

67108

T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**LAVANDULA STOECHAS SSP. STOECHAS BİTKİSİNİN UÇUCU YAĞININ VE
UÇUCU OLMAYAN ORGANİK BİLEŞENLERİNİN İNCELENMESİ VE
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

HAZIRLAYAN

**MERAL NİL AYRAL
KİMYAGER**

TEZ DANIŞMANLARI

**Prof.Dr.ADNAN AYDIN
Doç.Dr.GÜLAÇTI TOPÇU**

**ANALİTİK KİMYA
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

İSTANBUL - 1997

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**LAVANDULA STOECHAS SSP. STOECHAS BİTKİSİNİN UÇUCU YAĞININ VE
UÇUCU OLMAYAN ORGANİK BİLEŞENLERİNİN İNCELENMESİ VE
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

MERAL NİL AYRAL

DANIŞMAN VE KOORDİNATÖR

: Prof. Dr. Adnan Aydın

:

JÜRİ ÜYESİ

: Doç. Dr. Mustafa Bulut

:

JÜRİ ÜYESİ

: Yard. Doç.Dr.Nesrin Alptekin

:

ANALİTİK KİMYA
YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL - 1997

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak yaptığım bu çalışma sırasında benden ilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Prof.Dr. Adnan Aydın ve Sayın Doç.Dr. Gülaçtı Topçu ya teşekkürü bir borç bilirim.

Tübitak Bitki Kimyası Bölümünde gerçekleştirdiğim bu çalışma için bana AR-GE projesi desteği sağlayan Tübitak BAYG Bölümüne, ayrıca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Tübitak Bitki Kimyası Bölümündeki arkadaşlarıma, her türlü spektrumların alınmasını sağlayan EAL laboratuvarındaki arkadaşlarıma ve Sayın Yrd.Doç.Dr. Gamze Kökdil'e ve bitkinin süperkritik ekstraksiyon yöntemiyle uçucu yağının eldesinde yardımlarını gördüğüm Dr.Nevin Başoğlu'na teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında bana her konuda destek olan sevgili eşime, bitkinin aktivite tayininde bizden yardımlarını esirgemeyen Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesinden Sayın Candan Bozok Johansson'a ve Chicago Illinois Üniversitesinden Dr.John M. Pezzuto'ya teşekkür ederim.

NİL AYRAL

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
I. GENEL BÖLÜM	1
I.1. Giriş ve Çalışmanın Amacı	1
I.2. Çalışılan Bitki Hakkında Bilgiler	2
I.2.1. Lamiaceae Familyası	2
I.2.2. Lavandula Cinsi	2
I.2.3. Lavandula Türlerinin Halk Arasındaki Kullanılışı ve Farmakolojik Aktiviteleri	3
I.2.4. Yıllık Üretim	4
I.3. Genel Bilgiler	5
I.3.1. Terpenoid Bileşikler	5
I.3.1.1. Terpenoid Bileşikler Hakkında Genel Bilgi	5
I.3.1.1.1. Dağılımları	5
I.3.1.1.2. Biyogenezleri	5
I.3.1.1.3. Sınıflandırılmaları	11
I.3.1.2. Monoterpenler	13
I.3.1.2.1. Monoterpenlerin Sınıflandırılması	18
I.3.1.3. Seskiterpenler	18
I.3.1.4. Steroidler	23
I.3.1.5. Triterpenler	24
I.3.1.5.1. Triterpenlerin Sınıflandırılması	27
I.3.2. Uçucu Yağlar	31
I.3.2.1. Lavanta Çiçeğinin Yağı ve Bileşenleri	33
I.3.2.2. Basınç ve Sıcaklığın Uçucu Yağ Verimi Üzerindeki Etkileri	34
I.3.2.3. Uçucu Yağın Kalitesini Etkileyen Faktörler	35
I.3.3. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu	37
I.3.3.1. Süperkritik Akışkanlar	37
I.3.3.2. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Yöntemi	40
I.3.3.3. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Yönteminin Avantajları	45
I.3.3.4. Kritik Bölge Yakınlarındaki Deneysel Hataların Nedenleri	45
I.3.3.5. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Yönteminin Uygulama Alanları	46

II . DENEYSEL BÖLÜM	47
II.A. Araştırma Materyali	47
II.A.1. Bitkisel Materyal	47
II.A.2. Kimyasal Materyal	47
II.B. Araştırmada Kullanılan Cihazlar	47
II.C. L.stoechas ssp. stoechas Bitkisinin Toprak Üstü Kısımlarının Uçucu Yağlarının Araştırılması	47
II.C.1. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Yönteminin Uygulanması	47
II.C.2. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Yönteminin Sonuçları	48
II.C.3. Su Buharı Destilasyonu Yönteminin Uygulanması ve Sonuçları	70
II.C.4. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Yöntemi ve Su Buharı Destilasyon Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması	89
II.D. L.stoechas ssp. stoechas Bitkisinin Toprak Altı Kısımlarının Organik Bileşenlerinin Araştırılması	90
II.D.1. Materyel	90
II.D.1.1. Bitkisel Materyel	90
II.D.1.2. Kimyasal Materyel	90
II.D.2. Yöntem	90
II.D.2.1.Ekstraksiyon İşlemi	90
II.D.2.2. Kromatografik Yöntemler	90
II.D.2.2.1. Sütun Kromatografisi	90
II.D.2.2.2. İnce Tabaka Kromatografisi	91
II.D.2.2.3. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi	91
II.D.2.3. Spektroskopik Yöntemler	91
II.D.2.3.1. UV Spektroskopisi	91
II.D.2.3.2. IR Spektroskopisi	92
II.D.2.3.3. ¹ H NMR ve ¹³ C NMR Spektroskopisi	92
II.D.2.3.4. Kütle Spektroskopisi	92
II.D.2.4. Belirteçler	92
II.D.2.4.1. Terpenoid Belirteçleri	92
II.D.2.4.1.1. Serik Sülfat Belirteci	92
II.D.2.5. Uygulanan Kimyasal Reaksiyonlar	92
II.D.2.5.1. Asetilleme	92

II.D.3. Bulgular	93
II.D.3.1. Elde Edilen Bileşikler	94
II.D.3.1.1. - amirin	98
II.D.3.1.2. β - amirin asetat	102
II.D.3.1.3. Oleanolik asit 3 β -asetat	106
II.D.3.1.4. β - sitosterol	110
II.D.3.1.5. β - sitosterol asetat	115
II.D.3.1.6. Betülin ve Betülinik asit	119
II.D.3.1.7. 16 β - hidroksil lupeol 3 palmitat ve miristat	123
II.D.3.1.8. Monoginol A - cis ve trans kumaroil esterler	129
II.D.3.1.9. 3 β -hidroksi 11-oxo- olean-12-en	136
II.D.3.1.10. Dimerik cis ve trans 4-O-metil kafeik asit oktanol esterleri	141
II.D.3.1.11. 3 β , 24 dihidroksi olean-12-en	146
II.D.3.1.12. Virgatik asit 29-al	153
II.D.3.1.13. 18-hidroksi-14-norursan- Δ^{12} , Δ^{14} - dien -30 al-28 oik asit	159
II.E. Aktivite Tayinleri	
II.E.1. Antibakteriyel Aktivite Tayini	160
II.E.2. Sitotoksik Aktivite Tayini	162
III. SONUÇ	
IV. KAYNAKLAR	

TABLÖLAR

Sayfa

TABLO. 1	Terpenlerin Sınıflandırılması	11
TABLO. 2	Basınç ve Sıcaklığın Uçucu Yağ Verimi Üzerine Etkisi	36
TABLO. 3	Ekstraksiyon Süresinin ve CO ₂ debisinin uçucu yağ verimi üzerine etkisi	36
TABLO. 4	Bazı Süperkritik Çözücülerin Kritik Özellikleri	38
TABLO. 5	CO ₂ 'nin Özellikleri	39
TABLO. 6	Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu Yöntemindeki Çalışma Koşulları	47
TABLO. 7	Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu Çalışmasında Elde Edilen Sonuçlar (1+2+3)	52
TABLO. 8	Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu Çalışmasında Elde Edilen Sonuçlar (4+5+6)	61
TABLO. 9	Subuharı Distilasyonu Sonuçları	70
TABLO.10	Subuharı ve Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu Yöntemlerinin Karşılaştırılması	89
TABLO.11	Antibakteriyel Aktivite Tayininde Deney Konsantrasyonları	165
TABLO.12	Antibakteriyel Aktivite Sonuçları	166
TABLO.13	Antimikrobial Aktivite Sonuçlarının Değerlendirilmesi	167
TABLO.14	Sitotoksik Aktivite Sonuçları	168

GRAFİKLER

GRAFİK 1	Saf Bir Çözücü İçin Basınç-Sıcaklık Evre Diyagramı	40
GRAFİK 2	Süperkritik CO ₂ 'nin Çözme Gücüne Göre Kullanım Alanları	42
GRAFİK 3	CO ₂ 'nin Kritik Bölge Yakınlarındaki Basınç ve Sıcaklık Değişimleri	43
GRAFİK 4	Süperkritik CO ₂ 'de Bazı Esansiyel Yağ Bileşenlerinin Çözünürlük İzotermi	44

ŞEKİLLER

ŞEKİL.1	Mevalonik Asit Kimyasal Yapısı	5
ŞEKİL.2	Asetil Koenzim	6
ŞEKİL.3	Mevalonik Asit Eldesi	7
ŞEKİL.4	İzopentil Pirofosfat Oluşumu	8
ŞEKİL.5	Geranil Pirofosfat Oluşumu	8
ŞEKİL.6	Farnesil Pirofosfat Oluşumu	9

ŞEKİL.7	Geranil - Geranil Pirofosfat Oluşumu	9
ŞEKİL.8	Terpenlerin Oluşumu	10
ŞEKİL.9	Tersinir Michael Oluşumu	13
ŞEKİL.10	Neril Pirofosfat Oluşumu	14
ŞEKİL.11	Monoterpenlerin Biyosentezi	15
ŞEKİL.12	Monoterpenlerin Açık ve Kapalı Formulleri - 1	16
ŞEKİL.13	Monoterpenlerin Açık ve Kapalı Formulleri - 2	17
ŞEKİL.14	Seskitrpenlerin Biyosentezi	20
ŞEKİL.15	Seskitrpenlerin Açık ve Kapalı Formulleri	21
ŞEKİL.16	Himekalan ve Longifolan Türevleri	22
ŞEKİL.17	Steroid İskelet Yapısı	23
ŞEKİL.18	Triterpen İskelet Yapıları - 1	28
ŞEKİL.19	Triterpen İskelet Yapıları - 2	29
ŞEKİL.20	Bazı Triterpenlere Ait Parçalanmalar	30
ŞEKİL.21	Lavanta Yapraklarının Esansiyel Yağına Ait Kromotomlar	35
ŞEKİL.22-30	Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu Çalışması (1+2+3) Sonuçları	52-60
ŞEKİL.31-38	Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu Çalışması (4+5+6) Sonuçları	62-69
ŞEKİL.39-56	Subuharı Distilasyonu Sonuçları	71-88
ŞEKİL.57-58	β - amirin Spektrumları	99-101
ŞEKİL.59	β - amirin asetat spektrumları	103-105
ŞEKİL.60-62	Oleanolik asit 3 β -asetat Spektrumları	107-109
ŞEKİL.63-65	β - sitosterol Spektrumları	112-114
ŞEKİL.66-68	β - sitosterol asetat Spektrumları	116-118
ŞEKİL.69-71	Betülin Spektrumları	120-122
ŞEKİL.72-74	16 β - hidroksi 3 palmitat ve ministat spektrumları	125-128
ŞEKİL.75-80	Monoginol A Spektrumları	131-135
ŞEKİL.81-84	11-oxo β - amirin Spektrumları	137-140
ŞEKİL.85-87	Dimerik cis ve trans 4-O-metil kafeik asit oktanol esteri spektrumları	143-145
ŞEKİL.88-90	3 β , 24 dihidroksi olean-12-en spektrumları	148-152
ŞEKİL.91-93	Virgatik asit 29-al Spektrumları	155-158
ŞEKİL.94-97	18-hidroksi-14-norursan- Δ^{12} , Δ^{14} - dien -30 al-28 oik asit spektrumları	161-164

ÖZET

Bu çalışmada *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas* bitkisinin toprak üstü kısımları uçucu yağ bileşikleri yönünden, toprak altı kısımları ise uçucu olmayan bileşenleri yönünden incelenmiştir.

Lavandula stoechas ssp. *stoechas* bitkisi Nisan 1996'da Bodrum-Gümbet bölgesinden ve Çayırova-Gebze bölgesinden toplanıp, Ankara Üniversitesi herbaryumunda teşhis edilmiştir. Gebze'den toplanan bitkinin toprak altı kısımlarında organik bileşenleri, Bodrum'dan toplanan bitkinin toprak üstü (dal ve çiçek) kısımlarında ise uçucu olan bileşenler incelenmiştir.

Bitkinin toprak altı kısımlarından bileşiklerin izolasyonu ve saflaştırılması için ekstraksiyon ve kromatografik yöntemler (sütun, ince tabaka, preparatif ince tabaka) kullanıldı, bu bileşiklerin yapı tayinleri ise spektroskopik yöntemlerle (UV, IR, ^1H ve ^{13}C NMR, MS) saptandı. Çalışma sonucunda kloroform ekstraktında 3 tanesi doğadan ilk kez elde edilen (18 hidroksi-14-norursan- Δ^{12},Δ^{14} -dien-30 al-28-oik asit, 3β -24 dihidroksi olean-12-en, virgatik asit 29-al) toplam 13 bileşik tespit edildi (β -sitosterol, β -sitosterol asetat, β -amirin, β -amirin asetat, oleanolik asit 3β -asetat, betülin ve betülinik asit, dimerik cis ve trans 4-O-metil kafeik asit oktanol ester, 16β -hidroksi lupeol 3-palmitat ve miristat, 11 oxo β -amirin, monoginol A trans ve cis kumaroil esterleri). Bu bileşikler içinde yalnızca, β -amirin, β -amirin asetat, oleanolik asit 3β -asetat ve β -sitosterol bu tür bitkide daha önce gözlenmiştir.

Bitkinin topraküstü kısımlarında uçucu yağların eldesinde süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemi ve su buharı distilasyonu yöntemleri kullanılmış, ürünlerin GC-MS analizi ile belirlenen bileşiklerinin karşılaştırılması yapılmıştır. Uçucu yağın ana bileşenleri olarak; ökaliptol, kamfor, fenkon, fenkol, kalamen, aromadendren, viridiflorol, D-limonen, α -thujen, α -pinen, nootkatone, globulol, ledol, palustrol, α -terpineol, kadinen, kopaen, bornil asetat, murolen belirlenmiştir. Bunların içinden α -pinen, kamfor, ökaliptol, bornil asetat, D-limonen ve fenkonun dışındakiler *Lavandula stoechas* ssp.*stoechas* bitkisinden ilk kez elde edilmiştir.

Bu şekilde bitkinin kök,dal ve çiçeklerinden şimdiye kadar gözlenmemiş 25 bileşik izole edilmiş olup, bunlardan 3 tanesi doğadan ilk kez elde edilmiştir.

Bitkinin uçucu yağlarının ve kromatografi ile ayrılan bileşenlerinden bazılarının antibakteriyal etkileri ve çeşitli kanser hücrelerine karşı in vitro sitotoksik etkileri incelenmiş ve özellikle uçucu yağların oldukça aktif olduğu gözlenmiştir.

SUMMARY

Lavandula stoechas ssp. *stoechas* is a native plant of Western Anatolia. Since the brews of dried parts of the plants are used in traditional medicine as diuretic and in healing coronary diseases we investigated the volatile compounds of its aerial parts and non-volatile compounds of the roots.

The non-volatile organic compounds in the roots of the plants are isolated and purified by extractions and chromatographic separations their structure elucidations followed by the using spectropic means such as UV, IR, ^1H and ^{13}C NMR and Mass spectroscopy. From chloroform extracts of the roots, the compounds β -sitosterol, β -sitosterol acetate, α -amyrin, oleanolic acid 3β -acetate, betüline and betülinic acid, dimeric cis and trans-4-O-methyl caffeic acid octanol esters, 16β -hydroxy lupeol-3-palmitat and myristate, 11-oxo- β -amyrin, - β -amyrin acetate, monogynol A trans and cis cumaroyl esters were isolated and identified along with the compounds 18-hydroxy-14-norursan- Δ^{12}, Δ^{14} -dien-30-al-28-oic acid, 3β -24 hidroxy olean-12-en and virgatic acid 29-al which have been isolated from natural sources for the first time. Most of the above mentioned compounds have been isolated from *L.stoechas* ssp. *stoechas* for the first time.

The essential oil from the plant has been obtained by means of either steam distillation or supercritical extraction via CO_2 . The compositions of volatile oils have been investigated by use of GC-MS. Thus, 1,8-cineole, camphore, fenkon, fenkol, calamen, aromadendrene, viridiflorol, D-limonene, α -thujen, α -pinene, nootkatone, globulol, ledol, palustrol, α -terpineol, cadinene, copaene, bornyl acetate, muurolen have been identified.

Totally, 25 compounds have been isolated and identified from the dried roots, aerial parts and flavors of the *L.stoechas* ssp. *stoechas* for the first time, three of which have also been isolated from the natural compounds for the first time.

The antibacterial and cytotoxic activity of some of the pure compounds and essential oils of *L.stoechas* ssp. *stoechas* have been investigated and found active against some standard bacteria and fungus. Their cytotoxic activities have also been investigated against the cells of human breast cancer, colon cancer, lung cancer, mouse epidermoid carcinoma and hormone dependent human prostate cancer cells to some extent.



***Lavandula stoechas* ssp. *stoechas* bitkisi
(Bodrum)**



***Lavandula stoechas* ssp. *stoechas* bitkisi
(Gebze)**

I- GENEL BÖLÜM

I-1- GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI

Lavandula (Lavanta) türleri Lamiaceae (=Labiatae) familyasına ait (1,2) çok yıllık, genellikle Akdeniz ikliminde yayılış gösteren, yurdumuzda Marmara, Ege ve Akdeniz Bölgesinde ve İstanbul civarında yabancı ya da kültür bitkisi olarak yetişmekte olup Türkiye’de başlıca iki türü (3), *Lavandula stoechas* ve *Lavandula angustifolia* (ve bu iki türe ait alt türler ile hibrit formları) bulunmaktadır.

Dünyada *Lavandula* (Lavendar) türleri üzerinde pek çok araştırma yapılmış (4-5) ve yapılmaktadır. Bugün *Lavandula* türlerinden elde edilen droglar birçok farmakopede kayıtlı olup çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır (6-7). *Lavandula officinalis*’in taze çiçekli dal uçlarından su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağı oleum lavandulae (lavanta esansı) olarak bilinir ve santral sinir sistemi sedatifi olarak kullanılmıştır. Lavantanın Fransa, İspanya ve İtalya’da kültürü yapılmaktadır. Su buharı distilasyonu ile bitkiden %0.5-0.8 kadar uçucu yağ elde edilmektedir. Bu yağın %30-40’ı linalol, %35-55’i linalil asetatdır, ayrıca uçucu yağda geraniol, ökaliptol ve borneol ile düşük oranlarda diğer terpenik bileşikler de bulunmaktadır. Uçucu yağı taşıdığı linalol ve linalil asetatdan dolayı parfümeri ve kozmetikte çok kullanılmaktadır. Fakat Türkiye’de yetişmekte olan türleri daha ziyade ketonik terpenler taşıdıklarından dolayı linalol kaynağı olarak değil, kafur kaynağı olarak görülmektedir.

Türkiye’de yetişen *L.stoechas* ve *L.angustifolia* türlerinin uçucu yağları üzerinde bazı araştırmalar yapılmış olmasına rağmen (8-9), bunlardan biri (9) hariç diğerleri oldukça eski yıllara ait ve sınırlı olduğundan GC-MS kullanılarak uçucu yağlarının yeniden araştırılması gerekmektedir.

Türkiye’de yetişen Lavanta türlerinin uçucu olmayan bileşenleri pek araştırılmamış, sadece *L.stoechas* ssp.*stoechas* türünden iki longipinen derivativesiyle (10) bazı triterpenler (11) izole edilerek yapıları tayin edilmiştir. *L.stoechas* ssp. *stoechas* ile yapılan bir çalışmada dal ve çiçeklerden kloroform ekstraksiyonu ve kromatografi kullanımı ile β -amirin asetat, bornil asetat ile 3-metil-4-metilen-bisiklo (3,2,1) okt-2-en bu türde gözlenen yeni bileşikler olarak bulunmuştur (12).

Bu nedenle bu çalışmada *Lavandula stoechas* ssp.*stoechas* bitkisinin toprak üstü kısımlarının uçucu yağının su buharı ve süperkritik ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilerek incelenmesi ve ayrıca toprak altı kısımlarının organik (başlıca triterpen ve steroid olmak üzere) bileşenlerinin kromatografik yöntemlerle izolasyonu ve bu bileşiklerin spektral yöntemlerle (IR,UV,¹H ve ¹³C NMR ,MS) yapılarının tayini ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

I-2- ÇALIŞILAN BİTKİ HAKKINDAKİ BİLGİLER

I-2-1- Lamiaceae Familyası

Lavandula türleri Lamiaceae (= Labiatae) familyasına ait olup bu familyadaki bitkiler bir ya da çok yıllık, genellikle salgı tüylü ve kokulu, otsu veya çalimsı bitkilerdir. Bu familyada 200 cins ve 3500 tür bulunmaktadır. Türkiye'de ise Lamiaceae familyasına ait doğal olarak yetişen 43 cins vardır. Lamiaceae bitkileri özellikle terpenoid bileşikler bakımından zengindir, ayrıca uçucu yağlar, flavonoidler, kumarinler ve az da olsa kinoid yapıda maddelerle bazı basit alkolitler taşırlar.

I-2-2-Lavandula Cinsi

Lavandula cinsinin Türkiye'de 2 türü ve bazı alt türleri bulunmaktadır. Muğla yöresinde gargan olarak bilinen karabaş otu lavanta çiçeği çok yıllık, 20-60 cm. boyunda, güzel görünüşlü, hoş kokulu, çalı şeklinde bir bitkidir. Bitki Nisan-Ağustos ayları arasında çiçek açar, dünyada başlıca Güney Avrupa, Cezayir, Tunus, Kanarya Adaları, Güneybatı Asya ve Suriye'de yetişmektedir.

Türkiye'de başlıca İstanbul, Kocaeli, Bursa, Balıkesir, Çanakkale, Manisa, Fethiye, Aydın ve Antakya'da yetişmekte olup 2 türü ve bu türlere ait alt tür ve varyeteleri mevcuttur. Ayrıca kültürü yapılarak da bazı hibrid formları oluşturulmuştur. Yabani olarak yetişen türler

- *L. stoechas* L.
 - a) *L.stoechas* L. ssp. *stoechas*
 - b) *L.stoechas* L. ssp. *cariensis* (Boiss.)
- *L. angustifolia* Miller ssp. *angustifolia*

L.stoechas ssp. *cariensis*, *L.stoechas* ssp. *stoechas* alt türüne çok benzemekle birlikte en belirgin özelliği çiçek durumunun çok uzun saplı olmasıdır.

ssp.stoechas - çiçek sapı 0.5-2.5 cm, çiçek durumunda kısa

ssp.cariensis - çiçek sapı 5-20 cm, çiçek durumunda uzun

Ayrıca yaprakları daha sivri ve korolla loplari ekseriya geriye büküktür. Çiçekleri siyahımsı mor renkte olup dalların ucunda silindirik durumda toplanmıştır.

I-2-3- Lavandula Türlerinin Halk Arasındaki Kullanılışı ve Farmakolojik Aktiviteleri

L.stoechas ssp. stoechas yurdumuzda geniş bir alanda yayılı olup halk arasında karabaş otu, gargan, keşiş otu olarak bilinir. Lavanta türlerinden elde edilen en iyi kalitedeki lavanta yağı parfüm sanayinde kullanılır ve en az % 50 ester içermesi istenir. Lavanta suyu, kolonya ve buna benzer ürünlerin imalinde kullanılan daha düşük kalitedeki lavanta yağı %40, sabun yapımında kullanılan lavanta yağı ise %30 ester içerir(14).

Lavanta türleri, ağrı kesici, antiseptik, yara iyi edici (egzama vb. yaralarına karşı), yatıştırıcı (sara ve astım için), balgam söktürücü, idrar yolları iltihaplarına karşı, sinir sistemi yatıştırıcısı ve kalp kuvvetlendirici gibi etkileri nedeniyle dahilen ve haricen kullanılmaktadır. Etkilerinin çoğunun taşıdığı uçucu bileşenlerden ileri geldiği düşünülmektedir. Osmanlı İmparatorluğu döneminde kolera hastalığı tedavisinde kullanıldığı ve eczanelerde sattırıldığı ile ilgili 1848 tarihli bir padişah emri bile vardır (3).

Parfümeride ve kozmetolojide uçucu yağındaki linalol ve linalil asetat nedeniyle çok kullanılmasının yanısıra analjezik, antiseptik ve antiirritan etkileri nedeniyle de önemlidir. Türkiye'deki lavantalardan ortalama %0.5-0.7 verimle elde edilen uçucu yağ başlıca kafur, fenkon, borneol, terpinol ve sineol taşımaktadır, bu bileşikler eczacılıkta kullanılmaktadır. Uçucu yağının baş ağrısı, sinirsel gerginlikler ve romatizma tedavisinde kullanıldığı ve ayrıca inhalasyon yoluyla kolite, zayıf beslenmeye ve spazmlara karşı kullanıldığı bilinmektedir(73). Çiçeklerinin ise göğüs, karaciğer, dalak ve bazı kanser tiplerinin iyileşmesinde kullanıldığı literatürde kayıtlıdır (13).

Lavanta yapraklarından elde edilen esansiyel yağ engerek yılanının zehirini bile nötralize edebilecek güçtedir. Mükemmel bir haşarat ilacıdır. Büyük dozlarda kullanımı ise narkotik özelliktedir ve ölüme bile neden olabilir (14).

Bugüne değin, lavandula türlerinin genellikle uçucu yağları analiz edilmiştir ve etkilerinin de uçucu yağdan ileri geldiği düşünülmektedir.

Bitkinin uçucu yağının etkilerine ilaveten uçucu olmayan bileşenlerinde bazı etkileri olabileceği gözardı edilmemelidir. Çalışmamızda üzerinde fazlaca araştırma bulunmayan *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas* bitkisinin gövde ve çiçek kısımları ayrı ayrı ele alınmış, gövde ve çiçek kısımlarından uçucu bileşenler değişik iki yöntemle izole edilip yapıları araştırılmış ve ayrıca kök kısımlarının ekstraksiyonlarından izole edilen bileşenlerin yapıları aydınlatılmıştır. Bileşenlerden bazılarının biyolojik aktiviteleri de araştırılmıştır.

I-2-4- Yıllık Üretim

Dünya üretiminin % 75 'ini Lavandin, %20 'sini gerçek Lavanta ve % 5'ini ise başak Lavanta üretimi kapsar (22). Lavanta üreten ülkeler arasında 1984 yılı itibariyle Bulgaristan (120 ton), Fransa (55 ton), Rusya (35 ton), İtalya, Amerika, Macaristan, İngiltere, Avustralya ve Çin başta gelmektedir.

I-3- GENEL BİLGİLER

I-3- 1- Terpenoid Bileşikler

I-3- 1- 1- Terpenoid Bileşikler Hakkında Genel Bilgiler

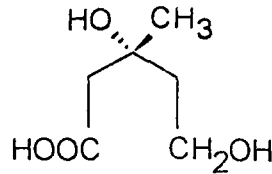
I-3- 1- 1- 1- Dağılımları

Terpenoidler, bitkiler ve hayvanlar aleminde yaygın olarak bulunan, doğal bileşiklerin en geniş ve en önemli sınıflarından biridir. Terpenler bitki dokularında genellikle serbest halde, bazen ise glikozitleri ya da organik asit esterleri halinde, bazen de, proteinlerle birleşmiş olarak bulunurlar

I-3- 1- 1- 2-Biyogenezleri

Terpenoidlerin ana iskeleti beş karbonlu izopren (2-metil-1,3-butadien) birimlerinden oluşur. Dolayısıyla yapılarında izopren " $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$ " birimi bulunan bileşiklere izoprene benzeyen anlamına gelen izoprenoid veya terpenoid adı verilmiştir. Terpenoidlerin biyosentezi kısaca aşağıdaki gibidir :

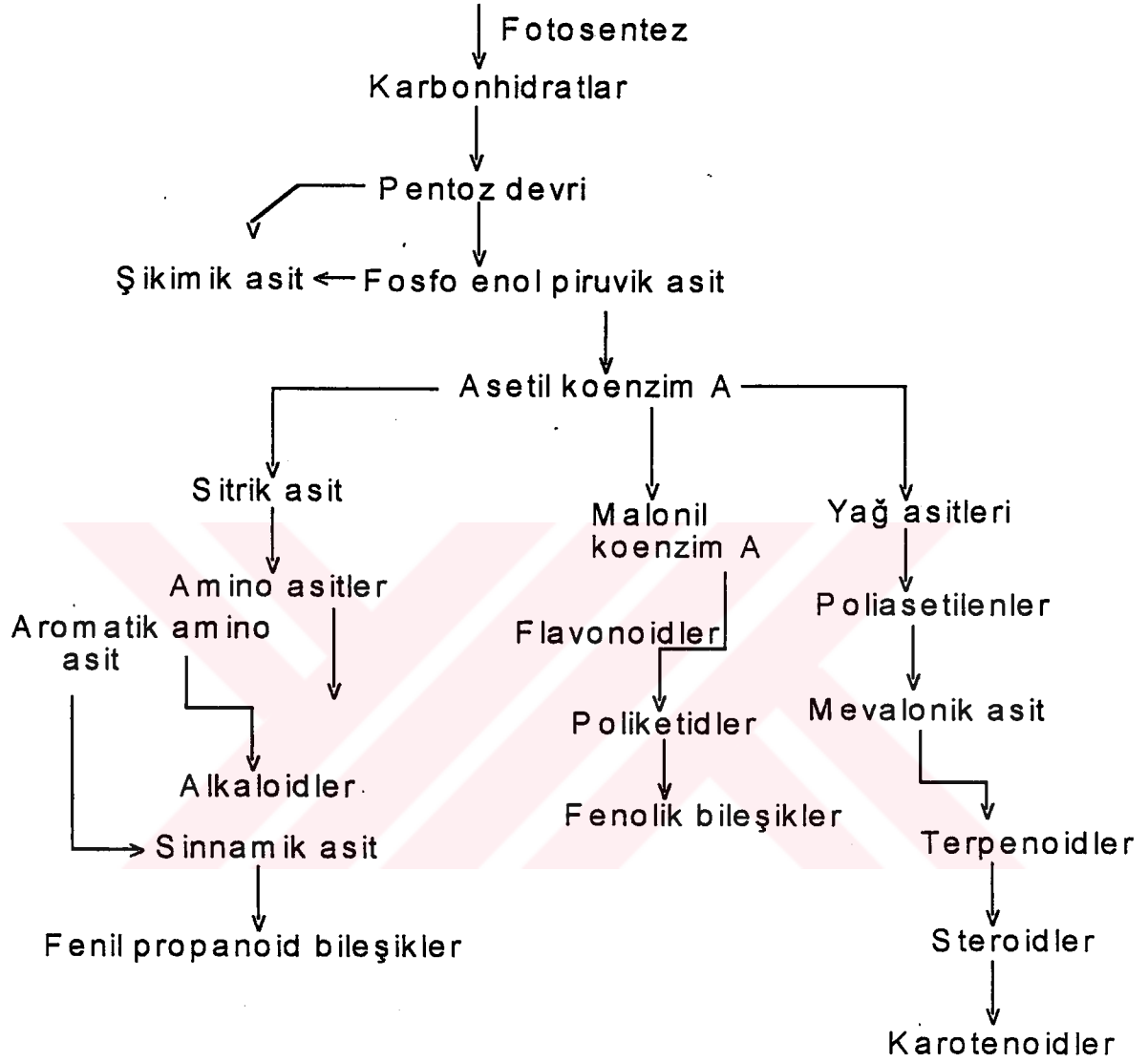
3 mol CH_3COOH 'ın kondensasyonu ile oluşan ve 6 C'lu olan mevalonik asitten H_2O ve CO_2 kaybı ile izopren birimleri oluşur (Şekil 1).



Şekil 1 : Mevalonik asit

Mevalonik asit eldesinde başlangıç maddesi olan asetil Koenzim A ($\text{CH}_3\text{CO}-\text{SCoA}$) ise pek çok doğal bileşiğin sentezinde kullanılan temel bir madde olup, şekerlerin oksidatif degradasyonundan oluşur ve karbondioksit okside olur. Asetil Koenzim A'nın doğal bileşiklerin oluşumundaki rolü Şekil 2'de gösterilmiştir.

KLOROFİL + CO₂ + GÜNEŞ IŞIĞI



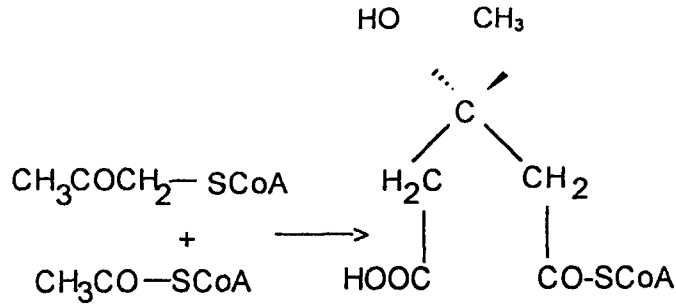
(Şekil 2)

İki molekül asetil Koenzim A'nın kondensasyonu ile oluşan asetoasetil koenzim A'nın bir mol daha asetil koenzim A ile kondensasyonu ve bir enzimle hidrolitik bölünmesi sonucu 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A elde edilir. Tiol ester grubunun asinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH) ile indirgenmesiyle, mevalonik asit elde edilir.

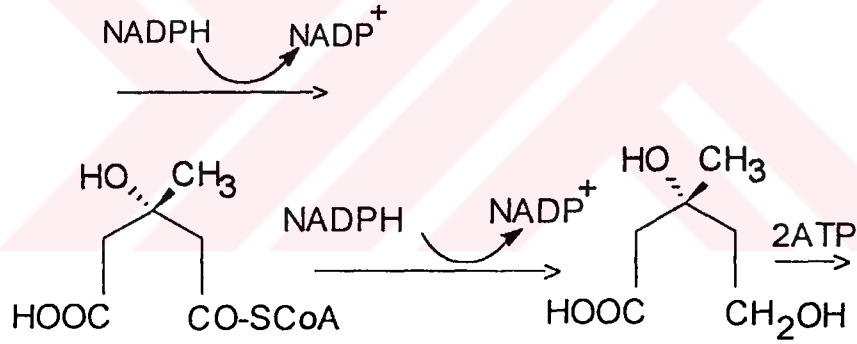


Asetil koenzim A

Asetoasetil koenzim A



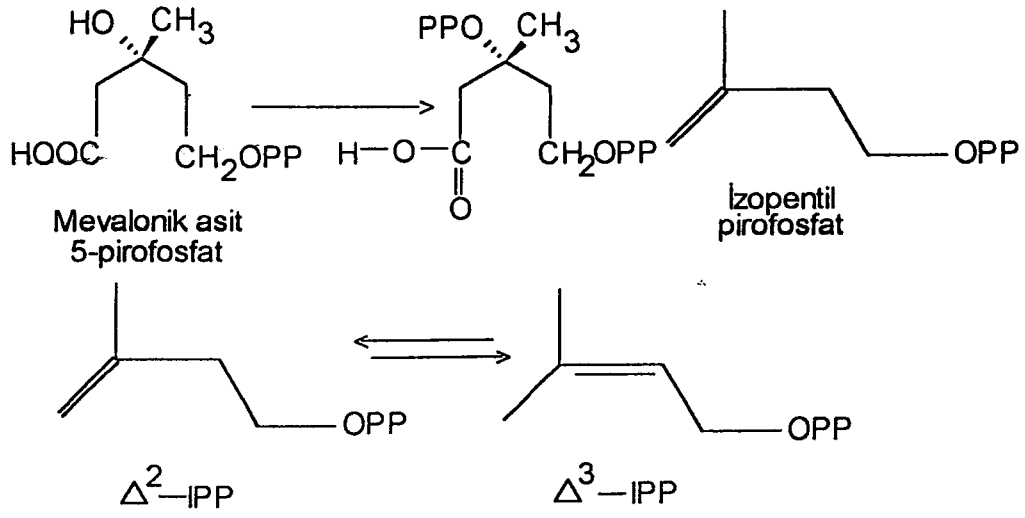
3 hidroksi -3- metil
glutaril koenzim A



Mevalonik asit

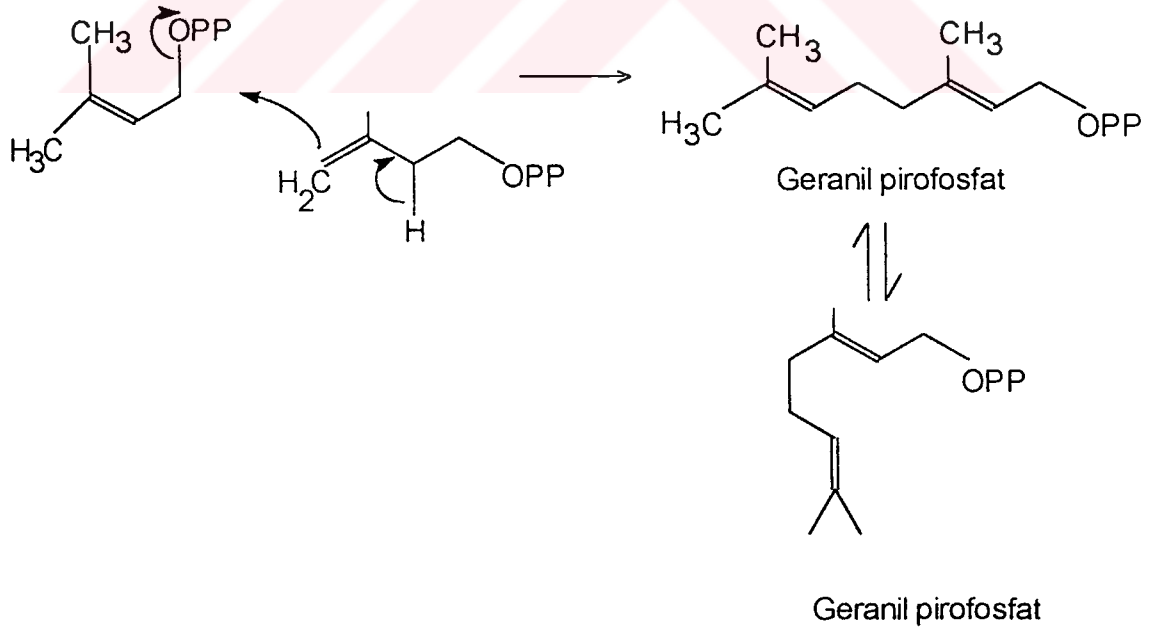
(Şekil 3)

Mevalonik asitin 2 molekül adenosin trifosfat ATP ile fosforlanması sonucu mevalonik asit 5 pirofosfat oluşur. Bu bileşiğin tersiyer hidroksil grubu da bir molekül ATP ile fosforlandıktan sonra CO₂ ve H₂O çıkışıyla izopentil pirofosfat oluşturur.



(Şekil 4)

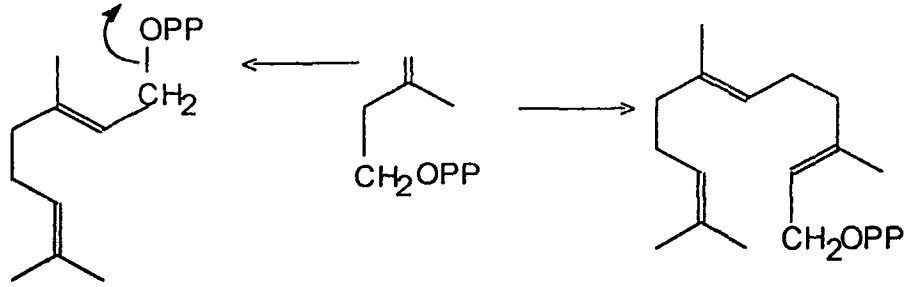
Izopentilpirofosfatın enzim izomerizasyonu sonucu dimetil allilester oluşur. Bu iki izomerin kondensasyonu geranil pirofosfatı (Şekil 5) oluşturur ve bu maddeden monoterpener oluşur.



Geranil Pirofosfat oluşumu

(Şekil 5)

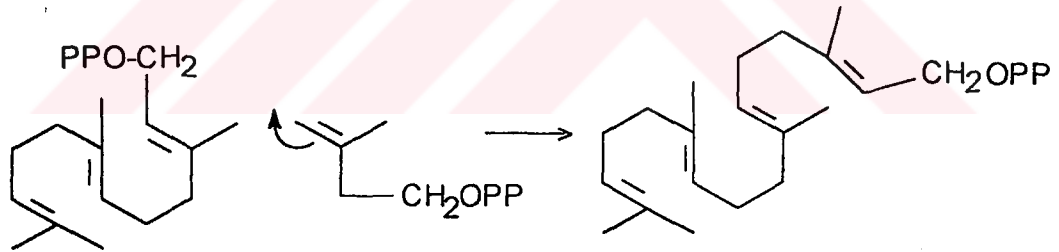
Geranilpirofosfatın izopentilpirofosfat ile kondensasyonu farnesil pirofosfatı (Şekil6) oluşturur. Bu madde seskiterpenlerin geçiş bileşiğidir.



Farnesil pirofosfatın oluşumu

(Şekil 6)

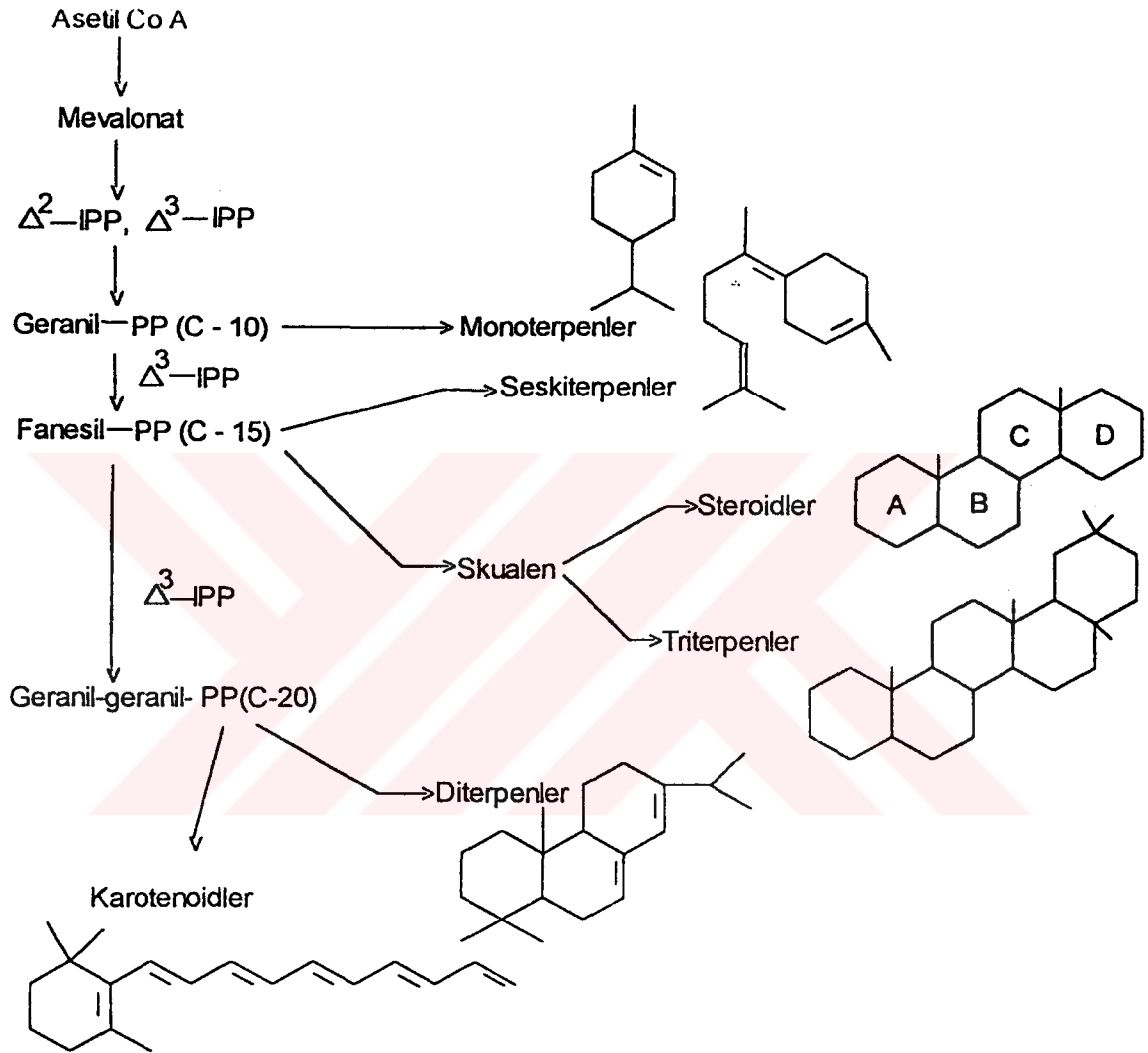
Bu maddenin tekrar izopentil pirofosfat ile kondensasyonu geranil-geranil pirofosfatı (Şekil 7) verir. Geranil-geranil pirofosfattan diterpenler ve karotenoidler oluşur.



Geranil-geranil pirofosfatın oluşumu

(Şekil 7)

Biyosentez yoluyla oluşan maddeler Şekil 8' de gösterilmiştir.



Terpenlerin oluşumu

(Şekil 8)

I-3- 1- 1- 3- Sınıflandırılmaları

Terpenoidlerin ana iskeleti 5 karbonlu izopren moleküllerinden oluştuğundan izopren birimlerinin sayısına göre sınıflandırılırlar. Ruzicka tarafından ortaya atılmış olan "İzopren Kuralı" na göre bütün terpenoidlerin karbon iskeletleri izopren birimlerinin iki veya daha fazlasının birleşmesiyle oluşmuştur.

<u>İzopren Sayısı</u>	<u>Sınıfı</u>	<u>İskelet C Sayısı</u>
1	Hemiterpenler	5 C
2	Monoterpenler	10 C
3	Seskiterpenler	15 C
4	Diterpenler	20 C
5	Sesterterpenler	25 C
6	Triterpenler	30 C
8	Tetraterpenler (Karotenoidler)	40 C
n	Politerpenler	(5 C) _n

Terpenler fiziksel özelliklerine göre ise iki gruba ayrılabilirler:

a) Uçucu Terpenler: Uçucu olan ve su buharı ile sürüklenabilen küçük moleküllü monoterpenler ve bir kısım seskiterpenler.

b) Uçucu Olmayan Terpenler: Büyük moleküllü seskiterpenler, diterpenler, sesterterpenler, triterpenler ve politerpenler bu grubu oluştururlar.

Terpenler değişen polaritedeki çözücülerle tüketilerek, kromatografik yöntemlerle saflaştırılırlar. Genel olarak terpenik yapılar için apolar çözücüler kullanılır, ancak terpenin çok sayıda hidroksil, karboksil gibi gruplar taşıması, glikozit yapıda olması halinde polar çözücüler kullanılır.

Terpenlerin izolasyonunda ve saflaştırılmasında kullanılan kromatografik yöntemler sütun ve preparatif ince tabaka yöntemleridir. Son yıllarda pekçok modern kromatografik saflaştırma yöntemleri vardır, bunlar HPLC, MPLC, DCCC, OPLC ve VLC (vakum sıvı kromatografisi) yöntemleri olarak çok çeşitlidir. Adsorban olarak başlıca silikajel, daha az olmak üzere alüminyum oksit, magnezyum silikat ve talk kullanılır.

Uçucu olan ya da uçucu türevleri haline getirilebilen ve miktarı az olan terpenlerin tanınmalarında gaz kromatografisi yöntemi kullanılır.

Terpenoidler çok değişik yapısal özelliklere sahip olup doğal bileşiklerin en geniş ve önemli sınıflarından birini oluştururlar. Araştırma alanları çok geniştir. Bugüne kadar incelenen bütün canlı organizmalarda bulunmuşlardır. Botanik orijinleri ile yapısal karakteristikleri arasında yakın ilişki vardır, bu nedenle kemotaksonomik incelemelerde yararlı örnekler verirler.

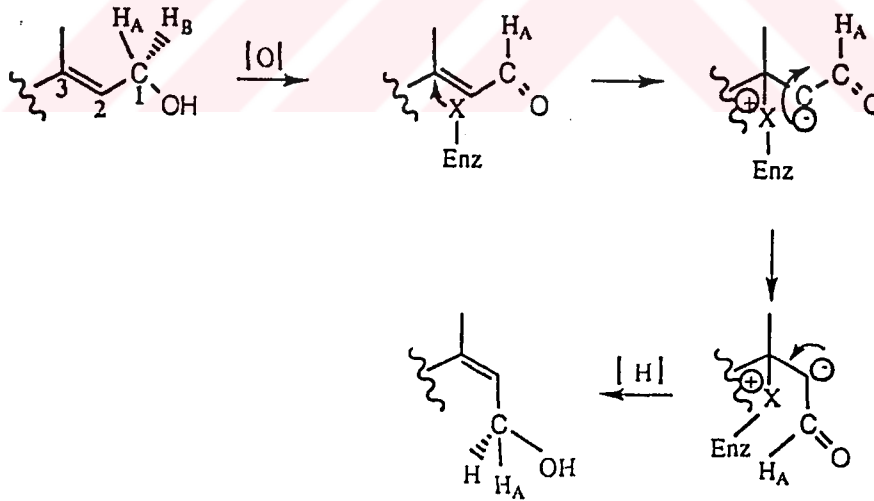
Terpenler bitki dokularında genellikle serbest olarak bulunurlar. Bazıları glikozitleri veya organik asit esterleri halinde, bazen de proteinlerle birleşmiş olarak bulunurlar. Terpenoidlerin ana iskeleti beş karbonlu izopren " $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$ ", birimi bulunan bileşiklere izoprene benzeyen anlamına gelen "izoprenoid" veya "Terpenoid" ismi verilmiştir.

I-3-1-2- Monoterpenler

Bugüne kadar 1000'den fazla monoterpene izole edilerek yapısı aydınlatılmıştır. Monoterpenler bitkiler aleminde Astrales, Cornales, Lamiales, Rutales gibi takımlara geniş olarak dağılmıştır. Son zamanlarda mantarlardan da bazı monoterpene izole edilmiştir. Ayrıca deniz alglerinden, Plocamiaceae ve Rhizophyllidaceae familyaları biyolojik olarak aktif halojenli monoterpenelerce zengindir. Monoterpenlerin halojenlenmiş türevleri deniz yumuşakçalarında yaygın olarak bulunmuştur. Parfüm ve gıda maddelerine koku verici olarak kullanılmaktadır. Bazı monoterpene antifungal, antibakteriyal ve antikanser etkilidir. Bugün bilinen monoterpene 38 farklı iskelet sistemine sahiptir.

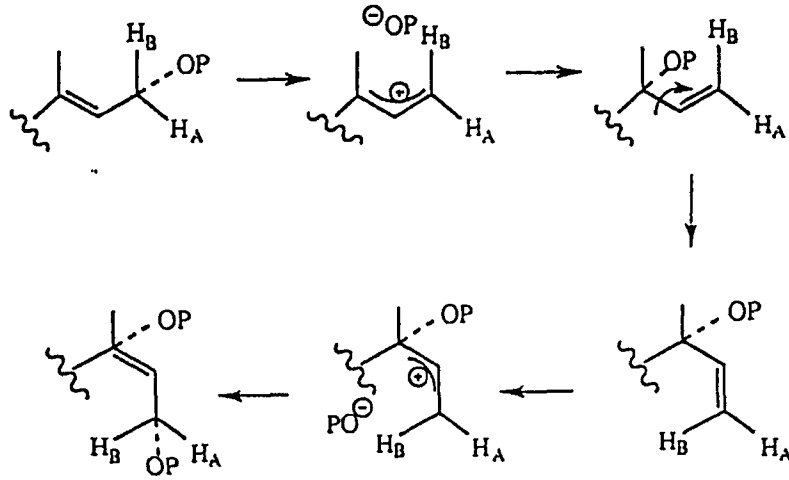
Monoterpenlerin biyosentezi GPP'tan başlar. Trans-geranil pirofosfat, cis-geranil pirofosfat (=neril pirofosfat) 'a dönüşerek siklik monoterpene biyosentezinde ana bileşen rolünü oynar. Bu dönüşüm iki mekanizma ile gerçekleşir.

1- Aldehit'den redoks reaksiyonu ile C 2-3 bağı etrafında tersinir Michael katılımı (Şekil 9) ile gerçekleşir .



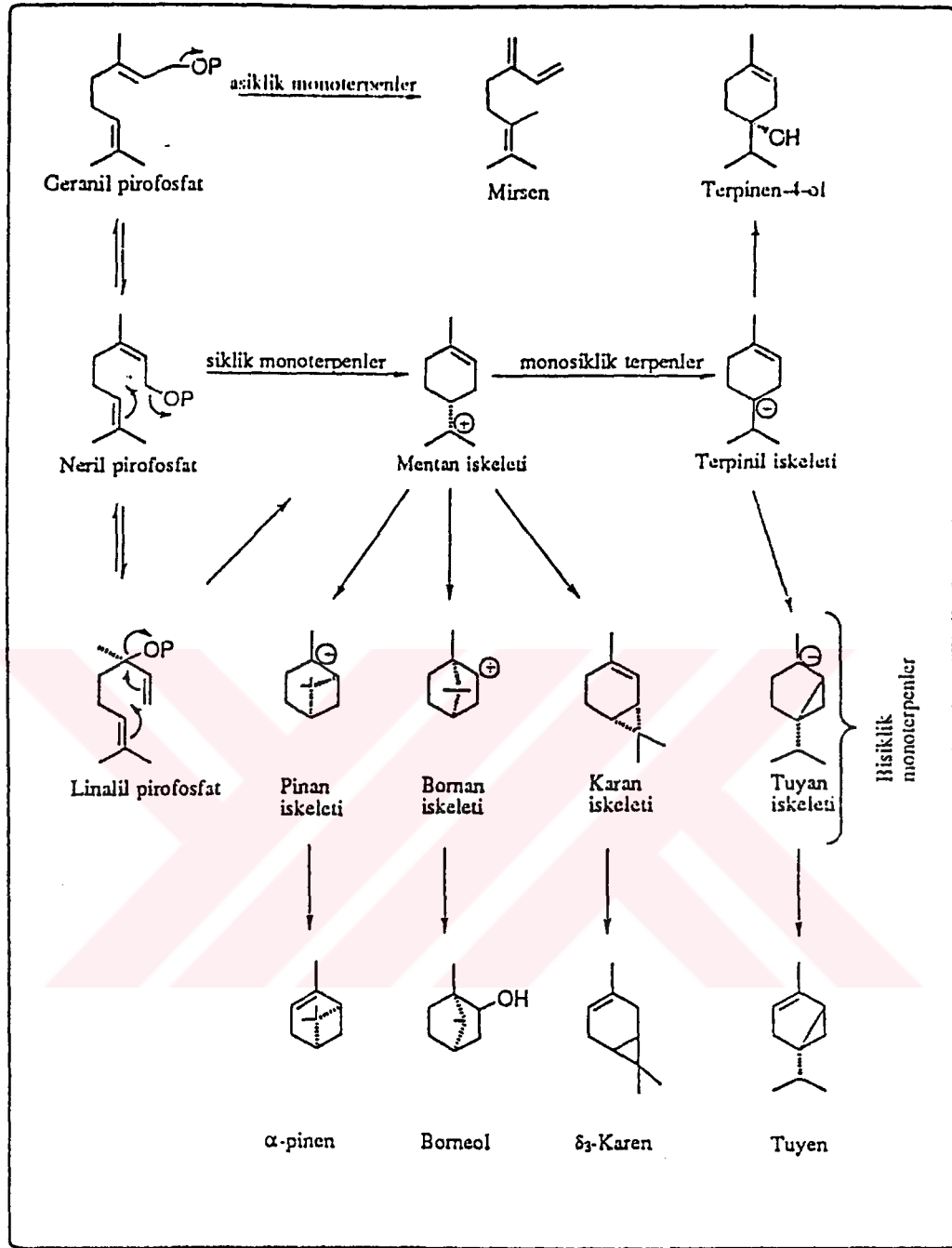
Şekil 9

2) Neril pirofosfat C 2-3 bağı çevresinde dönüşümle gerçekleşir (şekil 10). Bu dönüşümde linalil pirofosfat ara üründür.



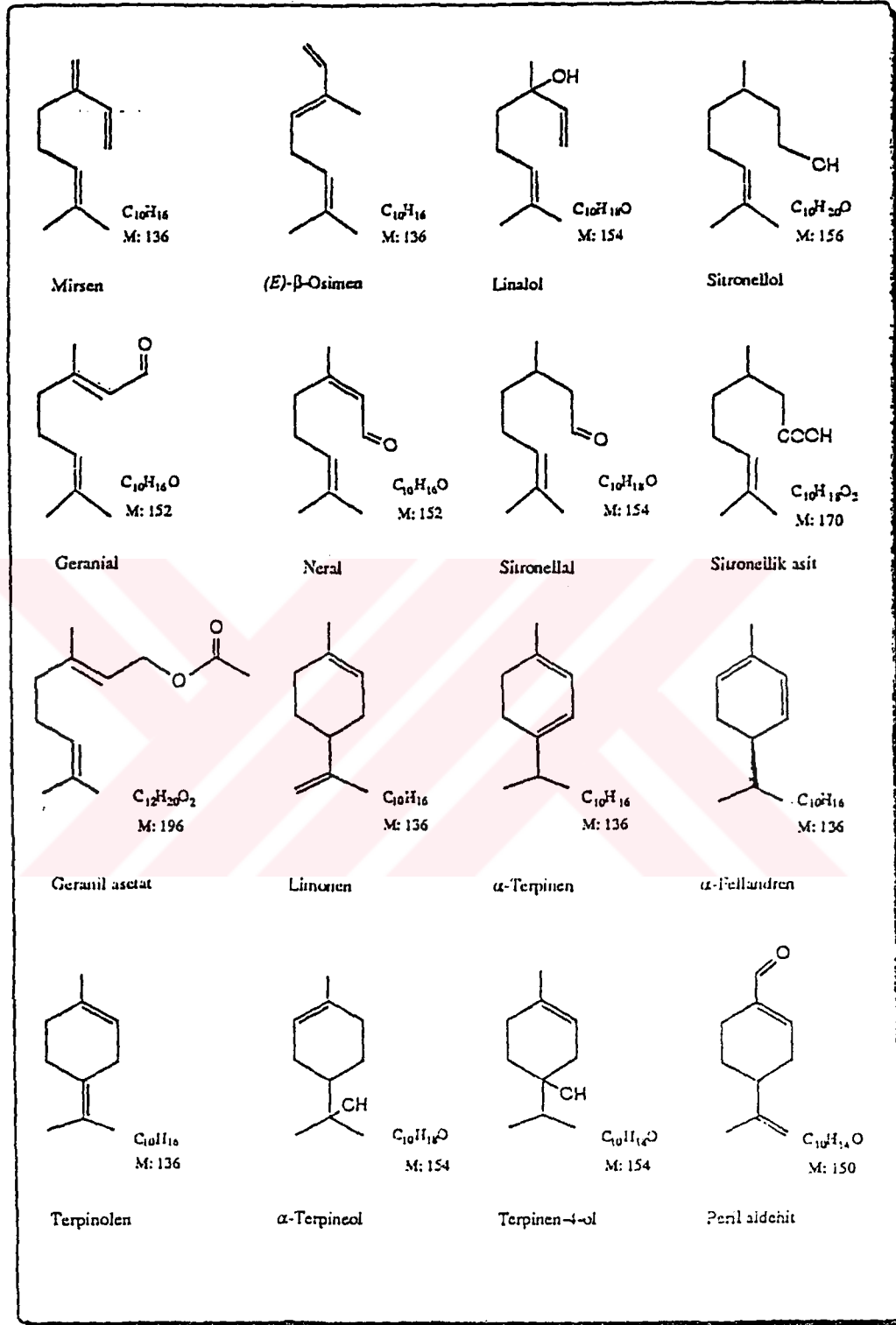
Şekil 10

Neril pirofosfat ve linalil pirofosfat'dan pirofosfat'ın eliminasyonu, mentan ve terpenil iskeletlerini meydana getirir. Mentan ve terpenil iskeletleri arasındaki fark pozitif yükün farklı karbonlarda olmasıdır. Pozitif yükün altıncı karbonda olduğu terpenil iskeletinden monosiklik terpenler (örn; terpinen-4-ol) ve tuyen iskeleti taşıyan bisiklik terpenler (örn;tuyen) meydana gelir. Mentan iskeleti, pozitif yükü 7.C'da taşımaktadır. C 2-7 bağıyla pinan iskeletini (örn; α -pinen), C 3-7 bağıyla bornan iskeletini (örn;borneol), C 1-7 bağıyla karan iskeleti (örn; δ_3 -karen) meydana gelir.



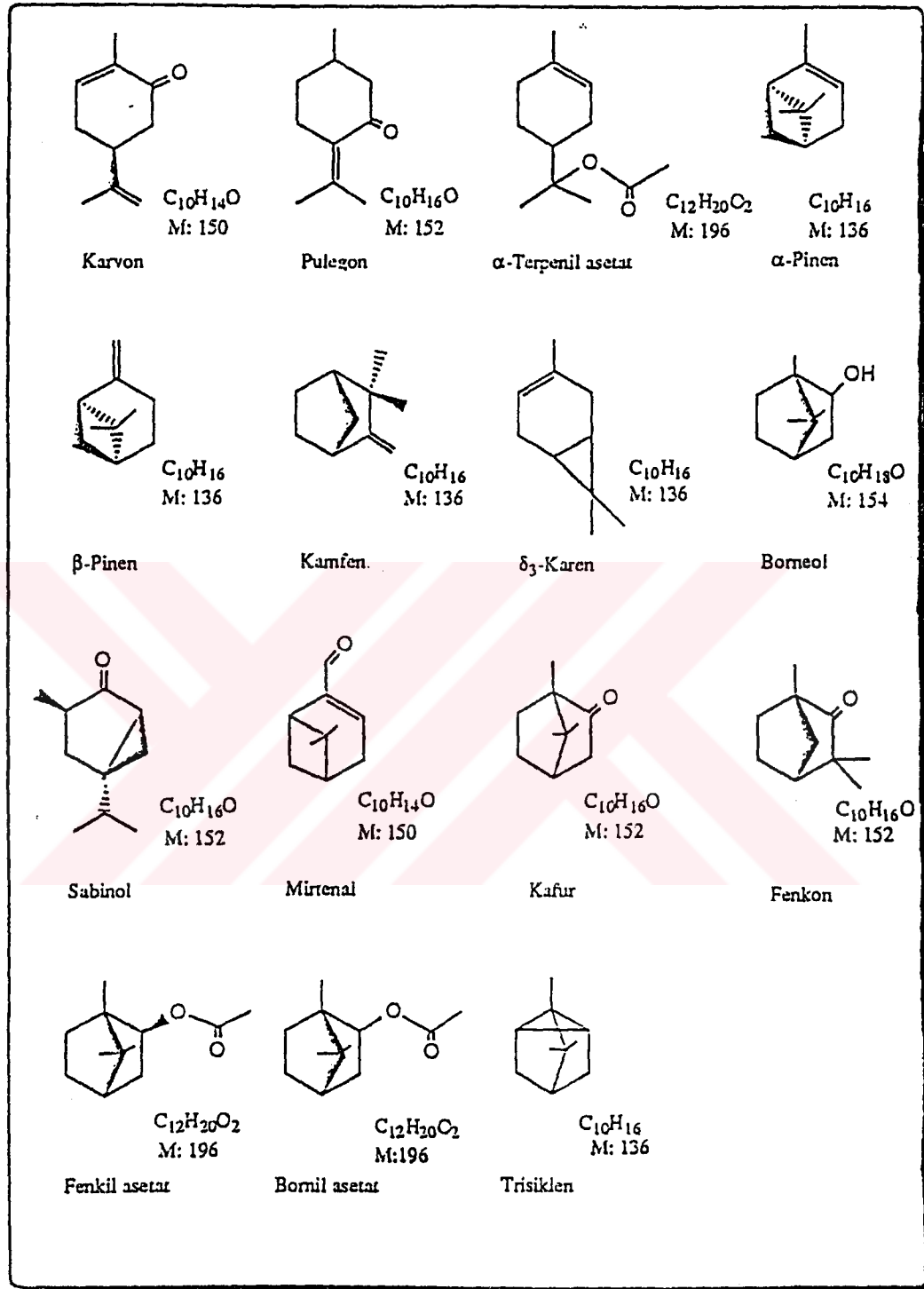
Şekil 11

Monoterpenlerin Biyosentezi



Monoterpenlerin Açık ve Kapalı Formülleri

Şekil 12



Şekil 13

I-3-1-2-1- Monoterpenlerin Sınıflandırılmaları

Monoterpenler, karbon sayısı değişmeden hidroliz, izomerizasyon, redüksiyon, oksidasyon ve dehidratasyonu ile geranil pirofosfat (GPP)'tan meydana gelirler.

- Asiklik Monoterpenler

Düz zincir halindedir. 3 çift bağ taşırlar. 2,6-dimetilakton iskeleti içerirler. Asimetrik karbon atomları nedeniyle optikçe aktiftirler.

- Hidrokarbonlar: mirsen, (E)- β -osimen
- Alkoller: linalol, sitronellol
- Aldehit ve Asetatlar: geranial, neral, sitronellal
- Asit ve Esterler: sitronellik asit, geranil asetat

-Monosiklik Monoterpenler: Bir halka ve iki çift bağ taşırlar.

- Hidrokarbonlar: limonen, α -terpinen, α -fellandren, terpinolen
- Alkoller: α -terpineol, terpinen-4-ol
- Aldehit ve ketonlar: perilaldehit, karvon, pulegon
- Esterler : α -terpenil asetat

- Bisiklik Monoterpenler: İki halka ve bir çift taşırlar.

- Hidrokarbonlar: α -pinen, β -pinen, kamfen, δ_3 -karen
- Alkoller: borneol, sabinol
- Aldehitler: mirtenal, kafur, fenkon
- Esterler : fenkil asetat, bornil asetat

-Trisiklik Monoterpenler: Üç halka taşırlar ve çift bağları yoktur.

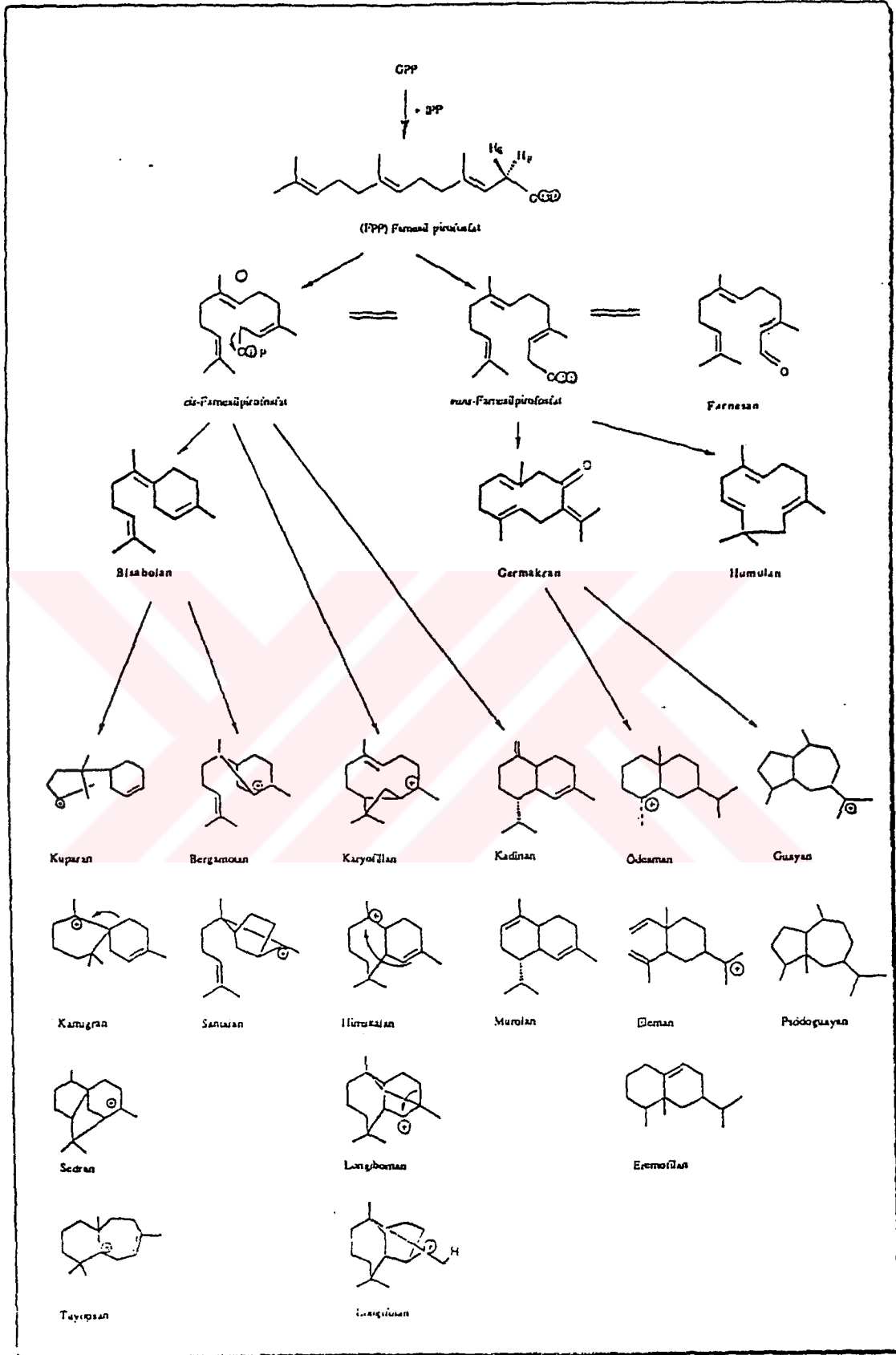
örn; trisiklen

I-3-1-3- Seskiterpenler

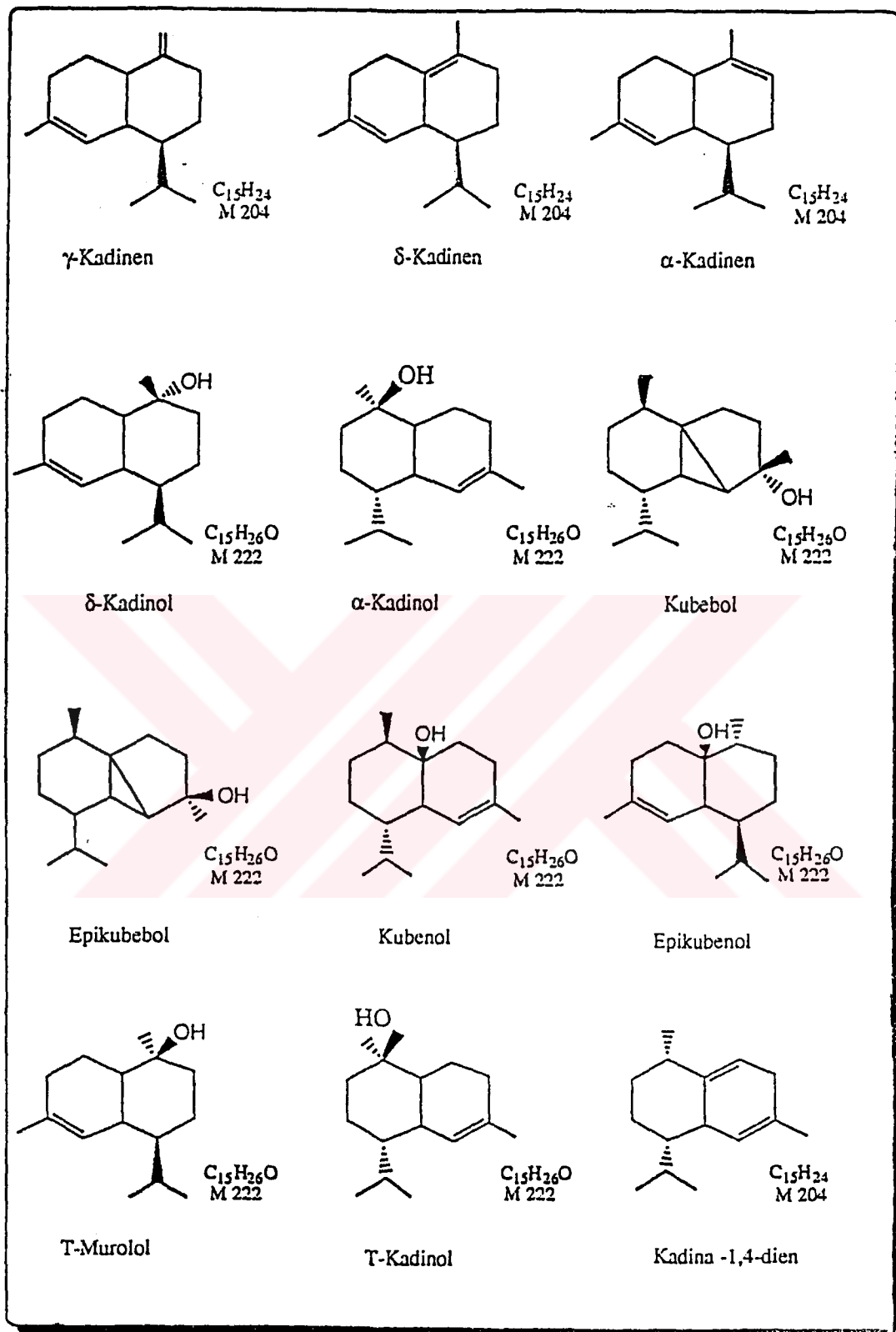
Günümüzde 1000 'den fazla seskiterpen bilinmekte ve bunlar 100 farklı karbon iskeleti taşımaktadır. Biyosentetik olarak seskiterpenler Geranilpirofosfata (GPP) bir IPP molekülünün katılmasıyla meydana gelen farnesilpirofosfat (FPP)'tan oluşur. FPP'in cis ve trans formlarından hareketle 6 farklı monosiklik iskelet meydana gelmektedir.

1. Farnesan asiklik yapıdadır.
2. Bisabolan monosiklik yapıda olup endosiklik bir bağ ile bergamotan, α - ve β - santalan'ı verir. Aynı iskeletten γ -bisabolen meydana gelir, bu madde birçok seskiterpen sisteminin prekürsörüdür. γ -Bisabolen'den kuparan, kamigran, sedran ve tuyopsan iskeletleride meydana gelmektedir.
3. FPP'tan bisiklik kadinan, murolan ve benzeri iskeletler meydana gelmektedir.
4. FPP'tan meydana gelen farklı bisiklik yapılar karyofillan, himakalan, longibornan ve longifolan'dır.
5. Monosiklik yapıdaki germakran iskeletinde ödesman, eleman, eremofilan, guayan ve psödoguayan iskeletleri oluşmaktadır.
6. Monosiklik yapıdaki humulan iskeleti bir taraftan karyofillan diğer taraftan trisiklik birçok seskiterpen meydana gelmesinde rol oynamaktadır.

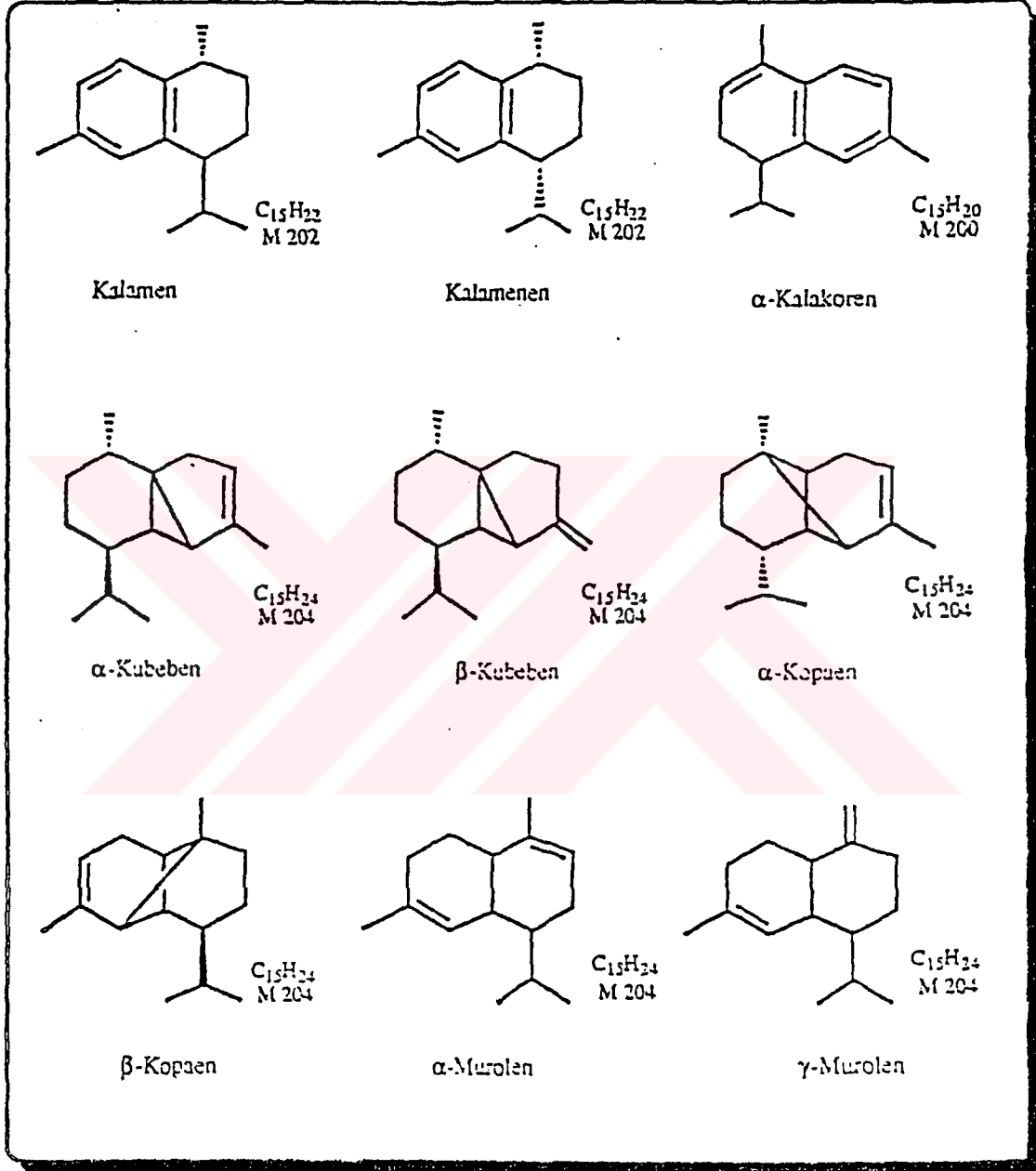
Seskiterpenler yukarıda verilen sınıflamaya göre (Şekil 14)' de sıralanmıştır :



Seskiterpenlerin Biyosentezi
Şekil 14



Şekil 15

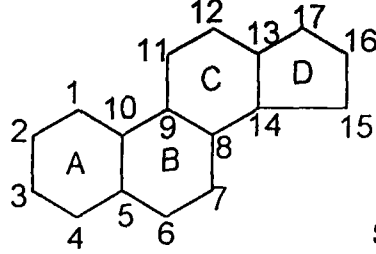


Şekil 16

Himakalan ve Longifolan türevleri

I-3-1-4- Steroidler

Steroidler siklopentanoperhidrofenantren iskeletine sahip bileşiklerdir.



Şekil 17

Cinsiyet hormonları, adrenal korteks hormonları, kalp glikozitleri, mide ve safra asitleri ile kolesterolün, hatta bazı vitaminlerin yapısını oluşturarak hayati fonksiyonlar üzerinde etkili olan bileşiklerdir.

Triterpenlerle yakın biyogenetik benzerliğe sahiptirler, bitkisel steroller C_3 'de bir hidroksil grubuna, C_5 'de genellikle bir çifte bağa ve C_{17} 'de yan zincire sahiptirler. Çifte bağ C_7 veya daha az olmak üzere diğer karbonlarda da olabilir. Steroidlerde en çok rastlanan sterokimyasal değişiklikler, C_3 hidroksil grubunun konumu ile A ve B halkalarının birleşme şeklidir. C_3 -OH grubu halkadaki metil grupları ile dik açı yaparsa A ile B halkaları cis şeklinde birleşmişlerdir, hidroksil β konumundadır. Hidroksil grubu metil gruplarına paralel ise A ile B trans yapıda olup C_3 -OH grubu α konumundadır. Yan zincirin konfigürasyonu ise steroidlerde genellikle β şeklinde olup B ile C ve C ile D halkaları genellikle trans konumunda birleşirler (43).

Steroidlerin yapılarının saptanmasında spektroskopik yöntemlerden yararlanılır. UV spektrumu steroidler için fazla bilgi vermez, 3-OH dan ötürü 200 nm 'nin altında bir maksimum verirler. Çifte bağlar genellikle izole durumda olduğundan 200-210 nm civarında kuvvetli bir uç absorpsiyon verirler (44).

IR spektrumunda fonksiyonel grupları saptanır, parmak izi bölgesi ise steroidler için karakteristik ve hayli karışıktır. NMR spektrumunda metil bantları 0.5-1.5 ppm arasında, metilen bantları 1.5-2.5 ppm arasında çıkar. Steroidlerde metilen pikleri çok karmaşık ve yaygındırlar, bu nedenle metilen bandı yerine metilen zarfı ile ayırdedilirler. Hidroksile ve ester gruplarına komşu protonlar 3.5-4.5 ppm de, vinilik protonlar 5.0-6.0 ppm arasında gözlenir.

Kütle spektrumunda başlıca M^+ , $(M-CH_3)^+$, hidroksil grubu taşıyorsa $(M-H_2O)^+$, $(M$ -yan zincir) $^+$, yan zinciri doymamış steroller için $(M$ -yan zincir +2H) $^+$, ayrıca steroidin taşıdığı çifte bağın konumuna göre özel bölünmeler gösterir (45).

I-3-1-5- Triterpenler

Triterpenler altı izopren biriminden oluşmuş otuz karbonlu iskelete sahip yapılardır, bitkilerde serbest veya bağlı olarak bulunurlar (16). Serbest triterpenler, asid, alkol, aldehit, keton, epoksit ve lakton fonksiyonel gruplarından birini veya birkaçını birarada taşıyabilirler veya tarakseren'de olduğu gibi hiçbir süstitüent taşımazlar, bunlara triterpenik hidrokarbonlar denir.

Triterpenler taşıdıkları halka sayısına göre başlıca, trisiklik, tetrasiklik ve pentasiklik olmak üzere üç gruba ayrılabilirler. Bileşiğin kapalı formülünde karbon sayısının 30 olarak bulunması bileşiğin bir triterpen olabileceğini belirtir.

Triterpenlerin benzer yapıda olanlarının birbirlerinden ayrılmaları sütun ve ince tabaka yöntemleriyle zor olur. Böyle benzer triterpenler gaz kromatografisinde daha iyi ayrılabilir. Gaz kromatografisi ancak uçucu bileşiklere uygulanabildiğinden önce bileşiğin uçucu bir türevi, örneğin metil esteri, asetili vb. haline getirilmesi gerekir. Veya HPLC, VLC ya da kromatografi vasıtasıyla yakın Rf değerli triterpenlerin ayrılmasına çalışılmaktadır.

Triterpenlerin çoğu konjuge çift bağlar ve oksokrom gruplar taşımadığı için UV spekturumu tanınmalarında yararlı olmaz. İskeletleri aynı olan triterpenlerin spektrumları birbirine çok benzer. Genellikle triterpenlerdeki izole çift bağlar 200-220 nm'de uç absorpsiyonu yaparlar.

Yapıdaki fonksiyonel gruplar hakkında ilk bilgiyi vermesi bakımından IR spekturumu önemlidir. Ancak bileşiğin yapısı hakkında başka bilgi vermez. Genellikle triterpenler benzer iskelet yapısına sahip oldukları için IR spektrumlarında pek farklılıklar gözlenmez. 3350 - 3550 cm^{-1} arasında serbest ya da hidrojen bağı yapan hidroksil grupları, 1685-1700 cm^{-1} de asit karbonilleri, 1710-1740 cm^{-1} ve 1240-1270 cm^{-1} de ester grupları ve 1640-1650 cm^{-1} de çift bağlar izlenir.

NMR spektrumu triterpenlerin yapı tayininde çok önemli bir rol oynar. Metilen zarfının durumuna ve metil piklerine bakılarak yapının iskeleti anlaşılabilir. NMR spektrumlarında metil grubu kaymaları incelenmiş, çeşitli ödevli grupların bu kaymalara yaptıkları etkiler araştırılmıştır. İskelet metilenlerinin spektrumdaki yerleri ve bölünme durumları triterpenin iskeleti hakkında fikir verir. İskelet üzerindeki metil gruplarının yakınlarında karbonil, hidroksil gibi oksijen taşıyan fonksiyonel gruplar varsa değişik çözücüler kullanılarak alınan NMR spektrumlarında gözlenen kaymalarla yapı aydınlatılabilir. Örneğin, bir bileşiğin $CDCl_3$ gibi inert bir çözücünde alınan NMR spektrumu daha sonra d_5 -piridin, d_6 -benzen gibi çözücülerde alınarak metil gruplarındaki karakteristik kaymalar gözlenebilir.

Triterpenlerle yapılan çalışmalarda iskelettteki çifte bağın yerine bağlı olarak vinilik proton piklerinin değişik kimyasal kaymalar gösterdiği bulunmuştur (4.5-6 ppm). Triterpenlerdeki alifatik metil grupları 1H NMR spektrumunda 0.5-1.2 ppm arasında, vinilik metil grupları 1.65-1.70 ppm de, halka dışı metilen protonları 4.5-5.0 ppm arasında ayrı ayrı geniş singletler halinde gözlenirken hidroksile ve ester gruplarına komşu protonlar 3.0-5.0 ppm arasında izlenirler, ayrıca asit veya aldehide ait protonlar da alt alanda izlenebilir. Spin-decoupling yöntemi ile geminal ve visinal etkileşimler gözlenir, bu ilişkiler ayrıca 1H - 1H COSY yöntemi ile de gözlenebilir.

^{13}C NMR Spektrumunda sp^3 hibritlerine sahip ve hiçbir sübstitüent taşımayan karbonlar 0.00-50 ppm, vinilik karbonlar (sp^2 hibritlerine sahip C'lar) 100-160 ppm, asetilenik C'lar (sp hibritlerine sahip C'lar) 50-80 ppm 'de bulunurlar. Hetero atomlara komşu C'lar 60-80 ppm arasında , karbonil grubu C'ları 160-210 ppm arasında gözlenir.

"Off-resonance decoupling" yöntemi ile alınan bir spektrumda metil gruplarına ait karbonlar kuartet , metilen karbonları triplet, metin karbonları dublet, kuarterner karbonlar ise singlet şeklinde görülür, fakat çok sayıda karbon içeren yapılarda bu pikler üstüste düşerek iyi gözlenemeyebilir (18).

^{13}C - 1H etkileşimi spektrumun yorumlanmasını güçleştirebileceği için 1H çekirdeğinin ^{13}C çekirdeği üzerindeki etkisinin kaldırılmasını sağlayan (proton-noise,decoupling) yöntemler ile spektrum basitleştirilir, böylece molekülde sadece karbon atomlarına ait pikler singletler şeklinde gözlenir (17).

Son yıllarda APT veya DEPT teknikleriyle karbon tiplerinin kolayca belirlenebilmesi mümkün olmaktadır. Ayrıca HETCOR ^1H - ^{13}C hetero korelasyon tekniğiyle hangi protonun hangi karbona bağlı olduğu izlenir, yani direkt proton-karbon ilişkisi gözlenir, hiç proton taşımayan (katerner) karbonlar bu teknikte korelasyon vermeyerek belirlenir.

Ayrıca indirekt, yani 2 veya 3 bağ uzaklıktaki proton-karbon arasındaki ilişkileri izlemek için COLOC tekniğine başvurulur. İnvers fazdaki HETCOR ve COLOC yöntemleri sırasıyla HMQC ve HMBC olarak adlandırılır ve çok az miktardaki maddelerin ^1H - ^{13}C korelasyonlarının izlenmesine olanak sağlar. SINEPT ve FLOCK ise yine bir protona 2-3 bağ uzaklıktaki karbonu izlemek için başvuru yöntemlerdir, ve özellikle katerner karbonları tespit için kullanılırlar.

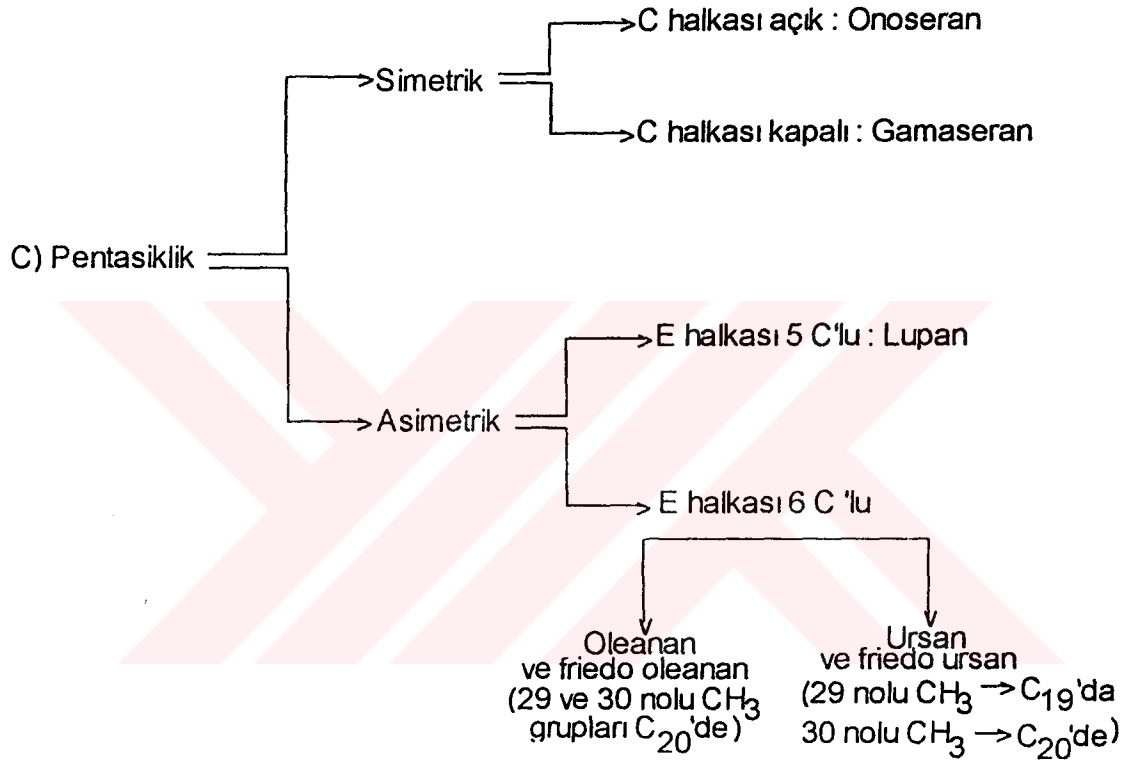
Elementel analizle bulunmuş olan kapalı formül, kütle spektrumu yardımıyla doğrulanarak molekül ağırlığı bulunmuş olur. İskelet üzerindeki çifte bağın yeri değişik parçalanmalara neden olur, böylece çifte bağın yerini saptamak mümkün olabilir (19). Ayrıca bileşikte asit, alkol, hidroksil gibi çeşitli gruplara ve özgün iskelet yapısına göre değişik parçalanmalar olmaktadır. Bu parçalanmalara göre bileşiğin yapısı hakkında fikir edinilebilir.

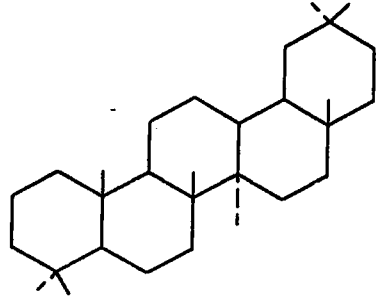
I.3.1.5.1. Triterpenlerin Sınıflandırılması

Triterpenler taşıdıkları halka sayısına göre başlıca trisiklik, tetrasiklik ve pentasiklik olmak üzere üç gruba ayrılabilirler.

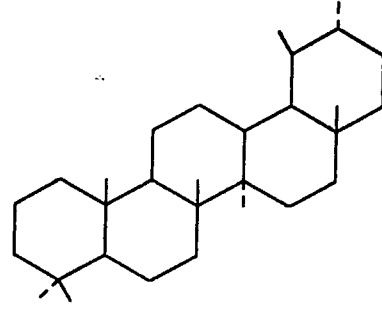
a) Trisiklik : Ambran

b) Tetrasiklik : Lanostan

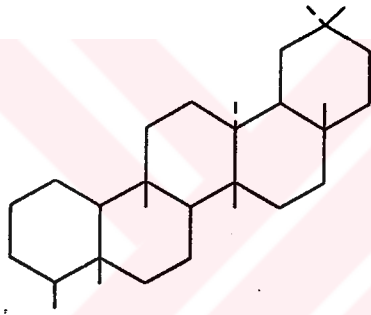




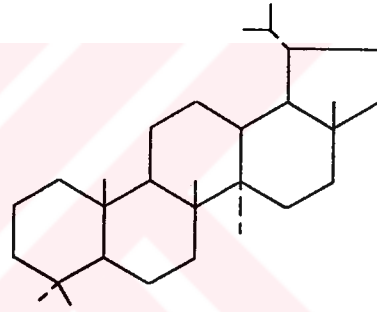
Olean



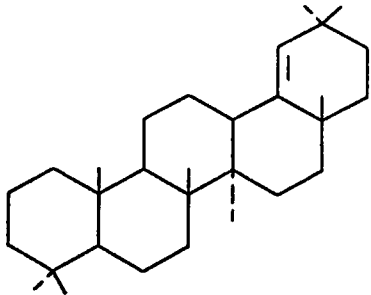
Ursan



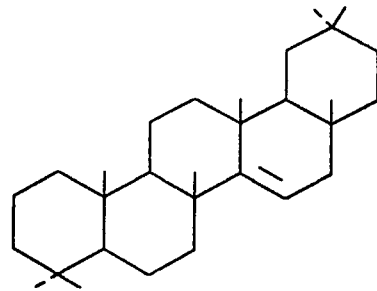
Friedelan



Lupan

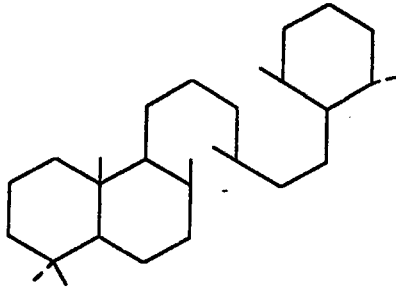


Germenikan

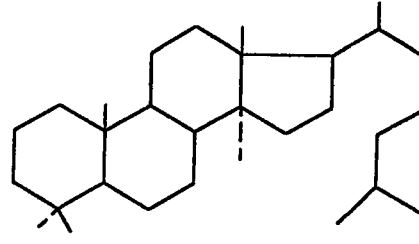


Tarakseran

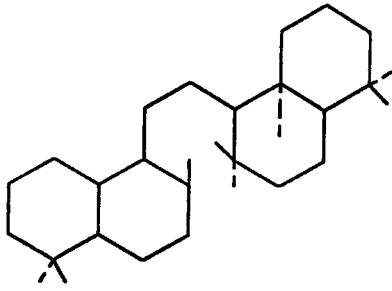
Şekil 18



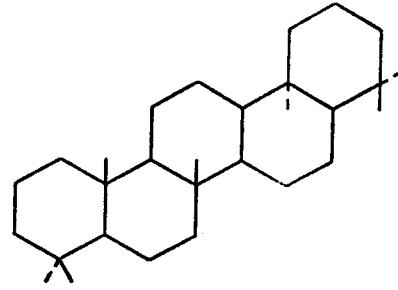
Ambran



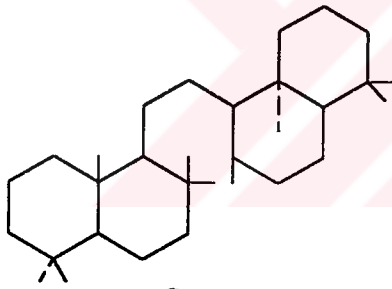
Lanostan



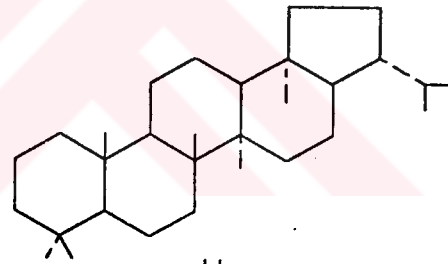
Onoseran



Gamaseran



Serratan

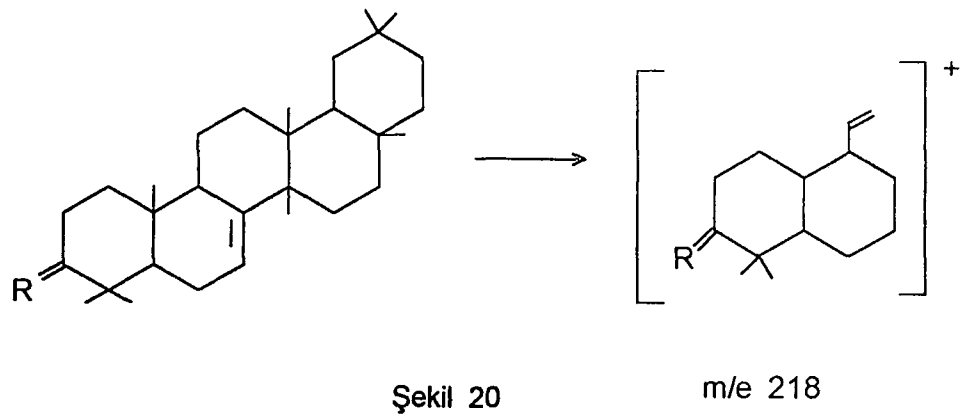
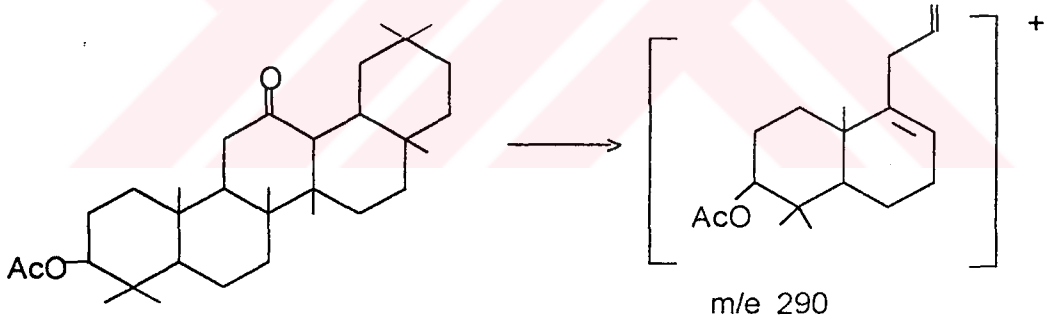
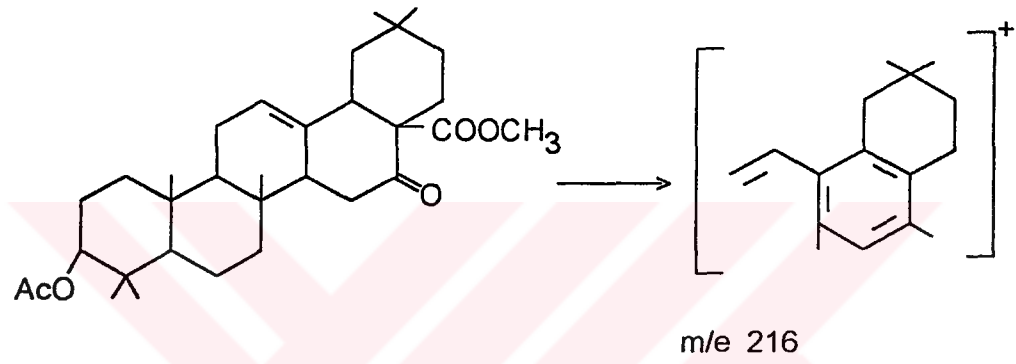
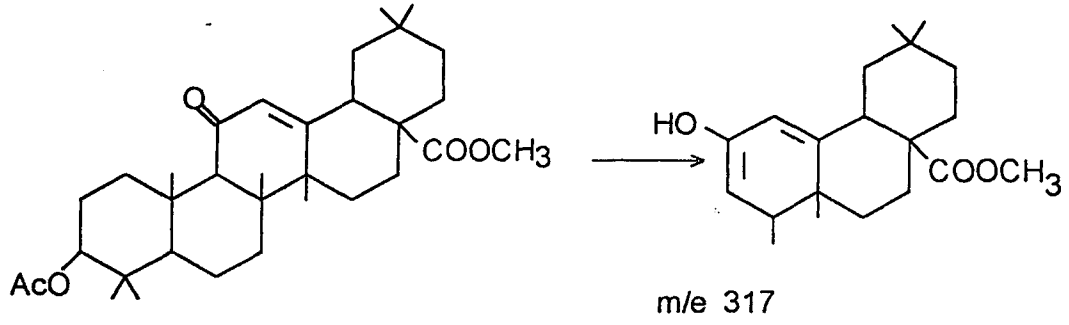


Hopan

Şekil 19

Bileşikte asit, alkol, hidroksil gibi çeşitli gruplara ve özgün iskelet yapısına göre değişik parçalanmalar olmaktadır. Bu parçalanmalara göre bileşiğin yapısı hakkında fikir edinilir.

Bazı triterpenlere ait parçalanmalar :



Şekil 20

1.3.2. UÇUCU YAĞLAR

Uçucu yağlar, bitkilerden yada bitkisel droglardan, su veya subuharı distilasyonu ile elde edilen, oda sıcaklığında sıvı halde olan fakat bazen donabilen uçucu, kuvvetli kokulu ve yağimsı karışımlardır. Açıkta bırakıldıklarında oda sıcaklığında bile buharlaşabildiklerinden "uçucu yağ", "eterik yağ", güzel kokulu olduklarından "esans" gibi isimlerle anılırlar. Esans denmesinin bir başka nedeni de parfümeride kullanılmalarıdır.

Yurdumuzda genellikle yerli olarak elde edilenlere yağ (gül yağı, kekik yağı, defne yağı); yurt dışından gelen uçucu yağlara esans (lavanta esansı, limon esansı) denilmesi adet olmuştur. Buna karşılık ithal edildiği halde yağ olarak isimlendirilenler de vardır (tarçın yağı, karanfil yağı).

Uçucu yağlar genellikle sıvı ve taze iken hemen hemen renksizdir. Suda pek az etanol, ekseri organik çözücüler ve yağlarda kolaylıkla çözünürler. Yoğunlukları karanfil ve tarçın uçucu yağları gibi birkaçı hariç, suyunkinden daha küçüktür.

Uçucu yağlar esas itibarı ile terpenik karbürler (alifatik, monosiklik, bisiklik veya seskiterpen) ve bunların oksijenli türevleri (alkol, aldehit, keton vs.)'nin bir karışımından ibarettir. Bu bileşikler yanında organik asitler, alkoller, ketonlar, fenoller vs. gibi maddeler de bulunmaktadır. Uçucu yağların ekserisinde bazı bileşikler diğerlerinden daha fazladır. Mesela nane esansında mentol (% 50 den fazla), kekik esansında timol ve karvakrol (% 20 civarında), ökaliptus esansında sineol (% 70 civarı), tarçın esansında sinnamik aldehit (% 50 den fazla) ana madde olarak bulunmaktadır. (21)

Uçucu yağlar bitkilerde çok yaygın olmakla birlikte bilhassa Coniferae, Rutaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Rosaceae, Labiatae, Umbelliferae ve Compositae familyaları uçucu yağ taşıyan türler bakımından zengindir. Uçucu yağlar bitkilerde genellikle özel salgı organlarında (tüyler, salgı kanalları, salgı cepleri vs.) bulunurlar.

Uçucu yağlar genellikle bir metabolizma artışı olarak kabul edilmektedir. Uçucu yağların yüzey gerilimi ve buharlaşma üzerindeki etkilerini göz önünde tutan araştırmacılar bunların bitkilerde su kaybını önleyici bir rolleri bulunduğunu ileri sürmektedirler.

Kurak ve sıcak bölgelerde yaşayan ekseri bitkilerin uçucu yağ taşımakta olması da bu fikri kuvvetlendirmektedir. Uçucu yağ taşıyan bitkiler daha çok sıcak iklim bölgelerinde yetişmektedir. Tropik ve subtropik bölgelerle ılıman iklim kuşağının sıcak bölgelerinde de kokulu bitkiler bulunmaktadır. Ülkemizide içine alan Akdeniz bölgesi ise, uçucu yağ taşıyan bitkiler açısından en zengin bölgelerden biridir. Bazı familyalar uçucu yağ taşıyan cinsleri nedeniyle önem kazanmışlardır. Lamiaceae familyasında bulunan birçok Akdeniz bölgesi Avrupa bitkisi, Thymus, Lavandula, Menta, Melissa vb. türler, değerli uçucu yağ kaynaklarıdır.

Uçucu yağlar koruyucu ajandılar ve bitkinin yaralanması sonucu meydana gelen reçinelerin çözünmesini sağlarlar, yani çözücüdürler. Uçucu yağların böcekleri kaçırma yada çekme görevleri olduğunu savunanlarda vardır. Böcekleri kaçırıcı etkide olanları bitkinin özellikle yaprak ve çiçeklerinin korunmasına yardımcı olur. Böcekleri çekici etkide olanları ise tozlaşmaya yardımcı olur.

Uçucu yağlar yağ taşıyan bitki kısımlarından genellikle destilasyon yoluyla kazanılır. Uygulanan yöntem bitkinin durumuyla ve çeşitli koşullarla bağıntılıdır. Uçucu yağ bitkide genellikle %1-2 oranında hatta bazen daha az miktarda bulunduğundan, destilasyon işlemleri boyunca fazla hacimde su ve bu suya oranla, çok az miktarda uçucu yağ yoğunlaşacaktır. Uçucu yağların çoğu sudan hafiftir ve suyla karışmadığından suyun üstünde toplanır.

Uçucu yağların kırılma indeksleri yüksektir, yoğunluğu optikçe aktiftir ve spesifik çevirmeleri uçucu yağı tanıtmaya yarayan önemli özelliklerden biridir. Kırılma indeksinde ve polarize ışığı çevirme derecesinde olagelen değişimler, uçucu yağın saflığının bozulduğunu gösterir. Uçucu yağlardan elde edilen bazı maddelerin doğal ya da yapay yolla elde edildiğini, maddenin polarize ışığı çevirmesini saptamak suretiyle anlama olanağı vardır.

Kural olarak uçucu yağlar su ile karışmayan ürünler ise de kokularının suya geçmesine yetecek oranda suda çözünürler. Aromatik sular, uçucu yağların işte bu çok az olan çözünürlüklerine dayanarak hazırlanır. Uçucu yağlar, ışık ve hava karşısında zamanla oksitlenir ve reçineleşirler.

Uçucu yağlarda bulunan çeşitli maddeleri 4 grup altında toplayabiliriz :

- a) Terpenik maddeler
- b) Aromatik maddeler
- c) Düz zincirli hidrokarbonlar
- d) Azot ve kükürt taşıyan bileşikler

Terpenik maddelerden oksijensiz olanlar çoğunlukla kolay uçucudurlar ve uçucu yağ soğutuldukça, oldukça düşük derecelerde bile sıvı halde kalırlar. Oksijenli türevler ise daha az uçucudurlar uçucu yağ soğutulduğu zaman birçoğu çökerek, oksijensiz bileşiklerden az veya çok ayrılabilirler. Uçucu yağın soğutulunca çöken kısmına "stearopten", bu koşullarda sıvı halde kalan kısmına ise "elaopten" adı verilir (20).

1.3.2.1. Lavanta Çiçeğinin Yağı ve Bileşenleri

Taze lavanta çiçekleri uzun zaman depolanmamalı ve su distilasyonu ile distillenmemelidir. Su distilasyonu ester buharlaşmasına neden olduğu için yağdaki ester içeriği azalacaktır (42). Lavantanın farklı çeşitleri için uçucu yağ verimi % 0.5 ile %1.1 arasında değişir. Bulgaristan' da Kazanlık, Karlova, Hemus gibi bazı çeşitler %1.06 - 1.46 uçucu yağ içerirler (14).

Rusya'da 1969-72 yılları arasında Karetnikova ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada lavanta uçucu yağının en önemli bileşenlerinin linalil asetat (%31) ve lavandulil asetat (%14) olduğu saptanırken, Prager ve arkadaşlarının aynı yıl içinde Fransa, Bulgaristan ve Yugoslavya'yı kapsayan çalışmalarında en önemli bileşenlerin linalil asetat (%44.8-32.2) ve linalool (%49-27.6) olduğu görülmüştür (14).

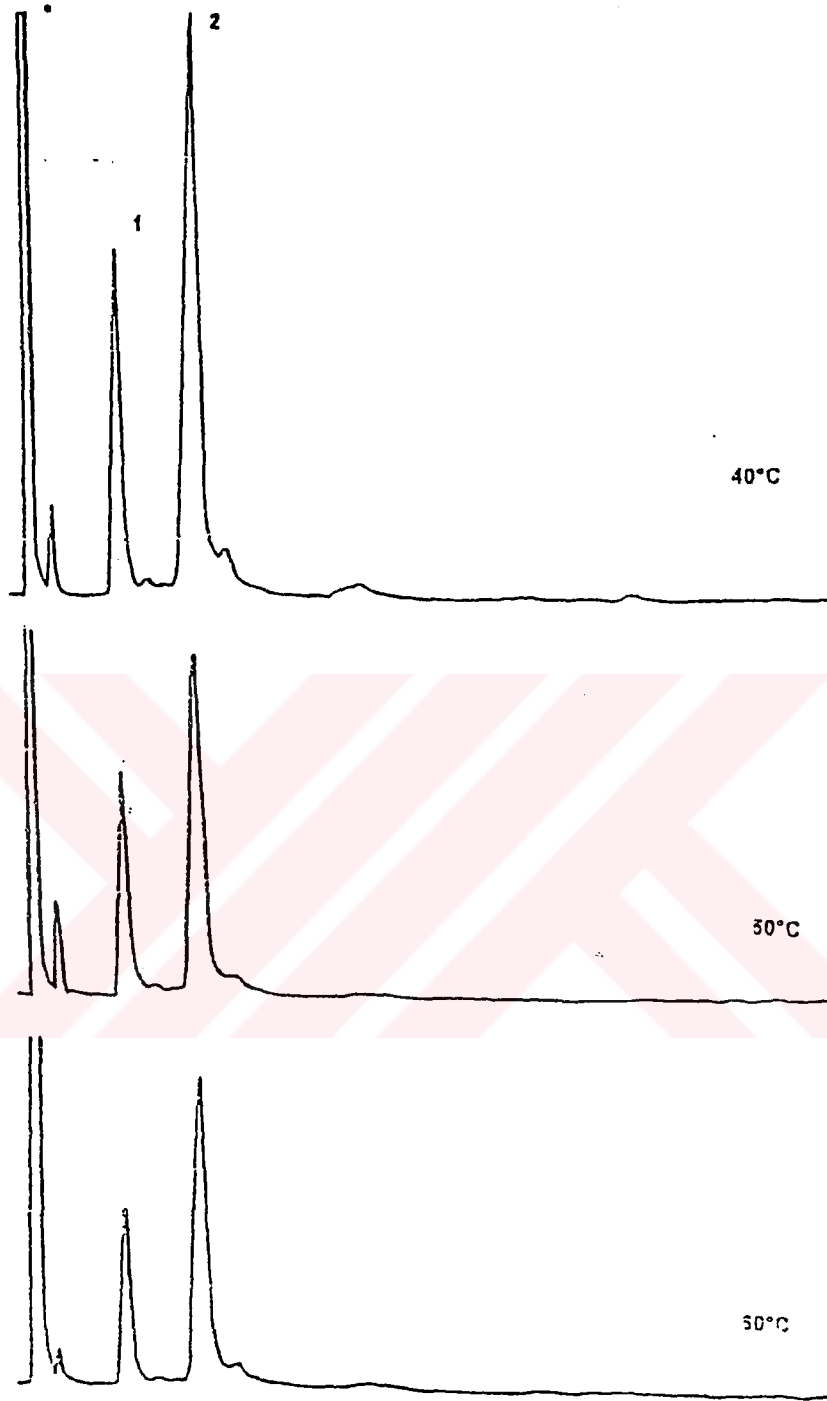
İngiliz lavantası linaloolce zengindir, linalil esterlerince ise fakirdir (Arctander, 1960). Fransız lavantası uçucu yağında ise daha çok linalool (%42-20) ve linalil asetat (%58-36) mevcuttur (21).

I.3.2.2. Uçucu Yağın Kalitesini Etkileyen Faktörler

Uçucu yağ verebilen bitkilerden yüksek kalitede yağ eldesi, bitkinin yetiştiği yere, bu yerin yüksekliğine, toprağın özelliklerine, iklim şartlarına, çiçek açma mevsimine, günün uygun toplama saatlerine, hasat metoduna, kurulama, depolama ve taşıma gibi şartlara bağlıdır.

Lavantalarda genellikle hasat, çiçeklerin %50' sinin açtığı dönemde başlar, %75-90' ının açtığı zamanlarda devam eder ve çiçek açma durduğu zaman ise biter. Hasat, kuru, ılık ve güneşli günlerde yapılmalıdır. Çok soğuk havalar esterlerin gelişmesini önler, yağmur ise hasata zarar verir. Kurutma işlemi ise ince tabakalar halinde serilerek, gölgede, hava akımının bulunduğu ve sıcaklığın 35°C 'yi geçmediği yerlerde yapılmalıdır (22).





Lavanta yapraklarının esansiyel yağına ait kromatogramlar
(*- alkol, 1- fenkon, 2- kafur) (24)

Şekil 21

1.3.2.2. Basınç ve Sıcaklığın Uçucu Yağ Verimi Üzerindeki Etkileri

Uçucu yağ verimi üzerinde basınç ve sıcaklığın etkilerini görmek amacıyla yapılan denemelerde, partikül büyüklüğü -2000+1000 μm , kloroform ile ekstraksiyon süresi 3 saat, debi 18 L/h olarak alınırken, basınç 80-100 bar, sıcaklık 40 -60°C değerleri arasında değişmiştir. Bu sonuçlara göre uçucu yağ verimi sabit basınçla sıcaklık arttıkça azalmaktadır. Uçucu yağ verimi üzerine basınç ve sıcaklığın etkisi subuharı destilasyon verimine kıyasla aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (22).

<u>Basınç P (bar)</u>	<u>Sıcaklık T (°C)</u>	<u>Göreceli uçucu yağ verimi (%)</u>
80	40	61.29
80	50	40.73
80	60	35.06
90	40	64.51
90	50	45.16
90	60	38.70
100	40	68.08
100	50	46.97
100	60	41.56
110	40	82.60
110	50	69.89
110	60	64.51

* su buharı destilasyonu kıyaslamalı.

Tablo 2

Ekstraksiyon süresinin ve CO₂ debisinin göreceli uçucu yağ verimi üzerindeki etkileri ise aşağıdaki tabloda verilmiştir.

<u>Ekstraksiyon süresi (saat)</u>	<u>Göreceli uçucu yağ 9 L/h 'lik debide</u>	<u>Yağ verimi (%) 18 L/h 'lik debide</u>
1	71.86	73.91
2	71.99	74.38
3	73.07	82.60
4	76.30	82.76
5	77.38	83.76

* su buharı destilasyonu kıyaslamalı.

Tablo 3

1.3.3. SÜPERKRİTİK AKIŞKAN EKSTRAKSİYONU

Ekstraksiyon, sıvı veya katı karışımlardan veya materyallerden belli bir bileşiği organik çözücüler yardımıyla ayırma işlemidir. Madde karışımlarından istenen maddelerin her zaman saf olarak ekstrakte edilememesi, istenmeyen bazı diğer maddelerle birlikte ekstraksiyonu bu yöntemin seçimli bir yöntem olmasını engellemektedir. Son yıllarda araştırma ve geliştirme aşamasını tamamlayarak sanayide kullanılmaya başlanan yüksek basınç altında süperkritik akışkanlarla ekstraksiyon yöntemi önem kazanmaya başlamıştır.

1.3.3.1. Süperkritik Akışkanlar

Kritik sıcaklık ve basınçlarının üzerinde süperkritik özellik kazanan akışkanlar, yoğunluk ve çözme gücü bakımından bir sıvı gibi, taşınım özellikleri (difüzyon katsayısı ve viskozite) ve sıkıştırılabilirlik bakımından bir gaz gibi davranırlar. Basınç ve sıcaklığın değiştirilebilmesi ile fizikokimyasal özellikleri gaz sıvı arasında sürekli değişen ama kimyasal yapısı etkilanmeyen süperkritik akışkanlar, ayırma ve fraksiyonlama işlemlerinde diğer çözücülerin üzerinde özelliklere sahip olurlar (23).

Sahip olduğu oldukça yüksek değerdeki yoğunluk, akışkana iyi çözme gücü sağlarken, oldukça düşük viskozite ve yüksek diffüzyon değerleri ekstraksiyon yapılacak katı içine daha iyi nüfuz edebilme gücünü göstermektedir. Bu özellikler katı maddenin kütle transferi ile akışkan içine, sıvıya göre daha iyi alınabilmesini sağlamaktadır.

Süperkritik akışkan ekstraksiyon yönteminde CO₂, etan, metan, propan, su, etilen, aseton, toluen gibi pek çok çözücü rahatlıkla kullanılabilir. Bunlar içinde amaca en uygun ve uygulamada en çok denenmiş olanı CO₂'dir. Süperkritik CO₂, polar özellikler göstermediği için su, şeker, protein, inorganik tuzlar, nişasta, meyve asitleri, polisakkarit, aminoasit gibi maddeleri çözmemesine rağmen gıda endüstrisinde en çok kullanılan çözücüdür (24,25,26,27,28,29).

Çözücü olarak CO₂ kullanılmasının başlıca nedenleri şunlardır;

- a) Birçok organik madde için iyi bir çözgen,
- b) Suda çözünürlüğü düşük,
- c) Organik ekstraktlara göre yüksek bağıl uçuculuğa sahip,
- d) Viskozitesi düşük ve difüzyon katsayısı yüksek,
- e) Buharlaşma ısısı düşük,
- f) Toksik değildir ve yanmaz,
- g) Fiyatı düşük ve kolay elde edilebilir.

Bazı süperkritik çözücülerin kritik özellikleri ;

ÇÖZÜCÜ	KRİTİK SICAKLIK (°C)	KRİTİK BASINÇ (bar)	KRİTİK YOĞUNLUK (g/cm ³)
Metan	-83	45.4	0.16
Etilen	9	49.7	0.22
CO ₂	31	72.8	0.47
Etan	32	48.2	0.20
Azotoksit	36	71.5	0.45
Propan	97	41.9	0.22
Amonyak	132	111.3	0.24
n-Hekzan	234	29.3	0.23
Etanol	243	63.0	0.28
Toluen	318	40.6	0.29
Su	374	217.7	0.32

Tablo 4

Süperkritik akışkan olarak CO₂'nin dikkat çekmeye başladığı sıralarda Dr.Thomas Andrews, CO₂'nin süperkritik özelliklerini 30.92°C ve 73.0 atm olarak belirlemiştir. Bugün geçerli olan değerler ise 31.1°C ve 72.8 atm'dir (28).

CO₂ 'nin özellikleri (26);

ÖZELLİKLER	SIVI	SÜPERKRİTİK	GAZ
Yoğunluk (g/cm ³)	1.0	0.2-0.7	0.001
Viskozite (cP)	0.5-1.0	0.05-0.1	0.01
Difüzyon Katsayısı (cm ² /s)	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴ -10 ⁻³	0.1

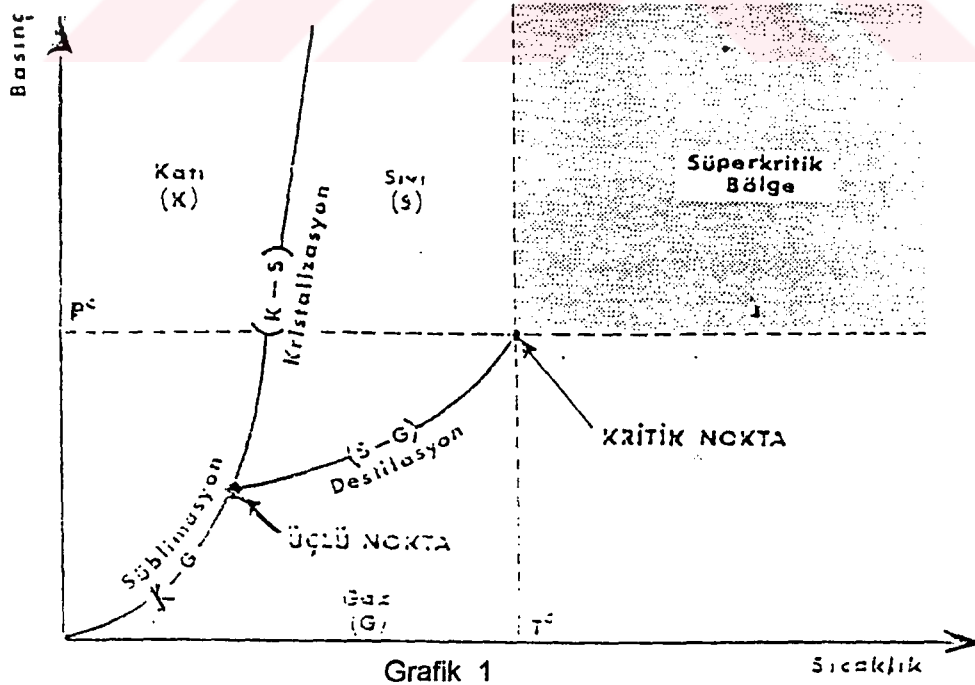
Tablo 5



1.3.3.2. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Yöntemi

Gazlar yüksek basınç altında sıvı veya süperkritik evre bölgesinde çözügen özellik kazanır. Bu özellik, basınç ve sıcaklık değişimleriyle istenildiği gibi yönlendirilebilmektedir. Böylece sıkıştırılmış gazlar çeşitli yöntemlerle birçok maddelerin taşıyıcı materyallerden fraksiyonlarına ayrılmasında veya madde karışımlarının rafinasyonunda kullanılabilir (30).

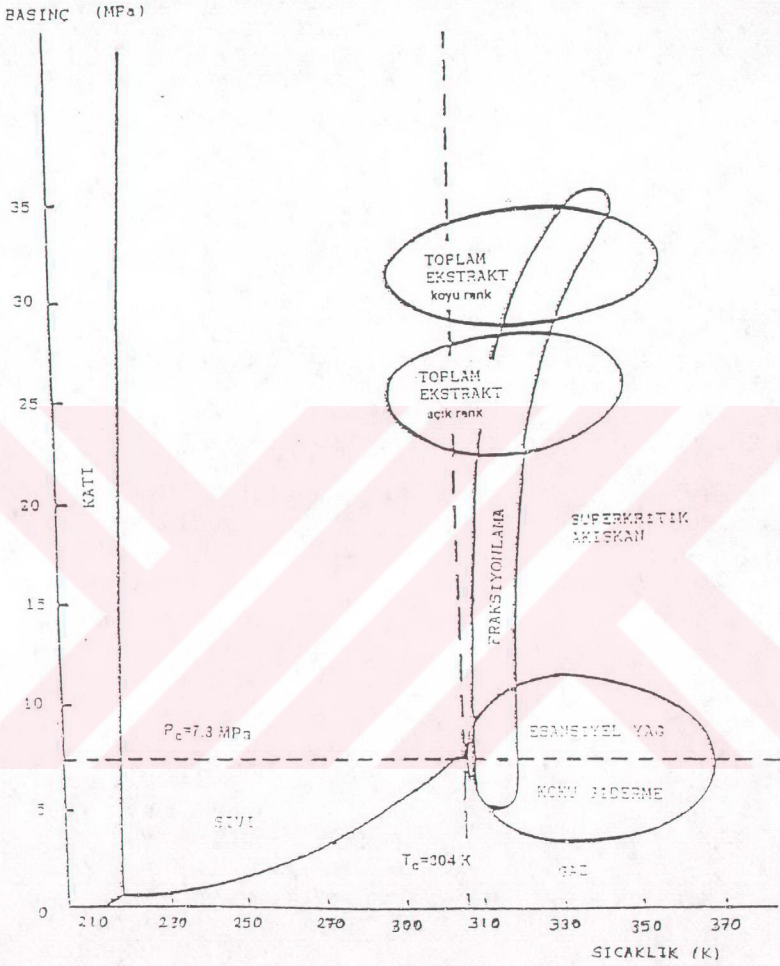
Süperkritik akışkan ekstraksiyonu klasik çözücülerle yapılan ekstraksiyona veya destilasyon teknolojisine göre maddeleri daha iyi ekstrakte edebilme yeteneğine sahiptir. Oldukça yeni olan bu ayırma tekniği madde içinden alınmak istenen bir maddeyi ekstrakte etmek için kritik noktaları üzerinde süperkritik özellik kazanan akışkanları kullanır. Nispeten uçucu olmayan maddeler süperkritik akışkanlar ile çözülebilirler. Süperkritik akışkanın yüksek kaynama noktasına sahip maddeleri çözüp sistemden alabilme özelliğini arttırmak için yoğunluk artırılabilir veya sabit yoğunlukta sıcaklık artırılabilir. Süperkritik ekstraksiyon, 0-100°C arasında değişen sıcaklıklarda (kullanılan gazın kinetik sıcaklığında) ve 50-300 atm.lik basınç değerlerinde gerçekleştirilir. Aşağıdaki şekilde saf bir sıvı için basınç-sıcaklık evre diyagramı gösterilmiştir. Şekilde ayrıca sıvı, katı ve gaz evreleri belirtilmektedir.



Saf bir çözücü için basınç-sıcaklık evre diyagramı

- 58- Codina, G., and Aldoz, A., *Electrochemica Acta* 36,7, 1129-1133 (1991)
- 59- J.M. Saveant and Vianello E. *Electrochemica Acta* 8, 905-923 (1963)
- 60- Saveant, J.M. and Vianello E. *Electrochemica Acta* 12, 629-646 (1967)
- 61- Mobbott, G.A., *J. Chemical Education* 60,9, 697-701 (1983)
- 62- Kissinger, P.T. And Heinemew, W.R. *J. Chemical Education* 60, 9, 702-7066 (1983)
- 63- Rieger, P. "Electrochemistry" Pretice-Hall Inc., London, (1987)
- 64- Bard, A.J And Faulkner R.F "Electrochemical Methods" John Willey & Sons, New York, (1980)
- 65- Galus,Z., " Fundamentals Of Electrochemical Analysis ", E.Harwood, Ltd., Chichester, Pp.255-395 (1976)
- 66- Armstrong, R.D Fleischmann, M. Thirsk, H.R. *Electroanalitical Chem.*, 11,208 (1966)
- 67- Bewinck, A.; Fleischmann, M. *Electrochem. Acta*, 8,89. (1963)
- 68- Martin, E., Hanke, Martha Johnsson, *Science* ,Vol : 78, No : 2027 414-415 (1933)
- 69- Bulut, M., And Erk, Ç., *Synthetic Communications*, 22 (9), 1259-1263 (1992)
- 70- Menek,N., " Bazı Azo Boyar Maddelerin Polarografik ve Voltametrik Davranışlarının İncelenmesi" Doktora Tezi, Samsun (1994).
- 71- Pletcher,D. "Advanced Instrumental Methods İn Electrode Kinetics " The University Of Southampton, Southampton (1975)
- 72- Hernandez,L., Zapardiel, A., Perez Lopez, J.A., And Bermeja E. *Talanta*. Vol 75, No:4 pp.287-292
- 73- Conway,E.B., Bockris, J.OM., Veager,E., Khan, S.U.M;White E.R., " Comprehensive Treatise of Electrochemistry. 7 Kinetics And Mechanisms of Electrode Processes ". Plenum Press, New York (1983).

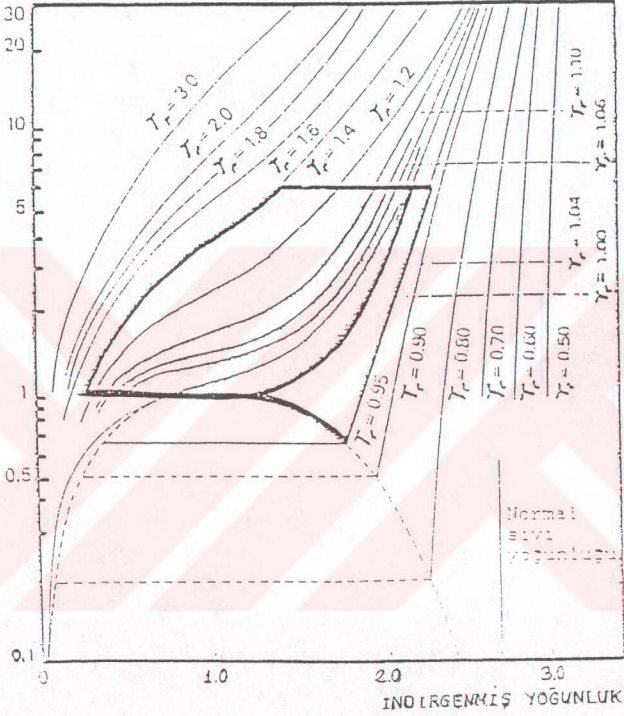
11.06.2015
OKUL KUTUPHANESİ
OKUL KUTUPHANESİ



Süperkritik CO_2 ' nin çözme gücüne göre kullanım alanları (24)

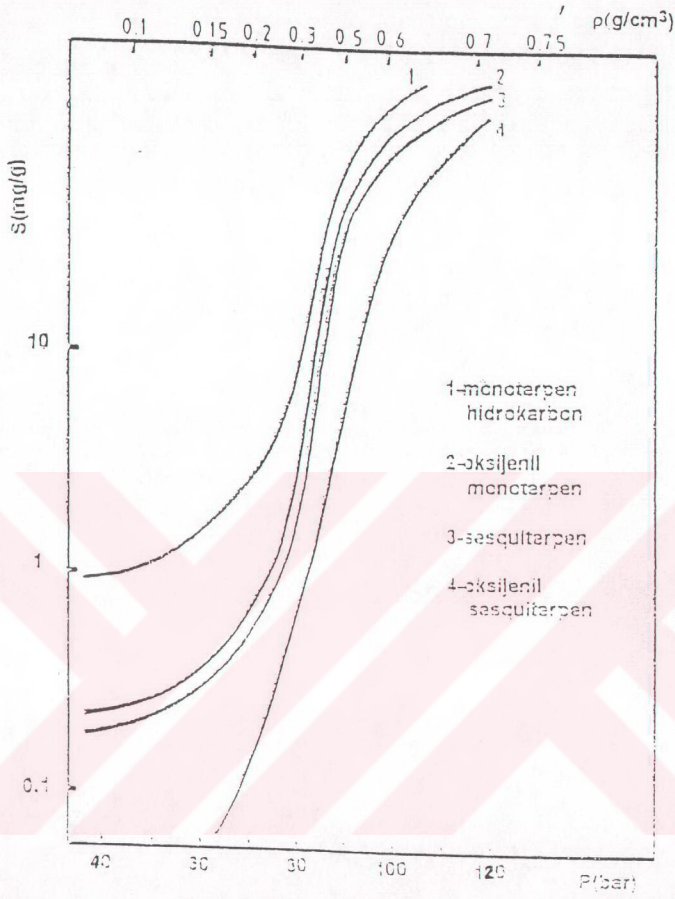
Grafik 2

İNDİRGENMİŞ BASINÇ



CO₂'nin kritik bölge yakınındaki basınç ve sıcaklık değişimleri (26)

Grafik 3



Süperkritik CO_2 'de (40°C) bazı esansiyel yağ bileşenlerinin çözünürlük izotermi (30)

Grafik 4

1.3.3.3. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Yönteminin Avantajları

- a)Yüksek buharlaşma sıcaklığına sahip komponentleri düşük sıcaklıklarda uçucu hale getirmek olası olmaktadır.
- b)Madde karışım komponentleri herhangi bir zararlanma olmadan ekstrakte edilebilmektedir.
- c)İsya duyarlı içerik maddeleri herhangi bir zararlanma olmadan ekstrakte edilebilmektedir.
- d)Destilasyon veya diğer ekstraksiyon yöntemleriyle ayrılmayan komponentlerin süperkritik akışkanlarla ekstraksiyon yöntemi ile kolayca ekstrakte edilmektedir.
- e)Çözgen maddeden tamamen arındırılmış ekstrakt eldesi mümkün olmakta, ayrıca CO₂ gibi toksik olmayan bir madde kullanılmaktadır.
- f)CO₂ gibi süperkritik akışkanlar ucuz gazlardır.
- g)Çok yüksek selektif (seçici) bir ekstraksiyondur.
- h)Sıcaklık ve basınç ayarı ile ekstraksiyon maddesine çözgenlik sınırlarında büyük bir elastikiyet sağlanmaktadır.
- i)Çözgen maddenin tekrar kullanımı ve böylece çözgen tasarrufu söz konusudur.
- j)Ekstraksiyon tamamen oksijensiz bir ortamda gerçekleştiğinden bir dizi olumsuz reaksiyonların önüne geçilmiş olmaktadır.
- j)Çok basit olarak fraksiyonlara ayırma sözkonusudur.
- k)Çevre kirlenmesine neden olmaz (31,32).

1.3.3.4. Kritik Bölge Yakınlarındaki Deneysel Hataların Nedenleri

Deney sırasında basınç ve sıcaklıktaki oynamalar, ortamda safsızlığın bulunması, genleşme katsayısının sapması, akışkanın sıkıştırılabilirliği gibi nedenler, süperkritik akışkan yoğunluğunun hatalı ölçülmesine neden olabilir. Bu nedenle, en iyi hal denklemi bile kritik noktaya yaklaşıldığı zaman yoğunluk ile ilgili bir düzeltme teriminin ilavesine ihtiyaç duyar (33).

Süperkritik akışkan ekstraksiyonunda basınçtaki oynamalardan meydana gelen zorlanmış konveksiyon, dikkatli bir deneysel tasarım ile giderilebilir, fakat yoğunluk farkının meydana getireceği doğal konveksiyonu gidermek neredeyse imkansızdır. Aslında, doğal konveksiyon, doğal maddelerin ekstraksiyonunu kolaylıkla etkilemez fakat çözünürlüğün yoğunluk ile üstel olarak değişmesi, fraksiyonlama yapıldığı zaman genel anlamda sonucu etkileyecektir (34,35,36).

I.3.3.5. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu Yönteminin Uygulama Alanları

Son yıllarda ayrıntılı araştırma konusu yapılan süperkritik akışkanlarla ekstraksiyon yönteminin birçok alanda kullanım potansiyeli görülmektedir (24,31,38,39,40,41).

Bu kullanım alanlarından bir kısmı şu şekilde sıralanabilir;

Gıda Sanayinde; Yağlı tohumlardan yağın ekstraksiyonu, çay ve kahveden kafeinin giderilmesi, tütünden nikotin uzaklaştırılması, baharat ekstraktlarının hazırlanması, patates cipsinden yağın uzaklaştırılması.

Eczacılıkta; Yüksek molekül ağırlıklı uyuşturucu maddelerin ayrılması, bitkisel maddelerin aktif bileşenlerinin ekstraksiyonu, biyoteknoloji ile üretilmiş çok bileşenli karışımların ayrılması.

Kozmetik ve Parfüm Sanayinde; Doğal maddelerden uçucu yağların ekstraksiyonu, hayvansal ve bitkisel yağların ayrılması, aroma maddelerinin ve esansların hazırlanması, esansiyel yağların koku ve tat verici bileşenlerinin ekstraksiyonu.

Hidrokarbon Prosesinde; Kömürden gazlaştırılabilir maddelerin ve yağların ekstraksiyonu, yağlardan asfaltitin uzaklaştırılması, kömür sıvılaştırma, jeolojik dönüşümlerden gaz uzaklaştırma ve yağa ulaşma, katrandan yağ tabakasının ekstraksiyonu.

Kirlilik Kontrolü; Proses buharlarından toksinlerin ayrılması, sulu çözeltilerden organik atıkların uzaklaştırılması .

Kimyasal Uygulamalarda ve Safılaştırmada; Isıl bozunmaya uğramadan ısıya karşı hassas bileşiklerin ayrılması, düşük buhar basınçlı yağların ayrılması ve temizlenmesi, monomer ve polimerlerin ayrılması, katalizör rejenerasyonu, organometalik bileşiklerin saflaştırılması, polar bileşiklerden apolar bileşiklerin ayrılması, aromatik ve parafinik hidrokarbonların ayrılması.

II. DENEYSEL BÖLÜM

II.A. Araştırma Materyali

II.A.1. Bitkisel Materyal

27/Nisan/1996 tarihinde Bodrum-Gümbet bölgesinden toplandı ve Ankara Üniversitesi herbaryumunda teşhis edildi. Bu bitki ile uçucu yağların incelenmesi amaçlandı.

II.A.2. Kimyasal Materyal

Kimyasal materyal olarak CO₂ ve kloroform kullanıldı.

II.B. Araştırmada Kullanılan Cihazlar

Süperkritik akışkan ekstraksiyon cihazı ve destilasyon cihazı uçucu yağ eldesi için, GC-MS cihazı ise uçucu yağdaki bileşeklerin tayini için kullanıldı.

II.C. *L. stoechas* ssp. *stoechas* Bitkisinin Toprak Üstü Kısımlarının Uçucu Yağlarının Araştırılması

Bitkinin topraküstü kısımlarının uçucu yağları iki ayrı yöntem yardımı ile elde edilerek yapısal araştırmalar yapılmıştır.

II.C.1. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Yönteminin Uygulanması

Bitki gölgede kurutuldu. Toprak üstü kısımları çok ince öğütüldü ve 776.70 gr. olarak tartıldı. Bu miktarla süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemiyle altı ayrı çalışma yapıldı. Bu çalışmalarda sıcaklık sabit (40°C) tutuldu ve basınç her çalışma için değiştirildi. Farklı çalışma koşullarında uçucu yağ elde edilmesi aşağıdaki tabloda gösterilmiştir

Çalışma	1	2	3	4	5	6
Miktar	180 gr.	120 gr.	120 gr.	120 gr.	120 gr.	116.70 gr
Basınç	80 bar	85 bar	120 bar	140 bar	160 bar	160 bar
Ekstraktör sıcaklığı	40°C	40°C	40°C	39.3°C	40°C	40°C
Ayırıcı sıcaklığı	22°C	24°C	25°C	25°C	20°C	21°C
Banyo sıcaklıkları						
Ekstraktör	48°C	48°C	48°C	48°C	48°C	48°C
Ayırıcı	37°C	37°C	37°C	37°C	37°C	37°C
CO ₂ Sic.	40°C	40°C	38°C	38°C	40°C	40°C
Geriye kalan posa miktarı	172.92 gr	118.04 gr	117.49 gr	118.84 gr	118.65 gr	112.70 gr
Destilat miktarı	1.5 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml

II.C.2.Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Sonuçları

Süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağlardan daha düşük basınçla alınan ilk üçü (1+2+3) (Grup 1) ile daha yüksek basınçla alınan son üçü (4+5+6) (Grup 2) iki grup halinde toplanarak GC-MS analizine verildi. GC-MS analizinin incelenmesi neticesinde uçucu yağın ana bileşenleri olarak aşağıdaki maddeler bulunmuştur.

Ökaliptol : (= 1.8 cineol)

(46)

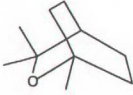
Grup 1

Grup 2

$C_{10}H_{18}O$ Mw:154

Var

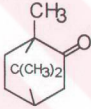
Var



Kamfor: $C_{10}H_{16}O$ Mw=218 (47)

Var

Var



Fenkon: $C_{10}H_{16}O$ Mw:152 (48)

Var

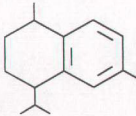
Var



Kalamen: $C_{15}H_{22}$ Mw:202 (50)

Var

Yok



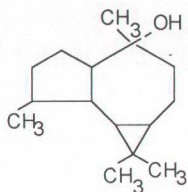
Globulol : $C_{15}H_{26}O$

Mw:222

(56)

Grup 1
Var

Grup 2
Var



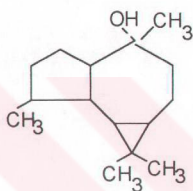
Ledol : $C_{15}H_{26}O$

Mw:222

(56)

Var

Var



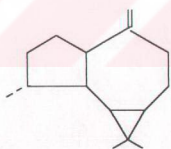
Aromadendren: $C_{15}H_{24}$

Mw:204

(51)

Var

Var



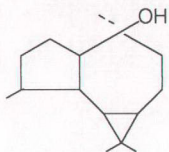
Viridiflorol: $C_{15}H_{26}O$

Mw: 222

(52)

Yok

Var

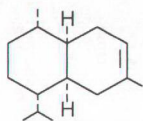


Kopaen: $C_{15}H_{24}$

Mw: 204 (60)

Grup 1
Var

Grup 2
Var

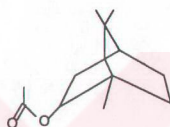


Bornil Asetat: $C_{12}H_{20}O_2$

Mw: 196

Var

Var



Murolen : $C_{15}H_{24}$

Mw: 204 (62)

Var

Yok

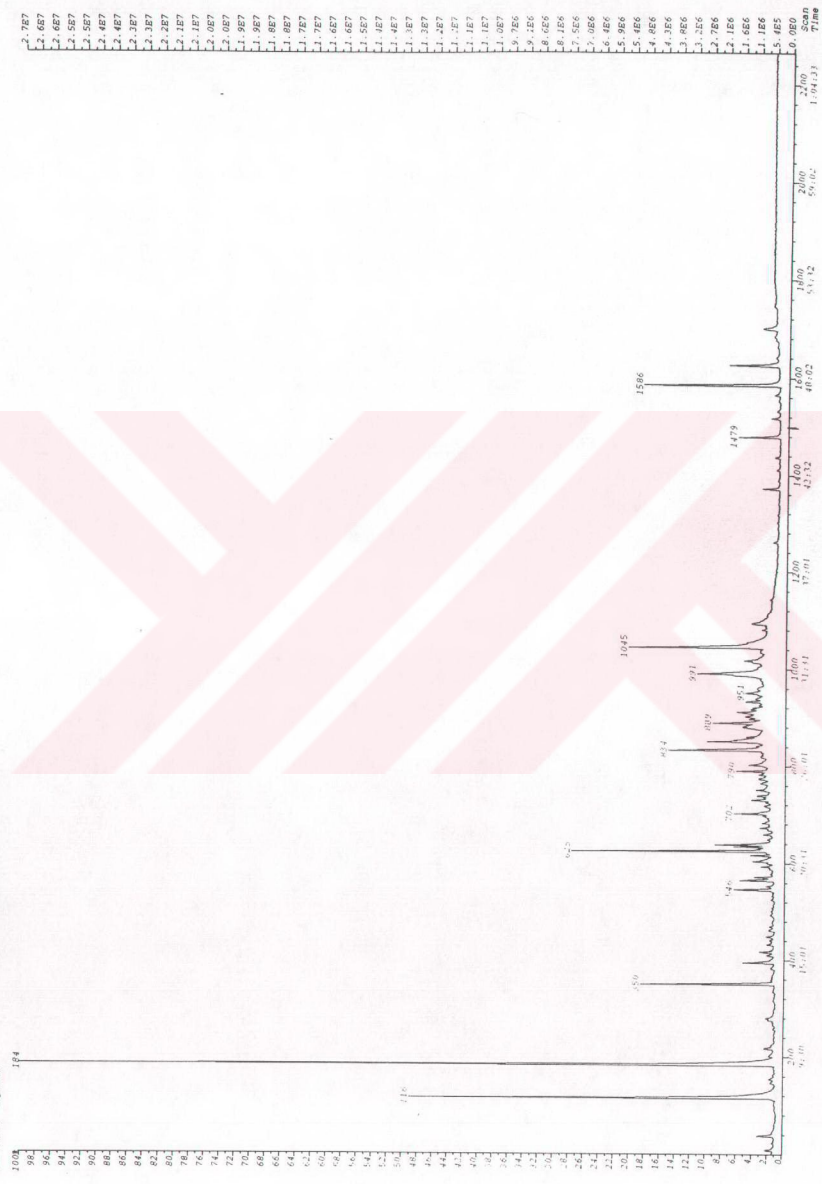


Süperkritik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağın GC-MS analizinde belirlenen bileşiklerin moleküler pikleri, kapladıkları % alan ve geliş zamanları aşağıdaki tablolarda verilmiştir:

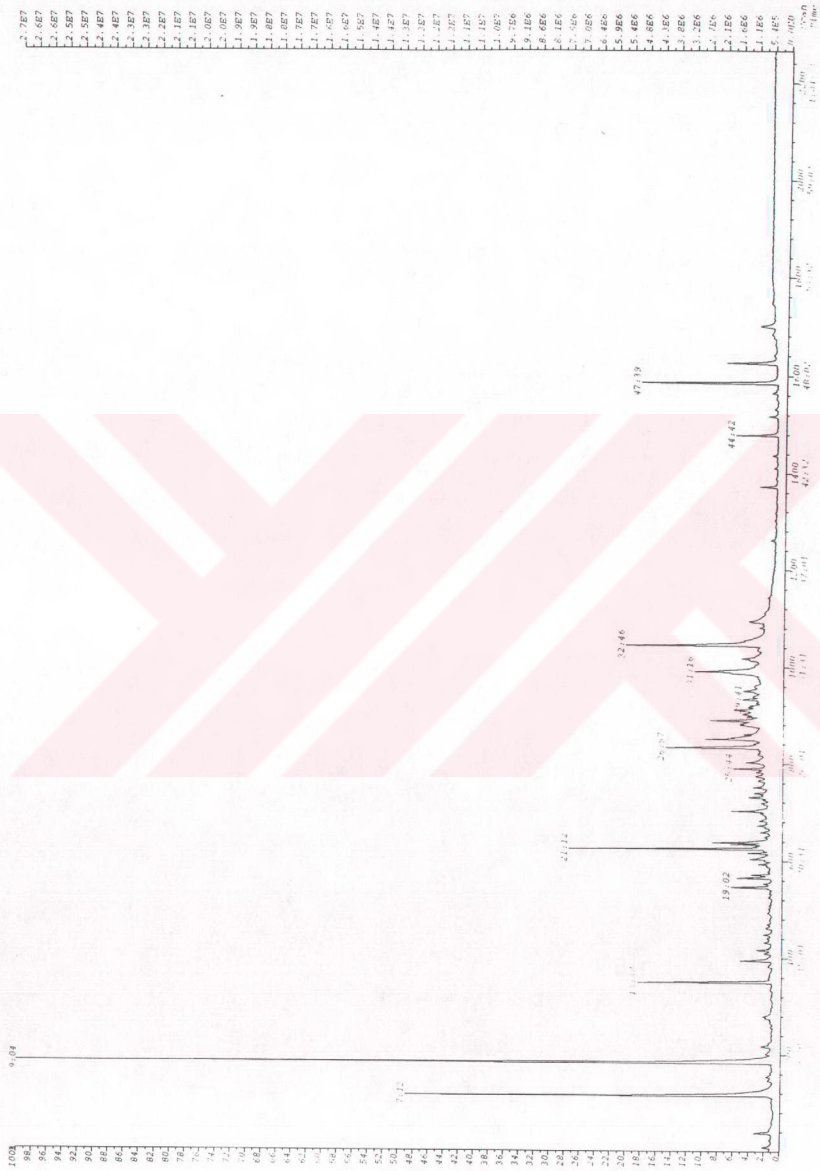
Süperkritik ekstraksiyon (1+2+3) Toplam Ürününün GC-MS Verileri

Pik Sıra No	Retansiyon zamanı (dak.)	% (Alan)	Moleküler Pik	Bileşik
1	5.08	0.15	154	Ökaliptol
2	7.12	4.92	152	Fenkon
3	9.04	10.02	152	Kafur
4	13.38	1.56	196	Bornil Asetat
5	14.54	0.73	152	Belirlenemeyen
6	15.29	0.05	204	Aromadendren
7	19.02	0.58	204	Belirlenemeyen
8	19.35	0.54	204	γ - Murolen
9	19.44	1.22	202	Kalamen
10	21.12	2.31	222	Globulol
11	21.27	0.86	222	Ledol
12	21.34	0.45	222	δ -Kadinol
13	23.62	0.88	218	Belirlenemeyen
14	24.51	0.21	220	Copaen 8-ol
15	41.2	0.22	380	C ₂₇ H ₅₆
16	44.42	0.53	408	C ₃₀ H ₄₈

Tablo 7

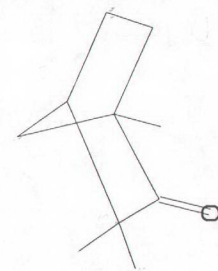
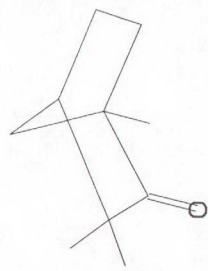
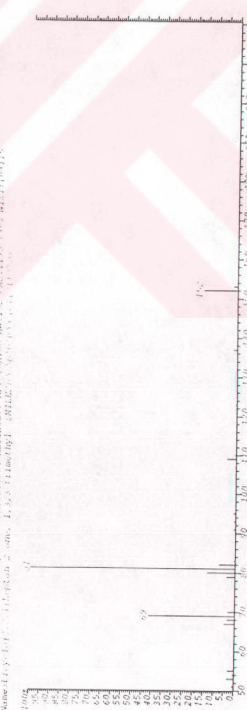
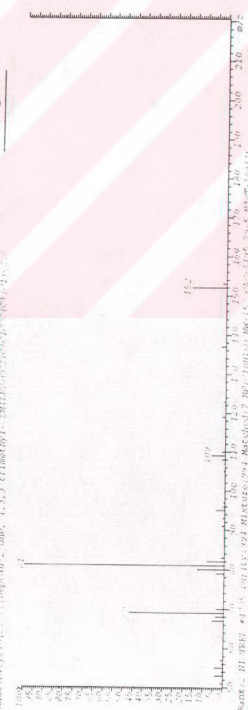


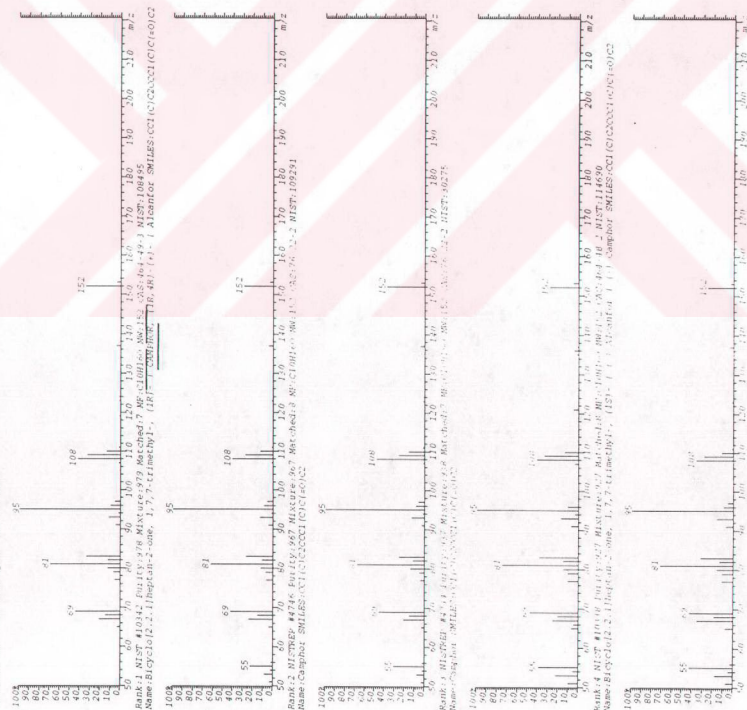
Sekil 22



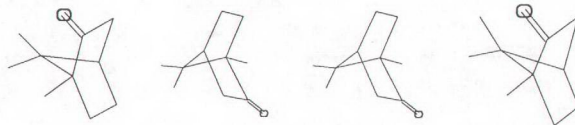
Şekil 23

Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1
 Retention: 1.00 1.00 1.00 1.00 1.00 1.00 1.00 1.00
 Match: 100 100 100 100 100 100 100 100
 Normal Search: 23 of 53 Bases: Purify: Mass Weighting: On: Processed Minimum: 20
 Abundance: 1000000000
 Acquisition: 17-SEP-1998 13:52:43 +7.13
 Chemical: C₁₀H₁₆O₂ Molecular Weight: 172.23



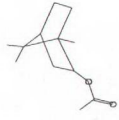
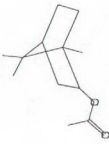
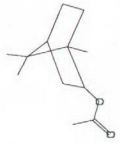
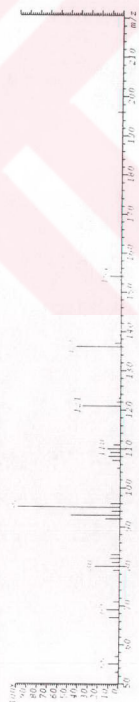


Şekil 25



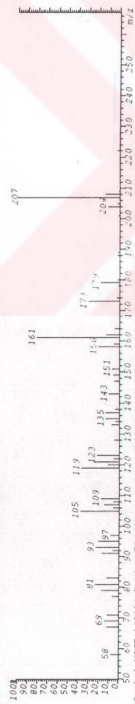
Library 1: NIST (22155) 2: NISTREF (12593)

Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1
 Match: 0 14 35 175 784 2465 2655 14034 51986
 Normalized Search: 14 35 175 784 2465 2655 14034 51986
 File: NIST-REF-14034-51986-2465-2655-784-175-35-14
 Acquisition: 19 SEP 1996 13:52:43 13:41
 Acquisition: 19 SEP 1996 13:52:43 13:41
 Acquisition: 19 SEP 1996 13:52:43 13:41

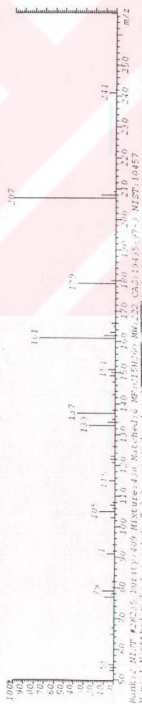
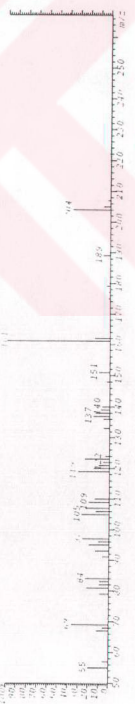
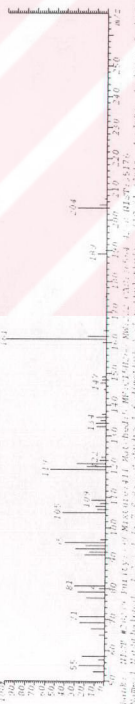


Şekil 26

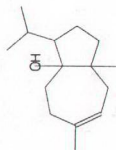
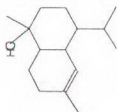
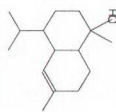
Pearls:	8	7	6	5	4	3	2	1
Machos:	0	0	0	3	41	162	822	4561
Total:	0	0	0	3	44	206	1028	5129
Normal Search:	26 of	54 Rank	Purity	Mass	Weighting	On	Search	Minimum: 20
FJFile:BR-S-SP2	Ident: 54	547-537	543 Min	1000PPM	Acquired: 19-SEP-1996	13:52:43	117:01	
ZanSpec/Et/Func	Ion:Magnet	Tic:761560						



Name: Ethofumesate / 5-Benzofuranol, 2-ethoxy-2,3-dihydro-3,3-dimethyl-, methyl-*o*-toluate, (4-*o*)-1-Norborn-2-methyl-2-oxo-2-oxolene (5S(C)) (=O)OCC(C)(C)C1=CC=C(C=C1)C=C2C=CC(=C2)C=C3C=CC(=C3)C=C4C=CC(=C4)C=C5C=CC(=C5)C=C6C=CC(=C6)C=C7C=CC(=C7)C=C8C=CC(=C8)C=C9C=CC(=C9)C=C10C=CC(=C10)C=C11C=CC(=C11)C=C12C=CC(=C12)C=C13C=CC(=C13)C=C14C=CC(=C14)C=C15C=CC(=C15)C=C16C=CC(=C16)C=C17C=CC(=C17)C=C18C=CC(=C18)C=C19C=CC(=C19)C=C20C=CC(=C20)C=C21C=CC(=C21)C=C22C=CC(=C22)C=C23C=CC(=C23)C=C24C=CC(=C24)C=C25C=CC(=C25)C=C26C=CC(=C26)C=C27C=CC(=C27)C=C28C=CC(=C28)C=C29C=CC(=C29)C=C30C=CC(=C30)C=C31C=CC(=C31)C=C32C=CC(=C32)C=C33C=CC(=C33)C=C34C=CC(=C34)C=C35C=CC(=C35)C=C36C=CC(=C36)C=C37C=CC(=C37)C=C38C=CC(=C38)C=C39C=CC(=C39)C=C40C=CC(=C40)C=C41C=CC(=C41)C=C42C=CC(=C42)C=C43C=CC(=C43)C=C44C=CC(=C44)C=C45C=CC(=C45)C=C46C=CC(=C46)C=C47C=CC(=C47)C=C48C=CC(=C48)C=C49C=CC(=C49)C=C50C=CC(=C50)C=C51C=CC(=C51)C=C52C=CC(=C52)C=C53C=CC(=C53)C=C54C=CC(=C54)C=C55C=CC(=C55)C=C56C=CC(=C56)C=C57C=CC(=C57)C=C58C=CC(=C58)C=C59C=CC(=C59)C=C60C=CC(=C60)C=C61C=CC(=C61)C=C62C=CC(=C62)C=C63C=CC(=C63)C=C64C=CC(=C64)C=C65C=CC(=C65)C=C66C=CC(=C66)C=C67C=CC(=C67)C=C68C=CC(=C68)C=C69C=CC(=C69)C=C70C=CC(=C70)C=C71C=CC(=C71)C=C72C=CC(=C72)C=C73C=CC(=C73)C=C74C=CC(=C74)C=C75C=CC(=C75)C=C76C=CC(=C76)C=C77C=CC(=C77)C=C78C=CC(=C78)C=C79C=CC(=C79)C=C80C=CC(=C80)C=C81C=CC(=C81)C=C82C=CC(=C82)C=C83C=CC(=C83)C=C84C=CC(=C84)C=C85C=CC(=C85)C=C86C=CC(=C86)C=C87C=CC(=C87)C=C88C=CC(=C88)C=C89C=CC(=C89)C=C90C=CC(=C90)C=C91C=CC(=C91)C=C92C=CC(=C92)C=C93C=CC(=C93)C=C94C=CC(=C94)C=C95C=CC(=C95)C=C96C=CC(=C96)C=C97C=CC(=C97)C=C98C=CC(=C98)C=C99C=CC(=C99)C=C100C=CC(=C100)C=C101C=CC(=C101)C=C102C=CC(=C102)C=C103C=CC(=C103)C=C104C=CC(=C104)C=C105C=CC(=C105)C=C106C=CC(=C106)C=C107C=CC(=C107)C=C108C=CC(=C108)C=C109C=CC(=C109)C=C110C=CC(=C110)C=C111C=CC(=C111)C=C112C=CC(=C112)C=C113C=CC(=C113)C=C114C=CC(=C114)C=C115C=CC(=C115)C=C116C=CC(=C116)C=C117C=CC(=C117)C=C118C=CC(=C118)C=C119C=CC(=C119)C=C120C=CC(=C120)C=C121C=CC(=C121)C=C122C=CC(=C122)C=C123C=CC(=C123)C=C124C=CC(=C124)C=C125C=CC(=C125)C=C126C=CC(=C126)C=C127C=CC(=C127)C=C128C=CC(=C128)C=C129C=CC(=C129)C=C130C=CC(=C130)C=C131C=CC(=C131)C=C132C=CC(=C132)C=C133C=CC(=C133)C=C134C=CC(=C134)C=C135C=CC(=C135)C=C136C=CC(=C136)C=C137C=CC(=C137)C=C138C=CC(=C138)C=C139C=CC(=C139)C=C140C=CC(=C140)C=C141C=CC(=C141)C=C142C=CC(=C142)C=C143C=CC(=C143)C=C144C=CC(=C144)C=C145C=CC(=C145)C=C146C=CC(=C146)C=C147C=CC(=C147)C=C148C=CC(=C148)C=C149C=CC(=C149)C=C150C=CC(=C150)C=C151C=CC(=C151)C=C152C=CC(=C152)C=C153C=CC(=C153)C=C154C=CC(=C154)C=C155C=CC(=C155)C=C156C=CC(=C156)C=C157C=CC(=C157)C=C158C=CC(=C158)C=C159C=CC(=C159)C=C160C=CC(=C160)C=C161C=CC(=C161)C=C162C=CC(=C162)C=C163C=CC(=C163)C=C164C=CC(=C164)C=C165C=CC(=C165)C=C166C=CC(=C166)C=C167C=CC(=C167)C=C168C=CC(=C168)C=C169C=CC(=C169)C=C170C=CC(=C170)C=C171C=CC(=C171)C=C172C=CC(=C172)C=C173C=CC(=C173)C=C174C=CC(=C174)C=C175C=CC(=C175)C=C176C=CC(=C176)C=C177C=CC(=C177)C=C178C=CC(=C178)C=C179C=CC(=C179)C=C180C=CC(=C180)C=C181C=CC(=C181)C=C182C=CC(=C182)C=C183C=CC(=C183)C=C184C=CC(=C184)C=C185C=CC(=C185)C=C186C=CC(=C186)C=C187C=CC(=C187)C=C188C=CC(=C188)C=C189C=CC(=C189)C=C190C=CC(=C190)C=C191C=CC(=C191)C=C192C=CC(=C192)C=C193C=CC(=C193)C=C194C=CC(=C194)C=C195C=CC(=C195)C=C196C=CC(=C196)C=C197C=CC(=C197)C=C198C=CC(=C198)C=C199C=CC(=C199)C=C200C=CC(=C200)C=C201C=CC(=C201)C=C202C=CC(=C202)C=C203C=CC(=C203)C=C204C=CC(=C204)C=C205C=CC(=C205)C=C206C=CC(=C206)C=C207C=CC(=C207)C=C208C=CC(=C208)C=C209C=CC(=C209)C=C210C=CC(=C210)C=C211C=CC(=C211)C=C212C=CC(=C212)C=C213C=CC(=C213)C=C214C=CC(=C214)C=C215C=CC(=C215)C=C216C=CC(=C216)C=C217C=CC(=C217)C=C218C=CC(=C218)C=C219C=CC(=C219)C=C220C=CC(=C220)C=C221C=CC(=C221)C=C222C=CC(=C222)C=C223C=CC(=C223)C=C224C=CC(=C224)C=C225C=CC(=C225)C=C226C=CC(=C226)C=C227C=CC(=C227)C=C228C=CC(=C228)C=C229C=CC(=C229)C=C230C=CC(=C230)C=C231C=CC(=C231)C=C232C=CC(=C232)C=C233C=CC(=C233)C=C234C=CC(=C234)C=C235C=CC(=C235)C=C236C=CC(=C236)C=C237C=CC(=C237)C=C238C=CC(=C238)C=C239C=CC(=C239)C=C240C=CC(=C240)C=C241C=CC(=C241)C=C242C=CC(=C242)C=C243C=CC(=C243)C=C244C=CC(=C244)C=C245C=CC(=C245)C=C246C=CC(=C246)C=C247C=CC(=C247)C=C248C=CC(=C248)C=C249C=CC(=C249)C=C250C=CC(=C250)C=C251C=CC(=C251)C=C252C=CC(=C252)C=C253C=CC(=C253)C=C254C=CC(=C254)C=C255C=CC(=C255)C=C256C=CC(=C256)C=C257C=CC(=C257)C=C258C=CC(=C258)C=C259C=CC(=C259)C=C260C=CC(=C260)C=C261C=CC(=C261)C=C262C=CC(=C262)C=C263C=CC(=C263)C=C264C=CC(=C264)C=C265C=CC(=C265)C=C266C=CC(=C266)C=C267C=CC(=C267)C=C268C=CC(=C268)C=C269C=CC(=C269)C=C270C=CC(=C270)C=C271C=CC(=C271)C=C272C=CC(=C272)C=C273C=CC(=C273)C=C274C=CC(=C274)C=C275C=CC(=C275)C=C276C=CC(=C276)C=C277C=CC(=C277)C=C278C=CC(=C278)C=C279C=CC(=C279)C=C280C=CC(=C280)C=C281C=CC(=C281)C=C282C=CC

[illegible]

Şekil 27



Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1
 Mass: 90 90 185 185 185 185 185 185
 Total: 1 5 15 90 185 185 185 185
 Normal Search: 10 of 5 90 Rank: Purity Mass Weighting: On Frequency Minimum 20
 Sample Name: 568.568.1000PM Acquired: 19-SEP-1998 17:55:47 +19:14
 Database: E1: Function: Magnet TIC: 276816



Rank: 1 NISTEP #12593 Purity: 80.0 Maximum: 898 Matched: 5 MF: C14H4.1 M: 214.4 A: 214.4 m: 1 MLT: 0.045
 Name: Silinone, 1,2,3,4,6,8-tetrahydronaphthalene-1,4-dimethyl-4-(1-methyl-1-prop-1-en-1-yl)-
 Name: Ingestion time: 1,2,3,4,6,8-tetrahydronaphthalene-1,4-dimethyl-4-(1-methyl-1-prop-1-en-1-yl)-
 Name: Ingestion time: 1,2,3,4,6,8-tetrahydronaphthalene-1,4-dimethyl-4-(1-methyl-1-prop-1-en-1-yl)-



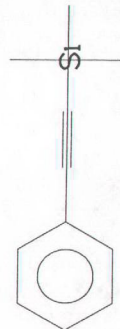
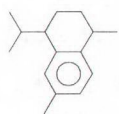
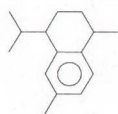
Rank: 2 NISTEP #12593 Purity: 80.0 Maximum: 898 Matched: 5 MF: C14H4.1 M: 214.4 A: 214.4 m: 1 MLT: 0.045
 Name: Silinone, 1,2,3,4,6,8-tetrahydronaphthalene-1,4-dimethyl-4-(1-methyl-1-prop-1-en-1-yl)-
 Name: Ingestion time: 1,2,3,4,6,8-tetrahydronaphthalene-1,4-dimethyl-4-(1-methyl-1-prop-1-en-1-yl)-
 Name: Ingestion time: 1,2,3,4,6,8-tetrahydronaphthalene-1,4-dimethyl-4-(1-methyl-1-prop-1-en-1-yl)-



Rank: 3 NISTEP #12593 Purity: 80.0 Maximum: 898 Matched: 5 MF: C14H4.1 M: 214.4 A: 214.4 m: 1 MLT: 0.045
 Name: Silinone, 1,2,3,4,6,8-tetrahydronaphthalene-1,4-dimethyl-4-(1-methyl-1-prop-1-en-1-yl)-
 Name: Ingestion time: 1,2,3,4,6,8-tetrahydronaphthalene-1,4-dimethyl-4-(1-methyl-1-prop-1-en-1-yl)-
 Name: Ingestion time: 1,2,3,4,6,8-tetrahydronaphthalene-1,4-dimethyl-4-(1-methyl-1-prop-1-en-1-yl)-

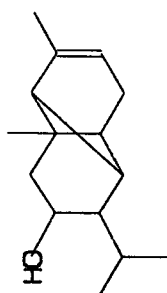
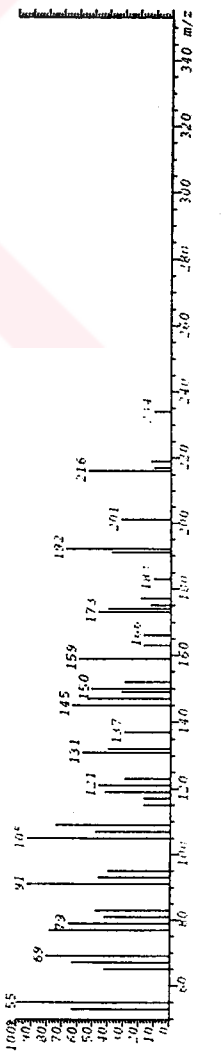
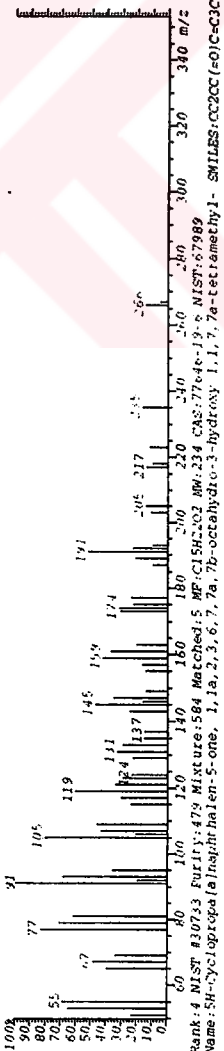
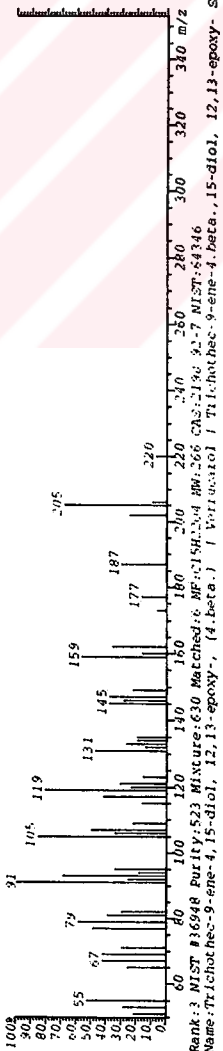
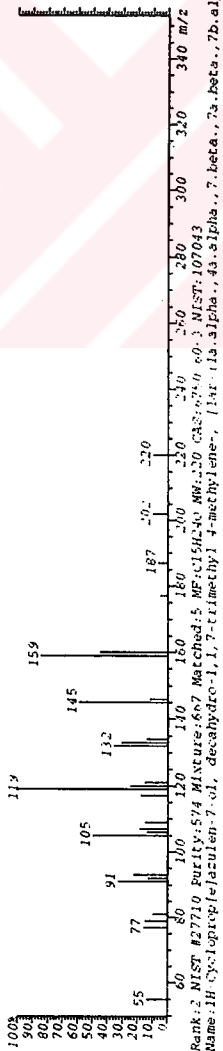
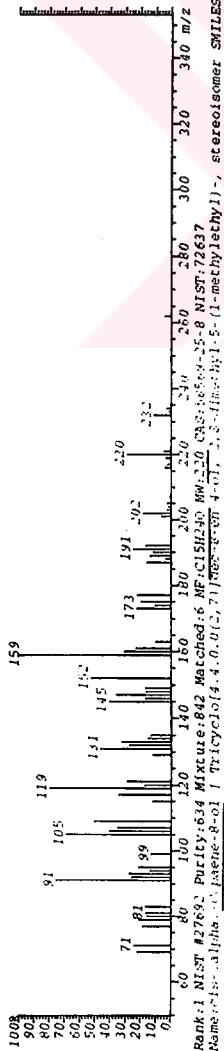


Rank: 4 NIST #1613 Purity: 80.0 Maximum: 898 Matched: 5 MF: C14H4.1 M: 214.4 A: 214.4 m: 1 MLT: 0.045
 Name: Silinone, 1,2,3,4,6,8-tetrahydronaphthalene-1,4-dimethyl-4-(1-methyl-1-prop-1-en-1-yl)-
 Name: Ingestion time: 1,2,3,4,6,8-tetrahydronaphthalene-1,4-dimethyl-4-(1-methyl-1-prop-1-en-1-yl)-
 Name: Ingestion time: 1,2,3,4,6,8-tetrahydronaphthalene-1,4-dimethyl-4-(1-methyl-1-prop-1-en-1-yl)-

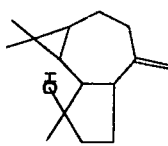


Libraries 1: NIST (62235) 2: NISTREP (12593)

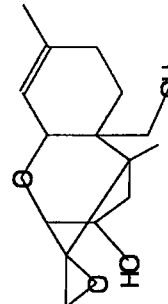
Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1 0
 Matches: 0 0 6 52 398 6768 19640 46125
 Total: 0 0 58 456 2295 9063 28703 74828
 Normal Search: 27 of 58 Rank: Purity Mass Weighting: On Preset Minimum: 20
 File: BK-S-SP1 Ident: 729-732-725-725 Win 1000PM Acquired: 19-SEP-1996 13:52:43 *24:06
 Subspec: E1+ Function: Magnet TIC: 437454



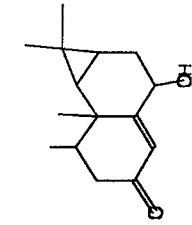
SMILES: CC(C)C2C(O)C(C)C3CC(C)C(C)C1C23



SMILES: CC(C)C2C(O)C(C)C3CC(C)C(C)C1C23



SMILES: CC(C)C2C(O)C(C)C3CC(C)C(C)C1C23



SMILES: CC(C)C2CC(=O)C3C(C)C(C)C(C)C3C

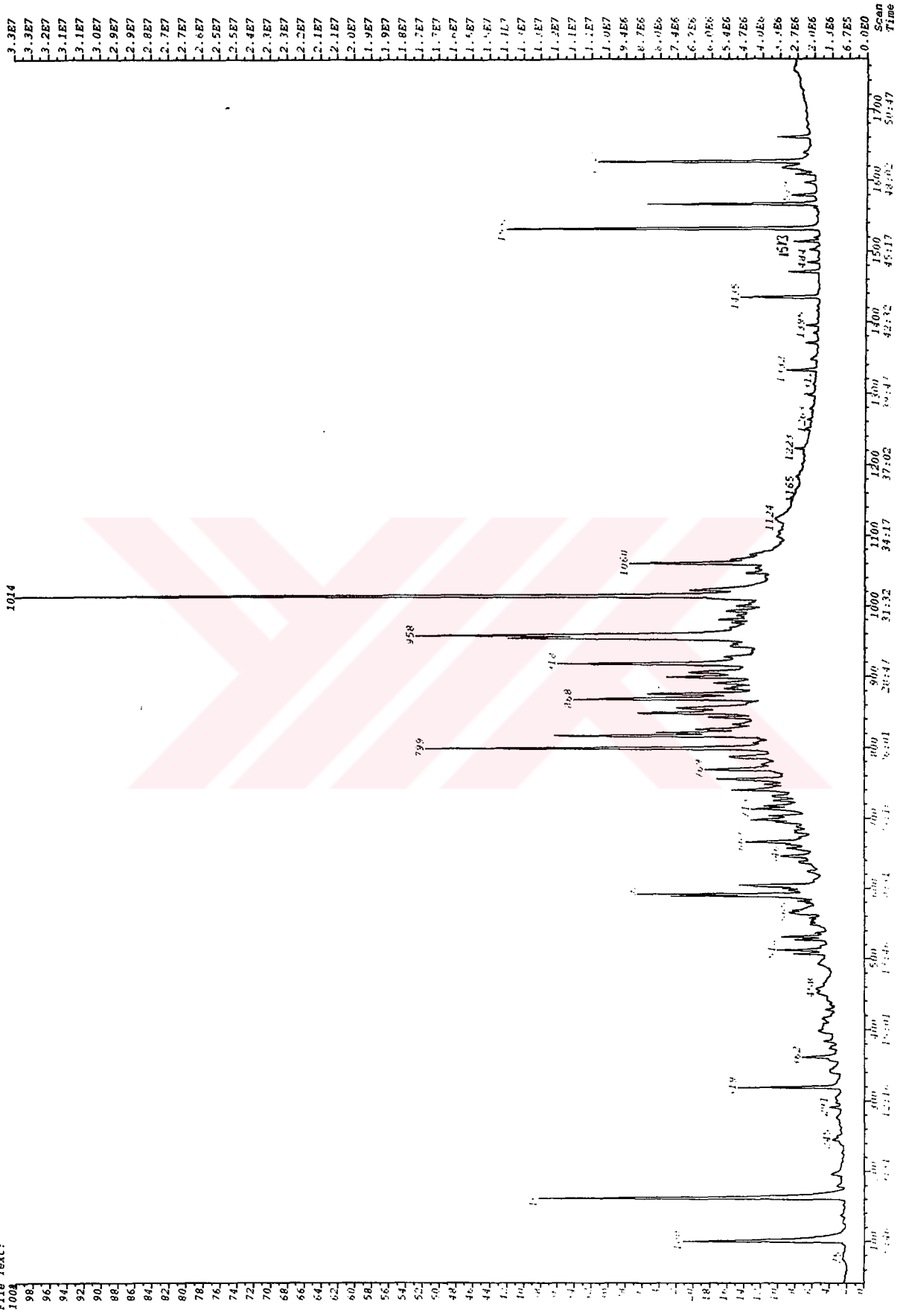
Şekil 30

Süperkritik ekstraksiyon (4+5+6) Toplam Ürününün GC-MS Verileri

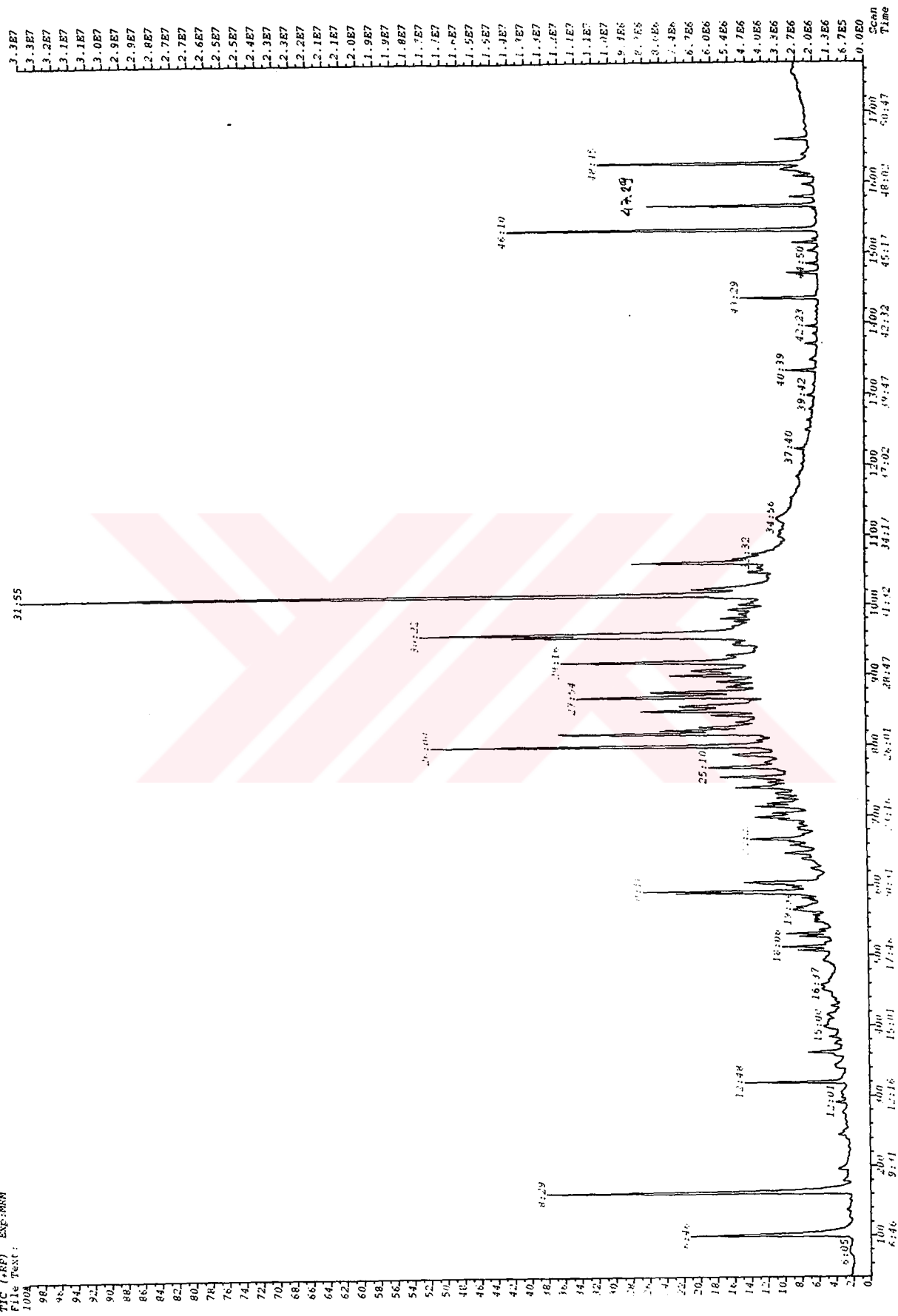
Pik Sıra No	Retansiyon zamanı	% (Alan)	Moleküler Pik (m/z)	Bileşik
1	4.14	0.17	154	Ökaliptol
2	6.46	5.21	152	Fenkon
3	8.29	10.13	152	Kafur
4	12.48	1.84	196	Bornil asetat
5	13.59	1.04	134	Belirlenemeyen
6	14.23	0.09	168	Belirlenemeyen
7	18.06	1.12	222	Belirlenemeyen
8	18.38	1.14	222	Belirlenemeyen
9	20.17	4.46	222	Globulol
10	20.32	0.89	222	Ledol
11	22.22	1.60	218	Virdiflorol
12	23.09	0.45	220	Copaen 8-ol
13	26.00	5.07	236	Belirlenemeyen
14	27.22	1.31	272	Belirlenemeyen
15	40.40	0.32	380	Belirlenemeyen
16	41.42	0.12	365	Uzun zincirli hidrokarbon
17	42.24	0.12	410	Uzun zincirli hidrokarbon
18	43.30	1.02	408	Uzun zincirli hidrokarbon
19	44.28	0.26	392	Uzun zincirli hidrokarbon
20	46.11	6.28	436	Uzun zincirli hidrokarbon

Tablo 8

File: BK-O-SPES #1-2154 Acq: 11-OCT-1996 11:22:51 GC EI+ Magnet ZabSpecE
 TIC (MRP) Exp: MNN
 File Text:



File: BK-U-SFES #1-2154 Acq: 11-OCT-1996 11:22:51 GC EI+ Magnet ZabSpecE
TIC (uV) Exp: MNW
File Text:

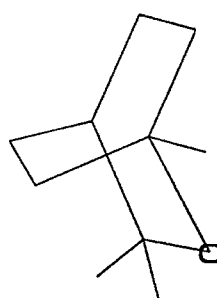
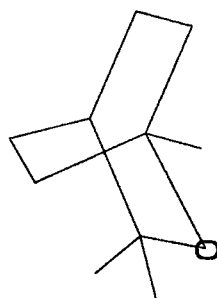
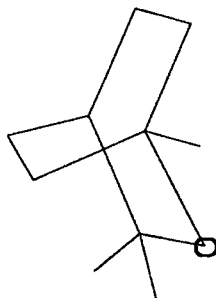
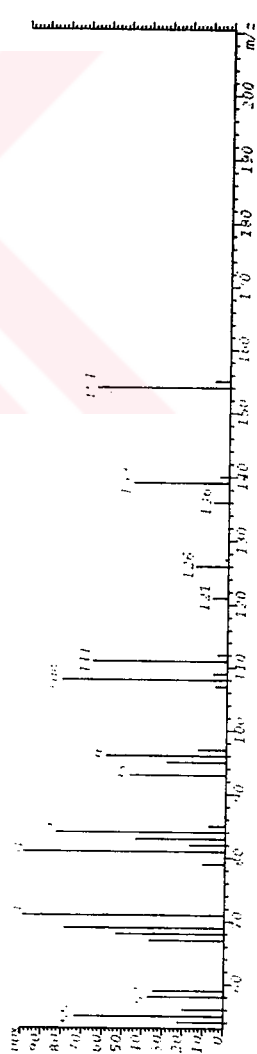
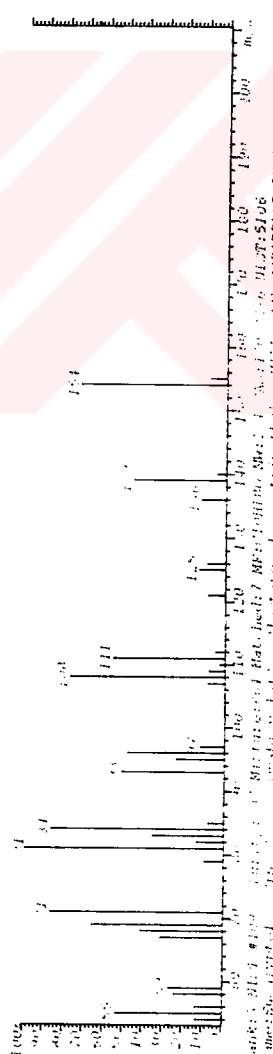
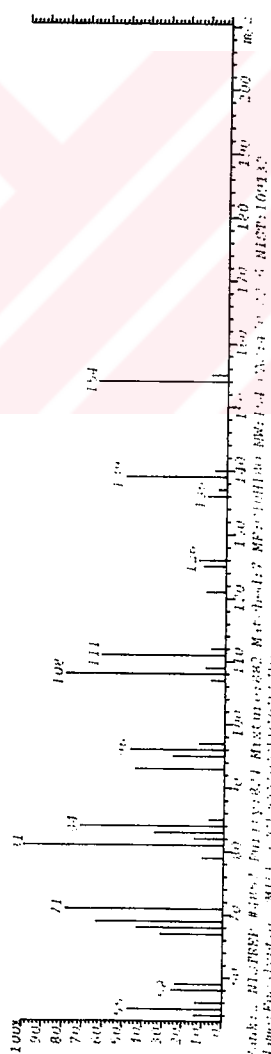
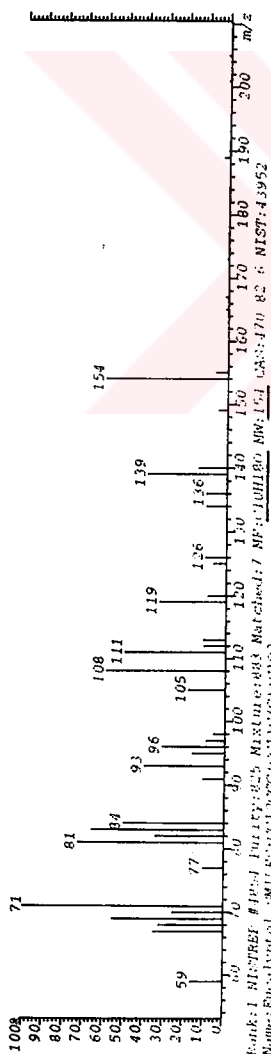


Şekil 32

```

Peaks: 0 7 6 6 4 3 2 1 0
Matches: 0 3 57 398 226 8055 20055 44026
Total: 0 8 11 68 466 2692 10747 30802 74828
Normal Search: 48 of 68 Rank: Purity Mass Weighting: On
File: BK-0-SF66 Ident:35-25-28 Win 1000PPH Acquired:11-OCT-1996 12:41:37
Presearch Minimum: 20
ZabSpec EI+ Function:Magnet TIC:692784

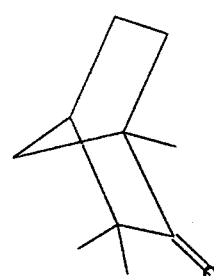
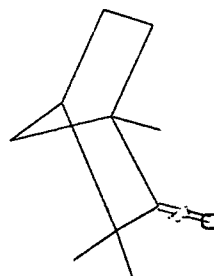
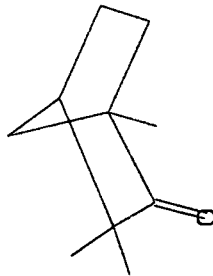
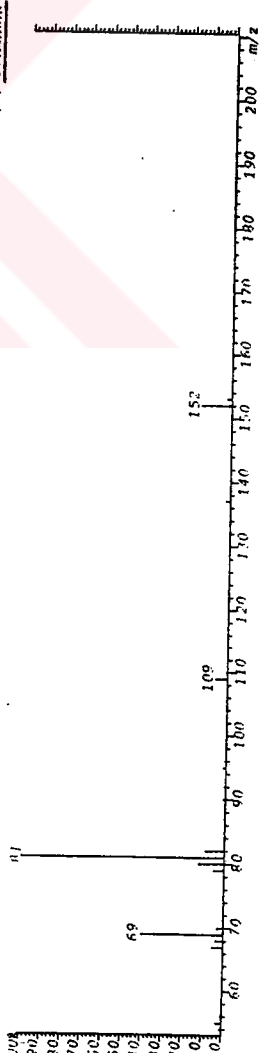
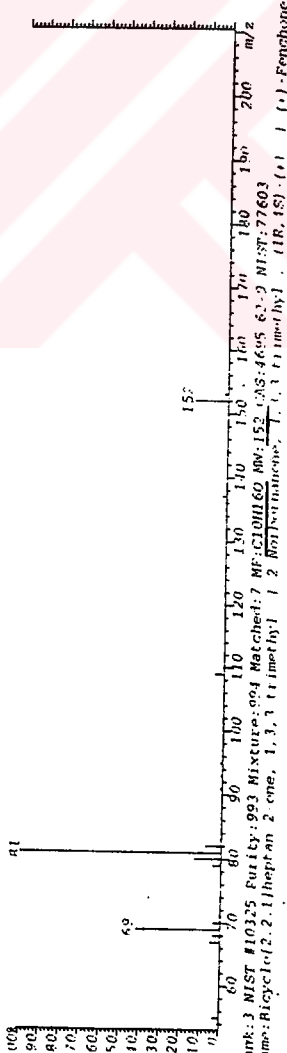
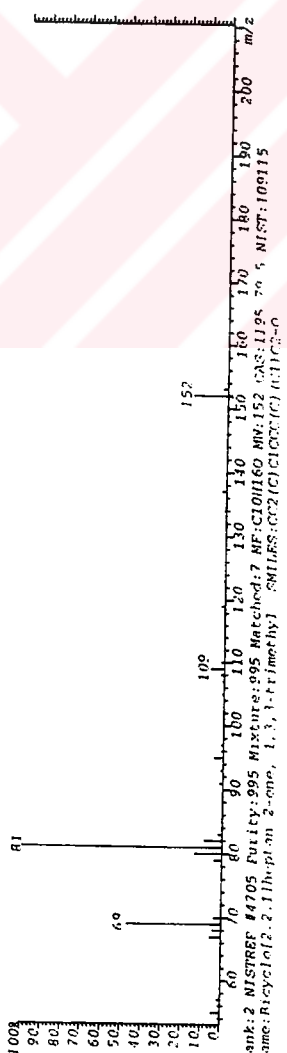
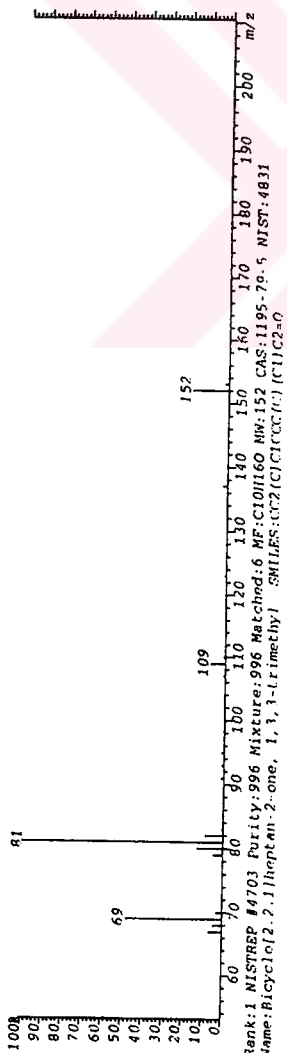
```



Şekil 33

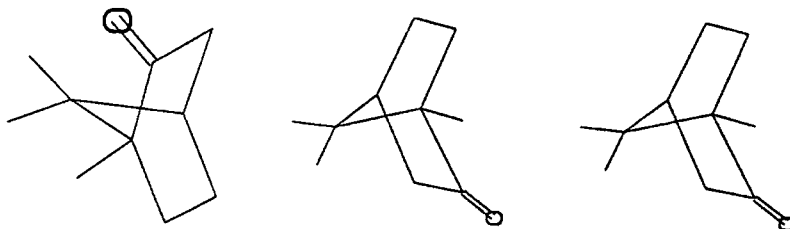
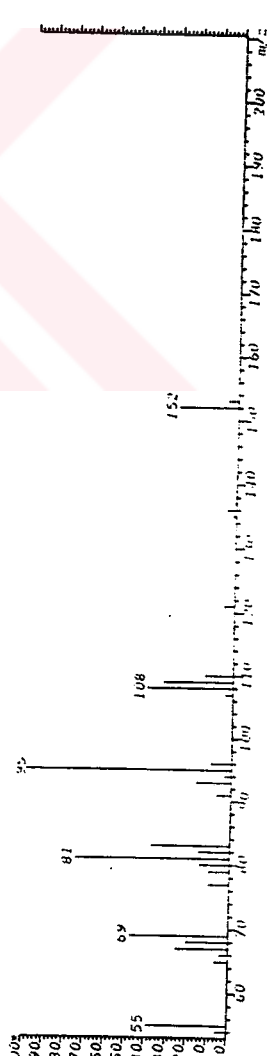
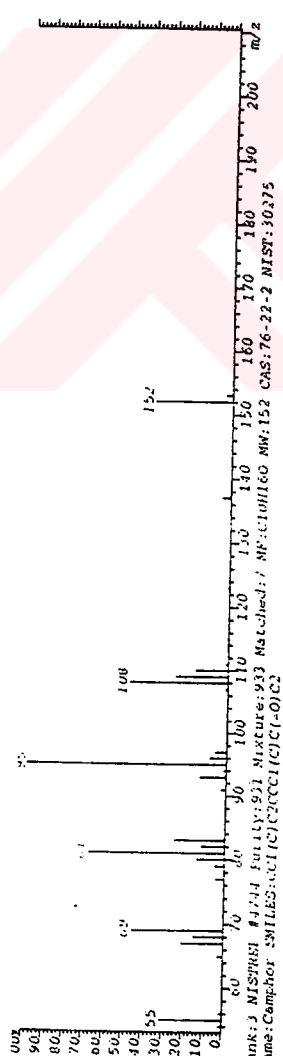
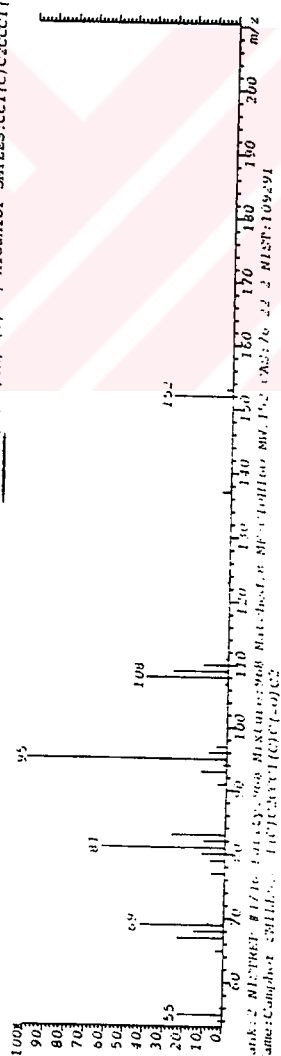
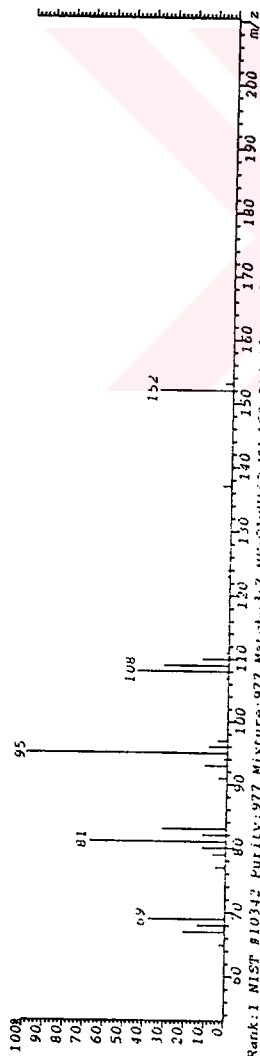
Libraries 1: NIST (62235) 2: NISTREF (12593)

Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1 0
 Matched: 1 8 44 285 1135 2868 7087 15416 47984
 Total: 53 338 1473 4341 11428 28644 74828
 Normal Search: 23 of 53 Rank: Purity Mass Weighting On Research Minimum: 20
 File: BK-O-SF66 Ident: 102.103-77.82 Win 1000PPM Acquired: 11-OCT-1996 12:41:37 46:50
 ZabSpec EI+ Function: Magnet TIC: 4041005



Şekil 34

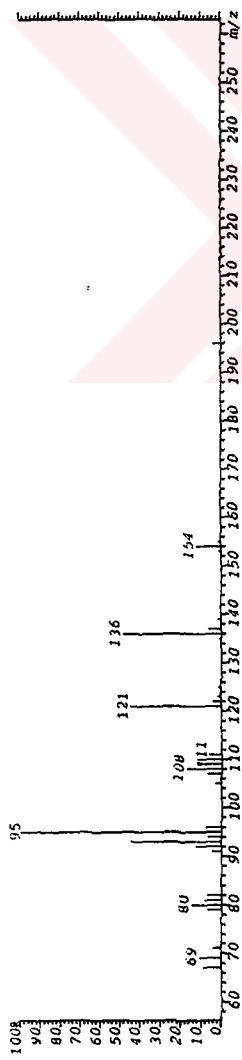
Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1 0
 Matches: 2 33 116 574 1595 3070 6594 14480 48363
 Total: 35 151 725 2321 5391 11985 26465 74828
 Normal Search: 32 of 35 Rank: Purity Mass Weighting: On Presearch Minimum: 20
 File: BK-O-SPE6 Ident: 160.160-127.140 Win 1000PPM Acquired: 11-OCT-1996 12:41:37 48:30
 Zabspec EI+ Function: Magnet TIC: 9163882



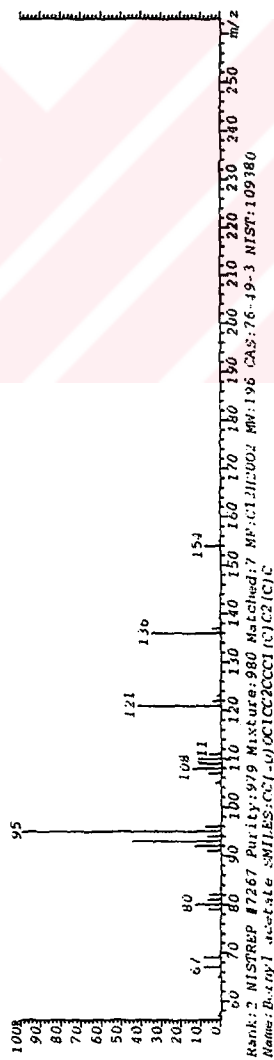
Şekil 35

Library 1: NIST (62235) 2: NISTREF (12593)

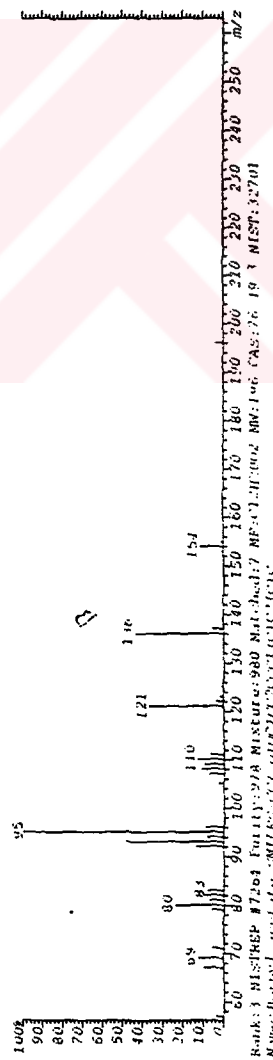
Peaks: 6 7 6 5 4 3 2 1 0
 Matches: 0 18 23 127 617 2016 5684 14577 51768
 Total: 41 168 785 2801 8485 23062
 Normal Search: 37 of 41 Rank: Purity Mass Weighting: On Presearch Minimum: 20
 File: BK-O-SPE6 Ident: 319-321-289-296 Min 1000PPM Acquired: 11-OCT-1996 12:41:37 +12:49
 ZabSpecEi, Function: Magnet TIC: 3206678



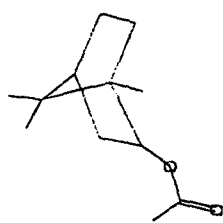
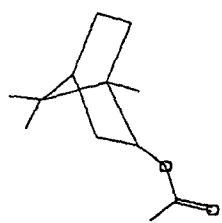
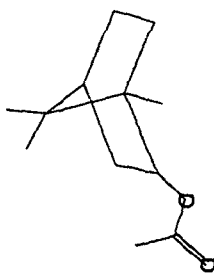
Rank: 1 NIST #21868 Purity: 982 Mixture: 983 Matched: 7 MF: C12H20O2 MW: 196 CAS: 5655-61-8 NIST: 107630
 Name: Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, acetate, (1S,2R,4S)-(-)-(-)-Bornyl acetate SMILES: CC(=O)OC1CC2CCC1(C)C2(C)C



Rank: 2 NISTREF #7267 Purity: 979 Mixture: 980 Matched: 7 MF: C12H20O2 MW: 196 CAS: 76-19-3 NIST: 109180
 Name: Bornyl acetate SMILES: CC(=O)OC1CC2CCC1(C)C2(C)C

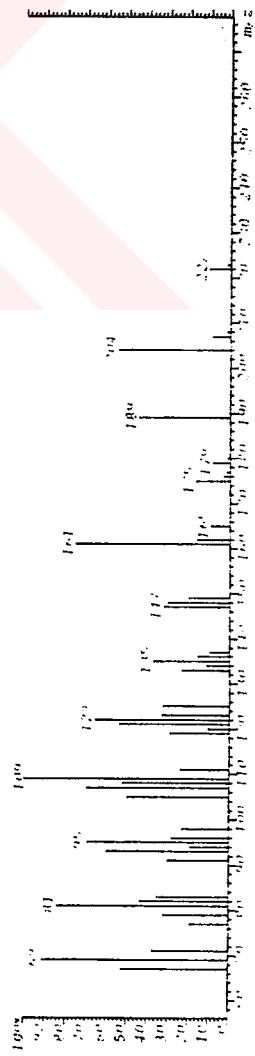
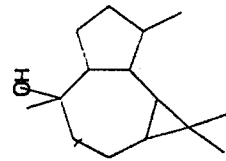
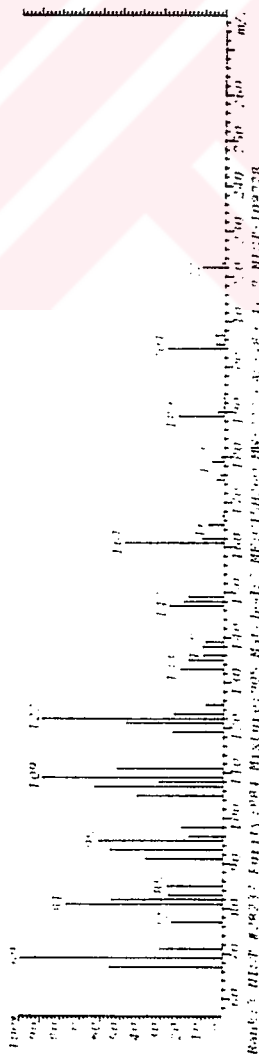
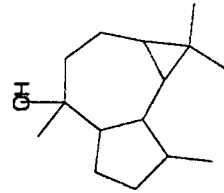
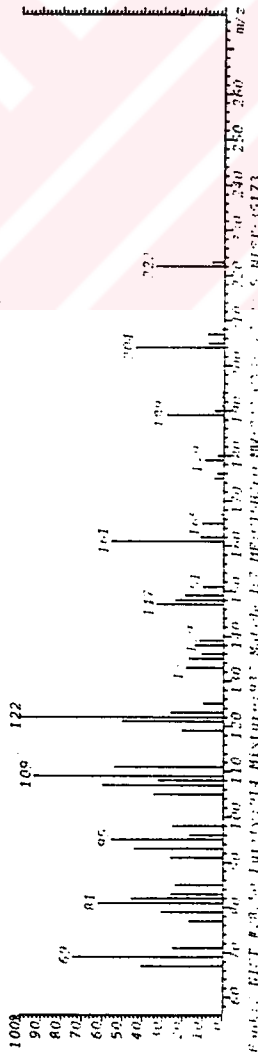
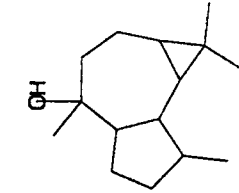
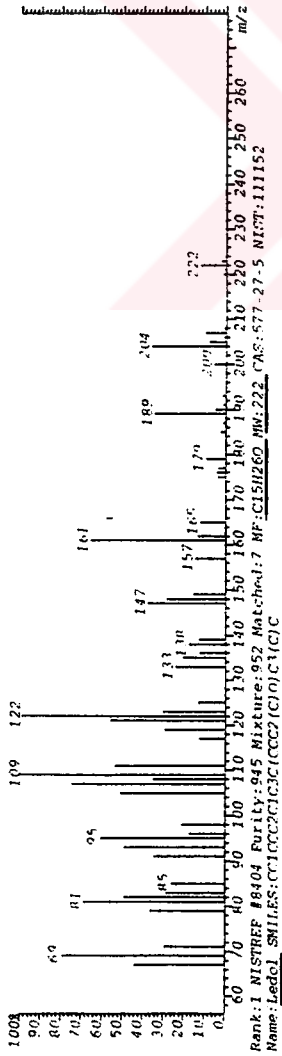


Rank: 3 NISTREF #7267 Purity: 979 Mixture: 980 Matched: 7 MF: C12H20O2 MW: 196 CAS: 76-19-3 NIST: 109180
 Name: Bornyl acetate SMILES: CC(=O)OC1CC2CCC1(C)C2(C)C



Şekil 36

Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1 0
 Total: 1 5 20 85 443 2214 7392 21014 43654
 Normal Search: 26 of 26 Rank: Purity Mass Weighting: On Presearch Minimum: 20
 File: BK-0-SPE6 Ident: 600-615.618 Win 1000Hz Acquired: 11 Oct 1996 12:41:37
 ZabSpec E1, Function: NeatNet TIC: 2618150



Şekil 38

II.C.3. Su Buharı Destilasyonu Yönteminin Uygulanması ve Sonuçları

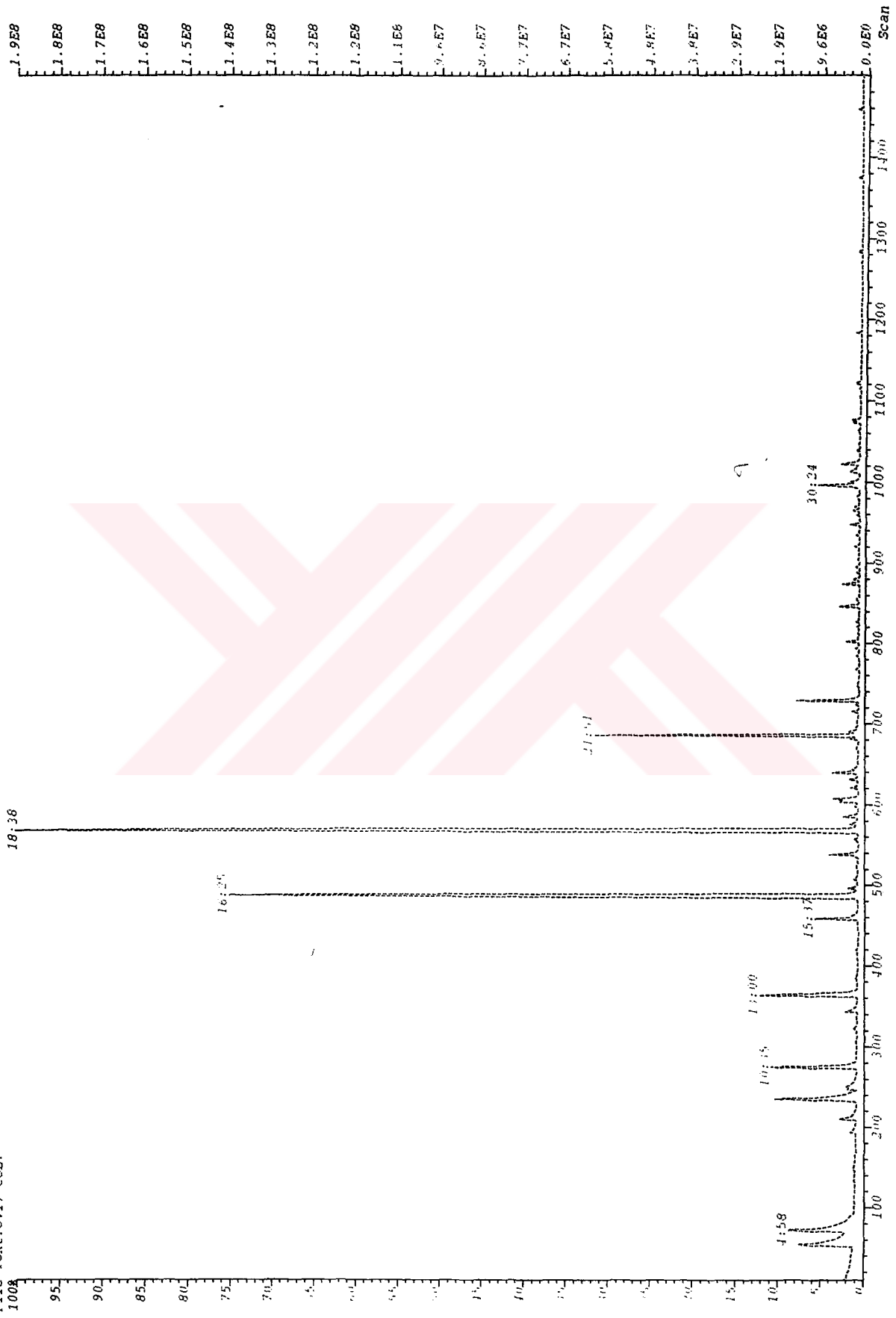
Bitkinin kurutulup öğütülmüş toprak üstü kısımlarından subuharı destilasyonu ile de uçucu yağ elde edilerek süperkritik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağlarla kıyaslandı. Bu yöntemde 150 gr.bitkinin toprak üstü kısımları çok ince öğütüldü ve üç saat boyunca Clevenger cihazında destilasyon ile 2 ml uçucu yağ elde edildi (verim % 1.33).

Su buharı destilasyonu ile elde edilen uçucu yağın GC-MS verileri

Sıra No	Retensiyon zamanı (dak.)	Pik No	Molekül Ağırlığı	Madde Adı
1	8.20	192	136	α -Tujen
2	8.48	210	136	α -Pinen
3	9.33	234	136	Kamfen
4	12.31	343	136	D-limonen
5	13.03	363	154	Ökaliptol
6	16.25	486	152	Fenkon
7	17.50	537	154	Fenkol
8	18.38	566	152	Kafur
9	19.06	584	154	Terpinen 4-ol
10	19.43	607	196	Fenkil asetat
11	20.06	620	154	α -Terpineol
12	20.22	630	150	2-Norpinen-2-karboksi aldehit
13	21.51	684	196	Bornil asetat
14	23.03	727	152	Belirlenemeyen
15	26.17	844	204	Aromadendren
16	27.03	873	204	Kadinen
17	27.13	879	204	Kadinen izomeri
18	27.25	887	204	Kadinen izomeri
19	27.37	893	202	Kalamen
20	28.19	919	200	Belirlenemeyen
21	29.23	958	222	Palustrol
22	30.24	994	222	Globulol
23	30.29	998	222	Ledol
24	31.08	1022	222	δ -Cadinol
25	31.34	1037	236	Levomenol
26	33.51	1120	218	Nootkatone

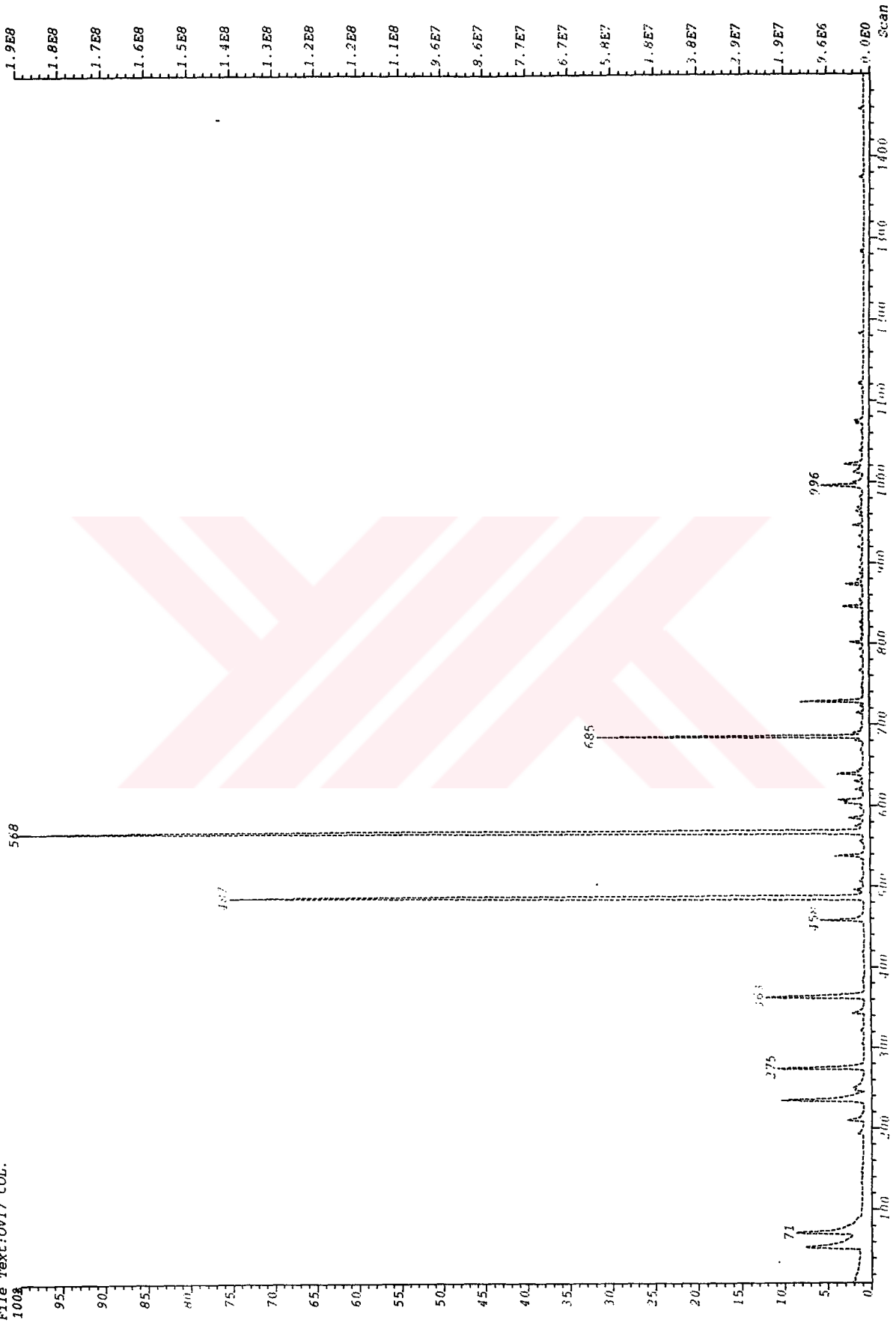
Tablo 9

File: BK-A-LAVANTA #1-1983 Acq: 28-AUG-1996 16:33:46 GC EI+ Magnet ZabSpecE
TIC (+RP) Exp: MRM
File Text: OV17 COL.



Şekil 39

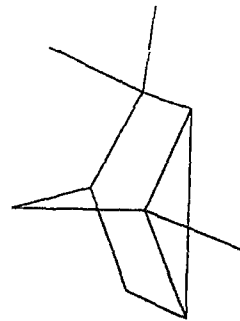
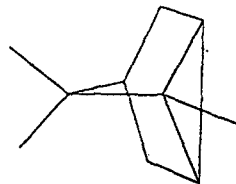
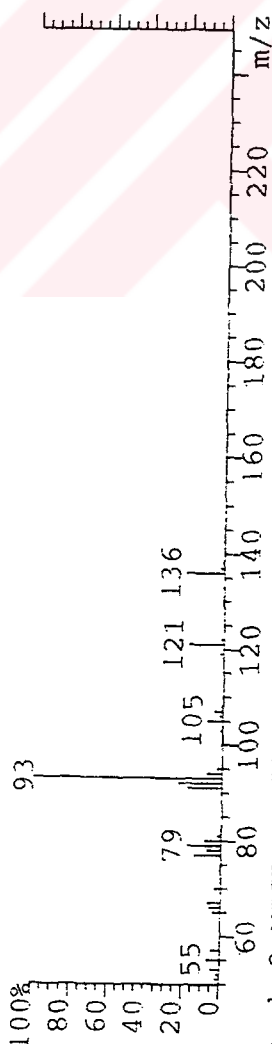
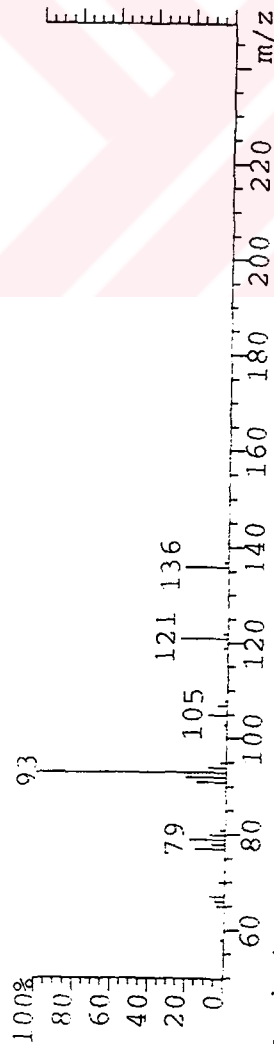
File: BK-A-LAVANTA #1-1983 Acq: 28-AUG-1996 16:33:46 GC EI+ Magnet ZabSpecE
TIC (+RPJ) Exp: MRM
File Text: OV17 COL.



Şekil 40

Libraries 1: NIST (62235) 2: NISTREP (12593)

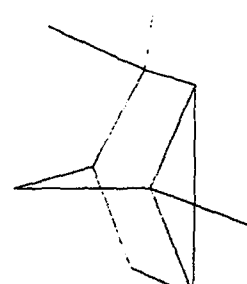
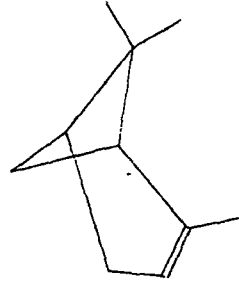
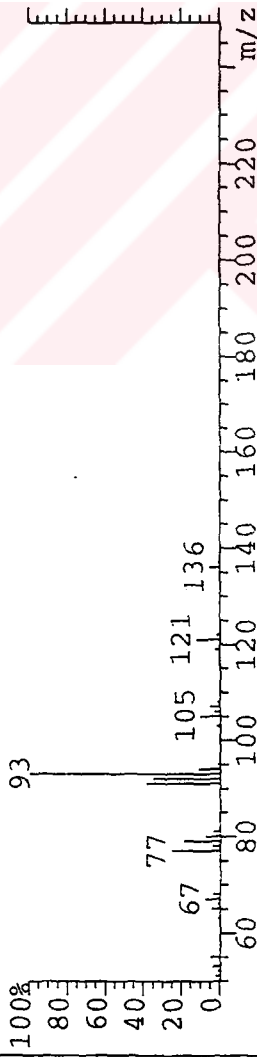
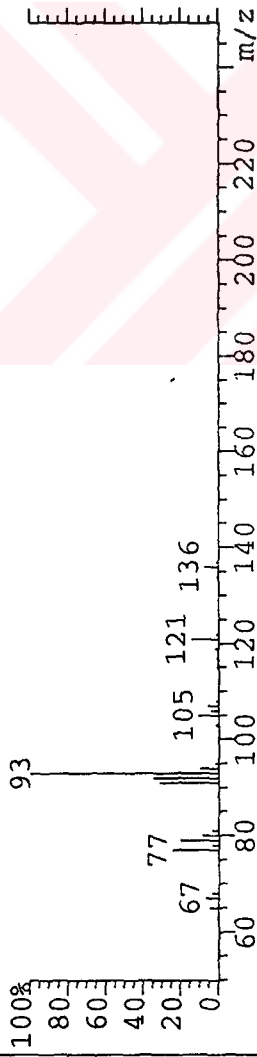
Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1 0
 Matches: 44 102 305 815 2064 4023 7324 12118 48033
 Total: 44 146 451 1266 3330 7353 14677 26795 74828
 Normal Search: 44 of 44 Rank: Purity Mass Weighting: On Presearch Minimum: 20
 File: BK-A-LAVANTA Ident: 192_195-181_189 Win 1000PPM Acquired: 28-AUG-1996 16:33:46 +8:20
 ZabspecE El+ Function: Magnet TIC: 921549



Şekil 41

Libraries 1: NIST (62235) 2: NISTREP (12593)

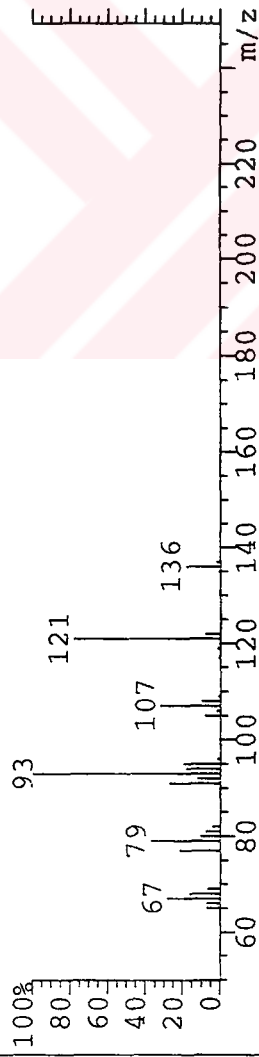
Peaks: 8 126 281 753 1850 3946 7907 14224 45691
 Matches: 50 176 457 1210 3060 7006 14913 29137 74828
 Total: 49 of 50 Rank: Purity Mass Weighting: On Presearch Minimum: 20
 Normal Search: 50 Rank: Purity Mass Weighting: On Presearch Minimum: 20
 File: BK-A-LAVANTA Ident: 209_212-201_206 Win 1000PPM Acquired: 28-AUG-1996 16:33:46 +8:48
 ZabSpecE EI+ Function: Magnet TIC: 2496657



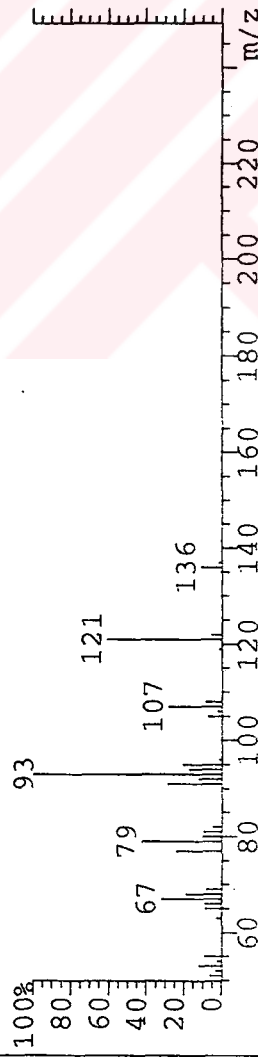
Şekil 42

Libraries 1: NIST (62235) 2: NISTREP (12593)

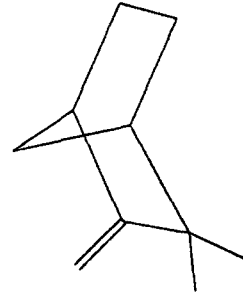
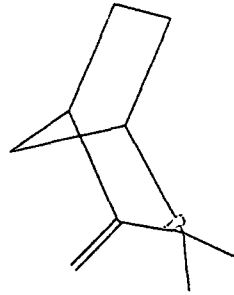
Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1 0
 Matches: 37 109 224 610 1636 3772 7983 15629 44828
 Total: 37 146 370 980 2616 6388 14371 30000 74828
 Normal Search: 37 of 37 Rank: Purity Mass Weighting: On Presearch Minimum: 20
 File: BK-A-LAVANTA Ident: 234_241-223_226 Win 1000PPM Acquired: 28-AUG-1996 16:33:46 +9:33
 ZabSpecE EI+ Function: Magnet TIC: 8571183



Rank: 1 NISTREP #3530 Purity: 972 Mixture: 972 Matched: 8 MF: C10H16 MW: 136 CAS: 79-92-5 NIST: 43971
 Name: Camphene SMILES: CC2(C)C1CCC(C1)C2=C



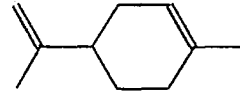
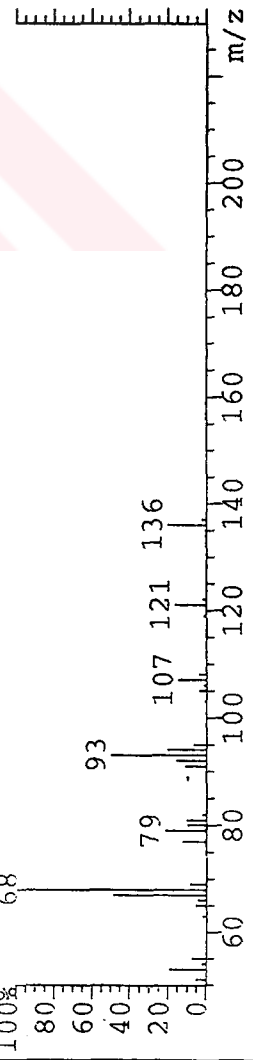
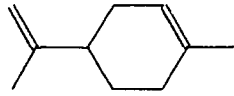
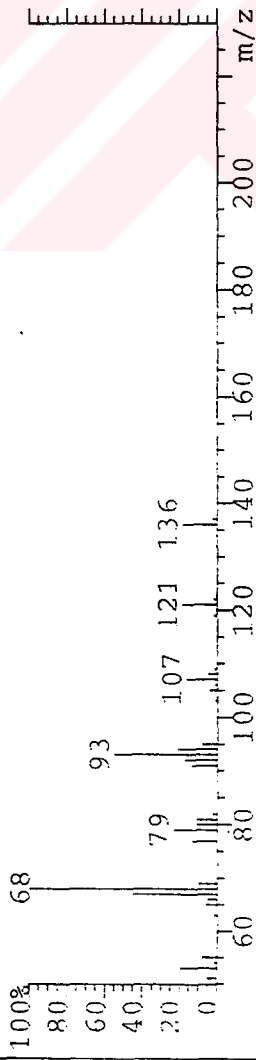
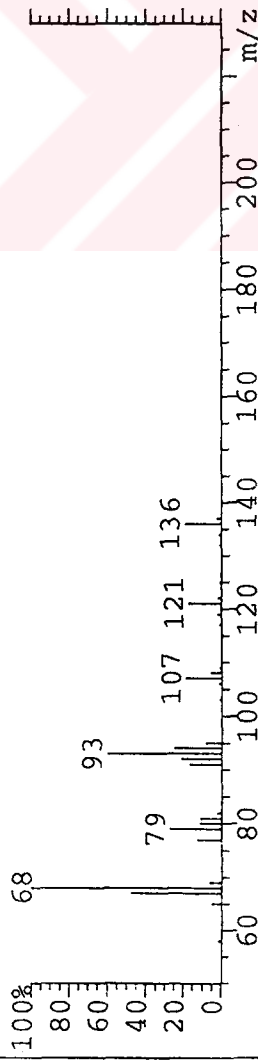
Rank: 2 NISTREP #3529 Purity: 961 Mixture: 962 Matched: 8 MF: C10H16 MW: 136 CAS: 79-92-5 NIST: 20991
 Name: Camphene SMILES: CC2(C)C1CCC(C1)C2=C



Şekil 43

Libraries 1: NIST (62235) 2: NISTREP (12593)

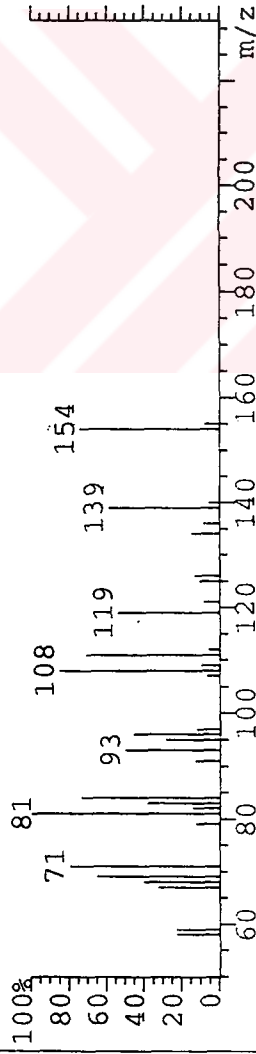
Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1 0
 Matches: 45 96 272 591 1443 3381 7638 15518 45844
 Total: 45 141 413 1004 2447 5828 13466 28984 74828
 Normal Search: 45 of 45 Rank: Purity Mass Weighting: On Presearch Minimum: 20
 File: BK-A-LAVANTA Ident: 343_348-333_338 Win 1000PPM Acquired: 28-AUG-1996 16:33:46 +12:31
 ZabSpecE FI+ Function: Magnet TIC: 1326781



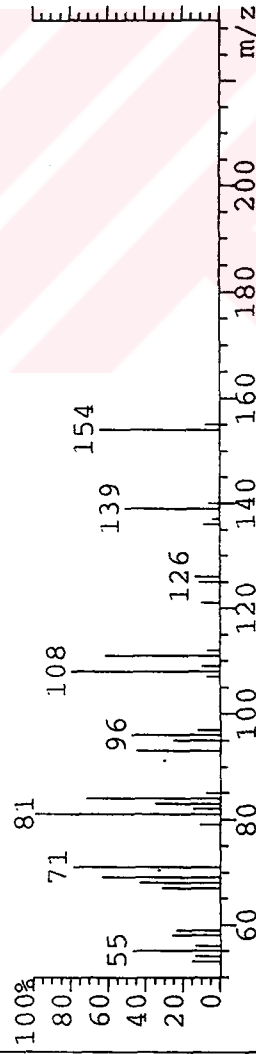
Şekil 44

Libraries 1: NIST (62235) 2: NISTREP (12593)

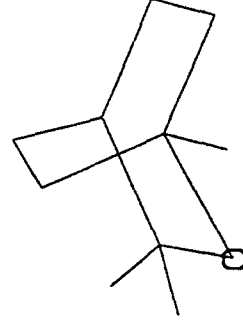
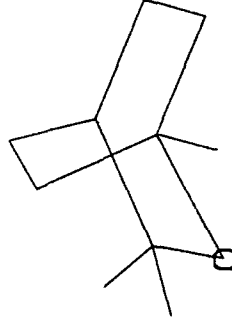
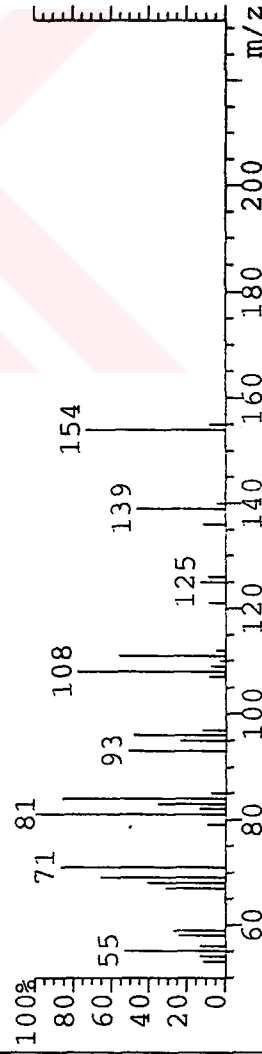
Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1 0
 Matches: 0 8 3 57 398 2226 8055 20055 44026
 Total: 0 8 11 68 466 2692 10747 30802 74828
 Normal Search: 47 of 68 Rank: Purity Mass Weighting: On Presearch Minimum: 20
 File: BK-A-LAVANTA Ident: 363_367-353_358 Win 1000PPM Acquired: 28-AUG-1996 16:33:46 +13:03
 ZabSpecE EI+ Function: Magnet TIC: 12507713



Name: Eucalyptol SMILES: CC12CCC(CC1)C(C)(C)O2



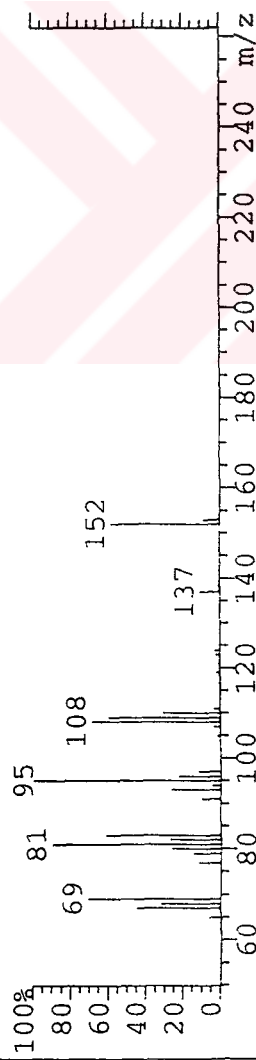
Name: Eucalyptol SMILES: CC12CCC(CC1)C(C)(C)O2



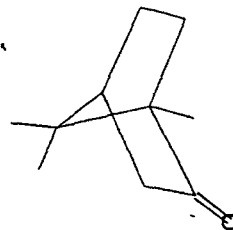
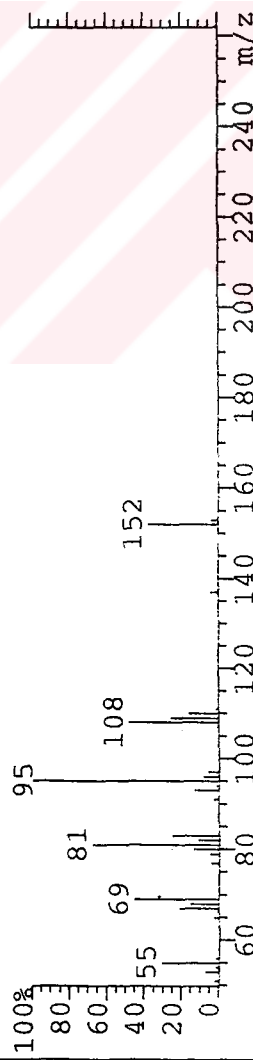
Şekil 45

Libraries 1: NIST (62235) 2: NISTREP (12593)

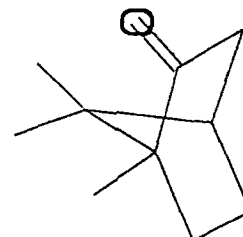
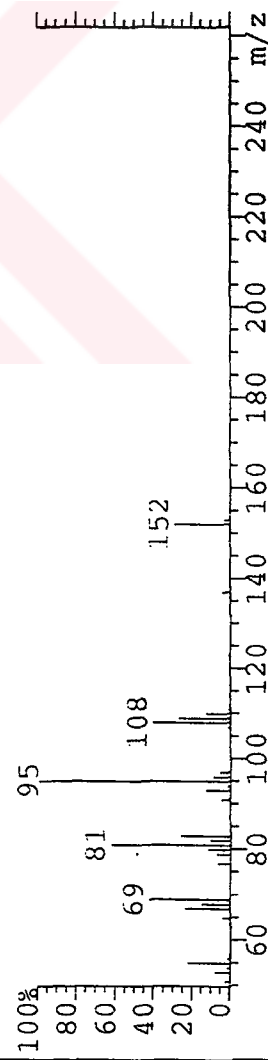
Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1 0
 Matches: 9 40 196 655 1504 3105 6589 14292 48438
 Total: 9 49 245 900 2404 5509 12098 26390 74828
 Normal Search: 47 of 49 Rank: Purity Mass Weighting: On Presearch Minimum: 20
 File: BK-A-LAVANTA Ident: 566_570-560_564 Win 1000PPM Acquired: 28-AUG-1996 16:33:46 +18:38
 ZabSpecE EI+ Function: Magnet TIC: 114679864



Rank: 1 NISTREP #4746 Purity: 895 Mixture: 895 Matched: 8 MF: C10H16O MW: 152 CAS: 76-22-2 NIST: 109291
 Name: Camphor SMILES: CC1(C)C2CCC1(C)C(=O)C2



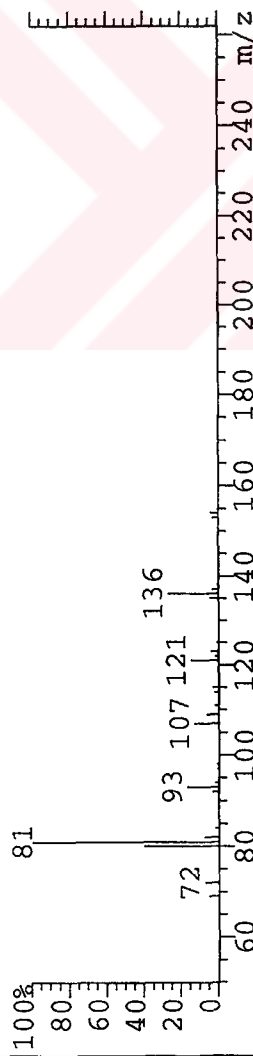
Rank: 2 NIST #10342 Purity: 892 Mixture: 892 Matched: 7 MF: C10H16O MW: 152 CAS: 464-49-3 NIST: 108495
 Name: Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-, (1R)- | CAMPHOR, (1R,4R)-(+)- | Alcanfor SMI»



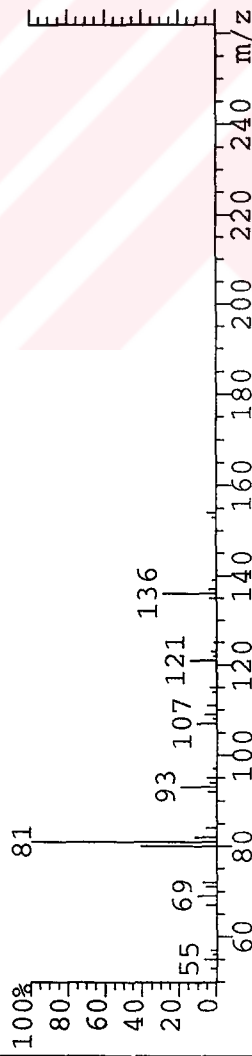
Şekil 46

Libraries 1: NIST (62235) 2: NISTREP (12593)

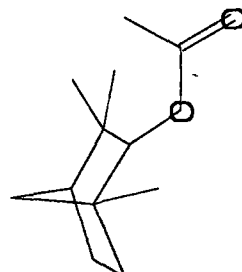
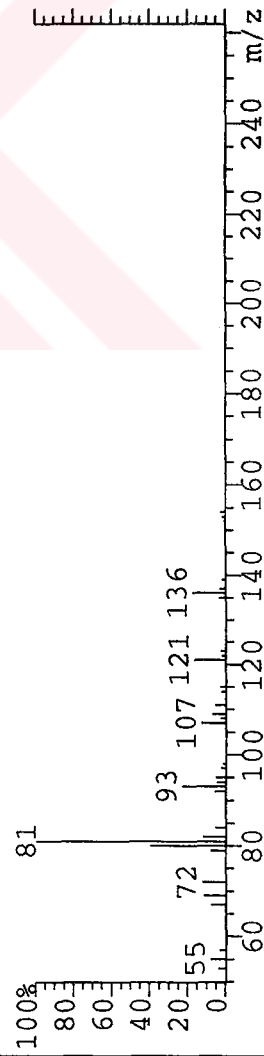
Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1 0
 Matches: 0 2 14 120 694 2281 6402 15913 49402
 Total: 0 2 16 136 830 3111 9513 25426 74828
 Normal Search: 34 of 136 Rank: Purity Mass Weighting: On Presearch Minimum: 20
 File: BK-A-LAVANTA Ident: 607_608-602_605 Win 1000PPM Acquired: 28-AUG-1996 16:33:46 +19:43
 ZabSpecE EI+ Function: Magnet TIC: 2795536



Rank: 1 NIST #21901 Purity: 982 Mixture: 982 Matched: 7 MF: C12H20O2 MW: 196 CAS: 13851-11-1 NIST: 1097
 Name: Fenchyl acetate | Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,3,3-trimethyl-, acetate | 1,3,3-Trimethyl-2-



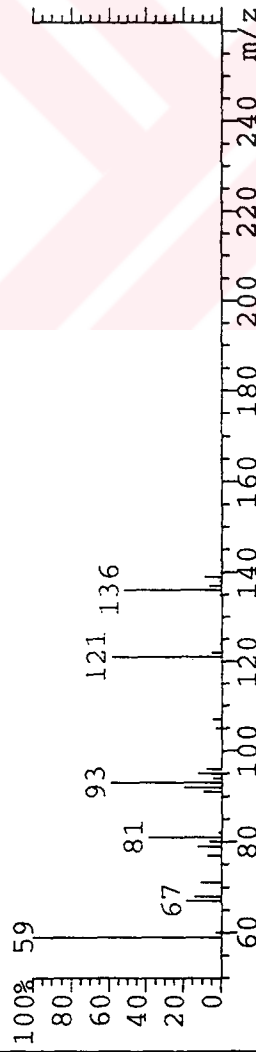
Rank: 2 NIST #21877 Purity: 960 Mixture: 960 Matched: 7 MF: C12H20O2 MW: 196 CAS: 76109-40-5 NIST: 7757
 Name: Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,3,3-trimethyl-, acetate, (1S-exo)- SMILES: CC(=O)OC2C1(C)CCC(C)C2



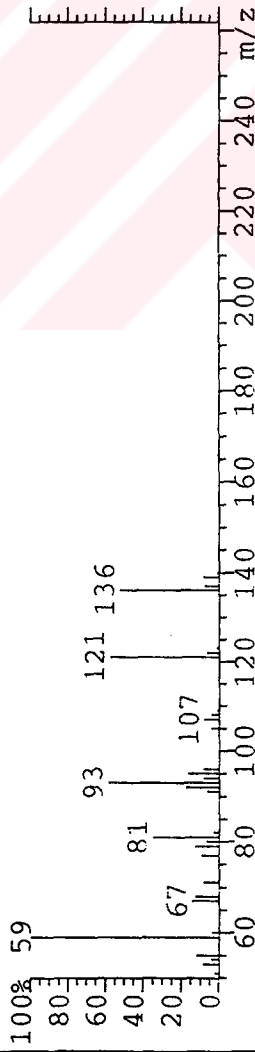
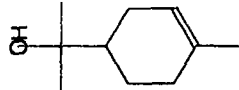
Şekil 47

LIBRARIES 1: NIST (62235) 2: NISTREP (12593)

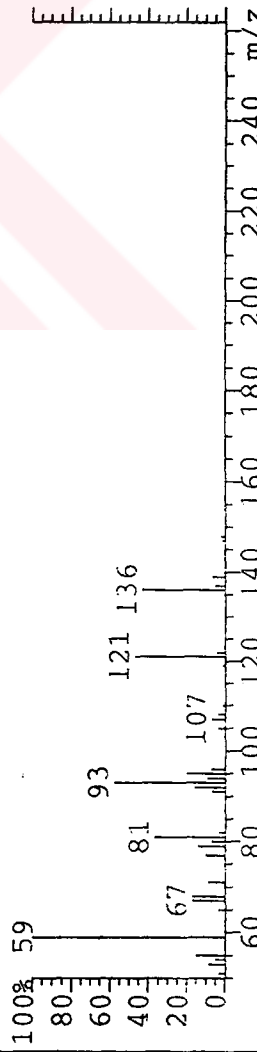
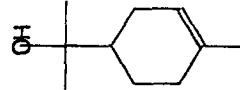
Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1 0
 Matches: 1 16 129 403 1324 3117 7477 17925 44436
 Total: 1 17 146 549 1873 4990 12467 30392 74828
 Normal Search: 92 of 146 Rank: Purity Mass Weighting: On Presearch Minimum: 20
 File: BK-A-LAVANTA Ident: 620_622-615_618 Win 1000PPM Acquired: 28-AUG-1996 16:33:46 +20:06
 ZabSpecE EI+ Function: Magnet TIC: 970144



Rank:1 NISTREP #4902 Purity:987 Mixture:988 Matched:8 MF:C10H18O MW:154 CAS:10482-56-1 NIST:439
 Name:3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.,4-trimethyl-, (S)- SMILES:CC1=CCC(CC1)C(C)(C)O
 α -Terpineol



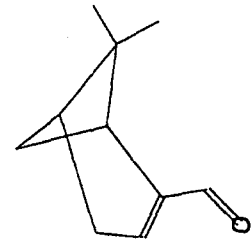
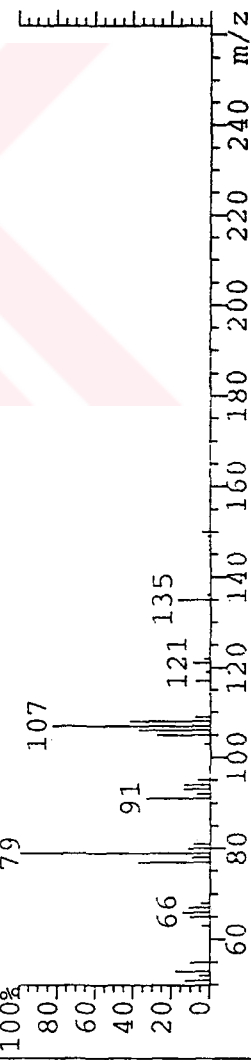
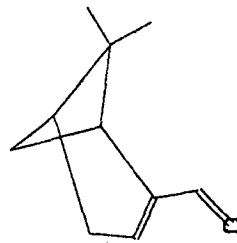
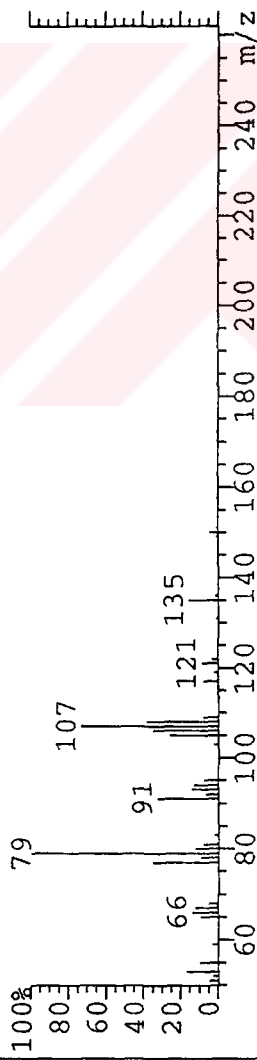
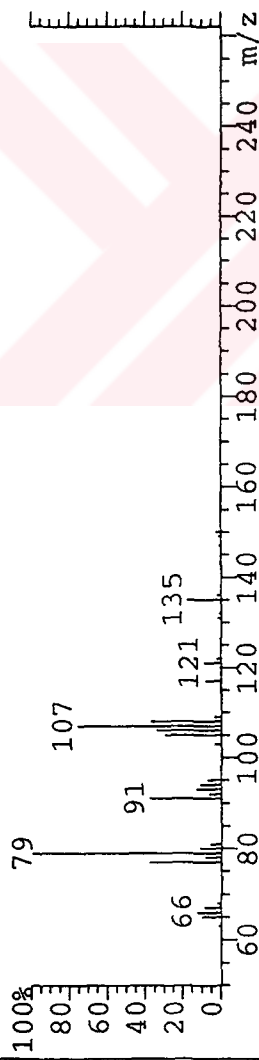
Rank:2 NIST #10948 Purity:969 Mixture:970 Matched:7 MF:C10H18O MW:154 CAS:10482-56-1 NIST:36610
 Name:3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.,4-trimethyl-, (S)- | p-Menth-1-en-8-ol, (S)-(-)->



Şekil 48

Libraries 1: NIST (62235) 2: NISTREP (12593)

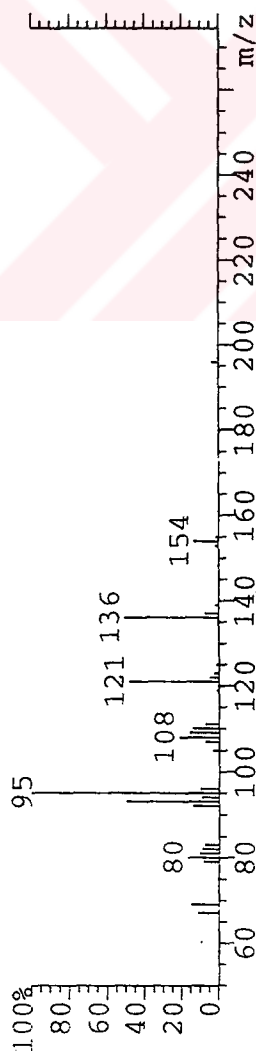
Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1 0
 Matches: 8 59 265 995 1938 4136 7474 13668 46285
 Total: 8 67 332 1327 3265 7401 14875 28543 74828
 Normal Search: 51 of 67 Rank: Purity Mass Weighting: On Presearch Minimum: 20
 File: BK-A-LAVANTA Ident: 630_632-626_628 Win 1000PPM Acquired: 28-AUG-1996 16:33:46 +20:22
 ZabSpecE EI+ Function: Magnet TIC: 1421272



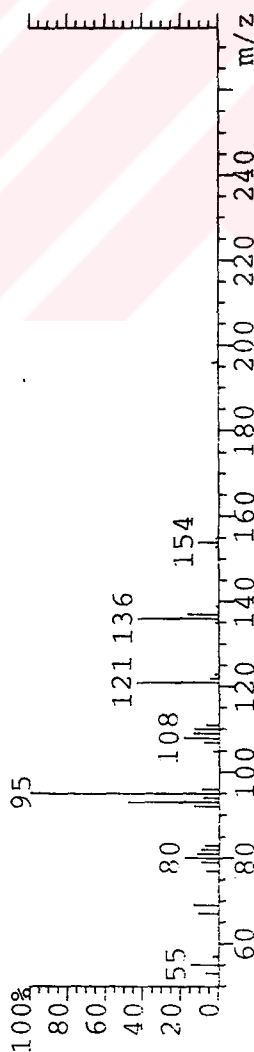
Şekil 49

XXXXXXXXXX 1. NIST (044333) 2: NISTREF (14593)

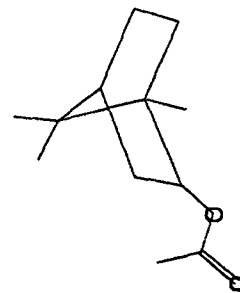
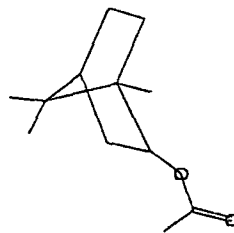
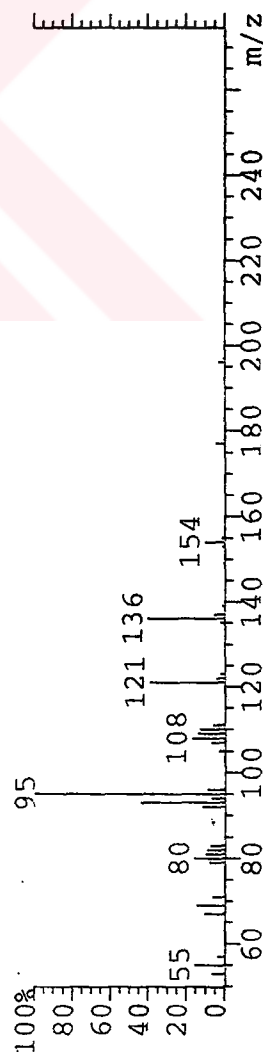
Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1 0
 Matches: 0 20 32 180 721 2234 6462 17935 47244
 Total: 0 20 52 232 953 3187 9649 27584 74828
 Normal Search: 19 of 20 Rank: Purity Mass Weighting: On Presearch Minimum: 20
 File: BK-A-LAVANTA Ident: 684_686-678_681 Win 1000PPM Acquired: 28-AUG-1996 16:33:46 +21:51
 ZabSpecE EI+ Function: Magnet TIC: 37276176



Rank: 1 NISTREF #7266 Purity: 979 Mixture: 979 Matched: 7 MF: C12H20O2 MW: 196 CAS: 76-49-3 NIST: 43949
 Name: Bornyl acetate SMILES: CC(=O)OC1CC2CCC1(C)C2(C)C

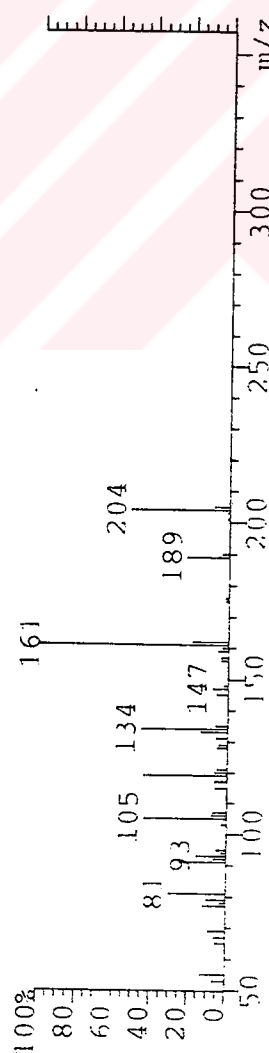
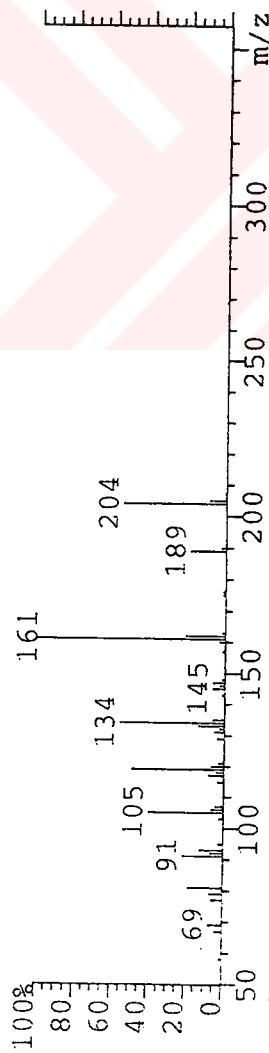


Rank: 2 NISTREF #7243 Purity: 977 Mixture: 977 Matched: 7 MF: C12H20O2 MW: 196 CAS: 5655-61-8 NIST: 365
 Name: Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, acetate, (1S-endo) - SMILES: CC(=O)OC1CC2CCC1(C)C

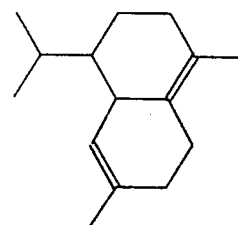
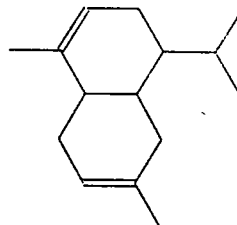


Şekil 50

Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1 0
 Matches: 10 44 85 205 678 1989 6557 18059 47201
 Total: 10 54 139 344 1022 3011 9568 27627 74828
 Normal Search: 54 of 54 Rank: Purity Mass Weighting: On Presearch Minimum: 20
 File: BK-A-LAVANTA Ident: 873_875-867_870 Win 1000PPM Acquired: 28-AUG-1996 16:33:46 +27:03
 ZabSpecE EI+ Function: Magnet TIC: 2430768



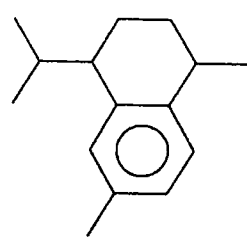
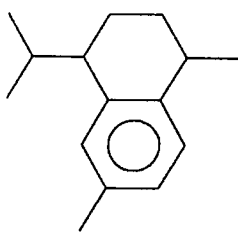
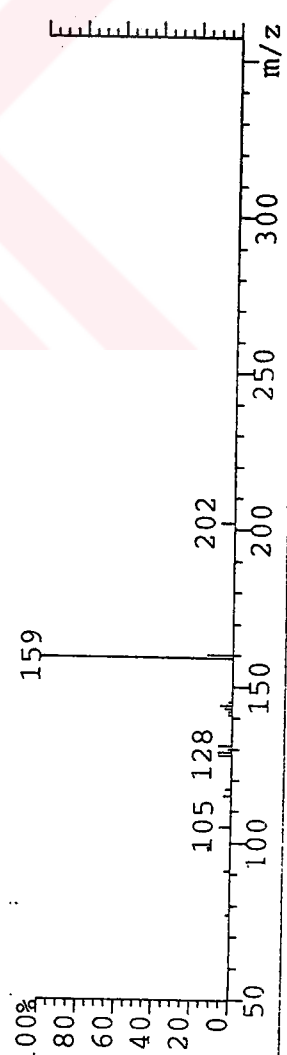
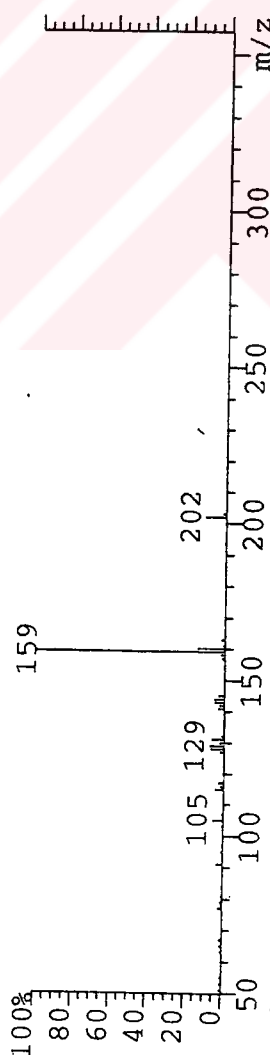
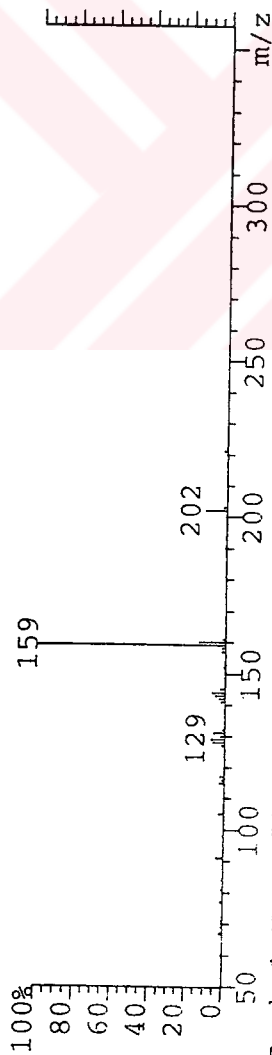
Nuruk



Şekil 51

Libraries 1: NIST (62235) 2: NISTREP (12593)

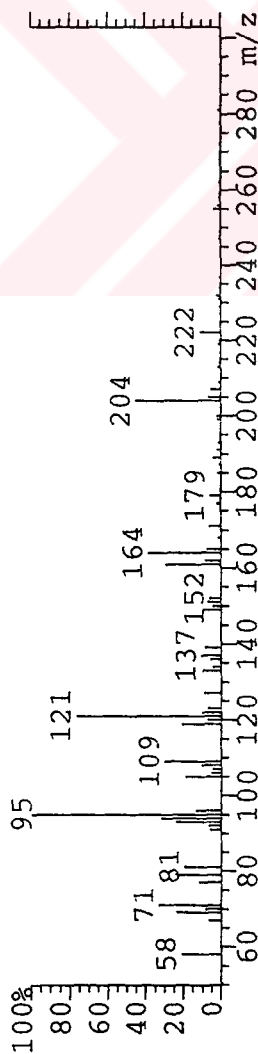
Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1 0
 Matches: 1 3 15 63 355 1141 3876 11311 58063
 Total: 1 4 19 82 437 1578 5454 16765 74828
 Normal Search: 30 of 82 Rank: Purity Mass Weighting: On Presearch Minimum: 20
 File: BK-A-LAVANTA Ident: 893_896-890_892 Win 1000PPM Acquired: 28-AUG-1996 16:33:46 +27:37
 ZabsSpecE EI+ Function: Magnet TIC: 481605



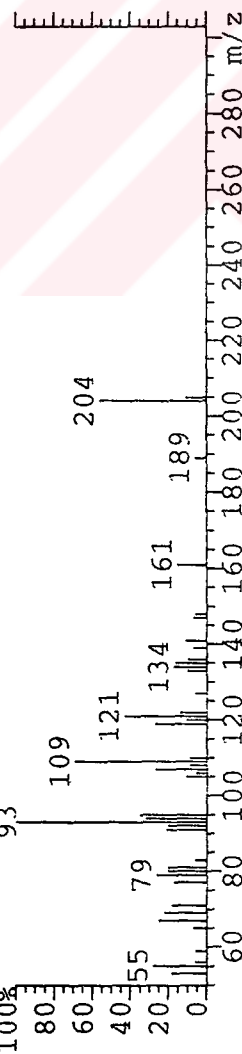
Kalamer

Şekil 52

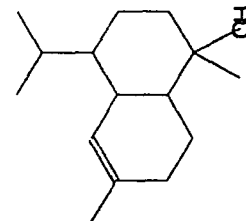
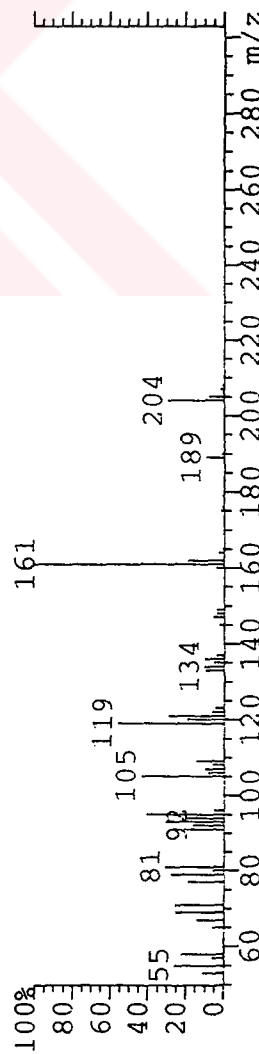
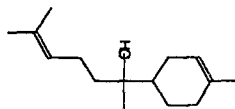
Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1 0
 Matches: 0 3 19 84 293 6107 21530 45257
 Total: 0 3 22 106 399 8041 29571 74828
 Normal Search: 16 of 22 Rank: Purity Mass Weighting: On Presearch Minimum: 20
 File: BK-A-LAVANTA Ident: 1037_1040-1033_1035 Win 1000PPM Acquired: 28-AUG-1996 16:33:46 +31:34
 ZabSpecE EI+ Function: Magnet TIC: 325346



Rank: 1 NIST #28210 Purity: 472 Mixture: 537 Matched: 7 MF: C15H26O MW: 222 CAS: 23089-26-1 NIST: 58545
 Name: Levomenol | 3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha., 4-dimethyl-.alpha.-(4-methyl-3-pentenyl)-, [»



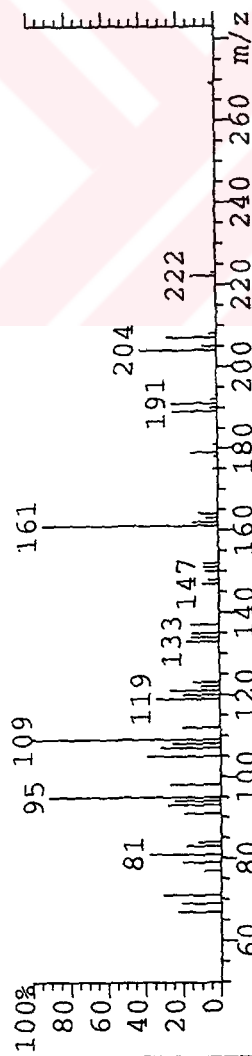
Rank: 2 NIST #28235 Purity: 444 Mixture: 452 Matched: 6 MF: C15H26O MW: 222 CAS: 19435-97-3 NIST: 10457
 Name: 1-Naphthalenol, 1,2,3,4,4a,7,8,8a octahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-, [1R-(1.alpha.»



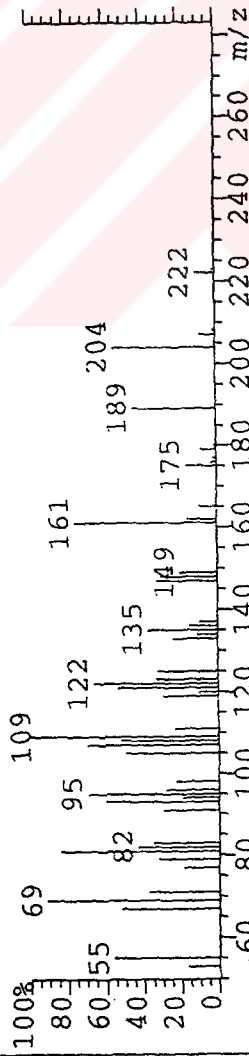
Şekil 54

Libraries 1: NIST (62235) 2: NISTREP (12593)

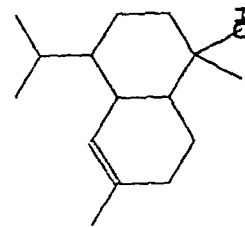
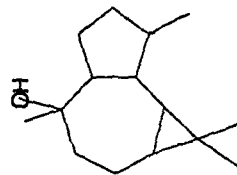
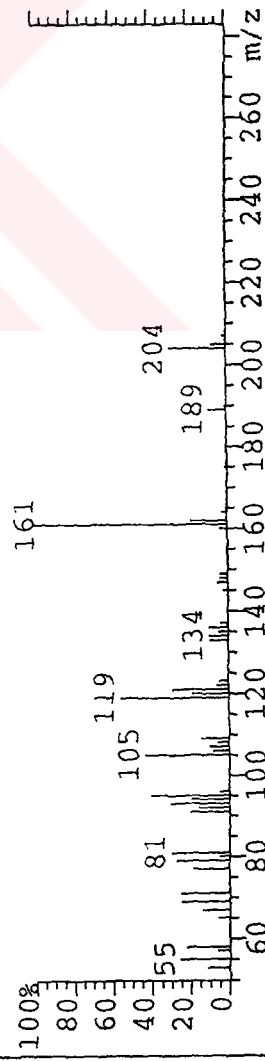
Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1 0
 Matches: 1 4 33 137 273 1733 7206 18795 46646
 Total: 1 5 38 175 448 2181 9387 28182 74828
 Normal Search: 36 of 38 Rank: Purity Mass Weighting: On Presearch Minimum: 20
 File: BK-A-LAVANTA Ident: 1022_1023-1017_1020 Win 1000PPM Acquired: 28-AUG-1996 16:33:46 +31:08
 ZabSpecE EI+ Function: Magnet TIC: 2894534



Rank: 1 NIST #28237 Purity: 672 Mixture: 702 Matched: 6 MF: C15H26O MW: 222 CAS: 489-41-8 NIST: 109228
 Name: (-)-Globulol | 1H-Cycloprop[elazulen-4-ol, decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1a.alpha.)]



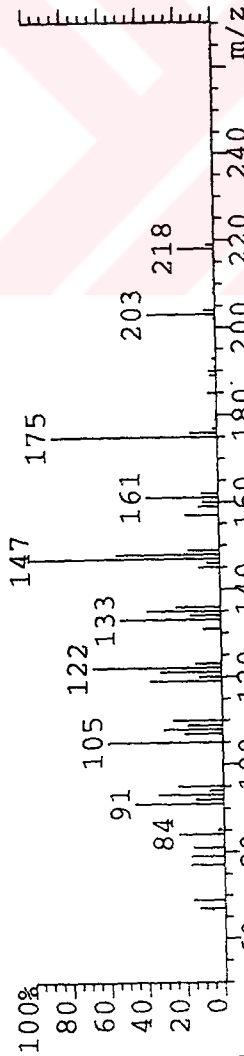
Rank: 2 NIST #28235 Purity: 639 Mixture: 677 Matched: 6 MF: C15H26O MW: 222 CAS: 19435-97-3 NIST: 10457
 Name: 1-Naphthalenol, 1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-, [1R-(1.alpha.)]



Şekil 55

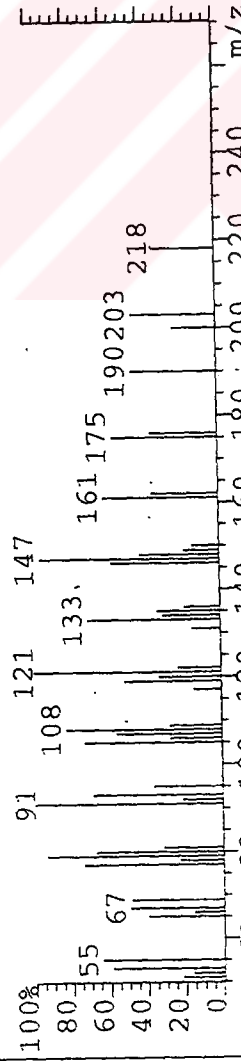
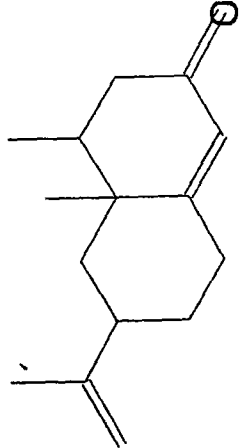
1044331 4: NISTREF (12593)

Peaks: 8 7 6 5 4 3 2 1 0
 Matches: 0 8 36 203 619 2258 6645 16113 48946
 Total: 0 8 44 247 866 3124 9769 25882 74828
 Normal Search: 31 of 44 Rank: Purity Mass Weighting: On Presearch Minimum: 20
 File: BK-A-LAVANTA Ident: 1120_1122-1111_1117 Win 1000PPM Acquired: 28-AUG-1996 16:33:46 +33:51
 ZabsSpec EI+ Function: Magnet TIC: 840907

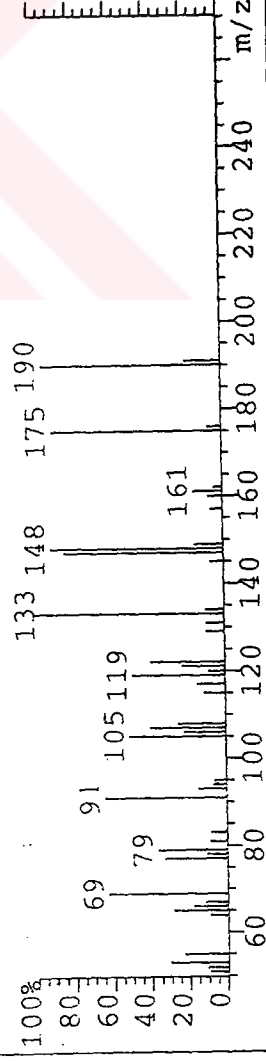


Rank: 1 NIST #27262 Purity: 601 Mixture: 626 Matched: 6 MF: C15H22O MW: 218 CAS: 4674-50-4 NIST: 122007
 Name: 2(3H)-Naphthalenone, 4,4a,5,6,7,8-hexahydro-4,4a-dimethyl-6-(1-methylethenyl)-, [4R-(4.alpha.)

Nootkatone



Rank: 2 NISTREF #7011 Purity: 580 Mixture: 665 Matched: 7 MF: C13H18O MW: 190 CAS: 38818-55-2 NIST: 109
 Name: Megastigmatrienone



Picture
not
available

Şekil 56

II.C.4.Süperkritik Ekstraksiyon ve Su buharı Destilasyon Yöntem Sonuçlarının Karşılaştırılması

Süperkritik ekstraksiyon ve su buharı yöntemleri ile elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda karşılaştırmalı olarak-verilmiştir.

Su Buharı Yöntemi		Süperkritik Ekstraksiyon			
		(1+2+3)		(4+5+6)	
Bileşik	R.T.	R.T.	Bileşik	R.T.	Bileşik
α -Thujen	8.20	-	-	-	-
α - Pinen	8.48	-	-	-	-
Kamfen	9.33	-	-	-	-
D- Limonen	12.31	-	-	-	-
Ökaliptol	13.03	5.08	Ökaliptol	4.14	Ökaliptol
Fenkon	16.25	7.12	Fenkon	6.46	Fenkon
Kafur	18.38	9.04	Kafur	8.29	Kafur
Terpinen 4-ol	19.06	-	-	-	-
Fenkil asetat	19.43	-	-	-	-
α - Terpeneol	20.06	-	-	-	-
2-Norpinen -2 karboksi aldehit	20.22	-	-	-	-
Bornil asetat	21.51	13.38	Bornil asetat	12.48	Bornil asetat
Aromadendren	26.17	15.29	Aromadendren	-	-
-	-	19.35	γ -Murolen	-	-
Kadinen	27.03	-	-	-	-
Kadinen izomeri	27.13	-	-	-	-
Kalamen	27.37	19.44	Kalamen	-	-
Palustrol	29.23	-	-	-	-
Globulol	30.24	21.12	Globulol	20.17	Globulol
Ledol	30.29	21.27	Ledol	20.32	Ledol

Tablo 10

II.D. *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas* Bitkisinin Toprakaltı (Kök) Kısımlarının Organik Bileşiklerinin Araştırılması

II.D.1. Materyal

II.D.1.1. Bitkisel Materyal

Bu çalışmada bitkisel materyal olarak, Lamiaceae (Labiatae) familyasına ait *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas* türü kullanıldı. *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas* bitkisi 15 Nisan 1996 tarihinde Çayırova - Gebze'den toplandı.

Bitkiler Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi bitki herbaryumunda teşhis edildi.

II.D.1.2. Kimyasal Materyal

Adsorbanlar: Silikajel 60 G, Silikajel 60 HF₂₅₄ (Merck), ince tabaka kromatografisi ve preparatif ince tabaka kromatografisi için silikajel kaplı alüminyum plaklar (DC Alufolien, Kieselgel 60 F₂₅₄, Merck) veya cam plaklar, kolon kromatografisi için; silikajel 60 G (Kieselgel 60 G, 0.063 - 0.200, Merck) ve kolonda jel permasyon kromatografisi için Sephadex LH-20 (Pharmacia)

Asetilleme için ; piridin, asetik anhidrid

Ayırma ve saflaştırma işlemlerinde kullanılan organik çözücüler ;

Kloroform, diklorometan, eter, benzen, toluen, petrol eteri (40-60°) (Merck), aseton, etil asetat, metanol, hekzan ve etil alkol.

II.D.2. Yöntem

II.D.2.1. Ekstraksiyon İşlemi

Lavandula stoechas ssp. *stoechas* bitkisi gölgede kurutuldu. Toprak altı kısımları, değirmende toz edildi ve 800 gr. tartılarak ekstraksiyon kaplarına dolduruldu. 48 saatte bir süzmek üzere öğütülmüş bitki iki kere kloroform ile iki gün süresince masere edildi. Çözücüler evaporatörde (60°C) buharlaştırıldı ve bitkiden toplam 16gr. ekstre elde edildi.

II.D.2.2. Kromatografik Yöntemler

II.D.2.2.1. Sütun Kromatografisi

Elde edilen kuru ekstre sütun kromatografi işlemi için hazırlandı. Bunun için ekstre, çözünebileceği kadar kloroform-aseton karışımı ile çözüldü, üzerine silikajel ilave edildi ve çözücü evaporatörde (60°C) kuruluğa kadar buharlaştırıldı. 22 cm boyunda ve 4cm çapındaki cam sütun yüksekliğinin 2/3 'üne kadar aynı parçacık büyüklüğündeki silikajelle dolduruldu ve üzerine hazırlanmış ekstre ilave edildi.

Ekstre, nonpolardan polara doğru çeşitli çözücü ve çözücü karışımları ile elüe edilerek kabaca fraksiyonlandırıldı. Preparatif olarak silikajel sütunda ayrılmayan az miktardaki bazı maddeleri ayırmak ya da saflaştırmak için zaman zaman daha iyi ayırma sağlayan Sephadex LH-20 jeli ile hazırlanmış daha küçük boyutlu sütunlardan yararlanıldı.

II.D.2.2.2. İnce Tabaka Kromatografisi

Sütun kromatografisinden elde edilen fraksiyonlar, ya silikajel kaplı cam plaklara veya hazır alüminyum plaklara (DC Alufolien Kiesegel 60 F₂₅₄ Merck) tatbik edilerek uygun çözücü sistemlerinde yürütüldü. Bileşiklere ait lekeler 254 nm dalga boyundaki UV ışık altında incelendi. Plağa seryum sülfat belirteci püskürtülerek 110°C'de 5-10 dk. bekletildiğinde lekeler çeşitli renkler oluşturdu. Benzer olanlar birleştirildi ve tüm fraksiyonlar tek tek incelendi.

II.D.2.2.3. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi

Az miktardaki maddeleri ayırmak ve saflaştırmak için silikajel kaplı alüminyum plaklar kullanıldı. Miktarı çok olan maddeleri ayırmak için, 100gr. silikajel 60 G ve 50 gr. silikajel 60 HF₂₅₄ adsorbanları 300 ml distile su ile 15 dk. çalkalamak suretiyle karıştırılarak 20x20 boyutundaki cam plaklara CAMAG cam plak çekme aleti ile 0.5mm kalınlığında döküldü ve oda sıcaklığında kurutulduktan sonra etüvde 105°C'de bir saat aktive edilerek hazırlanan plaklar kullanıldı. Karışım halde bulunan maddeler, plaklara tatbik edilerek uygun çözücü ve/veya çözücü karışımlarında yürütülerek ayrılmalari sağlandı. UV ışık (254 nm) altında maddelere ait bantlar işaretlendi ve bu bantlar kazınarak erlenlere aktarıldı. Silikajelin üzerini örtecek kadar uygun çözücü (genellikle kloroform veya aseton) ilave edildikten iki saat sonra süzgeçli cam huni yardımıyla vakumda süzüldü ve çözücünün evaporatörde buharlaştırılmasıyla bileşikler saf halde elde edildiler.

II.D.2.3. Spektroskopik Yöntemler

II.D.2.3.1. UV Spektroskopisi

Spektrumlar Varian Techtron 635 cihazında 1 cm'lik kuvars küvetlerde alındı. Ölçümler bileşiklerin metanoldeki çözeltilerinde alındı.

II.D.2.3.2. IR Spektroskopisi

IR spektrumları için Tübitak Kimya Bölümündeki "Perkin Elmer 577 Grating Spectrophotometer" cihazı kullanıldı.

II.D.2.3.3. ¹H NMR ve ¹³C NMR Spektroskopisi

NMR spektrumları TÜBİTAK Enstrümental Analiz Laboratuvarındaki Bruker AC 200 L aletinde (¹H NMR-200MHz) alınmıştır. Standart olarak tetrametilsilan ve çözücü olarak dötöro kloroform ve bazı maddeler için diğer dötöro çözücüler kullanılmıştır.

II.D.2.3.4. Kütle Spektroskopisi

TÜBİTAK Kimya Bölümündeki VG ZAB Spec GS - MS aleti kullanıldı.

II.D.2.4. Belirteçler

II.D.2.4.1. Terpenoid Belirteçleri

II.D.2.4.1.1. Serik Sülfat Belirteci

2 gr.seryum (IV) sülfatın 100 ml. %10'luk HCl'de çözülmesi ile hazırlandı. Belirteç püskürtüldükten sonra kromatografi plağı 110°C 'de renkli lekelerin oluşumuna kadar (ortalama 5 dakika) bekletildi.

II.D.2.5. Uygulanan kimyasal reaksiyonlar

II.D.2.5.1. Asetilleme

5-10 mg. madde susuz bir armudi balon içine alındı, üzerine 1ml piridin, 1ml asetanhidrid ilave edilerek ağzı kapalı olarak 24 saat oda sıcaklığında bekletildi. Bu sürenin sonunda piridin kokusu kalmayınca kadar defalarca benzen veya metanol ilave edilerek vakumda kuruluğa kadar buharlaştırıldı. İnce tabaka kromatografisi ile kontrol edildi ve saf olmayan reaksiyon ürünleri preparatif ince tabaka kromatografisi ile ayrıldı.

II.D.3. Bulgular

***Lavandula stoechas* ssp. *stoechas* bitkisinin köklerinden elde edilen bileşikler**

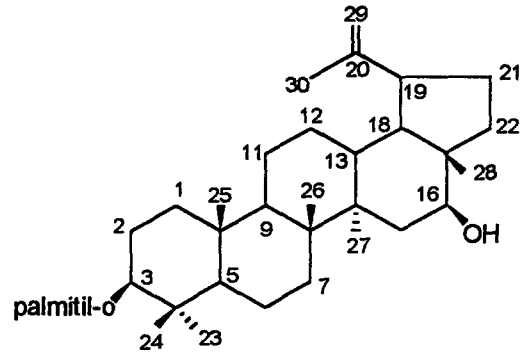
Lavandula stoechas ssp. *stoechas* bitkisinin toprak altı kısmından (800 gr) ile çalışıldı. Kloroformla ekstraksiyon ve çöktürme işlemleri sonucunda 16 gr. kuru ekstre elde edildi. Kuru ekstre paketleme usulüne göre hazırlanarak flaş kromatografisinde aşağıdaki çözücü sistemi ile yıkanarak fraksiyonlandırıldı :

- 1- Hekzan %100 (v/v)
- 2- Hekzan : Diklorometan 95 : 5 (v/v)
- 3- Hekzan : Diklorometan 90 : 10 (v/v)
- 4- Hekzan : Diklorometan 80 : 20 (v/v)
- 5- Hekzan : Diklorometan 70 : 30 (v/v)
- 6- Hekzan : Diklorometan 60 : 40 (v/v)
- 7- Hekzan : Diklorometan 50 : 50 (v/v)
- 8- Hekzan : Diklorometan 25 : 75 (v/v)
- 9- Diklorometan % 100 (v/v)
- 10- Metanol : Diklorometan 2 : 98 (v/v)
- 11- Metanol : Diklorometan 5 : 95 (v/v)
- 12- Metanol : Diklorometan 10 : 90 (v/v)
- 13- Metanol : Diklorometan 25 : 75 (v/v)
- 14- Metanol : Diklorometan 50 : 50 (v/v)
- 15- Metanol %100 (v/v)

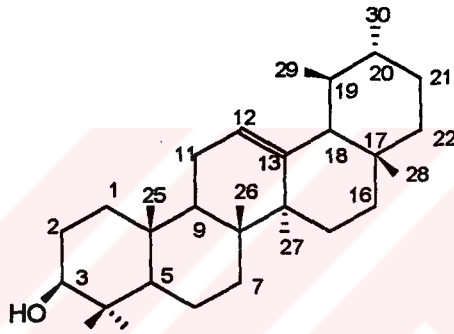
Sütundan 15 eluat alındı ve ince tabaka kromatografisi ile incelendi. Fraksiyonlardan izole edilerek preparatif ince tabaka ve kristallendirme ile saflaştırılan bileşiklerin yapısı IR, UV, ¹H NMR ve MS spektroskopisi ile incelenerek 16β-hidroksi lupeol 3 palmitat, β-amyrin, β-sitosterol asetat, β-sitosterol, oleanolik asit 3-asetat, betülin, 3β-24 dihidroksi olean-12-en, 18-hidroksi-14-norursan-12,14-dien-30-al-28 oik asit, dimerik cis ve trans-4-O metil kafeik asit oktanol esteri, virgatik asit-29-al (1-oxo-3β-hidroksiolean-12-en-29-al-28-oik asit) oldukları belirlenmiştir.

II.D.3.1. Elde Edilen Bileşikler

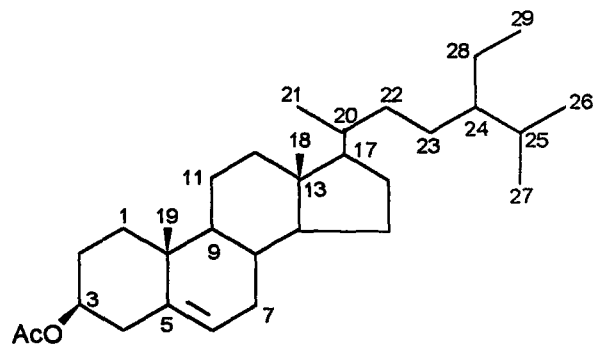
16 β -Hidroksi lupeol 3-palmitat



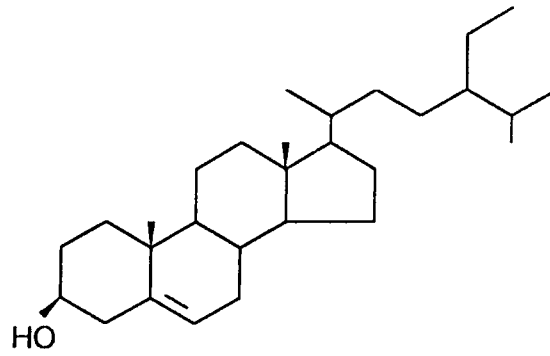
α -Amirin



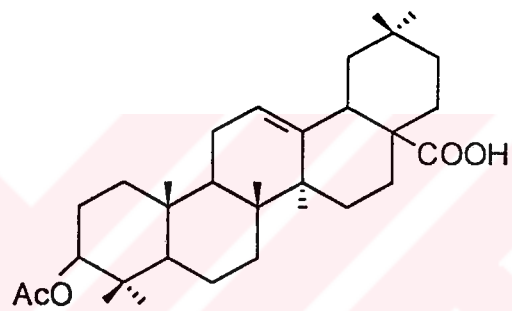
β -Sitosterol Asetat



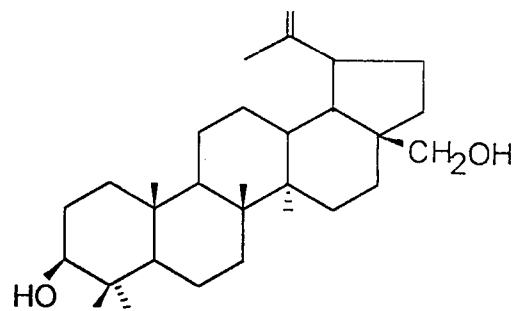
β-Sitosterol



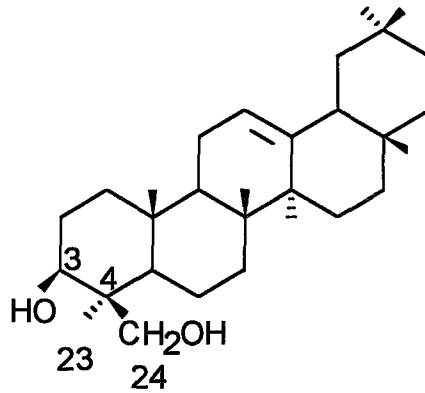
Oleanolik asit 3-asetat



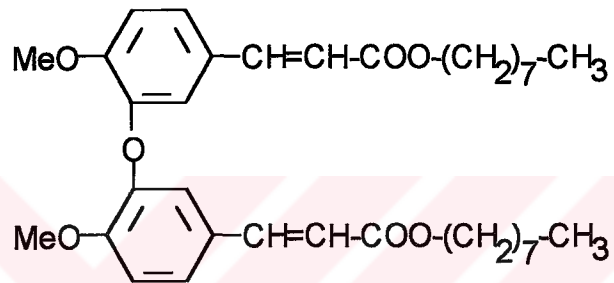
Betülin



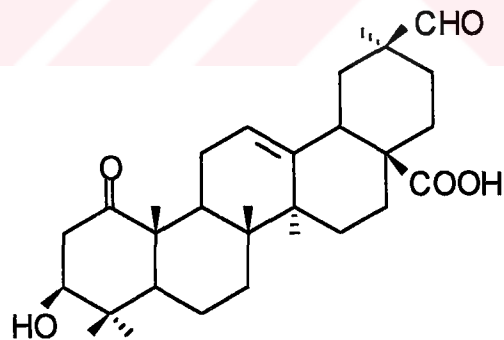
3 β , 24 Dihidroksi-olean-12-en



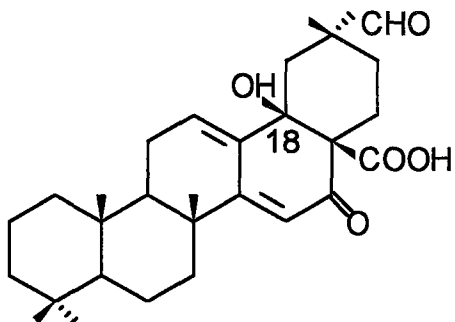
Dimerik Cis ve trans-4-O metil kafeik asit oktanol esterleri



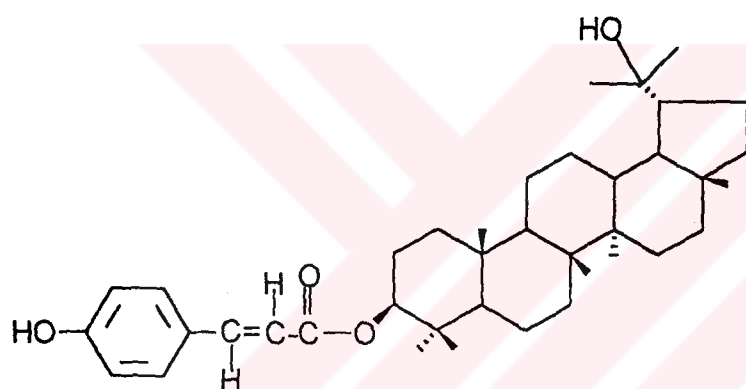
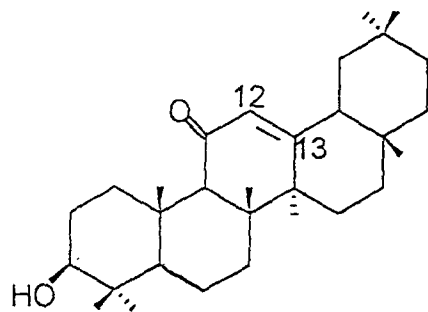
Virgatic Asit-29-al (1-oxo-3 β -hidroksiolean-12-en-29-al-28-oik asit)



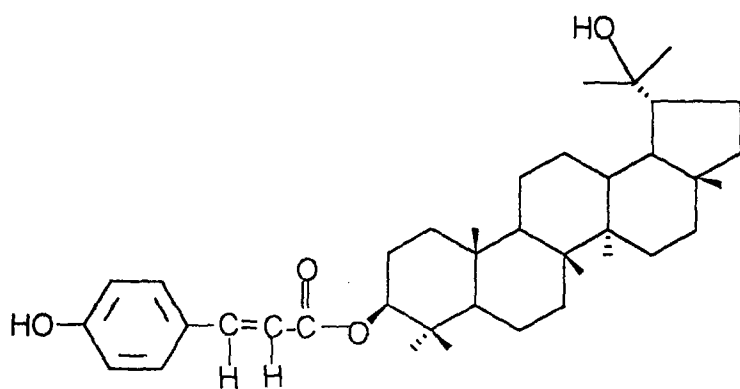
18-Hidroksi-14-norursan- Δ^{12} , Δ^{14} - dien-30 al-28 oik asit



3 β -Hidroksi 11-oxo- olean-12-en (11-oxo- β -amirin)

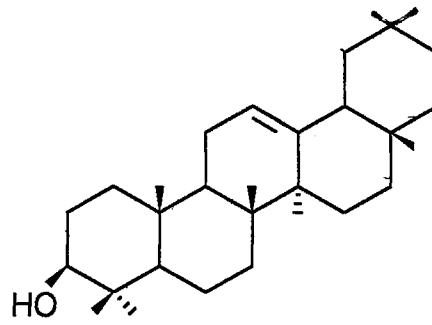


Monogininol A trans kumarol ester



Monogininol A cis kumarol ester

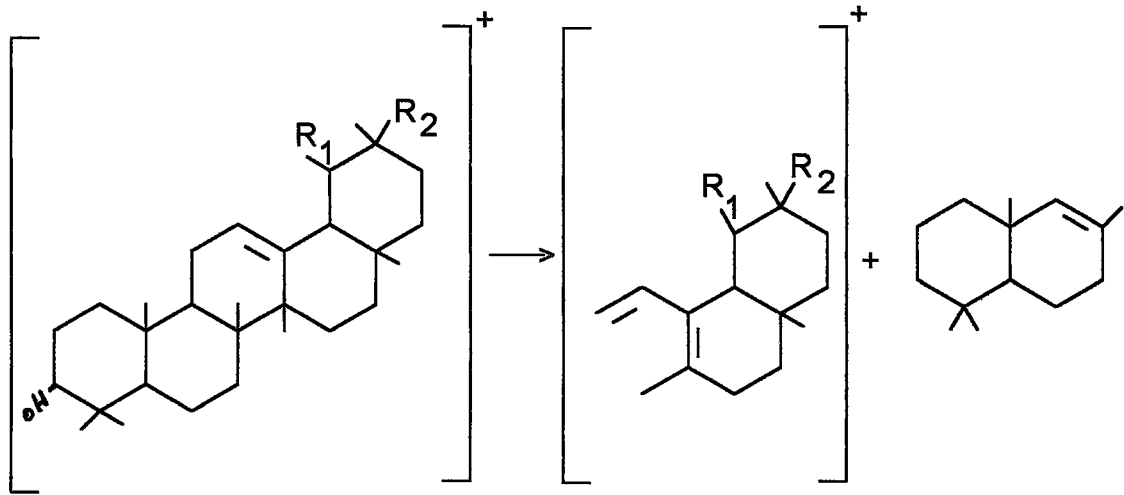
II.D.3.1.1. β -Amirin



α -amyrin beyaz kristaller halinde elde edilmiştir. IR spektrumunda (şekil 58), 3400, 2920, 2850, 1455, 1380 cm^{-1} 'lerde görülen bantlar tipik triterpen özelliği göstermektedir. 3400 cm^{-1} 'deki bant hidroksil grubuna, 1380 cm^{-1} deki bant ise gem dimetil grubunun varlığına işaret etmiştir.

^1H NMR spektrumunda (şekil 57) üst alanda izlenen 8 metil grubuna tekabül eden 7 metil piki ile bileşiğin triterpen yapısında olduğu belirlenmiştir. Metil singletleri 0.8 (3H), 0.84 (3H), , 0.97 (6H) d, 1.05 (3H), 1.10 (3H) ppm' de izlenmiştir. C-3'deki OH 'a komşu proton 3.2 ppm 'de dd (J=5 ve 10 Hz) olarak , C-12 'deki vinilik proton 5.12 ppm 'de triplet (J=2.5Hz) olarak gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (şekil 57a), $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ kapalı formülüne tekabül eden 426 pikiyle moleküler iyon piki (M^+) gözlenmiş, 411'deki ($\text{M}-15$) $^+$ piki ise C-17'de bir metil grubu olduğunu göstermiştir. Retro-Diels-Alder bölünmesi ile oluşan parçalanma piki 218 'de çift bağın C-12 'de olduğuna işaret etmiştir, 203 piki de bu bulguyu kuvvetlendirmiştir.



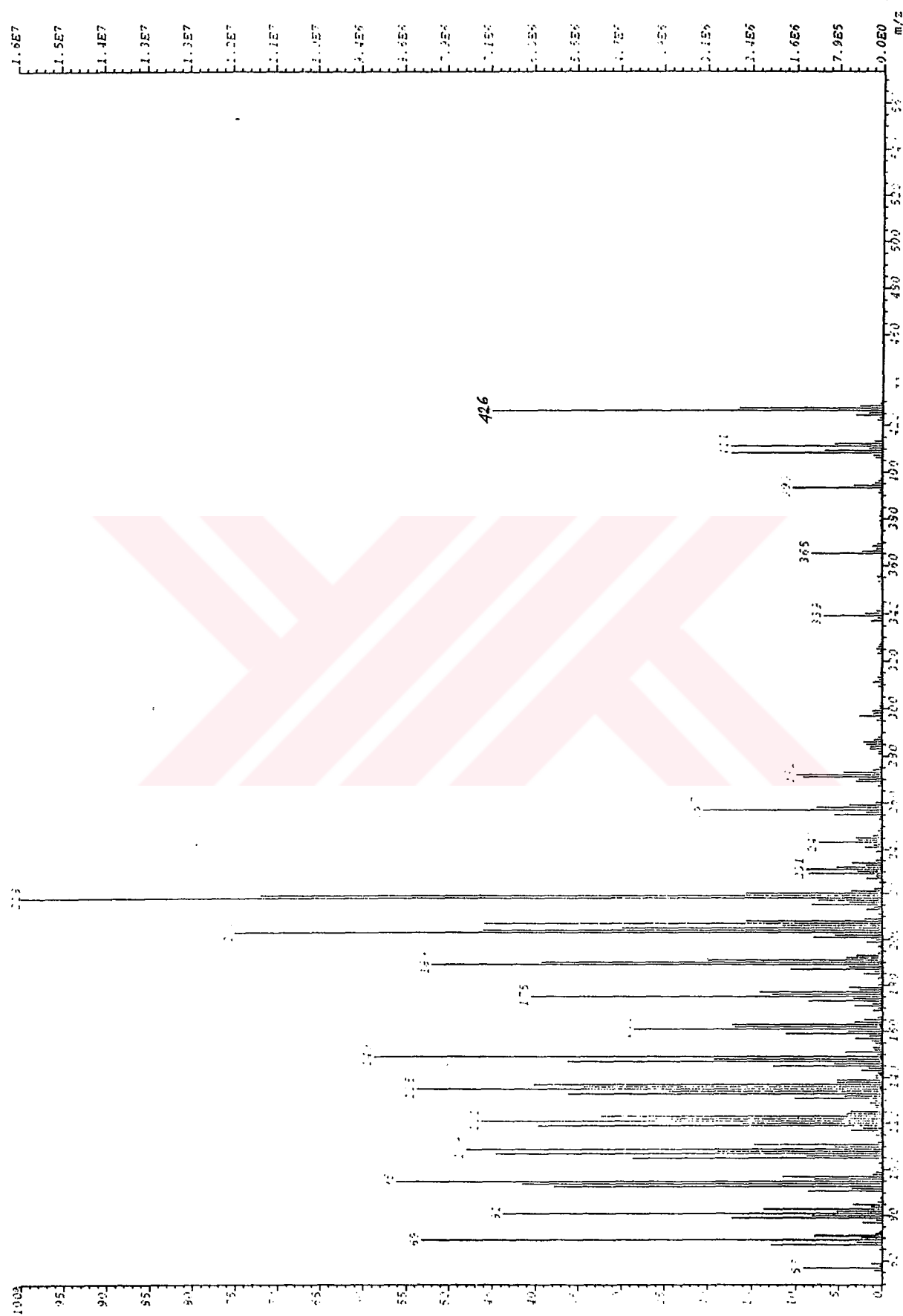
Retro-Diels Alder Bölünmesi

Bileşiğin spektral bulguları ve mevcut β -amirin standart bileşiği ile ITK (ince tabaka kromatografisi) mukayesesi ile 3 β -hidroksi-olean-12-en (β -amirin) olduğu saptanmıştır (63).

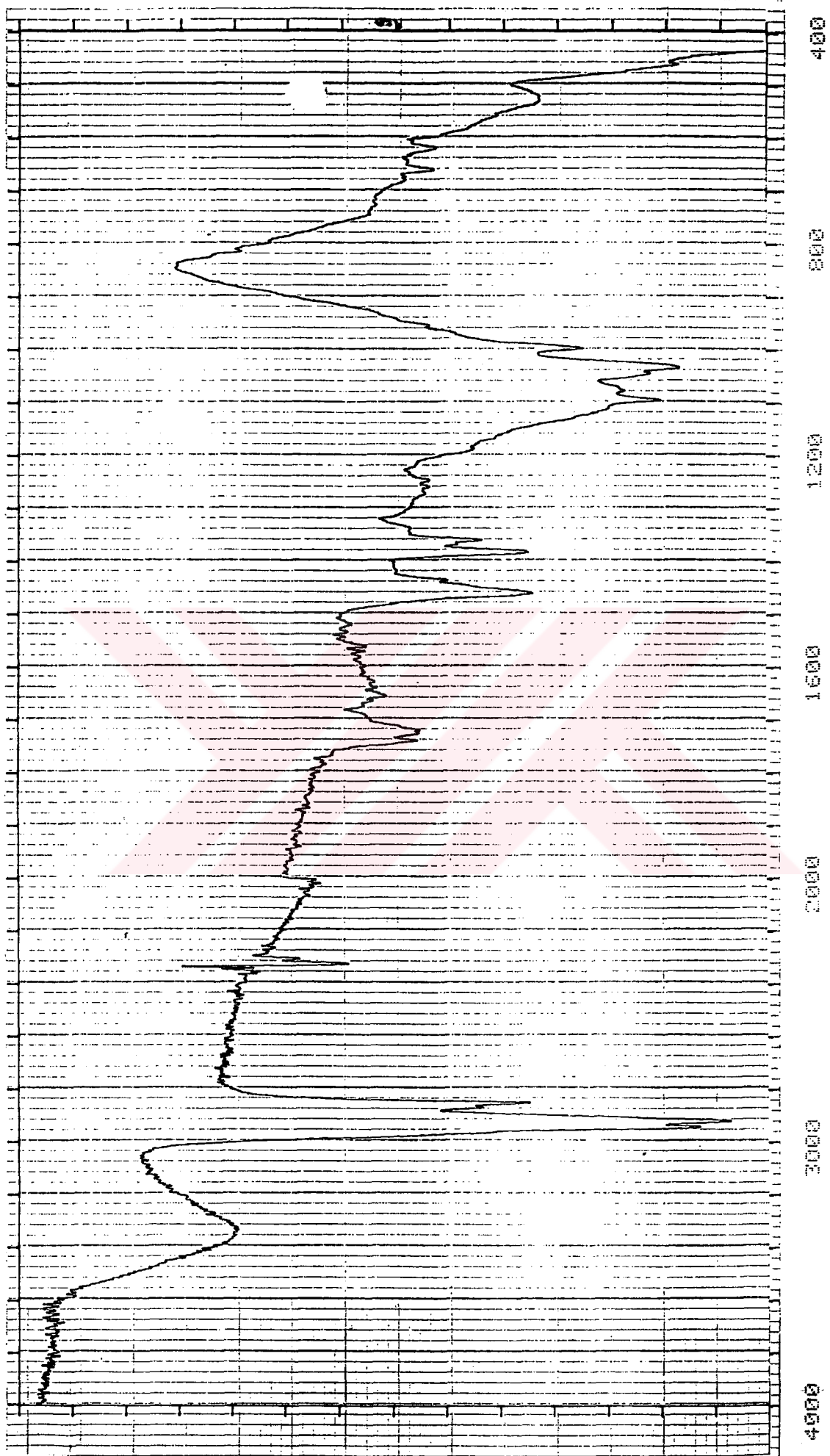


Şekil 57

LabSpec5 EI+ Magnet: EPM-112 EPT-1570149 TID:3456749-1 RunDate:01/11/2011

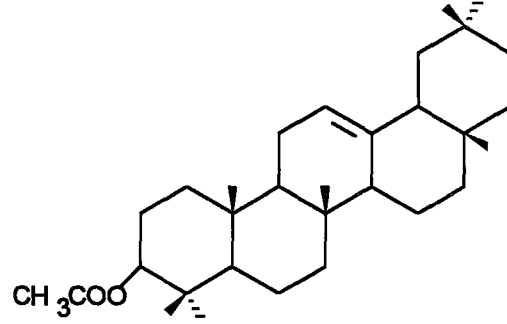


Şekil 57-a

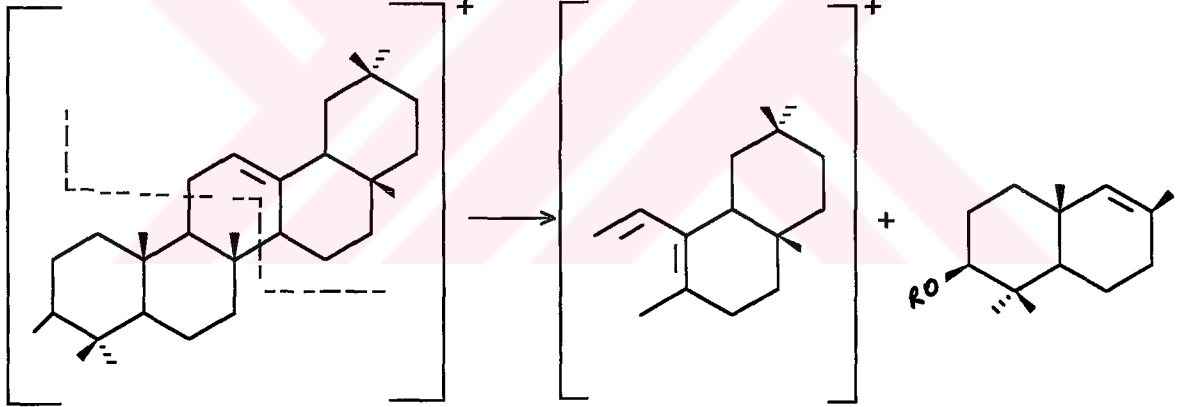


Şekil - 58

II.D.3.1.2. β -Amirin Asetat

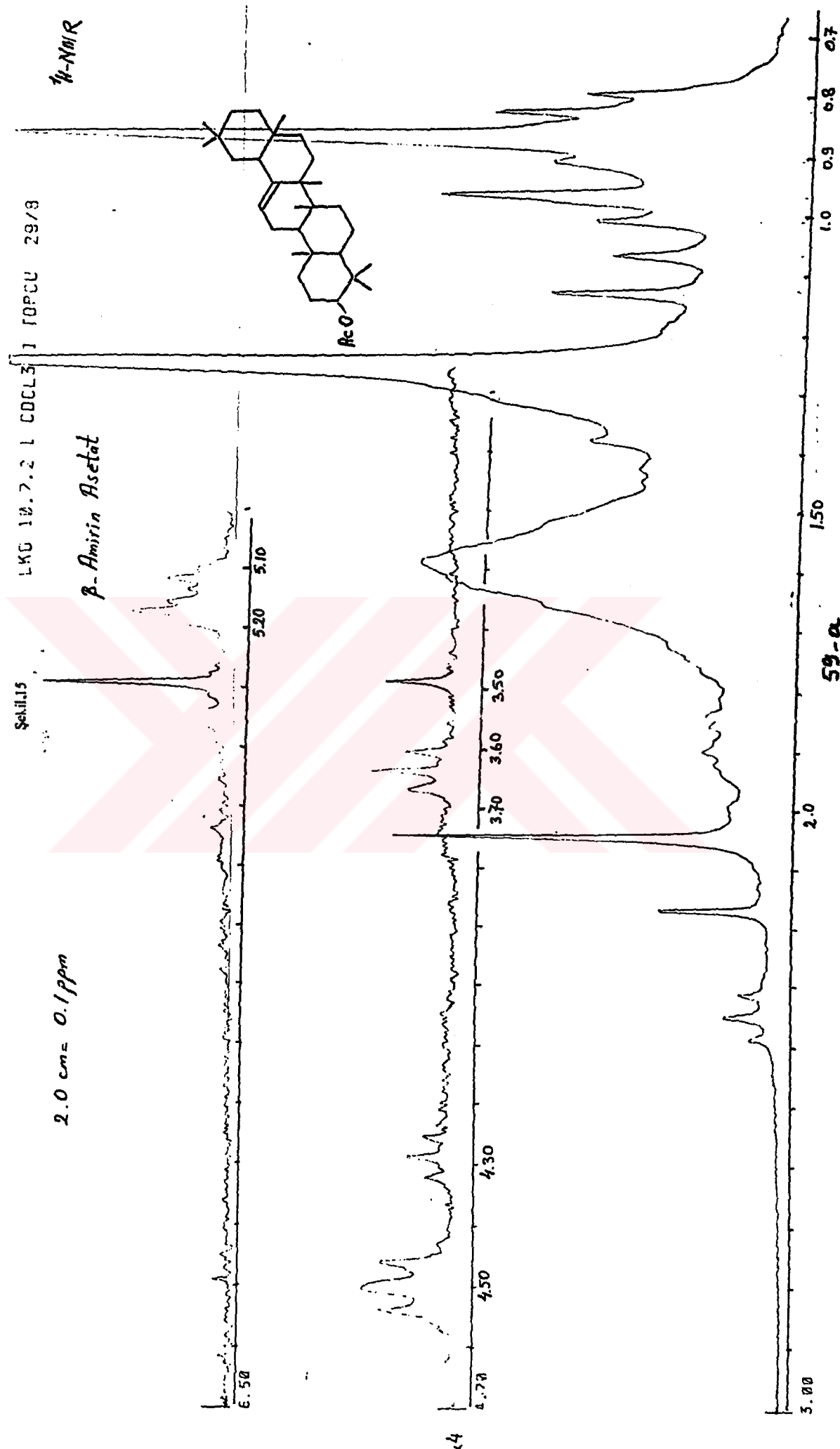


$\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_2$ kapalı formülüne sahip olan β -Amirin asetat moleküler iyonu 468 m/e 'de (59b) gözlenmiştir. Ayrıca çifte bağın C-12 'de olduğu 218 m/e'deki pikin varlığı ile anlaşılmıştır. Bu pik Retro-Diels Alder bölünmesi ile ortaya çıkmaktadır.

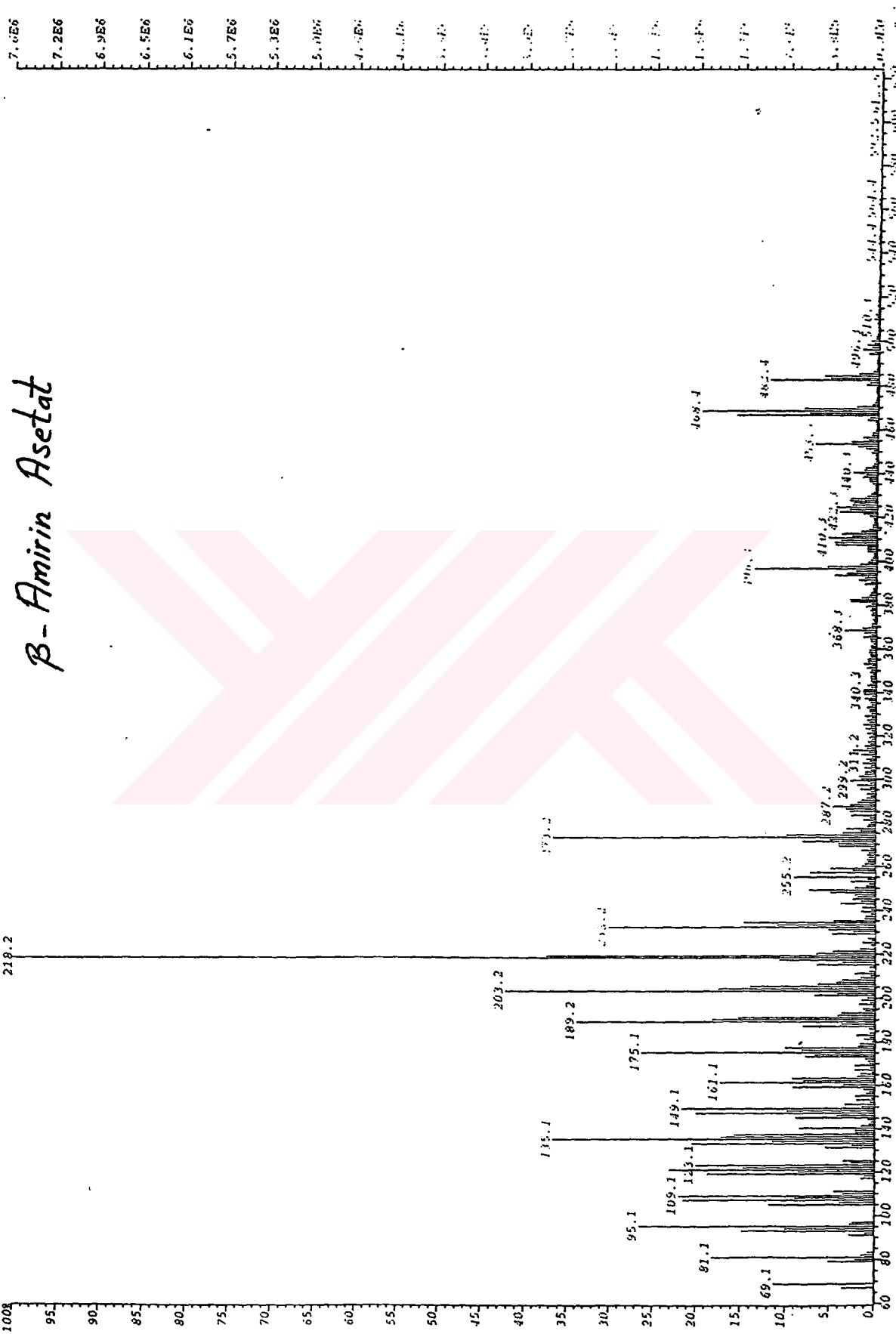


IR spektrumunda (59c) 1030 cm^{-1} de C-O, $1365\text{-}1246\text{ cm}^{-1}$ de gemdimetil, 1650 cm^{-1} de doymamışlık 1738 cm^{-1} de ise ester karboniline ait C=O gerilim bantı gözlenerek bileşiğin bir ester yapısında olduğu anlaşılmıştır.

^1H NMR spektrumunda (59a) 0.80, 0.82, 0.86, 0.90, 0.97, 1.01, 1.06 ve 1.13 δ 'de 8 adet metil protonu, 2.05 δ 'de asetil grubu metili (3H) 5.17 δ 'de ise vinilik proton gözlenmiştir. Bütün bu veriler ışığında maddenin daha önce *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas* 'dan elde edilen (12) β -amirin asetat olduğu anlaşılmıştır.

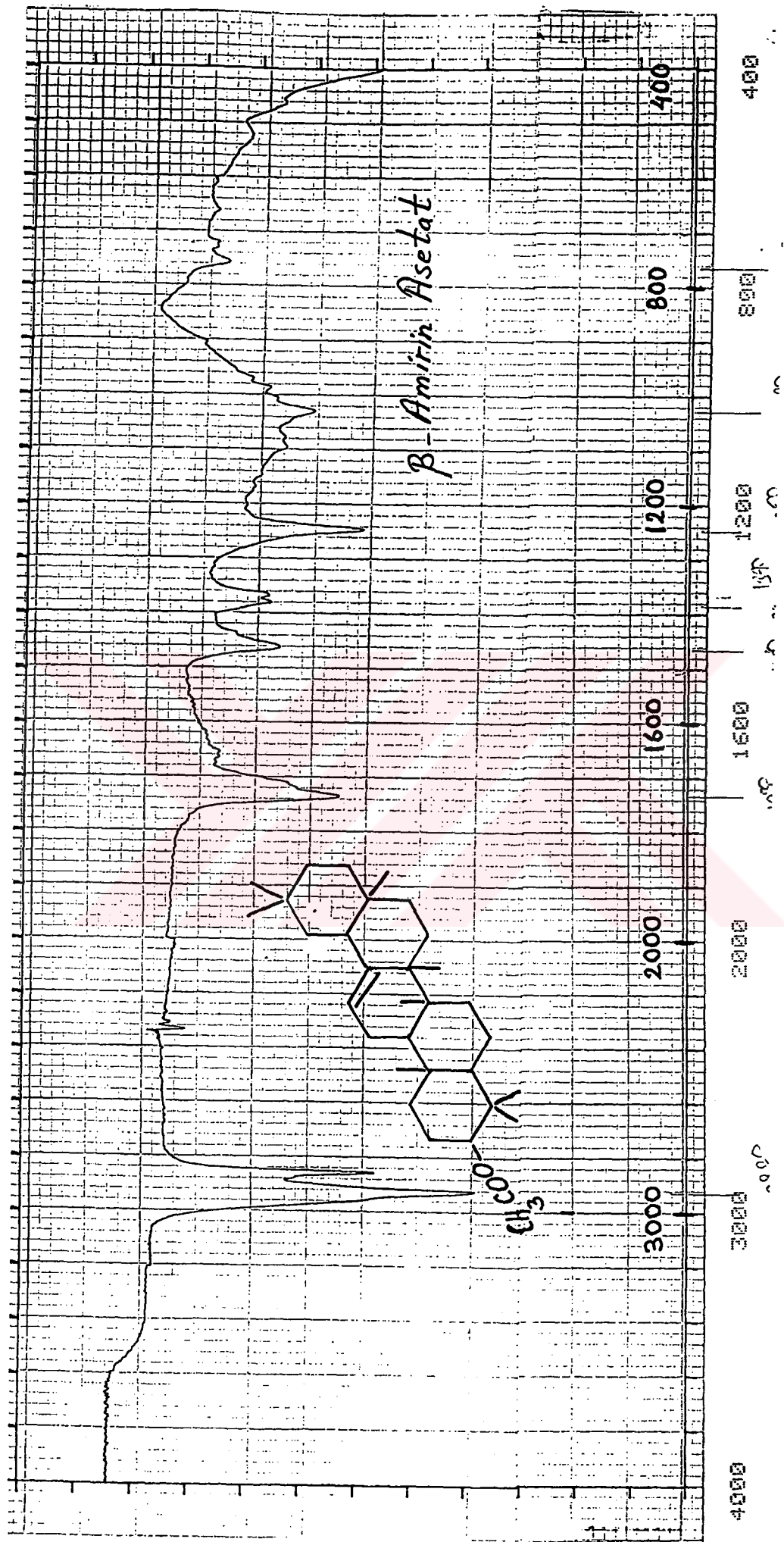


File: BK-N-LKG-10-7-2_2 Ident: 17-21-11-12 Win 10008PM Acq: 15-NOV-1996 12:14:05 +0:58 Cal: NOV-15
 LabSpec EI+ Magnet BpM: 218 Bp1: 7619994 TIC: 118866390 Flags: HALL
 File Text:



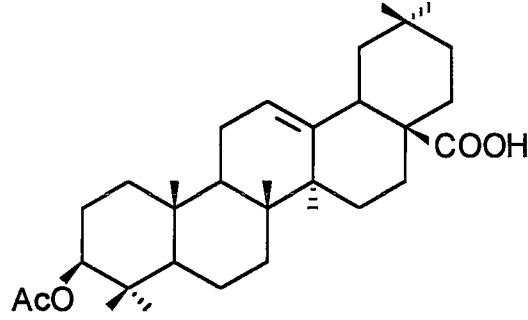
β-Aminin Asetat

596



59-c

II.B.3.2.3. Oleanolik Asit 3 β -Asetat



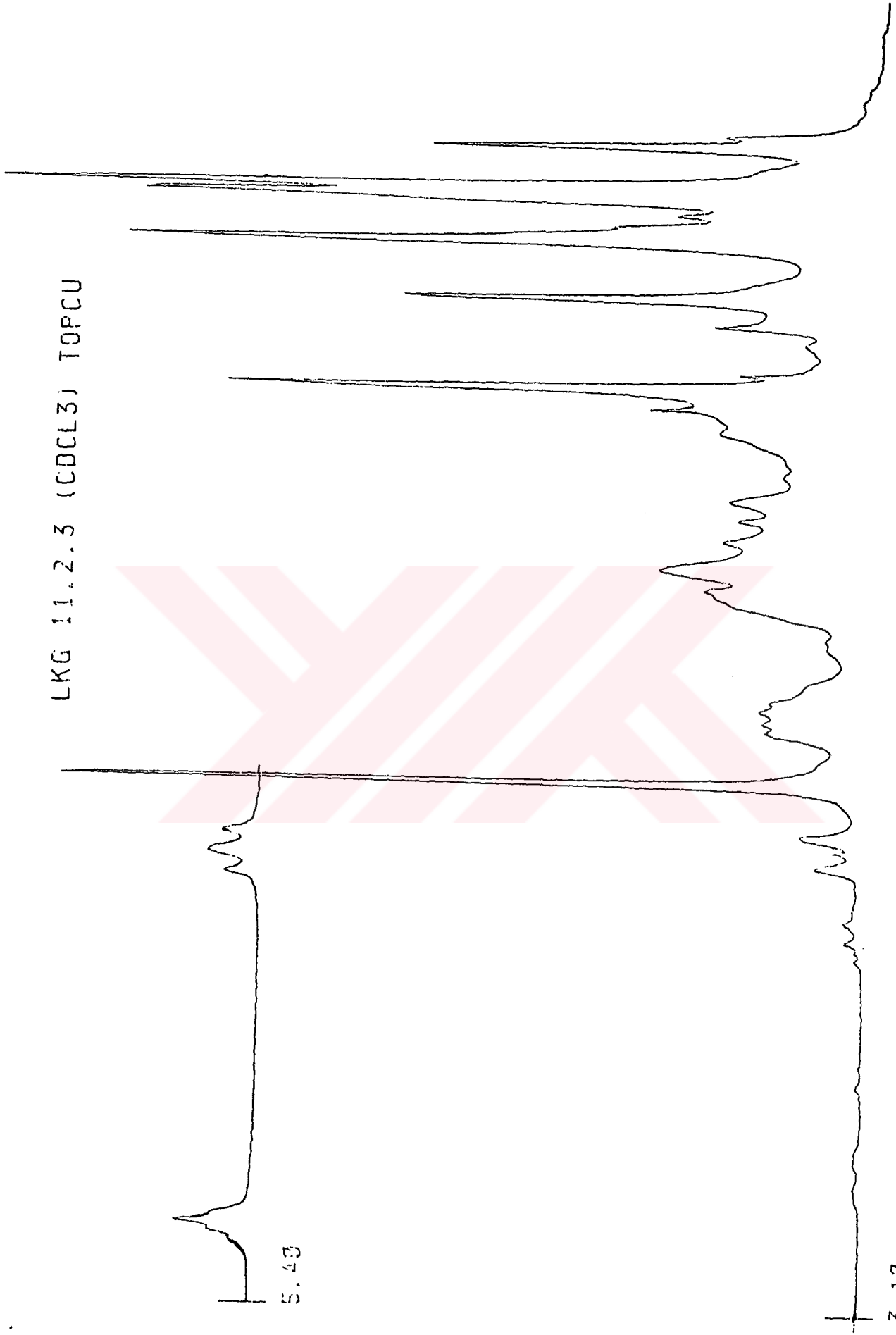
IR spektrumunda (şekil 62), 3460 cm⁻¹ de asit hidroksili, 1740 ve 1260 cm⁻¹ de asetil grubu, 1690 cm⁻¹ de (2500-2600 cm⁻¹ deki omuzla birlikte) asit grubu, 1640 cm⁻¹ ve 760 cm⁻¹ de doymamışlığa ait absorpsiyon bantları gözlenmiştir.

¹H NMR spektrumunda (şekil 60) δ 0.77, 0.85, 0.87, 0.88, 0.95 (2 Me) ve 1.08 'de olmak üzere toplam yedi metil grubuna tekabül eden altı metil singleti gözlenmiştir. 4.50 ppm' deki triplet (J=7.5 Hz) C-3 'de bir ester grubunun varlığını göstermiş, bunun da bir asetil olduğu ¹H NMR spektrumunda 2.04 ppm 'de izlenen asetil metili ile doğrulanmıştır. 5.25 ppm 'de olean ve ursan tipi triterpenlerdeki karakteristik H-12 protonu (J=2.5 Hz) izlenmiştir.

Kütle spektrumunda (şekil 61) moleküler pik m/z 498 'de görülmüş, bundan asetil grubunun ayrılışı 438 pikiyle açıkça izlenmiştir. Triterpenlerde C-17 'deki CH₃, ya da CH₃ yerine geçmiş sübstitüentin ilk kopan grup olması bu bileşiklerin yapısı hakkında açıklayıcıdır, bu molekülde de COOH grubunun çıkışı (M-COOH-1) 452 pikiyle gözlenmiştir.

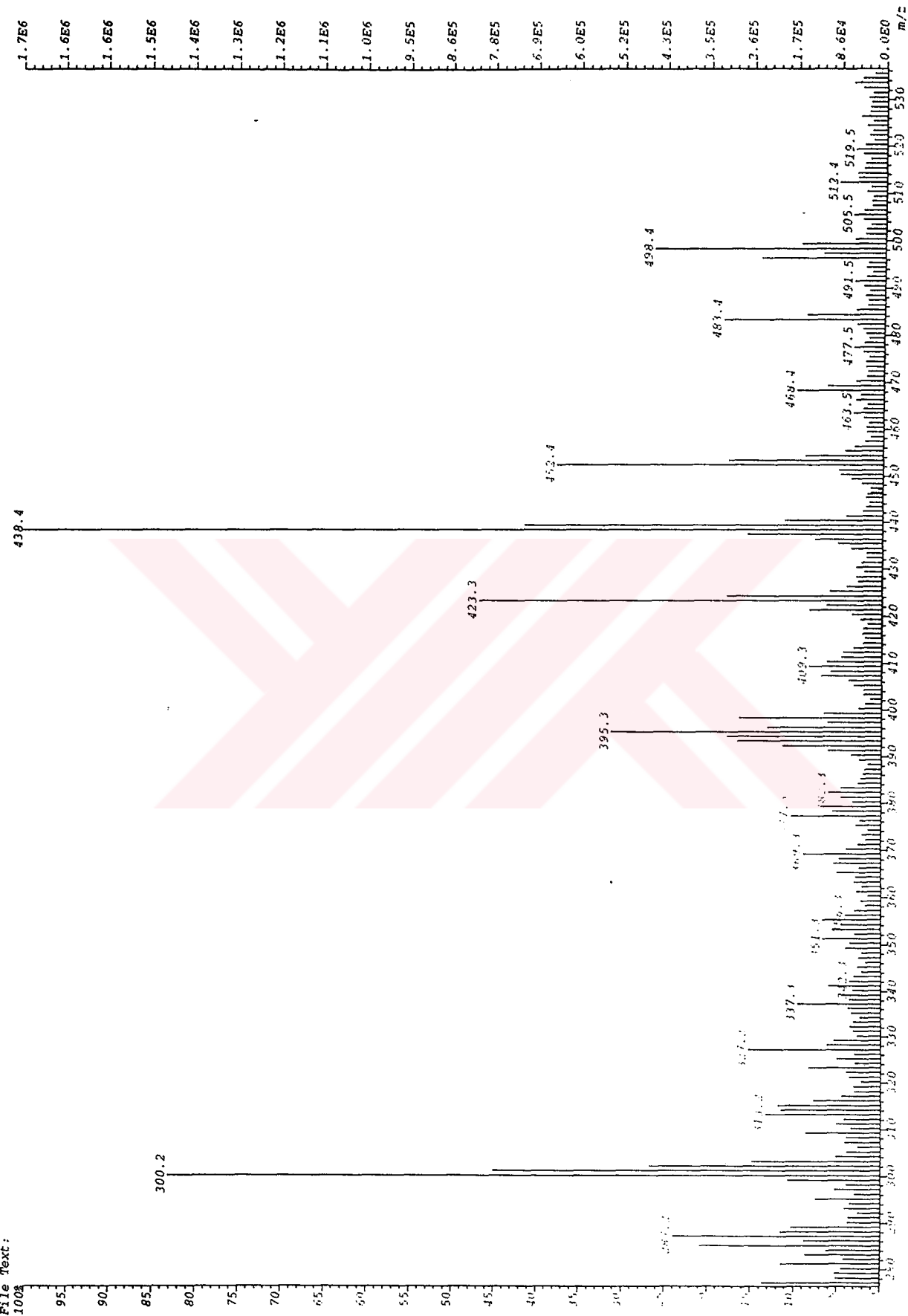
Tüm bu spektral veriler yapının **oleanolik asit 3 β -asetat** olduğunu göstermiş, standart madde ile mukayesesi de bunu doğrulamıştır (64).

LKG 11.2.3 (CDCL3) TOPCU

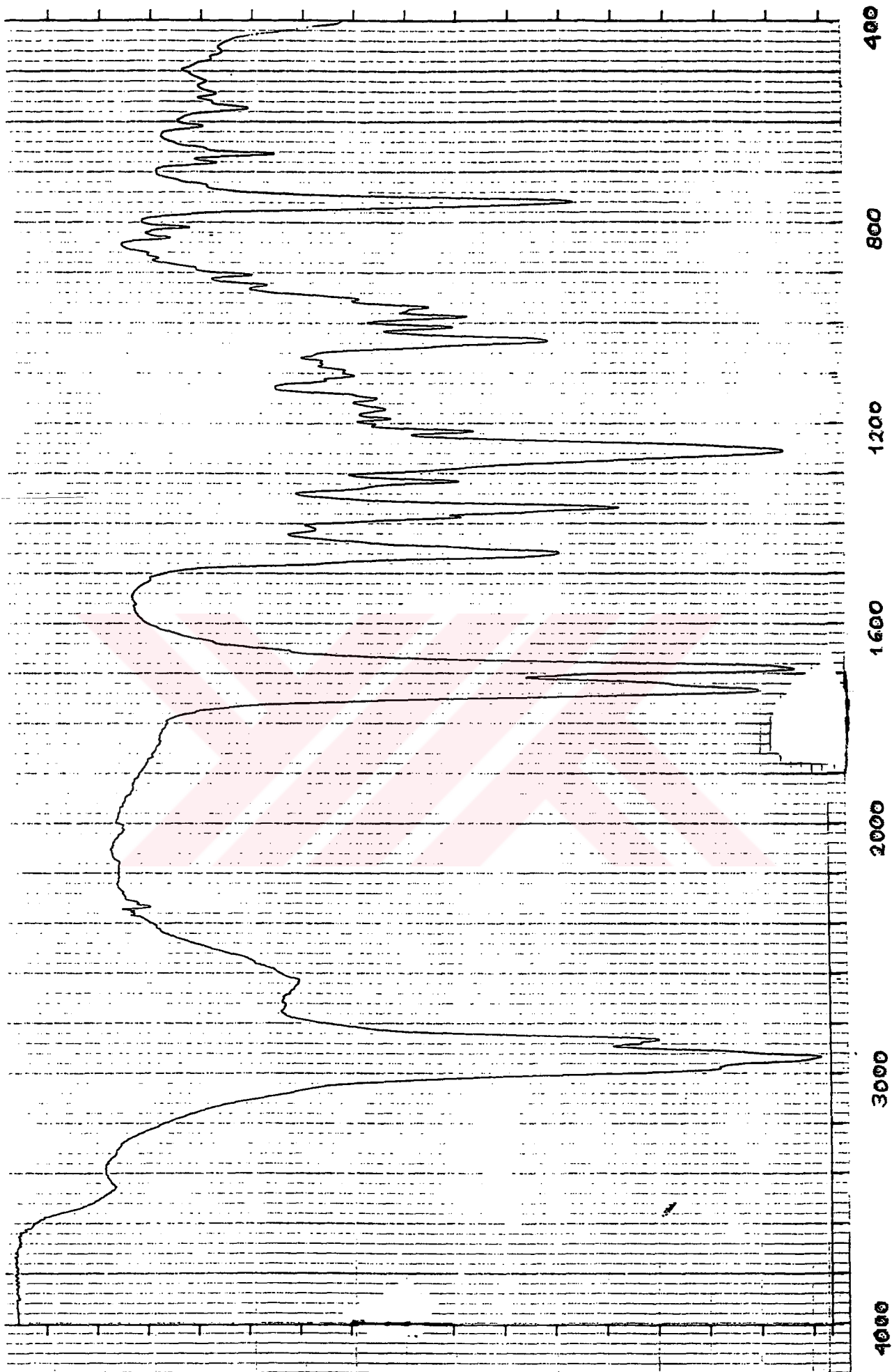


Şekil 60

File Text: ...

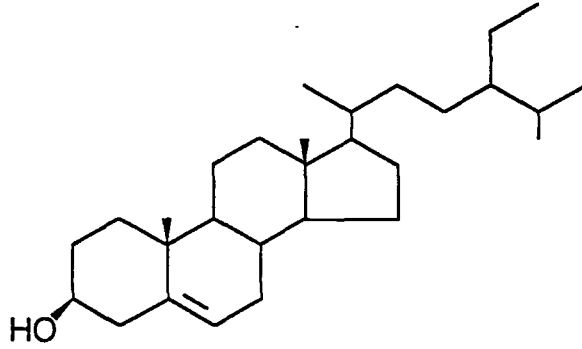


Şekil 61



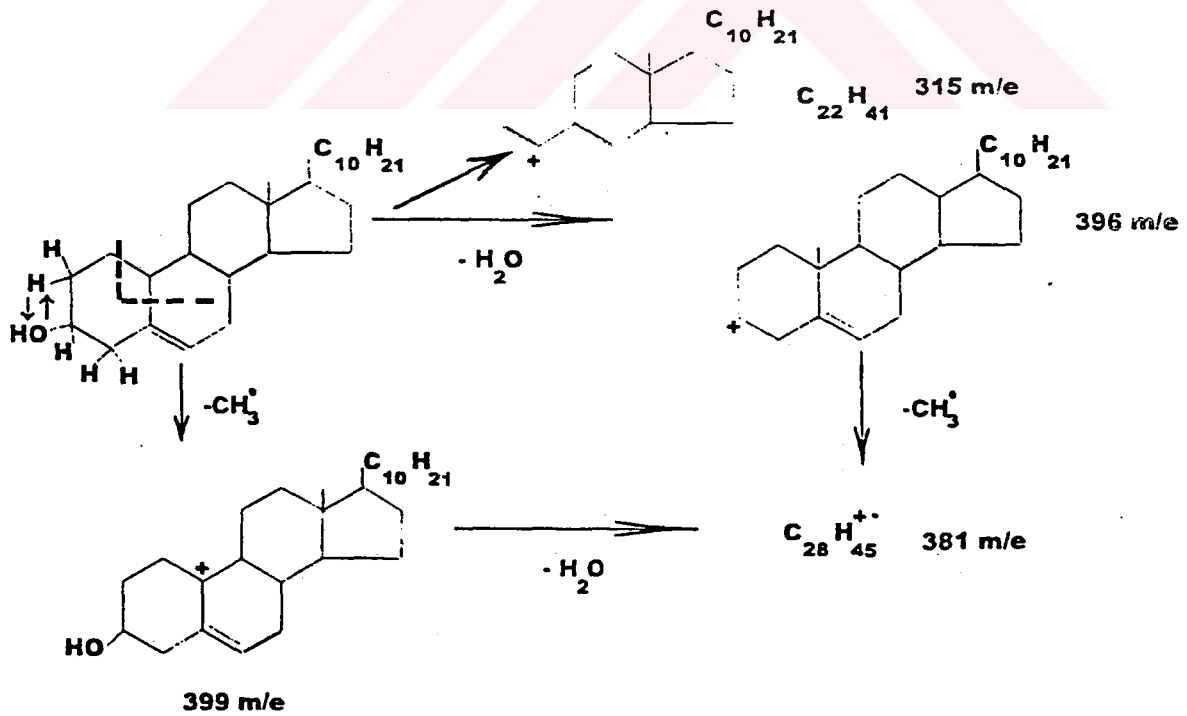
Sekil 62

II.D.3.1.4. β -Sitosterol



Beyaz iğne şeklinde kristaller halinde elde edilmiştir. IR spektrumunda 3400 cm^{-1} de hidröksil, 1375 cm^{-1} de gem dimetil, 1060 ve 1050 cm^{-1} de ise (C-O) absorpsiyon bantları gözlemiştir.

Dötero kloroformda alınan ^1H NMR spektrumu 0.68 - 1.00 ppm arasındaki 4 metil dubleti $0.82(7\text{Hz})$, $0.85(6.5\text{Hz})$, $0.87(7\text{Hz})$, $0.92(6.5\text{Hz})$ ve 2 metil singleti (δ 0.68 ve 1.00) ile ve 1.5 - 2.0 ppm arasındaki metilen zarfı (1 - 2 ppm) ile iskeletin karakteristik steroidal yapısına işaret etmiştir. 5.36 ppm 'deki 5.5 Hz 'lik dublet olefinik bir protona tekabül ederken, 3.52 ppm 'deki karakteristik multipler ise steroidlerdeki 3β hidröksile komşu protonu göstermiştir (Şekil 63). β -Sitosterol 'ün parçalanma ürünleri aşağıda verilmiştir:

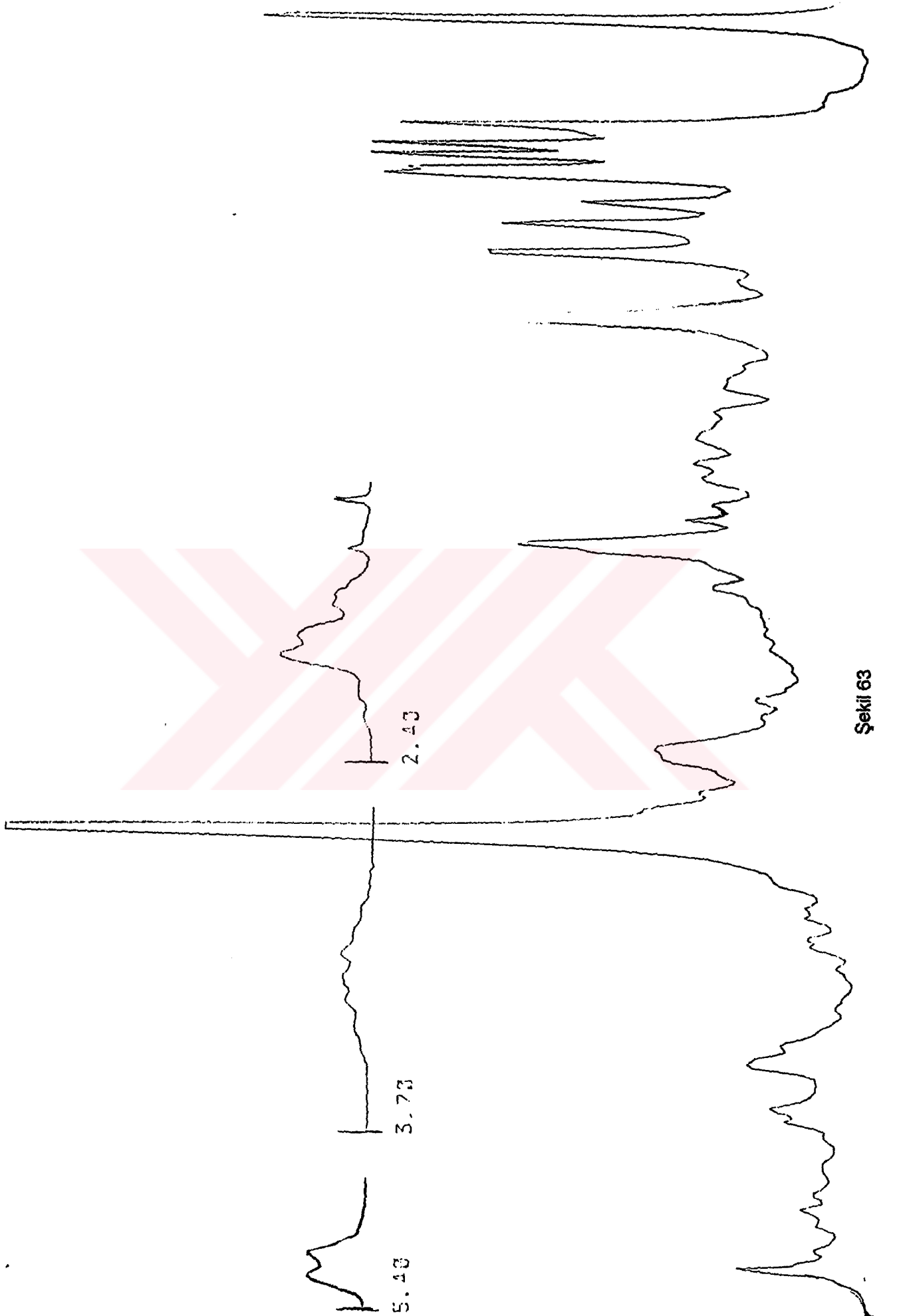


Kütle spektrumunda moleküler pikin 414 'de gözlenmesi ve Δ^5 steroller için karakteristik olan parçalanma piklerini vermesi yapının Δ^5 sitosterol olabileceğine işaret etmiştir.

Baz tepe olarak 396 'da (M-H₂O)⁺ piki, 381 'de (M-H₂O-CH₃)⁺ (44) ve 273'de (M-yan zincir) (22) pikleri, ¹H NMR ve IR spektrumlarıyla birlikte değerlendirilince bileşiğin bitkiler aleminde çok yaygın olan β -sitosterol (C₂₉H₅₀O) (63) olduğu saptanmıştır.

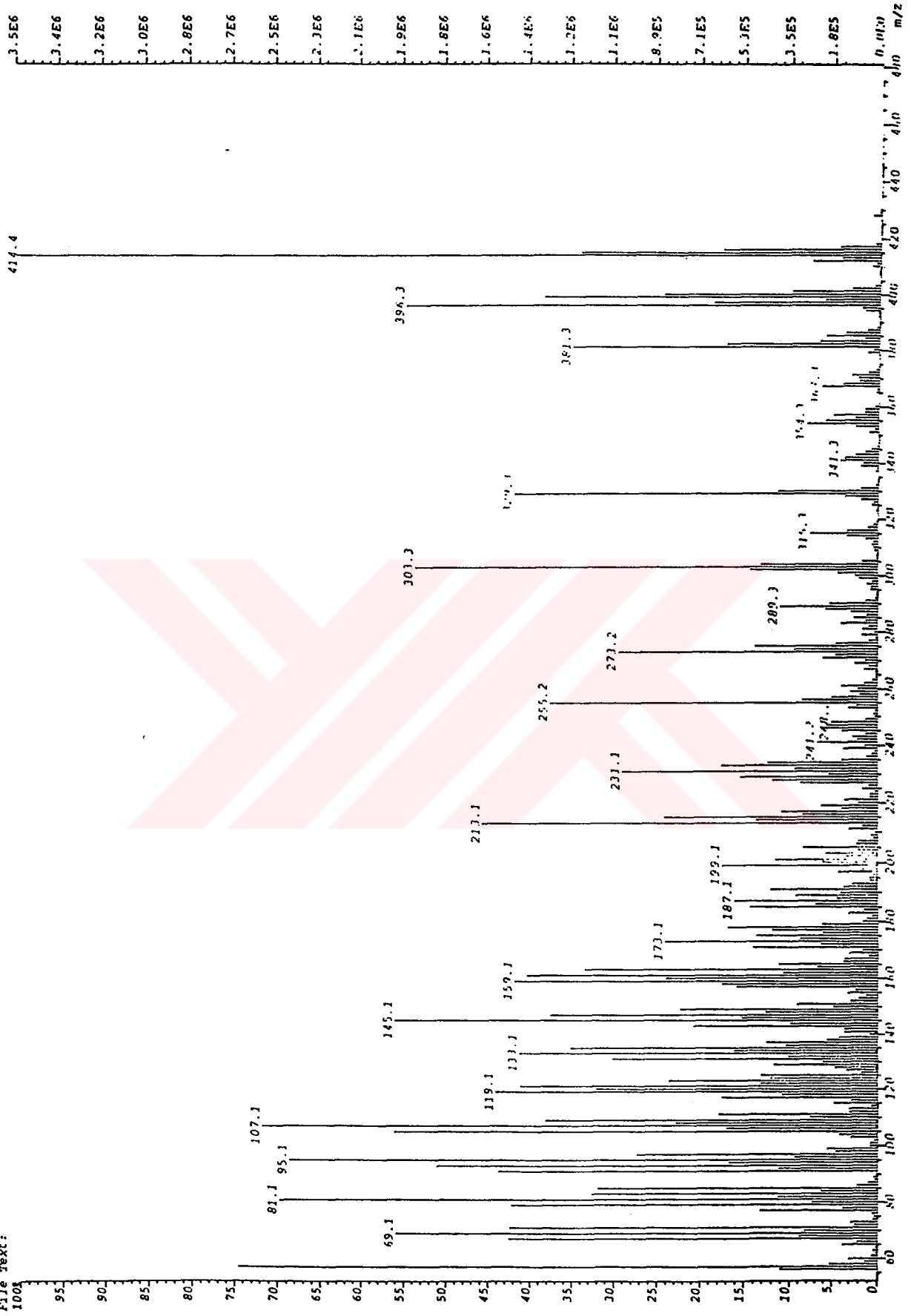


LAB 11.0.2.1 (0000) 01/1990

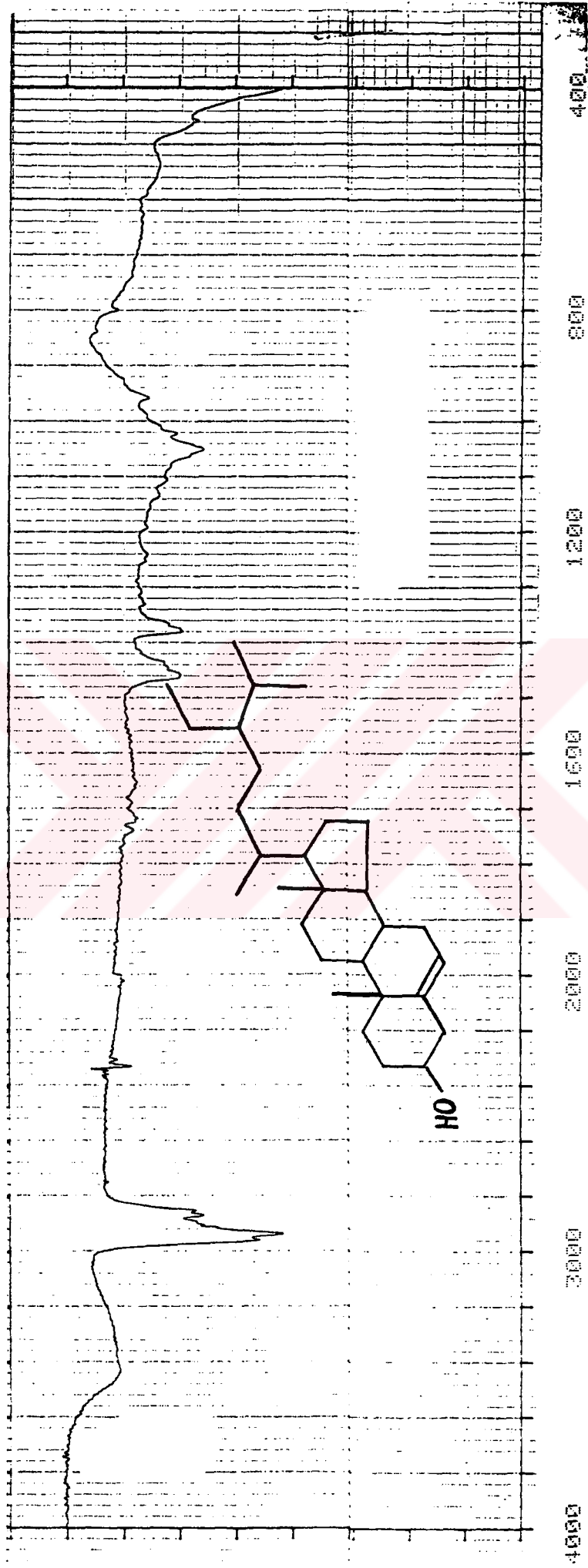


Şekil 63

File: BK-T-UCG-11-3-2-1 Ident: 21-2.4 Min 1000PPM Acq: 11-JUL-1996 09:38:37 Cal: TEN-11
 SubSpec EI+ Magnet Bp: 414 Epl: 3560992 TIC: 113374776 Flags: HALL
 File Text:

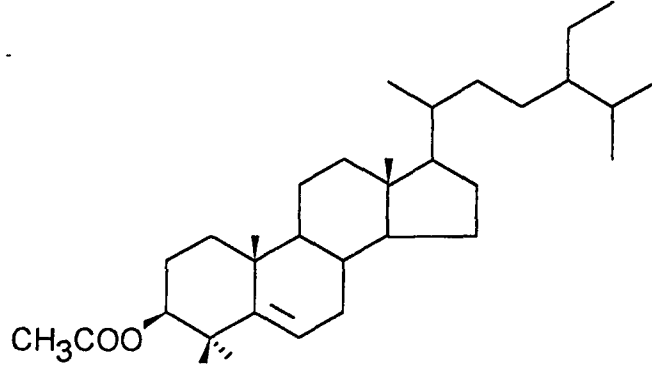


Şekil 64



Şekil 65

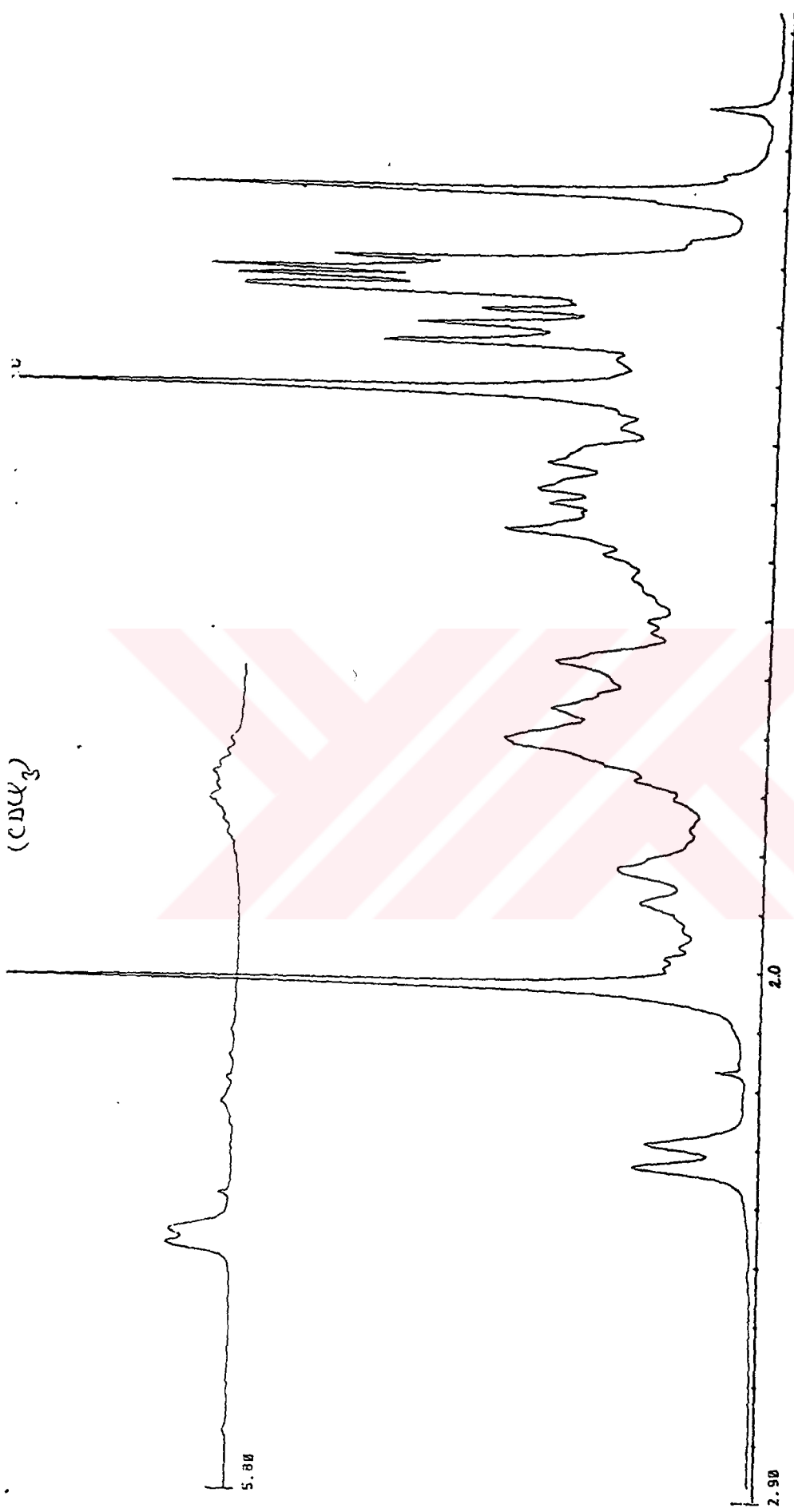
II.D.3.1.5. β -Sitosterol Asetat



IR spektrumunda (şekil 68) 1730 ve 1250 cm^{-1} 'de asetil, 800 cm^{-1} 'de ise doymamışlık absorpsiyon bantları gözlenmiştir.

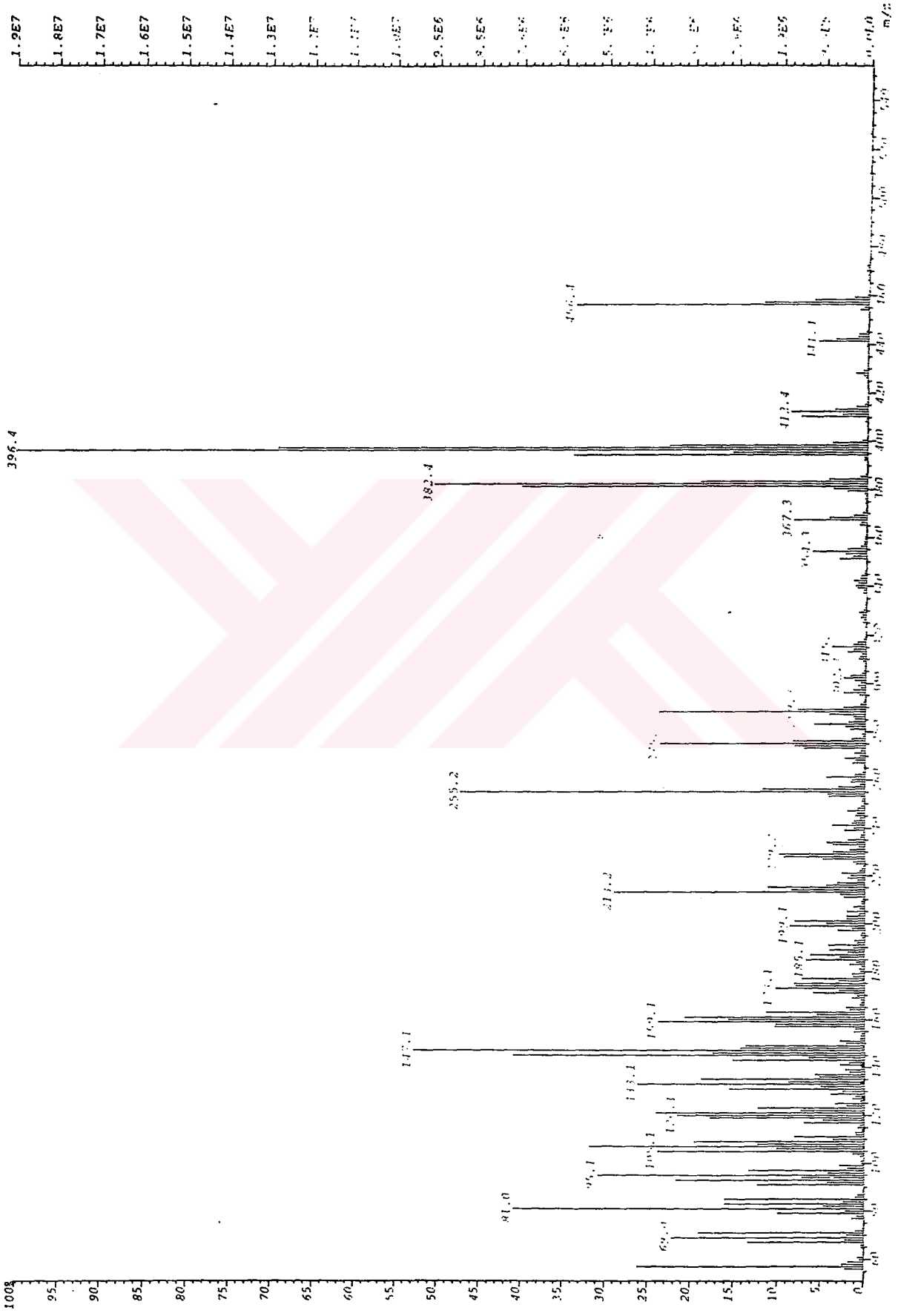
^1H NMR spektrumunda (şekil 69), 2 singlet (δ 0.58,0.72), 3 dublet (δ 0.78,0.8,0.82) ve 1 triplet halinde izlenen metil sinyalleri (δ 0.9, $J=6.5$ Hz) 1.5 ppm 'deki metilen zarfı ile birlikte bileşiğin bir steroid olacağına işaret etmiştir. C-3 protonun 4.5 ppm 'de triplet ($J=7.5$ Hz) olarak gözlenmesi C-3 'de bir ester (asetil) grubunun olabileceğine işaret etmiştir. 2.02 ppm 'deki asetil metili de bunu doğrulamıştır. 5.2 ppm 'de Δ^{12} çifte bağ gözlenmiş, ^1H NMR spektrumu β -sitosterol ile çok benzerlik göstermiş, spektral mukayese ile tek farkın bir asetil grubunun C-3 'e yerleşmiş olmasından ibaret olduğu anlaşılmıştır.

Tüm spektral verilere dayanarak bileşiğin daha önce başka bitkilerden de elde edilen β -sitosterol asetat olduğuna karar verilmiştir.

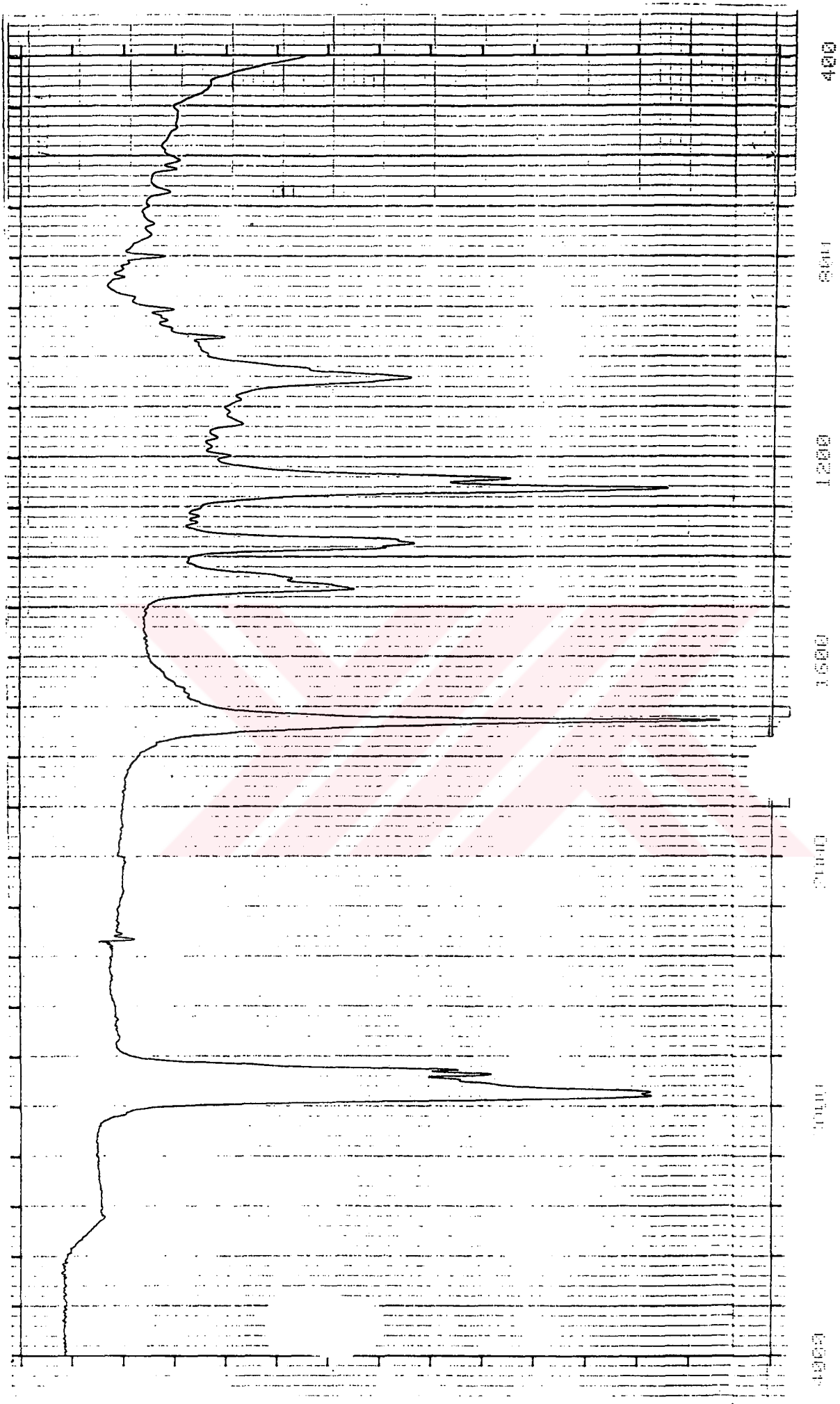


Şekil 66

file:08-U-LAG-13-15-1 Ident:12_11-1 Bin:1000000 Acq:25-OCT-1996 10:25:26 +0:38 Cal:OCT-25
 ZaSpecCE El+ Magnet BpM:396 BpI:18056.98 TIC:156401536 Flags:HALL
 File Text:

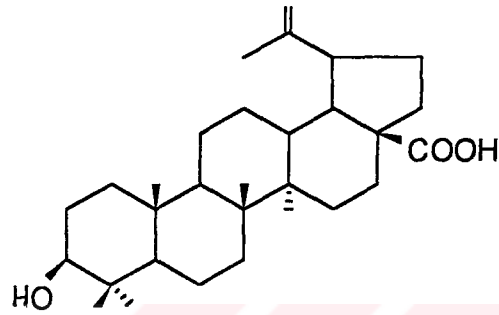
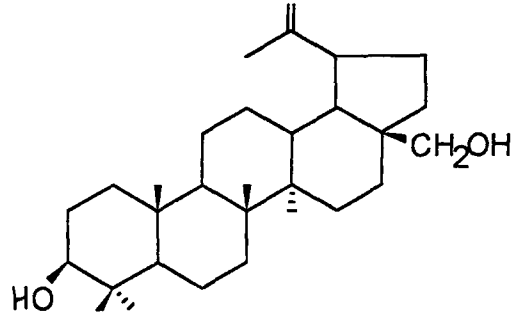


Şekil 67



Şekil 68

II.D.3.1.6 Betülin ve Betülinik Asit



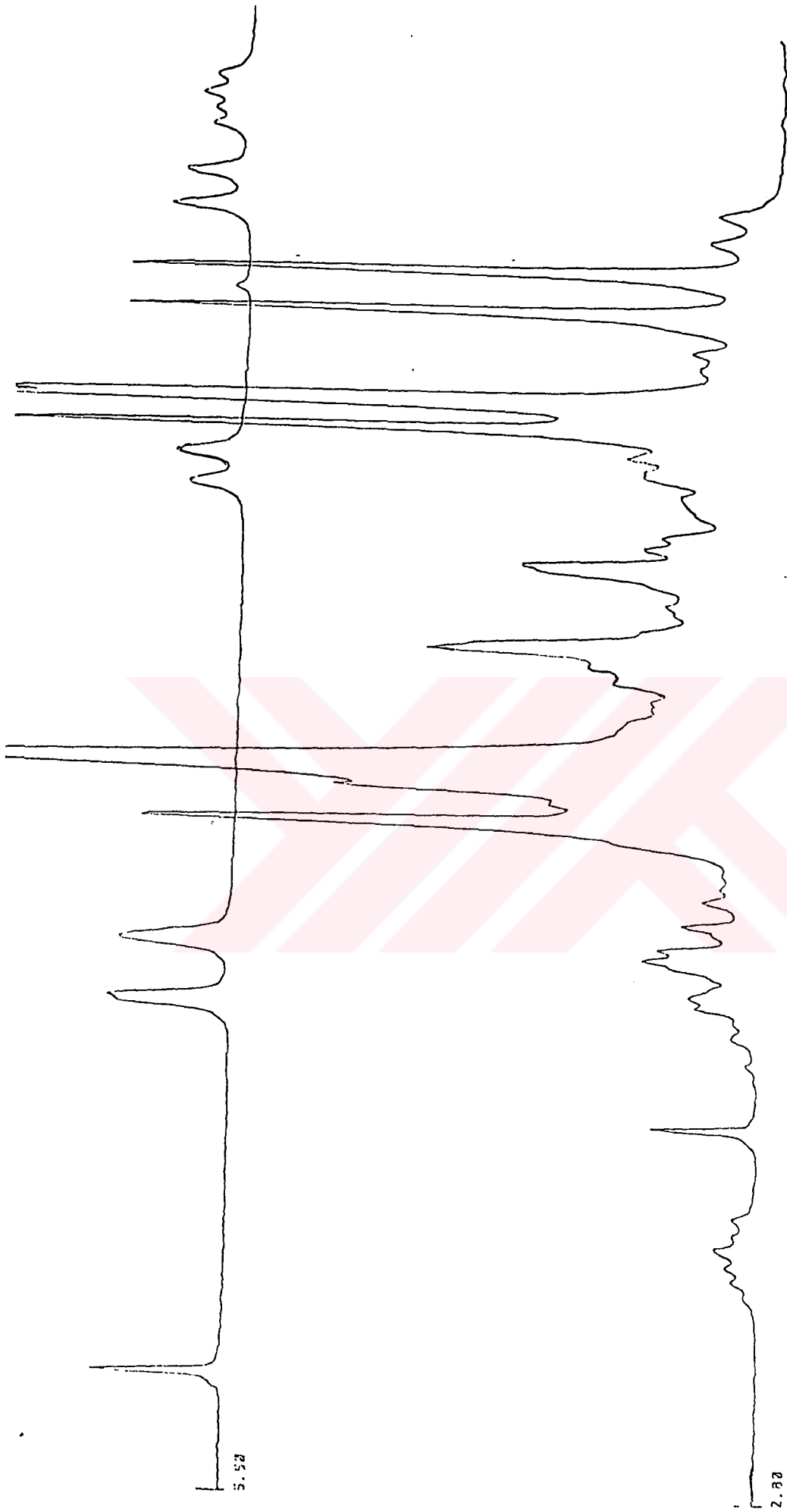
Her iki bileşik birarada izole edilmiş, fakat miktarlarının azlığından dolayı saflaştırma işlemlerine devam edilmemiştir. Bilinen bileşikler olmaları nedeniyle yapıları karışım halinde olmalarına rağmen aydınlatılmıştır.

IR spektrumunda (şekil 71) 3360 cm^{-1} de hidroksil, 1685 cm^{-1} de (2500 cm^{-1} deki omuz ile birlikte) asit karbonil, 890 ve 760 cm^{-1} de ise doymamışlık bantları izlenmiştir.

^1H NMR spektrumunda (şekil 69) metil singletleri 0.75 , 0.81 , 0.97 , 1.05 , 1.39 ve 1.68 ppm'de izlenmiştir. Sonuncusu genişlemiş singlet halinde olup kimyasal kayması vinilik bir metil pikine ait olduğunu göstermiştir. 4.59 ve 4.64 ppm'deki izopropenil protonlarının da gözlenmesiyle bu bileşiğin lupan iskeletinde bir triterpen olduğu belirlenmiştir. Ayrıca 3.20 ppm'deki sinyal (dd, $J=5, 10\text{ Hz}$) $\text{H}-3\alpha$ protonuna işaret etmiş, 3.35 ve 3.8 ppm'deki dubletler ($J=11\text{ Hz}$) ise bir hidroksimetilen grubunun varlığını göstermiştir.

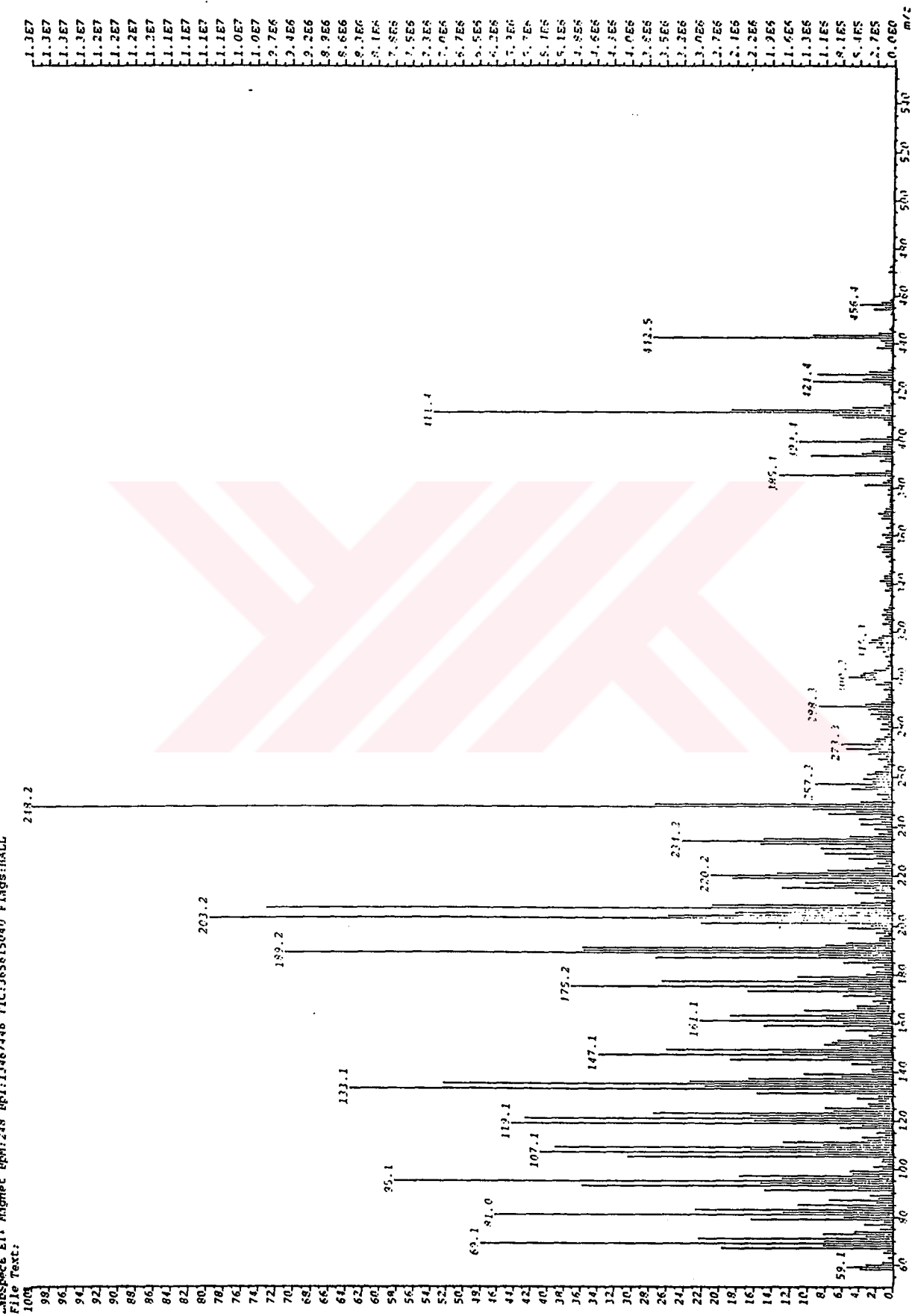
Kütle spektrumunda (şekil 70), betülinik asit moleküler piki $m/z\ 456$ 'da gözlenirken betüline ait moleküler pik ise 442 'de ($\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$) izlenmiştir. Gerek betülinik asitdeki COOH grubunun kopması gerekse betülindeki CH_2OH grubunun kopması sırasıyla moleküler piklerinden 45 ve 31 ünitelerin çıkışıyla $m/z\ 411$ 'de izlenmiştir.

Bütün spektral bulguların değerlendirilmesi bu bileşiklerin lupen yapısında triterpenler olan betülin ve betülinik asit olduğunu göstermiş, eldeki mevcut betülin ve betülinik asit ile ince tabaka kromatografisi de bunu doğrulamıştır. Bu bileşikler bir Lavandula türünden ilk kez elde edilmiştir.

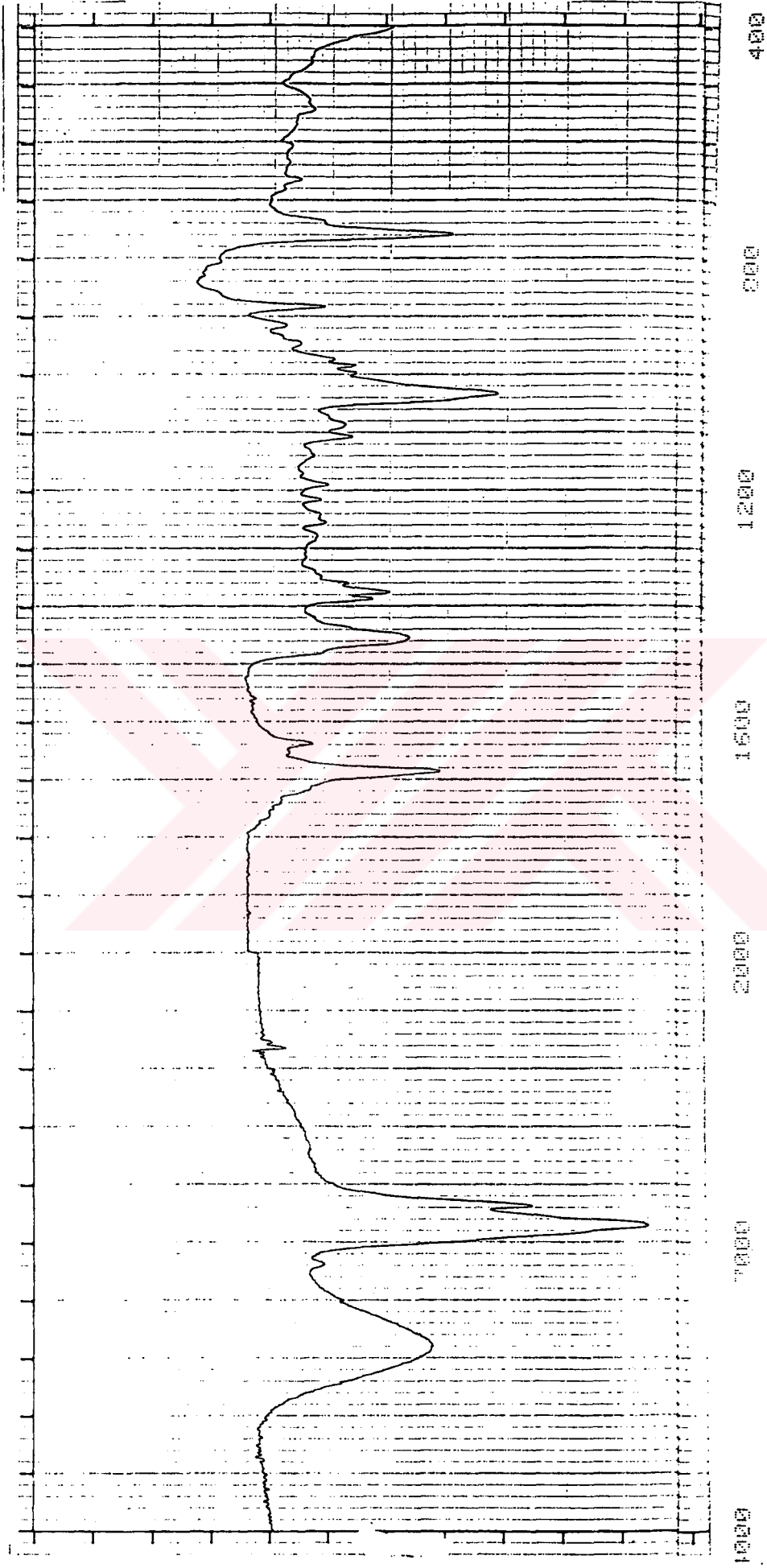


Şekil 69

Source: EI+ Magnet BpM:218 BpI:11467446 TIC:365815040 Flags:HAL

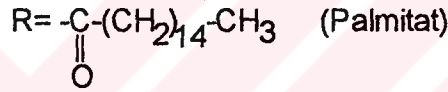
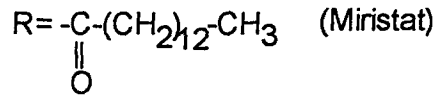
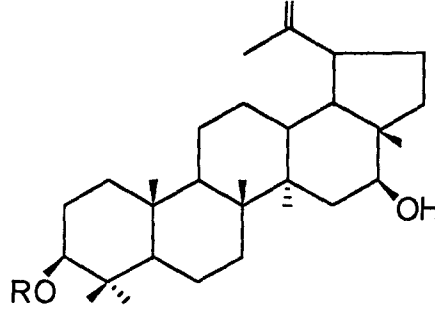


Şekil 70



Şekil 71

II.D.3.1.7 16 β -hidroksilupeol 3-palmitat ve miristat



Bileşiğin IR spektrumunda 3442 cm^{-1} 'de hidroksil, 1730 ve 1250 cm^{-1} 'de ester, 1639 cm^{-1} 'de doymamışlık ($\text{C}=\text{C}$) absorpsiyon bantları izlenmiştir.

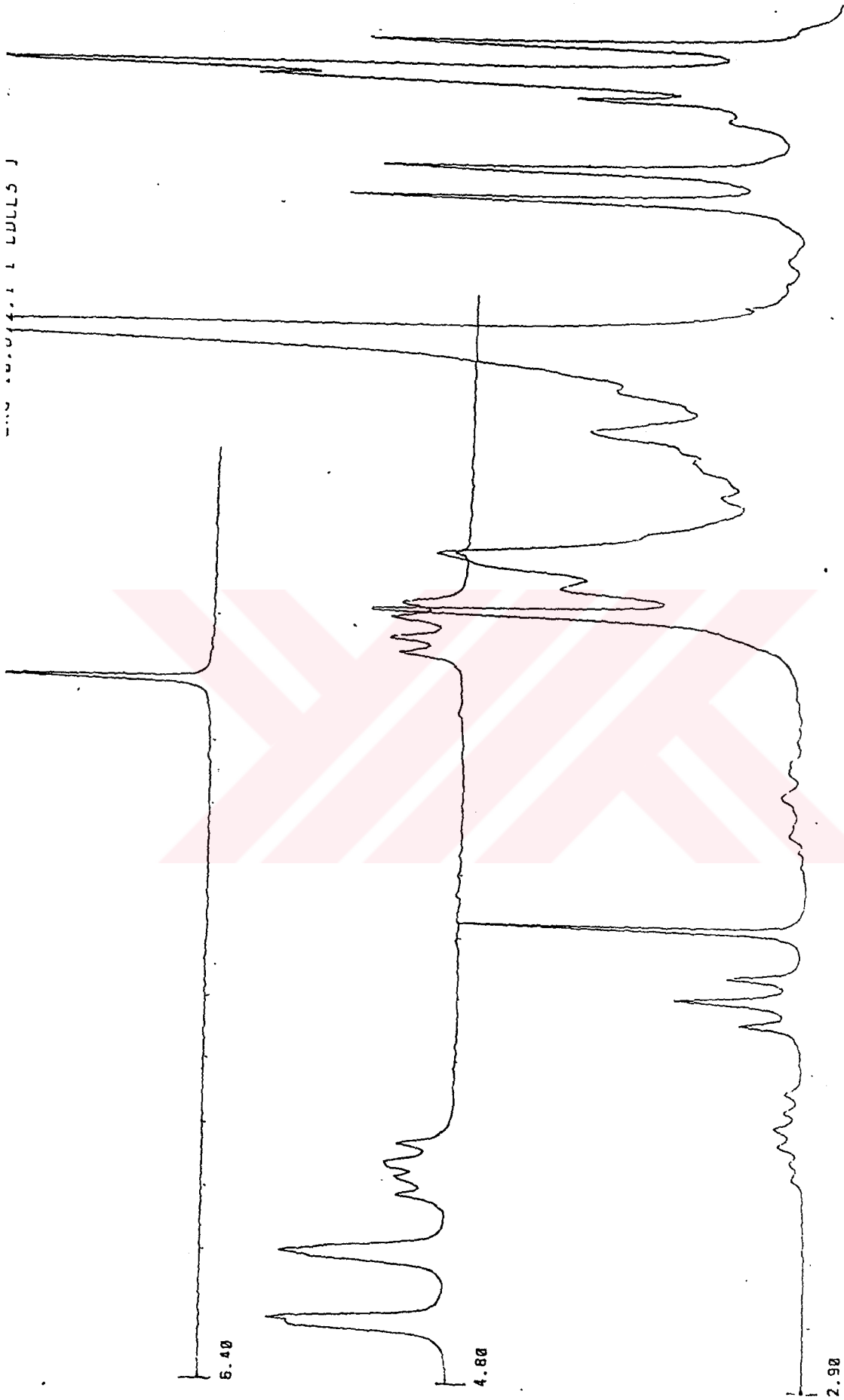
^1H NMR spektrumu tipik lupan iskeletine sahip bir triterpen yapısını göstermiş (şekil-72) ve metilen protonları 4.6 ve 4.71 ppm 'de genişlemiş singletler halinde, vinilik metil proton sinyali ise 1.69 ppm 'de gözlenmiştir. Diğer metil sinyalleri 0.8 (3H), 0.85 (6H), 0.87 (3H), 0.96 (3H) ve 1.00 (3H) ppm 'de singletler halinde izlenirken 0.89 ppm 'deki triplet metili de molekülde bir uç metil grubunun varlığına işaret etmiştir.

H-3 proton sinyalinin 5 ve 10 Hz 'lik dublet dublet halinde 4.48 ppm 'de gözlenmesi bu protonun hidroksilden ziyade bir ester grubuna komşu olduğunu gösterdi. 3.61 ppm 'de çıkan proton sinyalinin dublet dublet ($J=4.5$ ve 11 Hz) halinde gözlenmesi gözönüne alınarak olası yerleşim yerleri (yani hangi C 'da bulunduğu) araştırıldı. Gerek kimyasal kayması, gerekse mültiplisitesi bu protonun C-15 veya C-16 'daki bir hidroksil grubuna komşu olabileceğini gösterdi. Yapılan literatür taraması sonucu (65) bu hidroksilin C-16 'da β pozisyonunda yerleşmiş olduğu belirlendi. 1.25 ve 1.62 ppm arasında gözlenen metilen grubu protonları ve 2.29 ppm 'deki triplet ($2\text{H}, J=7 \text{ Hz}$) sırasıyla bir CH_2 zinciri ve bunun estere komşu CH_2 protonlarına işaret etmekteydi. Nitekim 0.89 ppm 'de izlenen triplet metili de bu CH_2 zincirinin uç metil grubunu oluşturmaktadır.

Kütle spektrumu moleküler piki m/z 680'de vermiş, 662'de ise molekülden bir su çıkışı izlenmiş, 424 piki ise molekülden ester grubunun ayrılmasıyla oluşmuştur. Moleküler piki 680 ve molekülden bir hidroksil grubunun varlığı gözönüne alınınca ester grubunun 16 C'lu palmitat esteri olduğu saptanmıştır. Böylece yapının 16 β -hidroksi lupeol 3-palmitat olduğu aydınlatılmış ve bileşiğin de Lavandula türlerinden ilk kez tarafımızdan izole olduğu, daha önce aynı bileşiğin Inula britannica'dan (65) elde edilmiş olduğu belirlenmiştir.

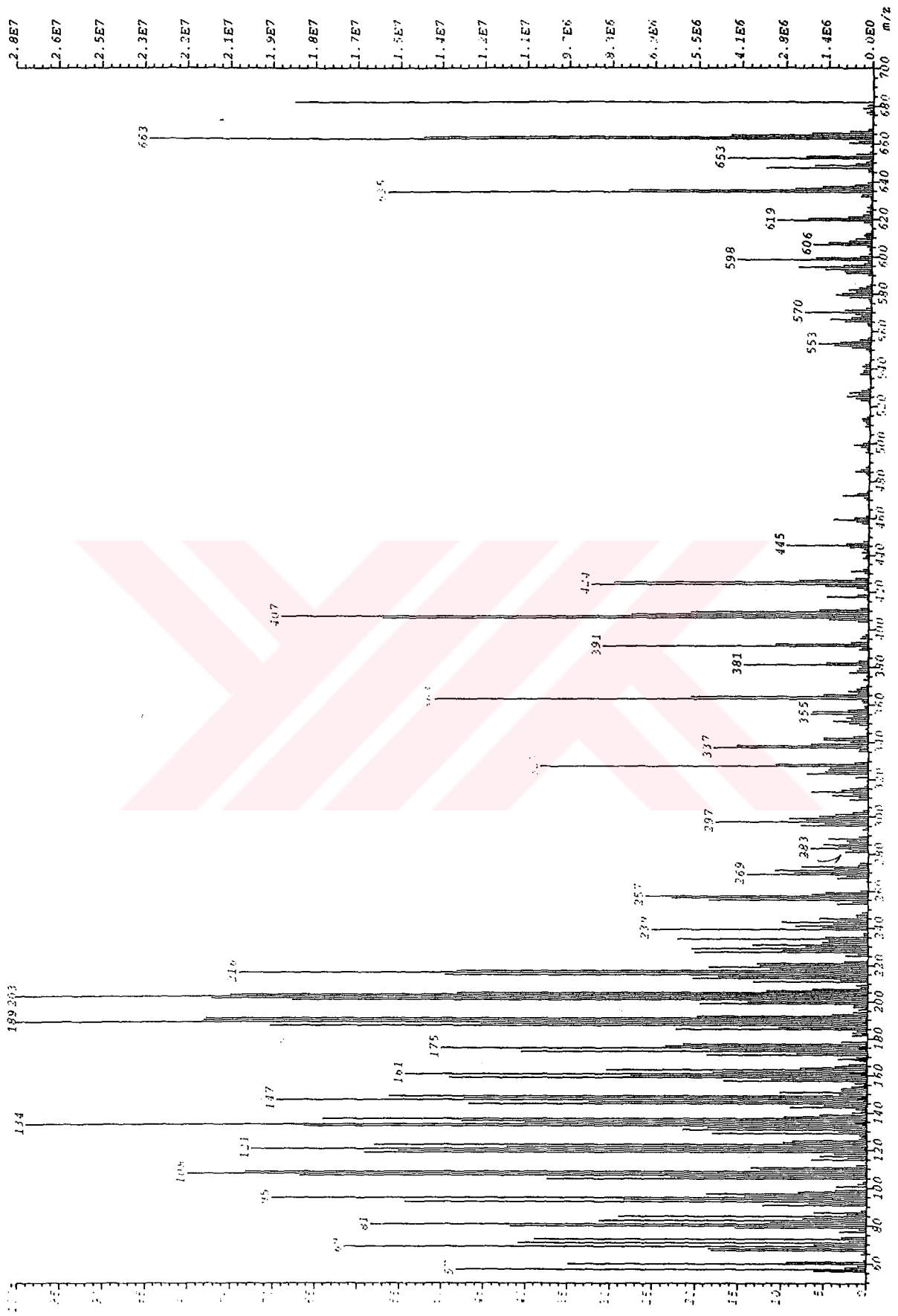
Aynı bileşiğin miristat esteri de ince tabaka kromatografisi ve kütle spektrumu ile anlaşılabilmiştir. Çünkü ^1H NMR spektrumu tamamen aynıdır. Kütle spektrumunda $\text{C}_{44}\text{H}_{76}\text{O}_3$ kapalı formülüne tekabül eden 652 moleküler iyon pikini vermiş, bu da 14 C'lu miristat esterini taşıyan 16 β -hidroksi lupeol 3- miristat bileşiğinin varlığını doğrulamıştır.



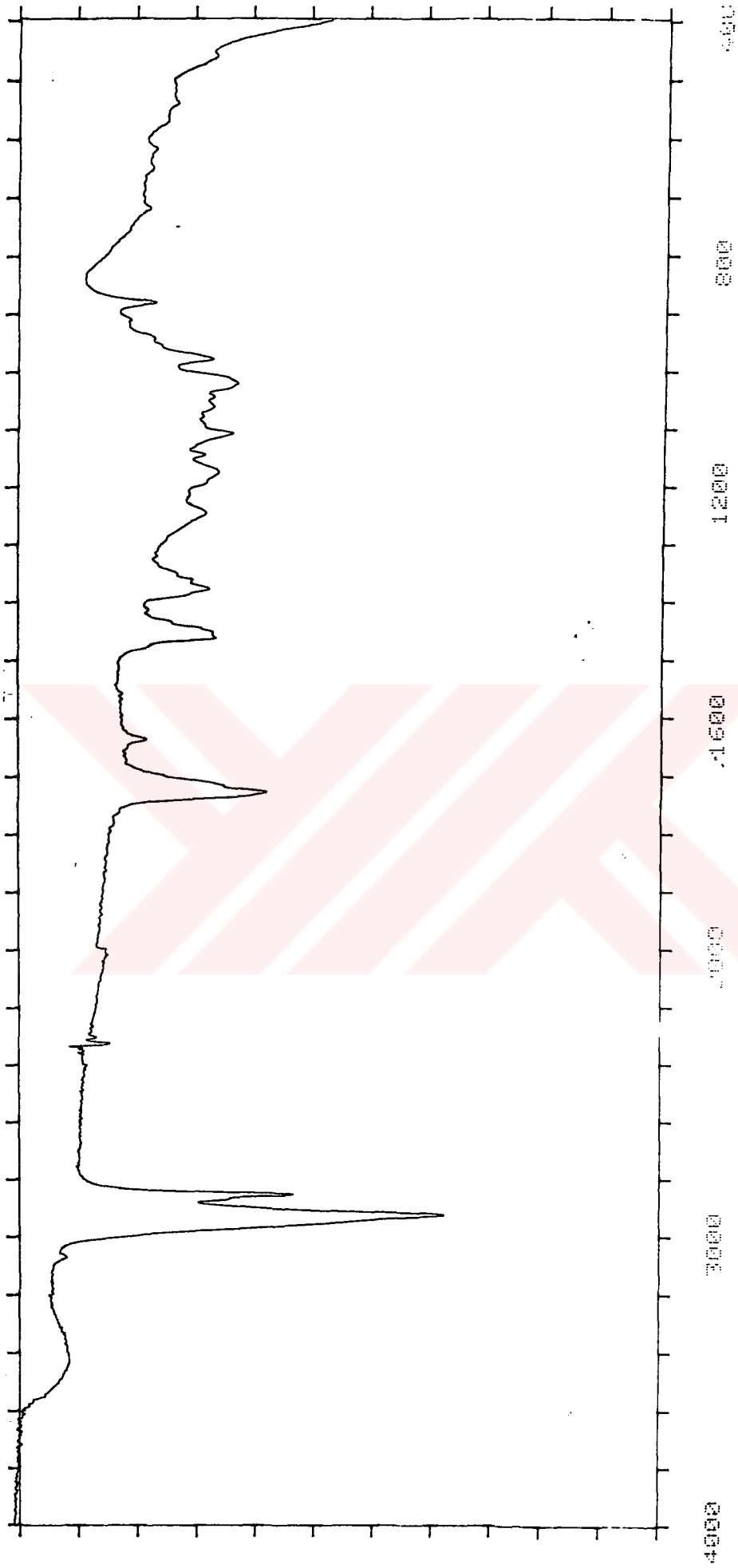


Şekil 72

File: EK-A-LAG-10-8-2-1 Ident: 38-23-24 Win 1000PPM Acq: 27-AUG-1999, 1:52:51 File: AUG-27
 Sample: E1+ Magnet EpM: 189 Bp: 27603944 TIC: 1461336577 Flag: HALL

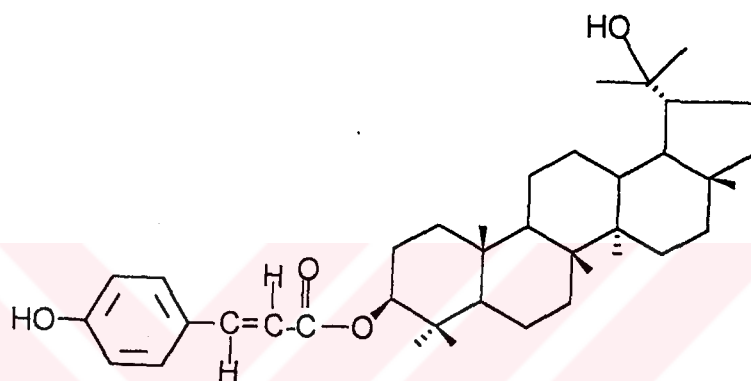
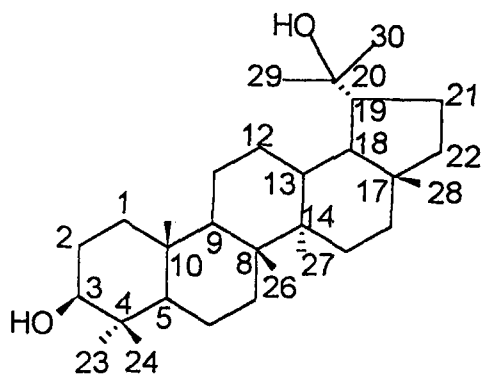


Şekil 73

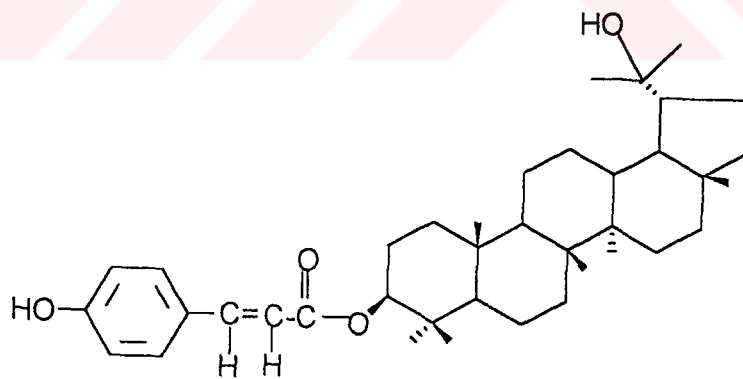


Şekil 74

II.D.3.1.8. Monoginol A



Monoginol A trans kumarol ester



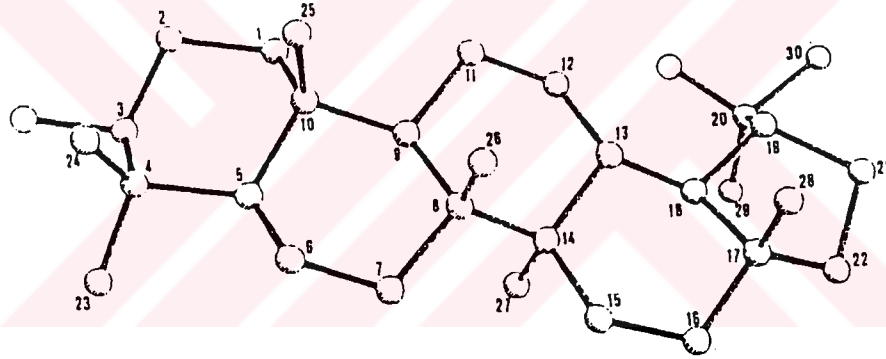
Monoginol A cis kumarol ester

HRMS kütle spektrumu m/z 444.3960 'da $C_{30}H_{52}O_2$ kapalı formülüne karşılık gelen moleküler iyon pikini verdi. ^{13}C NMR spektrumunda (Şekil 78) 8 metil, 10 metilen, 6 metin ve 6 katemer karbon sinyali izlenerek molekülün 30 C 'dan ibaret bir triterpen olacağı belirlenmiştir. Gerek metin gerekse katemer karbon atomlarından birer tanesi alt alanda 73.45 ve 78.90 ppm 'de izlenerek molekülde iki oksijen taşıyan karbon atomunun varlığını göstermiştir.

1H NMR spektrumu (Şekil 76) ile metin karbondaki sekonder hidroksilin C-3 'de olduğu 3.20 ppm 'de izlenen karakteristik 5 ve 11 Hz 'lik dublet dublet ile saptanmıştır. Diğerleri ise katemer olup

C-20'de yer aldığı C-20 'deki metillerin kimyasal kayması ile anlaşılmış ve X-ray analizi daha önceki bir çalışmada kesinlikle belirlenmiş ve belirlenen bu kristal yapısı (Şekil 75) aşağıda verilmiştir.

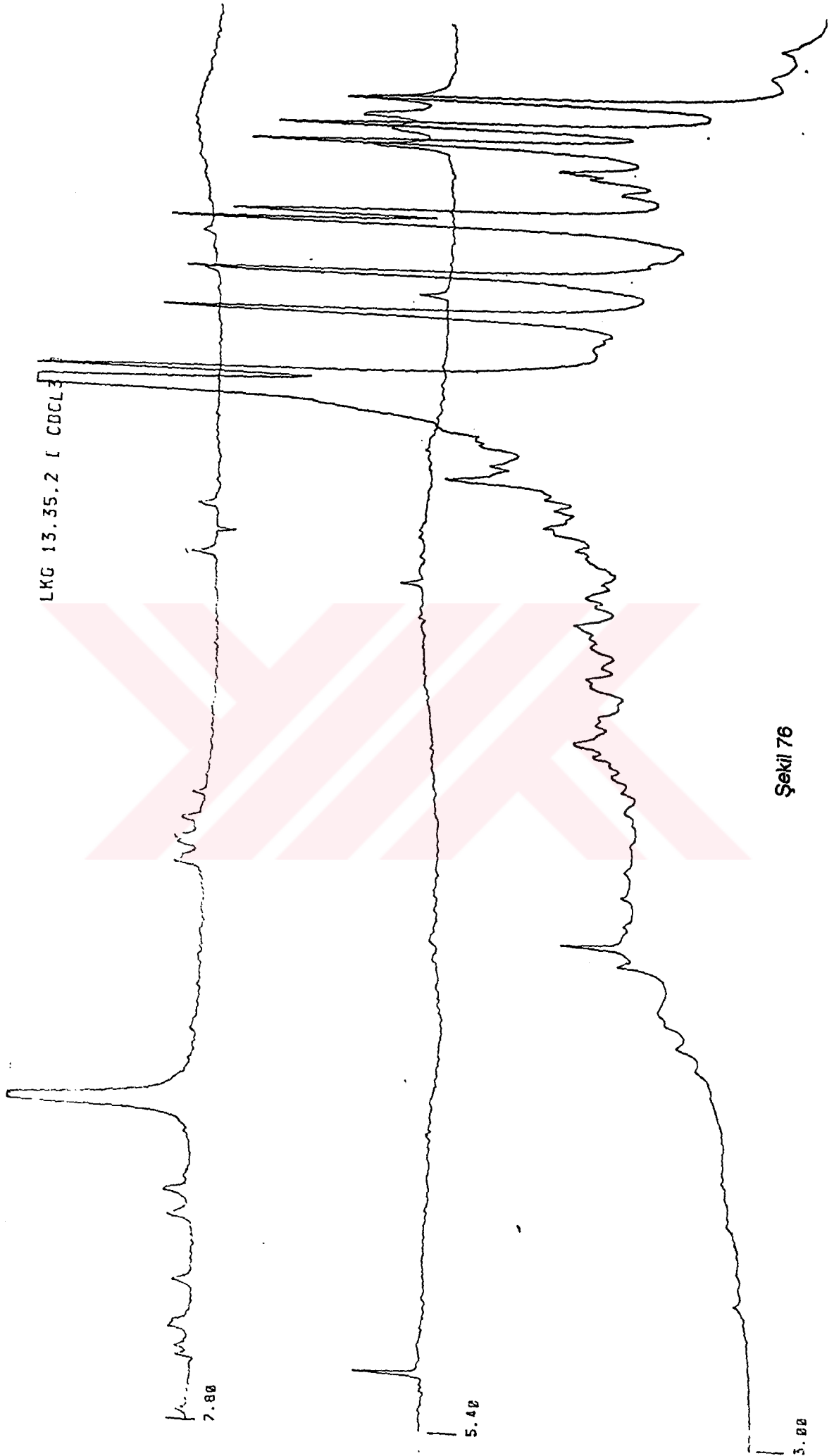
(67)



Şekil 75

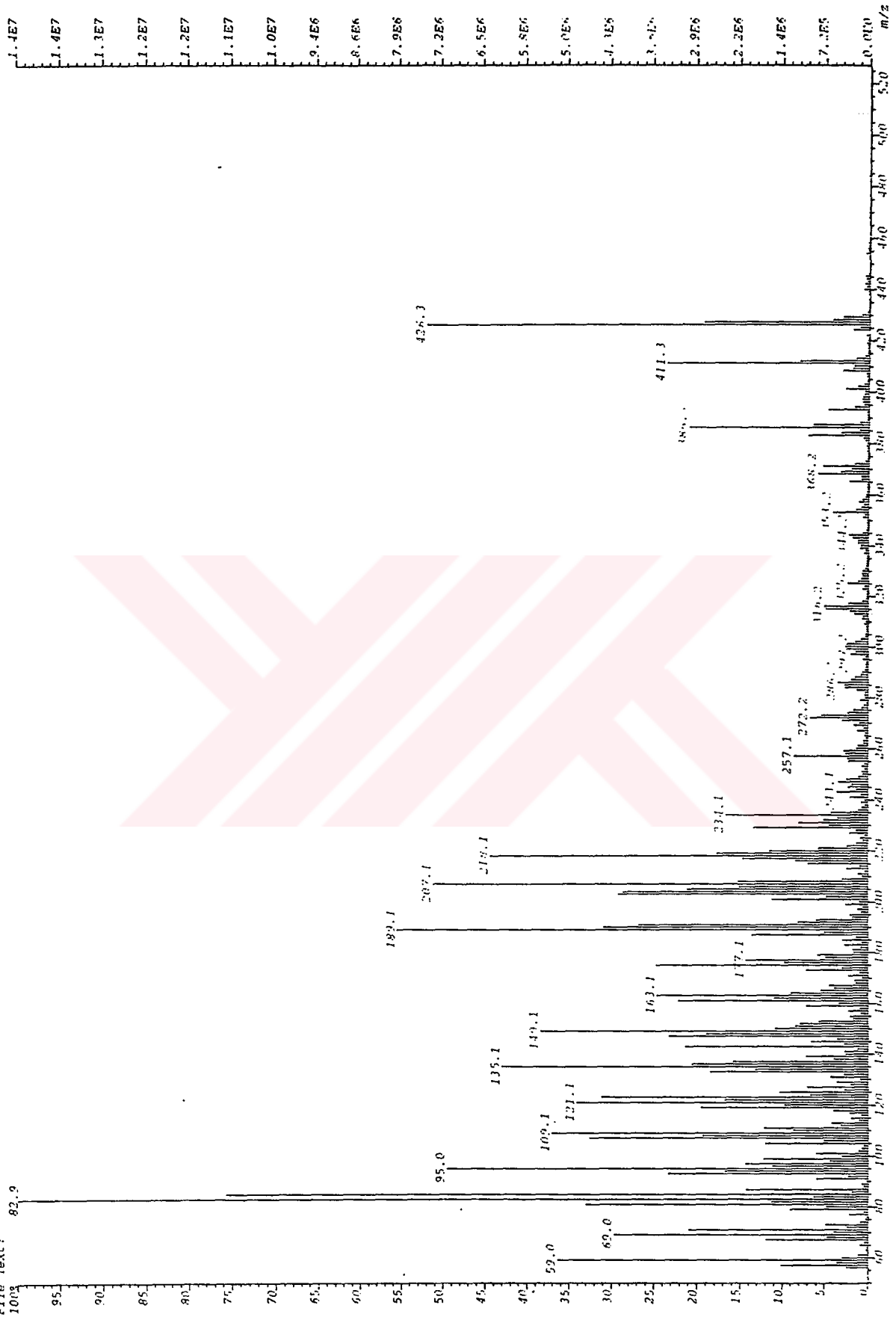
İzolasyon sırasında bileşiklerle birlikte bileşiğin trans ve cis kumaroil esterleri de izole edilmiş, trans esterine ait 16 Hz 'lik proton sinyalleri 7.60 ve 6.27 ppm 'de cis esterine ait 12.5 Hz'lik proton sinyalleri ise 6.80 ve 5.82 ppm 'de dubletler halinde izlenmiştir. Trans esterine ait ^{13}C NMR spektrumu Şekil 79'da, IR spektrumu ise Şekil 80'de görülmektedir.

Her üç madde de daha önce *Salvia montbreti* 'den elde edilmiş fakat *Lavanta* türlerinden ilk kez elde edilmiştir (67).



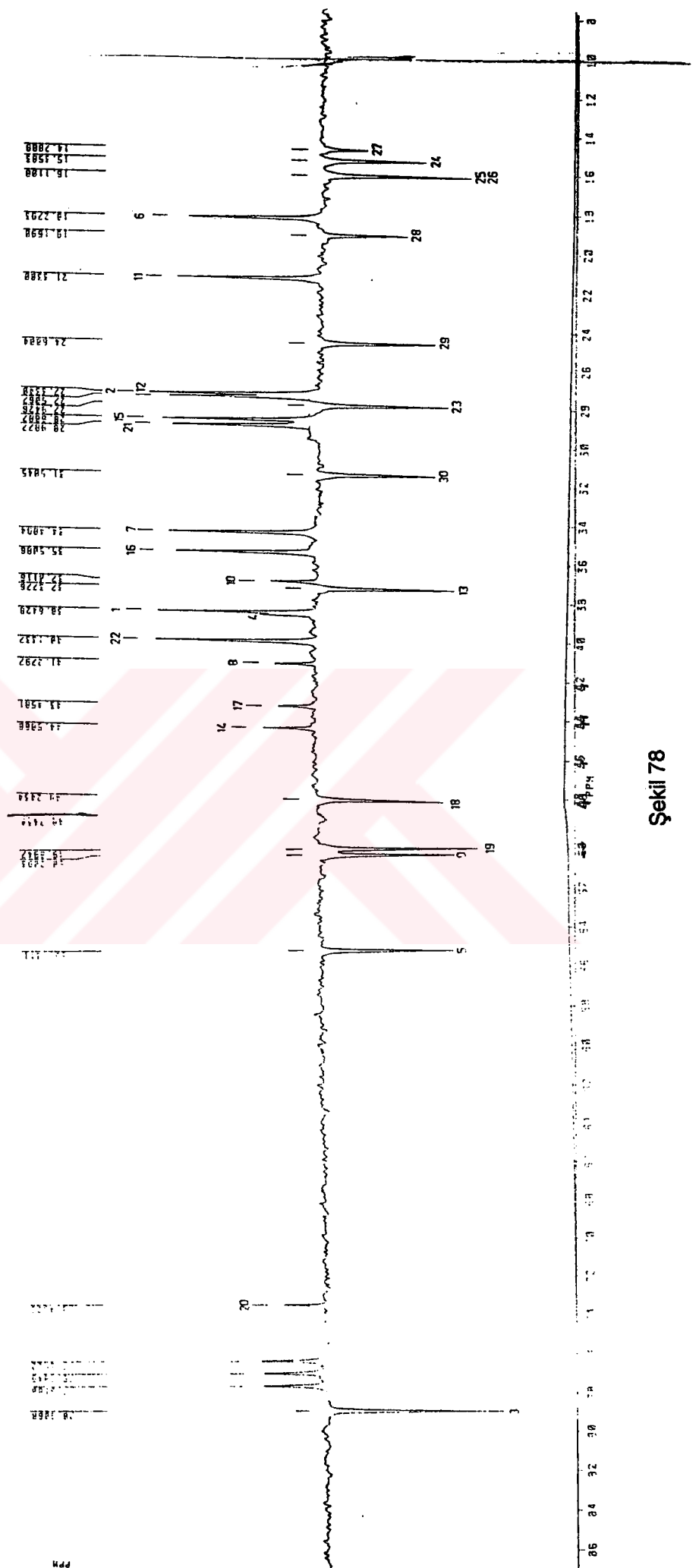
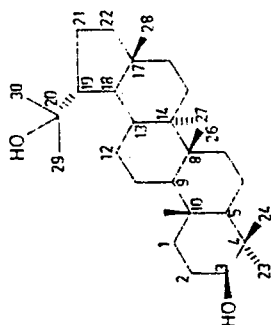
Şekil 76

File: HK-Q-LAC-13-15-2 Identi: 0-2 Win 1000FW Acq: 14-OCT-1996 16:45:51 Cal: OCT14
 Sample: FI+ Magnet Epn: 83 Epi: 14414272 TIC: 323523360 Flags: HALL
 File Text:

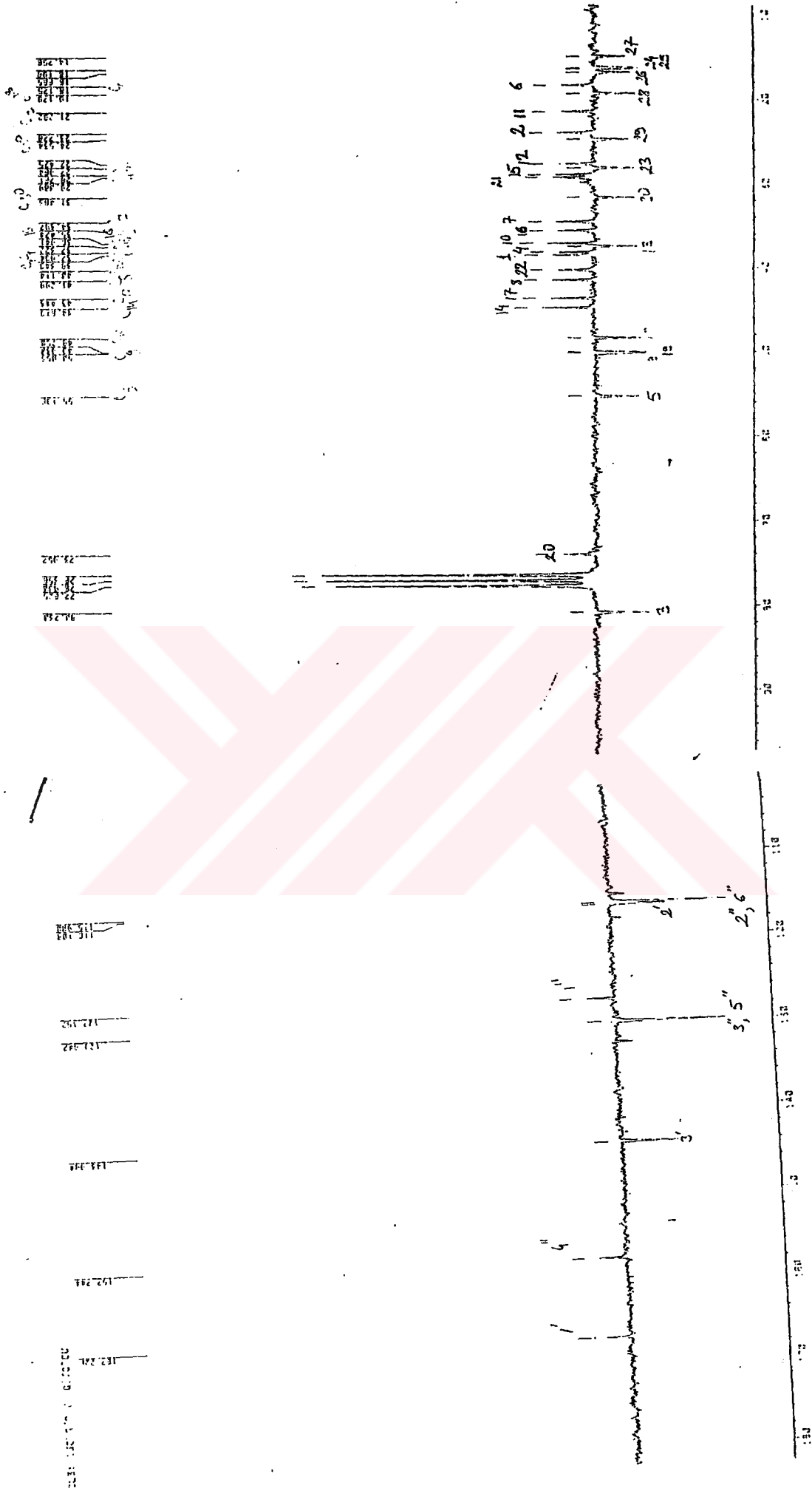


Şekil 77

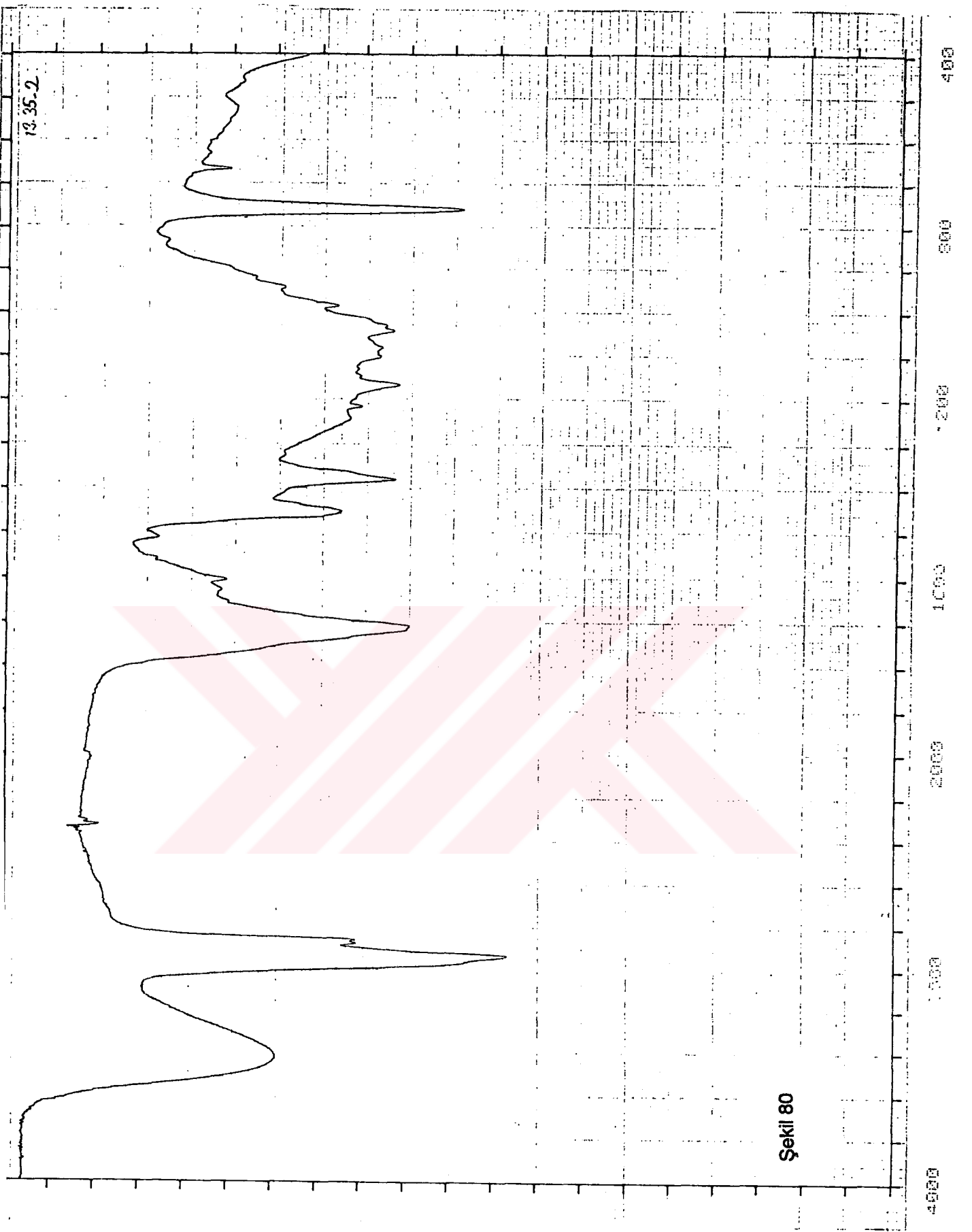
MONOGYNOL A



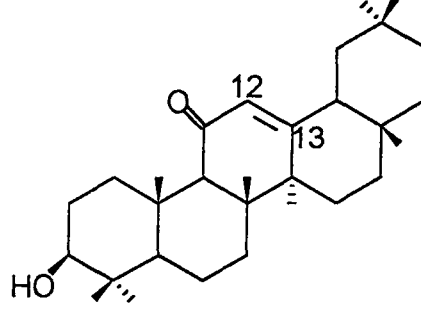
Şekil 78



Şekil 79



II.D.3.1.9 3β-Hidroksi 11-oxo-olean-12-en (11-oxo-β-amirin)



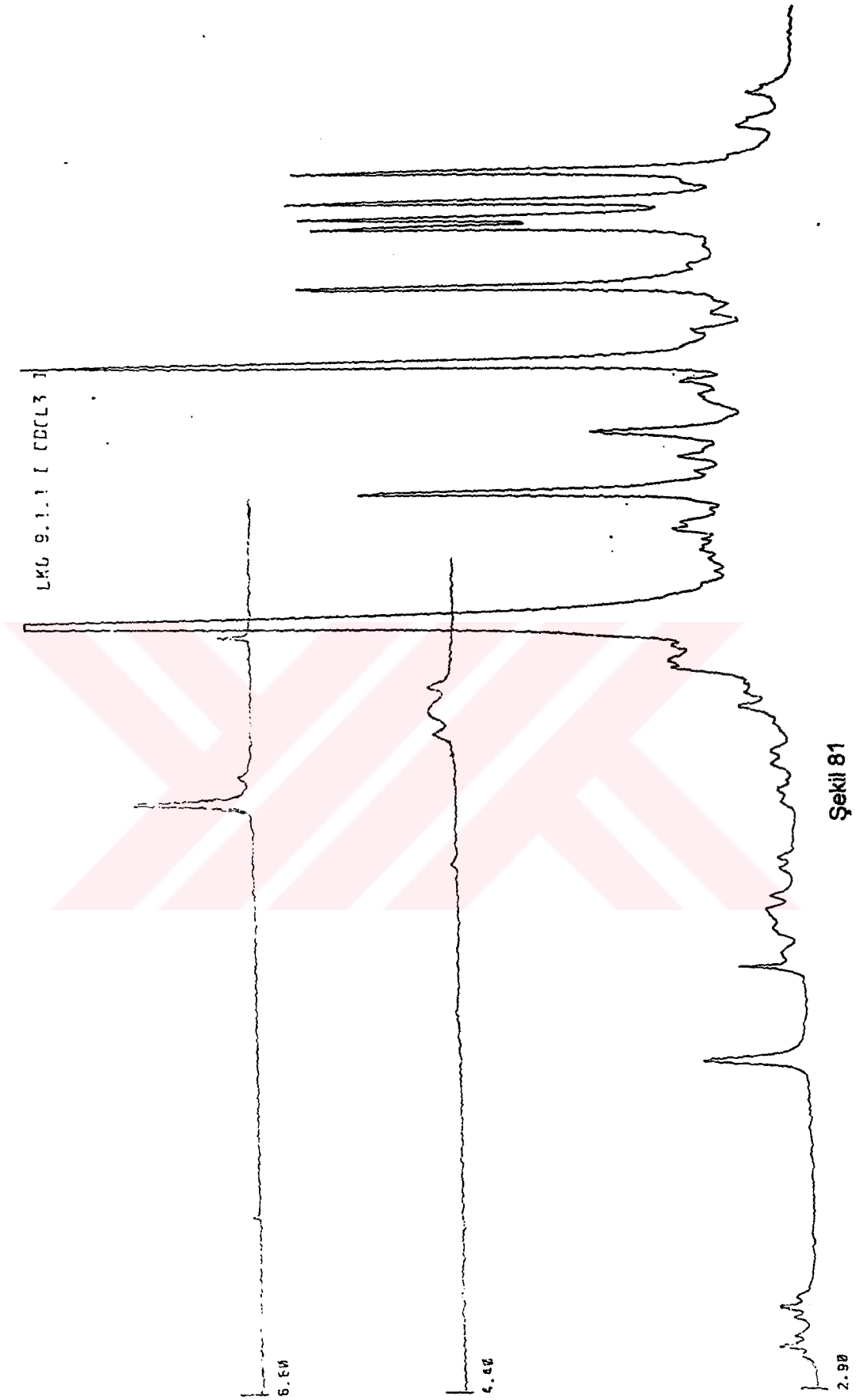
IR spektrumunda (şekil 54) 3440 cm^{-1} 'de hidroksile, 1660 cm^{-1} 'de konjuge karbonile ve 1625 cm^{-1} 'de doymamışlığa ait absorpsiyon bantları izlenmiştir.

HRMS spektrumunda, $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_2$ kapalı formülüne tekabül eden moleküler pik m/z 440.3658 'de (hesaplanan 440.3654) izlenmiştir.

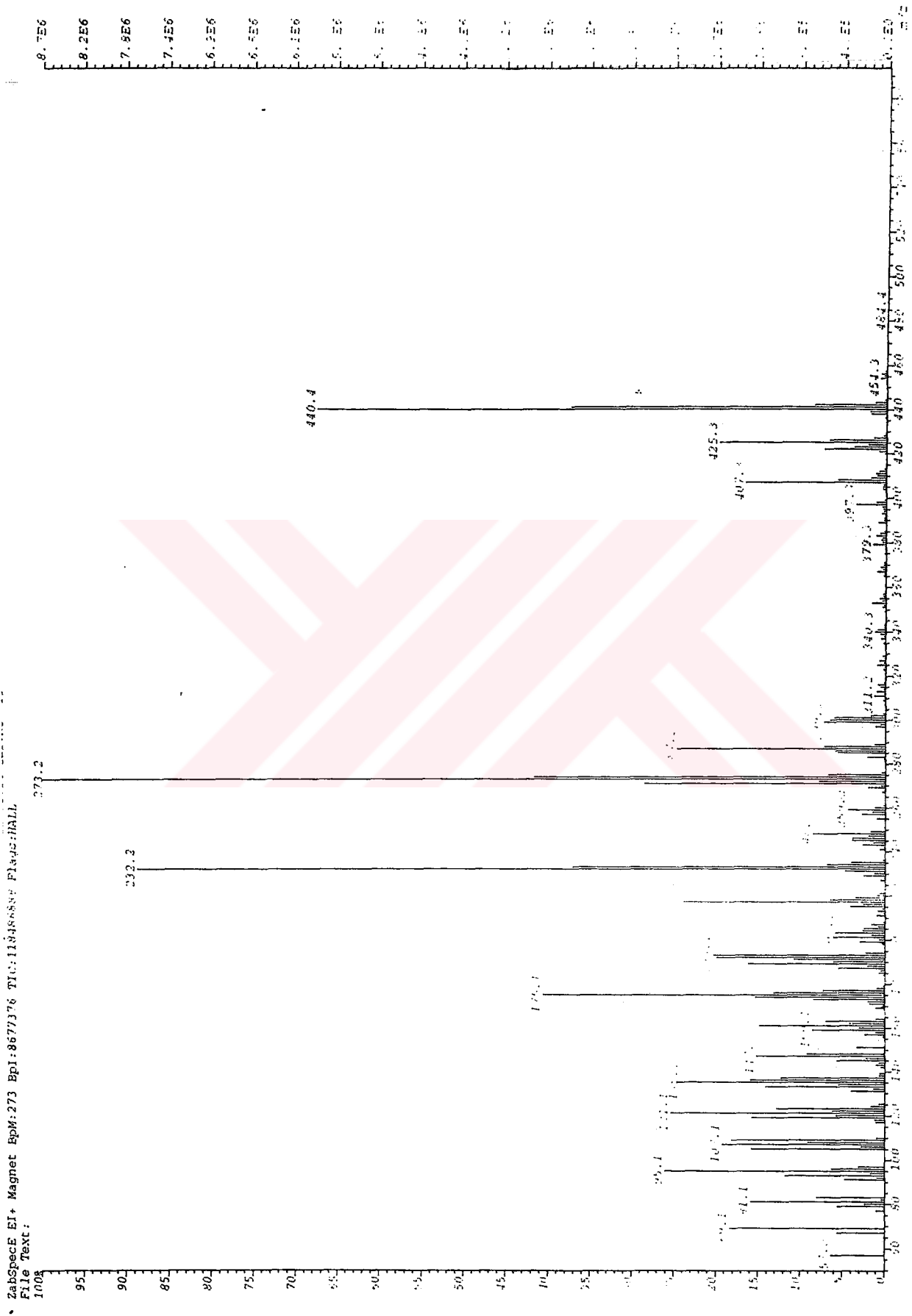
Madde miktarının az olması nedeniyle çok iyi bir ^{13}C spektrumu alınamamış, fakat sekonder bir hidroksil taşıyan karbon (C-3) 78.834 ppm 'de, olefinik protonu taşıyan karbon ise 128.147 ppm 'de açıkça izlenmiştir. Diğer karbon sinyalleri de şekil 83 'de gözlenmektedir.

^1H NMR spektrumu (şekil 84) 0.81, 0.87, 0.89, 0.90, 1.0 ve 1.12 (2 Me) ppm 'de singletler halinde metil sinyallerini, 3.22 ppm 'de dublet dublet halinde H-3 ($J=5.5$ ve 9 Hz) sinyalini, 5.58 ppm 'de ise singlet halinde olefinik proton sinyalini vermiştir. Molekülde bir konjuge ketonun varlığı IR spektrumunda 1660 cm^{-1} 'de gözlenmiş, ^{13}C spektrumunda da bu keto grubu 200.2 ppm 'de izlenerek doğrulanmıştır. Olefinik protonun keto grubuna konjuge olduğu gözönüne alındığında C-11 veya C-7 bu keto grubunun yerleşmesi için olası iki yerdir.

Gerek kütle bölünmeleri gerekse literatür taramaları bileşiğin 11-oxo-β-amirin yani 3 β-hidroksi 11-oxo-olean-12-en olduğunu göstermiştir. Bu bileşik daha önce başka bir bitkiden elde edilmiş (85) fakat Lavandula türlerinden ilk kez bu çalışmada elde edilmiştir.

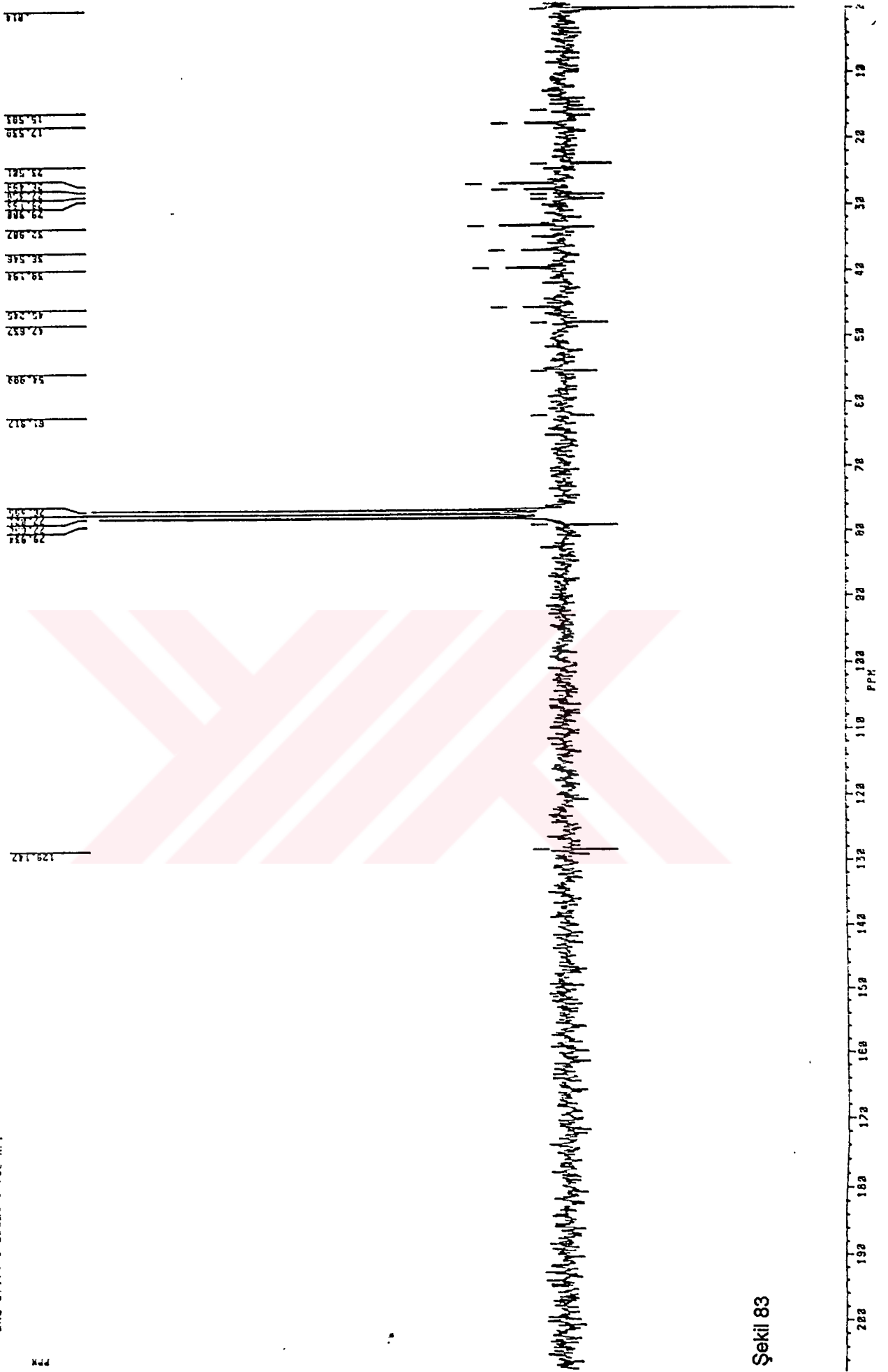


Şekil 81

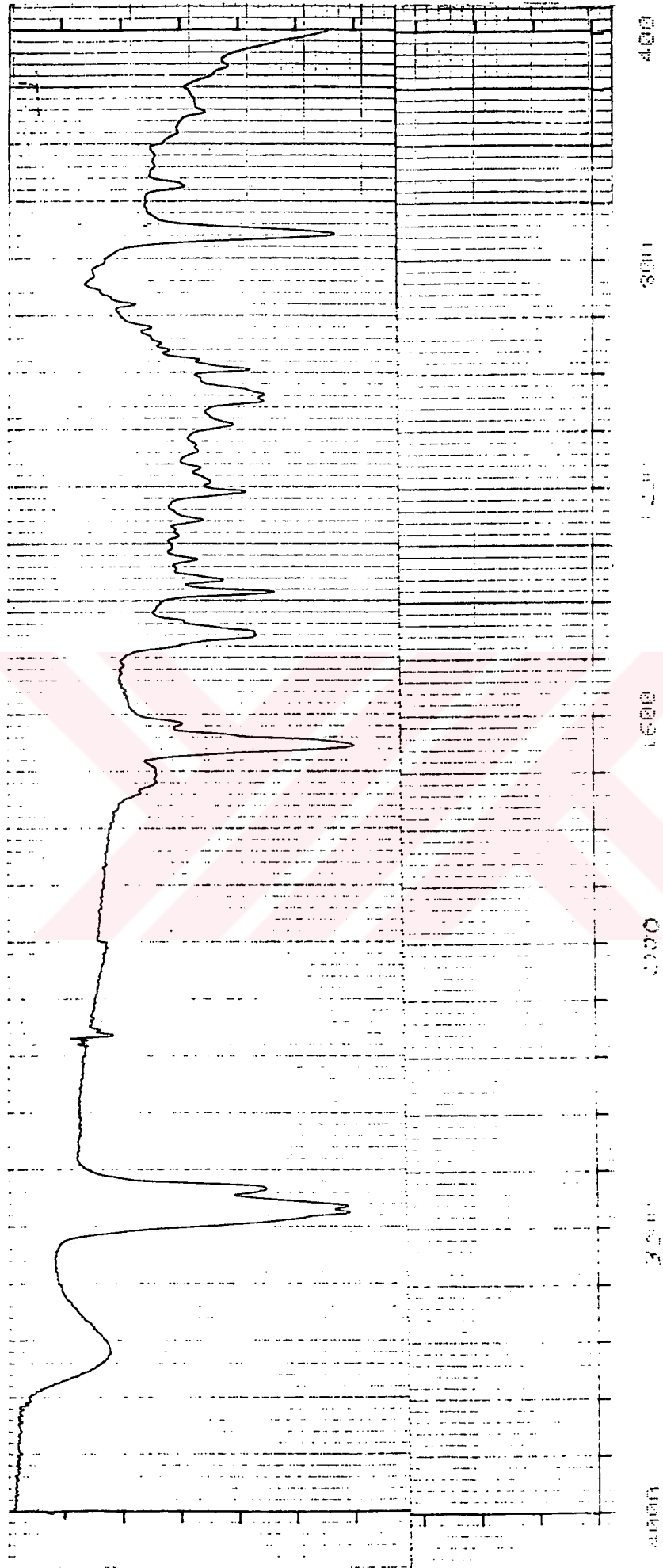


Şekil 82

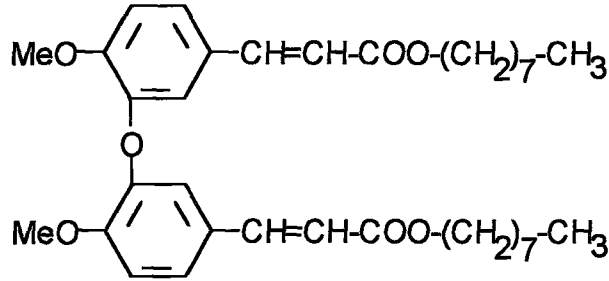
LKG 5.1.1 1 ECEK3 : 13C-6P1



Şekil 83



Şekil 84



Bileşiğin IR spektrumu 1710 ve 1270 cm^{-1} absorpsiyon bantları ile bir ester grubunun varlığına, $1630, 1600, 1585$ ve 1520 cm^{-1} 'deki bandlarıyla da konjuge bir aromatikliğin varlığına işaret etti.

UV spektrumu da 325 cm^{-1} 'de verdiği absorpsiyonla konjuge aromatik sistemin varlığını doğruladı.

Moleküldeki dimerik yapı kütle spektrumu ile anlaşıldı, moleküler pik HRMS 'de $594,395$ 'de izlenmiştir. Kütle spektrumunda (M-OMe-H) piki m/z 565 'de, 536 'da ise ikinci metoksi grubunun çıkışı izlenmiştir. Molekülün aromatik kısmının kopuşu ($\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_3$) 228 parçalanma iyon pikiyle ve 200 ($\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_3 - \text{OMe} + 2\text{H}$) parçalanma iyon pikiyle izlenmiştir.

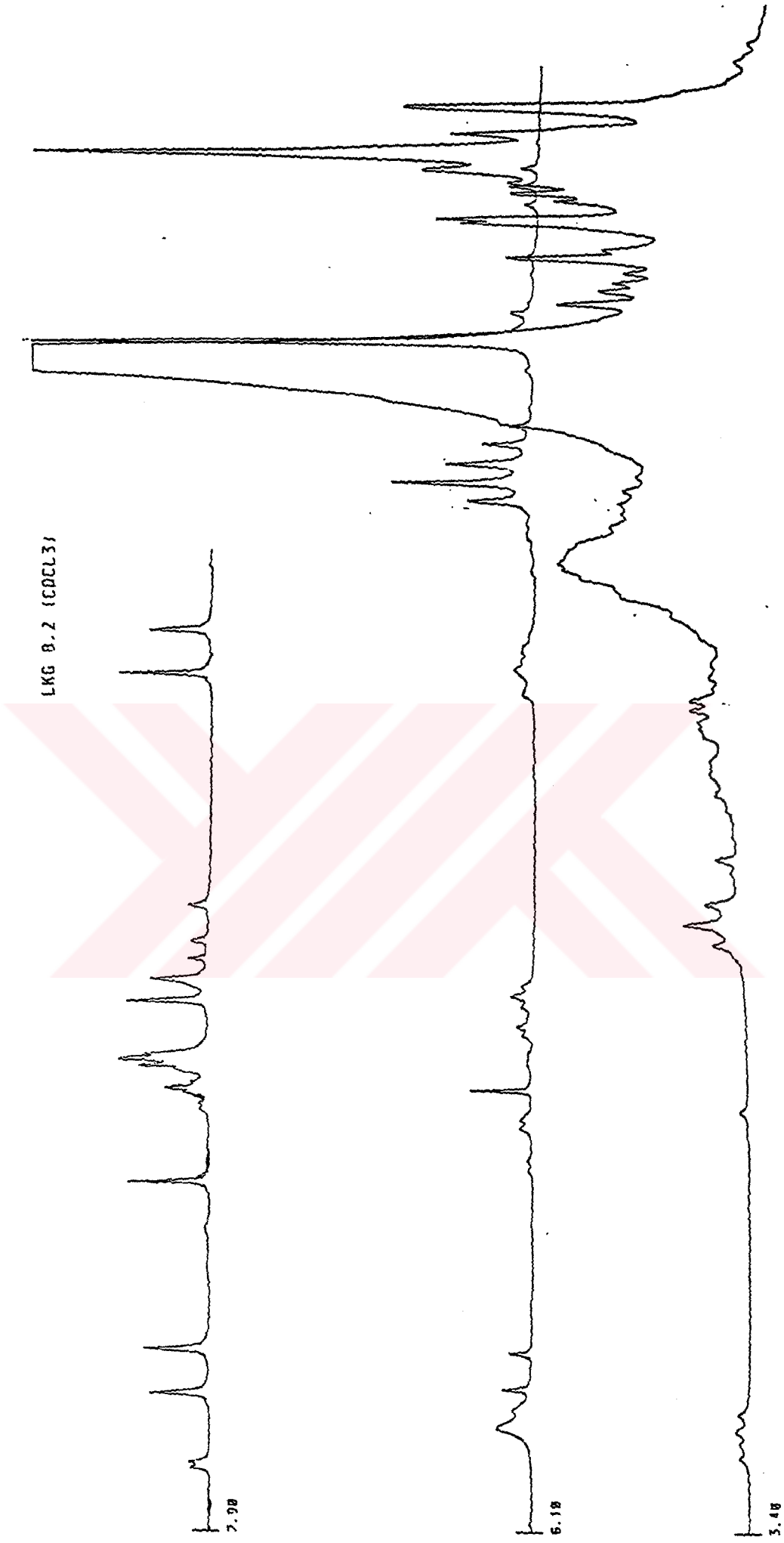
^1H NMR spektrumunda aromatik halka sinyalleri δ 7.77 (2H, d, $J=2\text{ Hz}$) (H-2 ve H-2'), 7.10 (2H, dd, $J=2$ ve 8 Hz) (H-5 ve H-5') ve δ 6.88 (2 H, d, $J=8\text{ Hz}$) (H-6 ve H-6') olarak izlenmiş, 12 Hz 'lik dubletler δ 5.83 (2H, d, H-7 ve H-7') ve δ 6.79 (2H, d, H-8 ve H-8') bileşikte cis konumundaki olefinik proton çiftlerine işaret eder. Molekülde CH_2 zincirinin varlığı $1.68-1.15$ ppm arasında izlenen metilen protonları ile anlaşılmış, bu zincirin uç metil grubu ise 0.87 ppm 'de bir triplet olarak gözlenmiştir. Ester grubuna komşu metilen çifti protonları ise 4.22 ppm 'de triplet olarak izlenmiştir.

APT tekniği ile alınan ^{13}C spektrumu verdiği sinyallerle bileşiğin cis-4-O-metil kafeik asitin oktanol esterinin olduğunu göstermiştir. Tüm spektral veriler de bu bulguyu doğrulamıştır. Aynı bileşiğin trans esteri de birlikte izole edilip saflaştırılmış ve yapısının dimerik trans-4-O metil kafeik asit oktanol esteri olduğu saptanmıştır. Trans olefinik protonlar 16 Hz 'lik dubletler halinde 7.61 ve 6.29 ppm 'de gözlenmiş, diğer protonlar ise cis izomerine benzer şekilde izlenmiştir.

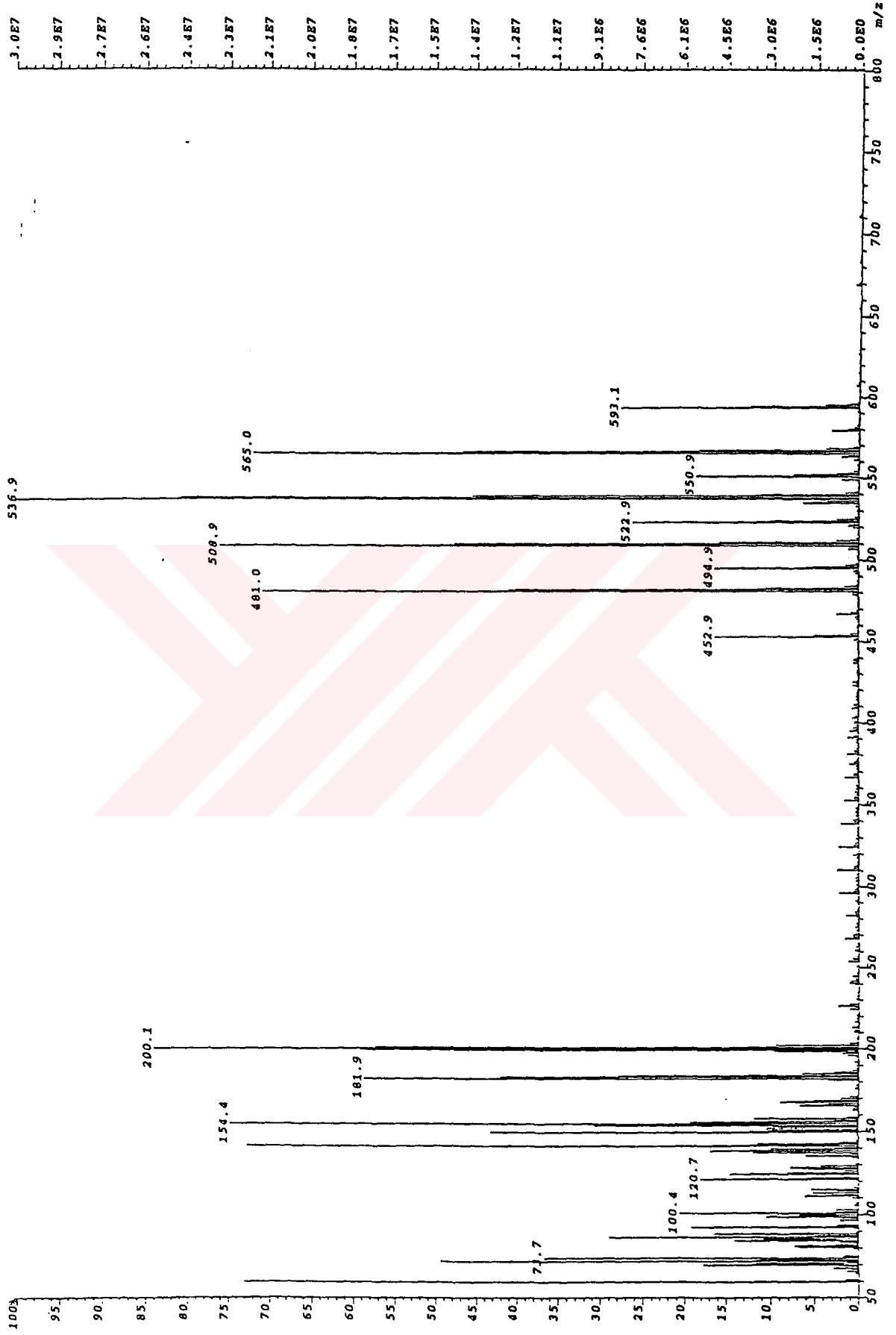
Kütle spektrumu da aynı moleküler pik ve parçalanma iyon piklerini vermiştir. Her iki bileşikte daha önce yine bir Lamiaceae familyası bitkisi olan *Salvia forskahlei*' den izole edilmişlerdir (66), standart bakterilere ve bir mantar olan *Candida albicans*'a karşı yapılan antibakteriyel aktivite testlerinde sadece cis esteri C . *albicans*'a karşı hafif bir aktivite göstermiştir.

Tüm spektral verilere dayanarak bileşiklerin dimerik *cis* ve *trans*-4-0 metil kafeik asit *oktanol esterleri* olduğu ve *Lavandula* türlerinden ilk kez elde edildiği belirlenmiştir.

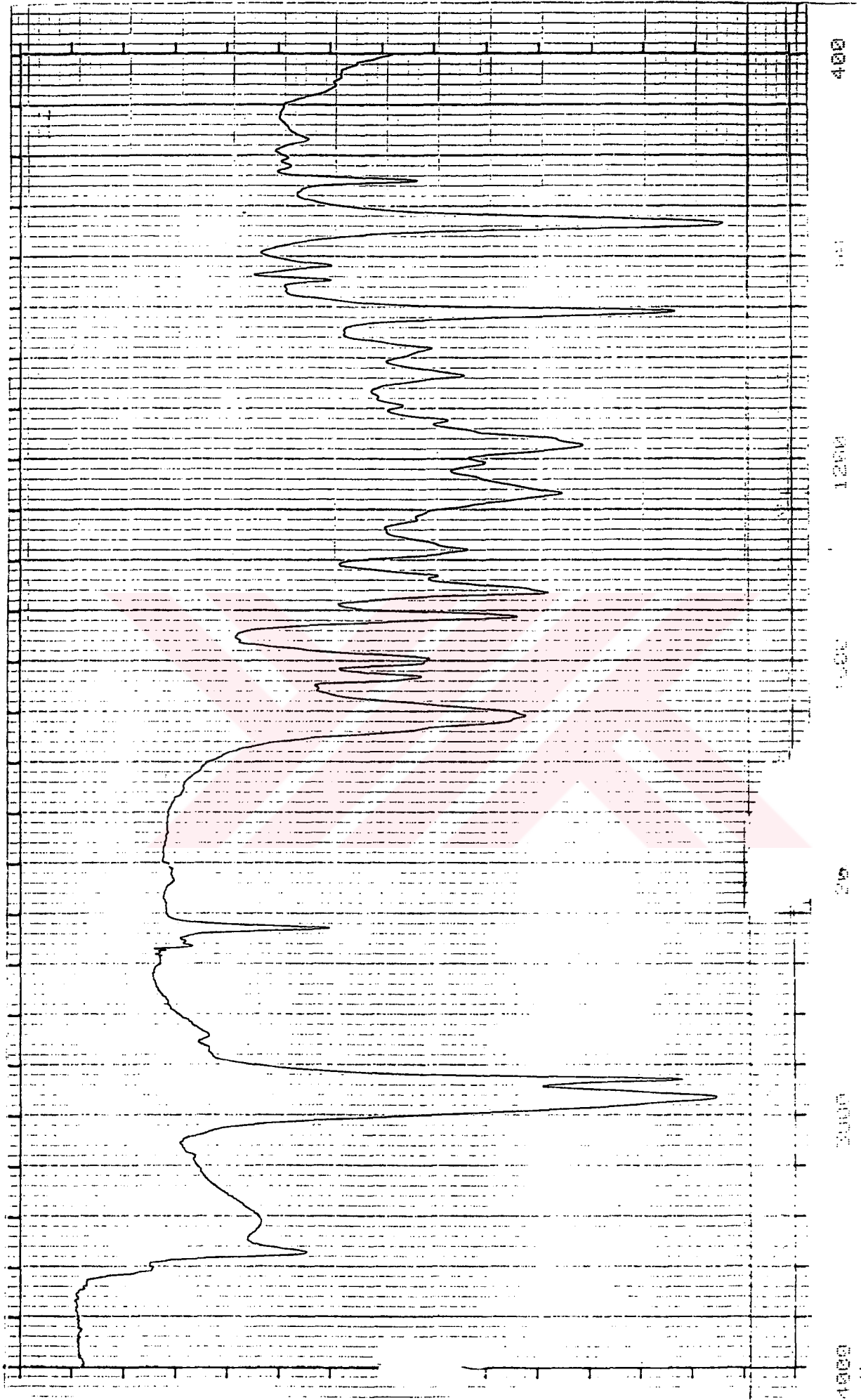




Şekil 85

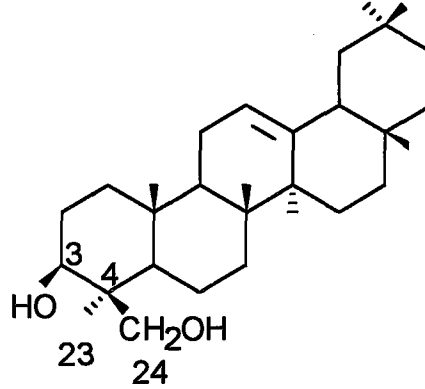


Şekil 86



Şekil 87

II.D.3.1.11 3 β , 24 Dihidroksi-olean-12-en



% 100 MeOH ile elüsyonda elde edilen bu bileşiğin IR spektrumunda 3380 ve 3365 cm^{-1} 'de hidroksil, 1370 ve 1385 cm^{-1} 'de gem dimetil, 760 cm^{-1} 'de doymamışlık absorpsiyon bantları izlenmiştir.

EIMS spektrumunda moleküler pik 442 de izlenmiştir. Yüksek rezolüsyonlu kütle (HRMS) spektrumu ise moleküler pik m/e 442.381284 'de (hesaplanan 442.381081) gözlenmiş ve buna tekabül eden kapalı formül $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$ ile yapının bir triterpen olduğu anlaşılmıştır.

^1H NMR spektrumunda (şekil 88) metil sinyalleri singletler halinde 0.8 (3H), 0.88 (6H), 0.90 (3H), 0.98 (6H) ve 1.22 (3H)'de gözlenerek olean iskeletine sahip bir triterpen olacağına işaret etmiştir. Olean triterpenlerde çok yaygın olan 3'deki hidroksil grubunun varlığı 3.22 ppm'deki dublet dublet ($J=5$ ve 10 Hz) ile anlaşılmış ve Dreiding model üzerinde de gözleendiği gibi etkileşim sabitlerinden hidroksil grubunun β pozisyonunda yerleştiği saptanmıştır.

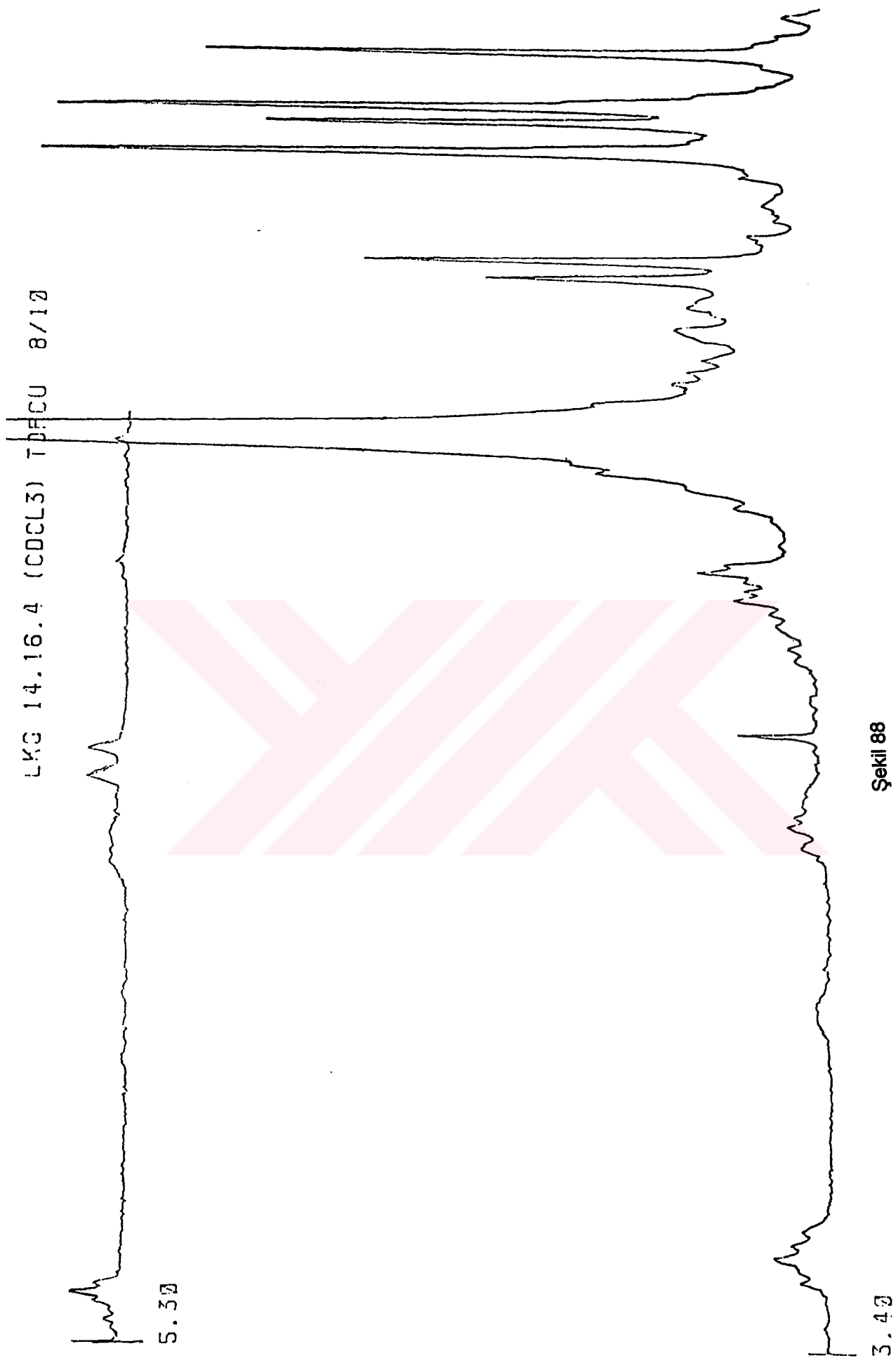
3.18 ve 4.15 ppm'de gözlenen 11 Hz 'lik AB dubletlerinden molekülde bir hidroksi metilen grubunun varlığı anlaşılmıştır. Bu hidroksimetilen grubunun yeri araştırıldığında daha önce bulunmuş olan olean tipli aynı kapalı formüle ve fonksiyonel gruplara sahip eritrodiol'den (71)

farklı olduğu görülmüştür. Eritrodiole çok benzer bir moleküle sahip olan uvaol (70) ile de literatür değerleri kıyaslanmış ve farklı olduğu gözlenmiştir. Yine benzer fakat ursan iskeletine sahip bir triterpen olan uvaol varlığında ise metil gruplarından ikisinin ^1H NMR spektrumunda dubletler halinde gözlenmesi gerekirdi. 5.21 ppm'de gözlenen olefinik proton sinyalinin bölünme şekli ve kimyasal kayması itibariyle olean ve ursan triterpenlerdeki H-12 proton sinyaline karşılık geldiği saptanmıştır.

Hidroksimetilen protonlarından birinin diğzerinden oldukça farkanarak alt alana kayması (4.15) CH₂OH grubunun moleküldeki mevcut diğzer hidroksil (sekonder) grubuna komşu olacağını düşündürdü ve bu nedenle C-4'de yer alma olasılığı araştırıldı. Metil protonlarının kimyasal kayması ve literatürdeki değzerlerle karşılaştırılması sonucu hidroksimetilen grubunun C-4 'de β pozisyonunda yer aldığı saptanmıştır. C-3 ve C-4'de β pozisyonunda OH grubu taşıyan benzer bir triterpen ise hederagenindir (69), fakat bu triterpen ilave olarak C₁₇'de bir COOH grubu taşımaktadır. CH₂OH gruplarının hemen hemen aynı kimyasal kaymayı göstermesi de bileşikteki CH₂OH 'ın C4-β pozisyonunda (C-24) yerleştiğini doğrulamıştır.

Tüm spektral ve literatür değzerlerine dayanarak bileşiğin yapısı *3β, 24 Dihidroksi-olean-12-en* olarak belirlenmiştir ve doğadan ilk kez elde edilmiştir.





Mass spectrum plot showing relative intensity (Y-axis, 0 to 10) versus mass-to-charge ratio (m/z, X-axis, 40 to 580). The base peak is at m/z 234.1. Other significant peaks are labeled with their m/z values.

m/z	Relative Intensity (approx.)
43.0	2.5
95.1	2.0
109.1	1.5
114.1	1.2
135.1	1.8
147.1	1.5
163.1	1.2
175.1	1.5
190.1	2.0
210.1	2.5
234.1	10.0
255.1	1.0
273.2	1.5
287.2	1.2
299.2	1.0
321.3	1.5
399.3	2.0
422.3	2.5
456.3	1.0

100-443887-100

Elemental Composition

Date : 26-FEB-1997

File:F-LKG-14-16-4-HR Ident:15 SMO(1,7) PKD(7,4,7,0.00%,0.0,0.00%,F,F)
 ZabSpecE EI+ Voltage EpI:8782 TIC:460246 Flags:NORM

Heteroatom Max: 20 Ion: Both Even and Odd
 Limits:

440.325	0.0	-			-0.5	0	0	0
442.678	100.0	10.0			20.0	200	400	3
Mass	%RA	mDa	PEM	Calc. Mass	DBE	C	H	O
442.551188	0.1							
442.522926	0.0							
442.483979	0.0							
442.446220	0.5	-7.6	-17.2	442.438596	0.0	28	58	3
		7.6	17.3	442.453852	4.0	32	58	
442.401027	21.8							
442.381284	24.2	-0.2	-0.5	442.381081	6.0	30	50	2
442.330300	0.2	-6.7	-15.2	442.323566	12.0	32	42	1
442.278216	0.3	9.0	20.3	442.287181	13.0	31	38	2
442.251455	1.0	-0.7	-1.5	442.250795	14.0	30	34	3
442.036092	0.3							
441.927673	0.0							
441.844342	0.0							
441.673367	0.0							
441.498062	0.1							
441.445818	0.6	0.2	0.5	441.446027	4.5	32	57	
441.379831	34.5	-6.6	-14.9	441.373256	6.5	30	49	2
441.284706	0.5	-5.3	-12.1	441.279356	13.5	31	37	2
441.250829	1.0	7.4	16.8	441.258226	18.5	34	33	
		-7.9	-17.8	441.242970	14.5	30	33	3
441.227782	1.2	-5.9	-13.5	441.221841	19.5	33	29	1
441.002873	0.0							
440.992594	0.1							
440.842704	0.0							
440.681779	0.0							
440.553131	0.3							
440.494332	0.0							
440.452035	0.0	7.3	16.6	440.459332	0.0	29	60	2
440.420763	1.2	2.2	5.0	440.422946	1.0	28	56	3
440.377783	100.0							
440.324860	1.1	4.2	9.5	440.329046	8.0	29	44	3

Elemental Composition

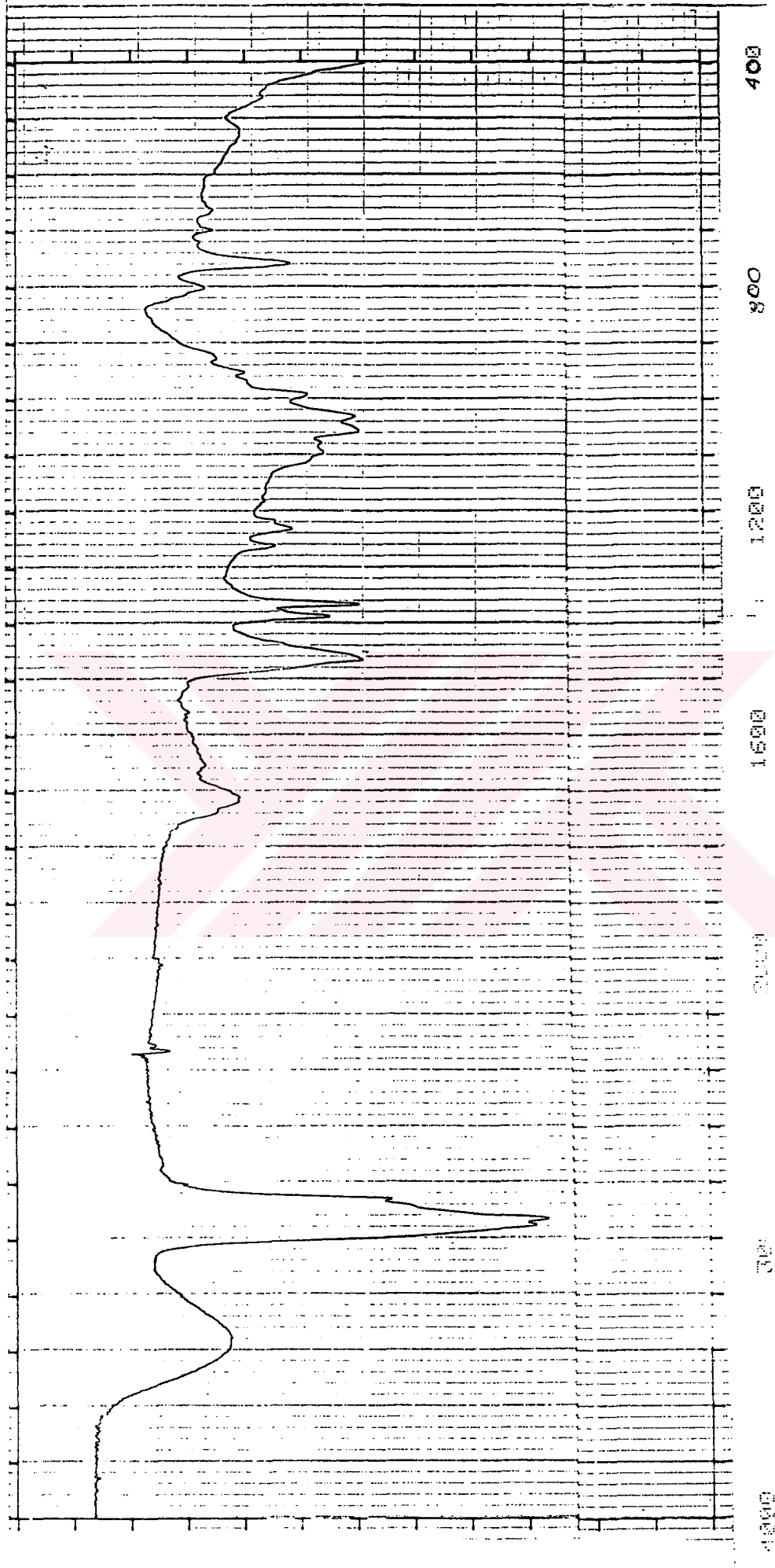
Date : 26-FEB-1997

File:F-LKG-14-16-4-HR Ident:15 SMO(1,7) PKD(7,4,7,0.00%,0.0,0.00%,F,F)
ZabSpecE EI+ Voltage,BpI:8782 TIC:460246 Flags:NORM

Heteroatom Max: 20 Ion: Both Even and Odd
Limits:

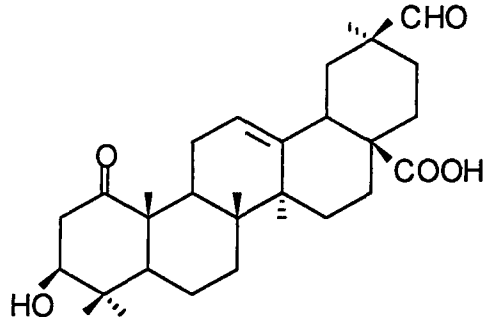
456.014	0.0				-0.5	0	0	0
456.499	100.0	10.0			20.0	200	400	3
Mass	%RA	mDa	PPM	Calc. Mass	DBE	C	H	O
456.499445	0.0							
456.458744	0.1	-4.5	-9.9	456.454246	0.0	29	60	3
456.376736	7.1	-1.1	-2.5	456.375602	11.0	34	48	
456.336859	2.2	2.4	5.2	456.339216	12.0	33	44	1
456.309225	0.1	-6.4	-14.0	456.302831	13.0	32	40	2
456.282239	1.3	-0.5	-1.2	456.281701	18.0	35	36	
456.220036	0.3							
456.194953	0.3							
456.013681	0.0							





Şekil 90

II.D.3.1.12 Virgatik Asit-29-al (1-oxo-3 β -hidroksiolean-12-en-29-al-28-olk asit)

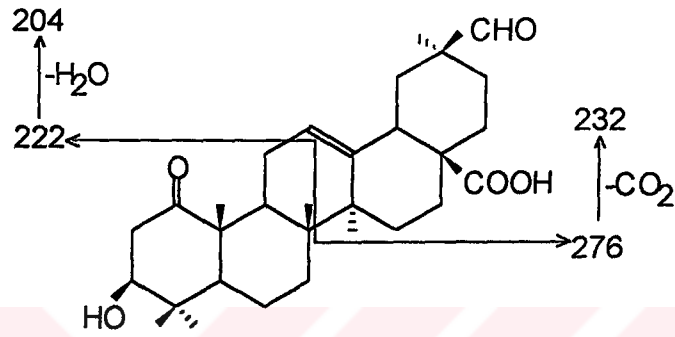


Yüksek rezolüsyonlu kütle spektrumu moleküler piki m/z 484.321055 (hesaplanan 484.318875) de vermiş ve bu $C_{30}H_{44}O_6$ kapalı formülü ve 9 doymamışlığa tekabül etmiştir. 1H NMR spektrumunda (şekil 91) metil pikleri singletler halinde 0.77, 0.79, 0.93, 0.99, 1.08 ve 1.25 ppm'de gözlenmiştir. C-3 hidroksil grubuna komşu protonun varlığı 3.2 ppm' de dublet dublet ($J=5$ Hz ve 10 ppm) halinde gözlenmiştir. Olean triterpenler için karakteristik alan Δ^{12} çifte bağı 5.31 ppm'de triplet olarak gözlenmiştir ($J=2.5$ Hz). Ayrıca 9.32 ppm'de gözlenen singlet molekülde bir aldehit grubunun varlığına işaret etmiştir. Bu aldehit grubunun ve bir asit grubunun varlığı IR spektrumunda (şekil 93) 1720 ve 1690 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bantlarıyla doğrulanmıştır. Ayrıca üçüncü bir karbonil grubunun varlığı 1735 cm^{-1} de izlenmiştir.

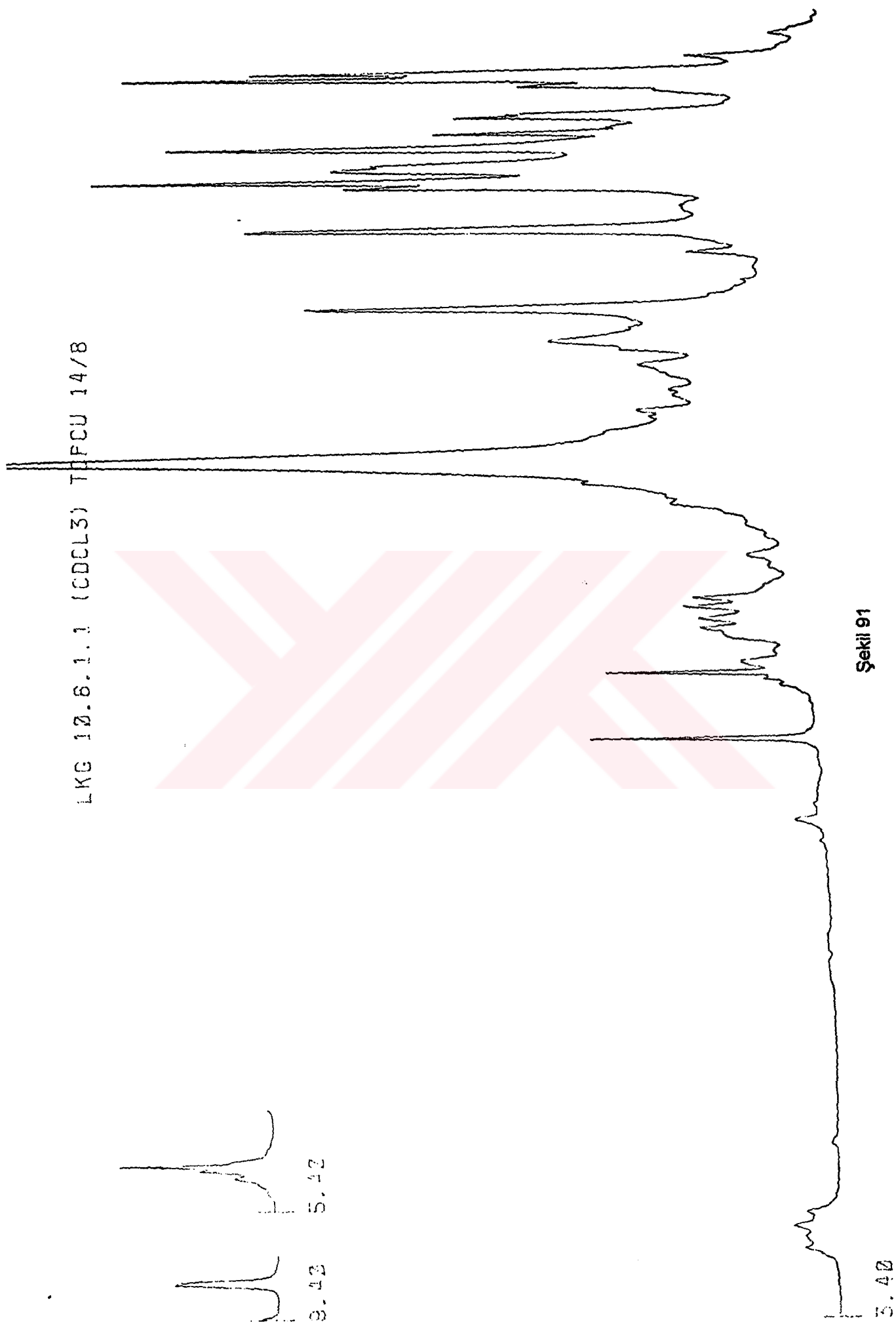
Kütle spektrumundaki parçalanma piklerinden gerek asit (COOH) gerekse aldehit (CHO) grubunun E halkasında yer aldığı anlaşılmış, molekülden ilk kopan 44 ünitelik CO_2 çıkışı asit grubunun C-17'de yer aldığını göstermiştir.

Kapalı formül, molekül ağırlığı ve IR spektrumuna dayanarak yapıda bir keto grubunun varlığı anlaşılmış, fakat madde miktarının az oluşu nedeniyle ^{13}C NMR spektrumu alınamamıştır. Bu grubun yerinin C-1 olduğu düşünülmüştür, kütle parçalanma pikleri de bunu doğrulamaktadır. Keto grubu C halkasında olamaz, bu takdirde 5.12 ppm sinyali daha alt alana kayar ve singlet olarak çıkardı. D ve E halkalarında olduğu takdirde ise 276 yerine 290 parçalanma pikini görmemiz gerekirdi. Bu nedenle A veya B halkalarında yer alması söz konusudur.

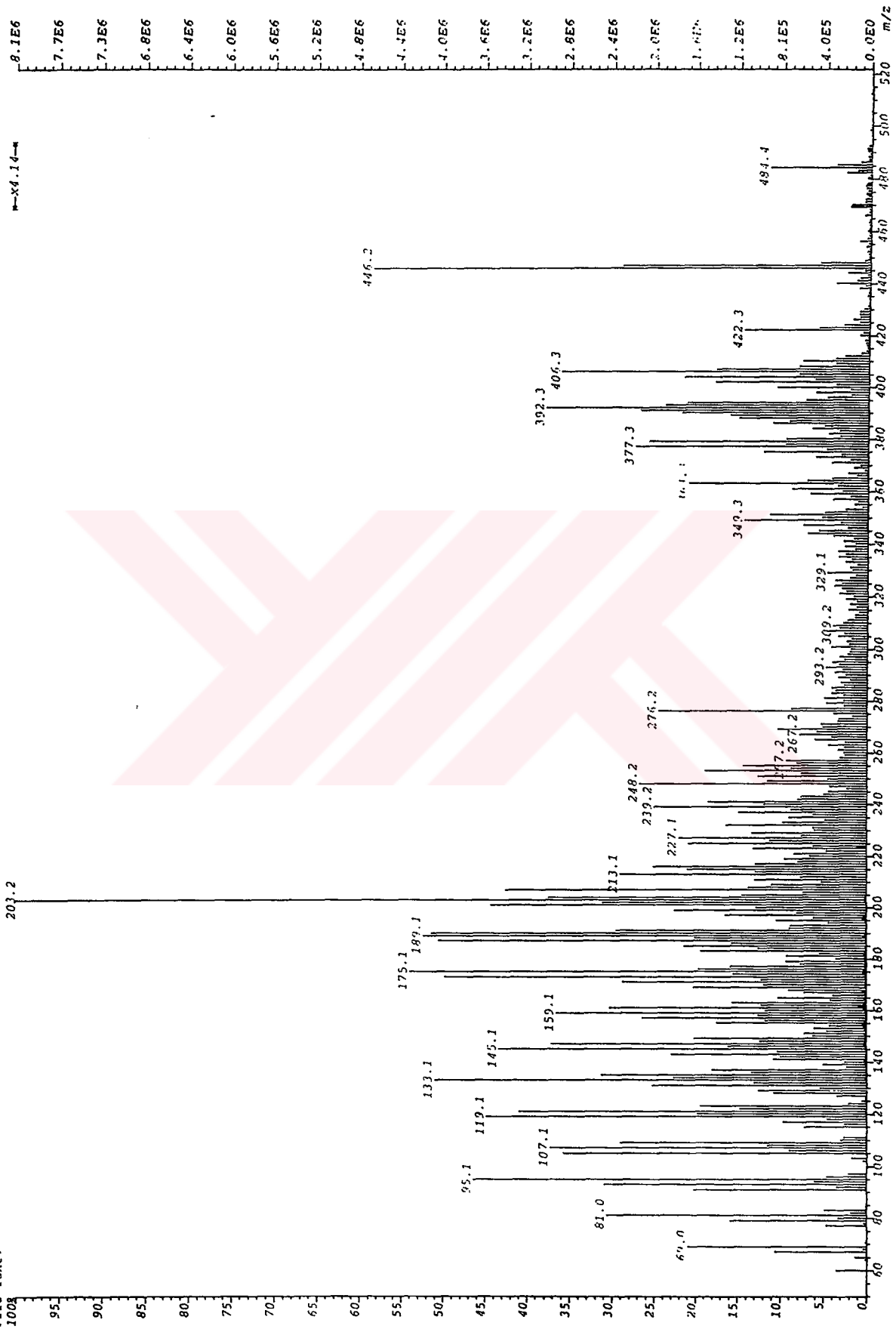
H-3' ün J=5 ve 10 Hz' lik iki dublet vermesi C-2 'de iki hidrojen bulunduğunu göstermektedir, yani A halkasında sadece H-1 olasıdır, B halkasında ise C-6 veya C-7 'e yerleşebilir. C-6 ya yerleşmesi durumunda C-10 metil grubu 1.4-1.6 ppm' e kayar, böyle bir durum izlenmediğinden C-6' da elimine olunca keto grubunun yerleşmesi için sadece C-7 ve C-1 pozisyonları söz konusudur.



Virgatik asit (75) ile mukayesesi sonucu ve kütle spektrumu parçalanma piklerine dayanarak keto grubunun C-1' de yer aldığı belirlenmiştir. Böylece doğadan ilk kez elde edilen bu maddenin yapısı virgatik asit -29-al (=1-oxo-3 β -hidroksiolean -12-en-29-al-28-oik asit) olarak saptanmıştır.



File: BK-D-LKG-10-8-1-1 Ident: 21_26-15_17-27_33 Win 1000PPM Acq: 25-DEC-1996 12:31:14 +1:11 Cal: DEC-25
 ZabsSpec EI+ Magnet BpM: 203 BpI: 8057016 TIC: 299581248 Flags: HALL
 File Text:



Şekil 92

Elemental Composition

Date : 2-JAN-1997

File:EK-J-LKG-10-8-1-1 Tdent:9 PKD(5,3,5,0.50%,0.0,0.00%,F,F)

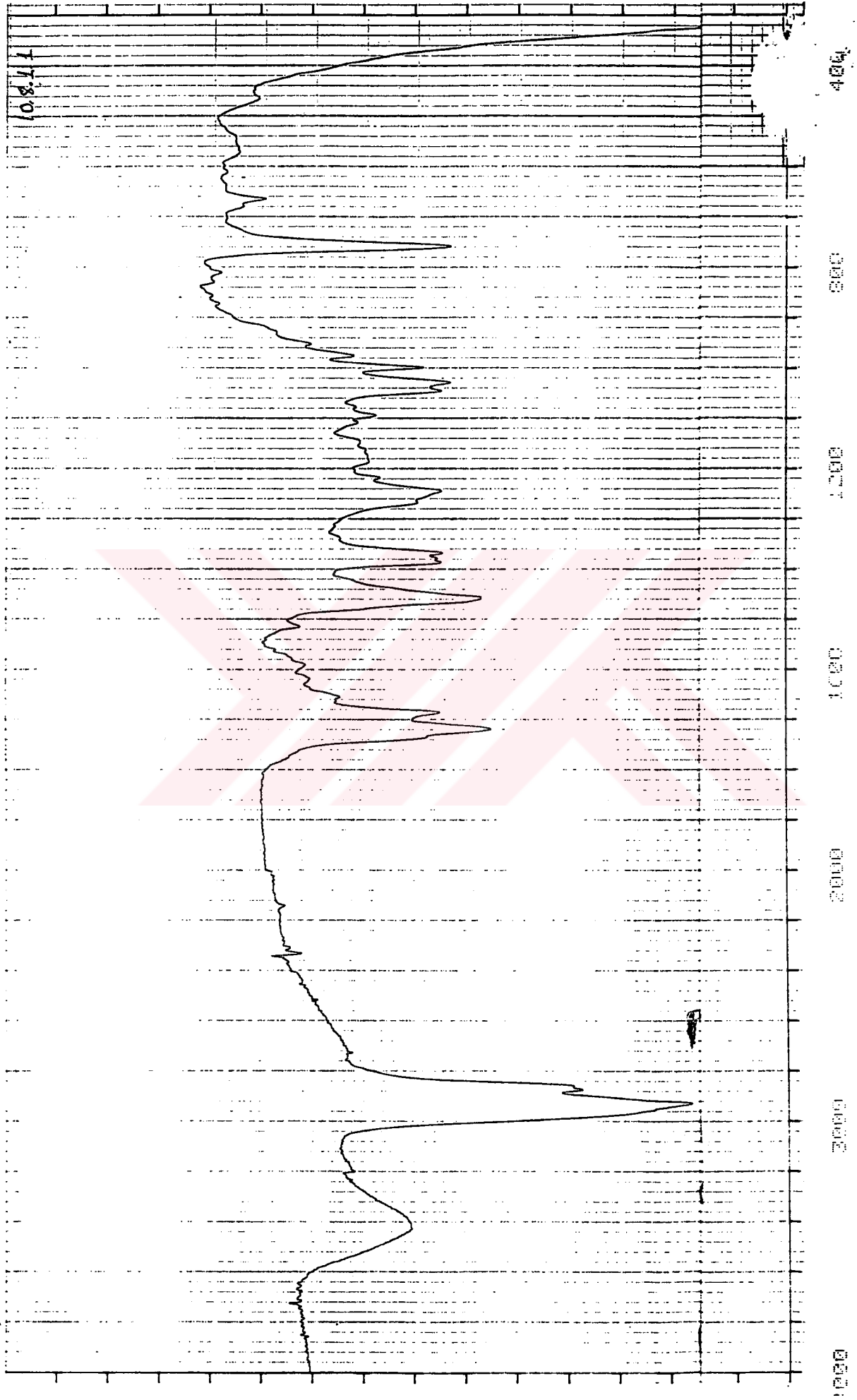
ZabSpecE EI+ Voltage BpI:71616 TIC:9426209 Flags:NORM

File Text:

Heteroatom Max: 20 Ion: Both Even and Odd
Limits:

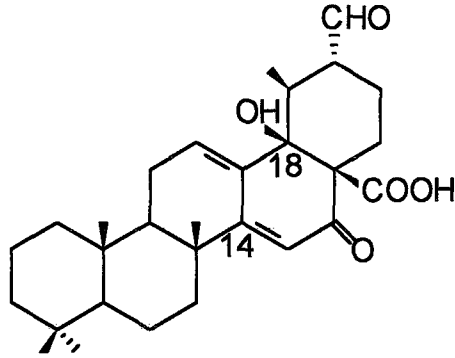
483.018	0.0				-0.5	0	0	5
485.959	100.0	10.0			20.0	200	400	10

Mass	%RA	mDa	PPM	Calc. Mass	DBE	C	H	O
485.959341	7.7							
485.833357	0.2							
485.768049	0.0							
485.486039	4.0							
485.369895	31.8							
484.484254	5.7							
484.433159	2.5							
484.370871	100.0	5.5	11.4	484.376390	3.0	28	52	6
484.321055	27.2	-2.2	-4.5	484.318875	9.0	30	44	5
		3.7	7.6	484.324748	0.0	23	48	10
483.958597	1.6							
483.468949	3.4							
483.352975	32.7	0.3	0.7	483.353309	-0.5	24	51	9



Şekil 93

II.D.3.1.13 18-Hidroksi-14-norursan- Δ^{12} , Δ^{14} - dien-28 oik asit-30-al



Bileşiğin IR spektrumunda (şekil 96) 2500 cm⁻¹ 'deki omuzla, 1685 cm⁻¹ 'deki karbonil bantı bir asit grubunun varlığına işaret etmiştir. 1720 ve 1730 cm⁻¹ karbonil absorpsiyon bantları izlenmiştir, bu karbonillerden birinin aldehit karbonili olduğu bileşiğin ¹H NMR spektrumunda (şekil) 9.67 ppm 'de görülen aldehit proton singleti ile de anlaşılmıştır. NMR spektrumunda ayrıca 5.4 ppm 'de izlenen bir triplet (J=2.5 Hz) ve 6.6 ppm 'de görülen singletler olefinik iki protonun varlığına işaret etmiştir. Triterpenik yapılarda genellikle izlenebilen 3-OH grubunun olmadığı H-3 protonunun izlenmemesiyle saptanmıştır. Metil sinyallerinden dördü singletler halinde 0.82 (3H), 1.13 (3H) ve 1.19 ppm (6H) 'de gözlenirken biri 1.01 ppm 'de dublet (J=6 Hz) halinde gözlenmiştir.

APT tekniği ile alınan ¹³C NMR spektrumunda 5 metil sinyali 14.08, 16.12, 16.58, 20.68 ve 27.25 ppm 'de 4 karbona tekabül eden 3 alifatik metin sinyali 41.07 (2xC), 53.09 ve 62.72 ppm 'de, 2 olefinik metin sinyali 130.55 ve 163.65 ppm 'de, aldehit karbonu 191.07 ppm 'de izlenmiştir. Spektrum çizgisinin üst tarafında 73.09 ppm 'de izlenen sinyal hidroksil taşıyan bir katerner karbonun varlığına işaret etmiş, asit karbonili 183.49 ppm 'de izlenirken molekülde bir keto karbonilinin yer alabileceği 204.19 ppm 'de izlenen sinyal ile saptanmıştır. Ayrıca 8 alifatik metilen ve 4 katerner karbon atomu belirlenmiştir.

UV spektrumunun (şekil 97) 234 nm 'de maksimum vermesi bu yapıda bir konjugasyonun varlığını göstermiştir. Olefinik protonlardan birinin 6.6 ppm 'e kayması bu protonun karbonile komşu olduğunu göstermektedir.

Kütle spektrumunda (şekil 95) moleküler pikin m/z 468 'de $C_{29}H_{40}O_5$ kapalı formülüne tekabül etmesi yapının bir nortriterpen olduğunu göstermiştir. Moleküldeki asit, aldehit ve hidroksil gruplarının kolaylıkla molekülden kopmaları bu sübstitüentlerin E halkasında yer aldığını 422, 438 ve 454 pikleri doğrulamıştır.

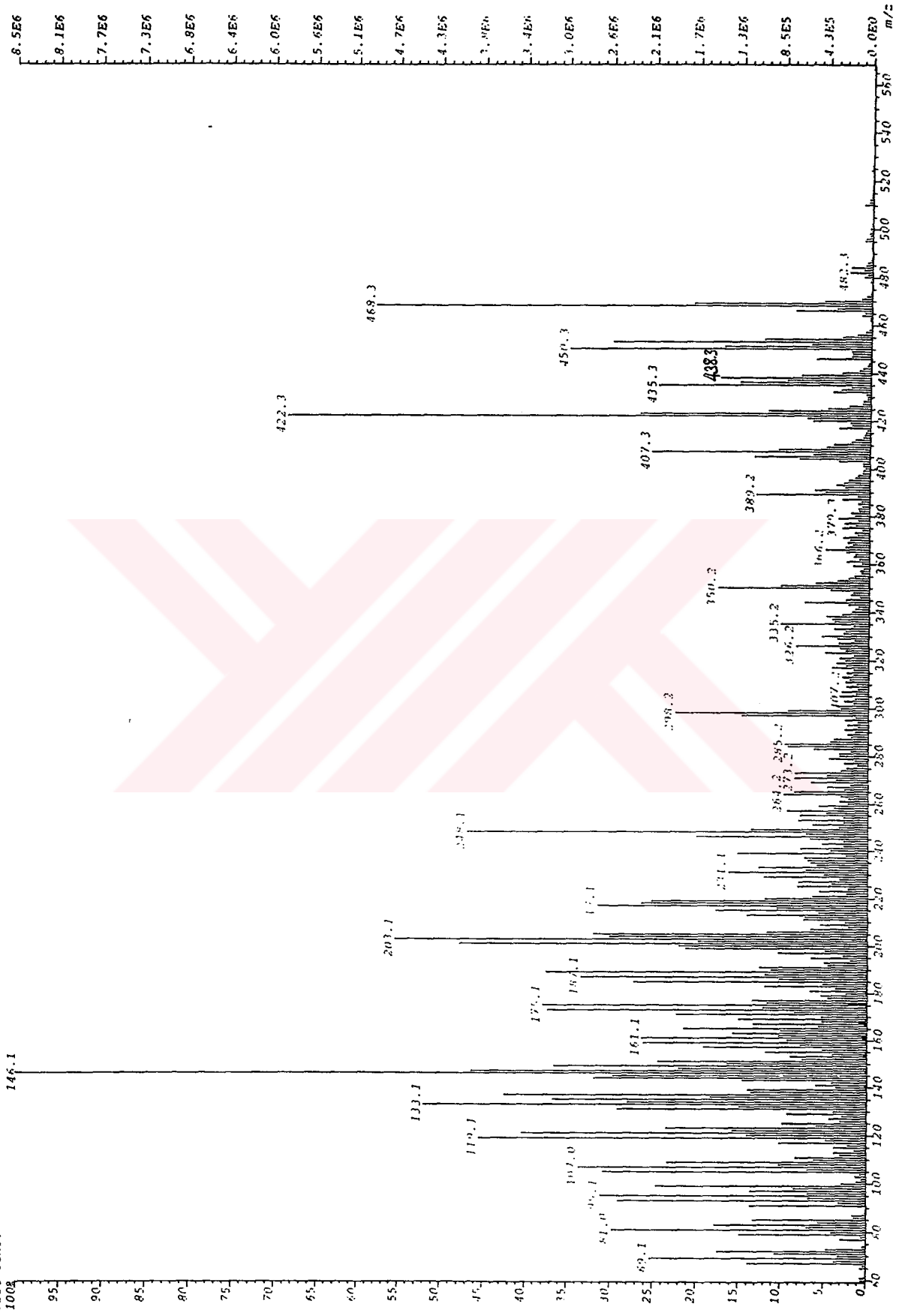
Tüm spektral verilere dayanarak bileşiğin yapısı 18-hidroksi-14-norursan- Δ^{12} , Δ^{14} - dien-30 al-28 oik asit olarak saptanmış ve doğadan ilk kez bu çalışmada elde edilmiştir.



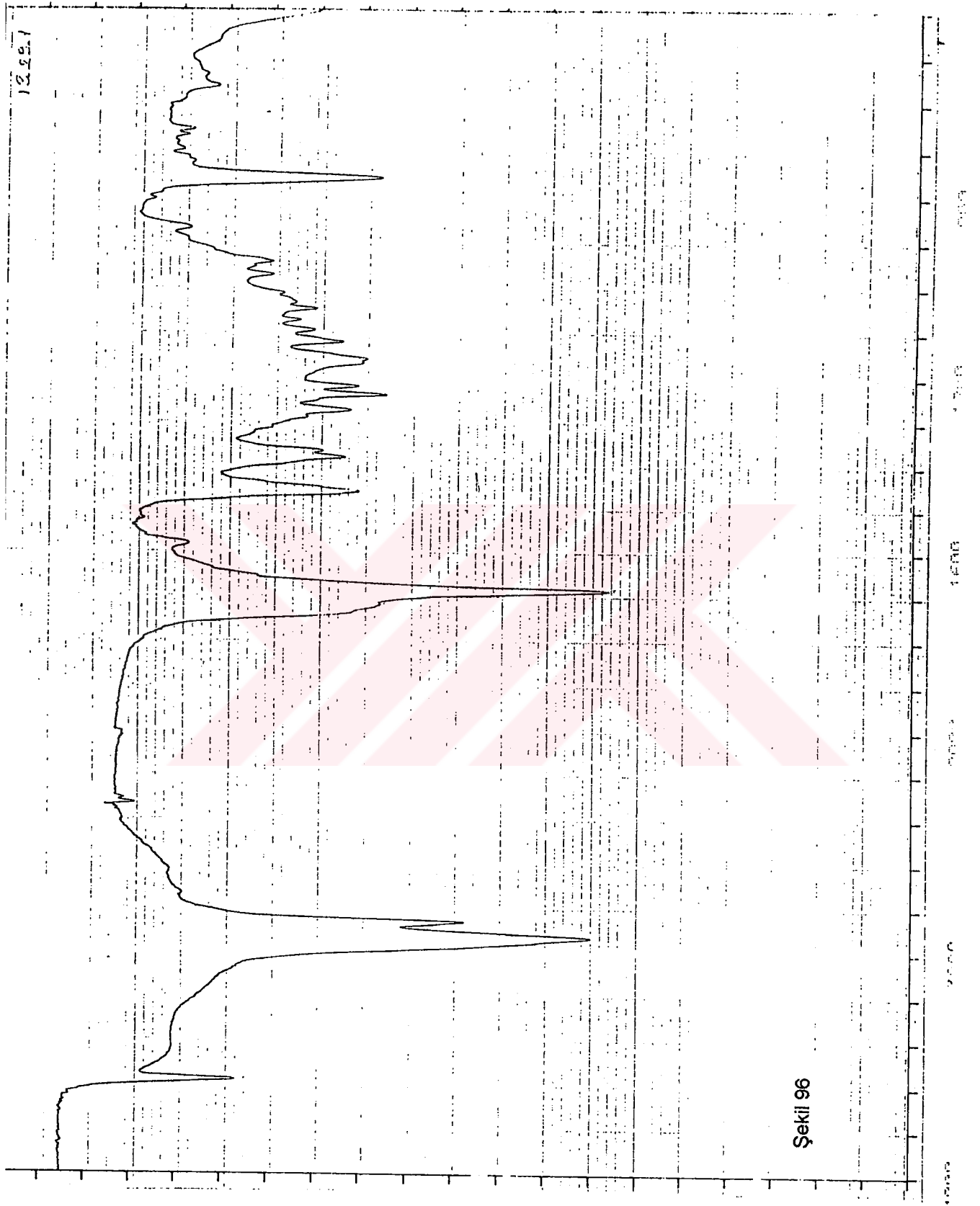


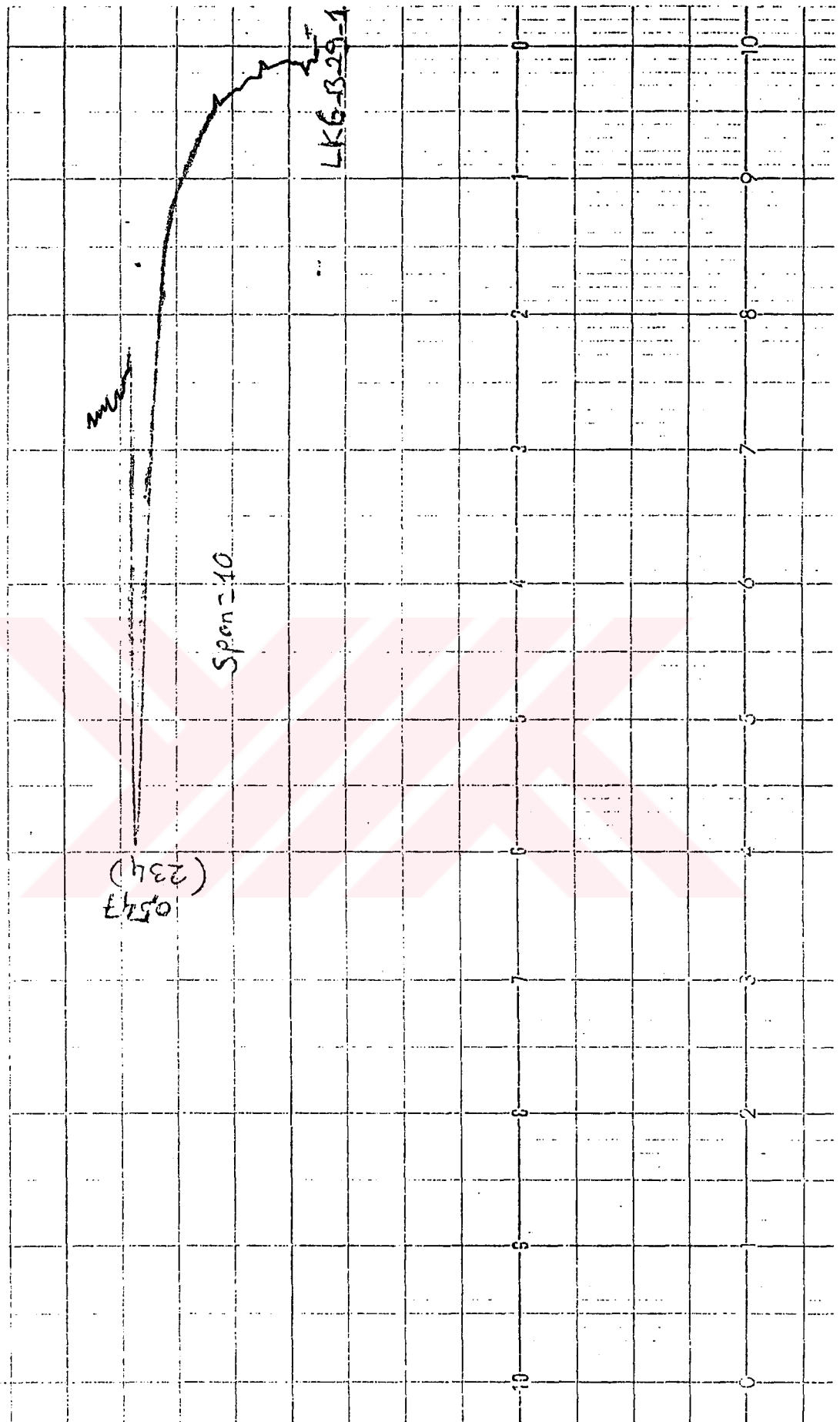
Şekil 94

File: BK-N-LRG-13-29-1 Ident: 20-5-7 Win 1000PEM Acq: 5-MW-1996 15:37:35 Cal: NOV-5
 CalSpec: E EI+ Magnet BpM: 146 BpI: 8544315 TIC: 312356640 Plags: HALL
 File Text:



Şekil 95





Şekil 97

II.E. *L. stoechas* ssp. *stoechas* Bitkisinin Aktivite Tayinleri

II.E.1. Antibakteriyel Aktivite Tayini

Bu tayinlerde kloroformda çözünen (1-7) nolu maddeler için kloroform, 9 ve 10 nolu maddeler için metanol, 8 ve 11 nolu maddeler için hekzan, kontrol olarak kullanılmıştır. Kontrol olarak kullanılan bu çözücülerin zon çapları bulunmuş ve ekstre ya da bileşiklerin zon çapları eğer kontrollerinden en az 4-5 mm büyük ise aktif olarak değerlendirilmiştir. Ekstre ya da bileşiklerin deneydeki konsantrasyonları aşağıda (Tablo 11) verilmiştir.

<u>MADDE KODU</u>	<u>MADDE ADI</u>	<u>DENEY KONSANTRASYONLARI</u> <u>µg/ml</u>
1 (Kök)	β-sitosterol asetat	249.7
2 (Kök)	oleanolik asit 3 asetat	680
3 (Kök)	β-sitosterol	529.8
4 (Kök)	α-amirin	676.5
5 (Kök)	16β-OH lupeol 3 palmitat	130.5
6 (Kök)	Lavandula CHCl ₃ ekstresi	522.6
7 (Kök)	Lavandula MeOH ekstresi	627
8 (Dal ve çiçek)	Lavandula uçucu yağı (Su buharı destilasyonu)	232.5
9 (Kök)	Dimerik cis ve trans 4-O metil kafeik asit oktanol esterleri	595
10 (Kök)	Monoginol A	52
11 (Dal ve çiçek)	Lavandula uçucu yağı (Süperkritik ekstraksiyon)	489

Tablo 11

Lavandula stoechas ssp. *stoechas* bitkisi için antibakteriyel aktivite testleri Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim dalı'nda Prof.Dr.Candan Bozok Johansson tarafından gerçekleştirildi. Elde edilen sonuçlar Tablo 12 'de verilmiştir.

Maddeler	Bacillus subtilis ATCC 6633	Staphylococcus aureus ATCC 6538 P	Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	Proteus mirabilis ATCC 14163	Escherichia coli ATCC 8739	Klebsiella pneumoniae ATCC 4362	Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	Enterococcus faecalis ATCC 29212	B Grubu streptokok	Candida albicans ATCC 10231
1 K	0	17	20	17	18	25	24	27	14	23
2 K	0	19	18	20	16	19	21	30	16	20
3 K	21*	22	18	21	17	19	23	24	13	20
4 K	0	18	20	21	18	20	24	24	16	16
5 K	15*	11	17	16	11	17	17	24	17	20
6 K	20*	17	15	16	17	16	16	25	18	22
7 M	20*	20	20	20	17	19	18	14	20	21
8 H	18	22	19*	22*	(23*)	21*	22	0	0	0
9 K	20*	12	17	17	18	16	18	21	18	18
10 K	30*	15	15	18	16	22	20	23	12	15
11 H	23*	27*	0	25	23	25*	24	0	0	0
kloroform	0	15	16	18	17	18	19	21	18	18
MeOH	0	17	23**,16***	23**,11***	24**,12***	23**,17***	20*	19*	20	21
Hekzan	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

K : Kloroform

M : Metanol

H : Hekzan

(*) Zon içi üreme

(**) Dış zon çapı

(***) İç zon çapı

Zon çapları (mm) olarak verilmektedir.

TABLO 12 - Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

Antibakteriyal Aktivite Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Bakteri	Değerlendirme
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	8 Kuvvetli aktif
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 P	2,4 zayıf aktif 7 orta, 3 ve 8 kuvvetli aktif
<i>Streptococcus epidermidis</i> ATCC 12228	1, 4 ve 7 orta aktif 2 ve 3 zayıf aktif
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153	2,3,4 zayıf aktif 7 ve 11 kuvvetli aktif
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Hiçbiri aktif değil
<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 4352	4 zayıf aktif 1 kuvvetli aktif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	2,3 zayıf aktif 1,4 orta aktif, 8 kuvvetli aktif
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	1,2,5,6 ve 13 aktif
B grubu streptokok	Hiçbiri aktif değil
<i>Candida albicans</i>	2,3,5 zayıf aktif 1,6 orta aktif

Tablo 13

Antibakteriyal aktivite sonuçlarına göre *Bacillus subtilis* 'e karşı su buharı destilasyonu ile elde edilen bitkinin uçucu yağı 232.5 µg/ml 'de aktivite göstermiştir. *Staphylococcus aureus* 'a karşı ise β-sitosterol ve bitkinin su buharı destilasyonu ile elde edilen uçucu yağı aktif bulunurken bitkinin metanol ekstresi orta derecede aktivite göstermiştir. Oleanolik asit ve α-amirin bileşikler ise zayıf aktivite göstermişlerdir.

Staphylococcus epidermidis 'e karşı ise Oleanolik asit ve β-sitosterol asetat zayıf, β-sitosterol asetat, α-amirin ve bitkinin metanol ekstresi orta derecede aktivite göstermişlerdir.

Proteus mirabilis 'e karşı yine α-amirin, β-sitosterol ve oleanolik asit zayıf aktivite göstermiş, lavanta uçucu yağı (süperkritik ekstraksiyon) anlamlı derecede aktif bulunmuştur.

Escherichia coli 'e karşı hiçbir madde aktivite göstermezken *Enterococcus faecalis* 'e karşı bitkinin kloroform ekstresi, oleanolik asit ve β-sitosterol asetat oldukça aktif bulunmuş, β-sitosterol, α-amirin, 16β-OH lupeol 3-palmitat ve miristat ve monoginol A ise orta derecede aktif bulunmuşlardır.

β-sitosterol asetat bileşiği *Klebsiella pneumoniae* 'ye, *Pseudomonas aeruginosa* 'ya ve *Enterococcus faecalis* ile *Candida albicans* 'a karşı aktivite göstermiş ve genelde denenen bütün bakterilere karşı β-sitosterol 'den ve hatta triterpenik bileşiklerden daha aktif bulunmuştur.

B grubu streptokoklara karşı hiçbir madde aktivite göstermemiş, *Candida albicans* 'a karşı ise bitkinin kloroform ekstresi ve özellikle β-sitosterol asetat aktif bulunmuştur.

Yeni bileşiklerin miktarı az olduğundan antibakteriyal aktivite için test edilememiştir.

II.E.2. Sitotoksik Aktivite Tayini

Lavandula stoechas ssp. *stoechas* bitkisinin sitotoksik aktivite testleri Chicago Illinois Üniversitesinde Dr. John M. Pezzuto tarafından gerçekleştirildi. Sitotoksik aktivite sonuçları aşağıda (Tablo 14) verilmiştir.

Kanser Türü	Maddeler								
	LKG U	LKG 1	LKG 2	LKG 3	LKG 4	LKG 5	LKG 6	LKG 7	LKG 8
BC1	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20	10.4	>20
LU1	>20	17.5	>20	>20	>20	17.7	>20	7.5	>20
COL2	9.8	11.1	>20	>20	>20	>20	>20	9	>20
KB	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20
KB-V (VLB)	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20	10.5	>20
P388	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	1.3	1.2
LNCap	17.6	15.7	>20	>20	>20	>20	>20	8.2	>20
ASK	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 14

BC1: İnsan göğüs kanseri

LU1 : İnsan akciğer kanseri

COL2 : İnsan kolon kanseri

KB : İnsan ağızındaki epidermoid kanseri

P388 : Fare epidermoid kanseri

LNCaP : Hormona bağlı insan prostat kanseri

KB-V(VLB) : İnsan ağızındaki epidermoid kanser(vinblastin)

ASK : İnsan astrositoma kanseri

LKG U : *L.stoechas* ssp.*stoechas* uçucu yağı (Süperkritik ekstraksiyon)

LKG 1: 18-Hidroksinorolean- Δ^{12} , Δ^{14} -dien-30-al-28-oik asit

LKG 2: Virgatik asit-29-al

LKG 3 : 3 β ,24 dihidroksi olean-12-en

LKG 4 : Monoginol A cis ve trans kumaroil esteri

LKG 5 : Betülin ve Betülinik asit

LKG 6 : Dimerik cis ve trans 4-O metil kafeik asit oktanol esteri

LKG 7: 11-oxo- β -amirin

LKG 8: Toprak altı kısmının kloroform ekstresi

Sitotoksik aktivite sonuçlarına bakıldığında (Tablo 14) *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas* bitkisinin kloroform ekstresi sadece P₃₈₈ 'e (fare epidermoid kanser hücresine) karşı fakat oldukça yüksek aktivite (1.2 µg/ml) göstermiştir (P₃₈₈ hücresine karşı >5 ve diğer hücre tiplerine karşı >20 ise inaktif anlamına gelir).

Lavandula stoechas ssp *stoechas* uçucu yağı ise COL-2 (insan kolon kanseri hücresi) 'ne karşı 9.8 µg/ml konsantrasyonunda aktif bulunurken LNCaP 'e (hormona bağlı insan prostat kanseri hücreleri) 'ne karşı ise 17.6 µg/ml konsantrasyonunda aktif bulunmuştur.

İzole edilen bileşiklerden aktivite için denenler tablo 14'de verilmiştir. Bunlardan en aktif olarak 11-oxo β-amirin, insan göğüs kanserine karşı (BC1) 10.4µg/ml, akciğer kanser hücresine karşı (LU1) 7.5 µg/ml, insan kolon kanserine karşı (COL-2) 9 µg/ml, ağızdaki epidermoid kanserine karşı ise (KB-V(VLB)) 10.5 µg/ml orta derecede aktif bulunmuştur. Bunu takiben 18-hidroksi-14-norursan-Δ¹², Δ¹⁴-dien-30 al-28-oik asit yine orta ve hafif derecede sırasıyla COL-2 'ye karşı 11.1 µg/ml, LNCaP 'ye karşı 15.7 µg/ml, LU1 'e karşı 17.6 µg/ml konsantrasyonunda aktivite göstermiştir.



SONUÇ

Lavandula stoechas ssp. *stoechas* bitkisinin köklerindeki bileşiklerin eldesi ;

800 gr. bitki kökü



(Ekstraksiyon ve çöktürme)

16 gr. kuru ekstre



(Flash kromatografi)

	<u>Elde Edilen Maddeler</u>
1- Hekzan % 100 (v/v)	(-)
2- Hekzan:Diklorometan (95:5) (v/v)	(-)
3- Hekzan:Diklorometan (90:10) (v/v)	(-)
4- Hekzan:Diklorometan (80:20) (v/v)	(-)
5- Hekzan:Diklorometan (70:30) (v/v)	(-)
6- Hekzan:Diklorometan (60:40) (v/v)	(-)
7- Hekzan:Diklorometan (50:50) (v/v)	(-)
8- Hekzan:Diklorometan (25:75) (v/v)	Dimerik cis ve trans 4-O-metil kafeik asit oktanol esterleri
9-Diklorometan % 100 (v/v)	11-oxo-β-amirin
10-Metanol:Diklorometan (2:98) (v/v)	β-sitosterol 16β-hidroksi lupeol 3-palmitat ve miristat Virgatik asit 29-al β-amirin asetat α-Amirin
11-Metanol: Diklorometan (5:95) (v/v)	Oleanolik asit 3β-asetat
12- Metanol: Diklorometan (10:90) (v/v)	(-)
13- Metanol: Diklorometan (25:75) (v/v)	18 Hidroksinorolean 12-14-dien- 30-al-28-oik asit β-sitosterol asetat Monoginol A cis ve trans esterleri
14- Metanol: Diklorometan (50:50) (v/v)	3β, 24 Dihidroksi-olean-12-en
15- Metanol % 100 (v/v)	Betülin ve betülinik asit

L. stoechas ssp. stoechas bitkisinin köklerinden kloroformlu ekstraksiyonla elde edilen ürün karışımı flash kromatografiye tabi tutulmuş ve yukarıdaki maddeler elde edilmiştir. Bu bileşikler içinden doğadan ilk kez elde edilenler şunlardır:

- 18-Hidroksi-14-norursan 12-14-dien- 30-al-28-oik asit
- 3 β , 24 Dihidroksi-olean-12-en
- Virgatik asit 29-al

Bu bileşikler içinden β -Amirin, Oleanolik asit 3 β -asetat, β -sitosterol ve β -amirin asetat bu bitkide daha önce gözlenmiştir .

Dimerik cis ve trans 4-O-metil kafeik asit oktanol esteri , betülin ve betülinik asit, monoginol A cis ve trans esteri, β -sitosterol asetat, 11-oxo- β -amirin, 16 β -hidroksi lupeol 3-palmitat ve miristat ise bu bitki türünden ilk kez elde edilmiştir.

Çalışmanın diğer bir bölümünde, bitkinin dal, yaprak ve çiçek kısımlarının uçucu yağlarını izole etmek amacı ile süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve subuharı destilasyonu yöntemleri kullanılmıştır. Bu iki yöntemin karşılaştırılması sonucunda aşağıdaki veriler elde edilmiştir:

- Su buharı destilasyon yönteminin süperkritik ekstraksiyon yöntemine kıyasla daha fazla sayıda bileşiğin elde edilmesine yardımcı olduğu gözlenmiştir.
- α -Tujen, α -pinen, kâmfen, d-limonen, terpinen-4-ol, fenkil asetat, α -terpineol, 2-norpinen 2-karboksi aldehit, kadinen ve izomeri, palustrol su buharı ile destillenmekle birlikte, süperkritik ekstraksiyonda gözlenmemiştir.
- Süperkritik ekstraksiyonda gözlenen ve subuharı destilatında gözlenmeyen tek madde γ -murolen 'dir.
- Süperkritik akışkan ekstraksiyon şartlarını ayarlayarak bitkinin uçucu yağlarını gruplar halinde birbirinden ayırmak mümkündür.

Yapmış olduğumuz bu çalışma ile *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas* bitkisinin kök ile dal ve çiçeklerinin ayrı ayrı yapılan ekstraksiyonlarının ürünlerinin kromatografik ayrılması ile bu bitki türünden şimdiye kadar belirlenmemiş olan bileşikler izole edilmiş ve tanımlanmışlardır:

α -Tujen	Palustrol
Fenkol	Globulol
Kalamen	Ledol
Aromadendren	2-norpinen 2-karboksi aldehit
Kadinen	α -terpineol

Betülin ve betülinik asit

Oleanolik asit 3 β -asetat

γ -murolen

terpinen-4-ol

18 Hidroksi-14-norursan 12-14-dien-30-al-28-oik asit

3 β , 24 Dihidroksi-olean-12-en

Virgatik asit 29-al

Dimerik cis ve trans 4-O-metil kafeik asit oktanol esteri

16 β -hidroksi lupeol 3-palmitat ve miristat

11-oxo- β -amirin

Monoginol A cis ve trans esteri

Antibakteriyal ve Sitotoksik Aktivite Sonuçları

Bakteriyolojik kalitatif inceleme sonuçlarına göre dal ve yapraklardan elde edilen uçucu yağ genel olarak bacillus subtilis, staphylococcus aureus, proteus mirabilis, esterichia coli ve pseudomonas aeruginosa'ya karşı oldukça kuvvetli derecede aktiftir.

Bitkinin kloroform ekstresi ise sadece C. albians 'a orta derecede aktif olup, diğerlerine aktif değildir. Bitkinin metanol ekstresi stapylococcus aureus 'a orta derecede, proteus mirabilis ve enterecoccus feacalis'e kuvvetlice aktivite göstermektedir. β -sitosterol yalnızca stapylococcus aureus'a kuvvetlice aktif iken steptococcus epidermidis ve proteus mirabilis 'e karşı oldukça zayıf aktivite göstermektedir.

β -Sitosterol asetat ise Klebsiella pneumonia, pseudomonas aeruginosa, enterecoccus feacalis 'e ve C.albians 'a karşı oldukça iyi aktivite göstermektedir. Monoginol A cis ve trans kumaroil esterleri klebsiella pneumonia'ya karşı orta, enterecoccus feacalis'e karşı zayıf aktivite göstermekle birlikte kullanılan konsantrasyonun oldukça düşük olması, karşılaştırmalı etkinin daha yüksek olduğunu düşündürür.

Sitotoksik aktivite sonuçlarına göre, uçucu yağ, 18 Hidroksi-14-norursan 12-14-dien-30-al-28-oik asit, ve 11-oxo- β -amirin karşıjenetik hücrelere etkindir. Kloroformdaki kök ekstresi ise fare epidermoid kanser hücrelerine karşı son derece etkilidir.

Fraksiyonların ve uçucu yağın genel bir değerlendirmesi ile yalnızca insan ağızındaki epidermoid kansere etkili olmadığı ve yalnızca 11-oxo- β -amirin aynı yerdeki epidermoid kanserin (KB) bir türüne (vinblastin) karşı aktif olduğu gözlenmiştir. Fraksiyonlar ve uçucu yağ KB dışındaki kanser hücre türlerine karşı değişik oranlarda etkili olmaktadır.

KAYNAKLAR

1. P.H.Davis, Flora of Turkey, Cilt 7, Sayfa 76, Edinburg
2. T.Baytop, Farmakognozi Cilt 1, Sayfa 45, İstanbul 1986
3. T.Baytop, Türkiye'de Bitkilerle Tedavi, Sayfa 317
4. M.I.Garcia Vallejo, J.Sanz, M.Bernabe, A.Velasco Negueruella, Phytochemistry,36 (1), Sayfa 43 , 1994
5. J. Lammerink, A.R. Wallace, N.G.Porter, N.Z.J. Crop Horti Sci. 17(4), 315-26, 1989
6. Leclerc, Precis de Phytotherapie, Masson et Editeurs, Paris, 1966
7. Poucher, W.A.,Perfumes, Cosmetic and Soap, Vol.1, 8th ed Chapuran and Hall, London, 1974
8. N.Tanker ve E.Şarer, J.Fac. Pharm., 5, 19, Ankara,1975
9. S. Eriş, A.Yusufoğlu, G.Kırbaşlar , Chimica Acta Turcica , 23,27,1988
10. A.Ulubelen ve N.Gören, Phytochemistry Vol.27,12, p.p.3966, 1988
11. A.Ulubelen ve Y.Olcay, Fitoterapia Vol. LX, no.5, 1989
12. S.Dayı, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Y. Lisans Tezi, 1997.
13. J.L.Hartwell, Plants Used Against Cancer, Loydia (J.Nat.Products) p.30,1967-1971
14. Hussain A., Virmani O.P., Sherma A., Kumar A. and Misra L.N.,1988 Major Essential Oil-bearing Plants of India, Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Lucknow, India
15. Boiteau P., Pasich B., Ratsimamarga A.R., Les Triterpenoids, Gauthier-Villars, Paris, 1964
16. Gülaçtı Topçu, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Doktora Tezi -1984.
17. Hesse M., Meier H.,Zech B.,Spektroskoische Methoden in der Organischen Chemie, Germany ,1979 .
18. Budzikiewicz H.,Wilson J.M and Ajenassi C.,J. Amer.Chem.Soc. 85,3688,1963.
19. T.Baytop, Farmakognozi, Cilt 1,Sayfa 156,167,269, 1989.
20. Benecke und Thime, 1982 ; Valkjo and Neguenuela, 1989.
21. Nalan Adaşoğlu, Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı Doktora tezi, 1994.
22. Berk A., Esanslar, Eczacı Kütüphanesi Neşriyatı, İstanbul , (15-22),1953 .
23. Franck,E.U., Physicochemical Properties of Supercritical Solvents, Ber Bunsenges. Phys.chem., 88, 820-825,1984.

24. Brogle, H., CO₂ in solvent extraction, chemistry and industry, 385-390, 1982.
25. Bott, T.R., Fundamentals of CO₂ in solvent extraction, chemistry and industry, 394-396, 1982.
26. Filippi, R.P., CO₂ as a solvent ; application to fats, oils and other materials, chemistry and industry, 390-394, 1982.
27. Eckert, C.A., Alsten, J.G.V. and Stoicos, T., Supercritical fluid processing, *Envir.Sci. Tech.*, vol 20, no 4; 319-324, 1986.
28. Mc Hugh, M.A. and Krukonis, V.J. Supercritical Fluid Extraction ; principles and practice, Butterworth Publishers, USA; 13-22, 181-198, 1986.
29. King, M.B. and Bott, T.R. Extraction of Natural Products using Near-critical solvents, edited by King, M.B. Bott, T.R., Chapman and Hall, Great Britain, 1-33, 1993
30. Stahl, E., Quirin, K.W., and Gerard, D. Dense gases for extraction and refining, Germany; 1-29, 119-163, 1988.
31. Bott, T.R. Supercritical gas extraction; chemistry and industry: 228-232, 1980.
32. Calamene, J.P. and Steiner, R. CO₂ extraction in the flavour and perfumery industries. *Chemistry and industry*: 399-402, 1982.
33. Vidal, J. Phase equilibria and density calculations for mixtures in the critical range with simple equations of state, *Ber.Bunsenges.Phys.Chem.*, 88:784-791, 1984
34. Wells, P.A., Foster, N.R. and Chaplin, R.P. Diffusion in supercritical fluids, *Proceedings of international symposium on SCF*, vol 2, 319-326, Nice, 1988.
35. Eissler, R.L., and Friedrich, J.P. Estimation of supercritical fluid-liquid solubility parameter differences for vegetable oils and other liquids from data taken with a stirred autoclave, *JAOCS*, vol 65, no 5:764-767, 1988.
36. Debenetti, P.G. and Reid, R.C. Diffusion and mass transfer in supercritical fluids, *AIChE Journal*, vol 32, no; 2034-2045, 1986.
37. Autoclave Engineers, Design and builds equipment and systems for supercritical extraction. *Advanced Technology Group Papers*, 1984.
38. Hoyer, G.G. Extraction with supercritical fluids; why, how and so what, *chemtech*: 440-448, 1985.
39. Williams, D.F. Extraction with supercritical gases. *Chemical Engineering Science*, vol 36, no 11:1769-1788; 1981.
40. Rizvi, S.S.H., Daniels, J.A., Benado, A.L., and Zollweg, J.A. SCFE : operating principles and food applications, *Food Technology*, vol 40, no 7:57-64, 1986.
41. Logsdail, D.H. Applications and prospects for SCE, *process engineering*, vol 64:83-86, 1983.
42. Wijesekera, R.O.B. Practical manual on: the essential oils industry, Austria: 47-53, 100-121, 1983.

43. Cram, J.D., Hammond, S.G., Organic Chemistry, McGraw Hill Book Company. Newyork 1964.
44. Ulubelen A., Öksüz S., Samek Z. And Holup, M. Tetrahedron Letters 46, 4455 1971.
45. Budzikiewicz H., Djenassi C., Willams D.H., Structure Elucidation of Naturel products by mass spectrometry vol;2, Holden Day, 1964.
46. Tet Letter, (3) 1, 1959.
47. Chem. Comm, 1968, 1553
48. Chem abstr., 9693, 1956.
49. JCS, 1452, 1925.
50. Bill Chem.Soc. Jap., 1028, 1964.
51. Jacs, 88, 4113, 1966.
52. Coll., Czech.Chem.Comm. 1837, 1960
53. JCS, 152, 1937.
54. JCS, 471, 1912.
55. JCS, 1030, 1931.
56. Coll. Czech. Chem. Comm., 1837, 1960.
57. Coll. Czech. Chem. Comm., 811, 1961
58. Ann. (504) 109, 1949.
59. Coll. Czech. Chem. Comm., 2181, 1959.
60. Tet. Lett., 1601, 1969.
61. Tet. Lett., 4779, 1965.
62. Coll. Czech. Chem. Comm., 3373, 1968.
63. A. Ulubelen, G. Topçu, Natural Product Letters 1pp, 141-147, 1992.
64. Chem. Abstr., 3492, 1956.
65. S.Öksüz and G.Topçu, Phytochemistry 26, 3082-3084, 1987.
66. A. Ulubelen, U. Sönmez, G. Topçu ve C. Bozok Johansson, Phytochemistry 42, 145-147, 1995.
67. A. Ulubelen, G. Topçu, H. Lotter, H. Wagner, C. Eriş, Phytochemistry Vol.36, No:2, Sayfa 413-415, 1994.
68. Ikuta, A et al. Phytochemistry, 38, 1203, 1995.

69. Balavant S. Joshi, Kristi M. Moore, S. William Pelletier, Journal of Natural products Vol.55, No:10 pp, 1468-1476, 1992.
70. Phytochemistry, Vol 23, No : 7, pp.1481-84, 1984.
71. Gonzalez A.G., Frago, B.M., Gonzalez P., Hernandez M.G. and Ravelo A.G. Phyt.20, 1919, 1981.
72. A.Ulubelen, E.Ayanoğlu, J.Natural Products 38,446,1975.
73. J.A.Duke, Handbook of Medicinal Herbs, 273.
74. N. Tanker, E. Şarer, V. Başaran, J. Fac. Pharm, Ankara, 7, 61, 1977.
75. S.Perrucci, G.Macchioni, R.C. Cioni, G.Flamini, I,Morelli, F.Taccini, Phytotherapy Research vol;10, 5-8, 1996.

