra mikrolaklar 10 dakika 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda mikrolaktaki tüm kuyucuklara 10 µl DTNB çözeltisi, hemen arkasından 10 µl 0.4 mM substrat çözeltisinden (asetiltiyokoliniyodür) eklenmiştir. Mikrolaklar 412 nm dalga boyunda 96 kuyucuklu enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) mikrolak okuyucuda (Versamax tunable microplate reader, A.B.D.) okutulmuştur. Örneklerin %AChE inhibisyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmış ve referans olarak galantamin ile mukayese edilmiştir. Her örnek 4 paralel çalışılmış ve sonuçlar 4 deneyden elde edilen %inhibisyonların ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir.

$$\% \text{İnhibisyon} = 100 - [(A_1 / A_2) \times 100]$$

A₁= Örnek çözeltilerinin 412 nm dalga boyundaki absorbansı

A₂= Kontrol çözeltilerinin 412 nm dalga boyundaki ortalama absorbansı

Sonuçlar Softmax PRO 4.3.2.LS bilgisayar programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

3.2.2.2. Bütirilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu

Bütirilkolinesteraz (BChE) inhibitör aktivite ölçümünde AChE enzim inhibisyonu ölçümünde (3.2.2.1.) verilen yöntem aynen uygulanmıştır.⁸ Bu deneyde sadece enzim kaynağı olarak at serum bütirilkolinesterazı (Sigma, EC 3.1.1.8), substrat olarak ise bütiriltiyokolinklorür (Sigma, ABD) kullanılmıştır. Renklendirici madde olarak yine DTNB (Sigma, ABD) uygulanmıştır.

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

$$\%İnhibisyon = 100 - [(A_1 / A_2) \times 100]$$

A_1 = Örnek çözeltilerinin 412 nm dalga boyundaki absorbansı

A_2 = Kontrol çözeltilerinin 412 nm dalga boyundaki ortalama absorbansı

Sonuçlar Softmax PRO 4.3.2.LS bilgisayar programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

3.2.2.3. Tirozinaz Enzim İnhibisyonu

Hazırlanan *n*-hekzan, etil asetat, metanol ve su ekstreleri ve tartılarak dimetilsülfoksit'de (DMSO) (%50) çözülmüş ve örneklerden hareketle 25 µg/ml, 50 µg/ml ve 100 µg/ml final konsantrasyonda olacak şekilde dilüsyonları hazırlanmıştır.

Ekstrelerin tirozinaz (EC 1.14.1.8.1, 30 U, mushroom tyrosinase, Sigma) inhibisyon kapasitesi, Masuda ve ark. tarafından geliştirilen, 3,4-dihidroksi-L-fenilalanin'in (L-DOPA) substrat olarak kullanıldığı modifiye dopakrom yöntemi ile spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir.¹⁴³ Referans olarak alfa-kojik asit'in (Sigma) kullanıldığı deneyler, 96-kuyucuklu mikropak kullanılarak ELISA mikropak okuyucuda (Versamax tunable microplate reader, ABD) gerçekleştirilmiştir. Deney protokolüne göre; DMSO'da çözülerek hazırlanan dilüsyonların her birinden 40'ar µl alınarak, daha önceden her birine 80 µl fosfat tamponu (pH 6.8) eklenmiş kuyucuklara ilave edilmiştir. Bunun üzerine 40 µl enzim çözeltisi ve 40 µl L-DOPA çözeltisi konularak, kontrol olarak %50'lik DMSO kullanılmıştır. Belli bir inkübasyon süresini takiben, mikropaklar ELISA cihazına yerleştirilerek, örnekler ve kontrolün absorbanları 475 nm dalga boyunda okunmuş ve tirozinaz inhibisyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır. Her örnek 4 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 4 deneyden elde edilen %inhibisyonların ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir.

$$\%İnhibisyon = 100 - [(A_1 / A_2) \times 100]$$

A_1 = Örnek çözeltilerinin 475 nm dalga boyundaki absorbanı

A_2 = Kontrol çözeltilerinin 475 nm dalga boyundaki ortalama absorbanı

3.2.3. *M. azedarach* Ekstrelerinde Antioksidan Aktivite Tayini

3.2.3.1. 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) Serbest Radikal Süpürücü Aktivite Tayini

Antioksidan aktivite tayini için en çok tercih edilen yöntemlerden biri DPPH (Sigma) serbest radikal süpürücü aktivite tayinidir. Deneyde kullanılan DPPH, serbest radikal olup, ortaklanmamış bir elektronu nedeniyle 517 nm dalga boyunda güçlü absorpsiyon verir. Yöntem Marsden S. Blois tarafından bulunmuş olup,¹⁴⁴ ekstrele Hatano tarafından modifiye edilmiş şekli uygulanmıştır.¹⁴⁵

Ekstreler, 250 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml ve 2000 µg/ml konsantrasyonlarda, DPPH stok çözeltisi ise 6×10^{-5} mol/l konsantrasyonda olacak şekilde hazırlanmış ve etanolde (% 75) çözülmüştür. Her örnekten deney tüplerine, mikropipet yardımıyla belli bir miktarda alınarak üzerlerine 2700 µl DPPH çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra tüpler oda sıcaklığında, karanlıkta 20 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda örneklerin absorbansı 517 nm dalga boyunda kör olarak kullanılan etanole karşı spektrofotometrede (Unico UV-Visible spektrofotometre, ABD) okunmuştur. Örneklerin DPPH serbest radikale karşı % inhibisyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmış ve gallik asit referans olarak kullanılmıştır. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 3 deneyden elde edilen % süpürücü etkilerinin ortalaması±standart sapma olarak verilmiştir.

$$\% \text{İnhibisyon} = [(A_1 - A_2) / A_1] \times 100$$

A_1 = DPPH stok çözeltisinin 517 nm dalga boyundaki absorbansı

A_2 = Örnek çözeltilerinin 517 nm dalga boyundaki absorbansı

3.2.3.2. Demir İyonu-Şelasyon Etkinin Tayini

Ekstrelerin demir iyonu-şelasyon etkilerinin tayin edilmesi amacıyla; Dinish ve ark.'nın yöntemi uygulanmıştır.¹⁴⁶ Referans olarak bütilhidroksi anisol'ün (BHA) kullanıldığı deneylerde, ekstrelerden 250 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml ve 2000 µg/ml konsantrasyonlarda dilüsyonlar etanol (%75) ile çözülerek hazırlanmıştır. Deneyde kullanılmak üzere 2 mM demir-II-klorür ile 5 mM ferrozin çözeltisi de hazırlanmıştır. Yönteme göre; her bir örnekten ve kontrol çözeltisini hazırlamak için çözücünden (etanol) 200 µl mikropipet ile alınarak deney tüplerine konulmuştur. Üzerlerine 50 µl demir-II-klorür ve ardından 200 µl ferrozin çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra, son hacim 4000 µl olacak şekilde etanol (%75) ilave edilmiştir. Karışım 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiş ve süre sonunda absorbans 562 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Unico UV-Visible spektrofotometre, ABD) ölçülmüştür. Örneklerin %inhibisyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 3 deneyden elde edilen %inhibisyonların ortalaması±standart sapma olarak verilmiştir.

$$\%İnhibisyon = [(A_1 - A_2) / A_1] \times 100$$

A₁ = Kontrol çözeltisinin 562 nm dalga boyundaki absorbansı

A₂ = Örnek çözeltilerinin 562 nm dalga boyundaki absorbansı

3.2.3.3. Demir-İndirgeme Antioksidan Gücünün Tayini

Ekstrelerin demir-indirgeme antioksidan gücü (ferric-reducing antioxidant power, FRAP), Oyaizu'nun¹⁴⁷ yöntemine göre 250, 500, 1000 ve 2000 µg/ml konsantrasyonlarda tayin edilmiş ve referans olarak klorojenik asit kullanılmıştır. Yönteme göre; örneklerden 1 ml alınarak, 2.5

ml fosfat tamponu (pH 6.6) ve 2.5 ml potasyum ferrisiyanür ilave edilmiş, elde edilen karışım 50 °C'de 20 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda 2.5 ml %10 trikloroasetik asit (TCA, Sigma) eklenmiştir. Karışım vorteks aracılığıyla homojen bir şekilde karıştırıldıktan sonra, içlerinden 2.5 ml alınarak üzerine distile su ve demir-III-klorür eklenmiştir. Oda sıcaklığında 30 dakika daha inkübasyona bırakıldıktan sonra absorbanslar kontrol olarak kullanılan etanole karşı 700 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Unico UV-visible spektrofotometre, ABD.) okunmuştur. Her örnek 3 paralel çalışılmış ve sonuçlar 3 deneyden elde edilen absorbansların ortalaması±standart sapma olarak verilmiştir. Sonuçların yöntemle göre yorumlanması, artan absorbansların indirgeme gücünün arttığına işaret etmesi şeklindedir.

3.2.4. *M. azedarach* Ekstrelerinde Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite Tayini

3.2.4.1. Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite Tayininde Kullanılan Mikroorganizmalar ve Referanslar

Tez gereçlerimizi teşkil eden MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstrelerin antibakteriyel aktivitelerinin tayin edilmesinde, Amerikan tipi kültür koleksiyonu (American Type of Culture Collection, ATCC) ve Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü Kültür Koleksiyonu'na ait (RSKK) standart suşları kullanılmıştır. Buna göre; Gram (-) ve Gram (+) bakteriler olarak; *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145), *Klebsiella pneumoniae* (RSKK 574), *Acinetobacter baumannii* (RSKK 02026), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) ve *Streptomyces pyogenes* (ATCC 10145) ile bunların klinik izolatları kullanılmış ve referans olarak ampisilin (Fako), gentamisin (Fako) ve ofloksasin'e (Hoechst Marion Russel) karşı test edilmişlerdir. Kullanılan bakterilerin klinik izolatlarından *E. coli*

“extended spectrum β lactamase” (ES β L) enzimi taşımakta olup, oldukça dirençli bir suştur. Bunun yanı sıra; *K. pneumoniae* izolatu trimetoprim-sülfometaksazol, amoksisilin klavulonat ve seftriakson’a, *P. aeruginosa* izolatu trimetoprim-sülfometaksazol ile tazobaktam’a, *A. baumannii* izolatu trimetoprim-sülfometaksazol’a, *S. aureus* izolatu metisilin’e, *E. faecalis* izolatu sefalosporin’e, *B. subtilis* izolatu ise seftriakson’a dirençli suşlardır.

Antifungal aktivite tayini için *Candida albicans* (ATCC 10231), *C. parapsilosis* (ATCC 90028), *C. tropicalis* (ATCC 13803) ve *C. krusei*’nin (ATCC 6258) standart suşları kullanılmıştır.

3.2.4.2. Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite Tayini İçin Stok Çözeltilerin Hazırlanması

Ekstreler etanol:hekzan (1:1) karışımı içinde %1 Tween 80 kullanılarak final konsantrasyon 1024 μ g/ml olacak şekilde çözülmüş, 0.22 μ m Millipore (MA 01730, ABD) filtreden geçirilerek sterilize edilmiş ve stok çözelti olarak kullanılmıştır. Referanslardan ampisilin fosfat tampon çözeltisinde (pH: 8.0, 0.1 mol/L), ketokonazol DMSO, flukonazol ile oflaksosin ise su içinde çözülmüştür.

3.2.4.3. İnokulum Hazırlanması

Deneylerde kullanılan bakterilerin üremesi ve seyreltilmesi için Mueller-Hinton Broth (Difco) ve Mueller-Hinton Agar (Oxoid), *Candida* sp. suşlarının üremesi ve seyreltilmesi için ise Sabouraud sıvı vasat (Oxoid) ve Sabouraud dekstroz agar (SDA) (Oxoid) kullanılmıştır. L-glutamin taşıyan RPMI-1640 vasatı 3-[N-morfolino]-propansülfonik asit (MOPS) ile

tamponlanmış ve testten önce bakteri ve fungus suşları bu vasat üzerinde kültüre alınmıştır.

İnokülasyon için kullanılan bakteri süspansiyonları, McFarland 0.5 dansitesine sahip (10^8 cfu*/ml) taze kültürlerin 10^5 cfu/ml'ye dilüe edilmesiyle hazırlanmıştır. Fungus süspansiyonu ise "Clinical and Laboratory Standards Institute" (CLSI) 2006 ve 2008 yönergesine göre en son 2.5×10^3 cfu/ml konsantrasyonda olacak şekilde spektrofotometrik yöntemle hazırlanmıştır.

3.2.4.4. Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite Tayini

Antibakteriyel ve antifungal aktivite tayinlerinde mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Vasat 96-kuyucuklu mikrolaklara (Greiner^R, Almanya) doldurularak, ekstrele ait 1024 µg/ml konsantrasyonda hazırlanan stok çözeltileri mikroplağın ilk sırasına, 2 katı dilüsyonları ise (512-0.25 µg/ml) geri kalan kuyucuklara mikropipet yardımı ile konulmuştur.

Daha sonra 10'ar µl kültür süspansiyonu bütün kuyucuklara inoküle edilmiş ve sıkıca kapatılmış mikrolaklar, önce 24 saat ve sonra 48 saat boyunca 37°C'de inkübasyona bırakılmışlardır. Sonuçta, ekstrelerin ve referans maddelerin makroskopik büyümeyi tamamen inhibe eden en düşük konsantrasyonu tayin edilmiş ve minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri tayin edilmiştir.

*cfu: Colony forming unit

3.2.5. Toplam Fenol Miktar Tayini

Toplam fenol miktarını tayin etmek için Singleton ve Rossi tarafından modifiye edilen Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır.¹⁴⁸ Bitki ekstresi belli miktarda tartılıp, distile suda çözülmüştür. Daha sonra her örnekten 20 µl alınıp, üzerine sırasıyla yöntemde verilen miktarlarda distile su, Folin-Ciocalteu reaktifi (Sigma) ve sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi eklenmiştir. Diğer taraftan kalibrasyon eğrisini oluşturabilmek için 50 mg/ml, 100 mg/ml, 150 mg/ml, 250 mg/ml, 500 mg/ml konsantrasyonlarda gallik asit dilüsyonları hazırlanmış ve örnek yerine gallik asit dilüsyonları konularak diğer çözeltiler aynen ilave edilmiştir. Tüm çözeltiler 40°C'de 60 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda absorbanlar 765 nm dalga boyunda kör olarak kullanılan etanole karşı spektrofotometrede (Unico UV-Visible spektrofotometre, ABD) okunmuştur. Her örnek 2 paralel olarak çalışılmıştır. Örneğin ortalama absorbanından, gallik asit kalibrasyon çözeltileri yardımıyla hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre, toplam fenol konsantrasyonu gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmış ve ekstrenin toplam fenol miktarı mg/g ekstre±standart sapma olarak verilmiştir.

3.2.6. Toplam Flavonoit Miktar Tayini

Toplam flavonoit miktarını tayin etmek için Woisky ve Salatino'nun geliştirdiği alüminyum klorür (AlCl_3) kolorimetrik yöntemi uygulanmıştır.¹⁴⁹ Bitki ekstresi belli miktarda tartılıp, etanolde (%75) çözülmüştür. Daha sonra örnekten deney tüplerine belli hacimlerde konularak, üzerine sırasıyla yöntemde verilen miktarlarda etanol (%75), %10'luk AlCl_3 , 1 M sodyum asetat çözeltisi ve distile su eklenmiştir. Diğer taraftan kalibrasyon eğrisini oluşturabilmek için 0.125 mg/ml, 0.25 mg/ml, 0.50 mg/ml, 1.0 mg/ml konsantrasyonlarda kersetin kalibrasyon çözeltileri

hazırlanmış ve örnek yerine kersetin dilüsyonları konularak diğer çözeltiler aynen ilave edilmiştir. Karışımlar 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda absorbanslar 415 nm dalga boyunda kontrol olarak kullanılan etanole karşı spektrofotometrede (Unico UV-Visible spektrofotometre, ABD) okunmuştur. Her örnek 2 paralel deney halinde çalışılmıştır. Örneğin ortalama absorbansından, kersetin kalibrasyon çözeltileri yardımıyla hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre, toplam flavonoit konsantrasyonu kersetin eşdeğeri olarak hesaplanmış ve ekstrenin toplam flavonoit miktarı mg/g ekstre $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

3.2.7. Ekstrelerin İnce Tabaka Kromatografisi İle Analizi

MAM ve MAY örneklerinden hareketle etil asetat, metanol ve su ekstralarının kimyasal profili, toluen:aseton (85:15) solvan sistemi kullanılarak İTK yöntemi ile 254 ile 366 nm dalga boylarında incelenmiştir. Daha sonra plak %5 H₂SO₄ ile revele edilerek 105°C'de bir süre bekletilerek spotların renklenmesi sağlanmıştır.

3.2.8. MAM Sabit Yağı ve MAY-Hekzan Ekstresinin Metil Esterifikasyonu

MAM-Hekzan (sabit yağ) ile MAY-Hekzan ekstresinin, gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GK-KS) analizinden önce, Morrison metoduna göre metil türevleri hazırlanarak uçucu hale getirilmiştir.¹⁵⁰ Buna göre; yağ örneğinden belli miktarda alınarak 50 ml hacimli balon jöjeye konulmuş ve üzerine 12 ml 0.5 M metanollü sodyum hidroksit (NaOH) ilave edilmiştir. Daha sonra kaynar su banyosunda yüzeylerindeki yağ damlacıkları kaybolana kadar tutulan örnekler bortriflorür (BF₃)/metanol (Sigma) reaktifinden eklenmiş ve 2'şer dakika daha kaynar su banyosunda tutulmuştur. Oda sıcaklığında bir süre soğumaya bırakılan örnekler, doymuş sodyum klorür çözeltisi ile balonjode 50'şer ml hacime

tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında kendi haline bırakılan örneklerde gözle görülebilir bir faz ayrışması oluşana kadar beklenmiş ve üstte toplanan yağlı kısımlar 1 ml *n*-hekzan ile çözülerek Eppendorf tüpüne alınmıştır. *n*-Hekzanlı kısmın oda sıcaklığında kendi kendine yoğunlaşmasını takiben, yağ asitlerinin metil esterlerini taşıyan bakiyeler elde edilmiş ve GK-KS analizinde kullanılmıştır.

3.2.9. MAM Sabit Yağı ve MAY-Hekzan Ekstresinin Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GK-KS) İle Analizi

MAM yağ örneği ile MAY-Hekzan ekstresi, GK-KS ile analiz edilmiş ve cihaz ile ilgili bilgilerin yanı sıra analizde uygulanan şartlar aşağıda verilmiştir:

Cihaz: Agilent 5973 Network kütle selektif detektör ile kombine edilmiş Agilent 6890N Network GC sistemi

Kolon: Agilent 19091N-136 (HP Innowax Capillary; 60.0 m × 0.25 mm × 0.25 µm)

Taşıyıcı gaz: Helyum

Akış Hızı: 2.7 ml/dk

Enjeksiyon hacmi: 1 µl

Enjeksiyon modu: Split (20:1)

Isı programlaması:

Sıcaklık	Artış Oranı (°C/dk)	Tutulma Zamanı (dk)	Toplam Zaman (dk)
60	---	3	3
185	10	1	13.5
200	5	10	13
220	5	20	24
			53.5

Analiz süresi: 53.5 dk

Detektör ve enjektör sıcaklıkları: 230°C ve 280°C

Kütle aralığı (*m/z*): 35-450 atomik kütle birimi (atomic mass units, AMU)

Elektron impakt iyonizasyon: 70 eV

Analizler sonucunda elde edilen GK-KS kromatogramlarındaki piklerin teşhisinde Wiley ve Nist kütüphanelerinden faydalanılmıştır. Yağ asitlerine ait piklerin relatif yüzdeleri Agilent software'i kullanılarak hesaplanmıştır. Tüm örnekler, 2 defa enjekte edilmiş ve sonuçlar 2 enjeksiyon sonunda elde edilen değerlerin ortalaması $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Ekstre Verimine Ait Bulgular

MAM ve MAY örneklerinden hareketle hazırlanan *n*-hekzanlı, etil asetatlı, metanollü ve sulu ekstrelerin % verimleri (a/a) Tablo 1'de verilmektedir.

Tablo 1: MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstrelerin % verimleri (a/a)

Ekstre Adı	% Verim (a/a)
MAM-Hekzan (Sabit yağ)	48.43
MAM-EtOAc	0.65
MAM-MeOH	37.11
MAM-Su	9.27
MAY-Hekzan	1.40
MAY-EtOAc	1.76
MAY-MeOH	17.78
MAY-Su	23.48

4.2. MAM ve MAY Ekstrelerinin Kolinesteraz Enzim İnhibisyonu Tayinine Ait Bulgular

4.2.1. Asetilkolinesteraz Enzim İnhibisyonuna Ait Bulgular

Tez gereçlerimizi teşkil eden MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstrelerin (*n*-hekzanlı ekstreler hariç) 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml ve 200 µg/ml final konsantrasyonlarda AChE inhibisyonuna ait bulgular Tablo 2’de verilmektedir.

Tablo 2: MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstrelerin AChE inhibitör etkileri (%İnhibisyon±S.S.*)

Ekstreler	AChE’a Karşı İnhibitör Aktivite (%İnhibisyon±S.S.*)			
	25 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	200 µg/ml
MAM-EtOAc	-**	-	8.61±0.78	9.62±0.08
MAM-MeOH	-	-	-	-
MAM-Su	-	-	-	-
MAY-EtOAc	12.89±0.42	20.13±1.90	29.54±2.09	33.63±1.40
MAY-MeOH	-	-	-	-
MAY-Su	-	-	-	-
Referans				
Galantamin	99.37±0.95 (25 µg/ml)			

* Standart Sapma, ** Aktivite gözlenmedi

4.2.2. Bütirilkolinesteraz Enzim İnhibisyonuna Ait Bulgular

Tez gereçlerimizi teşkil eden MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstrelerin (*n*-hekzanlı ekstreler hariç) 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml ve 200 µg/ml final konsantrasyonlarda BChE inhibisyonuna ait bulgular Tablo 3'te verilmektedir.

Tablo 3: MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstrelerin BChE inhibitör etkileri (%İnhibisyon ± S.S.*)

Ekstreler	BChE'a Karşı İnhibitör Aktivite (%İnhibisyon±S.S.*)			
	25 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	200 µg/ml
MAM-EtOAc	26.75±2.07	42.10±1.49	54.15±4.77	61.31±5.09
MAM-MeOH	65.90±3.71	75.92±3.34	75.10±1.71	-**
MAM-Su	--***	--	--	--
MAY-EtOAc	60.82±3.50	72.43±1.09	83.13±2.68	92.89±3.05
MAY-MeOH	--	--	--	23.89±2.10
MAY-Su	--	--	--	--
Referans				
Galantamin	92.61±1.67 (25 µg/ml)			

* Standart Sapma, ** Renk bulanık olduğu için absorbans okunamamıştır, *** Aktivite gözlenmedi

4.2.3. Tirozinaz Enzim İnhibisyonuna Ait Bulgular

Tez gereçlerimizi teşkil eden MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstrelerin %50 DMSO'da çözülmesiyle elde edilen stok solüsyonların 25 µg/ml, 50 µg/ml ve 100 µg/ml final konsantrasyonlardaki dilüsyonlarına ait tirozinaz inhibisyonu bulguları Tablo 4'te verilmektedir.

Tablo 4: MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstrelerin tirozinaz inhibitör etkileri (%İnhibisyon±S.S.*)

Ekstreler	Tirozinaz Enzim İnhibisyonu (%İnhibisyon±S.S.*)		
	250 µg/ml	500 µg/ml	1000 µg/ml
MAM-Hekzan	3.87±1.02	4.92±0.35	5.40±0.11
MAM-EtOAc	-**	-	-
MAM-MeOH	3.33±0.65	8.39±2.05	12.20±2.17
MAM-Su	-	-	3.63±0.11
MAY-Hekzan	4.12±0.80	5.08±0.11	8.06±0.45
MAY-EtOAc	7.20±1.22	9.11±1.48	8.87±1.15
MAY-MeOH	-	-	6.45±0.45
MAY-Su	-	-	-
Referans			
Alfa-kojik asit	42.34±1.03	55.61±0.84	78.89±0.09

* Standart Sapma, ** Aktivite gözlenmedi

4.3. MAM ve MAY Ekstrelerinde Antioksidan Aktivite Tayinine Ait Bulgular

4.3.1. 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) Serbest Radikal Süpürücü Aktivite Tayininine Ait Bulgular

Tez gereçlerimizi teşkil eden MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstrelerin 250 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml ve 2000 µg/ml konsantrasyonlarda DPPH serbest radikal süpürücü etkilerine ait bulgular Tablo 5'te verilmektedir.

Tablo 5: MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstrelerin DPPH serbest radikal süpürücü etkileri (%Süpürücü etki±S.S.*)

Ekstreler	DPPH Radikal Süpürücü Aktivite (%İnhibisyon±S.S.*)			
	250 µg/ml	500 µg/ml	1000 µg/ml	2000 µg/ml
MAM-Hekzan	4.79±0.35	5.40±0.78	4.94±0.01	4.94±0.14
MAM-EtOAc	10.14±0.08	10.42±0.01	10.65±0.01	11.46±0.16
MAM-MeOH	10.20±0.49	11.11±0.01	11.80±0.16	14.61±0.25
MAM-Su	9.91±0.57	9.00±0.40	9.74±0.16	10.54±0.01
MAY-Hekzan	1.94±0.02	6.67±0.17	8.02±0.93	11.95±0.22
MAY-EtOAc	10.42±0.33	11.29±0.40	13.23±0.09	16.15±0.33
MAY-MeOH	14.15±1.22	19.94±0.49	27.38±2.43	44.68±1.29
MAY-Su	10.08±0.01	10.20±0.16	10.77±0.33	13.17±0.32
Referans				
Gallik asit	85.97±0.56	92.19±0.14	92.88±0.19	96.57±0.88

* Standart Sapma

4.3.2. Demir İyonu-Şelasyon Etkinin Tayinine Ait Bulgular

Tez gereçlerimizi teşkil eden MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstrelerin 250 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml ve 2000 µg/ml konsantrasyonlarda tayin edilen demir iyonu-şelasyon etkilerine ait bulgular Tablo 6'da verilmektedir.

Tablo 6: MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstrelerin demir iyonu-şelasyon etkileri (%Şelasyon±S.S.*)

Ekstreler	Demir İyonu-Şelasyonu Aktivite (%İnhibisyon±S.S.*)			
	250 µg/ml	500 µg/ml	1000 µg/ml	2000 µg/ml
MAM-Hekzan	21.01±1.41	71.16±3.21	75.62±1.80	-**
MAM-EtOAc	71.36±1.20	82.66±3.88	81.39±0.49	-
MAM-MeOH	12.07±2.40	21.75±1.20	21.06±2.23	18.62±2.31
MAM-Su	3.39±1.05	9.60±0.89	18.07±1.99	66.79±0.71
MAY-Hekzan	20.56±0.77	25.11±0.19	32.29±0.31	36.71±3.03
MAY-EtOAc	69.14±1.15	69.06±0.06	74.35±2.17	77.72±2.26
MAY-MeOH	--***	--	6.46±0.74	7.45±0.99
MAY-Su	2.64±0.25	11.52±0.94	21.50±3.83	65.39±2.22
Referans				
Bütilhidroksi anisol (BHA)	TE****	21.71±1.10	26.94±1.48	TE

* Standart Sapma, ** Renk bulanık olduğu için absorbans okunamamıştır, *** Aktivite gözlenmedi, **** Test edilmedi

4.3.3. Demir-İndirgeme Antioksidan Gücüne Ait Bulgular

Tez gereçlerimizi teşkil eden MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstrelerin 250 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml ve 2000 µg/ml konsantrasyonlarda tayin edilen demir-indirgeme antioksidan gücüne ait bulgular Tablo 7'de verilmektedir.

Tablo 7: MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstrelerin demir-indirgeme antioksidan gücü (Absorbans $\pm$ S.S.*)

Ekstreler	Demir-İndirgeme Antioksidan Gücü (Ortalama Absorbans $\pm$ S.S.*)			
	250 µg/ml	500 µg/ml	1000 µg/ml	2000 µg/ml
MAM-Hekzan	0.177 $\pm$ 0.001	0.241 $\pm$ 0.001	0.434 $\pm$ 0.005	0.623 $\pm$ 0.001
MAM-EtOAc	0.196 $\pm$ 0.005	0.245 $\pm$ 0.002	0.499 $\pm$ 0.001	0.685 $\pm$ 0.008
MAM-MeOH	0.182 $\pm$ 0.022	0.206 $\pm$ 0.019	0.259 $\pm$ 0.002	0.619 $\pm$ 0.049
MAM-Su	0.179 $\pm$ 0.004	0.178 $\pm$ 0.003	0.206 $\pm$ 0.008	0.421 $\pm$ 0.013
MAY-Hekzan	0.213 $\pm$ 0.008	0.279 $\pm$ 0.015	0.377 $\pm$ 0.021	0.662 $\pm$ 0.001
MAY-EtOAc	0.266 $\pm$ 0.016	0.298 $\pm$ 0.016	0.655 $\pm$ 0.011	0.817 $\pm$ 0.007
MAY-MeOH	0.236 $\pm$ 0.006	0.324 $\pm$ 0.001	0.503 $\pm$ 0.019	1.197 $\pm$ 0.033
MAY-Su	0.136 $\pm$ 0.002	0.147 $\pm$ 0.006	0.218 $\pm$ 0.018	0.507 $\pm$ 0.028
Referans				
Klorojenik asit	2.955 $\pm$ 0.09	3.547 $\pm$ 0.06	3.618 $\pm$ 0.01	TE**

* Standart Sapma, ** Test edilmedi

4.4. MAM ve MAY Ekstrelerinin Antibakteriyel ve Antifungal Tayinine Ait Bulgular

4.4.1. Antibakteriyel Aktivite Tayinine Ait Bulgular

Tez gereçlerimizi teşkil eden MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstrelerin, Gram (+) ve Gram (-) bakteri suşlarına karşı antibakteriyel aktivite sonuçları; MİK, minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) ve minimum bakteriyostatik konsantrasyon (MBSK) olarak ifade edilerek Tablo 8 ve 9’da verilmektedir.

Tablo 8: MAM ve MAY ekstralarının Gram (+) bakteri suşlarına karşı antibakteriyel aktiviteleri

Ekstreler	Gram (+) Bakteri Suşlarına Karşı MİK* Değerleri											
	<i>S. aureus</i>			<i>S. pyogenes</i>			<i>B. subtilis</i>			<i>E. faecalis</i>		
	ATCC 25923	İzolat	MBK**/ MBSK***	RSKK 574	İzolat	MBK/ MBSK	ATCC 6633	İzolat	MBK/ MBSK	ATCC 29212	İzolat	MBK/ MBSK
MAM-Hekzan	128	256	≥256/ ≤128	64	128	≥128/ ≤64	64	256	≥128/ ≤64	64	256	≥256/ ≤128
MAM-EtOAc	64	256	≥256/ ≤128	64	128	≥128/ ≤64	64	256	≥128/ ≤64	64	256	≥256/ ≤128
MAM-MeOH	64	256	≥256/ ≤128	64	128	≥128/ ≤64	64	256	≥128/ ≤64	64	256	≥256/ ≤128
MAM-Su	64	256	≥256/ ≤128	64	128	≥128/ ≤64	64	256	≥128/ ≤64	64	256	≥256/ ≤128
MAY-EtOAc	64	256	≥256/ ≤128	64	128	≥128/ ≤64	64	256	≥128/ ≤64	64	256	≥256/ ≤128
MAY-Hekzan	64	256	≥256/ ≤128	64	128	≥128/ ≤64	64	256	≥128/ ≤64	64	256	≥256/ ≤128
MAY-MeOH	64	256	≥256/ ≤128	64	128	≥128/ ≤64	64	256	≥128/ ≤64	64	256	≥256/ ≤128
MAY-Su	64	256	≥256/ ≤128	64	128	≥128/ ≤64	64	256	≥128/ ≤64	64	256	≥256/ ≤128
Referanslar												
Ampisilin	<0.12	>128		<0.12	0.25		0.12	0.5		0.5	>128	
Oflakzosin	0.25	64		1	2		-****	-		1	32	
Levaksozin	0.25	128		0.5	-		-	-		0.5	32	

* Minimum inhibitör konsantrasyon, ** Minimum bakterisidal konsantrasyon, *** Minimum bakteriyostatik konsantrasyon, **** Aktivite gözlenmedi

Tablo 9: MAM ve MAY ekstralarının Gram (-) bakteri suşlarına karşı antibakteriyel aktiviteleri

Ekstreler	Gram (-) Bakteri Suşlarına Karşı MİK* Değerleri											
	<i>E. coli</i>			<i>P. aeruginosa</i>			<i>K. pneumoniae</i>			<i>A. baumannii</i>		
	ATCC 269222	İzolat	MBK**/ MBSK***	ATCC 27853	İzolat	MBK/ MBSK	RSKK 574	İzolat	MBK/ MBSK	ATCC	İzolat	MBK/ MBSK
MAM-Hekzan	32	128	≥256/ ≤128	32	256	≥128/ ≤64	32	256	≥128/ ≤64	32	128	≥256/ ≤128
MAM-EtOAc	32	128	≥256/ ≤128	32	256	≥128/ ≤64	32	256	≥128/ ≤64	32	128	≥256/ ≤128
MAY-MeOH	16	128	≥256/ ≤128	16	256	≥128/ ≤64	16	256	≥128/ ≤64	16	128	≥256/ ≤128
MAM-Su	32	128	≥256/ ≤128	32	256	≥128/ ≤64	32	256	≥128/ ≤64	32	128	≥256/ ≤128
MAY-Hekzan	32	128	≥256/ ≤128	32	256	≥128/ ≤64	32	256	≥128/ ≤64	32	128	≥256/ ≤128
MAY-EtOAc	32	128	≥256/ ≤128	32	256	≥128/ ≤64	32	256	≥128/ ≤64	32	128	≥256/ ≤128
MAM-MeOH	32	128	≥256/ ≤128	32	256	≥128/ ≤64	32	256	≥128/ ≤64	32	128	≥256/ ≤128
MAY-Su	16	128	≥256/ ≤128	16	256	≥128/ ≤64	16	256	≥128/ ≤64	16	128	≥256/ ≤128
Referanslar												
Ampisilin	2	>128		-****	-		2	>128		2	>128	
Oflakzosin	0.12	0.5		1	64		<0.12	0.5		0.12	64	
Levaksozin	<0.12	0.5		1	64		<0.12	1		0.12	64	

* Minimum inhibitör konsantrasyon, ** Minimum bakterisidal konsantrasyon, *** Minimum bakteriyostatik konsantrasyon, **** Aktivite gözlenmedi

4.4.2. Antifungal Aktivite Tayinine Ait Bulgular

Tez gereçlerimizi teşkil eden MAM ve MAY örneklerinden elde edilen ekstrelerin, test edilen *Candida* sp. suşlarına karşı antifungal aktivite sonuçları; MİK, minimum fungisidal konsantrasyon (MFK) ve minimum fungistatik konsantrasyon (MFSK) olarak ifade edilerek Tablo 10'da verilmektedir.

Tablo 10: MAM ve MAY ekstralarının antifungal aktiviteleri

Ekstreler	<i>Candida sp.</i> Suşlarına Karşı MİK* Değerleri							
	<i>C. albicans</i> (ATCC 10231)		<i>C. parapsilosis</i> (ATCC 90028)		<i>C. tropicalis</i> (ATCC 13803)		<i>C. krusei</i> (ATCC 6258)	
	MİK	MFK/ MFSK	MİK	MFK/ MFSK	MİK	MFK/ MFSK	MİK	MFK/ MFSK
MAM-Hekzan	64	≥128/ ≤64	128	≥256/ ≤128	128	≥256/ -	≥256	≥256/ _****
MAM-EtOAc	64	≥128/ ≤64	64	≥256/ ≤128	64	≥256/ -	64	≥256/ ≤128
MAM-MeOH	64	≥128/ ≤64	64	≥256/ ≤128	64	≥256/ -	64	≥256/ ≤128
MAM-Su	64	≥128/ ≤64	64	≥256/ ≤128	64	≥256/ -	64	≥256/ ≤128
MAY-Hekzan	32	≥128/ ≤64	64	≥256/ ≤128	64	≥256/ -	64	≥256/ ≤128
MAY-EtOAc	32	≥128/ ≤64	64	≥256/ ≤128	64	≥256/ -	64	≥256/ ≤128
MAY-MeOH	32	≥128/ ≤64	64	≥256/ ≤128	64	≥256/ -	64	≥256/ ≤128
MAY-Su	32	≥128/ ≤64	64	≥256/ ≤128	64	≥256/ -	64	≥256/ ≤128
Referanslar								
Ketokanazol	1		2		1		4	
Flukanazol	2		4		2		64	

* Minimum inhibitör konsantrasyon, ** Minimum fungisidal konsantrasyon, *** Minimum fungistatik konsantrasyon, **** Aktivite gözlenmedi

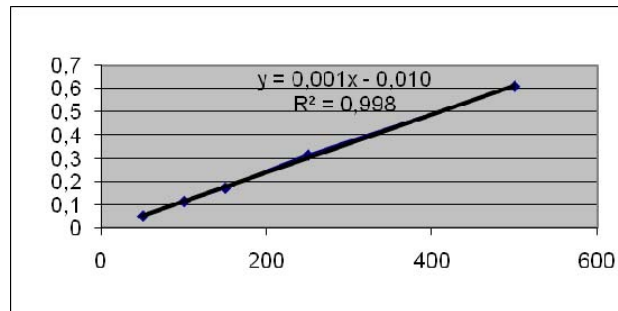
4.5. Toplam Fenol Miktar Tayini Bulguları

MAM ve MAY ekstrelerinde, Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak, gallik asit eşdeğeri (mg/g ekstre) olarak bulunan toplam fenol miktarları Tablo 11’de, kalibrasyon eğrisi ($y=0.001x-0.010$; $r^2=0.9980$) ise Şekil 13’de verilmektedir:

Tablo 11: MAM ve MAY ekstrelerinde toplam fenol miktarları

Ekstreler	Toplam Fenol Miktarları (mg/g ekstre $\pm$ S.S.)**
MAM-EtOAc	11.78 $\pm$ 2.71
MAM-MeOH	10.37 $\pm$ 0.59
MAM-Su	14.78 $\pm$ 1.78
MAY-Hekzan	10.37 $\pm$ 2.71
MAY-EtOAc	9.03 $\pm$ 5.30
MAY-MeOH	48.38 $\pm$ 3.38
MAY-Su	48.78 $\pm$ 3.14

* Standart sapma, ** Gallik asit eşdeğeri



Şekil 13: Toplam fenol miktarı tayininde kullanılan gallik asit'e ait kalibrasyon eğrisi

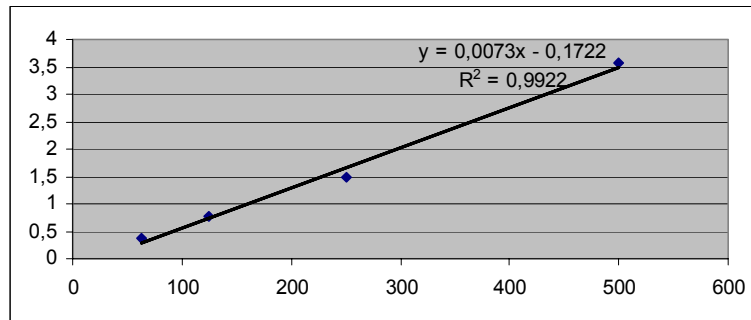
4.6. Toplam Flavonoit Miktar Tayini Bulguları

MAM ve MAY ekstrelerinde, AlCl_3 yöntemi kullanılarak kersetin eşdeğeri olarak (mg/g ekstre) olarak bulunan toplam flavonoit miktarları Tablo 12’de, kalibrasyon eğrisi ($y=0.0073x-0.1722$; $r^2=0.9922$) ise Şekil 14’de verilmektedir:

Tablo 12: MAM ve MAY ekstrelerinde toplam flavonoit miktarları

Ekstreler	Toplam Flavonoit Miktarları (mg/g ekstre $\pm$ S.S.)**
MAM-EtOAc	75.92 $\pm$ 0.78
MAM-MeOH	26.40 $\pm$ 0.29
MAM-Su	32.16 $\pm$ 0.29
MAY-Hekzan	53.94 $\pm$ 5.52
MAY-EtOAc	119.62 $\pm$ 4.45
MAY-MeOH	49.41 $\pm$ 0.68
MAY-Su	25.99 $\pm$ 0.87

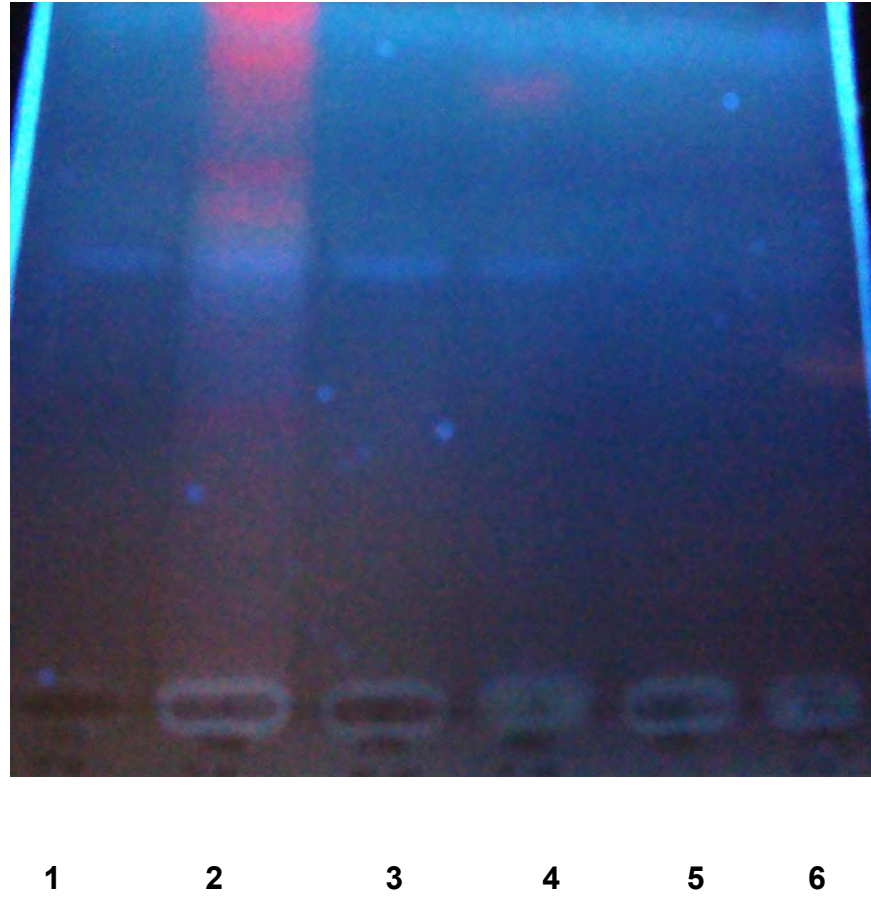
* Standart sapma, ** Kersetin eşdeğeri



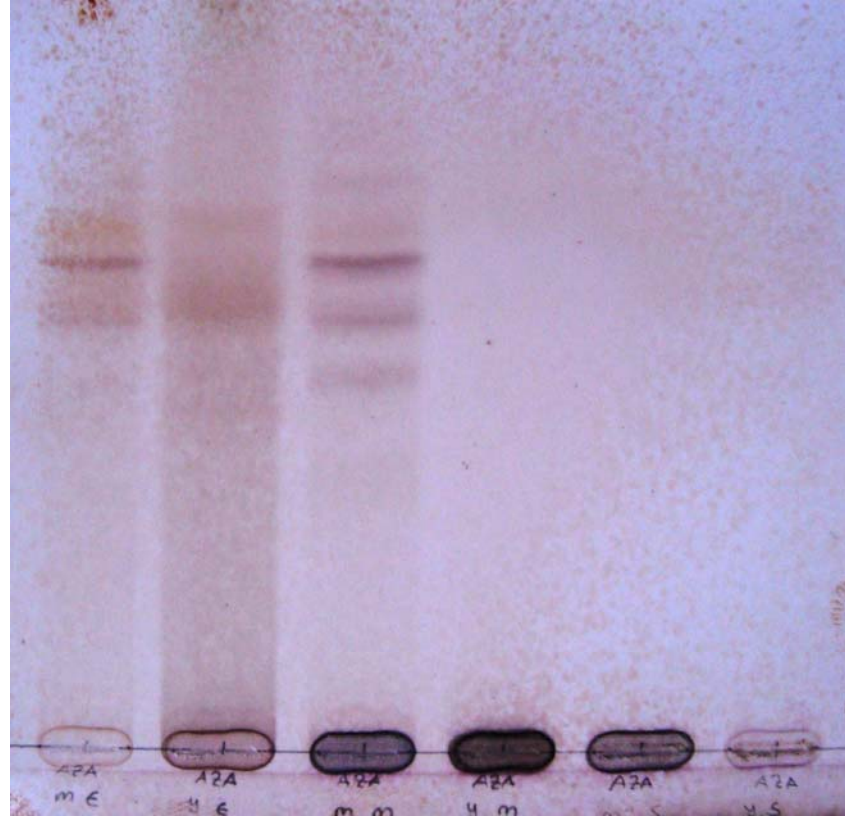
Şekil 14: Toplam flavonoit miktarı tayininde kullanılan kersetin'e ait kalibrasyon eğrisi

4.7. Ekstrelerin İnce Tabaka Kromatografisi İle Analizine Ait Bulgular

MAM ve MAY örneklerine ait etil asetat, metanol ve su ekstralarının İTK analizi sonucunda elde edilen kromatogramların 254 nm dalga boyunda ve %5 H₂SO₄ püskürtüldükten sonraki görünüşleri Resim 4 ve 5'te verilmektedir.



Resim 4: MAM ve MAY örneklerine ait etil asetat, metanol ve su ekstralarının İTK kromatogramının (toluen:aseton/85:15) UV 254 nm dalga boyundaki görünümü (1: MAM-EtOAc, 2: MAY-EtOAc, 3: MAM-MeOH, 4: MAY-MeOH, 5: MAM-Su, 6: MAY-Su)



1

2

3

4

5

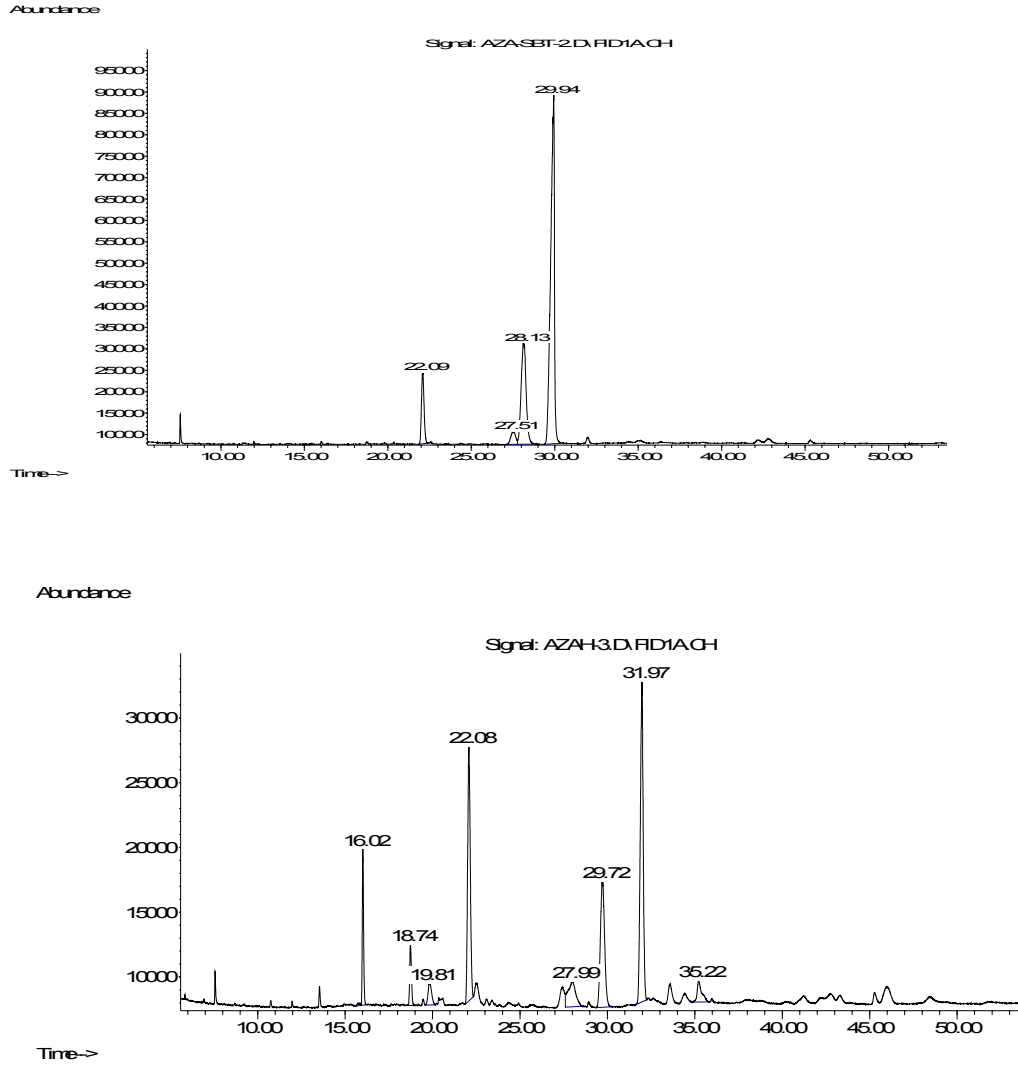
6

Resim 5: MAM ve MAY örneklerine ait etil asetat, metanol ve su ekstraktlarının İTK kromatogramının (toluen:aseton/85:15) %5 H_2SO_4 ile revele edildikten sonraki görünümü

(1: MAM-EtOAc, 2: MAY-EtOAc, 3: MAM-MeOH, 4: MAY-MeOH, 5: MAM-Su, 6: MAY-Su)

4.8. MAM Sabit Yağı ve MAY-Hekzan Ekstresinin GK-KS Analiz Bulguları

MAM sabit yağı ve MAY-Hekzan ekstresinin BF_3 reaktifi kullanılarak metil esterifikasyona tabi tutulmasını takiben, GK-KS analizinden elde edilen yağ asiti bileşimleri, retansiyon zamanlarıyla beraber Tablo 13'te verilmektedir. MAM sabit yağının ve MAY-Hekzan ekstresinin GK-KS analizlerine ait kromatogramlar ise Şekil 15'te verilmektedir.



Şekil 15: MAM sabit yağının (üstte) ve MAY-Hekzan ekstresinin (altta) GK-KS analizlerine ait kromatogramlar

Tablo 13: MAM sabit yağı ve MAY-Hekzan ekstresinin GK-KS analizi ile belirlenen yağ asiti bileşimleri

*

	Yağ Asitleri							
	Kaproik asit	Laurik asit	Miristik asit	Palmitik asit	Stearik asit	Oleik asit	Linoleik asit	Linolenik asit
Retansiyon zamanı (dk)	7.57	16.01	18.74	22.09	27.42	27.99	29.72	31.99
	Yağ Asiti Bileşimi (% a/a)							
MAM-Sabit yağ	1.02±0.06	-*	-	8.97±0.05	2.84±0.02	24.42±0.09	62.76±0.07	-
* MAY-Hekzan	1.02±0.05	7.63±0.06	4.07±0.03	26.09±0.34	1.86±0.08	4.05±0.35	20.13±0.27	35.16±0.22

* Tespit edilmedi

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Melia azedarach L. (Meliaceae) anavatanı Hindistan ve Çin olmasına rağmen, diğer birçok ülkede de yetişen bir bitki türüdür. Hindistan geleneksel tıp sistemi olan Ayurveda'da tedavide değişik amaçlarla kullanılan bu tıbbi bitki türü üzerinde yoğun fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları yapılmakta, özellikle pestisit aktivitesi ile ilgili çalışmaların ön plana çıktığı görülmektedir.^{1,2,37,87,54-127} Bitkinin meyva ve yapraklarından hazırlanan değişik polaritedeki ekstraktların *Spodoptera litura*,^{1,2} *Spodoptera eridania*,³⁷ *Epilachna paenulata*,³⁷ *Locusta migratoria migratorioides*,⁵⁴ *Rhodnius neglectus*,⁵⁵ *Spodoptera exigua*,^{56,86} *Rhodnius prolixus*,⁵⁷ *Xanthogalleruca luteola*,⁵⁸ *Spodoptera littoralis*,^{59,60} *Agrotis ipsilon*,⁵⁹ *Triatoma infestans*,⁶² *Bemisia tabaci*,⁶³ *Tuta absoluta*,⁶⁴ *Schistocerca gregaria*,⁶⁵ *Boophilus microplus*,^{66,82} *Spodoptera frugiperda*,⁶⁷ *Leucophaea maderae*,⁶⁷ *Liomyza huidobrensis*,³ *Ocneridia volxemi*,⁶⁹ *Aedes aegypti*,^{70,84,85} *Cnaphalocrosis medinalis*,⁷² *Hyblaea puera*,⁷³ *Bemisia argentifolii*,⁷⁴ *Xanthogalerma luteola*,⁷⁵ *Plutella xylostella*,⁷⁶ *Anopheles stephensi*,⁷⁷ *Pediculus humanus capitis*,⁷⁸ *Aedes albopictus*,⁸⁰ *Trichoplusia ni*,⁸¹ *Pseudaletia unipuncta*,⁸¹ *Pieris brassica*,⁸³ *Musca domestica*,⁸⁷ *Phlebotomus orientalis*⁸⁸ ve *P. bergeroti*⁸⁸ adlı böcek türlerine karşı güçlü insektisit aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca, bitkinin ekstraktlarının çeşitli çalışmalarda *Ascaris* sp.,⁹⁰ *Oesophagostomum* sp.,^{90,94} *Paramphistomum* sp.,⁹⁰ *Haemonchus contortus*,^{68,91-93} *Trichostrongylus colubriformis*,⁹¹ *Taenia solium*,⁹⁴ *Bunostomum trigonocephalum*⁹⁴ ve *Pheretima posthuma*⁹⁴ adlı solucan türlerine karşı da antihelmintik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Birçok çalışmada, özellikle organofosfat ve karbamat türevi insektisitler ile bazı antihelmintik ilaçların böcekler ve solucanlarda bulunan AChE enzimini inhibe etmeleri yoluyla etki gösterdikleri bilinmektedir.¹⁵¹⁻¹⁵⁶ Çünkü kolinesterazlar, insanda olduğu kadar böceklerde ve omurgalılarda da sinir sisteminin fonksiyonlarını sürdürebilmesi için gereken önemli bir enzim ailesidir. Bu

enzim ailesinin insektisitler ve antihelmintikler tarafından inhibe edilmesi, böcekler ve solucanlarda toksisite, sinir sisteminde asetilkolin'in aşırı birikmesine bağlı kontrolsüz kasılmalardan dolayı felç ve nihayet ölüme yol açmaktadır. Dolayısıyla kolinesteraz inhibisyonu, insektisit ve antihelmintik ilaçlar için önemli bir hedef durumundadır.

Diğer taraftan, Türkiye'de yetişen *M. azedarach* üzerinde henüz yapılmış herhangi bir fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışması bulunmamaktadır. Bu sebeple, ülkemizin özellikle güney ve batı kesimlerinde yaygın olmakla beraber, diğer bölgelerde de rastlanabilen ve artık ülkemiz için de neredeyse doğallaşmış bir tür olarak düşünülebilecek *M. azedarach* bu çalışmada tez materyali olarak belirlenmiş ve literatür taramalarında kuvvetli insektisit etkisinin olduğunun da bildirilmesi, ilk olarak bizi Türkiye'de yetişen bitki örneğinin meyvaları ve yapraklı dallarından ayrı ayrı hazırlanan *n*-hekzanlı, etil asetatlı, metanollü ve sulu ekstrelerin AChE ve BChE enzimleri üzerine inhibitör etkisini incelemeye yöneltmiştir. Buna göre; sadece MAY-EtOAc ekstresi 200 µg/ml konsantrasyonda AChE'a karşı %33.63±1.40, MAM-EtOAc ekstresi ise %9.62±0.08 inhibitör etki gösterirken, diğer ekstreler inaktif bulunmuştur (Tablo 2). Ancak ekstrelerin BChE'a karşı hayli etkili oldukları gözlenmiştir. BChE'a karşı en yüksek inhibitör aktiviteyi 200 µg/ml konsantrasyonda MAY-EtOAc (%92.89±3.05) ekstresi gösterirken, bunu 100 µg/ml konsantrasyonda %75.10±1.79 inhibisyonla MAM-MeOH ekstresi takip etmiştir (Tablo 3). MAM-EtOAc ekstresinin de %61.31±5.09 oranında inhibisyona yol açarak oldukça etkili olduğu gözlenmiştir.

M. azedarach, güçlü insektisit ve yanı sıra dikkate değer antihelmintik etkisi nedeniyle yakında ticari bir "biyopestisit" olarak kullanılmaya aday önemli bir bitkidir. Bu etkisini kolinesteraz enzim ailesini inhibe ederek gösterdiğine dair tek bir çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada, Yunanistan'da yetişen *M. azedarach* örneğine ait meyvalardan

hazırlanan etanollü ekstrenin böcekte bulunan %31 oranında AChE'ı inhibe ettiği bulunmuştur.⁶⁷ Bizim çalışmamızda ise, meyva metanol ekstresi AChE üzerinde inhibitör etki göstermemiş, sadece MAY-EtOAc ekstresi 33.63 ± 1.40 oranında inhibitör etki göstermiştir (Tablo 2). Ancak MAM-MeOH ekstresinin BChE'a karşı 75.10 ± 1.79 oranında yüksek etki göstermesi de insektisit etkinin ortaya çıkmasındaki etkenlerden biri olarak açıklanabilir.

Diğer yandan *M. azedarach* ekstrelerinin tirozinaz enzimine karşı inhibitör aktiviteleri, 3.63 ± 0.11 ile 12.20 ± 2.17 arasında olmak üzere oldukça düşük bulunmuştur (Tablo 4).

İnsektisit ilaçlar, kolinesteraz enzimlerini inhibe ederken, aynı zamanda istenmeyen serbest radikaller oluşmasına da neden olmaktadır.^{157,158} Oluşan radikallerin, insektisit ilacın oluşturacağı toksisiteye katkısının olacağı da aşîkârdır. Bu sebeple, ekstrelerin antioksidan aktiviteleri de *in vitro* olarak üç yöntemle incelenmiştir. Ekstrelerin DPPH radikalini süpürücü etkileri oldukça düşük olup, en yüksek etkiyi MAY-MeOH ekstresi (44.68 ± 1.29) göstermiştir (Tablo 5). Ekstrelerin demir iyonu-şelasyonu etkilerinin, özellikle MAY-Su (65.39 ± 2.22), MAM-Su (66.79 ± 0.71) ve MAY-EtOAc'da (77.72 ± 2.26) yüksek olduğu saptanmıştır (Tablo 6). Demir indirgeme antioksidan gücünün ise MAY-MeOH ekstresinde en yüksek olduğu bulunmuştur (Tablo 7).

Literatür taraması temel alındığında, *M. azedarach* üzerinde yapılan pek çok antimikrobiyal aktivite çalışmasının yapılmış olması ve Hindistan'da bazı mikrobiyal hastalıklara karşı kullanılışının bildirilmesi, bizi Türkiye'de yetişen türün de antimikrobiyal aktivitesinin incelenmesine yönlendirmiş ve hazırladığımız ekstreler bir dizi Gram (+) ve Gram (-) bakteri türü ile 4 adet *Candida* türü fungusa karşı test edilmiştir. Elde

edilen MİK değerlerine göre; ekstrelerin Gram (-) bakterilerin hem ATCC suşlarına, hem de klinik izolatlarına karşı, Gram (+) suşlara göre daha etkili oldukları gözlenmiştir (Tablo 8 ve 9). Taranan 4 adet *Candida* suşuna karşı ekstrelerin orta derecede (MİK= 64 mg/ml) antifungal etki gösterdiği (Tablo 10), ancak sadece *C. albicans*'a karşı bitkinin yaprak ekstrelerinin tümünün daha etkili (MİK= 32 mg/ml) olduğu göze çarpmıştır.

Ekstrelerin kimyasal içerikleri ile ilgili fikir edinebilmek amacıyla, spektrofotometrik olarak toplam fenol ve flavonoit miktarları tayin edilmiştir. Ancak sadece MAY-MeOH ekstresinde dikkate değer toplam fenol içeriği gallik asit eşdeğeri olarak 40.26 ± 6.41 mg/g ekstre olarak hesaplanmıştır (Tablo 11). Diğer yandan, ekstrelerin hepsinin değişen miktarlarda toplam flavonoit taşıdığı hesaplanmış ve MAY-EtOAc'ın kersetin eşdeğeri olarak toplam flavonoitçe en zengin ekstre olduğu (119.62 ± 4.45 mg/g ekstre) belirlenmiştir (Tablo 12).

Ekstrelerin toluen:aseton (85:15) solvan sisteminde sürüklenmesi ile elde edilen İTK kromatogramına göre; fitokimyasal olarak en yoğun ekstrenin MAY-EtOAc olduğu görülmüştür (Şekil 15 ve 16). En yüksek toplam flavonoit miktarına da sahip olduğunu tespit ettiğimiz bu ekstrenin flavonoitçe zengin olduğu düşünülebilir. Ayrıca, %5 H₂SO₄ revelatörü ile oluşan pembe-mor renkli bantlar, terpen türevlerinin varlığına da işaret ettiği de düşünülebilir. Literatür bulguları da, zaten bitkinin terpen türevlerince zengin olduğunun altını çizmektedir.

Bitkinin meyvalarından elde edilen sabit yağ (MAM-Hekzan) ile yapraklarından hazırlanan hekzan ekstresinin (MAY-Hekzan) GK-KS ile yağ asitleri incelenmiş, sabit yağ ile MAY-Hekzan ekstresinin yağ asiti bileşiminin oldukça farklı olduğu görülmüştür (Tablo 13). Örneğin; sabit yağda linolenik asit varlığı saptanamazken, MAY-Hekzan ekstresinde $\%35.16 \pm 0.22$ gibi oldukça yüksek oranda linolenik asit olduğu

bulunmuştur. Ancak linoleik asit de (62.76 ± 0.07) sabit yağda yüksek oranda iken, MAY-Hekzan ekstresinde 20.13 ± 0.27 oranında saptanmıştır. Oleik asit miktarları da, sabit yağ (24.42 ± 0.09) ve MAY-Hekzan ekstresinde (4.05 ± 0.35) birbirinden oldukça farklıdır. Sonuçlara göre; MAM sabit yağının doymamış yağ asitlerince zengin olması avantajlı bir durum olarak görülebilir. Diğer yandan, meyva sabit yağının yağ asiti bileşimine dair daha önce yayınlanan sadece tek bir çalışma bulunması da ilginç görünmektedir.¹⁵⁹ 1971 yılında yayınlanan bu çalışmanın özetine ve makalesine uzun uğraşlarımıza rağmen ulaşamaması nedeniyle, yağ asiti bileşimi hakkında bilgi edinilememiş, dolayısıyla kendi çalışmamızla bir mukayese yapılamamıştır. Aslında, *M. azedarach* sıklıkla *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) bitkisiyle karıştırılmaktadır. İngilizce’de “neem” olarak bilinen *A. indica*, anavatanı yine Hindistan olan ve halk arasında “böcek öldürücü” olarak çok kullanılan, dolayısıyla üzerinde çok çalışma yapılmış ve insektisit etkinliği kanıtlanmış bir bitkidir. Bu iki tür, birbirlerine morfolojik olarak da benzedikleri için karıştırılmaları muhtemel olup, pek çok çalışmada sinonim olarak verilmiştir. Hâlbuki, taksonomik olarak birbirinden bağımsız iki ayrı tür olarak kabul edilen *M. azedarach* ve *A. indica*, kanımızca pek çok çalışmada *M. azedarach*’ın, daha yaygın ve popüler bir tür olan *A. indica* olarak yanlış teşhis edilmesi veya sinonim olarak verilmesi sonucu bilimsel sonuçların sunulmasında bir karışıklığa yol açmış olabilir. Dolayısıyla, *A. indica* meyva sabit yağında bulunan yağ asitleri ile ilgili verilerin bazılarının aslında *M. azedarach*’a ait olabileceği ihtimal dâhilinde düşünülebilir. Bu durum da *M. azedarach* meyva sabit yağının yağ asiti bileşimi üzerinde çalışma olmamasının sebebini bir nebze açıklayabilir. Diğer yandan, meyvanın toksik özellikleri olduğu da bilinmektedir.¹⁶⁰ Olgun meyvalardan 6-8 adetinin yenilmesiyle çocuklarda zehirlenme ve ölüm vak’aları meydana geldiği bildirilmiştir. Bu durum, bitkinin meyvalarının halk ilacı olarak yaygın kullanımını kısıtladığını düşünmekle birlikte, meyvaların harici kullanımının herhangi bir toksisiteye neden olmadığı bilinmektedir. Ayrıca bitkinin çiçeklerinden hazırlanan

krem formülasyonu, çocuklardaki cilt hastalıklarına karşı kullanılmaktadır.⁷ *M. azedarach* yaprak ekstresinin kozmetik ürünlerde özellikle cildi rahatlatmak ve yenilemek (skin conditioning) amacıyla kullanıldığı ve International Nomenclature of Cosmetic Ingredients (INCI) tarafından da indekslendiği bilinmektedir.

Sonuç olarak, tez çalışması kapsamında, Türkiye’de yetişen ve üzerinde fitokimyasal ve biyoaktivite yönünden araştırma yapılmamış *M. azedarach* bitkisinin meyva ve yapraklı dal kısımlarından hazırlanan değişik polaritedeki ekstrelerin AChE, BChE ve tirozinaz enzim inhibitör aktiviteleri, DPPH radikal süpürücü aktivite, demir iyonu-şelasyon etki ve demir indirgeme antioksidan gücü yöntemleri ile antioksidan aktivitesi, mikrodilüsyon yöntemi ile antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri tayin edilmiş, toplam fenol ve toplam flavonoit miktarları hesaplanmış ve meyva sabit yağı ile yaprak hekzan ekstresinin yağ asiti bileşimleri GK-KS ile aydınlatılmıştır. Bitkinin BChE, tirozinaz enzim inhibisyonu ve bahsedilen yöntemlerle antioksidan aktiviteleri ilk defa tarafımızdan tayin edilmiştir. Ayrıca, literatür taramalarımız sonucunda 1971 yılında yayınlanan tek bir çalışma haricinde ilgili çalışmaya rastlanamaması sebebiyle, meyva sabit yağının ve yaprak *n*-hekzan ekstresinin yağ asiti bileşimleri ayrıntılı olarak ilk defa bu çalışmada bildirilmektedir.

Bitki üzerindeki çalışmalarımızın, bitkinin en etkili ekstresi olarak tespit ettiğimiz MAY-EtOAc ekstresinin fitokimyasal içeriğinin belirlenmesi ve hazırladığımız tüm ekstrelerin imkânlar dâhilinde insektisit aktivitelerinin tayin edilmesi şeklinde devam ettirilmesi planlanmaktadır.

6. ÖZET

MELIA AZEDARACH L. BİTKİSİNİN FARMAKOGNOZİ AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Güner, Elif

Yüksek Lisans Tezi, Farmakognozi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: İlkey Erdoğan Orhan

ANKARA / Haziran-2010

Melia azedarach L. (Meliaceae), anavatanı Hindistan ve Çin olan ve ülkemizde de kültüre alınan bir bitki türüdür. Bitki özellikle güçlü insektisit aktivitesi nedeniyle popülerlik kazanmış olup, yakında ticari bir biyopestisit olmaya adaydır. Ancak, ülkemizde yetişen *M. azedarach* bitkisi üzerinde günümüze kadar herhangi bir biyoaktivite ve fitokimyasal çalışma yapılmamıştır. Bu nedenle, tez konusu olarak *M. azedarach* bitkisi seçilmiş olup, meyva ve yapraklı dal kısımlarından hazırlanan değişik polaritedeki ekstraktların asetilkolinesteraz, bütirilkolinesteraz ve tirozinaz enzim inhibitör aktiviteleri, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal süpürücü aktivite, demir iyonu-şelasyon etki ve demir indirgeme antioksidan gücü yöntemleri ile antioksidan aktivitesi ve yanı sıra mikrodilüsyon yöntemi ile antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri tayin edilmiş, toplam fenol ve toplam flavonoid miktarları spektrofotometrik olarak hesaplanmış ve meyva sabit yağı ile yaprak hekzan ekstresinin yağ asidi bileşimleri gaz kromatografisi-kütle spektrumu ile aydınlatılmıştır. Bitkinin bütirilkolinesteraz ile tirozinaz enzim inhibisyonu, bahsedilen yöntemlerle antioksidan aktivitesi ile meyva sabit yağının yağ asidi bileşimi ayrıntılı olarak ilk defa bu tezde tayin edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Melia azedarach*, Meliaceae, Kolinesteraz inhibisyonu, Tirozinaz inhibisyonu, Antioksidan aktivite, Antimikrobiyal aktivite

7. SUMMARY

EVALUATION OF MELIA AZEDARACH L. FROM THE VIEW POINT OF PHARMACOGNOSY

Güner, Elif

Graduate Degree, Pharmacognosy Department

Thesis Advisor: İlkey Erdoğan Orhan

ANKARA / June-2010

Melia azedarach L. (Meliaceae) is a plant species whose native lands are India and China and also cultivated in our country. The plant has gained a popularity due to its strong insecticidal activity and is candidate to become a commercial biopesticide soon. However, no bioactivity and phytochemical study has been performed on *M. azedarach* growing in our country up to date. Therefore, *M. azedarach* has been selected as the topic of this thesis and acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and tyrosinase enzyme inhibitory, antioxidant activity by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity, iron ion-chelation effect, and ferric ion-reducing antioxidant power methods as well as antibacterial and antifungal activity by microdilution method of the various polarity extracts prepared from the fruits and leafy branches were established. Besides, total phenol and flavonoid contents of the extracts were calculated spectrophotometrically and fatty acid compositions of the fruit fixed oil and leaf hexane extract were elucidated using gas chromatography-mass spectrometry. In this thesis, butyrylcholinesterase and tyrosinase enzyme inhibition, antioxidant activity by the aforementioned methods as well as detailed fatty acid composition of the fruit fixed oil have been established for the first time.

Key words: *Melia azedarach*, Meliaceae, Cholinesterase inhibition, Tyrosinase inhibition, Antioxidant activity, Antimicrobial activity

8. KAYNAKLAR

1. Macleod JK, Moeller PDR, Molinski TF, Koul O. Antifeedant activity against *Spodoptera litera* larvae and ^{13}C -NMR spectral assignments of the meliatoxins. J Chem Ecol 1990; 16: 2511-8.
2. Srivastava SD, Srivastava SK. Insect antifeedant novel limonoids from the roots of *Melia azedarach*. J Ind Chem Soc 1996; 73: 467-9.
3. Banchio E, Valladares G, Defagó M, Palacios S, Carpinella C. Effects of *Melia azedarach* (Meliaceae) fruit extracts on the leafminer *Liriomyza huidobrensis* (Diptera, Agromyzidae): Assessment in laboratory and field experiments. Ann Appl Biol 2003; 143: 187-93.
4. Patel VK, Venkatakrishna-Bhatt H. Folklore therapeutic indigenous plants in periodontal disorders in India (review, experimental and clinical approach). Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol 1988; 26: 176-84.
5. Saika AP, Ryakala VK, Sharma P, Goswami P, Bora U. Ethnobotany of medicinal plants used by Assamese people for various skin ailments and cosmetics. J Ethnopharmacol 2006; 106: 149-57.
6. Njoroge GN, Bussmann RW. Ethnotherapeutic management of skin diseases among the Kikuyus of central Kenya. J Ethnopharmacol 2007; 111: 303-7.
7. Saleem R, Rani R, Ahmed M, Sadaf F, Ahmad SI, Ul-Zafar N, Khan SS, Siddiqui BS, Lubna, Ansari F, Khan SA, Faizi S. Effect of cream containing *Melia azedarach* flowers on skin diseases in children. Phytomed 2008; 15: 231-6.
8. Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem Pharm 1961; 7: 88-95.

9. Ranjbar A, Solhi H, Mashayekhi FJ, Susanabdi AR, Rezaie A, Abdollahi M. Oxidative stress in acute human poisoning with organophosphorus insecticides; a case control study. *Environ Toxicol Pharmacol* 2005; 20: 88-91.
10. Özcan Oruç E, Usta D. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. *Environ Toxicol Pharmacol* 2007; 23: 48-55.
11. Heywood VH, Brummit RK, Culham A, Serberg O. Flowering Plant Families of the World, Firefly Books, Canada, 207-8, 2007.
12. Davis PH (editor). *Melia* L. In: "Flora of Turkey and East Aegean Islands", Vol. 2, Edinburgh University Press, Edinburgh, 520-1, 1967.
13. Singh D (editor). The Royal Horticultural Society New Encyclopedia of Herbs and Their Uses, Dorling Kindersley Limited, Great Britain, 274, 2002.
14. Mabberley DJ. The Plant Book, Cambridge University Press, Cambridge, 447, 1997.
15. Naik VN. Identification of Common Indian Medicinal Plants, Scientific Publishers, India, 103, 140, 2004.
16. Tanker N, Koyuncu M, Coşkun M. Farmasötik Botanik Ders Kitabı, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No:70, Ankara, 1993.
17. Meyer JE. Botanical Materia Medica, Rand McNally Company, 142, USA, 1960.
18. Brickell C (editor). The Royal Horticultural Society A–Z Encyclopedia of Garden Plants, Vol. 2, Dorling Kindersley Limited, London, 684, 2003.
19. Nakatani M, Huang RC, Okamura H, Iwagawa T, Tadera K, Naoki H. Three new antifeeding meliacarpinins from Chinese *Melia azedarach* Linn. *Tetrahedron* 1995; 51: 11731-6.

20. Nakatani M, Huang Ruo C, Okamura H, Naoki H, Iwagawa T. Limonoid antifeedants from Chinese *Melia azedarach*. *Phytochem* 1994; 36: 39-41.
21. Lavie D, Mahendra K, Kirson J. Terpenoids-V.¹ Melianone from *Melia azedarach* L. *Tetrahedron Lett* 1966; 19: 2049-52.
22. Lavie D, Levy EC. Meliane – meliacin relationship. *Tetrahedron* 1971; 27: 3941-7.
23. Chang FC, Chiang C. Tetracyclic triterpenoids from *Melia azedarach* L. II. 2-oxa-*trans*-bicyclo(3,3,0)–octanones. *Tetrahedron Lett* 1969; 11: 891-4.
24. Chiang C, Chang FC. Tetracyclic triterpenoids from *Melia azedarach* L., III. *Tetrahedron* 1973; 29: 1911-29.
25. Meng X, Peng J, Chen Y. Determination of toosendanin extracted from traditional Chinese medicine: The fruit of *Melia azedarach* LC-FD detection. *Chromatographia* 2009; 70: 609-11.
26. Srivastava SD. Limonoids from the seeds of *Melia azedarach*. *J Nat Prod* 1986; 49: 56-61.
27. Srivastava SD. Further constituents from the seeds of *Melia azedarach*. *Planta Med* 1987; 53: 100-1.
28. Huang RC, Tadera K, Yagi F, Minami Y, Okamura H, Iwagawa T, Nakatani, M. Limonoids from *Melia azedarach*. *Phytochem* 1996; 43: 581-3.
29. Zhou H, Hamazaki A, Fontana JD, Takahashi H, Wandscheer CB, Fukuyama Y. Cytotoxic limonoids from Brazilian *Melia azedarach*. *Chem Pharm Bull* 2005; 53: 1362-5.
30. Lavie D, Levy EC. Limonoids of biogenetic interest from *Melia azadirachta* L. *Tetrahedron* 1971; 27: 3927-39.
31. Siddiqui S, Fuchs S. Struktur eines neuen naturstoffes aus *Melia azadirachta* Linn: 17-hydroxyazadiradion. *Tetrahedron Lett* 1978; 7: 611-2.

32. Morgan ED, Thornton MD. Azadirachtin in the fruit of *Melia azedarach*. *Phytochem* 1973; 12: 391-2.
33. Ochi M, Kotsuki H. Sendanin, a new limonoid from *Melia azedarach* Linn. var. *japonica* Makino. *Tetrahedron Lett* 1976; 33: 2877-80.
34. Oelrichs PB, Hill MW, Vallely PJ, Macleod JK, Molinski TF. Toxic tetranortriterpenes of the fruit of *Melia azedarach*. *Phytochem* 1983; 22: 531-4.
35. Takeya K, Qiao Z, Hirobe C, Itokawa H. Cytotoxic trichilin-type limonoids from *Melia azedarach*. *Bioorg Med Chem* 1996; 4: 1355-9.
36. Ahn J, Choi S, Lee C. Cytotoxic limonoids from *Melia azedarach* var. *japonica*. *Phytochem* 1994; 36: 1493-6.
37. Carpinella C, Ferrayoli C, Valladares G, Defago M, Palacios S. Potent limonoid insect antifeedant from *Melia azedarach*. *Biosci Biotechnol Biochem* 2002; 66: 1731-6.
38. Huang RC, Okamura H, Iwagawa T, Tadera K, Nakatani M. Azedarachin C, a limonoid antifeedant from *Melia azedarach*. *Phytochem* 1995; 38: 593-4.
39. Nakatani M, Huang RC, Okamura H, Iwagawa T, Tadera K. Degraded limonoids from *Melia azedarach*. *Phytochem* 1998; 49: 1773-6.
40. D'Ambrosia M, Guerriero A. Degraded limonoids from *Melia azedarach* and biogenetic implications. *Phytochem* 2002; 60: 419-24.
41. Fukuyama Y, Nakaoka M, Yamamoto T, Takahashi H, Minami H. Degraded and oxetane-bearing limonoids from the roots of *Melia azedarach*. *Chem Pharm Bull* 2006; 54: 1219-22.
42. Takeya K, Qiao Z, Hirobe C, Hokawa H. Cytotoxic azadirachtin-type limonoids from *Melia azedarach*. *Phytochem* 1996; 42: 709-12.

43. Alche LE, Ferek GA, Meo M, Coto CE, Maier MS. An antiviral meliacarpin from leaves of *Melia azedarach* L. *Z Naturforsch* 2003; 58: 215-9.
44. Barquero AA, Michelini FM, Alche LE. 1-Cinnamoyl-3,11-dihydroxymeliacarpin is a natural bioactive compound with antiviral and nuclear factor- κ B modulating properties. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 344: 955-62.
45. Bueno CA, Alche LE, Barquero AA. 1-Cinnamoyl-3,11-dihydroxymeliacarpin delays glycoprotein transport restraining virus multiplication without cytotoxicity. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 393: 32-7.
46. Faizi S, Wasi A, Siddiqui BS, Naz A. New terpenoids from the roots of *Melia azedarach*. *Aust J Chem* 2002; 55: 291-6.
47. Marco JA, Barbera O, Sanz JF, Parareda JS. Flavonol diglycosides from *Melia azedarach*. *J Nat Prod* 1986; 49: 170.
48. Sengupta P, Choudhuri SN, Khastgir HN. Terpenoids and related compounds – I. Constituents of the trunk bark of *Melia azadirachta* Linn. and the structure of the ketophenol, nimbiol. *Tetrahedron* 1960; 10: 45-54.
49. Nair MG, Chang FC, 6 β -hydroxy-stigmasten-3-one and 6 β -hydroxy-4-campesten-3-one. *Phytochem* 1973; 12: 903-6.
50. Fujiwara T, Sugishita E, Takeda T, Ogihara Y, Shimizu M, Nomura T, Tomita Y. Further studies on the structure of polysaccharides from the bark of *Melia azadirachta*. *Chem Pharm Bull* 1984; 32: 1385-91.
51. Castilla V, Barquero AA, Mersich SE, Coto CE. *In vitro* anti-junin virus activity of a peptide isolated from *Melia azedarach* L. leaves. *Int J Antimicrob Agents* 1998; 10: 67-75.
52. Carpinella MC, Ferrayoli CG, Palacios SM. Antifungal synergistic effect of scopoletin, a hydroxycoumarin isolated from *Melia azedarach* L. fruits. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 2922-7.

53. Şener B, Erdoğan İ. Biopestisicides. *Pestic People Nature* 2000; 2: 57-67.
54. Schmutterer H, Wen JH. Effects of extracts from fruit and leaves of *Melia azedarach* L. on *Locusta migratoria migratorioides* (R. & F.). *Anzeig Schadl Pflanz Umwelts* 1991; 64: 128-33.
55. Schmeda-Hirschmann G, Rojas de Arias A. Screening method for natural products on triatomine bugs. *Phytother Res* 1992; 6: 68-73.
56. Huang RC, Okamura H, Iwagawa T, Nakatani M. The structures of azedarachins, limonoid antifeedants from Chinese *Melia azedarach* Linn. *Bull Chem Soc Japan* 1994; 67: 2468-72.
57. Cabral MM, Garcia ES, Kelecom A. Lignanes from the Brazilian *Melia azedarach* and their activity in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1995; 90: 759-63.
58. Valladares G, Defago MT, Palacios S, Carpinella MC. Laboratory evaluation of *Melia azedarach* (Meliaceae) extracts against the elm leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *J Econ Entomol* 1997; 90: 747-50.
59. Schmidt GH, Ahmed AAI, Breuer M. Effect of *Melia azedarach* extract on larval development and reproduction parameters of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and *Agrotis ipsilon* (Hufn.) (Lep. Noctuidae). *Anzeig Schadl Pflanz Umwelts* 1997; 70: 4-12.
60. Bohnenstengel FI, Wray V, Witte L, Srivastava RP, Proksch P. Insecticidal meliacarpins (C-seco limonoids) from *Melia azedarach*. *Phytochem* 1999; 50: 977-82.
61. Perez MP, Fernandez LD, Abreu Guirado OA, Capote RV, Aguilar GG. Molluscicidal activity of Paraiso (*Melia azedarach* L.) (Meliaceae) on *Lymnaea cubensis*, host snail of Fasciolosis. *Rev Saude Publ* 1998; 32: 26266.
62. Valladares GR, Ferreyra D, Defago MT, Carpinella MC, Palacios S. Effects of *Melia azedarach* on *Triatoma infestans*. *Fitoterapia* 1999; 70: 421-4.

63. Abou-Fakhr Hammad EM, Zournajian H, Talhouk S. Efficacy of extracts of *Melia azedarach* L. callus, leaves and fruits against adults of the sweet potato whitefly *Bemisia tabaci* (Hom., Aleyrodidae). J Appl Entomol 2001; 125: 483-8.
64. Brunherotto R, Vendramim JD. Bioactivity of aqueous extracts of *Melia azedarach* L. on tomato pinworm *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Neotrop Entomol 2001; 30: 455- 9.
65. Schmidt GH, Assembe-Tsoungui S. Effect of oral application of *Melia* fruit extract on growth, development and gregarization of the desert locust *Schistocerca gregaria* (Forsk., 1775) (Caelifera, acrididae). Z Pflanz Pflanzensch 2002; 109: 38-56.
66. Borges LMF, Ferri PH, Silva WJ, Silva WC, Silva JG. *In vitro* efficacy of extracts of *Melia azedarach* against the tick *Boophilus microplus*. Med Vet Entomol 2003; 17: 228-31.
67. Breuer M, Hoste B, De Loof A, Naqvi SNH. Effect of *Melia azedarach* extract on the activity of NADPH-cytochrome c reductase and cholinesterase in insects. Pest Biochem Physiol 2003; 76: 99-103.
68. Swarnkar CP, Singh D, Khan FA, Bhagwan PSK, Dubey SC. *In vitro* evaluation of *Melia azedarach* (Bakain) against pre-parasitic stages of *Haemonchus contortus*. Ind J Animal Sci 2004; 74: 940-3.
69. Bounechada M, Doumandji SE, Laouer H. Laboratory evaluation of *Melia azedarach* L. and *Eucalyptus globulus* Labill. extracts in order to control *Ocneridia volxemi* Bolivar (Orthoptera, Pamphaginae) hoppers. Commun Agric Appl Biol Sci 2004; 69: 235-44.
70. Wandscheer CB, Duque JE, Da Silva MAN, Fukuyama Y, Wohlke JL, Adelman J, Fontana JD. Larvicidal action of ethanolic extracts from fruit endocarps of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* against the dengue mosquito *Aedes aegypti*. Toxicon 2004; 44: 829-35.

71. Roop JK, Dhaliwal PK, Guraya SS. Extracts of *Azadirachta indica* and *Melia azedarach* seeds inhibit folliculogenesis in albino rats. *Braz J Med Biol Res* 2005; 38: 943-7.
72. Nathan SS. Effects of *Melia azedarach* on nutritional physiology and enzyme activities of the rice leaffolder *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae). *Pestic Biochem Physiol* 2006; 84: 98-108.
73. Senthil Nathan S, Sehoon K. Effects of *Melia azedarach* L. extract on the teak defoliator *Hyblaea puera* Cramer (Lepidoptera: Hyblaeidae). *Crop Protect* 2006; 25: 287-91.
74. Abou-Fakhr Hammad E, McAuslane HJ. Effect of *Melia azedarach* L. extract on *Bemisia argentifolii* (Hemiptera: Aleyrodidae) and its biocontrol agent *Eretmocerus rui* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Environ Entomol* 2006; 5: 740-5.
75. Defagó M, Valladares G, Banchio E, Carpinella C, Palacios S. Insecticide and antifeedant activity of different plant parts of *Melia azedarach* on *Xanthogaleruca luteola*. *Fitoterapia* 2006; 77: 500-5.
76. Singh G, Kaur V, Singh D. Lethal and sublethal effects of different ecotypes of *Melia azedarach* against *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Int J Trop Insect Sci* 2006; 26: 92-100.
77. Nathan SS, Savitha G, George DK, Narmadha A, Suganya L, Chung PG. Efficacy of *Melia azedarach* L. extract on the malarial vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). *Biores Technol* 2006; 97: 1316-23.
78. Carpinella MC, Miranda M, Almirón WR, Ferrayoli CG, Almeida FL, Palacios SM. *In vitro* pediculicidal and ovicidal activity of an extract and oil from fruits of *Melia azedarach* L. *J Am Acad Dermatol* 2007; 56: 250-6.
79. Jorge TCM, Lenartovicz V, Andrade MW, Bonafin T, Giordani MA, Bueno NBC, Schneider DSLG. Pediculicidal activity of

hydroethanolic extracts of *Ruta graveolens*, *Melia azedarach* and *Sambucus australis*. Latin Am J Pharm 2007; 28: 457-9.

80. Rossi JCN, Prophiro JS, Mendes AM, Kanis LA, Silva OS. Larvicidal effect of ethanolic extracts from *Melia azedarach* dried leaves and ripe fruits in *Aedes albopictus* larvae. Latin Am J Pharm 2007; 26: 737-40.
81. Akhtar Y, Yeoung YR, Isman MB. Comparative bioactivity of selected extracts from Meliaceae and some commercial botanical insecticides against two noctuid caterpillars, *Trichoplusia ni* and *Pseudaletia unipuncta*. Phytochem Rev 2008; 7: 77-88.
82. De Sousa LA, Soares SF, Pires Jr, HB. Evaluation of efficacy of ripe and unripe fruit oil extracts of *Melia azedarach* against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: ixodidae). Braz J Vet Parasitol 2008; 17: 36-40.
83. Sharma S. Bio-efficacy of some plant derivatives against cabbage butterfly (*Pieris brassicae*). Pestol 2008; 32: 20-2.
84. Coria C, Almiron W, Valladares G, Carpinella C, Ludueña F, Defago M, Palacios S. Larvicide and oviposition deterrent effects of fruit and leaf extracts from *Melia azedarach* L. on *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). Biores Technol 2008; 99: 3066-70.
85. Prophiro JS, Rossi JCN, Pedroso MF, Kanis LA, Da Silva OS. Leaf extracts of *Melia azedarach* Linnaeus (Sapindales: Meliaceae) act as larvicide against *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). Rev Soc Bras Med Trop 2008; 41: 560-4.
86. Rachokarn S, Piyasaengthong N, Bullangpoti V. Impact of botanical extracts derived from leaf extracts *Melia azedarach* L. (Meliaceae) and *Amaranthus viridis* L. (Amaranthaceae) on populations of *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) and detoxification enzyme activities. Commun Agric Appl Biol Sci 2008; 73: 451-7.

87. Cabral MMO, Crescente ERF, Mendonça PM, Gomes CMS, Oliveira VC, Kelecom A. *Melia azedarach* L. extracts and their activity on *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). Braz J Pharmacog 2008; 18: 699-702.
88. Kebede Y, Gebre-Michael T, Balkew M. Laboratory and field evaluation of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) and Chinaberry (*Melia azedarach* L.) oils as repellents against *Phlebotomus orientalis* and *P. bergeroti* (Diptera: Psychodidae) in Ethiopia. Acta Trop 2010; 113: 145-50.
89. Dimri U, Sharma MC. Efficacy of an indigenous preparation consisting of *Andropogon muricatus*, *Annona squamosa*, *Argemone mexicana*, *Butea frondosa* and *Melia azadirachta* in the therapy of dermatomycotic infection in sheep. Ind J Animal Sci 2001; 71: 1145-9.
90. Sharatkumar S, Dhanachand C, Mohilal N. Study on the efficacy of certain medicinal plants on gastrointestinal helminths of cattle. Ind Vet J 2004; 81: 497-8.
91. Hördegen P, Hertzberg H, Heilmann J, Langhans W, Maurer V. The anthelmintic efficacy of five plant products against gastrointestinal trichostrongylids in artificially infected lambs. Vet Parasitol 2003; 117: 51-60.
92. Maciel MV, Morais SM, Bevilaqua CML, Camurça-Vasconcelos ALF, Costa CTC, Castro CMS. Ovicidal and larvicidal activity of *Melia azedarach* extracts on *Haemonchus contortus*. Vet Parasitol 2006; 140: 98-104.
93. Kamaraj C, Rahuman AA, Bagavan A, Mohamed MJ, Elango G, Rajakumar G, Zahir AA, Santhoshkumar T, Marimuthu S. Ovicidal and larvicidal activity of crude extracts of *Melia azedarach* against *Haemonchus contortus* (Strongylida). Parasitol Res (baskida).

94. Szewczuk VD, Mongelli ER, Pomilio AB. *In vitro* anthelmintic activity of *Melia azedarach* naturalized in Argentina. *Phytother Res* 2006; 20: 993-6.
95. Rao AR, Sukumar S, Paramasivam TV, Kamalakshi S, Parashuraman AR, Shantha M. Study of antiviral activity of tender leaves of Margosa tree (*Melia azadiricta*) on vaccinia and variola virus: A preliminary report. *Ind J Med Res* 1969; 57: 495-502.
96. Andrei GM, Lampuri JS, Coto CE, De Torres RA. An antiviral factor from *Melia azedarach* L. prevents *Tacaribe* virus encephalitis in mice. *Experientia* 1986; 42: 843-5.
97. Wachsman MB, Damonte EB, Coto CE, De Torres RA. Antiviral effects of *Melia azedarach* L. leaves extracts on *Sindbis* virus-infected cells. *Antiviral Res* 1987; 8: 1-12.
98. Andrei GM, Damonte EB, De Torres RA, Coto CE. Induction of a refractory state to viral infection in mammalian cells by a plant inhibitor isolated from leaves of *Melia azedarach* L. *Antiviral Res* 1988; 9: 221-31.
99. Andrei GM, Coulombie FC, Courreges MC, De Torres RA, Coto CE. Meliacine, an antiviral compound from *Melia azedarach* L., inhibits interferon production. *J Interferon Res* 1990; 10: 469-75.
100. Andrei G, Couto AS, De Lederkramer RM, Coto CE. Purification and partial characterization of an antiviral active peptide from *Melia azedarach* L. *Antiviral Chem Chemother* 1994; 5: 105-10.
101. Villamil SM, Alche LE, Coto CE. Inhibition of *herpes simplex* virus type-1 multiplication by meliacine, a peptide of plant origin. *Antiviral Chem Chemother* 1995; 6: 239-44.
102. Wachsman MB, Castilla V, Coto CE. Inhibition of foot and mouth disease virus (FMDV) uncoating by a plant-derived peptide isolated from *Melia azedarach* L. leaves. *Arch Virol* 1998; 143: 581-90.

103. Alché LE, Berra A, Coto CE. Effective treatment of mouse herpetic stromal keratitis with meliacine, a plant-derived antiviral. *Int Antiviral News* 2001; 9: 132-5.
104. Pifarré MP, Berra A, Coto CE, Alché LE. Therapeutic action of meliacine, a plant-derived antiviral, on HSV-induced ocular disease in mice. *Exp Eye Res* 2002; 75: 327-4.
105. Petrera E, Coto CE. Therapeutic effect of meliacine, an antiviral derived from *Melia azedarach* L., in mice genital herpetic infection. *Phytother Res* 2009; 23: 1771-7.
106. Bueno CA, Barquero AA, Di Cónsoli H, Maier MS, Alché LE. A natural tetranortriterpenoid with immunomodulating properties as a potential anti-HSV agent. *Virus Res* 2009; 141: 47-54.
107. Coulombie FC, Andrei GM, Laguens RP, De Torres RA, Coto CE. Partially purified leaf extracts of *Melia azedarach* L. inhibit *Tacaribe* virus growth in neonatal mice. *Phytother Res* 2009; 6: 15-9.
108. Kanyara JN, Njagi ENM. Anti-HIV-1 activities in extracts from some medicinal plants as assessed in an *in vitro* biochemical HIV-1 reverse transcriptase assay. *Phytother Res* 2005; 19: 287-90.
109. Balasubramanian G, Sarathi M, Kumar SR, Hameed ASS. Screening the antiviral activity of Indian medicinal plants against white spot syndrome virus in shrimp. *Aquacult* 2007; 263: 15-9.
110. Khan MR, Kihara M, Omoloso AD. Antimicrobial activity of *Horsfieldia helwigii* and *Melia azedarach*. *Fitoterapia* 2001; 72: 423-7.
111. Il C, Chang HS, Yun YM, Um JC. Antimicrobial activity of medicinal herbs against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella gallinarum*. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 2002; 30: 177-83.
112. Sree DS, Sreeramulu A. Inhibitory effect of plant extracts on the management of bacterial leaf spot pathogen (*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*) infecting *Capsicum frutescens* L. *J Nat Rem* 2002; 2: 191-4.

113. Saleem R, Ahmed SI, Shamim SM, Faizi S, Siddiqui BS. Antibacterial effect of *Melia azedarach* flowers on rabbits. *Phytother Res* 2002; 16: 762-4.
114. Ramasamy S, Manoharan AC. Antibacterial effect of volatile components of selected medicinal plants against human pathogens. *Asian J Microbiol Biotechnol Environ Sci* 2004; 6: 209-10.
115. Jagannath JH, Radhika M. Antimicrobial emulsion (coating) based on biopolymer containing neem (*Melia azardichta*) and turmeric (*Curcuma longa*) extract for wound covering. *Biomed Mat Engin* 2006; 16: 329-36.
116. Rangasamy O, Raoelison G, Rakotoniriana FE, Cheuk K, Urverg-Ratsimamanga S, Quetin-Leclercq J, Gurib-Fakim A, Subratty AH. Screening for anti-infective properties of several medicinal plants of the Mauritian flora. *J Ethnopharmacol* 2007; 109: 331-7.
117. Khanavi M, Safavi M, Siavoshi F, Fallah Tafti A, Hajimahmoodi M, Hadjiakhoondi A, Sh R, Foroumadi A. Evaluation of anti-*Helicobacter pylori* activity of methanol extracts of some species of *Stachys* and *Melia*. *J Med Plants* 2008; 7: 74-80.
118. Gende LB, Principal J, Maggi MD, Palacios SM, Fritz R, Eguaras MJ. *Melia azedarach* extract and essential oils of *Cinnamomun zeylanycum*, *Mentha piperita* and *Lavandula officinalis* as a control of *Paenibacillus larvae*. *Zootec Trop* 2008; 26: 35-8.
119. Kaneria M, Baravalia Y, Vaghasiya Y, Chanda S. Determination of antibacterial and antioxidant potential of some medicinal plants from Saurashtra Region, India. *Ind J Pharm Sci* 2009; 71: 406-12.
120. Carpinella MC, Herrero GG, Alonso RA, Palacios SM. Antifungal activity of *Melia azedarach* fruit extract. *Fitoterapia* 1999; 70: 296-8.
121. Abu-Jawdah Y, Sobh H, Salameh A. Antimycotic activities of selected plant flora, growing wild in Lebanon against phytopathogenic fungi. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 3208-13.

122. Carpinella MC, Giorda LM, Ferrayoli CG, Palacios SM. Antifungal effects of different organic extracts from *Melia azedarach* L. on phytopathogenic fungi and their isolated active components. J Agric Food Chem 2003; 51: 2506-11.
123. Jiang P, Ye HL, An XN. Studies on extraction of extractives from *Melia azedarach* L. and its bacteriostatic activity. Chem Ind Forest Prod 2004; 24: 23-7.
124. Prabhakar K, Kumar LS, Rajendran S, Chandrasekaran M, Bhaskar K, Khan AKS. Antifungal activity of plant extracts against *Candida* species from oral lesions. Ind J Pharm Sci 2008; 70: 801-3.
125. Yanes A, Finol HJ, Hasegawa M. Effects of *Azadirachta indica* and *Melia azedarach* (Meliaceae) extracts from leaves on *Trypanosoma cruzi* growth and ultrastructure. J Submicrosc Cytol Pathol 2004; 36: 149-54.
126. Muregi FW, Chhabra SC, Njagi ENM, Lang'at-Thoruwa CC, Njue WM, Orago ASS, Omar SA, Ndiege IO. Anti-plasmodial activity of some Kenyan medicinal plant extracts singly and in combination with chloroquine. Phytother Res 2004; 18: 379-84.
127. Palacios SM, Carpinella MC, Napal GND, Vaccarini CE, Ferrayoli CG. Phytotoxic effects of *Melia azedarach* L. (meliaceae) fruit extract on weeds and crops. Allelopathy J 2004; 4: 389-96.
128. Andrei GM, Coto CE, de Torres RA. Assays of cytotoxicity and antiviral activity of crude and semipurified extracts of green leaves of *Melia azedarach* L. Rev Argent Microbiol 1985; 17: 187-94.
129. Woong AJ, Un CS, Ock LC. Cytotoxic limonoids from *Melia azedarach* var. *japonica*. Phytochem 1994; 36: 1493-6.
130. Itokawa H, Qiao ZS, Hirobe C, Takeya K. Cytotoxic limonoids and tetranortriterpenoids from *Melia azedarach*. Chem Pharm Bull 1995; 43: 1171-5.
131. Zhou H, Hamazaki A, Fontana JD, Takahashi H, Esumi T, Wandscheer CB, Tsujimoto H, Fukuyama Y. New ring C-seco

limonoids from Brazilian *Melia azedarach* and their cytotoxic activity. J Nat Prod 2004; 67: 1544-7.

132. He L, Yin N, Cheng JW, Wu XQ, Jiang JX, Song XL. Structural features of a new heteropolysaccharide from the fruit bodies of *Melia azedarach* and its effect on cytotoxic activity. Fitoterapia 2009; 80: 399-403.
133. Wu SB, Ji YP, Zhu JJ, Zhao Y, Xia G, Hu YH, Hu JF. Steroids from the leaves of Chinese *Melia azedarach* and their cytotoxic effects on human cancer cell lines. Steroids 2009; 74: 761-5.
134. Khattak SG, Gilani SN, Ikram M. Antipyretic studies on some indigenous Pakistani medicinal plants. J Ethnopharmacol 1985; 14: 45-51.
135. Moursi SAH, Al-Khatib MH. Effect of *Melia azedarach* fruits on gipsing-resistant stress-induced ulcers in rats. Japan J Pharmacol 1984; 36: 527-33.
136. Christina AJM, Najumadeen NAH, Kumar SV, Manikandan N, Tobin GC, Venkataraman S, Murugesh N. Antilithiatic effect of *Melia azedarach* on ethylene glycol-induced nephrolithiasis in rats. Pharm Biol 2006; 44: 480-5.
137. Khalil AM, Ashy MA, Tawfik NI, El-Tawil BAH. Constituents of local plants. Part 3: The constituents of various parts of *Melia azedarach* L. plant. Pharmazie 1979; 34: 106-7.
138. Keshri G, Lakshmi V, Singh MM. Pregnancy interceptive activity of *Melia azedarach* Linn. in adult female Sprague-Dawley rats. Contraception 2003; 68: 303-6.
139. Keshri G, Bajpai M, Lakshmi V, Setty BS, Gupta G. Role of energy metabolism in the pregnancy interceptive action of *Ferula assafoetida* and *Melia azedarach* extracts in rat. Contraception 2004; 70: 429-32.

140. Benencia F, Courrèges MC, Massouh EJ, Coulombié FC. Effect of *Melia azedarach* L. leaf extracts on human complement and polymorphonuclear leukocytes. J Ethnopharmacol 2004; 41: 53-7.
141. Benencia F, Courrèges MC, Coto CE, Coulombié FC. Immunomodulatory activities of *Melia azedarach* L. leaf extracts on human monocytes. J Herbs Spices Med Plants 1997; 5: 7-13.
142. Vinutha B, Prashanth D, Salma K, Sreeja SL, Pratiti D, Padmaja R, Radhika S, Amit A, Venkateshwarlu K, Deepak M. Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. J Ethnopharmacol 2007; 109: 359-63.
143. Masuda T, Yamashita D, Takeda Y, Yonemori S. Screening for tyrosinase inhibitors among extracts of seashore plants and identification of potent inhibitors from *Garcinia subelliptica*. Biosci Biotechnol Biochem 2005; 69: 197-201.
144. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 1958; 181: 1119-1200.
145. Hatano T. Constituents of natural medicines with scavenging effects on active oxygen species - Tannins and related polyphenols. Nat Med 1995; 49: 357-63.
146. Dinish TCP, Madiera VMC, Almedia MLM. Action of phenolic derivatives (acetoaminophen salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and peroxy radical scavengers. Arch Biochem Biophys 1994; 315: 161-9.
147. Oyaizu M. Studies on products of browning reactions-antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Jap J Nutr 1986; 44: 307-15.
148. Singleton VL, Rossi JAJr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Viticult 1965; 16: 144-58.

149. Woisky R, Salatino A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *J Apicol Res* 1998; 37: 99-105.
150. Morrison WR, Smith LM. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron trifluoride-methanol. *J Lipid Res* 1964; 5: 600-8.
151. Lee RM, Hodsden MR. Cholinesterase activity in *Haemonchus contortus* and its inhibition by organophosphorus anthelmintics. *Biochem Pharmacol* 1963; 12: 1241-52.
152. Main AR. Kinetics of cholinesterase inhibition by organophosphate and carbamate insecticides. *Can Med Assoc J* 1969; 100: 161-7.
153. Watts SD, Rapson EB, Atkins AM, Lee DL. Inhibition of acetylcholinesterase secretion from *Nippostrongylus brasiliensis* by benzimidazole anthelmintics. *Biochem Pharmacol* 1982; 31: 3035-40.
154. Rapson EB, Chilwan AS, Jenkins DC. Acetylcholinesterase secretion-a parameter for the interpretation of *in vitro* anthelmintic screens. *Parasitology* 1986; 92: 425-30.
155. Holmes SB, Sundaram KMS. Insecticide residues and cholinesterase inhibition in zebra finches orally dosed with fenitrothion. *J Environ Health (Part A)* 1992; 27: 889-902.
156. Lotti M. Cholinesterase inhibition: Complexities in interpretation. *Clin Chem* 1995; 41: 1814-8.
157. Gültekin F, Öztürk M, Akdoğan M. The effect of organophosphate insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (*in vitro*). *Arch Toxicol* 2000; 74: 533-8.
158. Rehfeld BM, Pratt DE. Influence of organophosphate insecticides on ascorbic acid oxidation in aqueous systems. *J Food Sci* 2006; 64: 551-3.

159. Kaplan ER, Sapeika N. Chemical composition of the fruit of *Melia azedarach* L. South Afr J Med Sci 1971; 36: 83-4.
160. Phua DH, Tsai WJ, Ger J, Deng JF, Yang CC. Human *Melia azedarach* poisoning. Clin Toxicol 2008; 46: 1067-70.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım sırasında engin bilgi ve görüşleri ile çalışmalarımı en doğru ve başarılı bir şekilde yürütmemi sağlayan; manevi olarak da desteğini ve anlayışını üzerimden esirgemeyen çok değerli hocam sayın Prof.Dr. İlkey ORHAN'a çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince ilgi ve desteklerini gördüğüm Gazi üniversitesi Eczacılık Fakültesi Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyeleri ve yardımcılara teşekkür ederim.

Her konuda yardımlarını ve manevi desteklerini benden esirgemeyen, laboratuvar çalışmalarım sırasında kıymetli vakitlerini benim için feda eden Arş.Gör. Fatma Sezer ŞENOL'a ve Arş.Gör. İpek SÜNTAR'a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım için verdiği emek ve destekten dolayı Gazi üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Doç.Dr. Berrin ÖZÇELİK'e teşekkür ederim.

Analiz çalışmalarım sırasında yardımlarını benden esirgemeyen Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'nda Arş.Gör.Sinem ASLAN ERDEM'e katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Bu çalışmam sırasında fikirlerinden yararlandığım,sevgi ve anlayışları ile bana sonsuz destek olan babam Dr.İrfan DÖNMEZ, annem Ecz. İnci DÖNMEZ, kardeşim Emre DÖNMEZ ve eşim Ecz. N.Hakan GÜNER'e teşekkürü bir borç biliyorum.

Tez çalışmalarım sırasında anlayış, hoşgörü ve sabrını üzerimden eksik etmeyen Ecz. İlgin OKAN'a teşekkürlerimi sunarım.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Elif
Soyadı	Güner
Doğum yeri ve Tarihi	22.02.1981 - Samsun

Eğitimi

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (2004)
Samsun Özel Ar Anadolu Lisesi (1999)
Samsun Özel Ar Koleji (1996)
Samsun Özel Meralcan İlkokulu (1993)

Yabancı dil	İngilizce
--------------------	-----------

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

-

Bilimsel Etkinlikler

-