

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

LAMIUM GARGANICUM L. SUBSP. LAEVIGATUM
ARCANGELI ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Ecz. Duygu KAYA

Farmakognozi Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

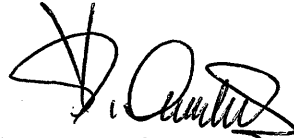
TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Tayfun ERSÖZ

ANKARA
2007

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Farmakognozi Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:


Prof. Dr. İhsan Çalış
Hacettepe Üniversitesi

Danışman:


Prof. Dr. Tayfun Ersöz
Hacettepe Üniversitesi

Üye:


Prof. Dr. L. Ömür Demirezer
Hacettepe Üniversitesi

Üye:


Prof. Dr. İclal Saraçoğlu
Hacettepe Üniversitesi

Üye:


Prof. Dr. Maksud Coşkun
Ankara Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.



Prof. Dr. S. Hakan Orer
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak bana destek olan ve tez çalışmamı yönlendiren hocam Prof. Dr. Tayfun Ersöz'e;

Çalışmalarım süresince gösterdikleri ilgi ve sağladıkları çalışma ortamı nedeniyle Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. L. Ömür Demirezer'e;

Verdikleri büyük destek ve tüm yardımları için Prof. Dr. İhsan Çalış'a ve Dr. Funda Nuray Yalçın'a;

Bitki örneklerinin toplanması konusundaki yardımları için Prof. Dr. Songül Sonal (U. Ü. Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı)'a; örneklerin tayini konusundaki yardımlarından ötürü Prof. Dr. Hayri Duman (G. Ü. Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü)'a; NMR analizlerini gerçekleştiren Dr. Özgür Özsar (H. Ü. Fen Fakültesi, Kimya Bölümü), Yrd. Doç. Dr. Cavit Kazaz (Atatürk Ün. Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü) ve Prof. Dr. Søren R. Jensen (The Technical University of Denmark, Dept. of Chemistry)'e; kütle spektroskopisi analizlerini gerçekleştiren Prof. Dr. Erhan Palaska (H. Ü. Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı)'ya; antimikrobiyal aktivite çalışmalarını planlayan ve gerçekleştiren Doç. Dr. Meral Özalp ve Ecz. Ekrem Kılıç (H. Ü. Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı)'a;

Çalışmalarım süresince ilgi ve desteklerini benden esirgemeyen Farmakognozi ve Farmasötik Botanik Anabilim Dalları'nın değerli öğretim üyelerine ve çalışma arkadaşlarıma;

Daima yanımda olan ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Duygu KAYA

ÖZET

Kaya, D., *Lamium garganicum* L. subsp. *laevigatum* Arcangeli Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognози Programı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2007. *Lamium* cinsi Türkiye bitki örtüsünde 30 tür ile temsil edilmektedir. Bu türlerin bazıları Anadolu'da tonik olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, *Lamium garganicum* subsp. *laevigatum* bitkisinin toprak üstü kısımlarında fitokimyasal çalışmalar gerçekleştirilmiş ve bitkinin taşıdığı iridoit bileşikler araştırılmıştır. Bitkinin açık havada kurutulmuş ve toz edilmiş toprak üstü kısımları önce MeOH ile ekstre edilmiştir. MeOH ekstresi düşük ısıda ve alçak basınç altında uçurulduktan sonra suda çözülmüş ve sırasıyla CH₂Cl₂ ve *n*-BuOH ile ekstre edilmiştir. *n*-BuOH ekstresi üzerinde gerçekleştirilen çeşitli kromatografik (açık kolon kromatografisi, orta basınçlı sıvı kromatografisi, vakumlu sıvı kromatografisi) izolasyon çalışmaları sonucunda şanzizit metil ester (1), 8-O-asetilşanzizit metil ester (2), 6-O-siringil-8-O-asetilşanzizit metil ester (3), 6β-hidroksiipolamiit (4), lamalbit (5), dehidropenstemozit (6) ve sesamozit (7) adlı iridoit bileşikler elde edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemler (IR, UV, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 2D-NMR, Kütle spektr.) kullanılarak aydınlatılmıştır. Ayrıca, bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan MeOH, H₂O, CH₂Cl₂ ve *n*-BuOH ekstrelerinin serbest radikal süpürücü ve antimikrobiyal etkileri de araştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Lamium garganicum* subsp. *laevigatum*, Lamiaceae, iridoit, serbest radikal süpürücü aktivite, antimikrobiyal aktivite.

ABSTRACT

Kaya, D., Pharmacognostical Researches on *Lamium garganicum* L. subsp. *laevigatum* Arcangeli, Hacettepe University, Institute of Health Sciences, Pharmacognosy Program, M. S. Thesis, Ankara, 2007. The genus *Lamium* is represented by 30 species in Turkish flora. Some of these species are used as tonic. In this study, *Lamium garganicum* subsp. *laevigatum* has been searched from the view point of the chemical constituents by means of phytochemical investigations on the aerial parts. The air dried and powdered aerial parts of the plant was first extracted with MeOH. After evaporation of the MeOH extract under *vacuum* and low temperature, the extract was dissolved in H₂O and extracted with CH₂Cl₂ and *n*-BuOH, successively. By means of a serial chromatographic studies (open column chromatography, vacuum-liquid chromatography and medium-pressure liquid chromatography) on the *n*-BuOH extract, shanzhiside methyl ester (1), 8-O-acetyl shanzhiside methyl ester (2), 6-O-syringyl-8-O-shanzhiside methyl ester (3), 6 β -hydroxyipolamiide (4), lamalbide (5), dehydropenstemoside (6) and sesamoside (7) were isolated. The structures of the isolated compounds were elucidated by means of spectroscopic (IR, UV, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 2D-NMR and Mass spectr.) evidence. Free radical scavenging and antimicrobial activity of the MeOH, H₂O, CH₂Cl₂ and *n*-BuOH extracts prepared from the aerial parts of the titled plant were also investigated.

Key Words: *Lamium garganicum* subsp. *laevigatum*, Lamiaceae, iridoid, free radical scavenging activity, antimicrobial activity.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
TABLolar	xi
SPEKTRUMLAR	xii
ŞEKİLLER	xv
ŞEMA	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Botanik Bilgiler	3
2.1.1. Lamiaceae Familyası	3
2.1.2. <i>Lamium</i> L. Cinsi	4
2.1.2.1. Türkiye Bitki Örtüsünde Yetişen <i>Lamium</i> Türleri İçin Tayin Anahtarı	4
2.1.2.1.1. <i>Lamium garganicum</i> L.	8
2.1.2.1.2. <i>Lamium garganicum</i> L. subsp. <i>laevigatum</i> Arcangeli	10
2.2. <i>Lamium</i> Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	13
2.2.1. <i>Lamium</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Çalışmalar	13
2.2.1.1. İridoitler	14
2.2.1.2. Sekoiridoitler	16
2.2.1.3. Fenilpropanoitler	17
2.2.1.4. Flavonoitler	18
2.2.1.5. Antosiyaninler	19
2.2.1.6. Fitoekdisteroitler	20
2.2.1.7. Betainler	21
2.2.1.8. Benzoksazinoitler	22
2.2.1.9. Hemiterpenler	22

2.2.1.10. Megastigmanlar	22
2.2.1.11. Uçucu Yağlar	23
2.2.1.12. Diğerleri	24
2.2.2. <i>Lamium</i> Türlerinin Kullanılışları ve Biyolojik Aktiviteleri	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Fitokimyasal Çalışmalar	27
3.1.1. Bitkisel Materyal	27
3.1.2. Kimyasal Maddeler ve Gereçler	27
3.1.3. Kromatografik Yöntemler	29
3.1.4. Ekstraksiyon	32
3.1.5. İzolasyon Çalışmaları	32
3.2. Aktivite Çalışmaları	35
3.2.1. Serbest Radikal Süpürücü Etki Tayini	35
3.2.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	36
4. BULGULAR	37
4.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular	37
4.1.1. İridoit Glukozitleri	39
Şanzizit metil ester (LGL-1)	39
8-O-Şanzizit metil ester (LGL-2)	50
6-O-Siringil-8-O-şanzizit metil ester (LGL-3)	60
6β-Hidroksiipolamiit (LGL-4)	70
Lamalbit (LGL-5)	80
Dehidropenstemozit (LGL-6)	88
Sesamozit (LGL-7)	98
4.2. Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular	105
4.2.1. Serbest Radikal Süpürücü Etki Tayini Çalışmalarına Ait Bulgular	105
4.2.2. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular	106
TARTIŞMA	107
SONUÇ VE ÖNERİLER	117
KAYNAKLAR	118
ÖZGEÇMİŞ	124

SİMGELER VE KISALTMALAR

Ac	: Asetil
ATCC	: American Type Culture Collection
CD ₃ OD	: Dötero metanol
CHCl ₃	: Kloroform
CH ₂ Cl ₂	: Diklorometan
CH ₃ OH	: Metanol
¹³ C NMR	: ¹³ C-Nükleer Manyetik Rezonans
COSY	: Correlation Spectroscopy
<i>d</i>	: Dublet
<i>dd</i>	: Dublet dublet
DEPT	: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DQF-COSY	: Double Quantum Filtered Correlation Spectroscopy
<i>dt</i>	: Dublet triplet
<i>g</i>	: Gram
<i>gd</i>	: Geniş dublet
<i>gs</i>	: Geniş singlet
ESI-MS	: Electrospray Ionisation Mass Spectroscopy
EtOAc	: Etil asetat
¹ H NMR	: ¹ H Nükleer Manyetik Rezonans
H ₂ O	: Su
H ₂ SO ₄	: Sülfürik asit
HMBC	: Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	: Heteronuclear Single Quantum Coherence
HMQC	: Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
Hz	: Hertz
NCCLS	: Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi
IR	: Infrared
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi

<i>J</i>	: Kenetlenme Sabiti
KBr	: Potasyum Bromür
KK	: Kolon Kromatografisi
<i>m</i>	: Multiplet
mg	: Miligram
μ g	: Mikrogram
MHz	: Megahertz
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
<i>n</i> -BuOH	: <i>n</i> -Butanol
NMR	: Nuclear Magnetic Resonance
nOe	: Nuclear Overhauser Enhancement (Effect)
NOESY	: Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
OBSK	: Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi
OMe	: Metoksil
ppm	: Milyonda bir kısım
<i>q</i>	: Kuartet
<i>s</i>	: Singlet
<i>t</i>	: Triplet
UV	: Ultraviyole
VSK	: Vakumlu Sıvı Kromatografisi

TABLOLAR

	Sayfa
Tablo 1. <i>Lamium</i> türlerinden elde edilen 11-COOCH ₃ süstitüe C ₁₀ iridoit glukozitleri.	14
Tablo 2. <i>Lamium</i> türlerinden elde edilen 11-CH ₃ süstitüe C ₁₀ iridoit glukozitleri.	15
Tablo 3. <i>Lamium</i> türlerinden elde edilen C ₉ iridoit glukozitleri.	15
Tablo 4. <i>Lamium</i> türlerinden elde edilen feniletanoit glikozitleri.	17
Tablo 5. <i>Lamium</i> türlerinden elde edilen flavonoitler.	18
Tablo 6. <i>Lamium</i> türlerinden elde edilen siyanidin ve peonidin glikozitleri.	19
Tablo 7. <i>Lamium</i> türlerinden elde edilen fitoekdisteroitler.	20
Tablo 8. <i>Lamium</i> türlerinden elde edilen pipekolik asit betainler.	21
Tablo 9. <i>Lamium</i> türlerinden elde edilen prolin betainler.	21
Tablo 10. <i>Lamium</i> türlerinden elde edilen benzoksazinoitler.	22
Tablo 11. Kromatografik çalışmalarda kullanılan solvan sistemleri .	28
Tablo 12. <i>L. garganicum</i> subsp. <i>laevigatum</i> 'dan elde edilen bileşiklerin R _f değerleri	37
Tablo 13. Şanzizit metil ester (LGL-1) bileşiğinin ¹³ C (100 MHz, CD ₃ OD) ve ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) spektroskopik değerleri ve HMBC etkileşimleri.	43
Tablo 14. 8-O-Asetilşanzizit metil ester (LGL-2) bileşiğinin ¹³ C (100 MHz, CD ₃ OD) ve ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) spektroskopik değerleri ve HMBC etkileşimleri.	53
Tablo 15. 6-O-Siringil-8-O-asetilşanzizit metil ester (LGL-3) bileşiğinin ¹³ C (100 MHz, CD ₃ OD) ve ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) spektroskopik değerleri ve HMBC etkileşimleri.	63
Tablo 16. 6β-Hidroksiipolamiit (LGL-4) bileşiğinin ¹³ C (100 MHz, CD ₃ OD) ve ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) spektroskopik değerleri ve HMBC etkileşimleri.	73

Tablo 17. Lamalbit (LGL-5) bileşiğinin ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) ve ^1H (400 MHz, CD_3OD) spektroskopik değerleri ve HMBC etkileşimleri.	83
Tablo 18. Dehidropenstemozit (LGL-6) bileşiğinin ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) ve ^1H (400 MHz, CD_3OD) spektroskopik değerleri ve HMBC etkileşimleri.	91
Tablo 19. Sesamozit (LGL-7) bileşiğinin ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) ve ^1H (400 MHz, CD_3OD) spektroskopik değerleri	101
Tablo 20. <i>L. garganicum</i> subsp. <i>laevigatum</i> 'dan hazırlanan ekstrelerin antimikrobiyal aktiviteleri.	106
Tablo 21. <i>L. garganicum</i> subsp. <i>laevigatum</i> 'dan hazırlanan ekstrelerin serbest radikal süpürücü etkileri (%).	114

SPEKTRUMLAR

	Sayfa
Spektrum 1. Şanzizit metil ester (LGL-1)'in ^1H NMR Spektrumu (CD_3OD , 400 MHz).	44
Spektrum 2. Şanzizit metil ester (LGL-1)' in DEPT-135 ve ^{13}C NMR Spektrumları (CD_3OD , 100 MHz).	45
Spektrum 3. Şanzizit metil ester (LGL-1)' in 2D ^1H , ^1H -Homonükleer Korelasyonlu Spektrumu (DQF-COSY) (CD_3OD , 400 MHz).	46
Spektrum 4. Şanzizit metil ester (LGL-1)' in 2D ^1H , ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) Spektrumu (HMQC) (CD_3OD , 400 MHz).	47
Spektrum 5. Şanzizit metil ester (LGL-1)' in 2D ^1H , ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) Spektrumu (HMBC) (CD_3OD , 400 MHz).	48
Spektrum 6. Şanzizit metil ester (LGL-1)' in 2D nOe Korelasyonlu Spektrumu (NOESY) (CD_3OD , 400 MHz).	49
Spektrum 7. 8-O-Asetilşanzizit metil ester (LGL-2)'in ^1H NMR Spektrumu (CD_3OD , 400 MHz).	54

Spektrum 8.	8-O-Asetilşanzizit metil ester (LGL-2)'in DEPT-135 ve ^{13}C NMR Spektrumları (CD_3OD , 100 MHz).	55
Spektrum 9.	8-O-Asetilşanzizit metil ester (LGL-2)'in 2D ^1H , ^1H -Homonükleer Korelasyonlu Spektrumu (DQF-COSY) (CD_3OD , 400 MHz).	56
Spektrum 10.	8-O-Asetilşanzizit metil ester (LGL-2)'in 2D ^1H , ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) Spektrumu (HSQC) (CD_3OD , 400 MHz).	57
Spektrum 11.	8-O-Asetilşanzizit metil ester (LGL-2)'in 2D ^1H , ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) Spektrumu (HMBC) (CD_3OD , 400 MHz).	58
Spektrum 12.	8-O-Asetilşanzizit metil ester (LGL-2)'in 2D nOe Korelasyonlu Spektrumu (NOESY) (CD_3OD , 400 MHz)	59
Spektrum 13.	6-O-Siringil 8-O-asetilşanzizit metil ester (LGL-3)'in ^1H NMR Spektrumu (CD_3OD , 400 MHz).	64
Spektrum 14.	6-O-Siringil 8-O-asetilşanzizit metil ester (LGL-3)'in DEPT 135 ve ^{13}C NMR Spektrumları (CD_3OD , 100 MHz).	65
Spektrum 15.	6-O-Siringil 8-O-asetilşanzizit metil ester (LGL-3)'in 2D ^1H , ^1H -Homonükleer Korelasyonlu Spektrumu (DQF-COSY) (CD_3OD , 400 MHz).	66
Spektrum 16.	6-O-Siringil 8-O-asetilşanzizit metil ester (LGL-3)'in 2D ^1H , ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) Spektrumu (HMQC) (CD_3OD , 400 MHz).	67
Spektrum 17.	6-O-Siringil 8-O-asetilşanzizit metil ester (LGL-3)'in 2D ^1H , ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) Spektrumu (HMBC) (CD_3OD , 400 MHz).	68
Spektrum 18.	6-O-Siringil 8-O-asetilşanzizit metil ester (LGL-3)'in 2D nOe Korelasyonlu Spektrumu (NOESY) (CD_3OD , 400 MHz).	69

Spektrum 19.	6 β -Hidroksiipolamiit (LGL-4)'in ^1H NMR Spektrumu (CD ₃ OD, 400 MHz).	74
Spektrum 20.	6 β -Hidroksiipolamiit (LGL-4)'in DEPT-135 ve ^{13}C NMR Spektrumları (CD ₃ OD, 100 MHz).	75
Spektrum 21.	6 β -Hidroksiipolamiit (LGL-4)'in 2D ^1H , ^1H -Homonükleer Korelasyonlu Spektrumu (DQF-COSY) (CD ₃ OD, 400 MHz).	76
Spektrum 22.	6 β -Hidroksiipolamiit (LGL-4)'in 2D ^1H , ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) Spektrumu (HMQC) (CD ₃ OD, 400 MHz)	77
Spektrum 23.	6 β -Hidroksiipolamiit (LGL-4)'in 2D ^1H , ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) Spektrumu (HMBC) (CD ₃ OD, 400 MHz).	78
Spektrum 24.	6 β -Hidroksiipolamiit (LGL-4)'in 2D nOe Korelasyonlu Spektrumu (NOESY) (CD ₃ OD, 400 MHz).	79
Spektrum 25.	Lamalbit (LGL-5)'in ^1H NMR Spektrumu (CD ₃ OD, 400 MHz).	84
Spektrum 26.	Lamalbit (LGL-5)'in DEPT-135 ve ^{13}C NMR Spektrumları (CD ₃ OD, 100 MHz).	85
Spektrum 27.	Lamalbit (LGL-5)'in 2D ^1H , ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) Spektrumu (HMQC) (CD ₃ OD, 400 MHz).	86
Spektrum 28.	Lamalbit (LGL-5)'in 2D ^1H , ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) Spektrumu (HMBC) (CD ₃ OD, 400 MHz).	87
Spektrum 29.	Dehidropenstemozit (LGL-6)'in ^1H NMR Spektrumu (CD ₃ OD, 400 MHz).	92
Spektrum 30.	Dehidropenstemozit (LGL-6)'in DEPT-135 ve ^{13}C NMR Spektrumları (CD ₃ OD, 100 MHz).	93
Spektrum 31.	Dehidropenstemozit (LGL-6)'in 2D ^1H , ^1H -Homonükleer Korelasyonlu Spektrumu (DQF-COSY) (CD ₃ OD, 400 MHz).	94

Spektrum 32. Dehidropenstemozit (LGL-6)'in 2D ^1H , ^{13}C - Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) Spektrumu (HSQC) (CD_3OD , 400 MHz).	95
Spektrum 33. Dehidropenstemozit (LGL 6)'in 2D ^1H , ^{13}C - Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) Spektrumu (HMBC) (CD_3OD , 400 MHz).	96
Spektrum 34. Dehidropenstemozit (LGL-6)'in 2D nOe Korelasyonlu Spektrumu (NOESY) (CD_3OD , 400 MHz).	97
Spektrum 35. Sesamozit (LGL-7)'in ^1H NMR Spektrumu (CD_3OD , 400 MHz).	102
Spektrum 36. Sesamozit (LGL-7)'in ^{13}C NMR Spektrumu (CD_3OD , 100 MHz).	103
Spektrum 37. Sesamozit (LGL-7)'in 2D nOe Korelasyonlu Spektrumu (NOESY) (CD_3OD , 400 MHz).	104

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 1. <i>Lamium garganicum</i> subsp. <i>laevigatum</i> 'un Türkiye bitki örtüsündeki yayılışı.	12
Şekil 2. <i>L. garganicum</i> subsp. <i>laevigatum</i> 'dan elde edilen iridoit bileşiklerinin İTK analizleri	38
Şekil 3. <i>L. garganicum</i> subsp. <i>laevigatum</i> ekstralarının serbest radikal süpürücü etkileri.	105
Şekil 4. <i>Lamium garganicum</i> subsp. <i>laevigatum</i> 'dan elde edilen iridoitler.	109
Şekil 5. <i>Lamium</i> türlerinde bulunan iridoitlerin muhtemel biyosentez yolları	112

ŞEMA**Sayfa****Şema 1.** *Lamium garganicum* subsp. *laevigatum* – İzolasyon.

34

1. GİRİŞ

Lamium L. (Lamiaceae) cinsi yaklaşık 40 türle Avrupa, Asya ve Afrika kıtalarında yayılış gösteren, bir ya da çok yıllık otsu bitkilerden oluşmuş geniş bir bitki topluluğudur. Bazı *Lamium* türleri gösterdikleri çeşitli fizyolojik ve farmakolojik aktiviteler nedeniyle halk ilacı olarak kullanılırlar (13, 62). *Lamium album* bu cinsin en tanınmış türü olarak kabul edilir. Bu türün taze veya kuru çiçekleri gösterdikleri antienflamatuvar, astrenjan, antiseptik, antispazmodik, antioksidan ve hücre çoğalmasını önleyici (= *antiproliferatif*) etkiler nedeniyle, özellikle menstürel siklus döneminde görülen bazı kadın hastalıklarının tedavisinde, travma ve düşmeler nedeniyle oluşan yaralanmalarda dermatolojik ve yara iyileştirici olarak halk ilacı şeklinde kullanılmaktadır (13, 44, 47, 58). *L. maculatum* türünün toprak üstü kısımları da Çin'de benzer şekilde bazı yaralanmaların tedavisinde kullanılmakta; felç ve hipertansiyon gibi rahatsızlıkların tedavisinde ve kadınların menstrüel sikluslarının düzenlenmesinde de bu bitkiden yararlanılmaktadır (13). Türkiye bitki örtüsünde 30 *Lamium* türü doğal olarak yetişmektedir (45). Bu türlerden *L. album*, *L. maculatum* ve *L. purpureum* tonik etkilerinden yararlanılmak üzere, Anadolu'da halk ilacı olarak kullanılmaktadır (8).

Lamium türlerinden bugüne kadar çeşitli iridoit ve sekoiridoit glukozitleri (3, 5-7, 9, 10, 14, 21, 25-27, 33, 39, 53), fenilpropanoit glikozitleri (5, 15, 54), flavonoidler (15, 54) ile antosiyanin (50), fitoekdisteroit (5, 52), betain (64, 67), benzoksazinoit (5), terpen (19, 40), ve megastigman (51) yapısında bileşikler elde edilmiştir. Bazı çalışmalarda ise bitkilerin toprak üstü kısımlarından veya çiçeklerinden elde edilen uçucu yağın yapısı aydınlatılmıştır (4, 29, 43, 49).

Türkiye bitki örtüsünde *Lamium garganicum*'un 7 alt türü yetişmektedir (45). *L. garganicum* bitkisinin kimyasal yapısı ile ilgili çalışmalar incelendiğinde Bulgaristan ve İtalya'da yetişen türlerden şanzizit metil ester, 8-O-asetilşanzizit metil ester (= barlerin), lamalbit ve sesamozit iridoit glukozitlerinin elde edildiği (5, 10); Bulgaristan'da yetişen türün çiçeklerinden elde edilen uçucu yağın yapısının tayin edildiği (4); ancak bu çalışmaların

hiçbirisinde bir alt tür belirtilmediği görülmüştür. Yunanistan bitki örtüsünde yetişen *L. garganicum* subsp. *laevigatum* bitkisinin ise toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağının kimyasal içeriği aydınlatılmış ve bu uçucu yağın bakteriyostatik etkileri araştırılmıştır (49).

Anabilim dalımızda *Lamium* türleri üzerinde başlatılan araştırmalar çerçevesinde *L. eriocephalum* subsp. *eriocephalum* türünün toprak üstü kısımlarından ikisi yeni, dört iridoit glukoziti elde edilmiştir (66). Ayrıca, *L. eriocephalum* subsp. *eriocephalum* ve *L. garganicum* subsp. *pulchrum* türlerinin toprak üstü kısımlarının taşıdıkları bileşiklerin aydınlatılması amacıyla hazırlanan bir araştırma projesi de hayata geçirilmiştir^a.

Lamium türleri üzerinde sürdürülen çalışmalarımızın bir devamı olan bu çalışmada ise *Lamium garganicum* subsp. *laevigatum* bitkisinin toprak üstü kısımlarının taşıdığı iridoit yapısındaki bileşiklerin elde edilerek yapılarının aydınlatılması ve bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol, su, diklorometan ve *n*-butanol ekstralarının DPPH serbest radikal süpürücü etkileri ile antimikrobiyal etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

^aYalçın, F.N., Ersöz, T., Çalış, İ., "*Lamium eriocephalum* subsp. *eriocephalum* ve *L. garganicum* subsp. *pulchrum* Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar" Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi, Proje No: 0302 301 011.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Lamiaceae Familyası

Bir veya çok yıllık, otsu ya da çalimsı, nadiren ağaç şeklinde (*Hyptis spec.*) veya tırmanıcı, (*Scutellaria spec.*), çoğunlukla salgı tüylü ve kokulu bitkiler. Gövde dört köşeli. Yapraklar basit, bazen parçalı, stipulasız, her zaman karşılıklı ve dekusat dizilişte.

Çiçek durumu çoğunlukla vertisillastrum, braktelerin veya üst yaprakların koltuğundan çıkan simoz ve genellikle vertisillatlar (= yalancı vertisillastrum) oluşturacak şekilde, spika, kapitulum, rasemoz ve simoz durumunda. Brakteler, yapraklardan tamamen farklı ya da benzer, brakteoller genellikle küçük, bazen yok. Çiçekler, ginodioik bitkilerde hermafrodit ya da erkek çiçek körelmiş, zigomorf, genellikle bilabiat. Kaliks kalıcı, gamosepal, genellikle 4-5 loblu; üst lob 3, alt lob 2 dişli, nadiren loblar ya da dişler 1 ve 1 veya 1 ve 4 veya kaliks aktinomorf, 5-20 damarlı. Korolla gamopetal, zigomorf ve bilabiat; üst dudak iki loblu, falkat, dik veya az çok kambur, alt dudak 3 loblu, bazen üst dudak küçülmüş ya da üstte 1, altta 4 loblu veya korolla aktinomorf.

Stamenler, korollaya bağlı ve birlikte gelişmiş. Genellikle 4, didinam ya da 2; nadiren biri körelmiş ve 5 tane, genellikle üsttekiler alttakilerden kısa. Anter tekaları 2 ya da tek hücreli, paralel veya birbirinden ayrı.

Ovaryum üst durumlu, 2 karpelli, 4 gözlü, her gözde 1 ovüllü. Stilus genellikle korolladan daha uzun, ginobazik, nadiren değil, uçta kısaca bifit.

Meyva, olgunlukta 4 nuksa ayrılan bir şizokarp. Her nuks bir tohumlu (22).

2.1.2. *Lamium* L. Cinsi

Çok yıllık veya bir yıllık otsu bitkiler. Yapraklar ovattan reniforma, yaprak kenarları krenattan dentata kadar değişen şekillerde.

Vertisillatlar seyrek veya az ya da çok aralıklı, brakte koltuklarında 2-12 çiçekli. Brakteoller mevcut, kaliks tüpünden genellikle daha kısa veya eşit uzunlukta. Kaliks tüpsü ya da çan şeklinde, 5 damarlı; genellikle 5 eşit dişe sahip; nadiren 3'ü uzun 2'si kısa dişli.

Korolla mor, açık mor, pembe, krem veya beyaz, 2 dudaklı; tüp iç tarafta halka şeklinde tüylü veya tüysüz, genellikle boğazda seyrelmiş; üst dudak miğferli, tamdan ikiye yarılmışa kadar değişen şekillerde; alt dudak 3 loblu, yandaki loblar genellikle küçülmüş, bazen küçük ekler taşır. Orta lob daha büyük, emarginat, altta kısa bir sap şeklinde daralmış, küçük oymalı veya tam, genellikle göze çarpan renkte leke veya izlere sahip.

Stamenler 4 adet, alttaki çift üsttekinden daha uzun. Anter tekaları dikey-yayık ve tüylü. Stilus ikiye yarık. Meyveler 3 yüzlü, dar açılı, genellikle tepede az veya çok trunkat, düz, siğilli veya kurtsu kabarcıklı (45).

2.1.2.1. Türkiye Bitki Örtüsünde Yetişen *Lamium* Türleri İçin Tayin Anahtarı (45)

- | | |
|---|---------------|
| 1. Bir yıllık (veya çok yıllık ise dallanmamış kazık köklü) | GRUP A |
| 1. Çok yıllık (genellikle stolonlu veya sürünücü, dallanan kök sistemine sahip) | |
| 2. Korolla beyaz, krem veya soluk sarı renkte (bazen mor lekeli, noktalı ya da damarlı) | GRUP B |
| 2. Korolla morumsu, açık mor veya pembe | GRUP C |

GRUP A

1. Korolla beyaz

2. Korolla tüpü az veya çok düz

27 ponticum

2. Korolla tüpü kıvrılmış

3. Çiçek durumunun yaprakları saplı; brakteoller (2-) 2.5-4.5 (-6) mm

25 moschatum

3. Çiçek durumunun yaprakları sapsız; brakteoller 1-2 mm

26 galactophyllum

1. Korolla morumsu, açık mor veya pembe

4. Çiçek durumu yoğun olarak beyaz tüylü; brakteler palmat loblu veya bölünmüş şekilde; çok yıllık veya bir yıllık

11 eriocephalum

4. Çiçek durumu tüylü değil; brakteler palmatilobat ya da bölünmüş değil; her zaman bir yıllık

5. Çiçek durumunun yaprakları kısa saplı ya da sapsız; amplexikaul değil

6. Kaliks (4-) 6-8 (-10) mm, dışı tüple eşit, yumuşak ya da ince tüylü ; meyve düzgün

16 purpureum

6. Kaliks 4 mm, dış tüpün 1/3'ü kadar, beyaz tüylü; meyve beyaz ve kurtsu kabarcıklı

15 ehrenbergii

5. Çiçeğin yaprakları amplexikaul

7. Çiçek durumunun yaprakları ovat-oblongdan oblonga doğru

14 aleppicum

7. Çiçek durumunun yaprakları suborbikulattan geniş triangulara doğru

8. Meyveler düzgün, beyaz noktalı; kaliks dişleri 1.5- 3.5 (-4.5) mm, 1/3-2 x tüp

12 amplexicaule

8. Meyveler kabarık beyaz mermerimsi lekeler ya da küçük kabarcıklara sahip; kaliks dişleri 4-9 mm, 1.5-4.5 x tüp

13 macrodon

GRUP B

1. Korolla tüpü, en az tabanın yanına kadar kıvrılmış

2. Kaliks 9-12 mm, diş 4-6 mm; brakteoller 2-4 mm; korollanın üst dudağı tepede girik, küçük dişli ya da hemen hemen tam **23 tomentosum**

2. Kaliks 8.5-9 mm, diş 3-3.5 mm; brakteoller 1-1.5 mm; korollanın üst dudağı tam **24 sulfureum**

1. Korolla tüpü düz

3. Korolla tüpünde halka yok **10 armenum**

3. Korolla tüpünde halka var

4. Korollanın üst dudağı ikiye yarılmış **1 lycium**

4. Korollanın üst dudağı tepede girik, küçük dişli ya da tam

5. Kaliks diş 3-4 mm; korollanın üst dudağı yoğun uzun sarımsı-beyaz tüylerden bir ibiğe sahip **22 leucolophum**

5. Kaliks diş 4-11 mm; korollanın üst dudağı ibikli değil

6. Gövde ve yapraklar tüylü; kaliks diş tüpten oldukça uzun, tamamen yoğun guddeli **21 crinitum**

6. Gövde ve yapraklar tüysüzden kısa yumuşak tüylüye doğru; kaliks diş tüpe az çok eşit ya da tüpten çok az uzun

7. Gövde dik ya da dik-yükselici, kümeler oluşturmuyor; yapraklar yeşil, tüysüz ya da çok az ince tüylü; kaliks diş guddesiz ya da tepede birkaç guddeli **20 album**

7. Gövde yatık uçta yükselici ya da yükselici, kümeler oluşturabilir; yapraklar yeşilimsi, yoğun olarak yumuşak tüylü; kaliks diş $\pm$ tamamen guddeli **23 tomentosum**

GRUP C

1. Korolla tüpü kıvrık

2. Korollanın üst dudağı tam; korolla tüpü baştan başa az veya çok kıvrık, korolla bir dereceye kadar S harfi şeklinde

3. Gövde 60-100 cm

18 gundelsheimeri

3. Gövde 8-45 cm

4. Çiçek durumunun alt yaprakları 30 mm veya daha kısa

17 maculatum

4. Çiçek durumunun alt yaprakları (37-) 50-70 (-90) mm

19 truncatum

2. Korollanın üst dudağı ikiye ayrılmış; korolla tüpü sadece alt kısımlarda çok az kıvrılmış, korolla az veya çok dik

5. Brakteoller 9-11 mm; yapraklar (3-) 5-7 krenat

8 cymbalariifolium

5. Brakteoller 4,5-7,5 mm; yapraklar (6-) 7-9 krenat

6. Korolla 33-35 mm

7 microphyllum

6. Korolla 26-28 mm

9 sandasicum

1. Korolla tüpü düz

7. Korolla tüpü halkalı

8. Kaliks 7- 9,5 mm

1 lycium

8. Kaliks 10,5- 19,5 mm

2 carienne

7. Korolla tüpü halkasız

9. Korollanın üst dudağı ikiye ayrılmış ya da derin girintili

10. Korolla tüpünün alt kısmı 0,8 (-1,5) mm genişliğinde

3 pisidicum

10. Korolla tüpünün alt kısmı 1,5- 2,5 mm genişliğinde

11. Gövde dik ya da yayılmış; brakteoller 3-9 (-10,5) mm, korolla

22-45 mm, vertisillatlar 4-8 (-12) çiçekli

5 garganicum

11. Gövde toprak üzerinde yatık, sürünücü; brakteoller 2,5-11 mm, vertisillatlar 2 çiçekli

12. Brakteoller 9-11 mm; korolla 26-35 mm

8 cymbalariifolium

12. Brakteoller 2,5- 3 (-4) mm; korolla 40-41 mm

6 veronicifolium

9. Korollanın üst dudağı tam

13. Çiçek durumu yoğun beyaz tüylü, brakteler palmat loblu veya bölünmüş şekilde

11 eriocephalum

13. Çiçek durumu beyaz tüylü değil, brakteler yukarıdaki gibi değil

14. Korolla açık mor ya da morumsu zemin üzerine mor çizgili

5 garganicum

14. Korolla çizgili değil

15. Korolla tüpü ince, 1-1,5 mm genişliğinde; gövde dik, küme oluşturur

4 tenuiflorum

15. Korolla tüpü 1,5 mm'den daha geniş; gövde az veya çok yatık, küme oluşturur

10 armenum

2.1.2.1.1. *Lamium garganicum* L.

Çok yıllık, genellikle kayalar üzerinde sürünücü, bazen kümeler oluşturan otsu bitkiler. Gövdeler 6-45 cm, ince tüylüden tüysüze kadar. Yapraklar geniş ovattan reniforma doğru; lamina 3-52 x 3-46 mm, krenat ya da serrat, tüylüden az veya çok tüysüze doğru. Vertisillatlar 1-5, (2-) 4-8 (-12) çiçekli. Brakteoller 3-9 (-10,5) mm.

Kaliks (6-) 8-18 (-20,5) mm, tüp tüsüzden yumuşak tüylüye veya seyrek tüylüye kadar, 5-10 (-11) mm, dişler 2-9 mm. Korolla morumsu pembe (nadiren beyaz), mor çizgili tüplü ve genellikle alt dudakta mor leke mevcut, 22-40 (-45) mm; tüp düz (nadiren kıvrık), halka yok, 14-29 mm; üst dudak 6-16 mm, derin veya kısa şekilde ikiye yarılmış, emarginat, retus veya az ya da çok tam, loblar bazen tepede girintiden ikiye yarığa doğru, alt dudak 6-20 mm, yan loblar sık sık kısa subulat eke sahip veya değil.

Meyveler 2,5-3,5 x 1,3-1,6 mm, siyahi-yeşil ya da kahverengi, genellikle üzeri birkaç soluk noktacıklı (45).

1. Korolla beyaz, iki dudak da uçlarda mor damarlı ve mavi-mor lekeli, tüp biraz kıvrık; bitki küme oluşturabilir, yaprakları çok yoğun olarak beyazımsı tüylere sahip. **g. subsp. pulchrum**

1. Yukarıdaki gibi değil

2. Gövde tüylü

3. Sadece çiçek durumunda guddeli

b. subsp. reniforme

3. Tamamen guddeli

4. Korolla 34-40 mm

f. subsp. lasioclades

4. Korolla (20-) 25-32 mm

5. Kaliks dişleri tüpe eşit

b. subsp. reniforme

5. Kaliks dişleri tüpten daha kısa

e. subsp. rectum

2. Gövde tüsüzden yoğun ince tüylüye doğru

6. Korolla üst dudağı derin olarak ikiye ayrılmış, loblar 3-5,5 mm

7. Brakteoller 4-7 mm

a. subsp. striatum

7. Brakteoller yaklaşık 3 mm

b. subsp. reniforme

6. Korollanın üst dudağı kısa ikiye ayrılmıştan hemen hemen tama doğru, loblar 0-2,5 mm

8. Gövdenin tüyleri 0,5 mm'den daha fazla

b. subsp. reniforme

8. Gövdenin tüyleri 0-0,5 mm

9. Orta yapraklar 40 mm'den daha uzun

10. Yaprak girintileri 5-5,5 mm derinlikte

a. subsp. striatum

10. Yaprak girintileri 1-4,5 (-5) mm derinlikte

11. Dik (Türkiye'nin kuzey batısında)

d. subsp. laevigatum

11. Toprak üzerinde yayılıcı veya yükselici (İç ve Güneydoğu

Anadolu'da)

b. subsp. reniforme

9. Orta yapraklar 40 mm'den daha kısa

12. Yapraklar dentat veya akut krenat

c. subsp. nepetifolium

12. Yapraklar obtus şeklinde krenat

13. Kaliks dişi (2/3-) 3/4 - 9/10 x tüp

b. subsp. reniforme

13. Kaliks dişi (1/3-) 1/2 - 2/3 x tüp

14. Gövde tüylü, tüyler 0,2-0,3 mm

a. subsp. striatum

14. Gövde az veya çok tüysüz ya da kısa havlı, tüyler (eğer varsa) genellikle 0,1 mm'den daha kısa, 0,2 mm'yi geçmez

15. Toprak üzerinde yayılıcı veya yatık; yapraklar bazen uzunluğundan daha geniş (İç, Güneydoğu ve Doğu Anadolu'da)

b. subsp. reniforme

15. Az veya çok dik; yapraklar genişliğinden az veya çok daha uzun (Sadece Türkiye'nin kuzey batısında) d. subsp. *laevigatum*

2.1.2.1.1.1. *Lamium garganicum* L. subsp. *laevigatum* Arcangeli

Syn: *L. laevigatum*; *L. striatum* Sm. var. *glabratum* Griseb., *L. bithynicum* Benth., *L. garganicum* subsp. *glabratum* (Griseb.) Briq., *L. garganicum* var. *glabratum* (Griseb.) Briq.

Dik gövdeli çok yıllık otsu bitkiler. Gövdeler 6-45 cm, yoğun şekilde pubescent veya tüysüz. Yapraklar genişçe oval veya reniform, yaprak ayası 3-52 x 3-46 mm, krenat veya serrat, villoz'dan hemen hemen tüysüze kadar değişken; orta gövde yaprakları 40 mm'den uzun. Çiçek halkaları 1-5 adet, 2-12 çiçekli. Brakteoller 3-10,5 mm. Kaliks 6-20,5 mm, tüp tüysüzden pubescent'e kadar değişken veya seyrek şekilde villoz, 5-11 mm; dişler 2-9 mm. Korolla morumsu pembe (nadiren beyaz), çoğunlukla alt dudak üzerinde büyük morumsu lekeli, 22-45 mm; tüp mor çizgili, düz (nadiren kıvrık), 14-29 mm; üst dudak 6-16 mm, kısa şekilde ikiye yarılmış veya tam; alt dudak 6-20 mm. Fındıksı meyvalar 2,5-3,5 x 1,3-1,6 mm, siyahımsı-yeşil veya kahverengi (38, 45).

Yayılış: Kuzey-batı ve Orta Anadolu. **A1** Kırklareli: Mahya Dağı, 900 m (45), **A2** İstanbul: Terkos Gölü, 50-60 m (45), Bursa: Uludağ, 1300-2200 m (45), Uludağ, 2100 m (HUB 21802!), Uludağ, Kuşaklıkaya mevki, 2300 m (HUEF 05004!), Uludağ, Karabelen aşağısı, yol kenarı (HUB 21864!, 21865!), Uludağ, Kirazlı (HUB 21866!, 21867!), Uludağ (AEF 8859!), Uludağ, Yörük mezarlığı, 1500 m, (AEF 18425!), Bilecik, 300 m (45), **A4** Kastamonu:

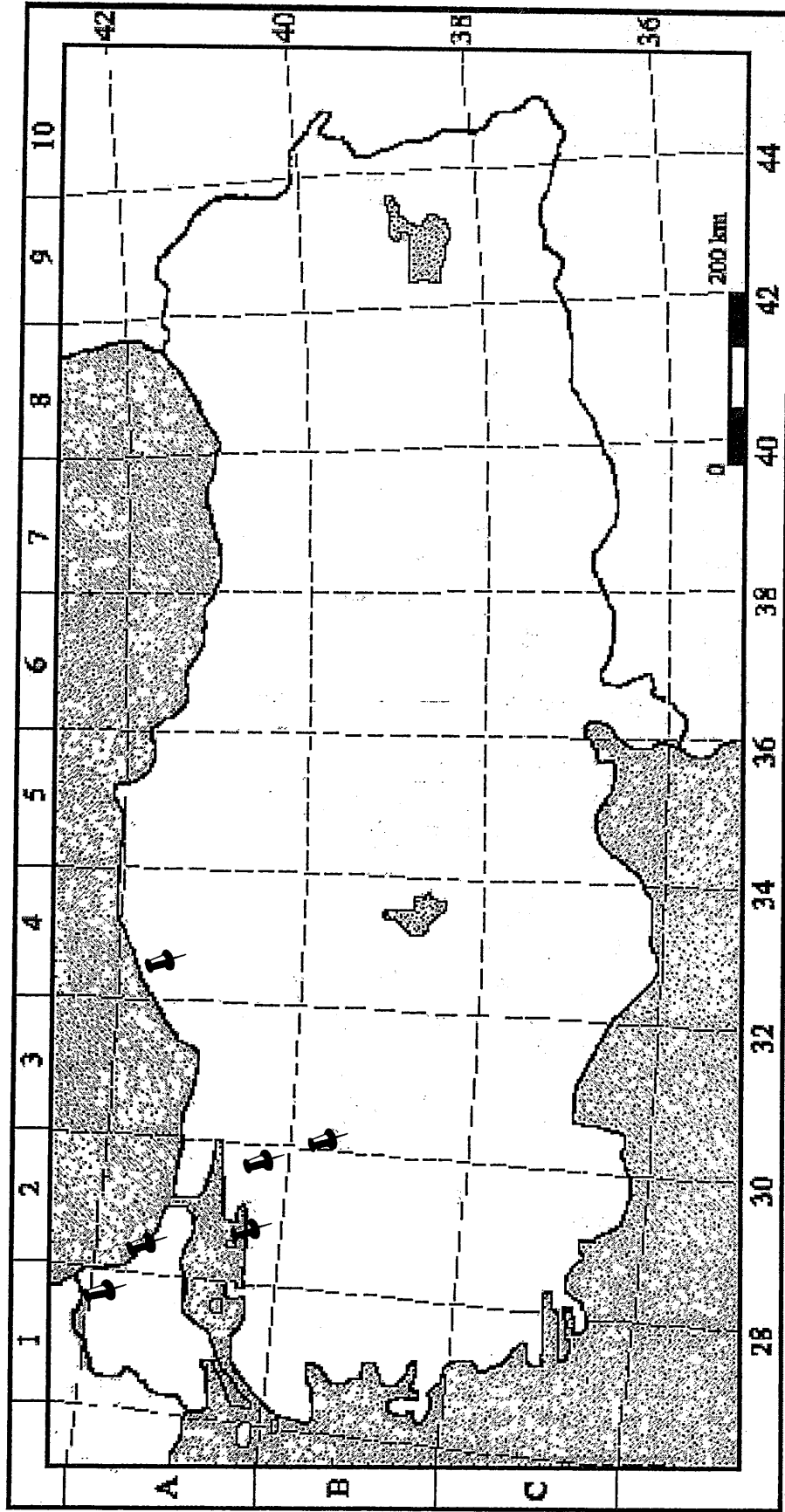
Pınarbaşı, Kurtgirmez Dağı, orman yolu, 1250 m (GAZİ^a), B3 Kütahya: Kütahya yakınları, Porsuk Çayı (45).

Habitat: *Lamium garganicum* subsp. *laevigatum* *Quercus*, *Pinus* ve *Abies* ormanı altlarında, kayalık yamaçlarda, kaya yarıklarında, akarsu kenarlarında, ve kum tepeciklerinde, 50-2300 m. arasındaki yüksekliklerde yetişir. *Çiçeklenme devri:* Nisan-Ağustos (38, 45).

^aHerbaryum numarası verilmemiş örnek



Lamium garganicum subsp. *laevigatum*



Şekil 1. *Lamium garganicum* subsp. *laevigatum*'un Türkiye bitki örtüsündeki yayılış haritası.

P : *Lamium garganicum* subsp. *laevigatum*

2.2. *Lamium* Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Lamium türleri üzerinde bugüne kadar yapılmış olan çalışmalar “*Lamium* Türleri Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Çalışmalar” ve “*Lamium* Türlerinin Kullanılışları ve Biyolojik Aktiviteleri” başlıkları altında derlenerek iki bölümde verilmiştir.

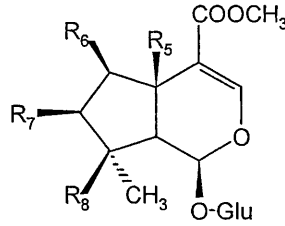
2.2.1. *Lamium* Türleri Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Çalışmalar

Lamium türleri üzerinde yapılmış olan fitokimyasal çalışmalar sonucunda elde edilmiş olan bileşikler, kimyasal yapılarına göre sınıflandırılmış ve İridoitler, Sekoiridoitler, Fenilpropanoitler, Flavonoitler, Antosiyaninler, fitoekdisteroitler, betainler, benzoksazinoitler, hemiterpenler ve megastigmanlar başlıkları altında tablolar halinde sunulmuştur.

Tablolar oluşturulurken aynı ana iskelete sahip bileşikler için ortak bir iskelet kullanılmış; bitki isimlerinin yanında ilgili literatürler belirtilmiş; tablolardaki ortak ana iskelet dışında bir yapıya sahip olan bileşikler ise kendi özgün yapılarında verilmiştir. İki ismi olan bileşiklerin ikinci isimleri de tablolarda belirtilmiş ve bu ismin kullanıldığı literatür(ler) (*) işareti ile işaretlenmiştir.

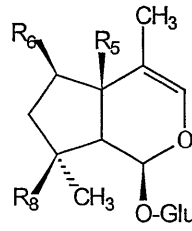
Lamium türlerinden elde edilen uçucu yağlara ait bilgiler uçucu yağlar; bu grupların dışında kalan bileşikler ise diğerleri başlıkları altında derlenerek sunulmuştur.

2.2.1.1. İridoitler



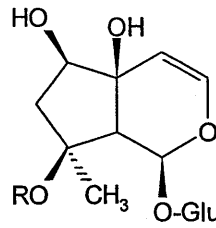
Tablo 1. *Lamium* türlerinden elde edilen 11-COOCH₃ süstitüe C₁₀ iridoit glukozitleri.

Bileşik	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	Bitki
İpolamiit	OH	H	H	OH	<i>L. eriocephalum</i> subsp. <i>eriocephalum</i> (66)
İpolamiidozit	OH	H	H	OAc	<i>L. amplexicaule</i> (9)
Karyoptozit	H	H	OH	OH	<i>L. album</i> (6, 7, 18)
Lamalbit (= Lamiridozit*)	H	OH	OH	OH	<i>L. album</i> (6, 7, 14, 18, 27*) <i>L. amplexicaule</i> (5, 7, 39) <i>L. garganicum</i> (5, 7) <i>L. maculatum</i> (6, 7) <i>L. purpureum</i> (7)
Lameriyozit	OH	H	α-OH	OH	<i>L. eriocephalum</i> subsp. <i>eriocephalum</i> (66)
Lamiit	OH	H	OH	OH	<i>L. eriocephalum</i> subsp. <i>eriocephalum</i> (66)
5-OH-8-epi- Loganin	OH	H	OH	H	<i>L. maculatum</i> var. <i>kansuense</i> (26)
Penstemozit	OH	OH	H	H	<i>L. maculatum</i> (6)
Şanzizit metil ester	H	OH	H	OH	<i>L. album</i> (7) <i>L. amplexicaule</i> (5, 7, 39) <i>L. garganicum</i> (5,7) <i>L. maculatum</i> (7) <i>L. maculatum</i> var. <i>kansuense</i> (26) <i>L. purpureum</i> (7)
8-O-Asetil şanzizit metil ester (= barlerin*)	H	OH	H	OAc	<i>L. amplexicaule</i> (39*) <i>L. garganicum</i> (5*, 10)



Tablo 2. *Lamium* türlerinden elde edilen 11-CH₃ süstitüe C₁₀ iridoit glukozitleri.

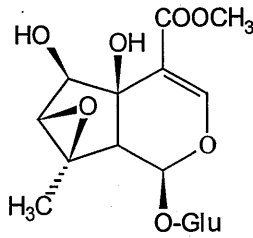
Bileşik	R ₅	R ₆	R ₈	Bitki
Lamiol	OH	OH	OH	<i>L. album</i> (7) <i>L. amplexicaule</i> (<i>L. amplessicaule</i> [†]) (7, 33, 53 [†]) <i>L. maculatum</i> (6, 7) <i>L. purpureum</i> (5, 7)
Lamiozit	OH	OH	OAc	<i>L. amplexicaule</i> (<i>L. amplessicaule</i> [†]) (5, 33, 39, 53 [†]) <i>L. maculatum</i> (6) <i>L. purpureum</i> (5)
5-Deoksilamiol	H	OH	OH	<i>L. amplexicaule</i> (7) <i>L. maculatum</i> (6, 7) <i>L. purpureum</i> (5, 7)
5-Deoksilamiozit	H	OH	OAc	<i>L. amplexicaule</i> (3, 33)
6-Deoksilamiozit	OH	H	OAc	<i>L. amplexicaule</i> (33)



Tablo 3. *Lamium* türlerinden elde edilen C₉ iridoit glukozitleri.

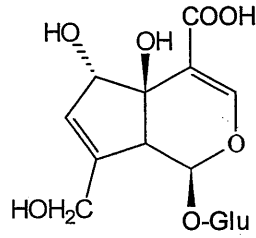
Bileşik	R	Bitki
Harpajit	H	<i>L. galeobdolon</i> subsp. <i>galeobdolon</i> (5)
8-O-Asetil harpajit	Ac	<i>L. galeobdolon</i> subsp. <i>galeobdolon</i> (5)

Diğer İridoit Glikozitleri



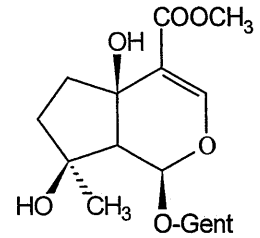
Sesamozit

L. amplexicaule (5, 7)
L. garganicum (5, 7)
L. maculatum (7)



Deasetil asperulozidik asit

L. amplexicaule (5)

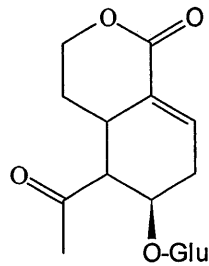


Eriyobiyoit

L. eriocephalum
 subsp. *eriocephalum* (66)

Gent: Gentiobioz (= β glukopiranozil-6-O- β glukopiranozit)

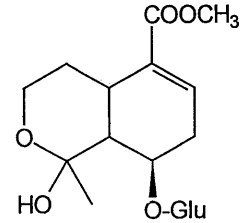
2.2.1.2. Sekoiridoitler



(1)

Albozit A

L. album (18)

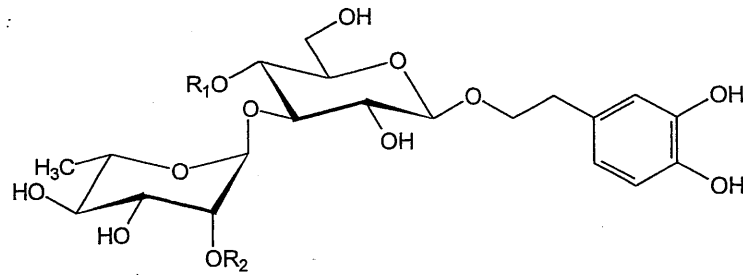


(2)

Albozit B

L. album (18)

2.2.1.3. Fenilpropanoitler

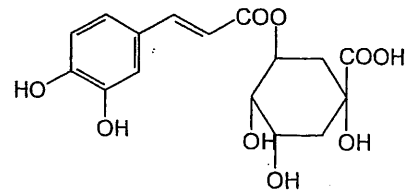
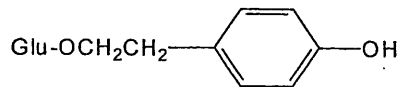


Tablo 4. *Lamium* türlerinden elde edilen feniletanoit glikozitleri.

Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki
Verbaskozit (= Akteozit*)	<i>trans</i> -kafeik asit	H	<i>L. album</i> ^a (15*) <i>L. garganicum</i> (5) <i>L. maculatum</i> var. <i>kansuense</i> (25) <i>L. maculatum</i> (54) <i>L. purpureum</i> (5)
Lamalbozit (= 2 ^R -galaktozilakteozit)	<i>trans</i> -kafeik asit	Gal	<i>L. album</i> (15)
<i>cis</i>-Akteozit	<i>cis</i> -kafeik asit	H	<i>L. album</i> (15)

^a*trans* ve *cis* formlarının karışımı halinde; Gal: Galaktoz

Diğer Fenilpropanoitler

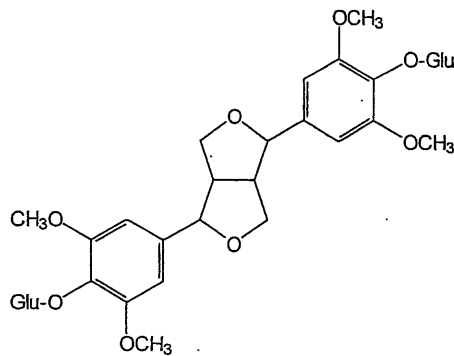


Salidrozit

L. galeobdolon ssp. *galeobdolon* (5)

Klorojenik asit

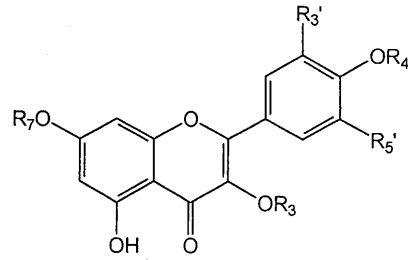
L. album (15)



Liriodendrin

L. maculatum var. *kansuense* (26)

2.2.1.4. Flavonoitler

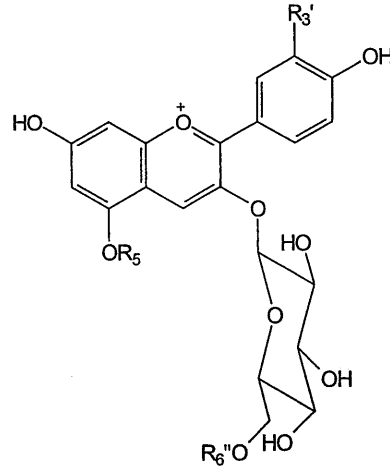


Tablo 5. *Lamium* türlerinden elde edilen flavonoitler.

Bileşik	R ₃	R ₇	R _{3'}	R _{4'}	R _{5'}	Bitki
Kemferol 3-O-glukozit (= astragalin)	Glu	H	H	H	H	<i>L. album</i> (15)
Rutin (= rutozit*)	Glu-Ram	H	OH	H	H	<i>L. album</i> (15*) <i>L. maculatum</i> var. <i>kansuense</i> (25) <i>L. maculatum</i> (54)
3'-O-Metilkersetin 3-rutinozit	Glu-Ram	H	OMe	H	H	<i>L. maculatum</i> var. <i>kansuense</i> (25)
Kersetin 3-O-glukozit	Glu	H	OH	H	H	<i>L. album</i> (15)
trans-Tilirozit (= kemferol 3-O-β-(6'''-O-trans-p-kumaroil)-glukopiranozit)	KGlu	H	H	CH ₃	H	<i>L. album</i> (15)
cis-Tilirozit (= kemferol 3-O-β-(6'''-O-cis-p-kumaroil)-glukopiranozit)	KGlu	H	H	CH ₃	H	<i>L. album</i> (15)
3,7-Dimetoksi-kersetin	CH ₃	CH ₃	OH	H	H	<i>L. maculatum</i> (54)

Glu: Glukoz; Glu-Ram: Glukoz-Ramnoz; KGlu: *p*-kumaroilglukoz

2.2.1.5. Antosiyaninler

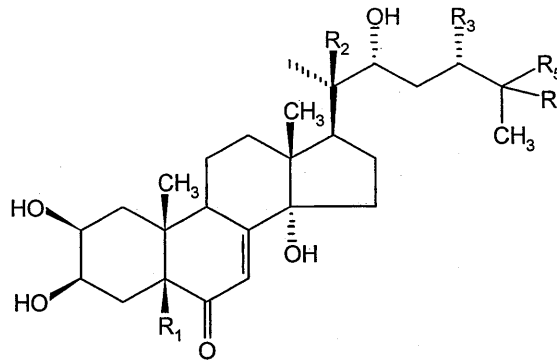


Tablo 6. *Lamium* türlerinden elde edilen siyanidin ve peonidin glikozitleri.

Bileşik	R _{3'}	R ₅	R _{6''}	Bitki
Siyanidin 3-glukozit	H	H	H	<i>L. amplexicaule</i> (50)
Siyanin (= siyanidin 3,5-diglukozit)	H	Glu	H	<i>L. amplexicaule</i> (50)
Siyanidin 3-(6''-p-kumaril glukozit)-5-(6'''-malonilglukozit)	H	MGlu	Kum	<i>L. garganicum</i> (50)
Perillanin (= siyanidin 3-(6''-p-kumarilglukozit)-5-glukozit)	H	Glu	Kum	<i>L. grandiflorum</i> (50)
Malonilşizonin (= siyanidin 3-(6''-malonilglukozit)-5-(6'''-malonilglukozit)	H	MGlu	Mal	<i>L. grandiflorum</i> (50) <i>L. maculatum</i> (50)
Peonin (= peonidin 3,5-diglukozit)	OCH ₃	Glu	H	<i>L. amplexicaule</i> (50)
Peonidin 3,5-monomalonildiglukozit	OCH ₃	MGlu	Mal	<i>L. amplexicaule</i> (50)
Peonidin 3-(6''-malonilglukozit)-5-glukozit	OCH ₃	Glu	Mal	<i>L. amplexicaule</i> (50)

Glu: Glukoz; Kum: Kumaroil; Mal: Malonil; MGlu: 6'''-malonilglukoz

2.2.1.6. Fitoekdisteroitler

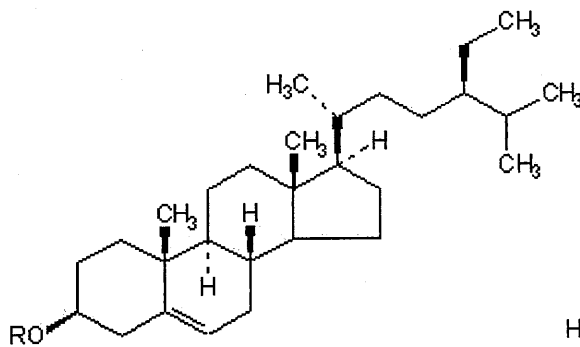


Tablo 7. *Lamium* türlerinden elde edilen fitoekdisteroitler.

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Bitki
20-Hidroksiekdizon	H	OH	H	OH	CH ₃	<i>L. maculatum</i> (54) <i>L. purpureum</i> (52)
Polipodin B (= 5 β , 20-dihidroksi- ekdizon)	OH	OH	H	OH	CH ₃	<i>L. album</i> (52) <i>L. maculatum</i> var. <i>kansuense</i> (26)
Abutasteron	H	OH	OH	OH	CH ₃	<i>L. album</i> (52)
İnokosteron	H	OH	H	H	CH ₂ OH	<i>L. album</i> (52)
Pterosteron	H	OH	OH	H	CH ₃	<i>L. album</i> (52)
24-<i>epi</i>-Pterosteron	H	OH	OH ^a	H	CH ₃	<i>L. purpureum</i> (5)

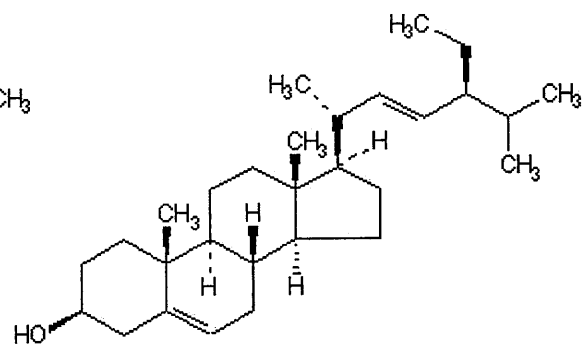
^a β -OH

Diğer Steroitler



R= H β -Sitosterol

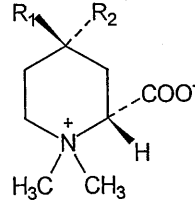
R= Glu **Daukosterol**



Stigmasterol

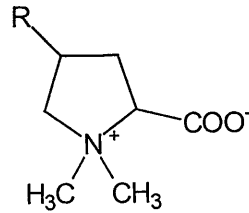
L. maculatum var. *kansuense* (25)

2.2.1.7. Betainler



Tablo 8. *Lamium* türlerinden elde edilen pipekolik asit betainler.

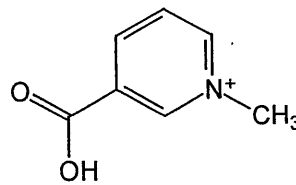
Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki
Pipekolik asit betain	H	H	<i>L. maculatum</i> (67)
<i>trans</i> -4-Hidroksipipekolik asit betain	OH	H	<i>L. maculatum</i> (67)



Tablo 9. *Lamium* türlerinden elde edilen prolin betainler.

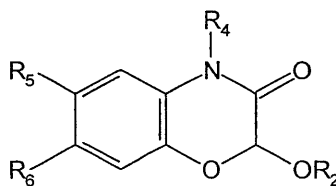
Bileşik	R	Bitki
Prolin betain	H	<i>L. maculatum</i> (64, 67)
<i>trans</i> -4-Hidroksiprolin betain	OH	<i>L. maculatum</i> (64, 67)

Diğer Betainler



Trigonellin
L. maculatum (64)

2.2.1.8. Benzoksazinoitler

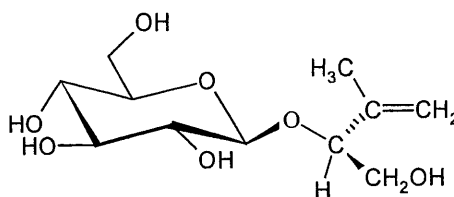


Tablo 10. *Lamium* türlerinden elde edilen benzoksazinoitler.

Bileşik	R ₂	R ₄	R ₆	R ₇	Bitki
Blefarin	Glu	H	H	H	<i>L. galeobdolon</i> (5)
2-O-β-D-Glukopiranozil-6-hidroksi-2 <i>H</i> -1,4-benzoksazin-3(4 <i>H</i>)-on	Glu	H	OH	H	<i>L. galeobdolon</i> (5)
2-O-β-D-Glukopiranozil-7-hidroksi-2 <i>H</i> -1,4-benzoksazin-3(4 <i>H</i>)-on	Glu	H	H	OH	<i>L. galeobdolon</i> (5)
2-O-β-D-Glukopiranozil-4-hidroksi-2 <i>H</i> -1,4-benzoksazin-3(4 <i>H</i>)-on	Glu	OH	H	H	<i>L. galeobdolon</i> (5)
4-Hidroksi-2 <i>H</i> -1,4-benzoksazin-3(4 <i>H</i>)-on	H	OH	H	H	<i>L. galeobdolon</i> (5)

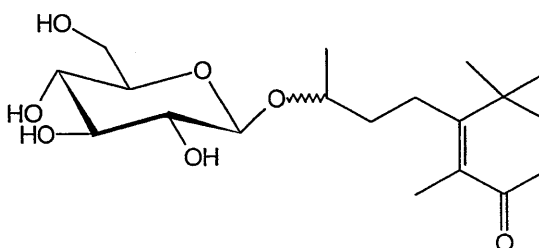
Glu: Glukoz

2.2.1.9. Hemiterpenler



Hemialbozit
L. album (19)

2.2.1.10. Megastigmanlar



9β-O-β-D-glukopiranoziloksi-5-megastigmen-4-on
L. album (51)

2.2.1.11. Uçucu Yağlar

Lamium türleri çok az uçucu yağ taşıyan Lamiaceae bitkileri arasında yer alırlar. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre, bu türlerin toprak üstü kısımlarının ve çiçeklerinin uçucu yağ verimleri % 0,01-0,31 arasında değişmektedir (1, 4, 49).

Lamium türlerinin uçucu yağları üzerinde yapılan ilk çalışmada, *L. purpureum* uçucu yağının bileşiminde daha çok alkoller ve fenoller gibi terpenik yapıda olmayan bileşiklerin bulunduğu belirlenmiş ve uçucu yağın yapısında yer alan 1-okten-3-ol, *cis*-3-hexen-1-ol, fenetil alkol, benzil alkol, gayakol, öjenol fenol, *o*-, *m*- ve *p*-krezol gibi maddeler ile 15 yağ asidi ve 21 hidrokarbon yapılı bileşiğin yapısı aydınlatılmıştır (43). Daha sonra yapılan bir çalışmada ise *L. maculatum* türünün yapraklarının dietil eter ekstresinde bulunan uçucu bileşiklerin analizi yapılmıştır (1).

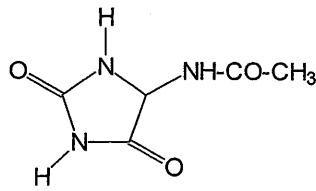
Yunanistan'da yetişen *L. garganicum* subsp. *laevigatum* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın kimyasal yapısı gaz kromatografisi ve gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi yöntemleriyle aydınlatılmıştır. Çalışma sonunda uçucu yağın bileşiminin % 91,05'ini oluşturan toplam 29 bileşiğin yapısı belirlenmiş ve uçucu yağ 1,8-sineol (% 47,5), sitronellal (% 25,1) ve izoöjenol (% 11,8) bakımından zengin bulunmuştur (49).

İtalya bitki örtüsünde yetişen *L. purpureum*, *L. hybridum*, *L. bifidum* ve *L. amplexicaule* türlerinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağlar üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada terpenik hidrokarbon bileşiklerinin (% 91,4-52,6) uçucu yağların yapısında oksijenli terpenik bileşiklerden daha yüksek oranlarda yer aldığı belirlenmiştir. Çalışılan bütün türlerin germakren D (% 28,9-39,0) taşıdığı ve bu bileşiğin *L. purpureum*, *L. hybridum*, *L. bifidum* türlerinin uçucu yağlarının ana bileşeni olduğu (% 34,9-39,0) görülmüştür. *L. amplexicaule* türünde ise *trans*-krizantenil asetat (% 41,1) bileşiğinin ana bileşen olduğu; germakren D (%28,9)'nin ise ikinci bileşen olarak yer aldığı belirlenmiştir. Uçucu yağların taşıdığı diğer önemli bileşikler olarak *L. purpureum* uçucu yağında β -pinen (% 26,8) ve α -pinen (%13,4); *L. hybridum*

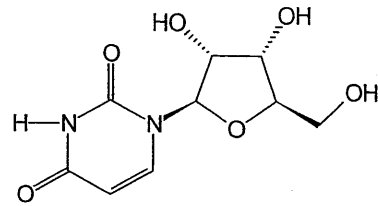
uçucu yağında (Z)-osimen (% 8,7), metil salisilat (% 7,5) ve β -karyofillen (% 6,1); *L. bifidum* uçucu yağında β -karyofillen (% 11,5) ve α -humulen (% 6,8) ve *L. amplexicaule* uçucu yağında ise α -pinen (% 6,8) yer almaktadır. Aynı çalışmada bitkilerin çiçek, brakte ve yaprak uçucu yağlarının üzerinde yapılan incelemelerde, bu organlardaki uçucu yağ bileşimlerinin hem aynı tür içerisinde ve hem de türler arasında büyük farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir (29).

Lamium türlerinin çiçeklerinden elde edilen uçucu yağların kimyasal yapılarının aydınlatılmasına yönelik bir başka çalışmada, Bulgaristan'ın değişik bölgelerinden toplanan *L. album*, *L. amplexicaule*, *L. maculatum*, *L. moschatum*, *L. purpureum*, *L. bifidum* ve *L. garganicum* türlerinin çiçeklerinin uçucu yağlarının bileşimlerinin birbirine oldukça yakın olduğu görülmüştür. Uçucu yağlar daha çok C_{12} - C_{30} karbon taşıyan düz zincirli doymuş hidrokarbon türevlerince zengin olup, sadece bazı *Lamium* örneklerinin uçucu yağları α -terpineol, β -karyofillen, α -humulen gibi bazı terpenik bileşikler taşımaktadır. Çalışılan türlerin uçucu yağlarının tümünde skualen bileşiğinin bulunması ve bu bileşiğin bazı örneklerde dikkate değer oranlarda (% 11,3-18,7) yer alması ilginç bir bulgu olarak değerlendirilmiştir (4).

2.2.1.12. Diğerleri



Allantoin



Üridin

L. maculatum var. *kansuense* (25, 26)

2.2.2. *Lamium* Türlerinin Kullanılışları ve Biyolojik Aktiviteleri

Avrupa, Asya ve Afrika kıtalarında yetişen *Lamium* türlerinin çeşitli ülkelerde halk ilacı olarak kullanıldıkları bilinmektedir (13, 62). *L. album*, cinsin en fazla kullanılan türü olarak bilinir. Bu türün çiçekleri gösterdikleri antienflamatuvar, astrenjan ve antiseptik etkiler nedeniyle kadınların menstrüel siklus dönemlerinde görülen aşırı kanamalarda, uterus kanamalarında, vajinal veya servikal iltihaplanmalarda ortaya çıkan iltihaplı akıntı durumlarında tedavi edici olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle *L. album* “kadın hastalıklarının ilacı” olarak tanınır. *L. album* aynı zamanda mukolitik ve antispazmodik etkiler de göstermekte; bu nedenle de kronik bronşit ve farenjit tedavisinde de etkili olmaktadır. *L. album* çiçeklerinin deri iltihabı rahatsızlığında, sindirim sistemi veya idrar yolları rahatsızlıklarında da kullanıldığı ve metabolizmada oluşan zararlı ürünlerin uzaklaştırılmasına yardımcı olarak yararlı olduğu kayıtlıdır. Gösterdiği antienflamatuvar etki nedeniyle *L. album* bitkisi dermatolojik etkili bitkiler arasında da yer almakta ve yara iyi edici olarak yaygın bir biçimde kullanılmaktadır (47).

L. maculatum türünün toprak üstü kısımları da Çin’de travma ve düşme nedeniyle oluşan yaralanmalarda ortaya çıkan çürüklere karşı ağrı kesici olarak kullanılmakta; felç ve hipertansiyon tedavisinde ve kadınların menstrüel sikluslarının düzenlenmesinde de bu bitkiden yararlanılmaktadır (13).

L. album, *L. maculatum* ve *L. purpureum* bitkileri tonik etkilerinden yararlanılmak üzere, Anadolu’da da halk ilacı olarak kullanılmaktadır (8).

L. amplexicaule bitkisinin tohumlarından elde edilen yağın gösterdiği kuvvetli antioksidan etki nedeniyle besin katkı maddesi olarak kullanılması önerilmiştir (29).

L. album sulu-alkollü ekstresi üzerinde gerçekleştirilen bir araştırmada bitkinin oldukça dikkate değer bir düzeyde antienflamatuvar, antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkilerinin olduğu; yüksek konsantrasyonlarda (>0,5 mg/ml) olmak kaydıyla, B16 hücreleri üzerinde antiproliferatif (= *hücre gelişimini durdurucu*) etki gösterdiği anlaşılmıştır (58). Bitkinin antioksidan ve

serbest radikal süpürücü etkileri daha sonra bir başka çalışmada da doğrulanmış; aynı çalışmada *L. purpureum* bitkisinin de antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkilerinin bulunduğu belirlenmiştir (44).

Deri fibroblastlarının çoğalması bir yaralanma sonrasında yaranın iyileşmesi ve dokuların tamiri için geçen süreçteki en önemli aşama olarak kabul edilmektedir. *L. album*'un yara iyi edici etkisinin araştırılması amacıyla yapılan bir çalışmada bitkinin çiçeklerinden hazırlanan metanol, etil asetat ve heptan ekstralarının, insan deri fibroblastlarının çoğalması ve yaşamlarını devam ettirmeleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda deri fibroblastlarının çoğalması ve yaşaması konusunda en yüksek etkinin heptan ekstresinde bulunduğu, bu ekstrenin deri için en zararsız ekstre olduğu görülmüş ve etkinin muhtemelen triterpenik bileşikler tarafından başlatıldığı belirtilmiştir. Ancak, çalışmanın sonucunda bitkinin kimyasal yapısında bulunan diğer fenolik bileşiklerin de bu yönde etkilerinin olabileceği ve bu tip bileşiklerin de göz ardı edilmemesinin gerektiği vurgulanmıştır (47).

Tıbbi bitkilerin enzimler üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, aralarında *L. album* çiçeklerinin de yer aldığı 5 tıbbi bitkinin taze örneklerinden hazırlanan sulu ekstralarının 17 enzim üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışmada en etkili tıbbi bitki olarak *L. album* dikkati çekmiştir. Bitkinin çiçeklerinin sulu ekstresi özellikle *asidik fosfotaz*, *naftol-AS-BI-fosfohidrolaz*, *alkalin fosfotaz*, *esteraz*, α -galaktozidaz ve β -galaktozidaz enzimleri üzerinde yüksek düzeyde etkinlik göstermiştir. Kuru bitkinin sulu infüzyonunun da bazı enzimler üzerinde etkili olduğu, fakat bu etkinin taze bitkiye göre çok daha düşük değerlerde ortaya çıktığı gözlenmiştir (17).

L. garganicum subsp. *laevigatum* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın antibakteriyel etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada uçucu yağın, test edilen 6 bakteriye karşı kuvvetli antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek antibakteriyel etkinin *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae* üzerinde ortaya çıktığı, *Staphylococcus aureus* ve *S. epidermidis* üzerindeki etkilerin ise biraz daha düşük olduğu belirlenmiştir (49).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Fitokimyasal Çalışmalar

3.1.1. Bitkisel Materyal

Lamium garganicum subsp. *laevigatum* Arcangeli bitkisi Temmuz 2005 döneminde, Bursa, Uludağ, Kuşaklıkaya mevkiinden 2300 m yükseklikte toplanmıştır. Bitkisel materyale ait örnekler Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Herbaryumu'nda saklanmaktadır (HUEF 05004).

Kimyasal çalışmalarda, bitkilerin açık havada ve gölgede kurutulmuş toprak üstü kısımları kullanılmıştır.

3.1.2. Kimyasal Maddeler ve Gereçler

Kimyasal Katı Maddeler: Vanilin (Merck).

Solvanlar: *n*-Butanol (Merck,), Diklorometan (Carlo Erba, Riedel), Etilasetat (Merck), Kloroform (Merck, Carlo Erba), Metanol (Merck, Carlo Erba), Sülfürik asit (Merck).

Adsorbanlar: Kromatografik çalışmalarda adsorban olarak normal faz silika jel, poliamit ve karışık-faz silika jel C₁₈ materyalleri kullanılmıştır. İnce tabaka kromatografisi çalışmalarında normal faz silika jel kaplanmış hazır alüminyum plaklar kullanılmıştır. Adsorbanların özellikleri bölüm 3.1.3'de verilmiştir.

Revelatör: Vanilin/H₂SO₄ (vanilin'in derişik sülfürik asit içindeki % 1'lik çözeltisi).

Solvan Sistemleri: Kromatografik çalışmalarda kullanılan solvan sistemleri Tablo 11'de verilmiştir.

Tablo 11. Kromatografik çalışmalarda kullanılan solvan sistemleri.

Solvan sistemi	Kromatografik Yöntem
CHCl ₃ -MeOH-H ₂ O (80:20:2; 61:32:7)	İTK
EtOAc-MeOH-H ₂ O (100:16,5:13,5)	İTK
EtOAc-MeOH-H ₂ O (100:5:2→100:17:13)	KK (silika jel)
EtOAc-MeOH-H ₂ O (100:5:2→100:30:12)	KK (silika jel)
EtOAc-MeOH-H ₂ O (100:10:0→100:17:13)	KK (silika jel)
MeOH-H ₂ O (0:100→100:0)	KK (poliamit), OBSK, VSK

Gereçler:

Polarimetre	: Rudolph Autopol IV
IR Spektrofotometresi	: Perkin Elmer 2000 FT-IR
UV Spektrofotometresi	: Agilent 8453
Kütle Spektrometresi	: Water Zq
NMR Spektrometresi	: Bruker Avance 400 MHz; Varian Unity Inova 500 MHz Varian Mercury Plus 400 MHz
Liyofilizatör	: Virtis Freezemobile 6 Virtis 145 Mr Ba
Rotavapor	: Büchi R-200, Heidolph Laborota 4000
UV Lambası	: Camag (Tip: 29000)
Kromatografi Tankı	: Camag (cam küvet, 22 x 23 x 8 cm)

3.1.3. Kromatografik Yöntemler

İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

- Adsorban** : Silika jel (Alimünyum hazır plak, Kieselgel) 60 F₂₅₄, 0,25 mm, Merck, 5554)
- Solvan Sistemleri** : Tablo 11'de verilmiştir
- Lekelerin belirlenmesi** : UV₂₅₄ / UV₃₆₆ ; Vanilin-sülfürik asit (% 1), 105 °C 'de 1-2 dak. ısıtarak

Numune Tatbiki: Numuneler bir pastör pipeti yardımıyla, plağın alt ucunun 1 cm yukarısından ve 0,6 cm aralıklarla tatbik edilir. Kromatografi tankına konulan plaklar 7-10 cm mesafe boyunca sürüklenir.

Silika Jel Kolon Kromatografisi

- Adsorban** : Silika jel (Kieselgel 60, 70-230 mesh, 0,063-0,2 mm, Merck, 7734)
- Solvan Sistemleri** : Tablo 11'de verilmiştir
- Kolonun Hazırlanması** : İstenilen miktarda tartılan silika jel yeterli miktarda solvan sistemi ile süspansiyon haline getirilir ve karışım alt ucuna pamuk yerleştirilmiş olan cam kolona aktarılır. Kolondan yeterli miktarda solvan sistemi geçirilerek adsorbanın yerleşmesi sağlanır. Adsorban üzerinde 2-3 mm solvan kalıncaya kadar beklenir ve solvan sisteminde çözülmüş olan numune kolona tatbik edilir.

Poliomit Kolon Kromatografisi

- Adsorban** : Poliomit (Fluka, 50-160 µm)
- Solvan Sistemleri** : Tablo 11'de verilmiştir
- Kolonun Hazırlanması** : 50-100 g poliomit yeterli miktarda distile

su ile süspande edilir ve manyetik bir karıştırıcıda 12-18 saat karıştırılarak şişmesi sağlanır. Süspansiyon haline gelen karışım, alt ucuna pamuk yerleştirilmiş cam kolona aktarılır. Kolon yeterli miktarda su ile yıkanır ve adsorbanın iyice yerleşmesi beklendikten sonra numune tatbik edilir.

Kolon Kromatografisi İçin Numune Tatbiki

A. Çözücü yardımı ile tatbik: Numune yeterli miktarda çözücü içinde çözülür. Tamamen çözünmüş numune, bir pastör pipeti yardımı ile kolona tatbik edilir. Kolon musluğu açılarak numune adsorbana emdirilir. Kolonun üzerine, adsorban yüzeyinin bozulmasını engellemek için pamuk yerleştirilir ve kolona yeterli miktarda solvan sistemi eklenerek elüsyona başlanır.

B. Kuru tatbik: Numune 1-2 ml çok iyi çözündüğü bir solvan içinde çözülür. Çözelti, kolondaki adsorban ve tatbik edilecek numune miktarları da göz önünde tutularak, yeterli miktarda adsorban ile karıştırılır. Adsorbanın çözeltiyi iyice adsorbe etmesi ve tam kuruması sağlanır. Karışım kuru olarak kolona aktarılır. Kolonun üzerine, adsorban yüzeyinin bozulmasını engellemek için pamuk yerleştirilir ve kolona yeterli miktarda solvan sistemi eklenerek elüsyona başlanır.

Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi (OBSK)

Adsorban	: LiChroprep C ₁₈ (40-63 µm, Merck)
Kolon	: Büchi cam kolon (3 x 25 cm)
Peristaltik Pompa	: Büchi 681
Enjektör	: Rheodyne (Loop 5 ml)
Solvan Sistemi	: MeOH-H ₂ O (% 0-100 MeOH)
Akış Hızı	: 5 ml/dak
Basınç	: 10-15 bar
Fraksiyon Hacmi	: 5-10 ml
Fraksiyon Toplayıcı	: Büchi 681

Kolonun Hazırlanması : Yeterli miktarda adsorban kuru sistemle kolona doldurularak basınç altında ve bir vibratör yardımıyla sıkıştırılır. Kolondan yeterli miktarda metanol geçirilerek adsorbanın doygunluğu sağlanır. Kolon, önce yeterli miktarda su, sonra da elüsyona başlanacak solvan sistemi geçirilerek şartlandırılır. Numune, 1-5 ml solvan sistemi içinde çözülerek bir enjektör yardımıyla kolona enjekte edilir.

Vakumlu Sıvı Kromatografisi (VSK)

Adsorban	: LiChroprep C ₁₈ (40-63 µm, Merck)
Kolon	: Cam kolon (5,2 x 10 cm)
Solvan Sistemleri	: Tablo 11'de verilmiştir

Kolonun Hazırlanması : Yeterli miktarda adsorban, G₄ filtre taşıyan cam kolona (5,2 x 10 cm) kuru olarak doldurulur ve vakum yardımıyla sıkıştırılır. Kolondan 20-25 ml metanol geçirilerek adsorbanın doygunluğu sağlanır. Kolon, önce yeterli miktarda su, sonra da elüsyona başlanacak solvan sistemi geçirilerek şartlandırılır.

Numune Tatbiki : Numune 1-2 ml metanolde çözülerek bir pastör pipeti yardımıyla kolona tatbik edilir. Kolonun alt ucu vakum erleninin kapak mantarının içinden geçirilir. Mantar kapatılarak kolon

erlene orturtulur. Vakum açılarak numune adsorbana emdirilir. Daha sonra kolonun üst tarafına pamuk yerleştirilir ve kolona solvan sistemi (20-25 ml) eklenir. Vakum erleni içerisine fraksiyon toplamak için bir tüp yerleştirilir ve vakum açılarak elüsyona başlanır.

3.1.4. Ekstraksiyon

Lamium garganicum subsp. *laevigatum*'un açık havada ve gölgede kurutulmuş toprak üstü kısımları (285 g) toz edildikten sonra, rotavaporda, 40 °C'de, 8 saat süreyle metanol (1,5 l) ile ekstre edilmiştir. Ekstre sıcakken, önce tülbentten, daha sonra da süzgeç kağıdından süzölmüştür. Kalan bitki numunesi üç kez daha 1,5 l metanol ile aynı şartlarda ekstre edilerek süzölmüş ve süzöntüler birleştirilmiştir. Birleştirilen süzöntüler, rotavaporda, düşük ısıda ve alçak basınç altında kuruluğa kadar yoğunlaştırılmıştır (MeOH ekstresi, 27,1 g; % 9,51).

Ham metanol ekstresi 150 ml suda çözüldükten sonra bir ayırma hunisine alınmış ve sırasıyla CH₂Cl₂ (4 x 150 ml) ve *n*-BuOH (4 x 150 ml) ile ekstre edilmiştir. *n*-BuOH ekstreleri birleştirildikten sonra rotavaporda, 40 °C'de ve alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulmuş ve liyofilize edilmiştir. (*n*-BuOH ekstresi, 20 g; % 7,02). Kimyasal çalışmalar *n*-BuOH ekstresi üzerinde yürütölmüştür.

3.1.5. İzolasyon Çalışmaları

20 g *n*-BuOH ekstresi yeterli miktarda su içinde çözümlerek poliamit (100 g) kolon kromatografisi sistemine tatbik edilmiştir. Elüsyona su ile başlanmış ve su içerisine kademeli olarak artan oranlarda MeOH eklenerek (75:25, 50:50, 25:75) devam edilmiş ve elüsyon MeOH ile tamamlanmıştır. Bu şekilde 11 ana fraksiyon (Fr. I-XI) toplanmıştır.

Fr. I (10 g) VSK sistemine uygulanarak MeOH-H₂O (% 0-100 MeOH) solvan sistemi ile fraksiyonlanmış ve 9 fraksiyon (Fr. I_a-I_i) toplanmıştır. Fr. I_e (505 mg), silika jel (50 g) kolon kromatografisine uygulanarak EtOH-MeOH-

H₂O (100:5:2→100:17:13) solvan sistemi ile fraksiyonlanmış ve bu şekilde 5 fraksiyon elde edilmiştir. İTK kontrollerinde fr. I_{e-A}'nın tek madde taşıdığı (**LGL-7**, 40,5 mg) görülmüştür. Fr. I_{e-D} (36 mg) ve fr. I_{e-E} (45 mg) ayrı ayrı VSK (LiChroprep C₁₈) sistemine uygulanmıştır. MeOH-H₂O (% 0-100 MeOH) solvan sistemi ile yapılan elüsyonlar sonrasında sırasıyla **LGL-4** (10, 8 mg) ve **LGL-5** (2 mg) bileşikler elde edilmiştir. Fr. I_f (1,2 g) önce silikajel (50 g) kolon kromatografisine uygulanmış ve EtOH-MeOH-H₂O (100:5:2→100:30:2) solvan sistemi ile yapılan fraksiyonlama ile **LGL-1** taşıyan bir fraksiyon (fr. I_{f-B}, 454 mg) elde edilmiştir. Bu fraksiyonun OBSK (LiChroprep C₁₈) sistemine uygulanarak MeOH-H₂O (% 0-100 MeOH) solvan sistemi ile fraksiyonlanması sonucunda **LGL-1** (98 mg) bileşiği saf olarak elde edilmiştir. Fr. I_h (295 mg) silika jel kolon kromatografisi sisteminde EtOH-MeOH-H₂O (100:5:2→100:17:13) solvan sistemi ile fraksiyonlanarak **LGL-6** (20 mg) bileşiği elde edilmiştir. Fr. I_i (67 mg) fraksiyonunun İTK kontrolünde tek madde olduğu (**LGL-2**, 67 mg) anlaşılmıştır.

Fr. IV (390 mg)'ün OBSK (LiChroprep C₁₈) sistemine uygulanarak MeOH-H₂O (% 0-100 MeOH) solvan sistemi ile fraksiyonlanması sonucunda üç fraksiyon (fr. IV_{A-C}) toplanmıştır. Fr. IV_B (115 mg)'nin silika jel (15 g) kolon kromatografisine uygulanarak EtOH-MeOH-H₂O (100:10:0→100:17:13) solvan sistemi ile fraksiyonlanması sonucunda **LGL-3** (80 mg) bileşiği saf olarak elde edilmiştir.

Poliamit kolon kromatografisi çalışmalarında elde edilen diğer fraksiyonların (fr. V-XI) İTK analizlerinde, bu fraksiyonların fenolik bileşikler taşıdığı belirlenmiştir. Bu fraksiyonların taşıdığı bileşikler daha sonraki çalışmalarda elde edilerek yapı tayinleri gerçekleştirilecektir.

Lamium garganicum subsp. *laevigatum* bitkisinin toprak üstü kısımları üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları Şema 1.'de gösterilmiştir.

3.2. Aktivite Çalışmaları

3.2.1. Serbest Radikal Süpürücü Etki Tayini

DPPH Yöntemi

Lamium garganicum subsp. *laevigatum*'dan hazırlanan MeOH, H₂O, CH₂Cl₂ ve *n*-BuOH ekstralarının serbest radikal süpürücü etkileri Blois tarafından geliştirilen ve Çakır ve arkadaşları tarafından değiştirilerek uygulanan yöntemle göre test edilmiştir (16). Bu yöntemle göre değişik konsantrasyonlarda (25, 50, 100, 200 µg/ml) hazırlanmış ekstre örneklerine, metanol içinde hazırlanmış DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil; $1,5 \times 10^{-5}$ M) radikali katılmıştır. Karışımların oda ısısında 30 dak. inkübasyona bırakılmasından sonra çözeltilerin absorbanları 517 nm'de ölçülmüştür.

Radikal süpürücü etki, test edilen ekstraların absorbanlarının kontrol çözeltisinin (% 100 DPPH çözeltisi) absorbanı ile karşılaştırılması sonucunda belirlenmiştir. DPPH çözeltisinin absorbanında gözlenen azalma, DPPH radikal süpürücü aktivitenin arttığına işaret etmektedir. Bu aktivite aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmış ve % değer olarak verilmiştir.

$$\% \text{ DPPH Radikal Süpürücü Aktivite} = \frac{(K_{\text{abs}} - E_{\text{abs}})}{K_{\text{abs}}} \times 100$$

K_{abs} = Kontrol numunesinin absorbanı

E_{abs} = Ekstre çözeltisinin absorbanı

Bu çalışmada standart madde olarak askorbik asit kullanılmıştır. Sonuçlar iki deneyin ortalaması alınarak elde edilmiştir.

3.2.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Lamium garganicum subsp. *laevigatum*'dan hazırlanan MeOH, H₂O, CH₂Cl₂ ve *n*-BuOH ekstreleri yeterli miktar steril distile su içinde çözülmüştür. Başlangıç konsantrasyonu 1024 µg/mL'dir.

Mikroorganizmalar: *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853); antifungal testler için *Candida albicans* (ATCC 90028), *C. krusei* (ATCC 6258) ve *C. parapsilosis* (ATCC 22019) mikroorganizmaları kullanılmıştır. Kullanılan mikroorganizmalar H.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında bulunan stok kültür koleksiyonundan sağlanmıştır.

Antimikrobiyal aktivite testi: Bu çalışmada Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi (NCCLS) tarafından önerilen "Broth Mikrodilüsyon Yöntemi" kullanılmıştır (59, 60). Antibakteriyel testler için Mueller-Hinton (MHB, Difco Laboratories, Detroit, MI, A.B.D.) besi yeri kullanılmış; antifungal testler L-glutamin (ICN, Flow, Aurora, OH, A.B.D.) taşıyan ve MOPS (ICN, Flow, Aurora, OH, A.B.D.) ile tamponlanmış RPMI-1640 vasatı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Vasatlara bakteriler 5x10⁵ cfu/ml, mantarlar 0,5-2,3x10³ cfu/ml yoğunluklarda ekilmiştir. Ekstreler, ekim çukurlarına yukarıda verilen konsantrasyonlarda ekildikten sonra plakalar 35 °C'de bakteriler için 18-24 saat, mantarlar için 48 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra ekstrelerin MİK (= *minimum inhibitör konsantrasyon*) değerleri mikroorganizma üremesini gözle görünür bir şekilde durduran en düşük ekstre konsantrasyonu üzerinden hesaplanmıştır.

Referans antibiyotikler: Antibakteriyel çalışmalarda Ampisilin (64-0,063 µg/ml), antifungal çalışmalarda ise Flukonazol (64-0,063 µg/ml) antibiyotikleri referans olarak kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular

Lamium garganicum subsp. *laevigatum*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan *n*-BuOH ekstresi üzerinde yürütülen kromatografik çalışmalar sonucunda, bitkiden yedi iridoit glukoziti elde edilmiştir. Bileşiklerin yapıları spektroskopik (UV, IR, 1D- ve 2D- NMR ve Kütle spektr.) yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır. Elde edilen bileşiklerin isimlendirmesinde Türkçe okunuşları esas alınmıştır.

Bileşiklerin üç değişik solvan sisteminde gerçekleştirilen İTK analizleri Şekil 2'de, R_f değerleri Tablo 12'de verilmiştir.

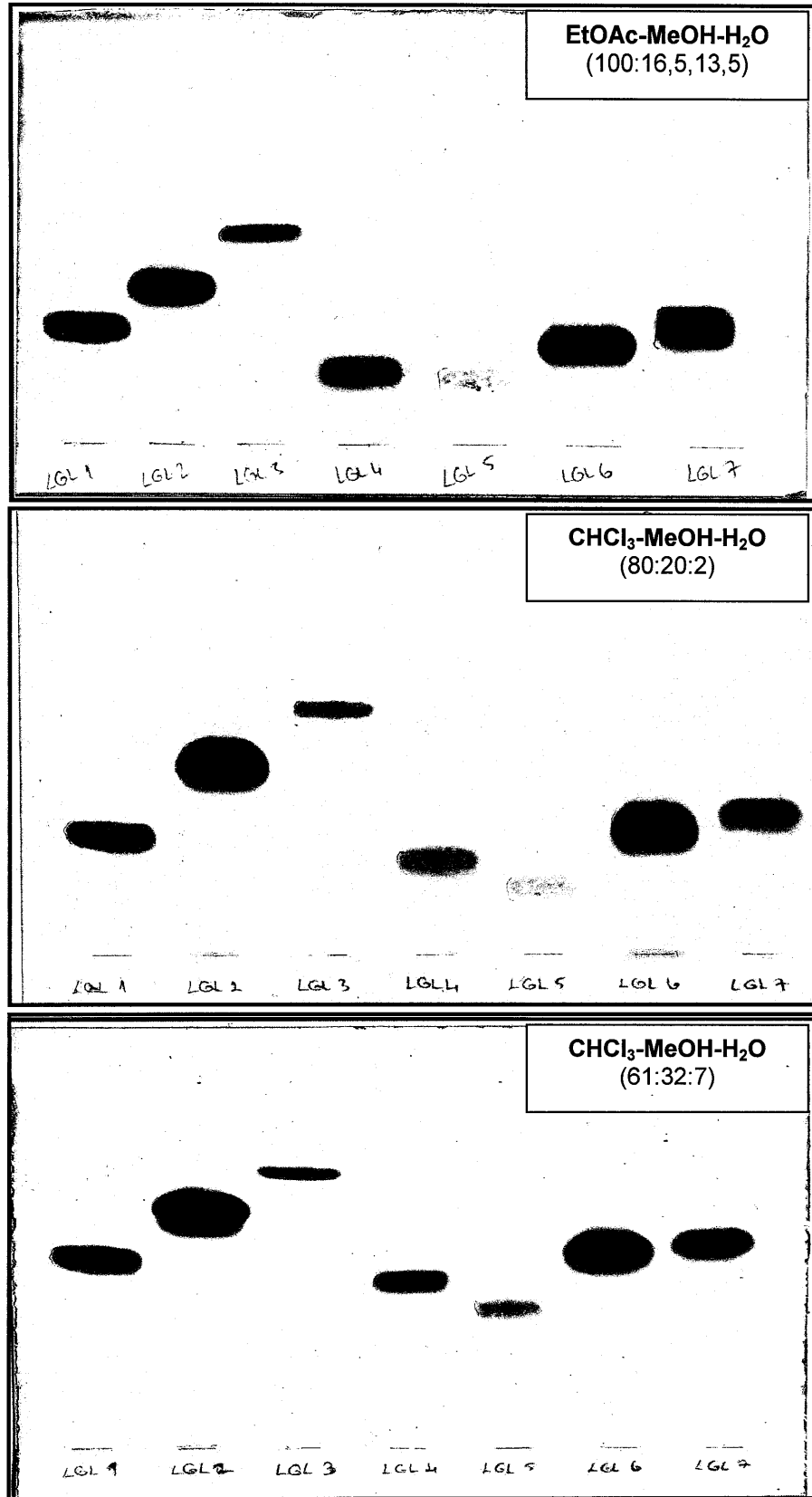
Tablo 12. *Lamium garganicum* subsp. *laevigatum*'dan elde edilen bileşiklerin R_f değerleri^a.

Bileşik	I	II	III
Şanzizit metil ester (LGL-1)	0,29	0,29	0,49
8-O-Asetilşanzizit metil ester (LGL-2)	0,38	0,48	0,61
6-O-Siringil-8-O-asetilşanzizit metil ester (LGL-3)	0,51	0,58	0,71
6β-Hidroksiipolamiit (LGL-4)	0,17	0,23	0,48
Lamalbit (LGL-5)	0,15	0,15	0,36
Dehidropenstemozit (LGL-6)	0,24	0,31	0,51
Sesamozit (LGL-7)	0,28	0,33	0,52

^a R_f değerleri oda ısısında (20 °C) gerçekleştirilen İTK çalışması ile belirlenmiştir.

Solvan sistemleri : I- EtOAc-MeOH-H₂O (100:16,5:13,5)
 II- CHCl₃-MeOH-H₂O (80:20:2)
 III- CHCl₃-MeOH-H₂O (61:32:7)

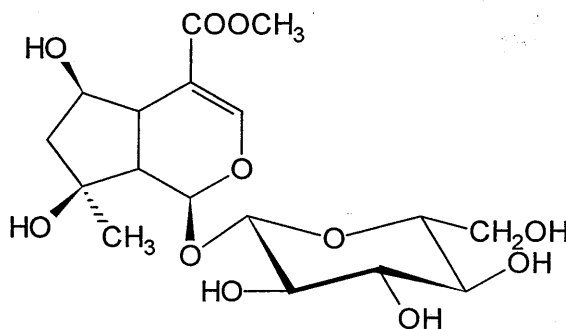
Lekelerin belirlenmesi: Lekeler UV lambası (254 ve 366 nm) ve vanilin/H₂SO₄ reaktifi kullanılarak belirlenmiştir.



Şekil 2. *L. gargaricum* subsp. *laevigatum*'dan elde edilen iridoit bileşiklerinin İTK analizleri.

4.1.1. İridoit Glukozitleri

Şanzizit metil ester (LGL-1)



$C_{17}H_{26}O_{11}$ (Mol. Ağ. 406)

UV $\lambda_{maks.}$ (MeOH) nm	IR $\nu_{maks.}$ (% 1 KBr) cm^{-1}	$[\alpha]^{33}_D$
236	3408 (OH), 1688 (C=O), 1645 (C=C)	- 122° (c 0,1; MeOH)

^1H NMR Spektrumu (CD_3OD , 400 MHz) : Spektrum 1, Tablo 13

DEPT-135 ve ^{13}C NMR Spektrumları (CD_3OD , 100 MHz) : Spektrum 2, Tablo 13

2D $^1H, ^1H$ -Homonükleer Korelasyonlu Spektrumu (DQF-COSY) : Spektrum 3

2D $^1H, ^{13}C$ -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) Spektrumu (HMQC) : Spektrum 4

2D $^1H, ^{13}C$ -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) Spektrumu (HMBC) : Spektrum 5, Tablo 13

2D.nOe Korelasyonlu Spektrumu (NOESY) : Spektrum 6

Şanzizit metil ester (LGL-1)

LGL-1 bileşiği beyaz renkli, amorf bir toz şeklinde elde edilmiştir. Bileşiğin İTK analizinde, vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile 105 °C'de 1-2 dakika ısıtılması sonrasında, zamanla koyulaşan pembe-mor bir renklenme gözlenmiştir (Şekil 2).

Bileşiğin UV spektrumu ($\lambda_{\text{maks.}}$ 236 nm) α,β -doymamış karbonil grubu taşıyan bir iridoit yapısını işaret etmektedir. IR spektrumunda ise hidroksil (3408 cm⁻¹), ester karbonili (1688 cm⁻¹) ve konjuge enol-eter fonksiyonuna (1645 cm⁻¹) ait absorpsiyon bantları gözlenmiştir.

ESI-MS spektrumunda gözlenen m/z 429 [M+Na]⁺ pozitif iyon piki, ¹H NMR spektrumu ve ¹³C NMR spektrumunda gözlenen 17 karbon rezonansı (Spektrum 1 ve 2; Tablo 13) yardımıyla bileşiğin kapalı formülü C₁₇H₂₆O₁₁ olarak hesaplanmıştır. Bileşiğin yapısında yer alan tüm proton ve karbon sinyallerinin çözümlemeleri DEPT, DQF-COSY, HMQC, HMBC ve NOESY analizlerine dayanılarak gerçekleştirilmiştir.

¹H NMR spektrumunda, metoksikarbonil grubu ile konjuge olmuş bir enol-eter sistemine ait sinyaller (δ_{H} 7,41, s, H-3; δ_{H} 3,73, s, COOCH₃) ile birlikte; bir oksimetin (δ_{H} 4,06, ddd, $J = 6,4/6,0/3,2$ Hz, H-6), bir metilen (δ_{H} 2,01, dd, $J = 13,2/6,4$ Hz, H-7 _{α} ; 1,83, dd, $J = 13,2/6,0$ Hz, H-7 _{β} ; bir ABX sistemin AB kısmı) ve bir tersiyer metil (δ_{H} 1,26, s, H₃-10) grubuna ait sinyaller gözlenmiştir. δ_{H} 4,63 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1')'de gözlenen anomerik proton sinyalinin ve ¹³C NMR spektrumunda 99,8 ppm'de (C-1') görülen anomerik karbon rezonansının yanı sıra, oz ünitesine ait proton (δ_{H} 3,17-3,89) ve karbon (δ_{C} 62,9-78,4) rezonanslarının değerlendirilmesi ile yapıda bir glukoz molekülünün bulunduğu belirlenmiştir. Anomerik protonun kenetlenme sabiti değerinden glukozun bağ tipinin β olduğu anlaşılmaktadır. C-1'/H-1 arasında gözlenen HMBC (Spektrum 5, Tablo 13) ve H-1/H-1' arasında gözlenen nOe etkileşimleri, β -glukopiranoz ünitesinin, **LGL-1**'in C-1 konumunda bağlı olduğunu göstermiştir. C-8 (δ_{C} 79,1) ile tersiyer metil sinyali (δ_{H} 1,26) arasında gözlenen HMBC etkileşmesi, tersiyer metil grubunun C-8 üzerinde yer aldığını göstermektedir. C-10 ve H-7 (δ_{H} 2,01) rezonansları

arasında gözlenen HMBC etkileşmesi de yukarıdaki görüşü desteklemektedir. Diğer taraftan C-8 ve H₃-10 rezonanslarının kimyasal kayma değerleri, C-8 üzerinde aynı zamanda bir hidroksil grubunun da bulunduğunu işaret etmektedir. Bu durumda, ¹H NMR spektrumunda 2,62 ppm'de gözlenen H-9 sinyalinin *dd* ($J = 10, 1/2, 4$ Hz) şeklinde yarılmış olması C-5 konumunun süstitüe olmadığını işaret etmektedir. H-5'e atfedilen ve 3,00 ppm'de (*dd*, $J = 10, 1/3, 2$ Hz) gözlenen sinyal ve H-9 rezonansının kenetlenme sabiti ($J_{5-9} = 10,1$ Hz $= J_{9-5}$) değerleri de bu değerlendirmeyi desteklemektedir.

DQF-COSY spektrumunda (Spektrum 3), başlıca iki spin sistemi gözlenmiştir. Bunlardan biri, anomerik protondan hareketle belirlenen ve glukozu ait olan protonlardır. Diğeri ise, siklopentan-piran sistemine ait olan spin sistemidir. Bu spin sisteminde, H-1 ile H-9 sinyalleri arasında ¹H, ¹H COSY etkileşimi gözlenmekte; H-9 rezonansı da H-5 sinyali ile yakın-mesafe etkileşimi göstermektedir. Diğer taraftan, H-5 rezonansı H-6 ile; H-6 ise birbirleriyle geminal etkileşme gösteren H₂-7 metilen protonları ile ¹H-¹H korelasyonu gösterdiği belirlenmiştir. Bu değerlendirmeler sonucunda, H-1, H-9, H-5, H-6 ve H₂-7 sinyallerinin aynı spin sisteminde bulunduğu anlaşılmıştır.

H-6 (δ_H 4.06) ve C-6 (δ_C 77,5) rezonanslarının kimyasal kayma değerleri, C-6 üzerinde sekonder bir hidroksil grubunun bulunduğunu göstermektedir. C-6(OH) grubunun konfigürasyonu, ¹³C NMR değerlerinin benzer yapıya sahip C-6(OH) epimer iridoitler ile karşılaştırılması sonucunda β olarak tayin edilmiştir (11, 12). NOESY spektrumunda (Spektrum 6) H-1/H₃-10 ve H-6/H₃-10 arasında görülen nOe etkileşmeleri de H-6 protonunun, molekülün α yüzünde yer aldığını göstererek, yukarıdaki görüşü doğrulamaktadır.

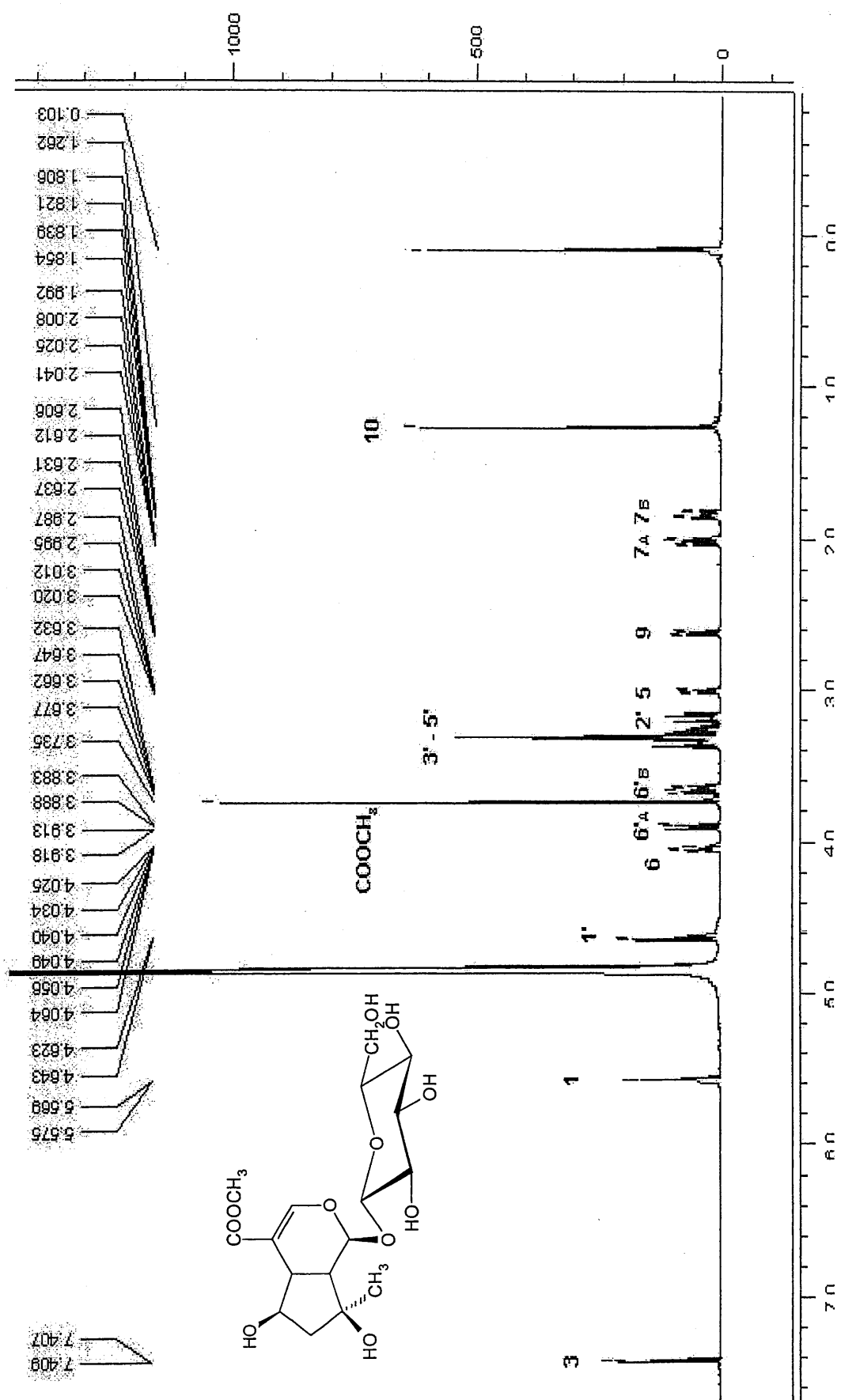
Bileşiğin H-5 ve H-9 protonlarının stereokimyasal konfigürasyonlarının belirlenmesi için yine NOESY analizinden yararlanılmıştır. Buna göre, H-9 ve H₃-10 rezonansları arasında herhangi bir nOe etkileşmesinin gözlenmemiş olması H-9 protonunun β -konfigürasyonuna sahip olduğunu göstermiş; H-5

ve H-9 protonları arasında gözlenen nOe etkileşmesi ile H-5 protonunun da β konfigürasyonuna sahip olduğu anlaşılmıştır.

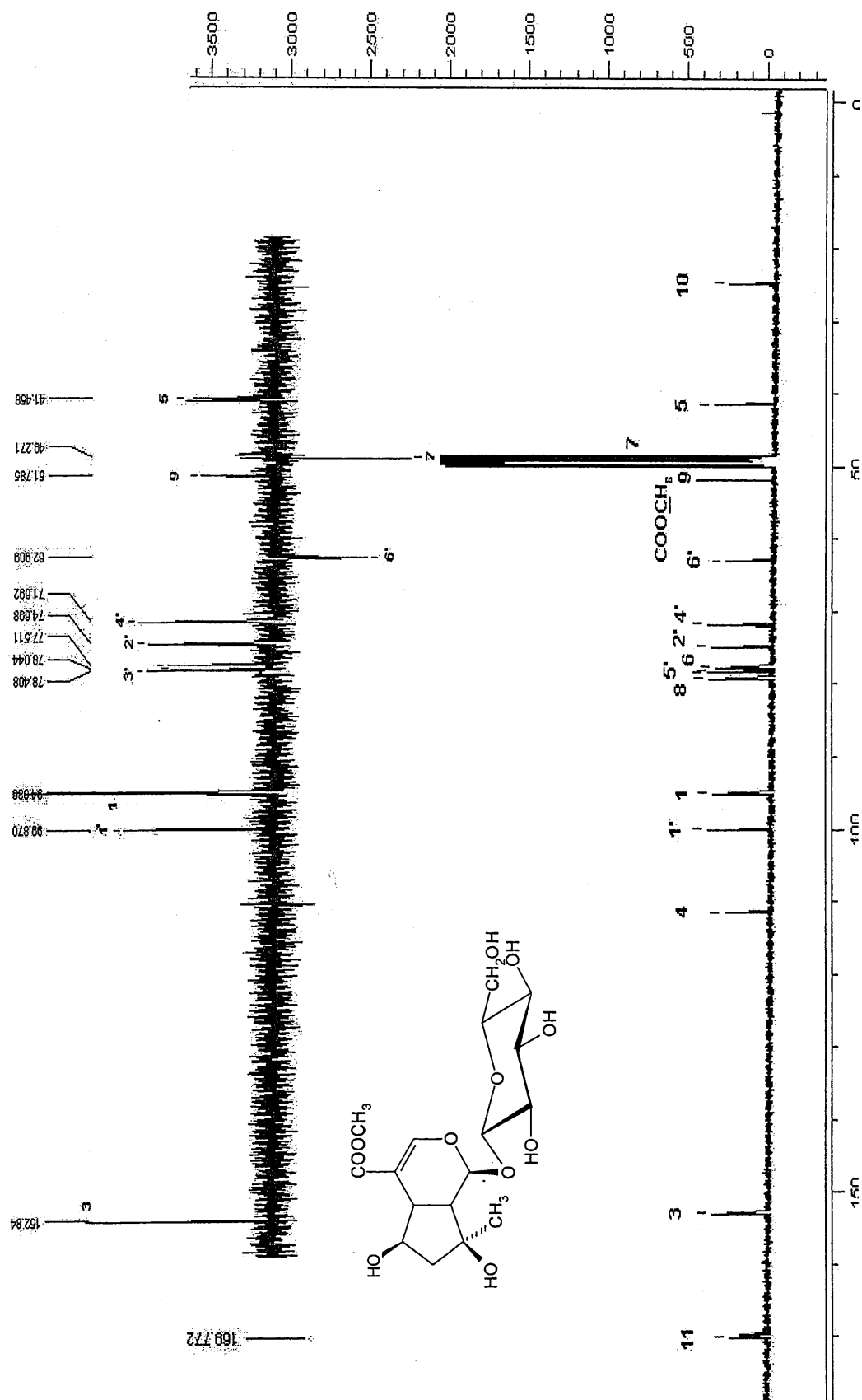
Yukarıdaki bulguların ışığında yapılan değerlendirmelerin ve bileşiğin optik çevirme değerinin literatürdeki verilerle uyuşması sonucunda **LGL-1** bileşiğinin yapısı şanzizit metil ester (2, 68) olarak aydınlatılmıştır.

Tablo 13. Şanzizit metil ester (LGL-1) bileşiğinin ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) ve ^1H (400 MHz, CD_3OD) NMR spektroskopik değerleri ve HMBC etkileşimleri.

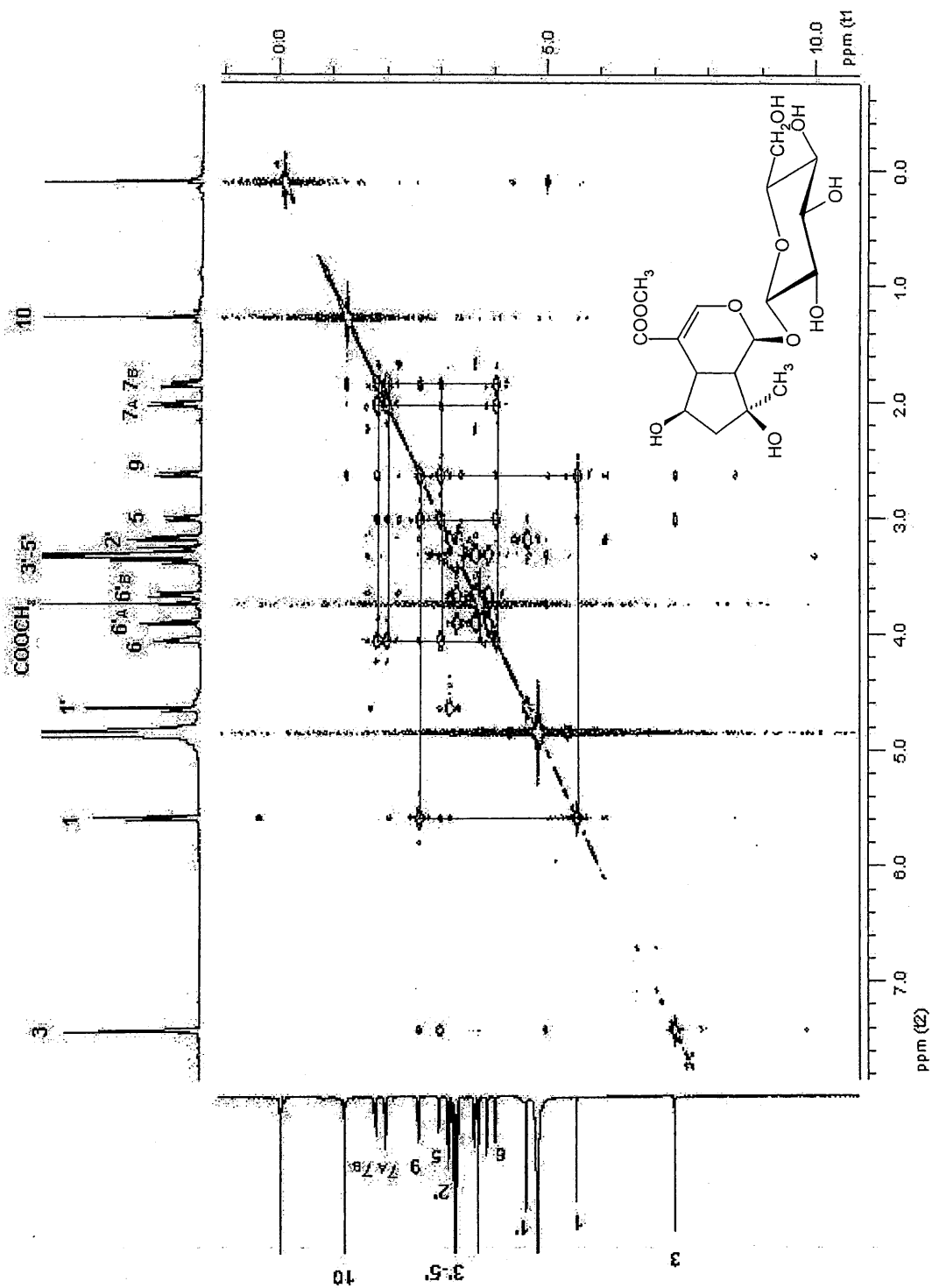
C/H	DEPT	δ_{C}	δ_{H}	J (Hz)	HMBC (C→H)
Aglikon					
1	CH	94,8	5,57 <i>d</i>	(2,4)	H-3
3	CH	152,8	7,41 <i>s</i>		H-1
4	C	111,5			H-3, H-6
5	CH	41,5	3,00 <i>dd</i>	(10,1/3,2)	H-1, H-3, H-7, H-9
6	CH	77,5	4,06 <i>ddd</i>	(6,4/6,0/3,2)	H-5, H-7
7	CH ₂	49,2	2,01 <i>dd</i> 1,83 <i>dd</i>	(13,2/6,4) (13,2/6,0)	
8	C	79,1			H-7, H-9, H ₃ -10
9	CH	51,8	2,62 <i>dd</i>	(10,1/2,4)	H ₃ -10
10	CH ₃	24,7	1,26 <i>s</i>		H-7
11	C	169,7			H-3
COOCH ₃	CH ₃	51,9	3,73 <i>s</i>		
Glukoz					
1'	CH	99,8	4,63 <i>d</i>	(8,0)	H-1, H-2'
2'	CH	74,7	3,17 <i>dd</i>	(8,8/8,0)	H-3'
3'	CH	78,4	3,36 <i>t</i>	(8,8)	H-2', H-4'
4'	CH	71,7	3,26 <i>dd</i>	(8,8,/8,7)	H-3'
5'	CH	78,1	3,32 <i>m</i>		H-4'
6'	CH ₂	62,9	3,89 <i>dd</i> 3,65 <i>dd</i>	(11,9/2,2) (11,9/6,0)	H-5'



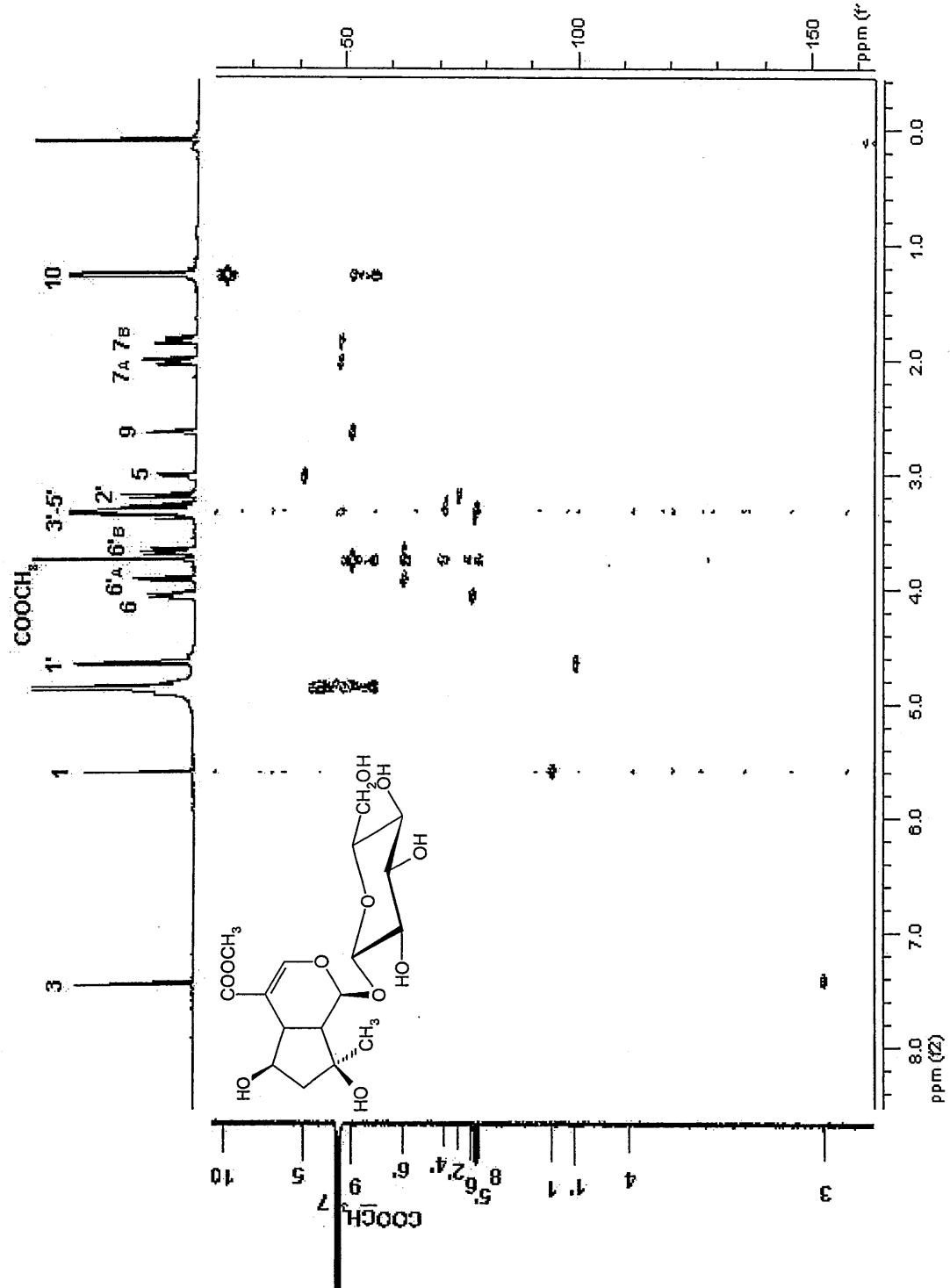
Spektrum 1. Şanzizit metil ester (LGL-1)'in ^1H NMR Spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)



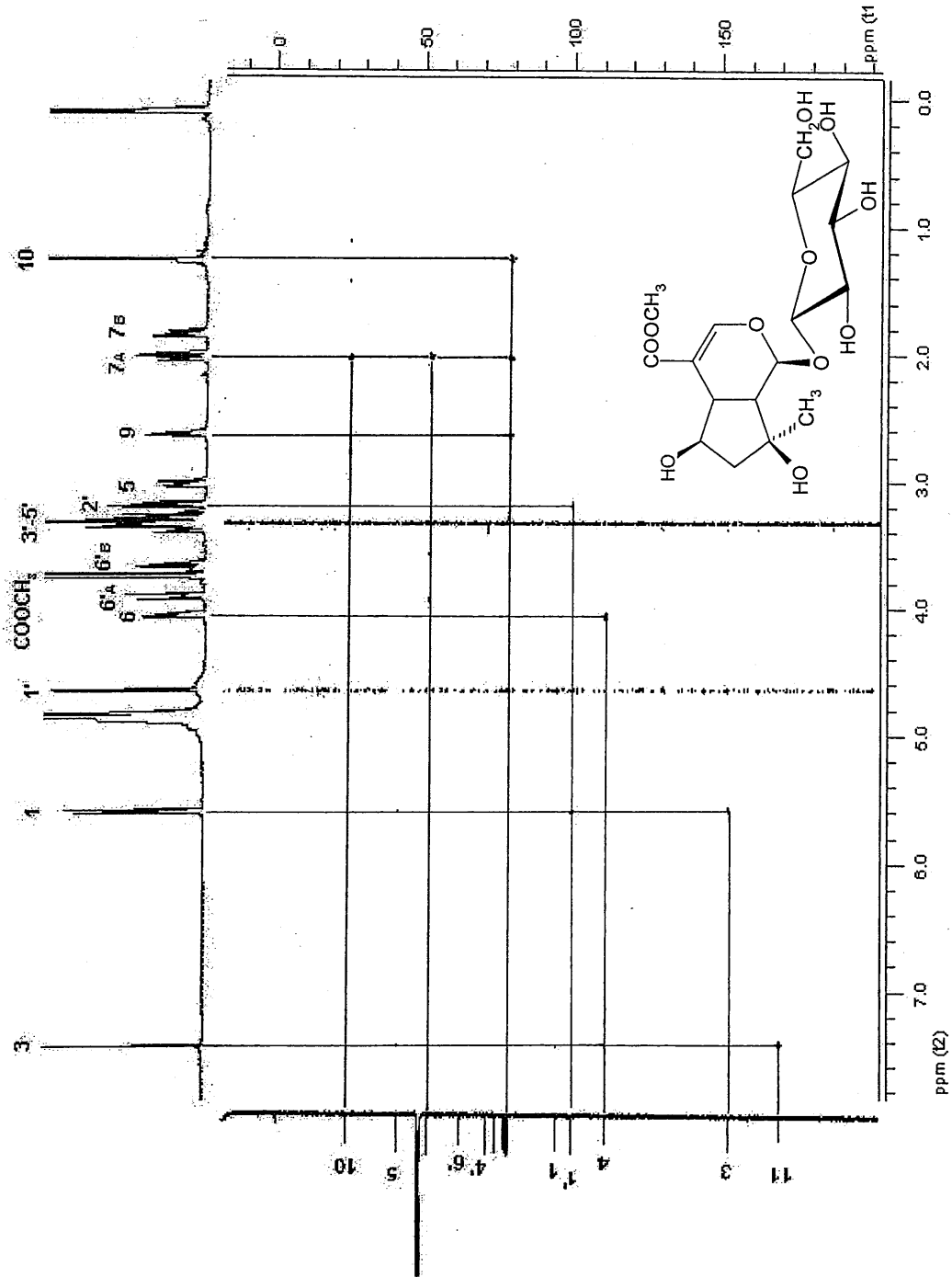
Spektrum 2. Şanzizit metil ester (LGL-1)' in DEPT-135 ve ¹³C NMR Spektrumları (CD₃OD, 100 MHz)



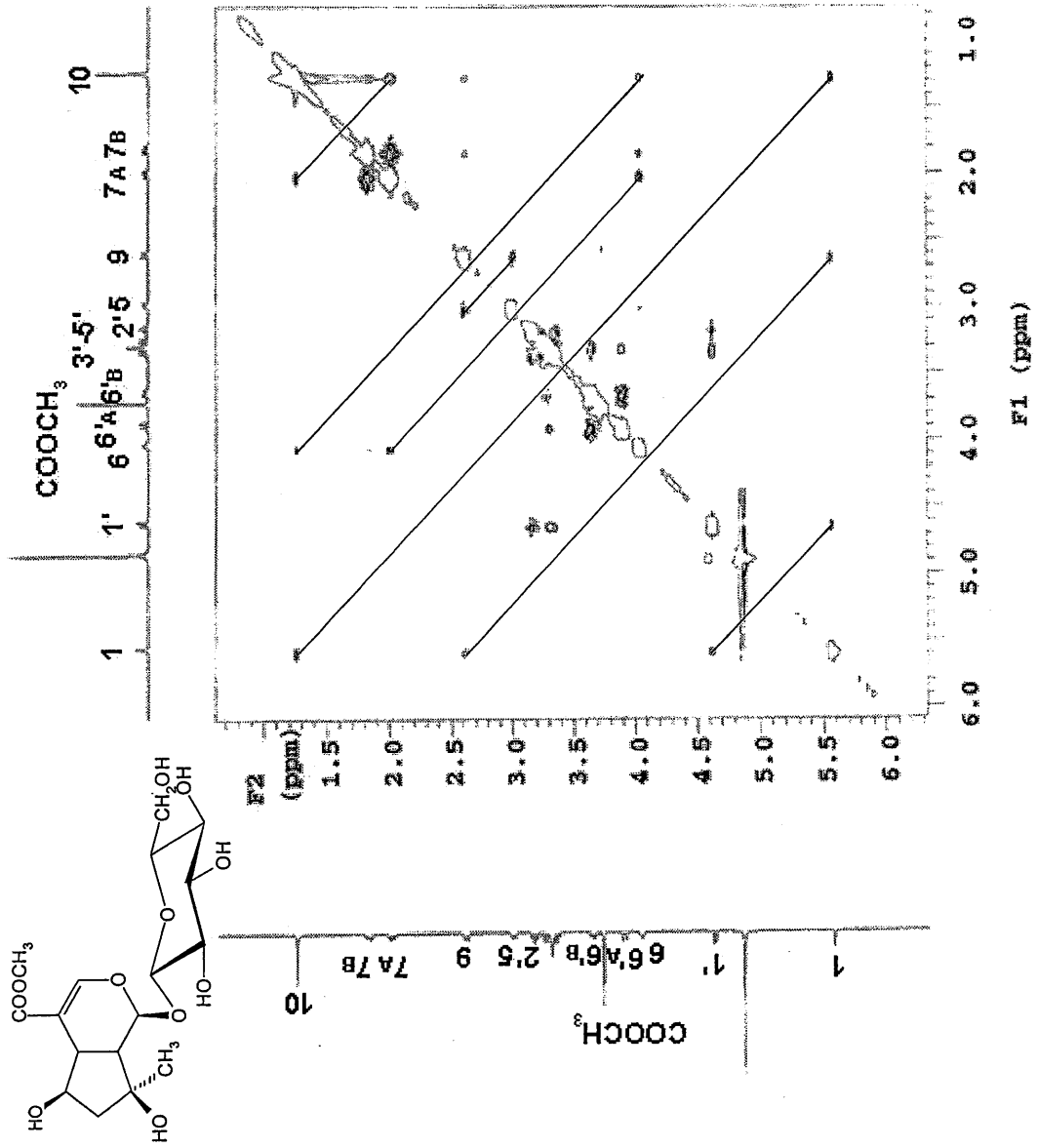
Spektrum 3. Şanzizit metil ester (LGL-1)' in 2D ^1H , ^1H -Homonükleer Korelasyonlu Spektrumu (DQF-COSY)



Spektrum 4. Şanzit metil ester (LGL-1)' in 2D ^1H , ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) Spektrumu (HMQC)

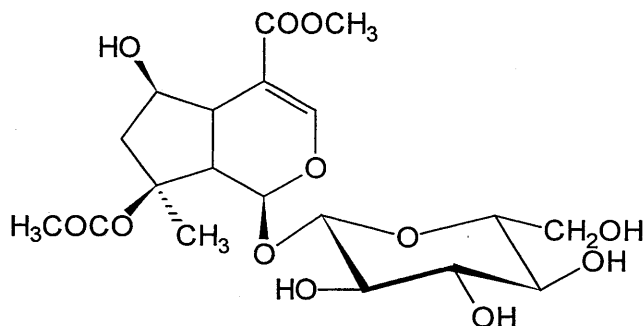


Spektrum 5. Şanzizit metil ester (LGL-1)' in 2D ^1H , ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) Spektrumu (HMBC)



Spektrum 6. Şanzit metil ester (LGL-1)'in 2D nOe Korelasyonlu Spektrumu (NOESY)

8-O-Asetilşanzizit metil ester (LGL-2)



C₁₉H₂₈O₁₂ (Mol. Ağı. 448)

UV $\lambda_{\text{maks.}}$ (MeOH) nm	IR $\nu_{\text{maks.}}$ (% 1 KBr) cm^{-1}	$[\alpha]_{\text{D}}^{33}$
234	3400 (OH), 1700 (C=O), 1633 (C=C)	- 79° (c 0,1; MeOH)

¹H NMR Spektrumu (CD₃OD, 400 MHz) : Spektrum 7, Tablo 14

DEPT-135 ve ¹³C NMR Spektrumları (CD₃OD, 100 MHz) : Spektrum 8, Tablo 14

2D ¹H, ¹H-Homonükleer Korelasyonlu Spektrumu (DQF-COSY) : Spektrum 9

2D ¹H, ¹³C-Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) Spektrumu (HSQC) : Spektrum 10

2D ¹H, ¹³C-Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) Spektrumu (HMBC) : Spektrum 11, Tablo 14

2D nOe Korelasyonlu Spektrumu (NOESY) : Spektrum 12

8-O-Asetilşanzizit metil ester (LGL-2)

LGL-2 bileşiği beyaz renkli, amorf bir toz şeklinde elde edilmiştir. İTK analizinde bileşiğe ait leke, vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile zamanla koyulaşan pembe-mor bir renk almıştır (Şekil 2). Bileşiğin UV spektrumunda 234 nm'de gözlenen maksimum α,β -doymamış karbonil grubu taşıyan bir iridoit varlığını desteklemektedir. IR spektrumunda da hidroksil (3400 cm⁻¹), ester karbonili (1700 cm⁻¹) ve konjuge enol-eter fonksiyonuna (1633 cm⁻¹) ait absorpsiyon bantları gözlenmiştir.

ESI-MS spektrumunda m/z 471'de gözlenen [M+Na]⁺ pozitif iyon piki ve ¹³C NMR spektrumunda yer alan 19 karbon rezonansı (Spektrum 8; Tablo 14) yardımıyla, bileşiğin kapalı formülü C₁₉H₂₈O₁₂ olarak hesaplanmıştır.

Bileşiğin yapısında yer alan diğer proton ve karbon rezonanslarının yorumlanmalarında 2D NMR (DEPT, DQF-COSY, HSQC, HMBC ve NOESY) analizlerinden yararlanılmıştır.

LGL-2 bileşiğinin ¹H NMR spektrumunda (Spektrum 7; Tablo 14) gözlenen metoksikarbonil grubu ile konjuge olmuş bir enol-eter sistemine ait proton sinyallerinin yanında (δ_H 7,46, s, H-3; δ_H 3,74, s, COOCH₃), bir oksimetin (δ_H 4,34, m, H-6), bir metilen (δ_H 2,22, d, J = 14,9 Hz, H-7 _{α} ; 2,06, dd, J = 14,9/5,4 Hz, H-7 _{β}) ve bir tersiyer metil (δ_H 1,53, s, H₃-10) grubuna ait proton sinyalleri ile 4,65 (1H, d, J = 7,9 Hz, H-1') ppm'de gözlenen anomerik proton rezonansı, şanzizit metil ester (**LGL-1**)'in spektroskopik değerleri ile büyük benzerlik göstermektedir. ¹H NMR spektrumunda, ilave olarak ayrıca bir asetoksi (δ_H 2,03, s, 3H) grubuna atfedilen proton sinyali gözlenmiştir.

LGL-2 bileşiğinin anomerik proton sinyali HSQC (Spektrum 10) analizinde δ_C 100,4 karbon rezonansı ile eşleşmektedir. Oz ünitesine ait proton ve karbon rezonanslarının yorumlanması sonucunda yapıda bir β -glukopiranoz ünitesinin varolduğu anlaşılmıştır. HMBC (Spektrum 11, Tablo 14) analizinde C-1/H-1' ve C-1'/H-1 arasında gözlenen uzak-mesafe etkileşimleri β -glukopiranoz ünitesinin iridoit aglikonunun C-1 konumundan bağlandığını göstermektedir. C-8 (δ_C 89.8) ile H₃-10 (δ_H 1,53) rezonansları arasında gözlenen HMBC etkileşmesi (Spektrum 11) ile tersiyer metil

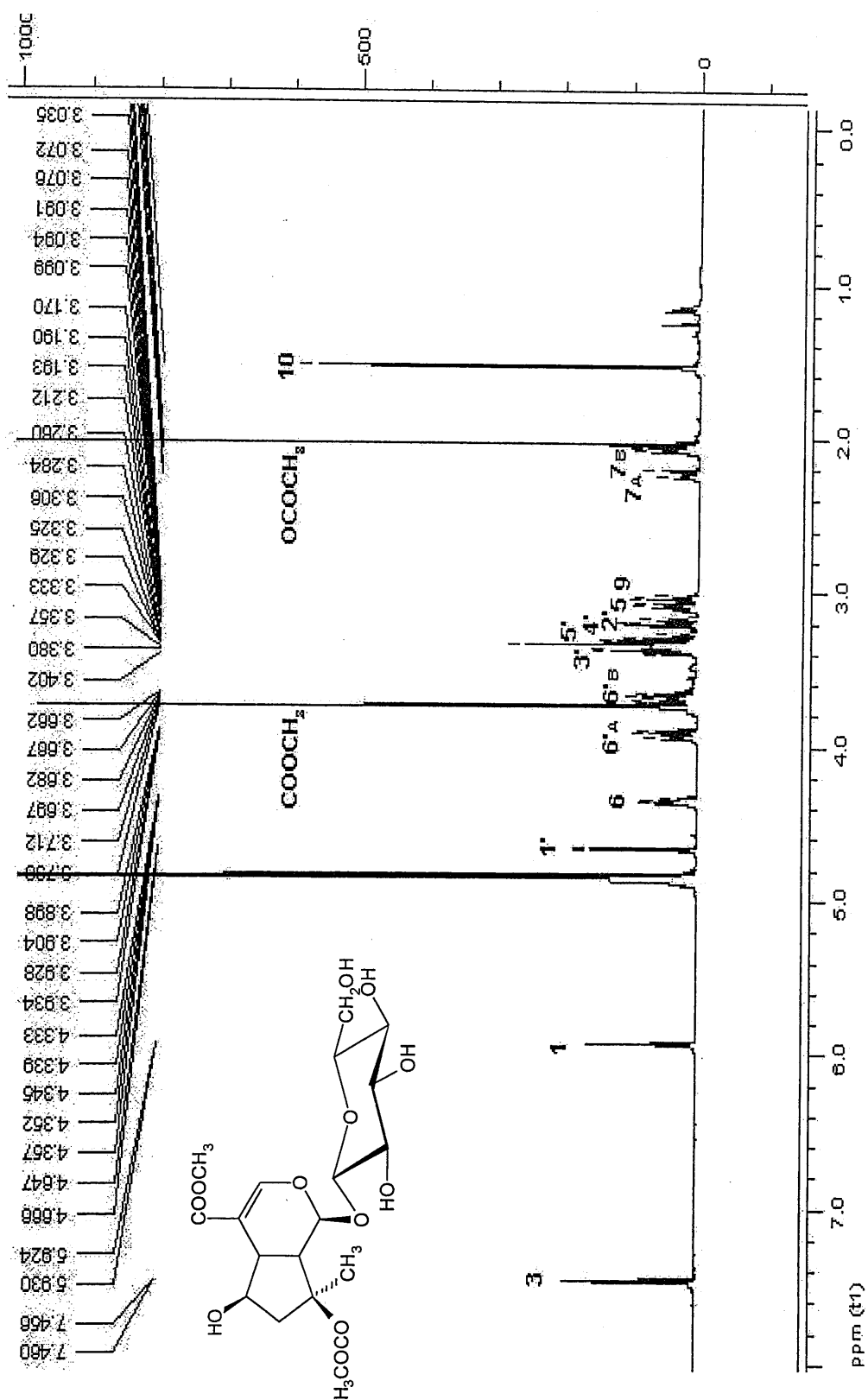
grubunun yine C-8 üzerinde yer aldığı anlaşılmıştır. Her iki rezonansın kimyasal kayma değerleri, C-8 üzerinde oksijenli bir sübstitüsyonun daha bulunduğunu işaret etmektedir. Bu nedenle ^1H NMR spektrumunda H-9 (δ_{H} 3,01, *dd*, $J = 8,9/2,2$ Hz) rezonansının *dd* şeklinde gözlenmesi, C-5 konumunun serbest olduğu şeklinde yorumlanmıştır. DQF-COSY (Spektrum 9) analizinde H-9 ve H-5 (δ_{H} 3,08, *dd*, $J = 8,9/1,4$ Hz) rezonansının aynı spin sistemi içinde gözlenmesinin yanı sıra her iki protonun kenetlenme sabiti değerleri de bu görüşü desteklemiştir. DQF-COSY analizinde H-5, H-6 ve H₂-7 protonlarının da aynı spin sistemi içinde yer aldıkları görülmektedir. C-6 (δ_{C} 76,0) konumunda yer alan sekonder hidroksil grubunun konfigürasyonu, benzer yapıya sahip C-6(OH) epimer iridoitler ile yapılan karşılaştırmalar sonucunda β olarak yorumlanmıştır (11, 12). NOESY analizinde (Spektrum 12) H-5 ve H-6 rezonansları arasında herhangi bir *nOe* etkileşmesinin gözlenmemiş olması da bu görüşü desteklemiştir.

^{13}C NMR spektrumunda 22,3 ppm'de gözlenen karbon rezonansı, HSQC (Spektrum 10) analizinde 2,03 ppm'de 3 proton şiddetinde *singlet* şeklinde gözlenen sinyal ile korelasyon göstermiştir. Diğer taraftan, HMBC spektrumunda (Spektrum 11) 173,1 ppm'de gözlenen karbonil rezonansının, 2,03 ppm'de gözlenen sinyal ile uzak-mesafe $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ heteronükleer korelasyon göstermesi, **LGL-2** bileşiğinin yapısında bir asetoksi grubunun varlığı şeklinde yorumlanmıştır. C-8 karbonunun kimyasal kayma değerinin **LGL-1** bileşiğine göre dikkate değer bir şekilde düşük alana kaymış (+10,7 ppm) olması, bu asetoksi grubunun C-8 konumunda yer alan tersiyer hidroksil grubu üzerinde bulunduğunu düşündürmüştür. Bu değerlendirme, H₃-10, H₂-7 (δ_{H} 2.22, *d*, $J = 14,9$ Hz, H-7 $_{\alpha}$ ve 2.06, *dd*, $J = 14,9/5,4$ Hz, H-7 $_{\beta}$) ve H-9 (δ_{H} 3,01, *dd*, $J = 8,9/2,2$ Hz) sinyallerinin kimyasal kayma değerlerinin düşük alana doğru kaymış olması ve C-10/OCOCH₃ rezonansları arasında gözlenen HMBC etkileşimi ile doğrulanmıştır.

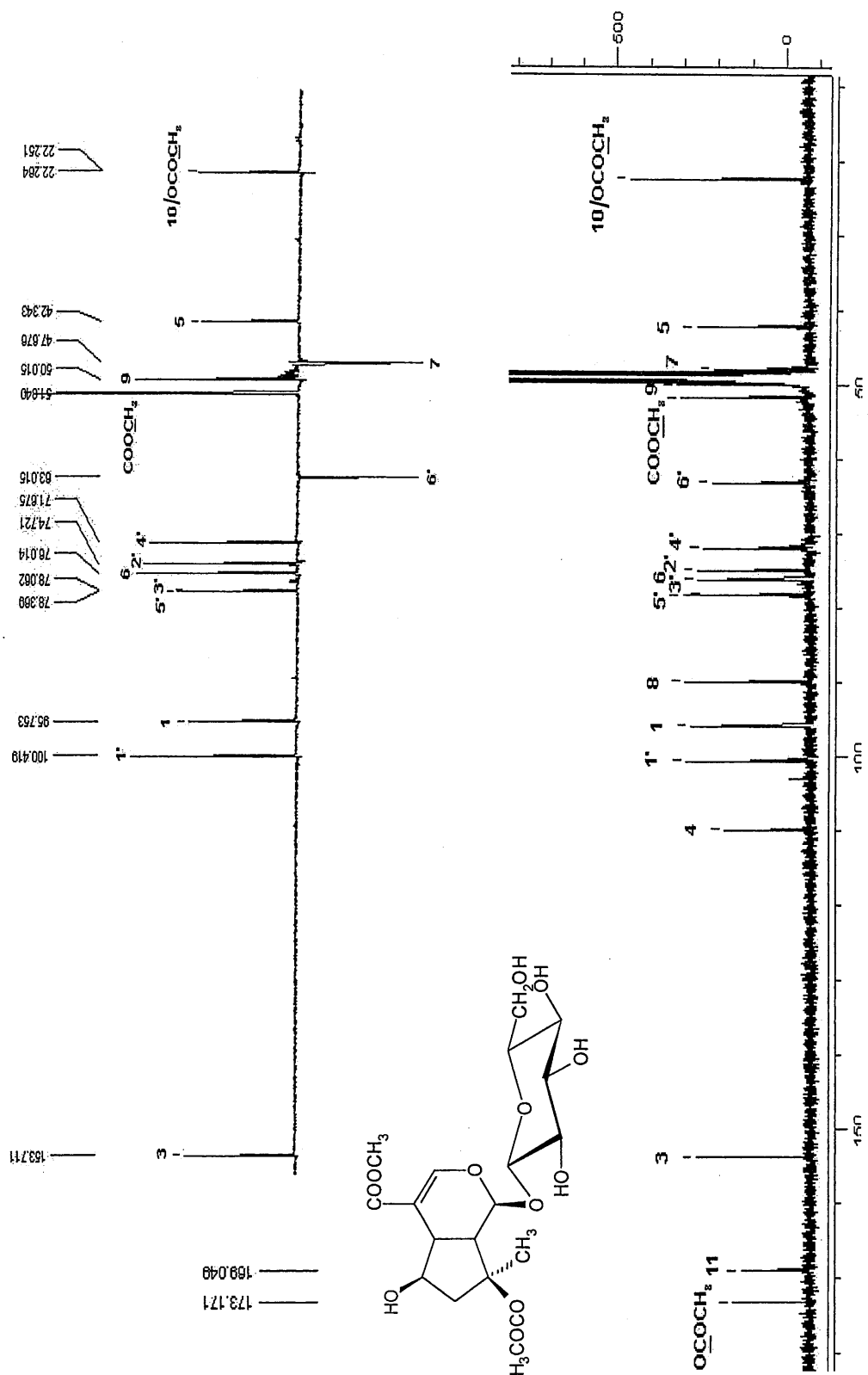
1D ve 2D NMR spektroskopik bulgularının ışığında yapılan çözümler ve bileşiğin NMR verilerinin literatürdeki verilerle uyuşması ile **LGL-2** bileşiğinin 8-O-asetilşanzizit metil ester (= barlerin) (20, 46, 68) yapısı gösterdiği anlaşılmıştır.

Tablo 14. 8-O-Asetilşanzizit metil ester (**LGL-2**) bileşiğinin ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) ve ^1H (400 MHz, CD_3OD) NMR spektroskopik değerleri ve HMBC etkileşimleri.

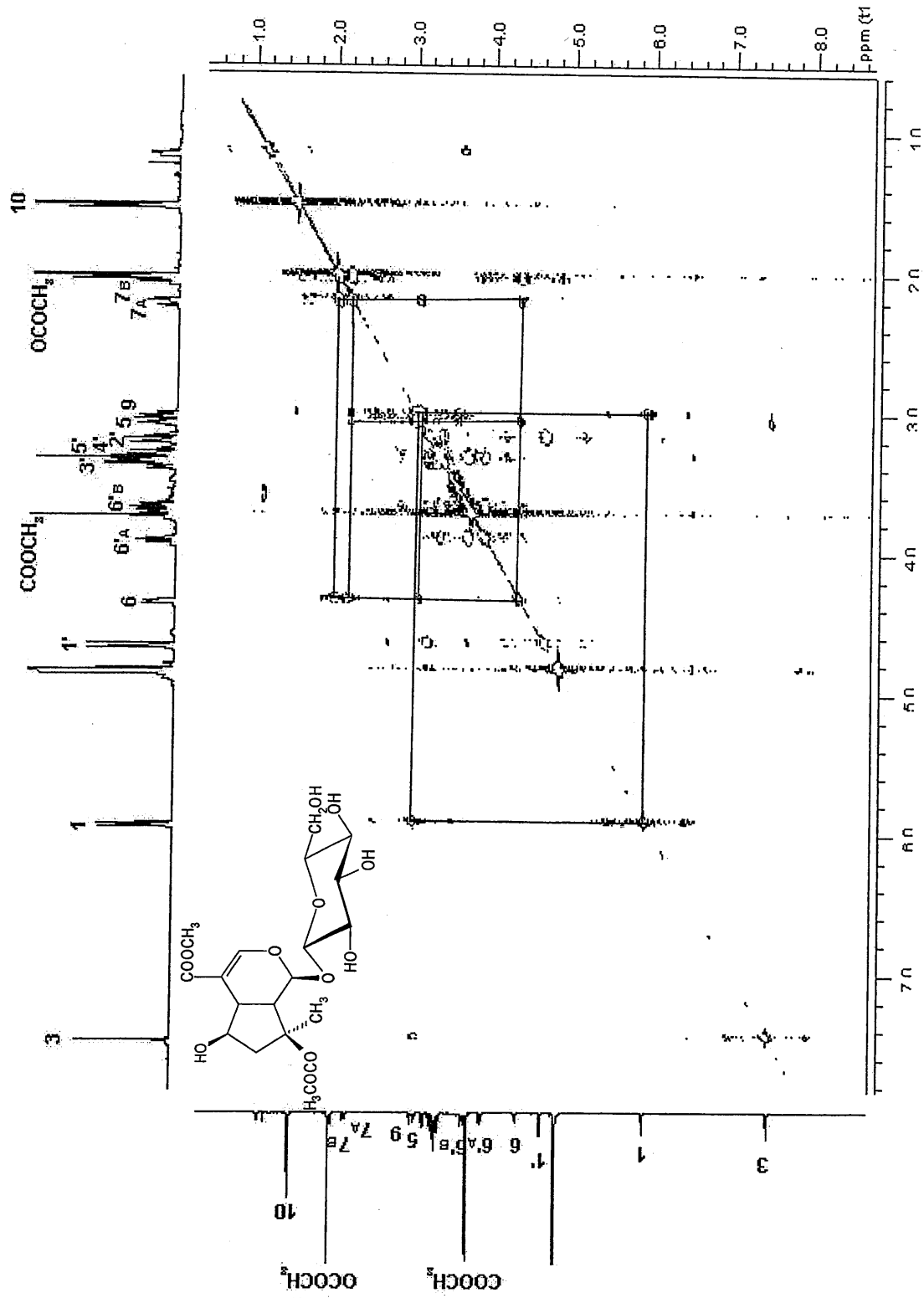
C/H	DEPT	δ_{C}	δ_{H}	J (Hz)	HMBC (C→H)
Aglikon					
1	CH	95,7	5,92 <i>d</i>	(2,4)	H-3, H-9, H-1'
3	CH	153,7	7,46 <i>d</i>	(1,4)	H-1, H-5
4	C	109,8			H-3, H-5, H-9
5	CH	42,3	3,08 <i>dd</i>	(8,9/1,4)	H-1, H-3, H-7, H-9
6	CH	76,0	4,34 <i>m</i>		H-5, H-7
7	CH ₂	47,7	2,22 <i>d</i>	(14,9)	
			2,06 <i>dd</i>	(14,9/5,4)	
8	C	89,8			H-5, H-7, H-9, H ₃ -10
9	CH	50,0	3,01 <i>dd</i>	(8,9/2,2)	H ₃ -10
10	CH ₃	22,0	1,53 <i>s</i>		H-7, OCOCH ₃
11	C	168,3			H-3, COOCH ₃
OCOCH ₃	C	173,1			
OCOCH ₃	CH ₃	22,3	2,03 <i>s</i>		
COOCH ₃	CH ₃	51,8	3,74 <i>s</i>		
Glukoz					
1'	CH	100,4	4,65 <i>d</i>	(7,9)	H-1, H-2'
2'	CH	74,7	3,19 <i>dd</i>	(8,8/7,9)	H-3'
3'	CH	78,1	3,38 <i>t</i>	(8,8)	H-2', H-4'
4'	CH	71,7	3,29 <i>dd</i>	(8,6/8,8)	H-3'
5'	CH	78,4	3,31 <i>m</i>		H-4', H _A -6'
6'	CH ₂	63,0	3,93 <i>dd</i>	(12,0/2,1)	H-5'
			3,67 <i>dd</i>	(12,0/6,1)	



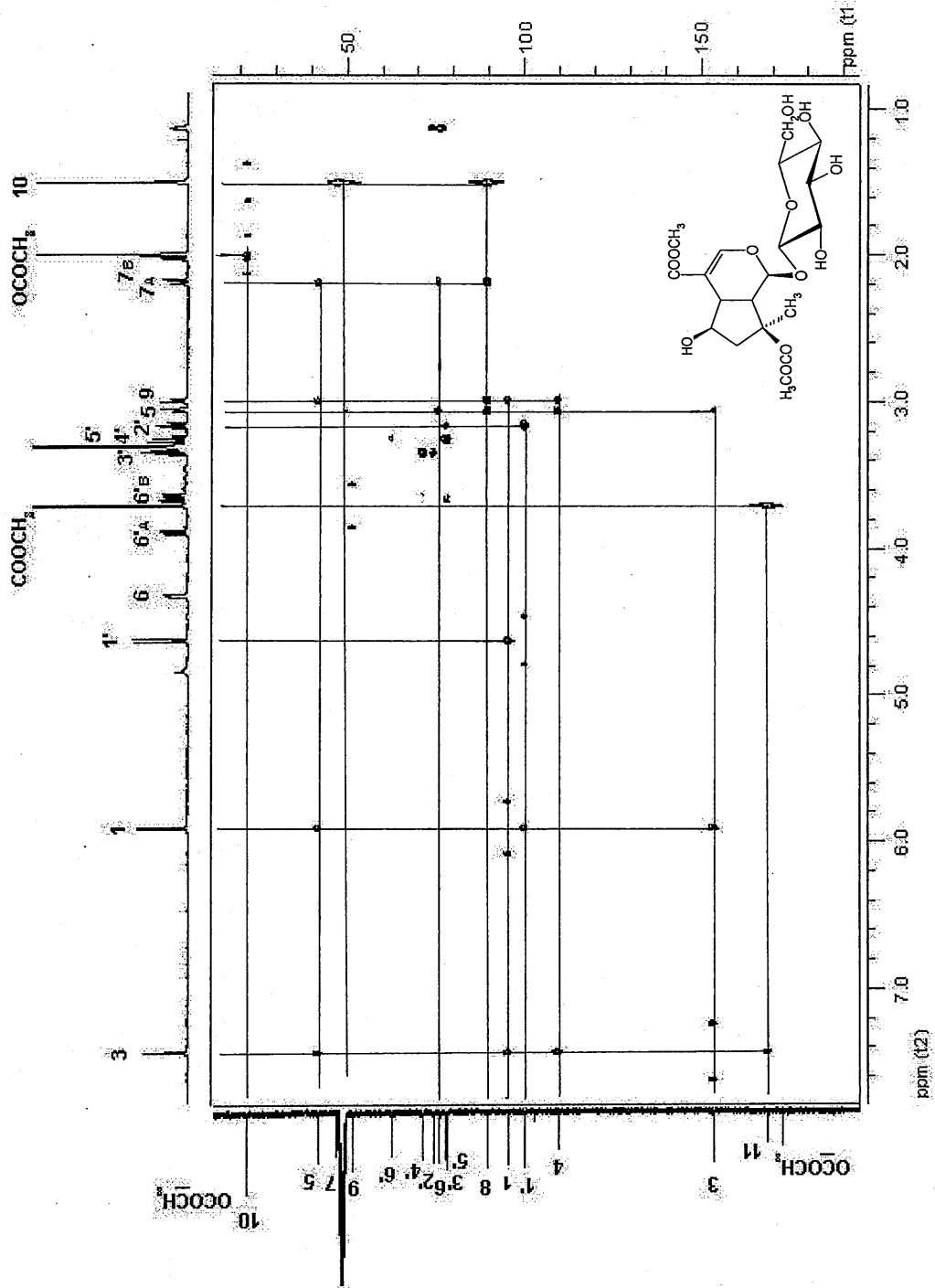
Spektrum 7. 8-O-Asetilşanzizit metil ester (LGL-2)'in ^1H NMR Spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)



Spektrum 8. 8-O-Asefilşanzizit metil ester (LGL-2)'in DEPT-135 ve ^{13}C NMR Spektrumları (CD_3OD , 100 MHz)

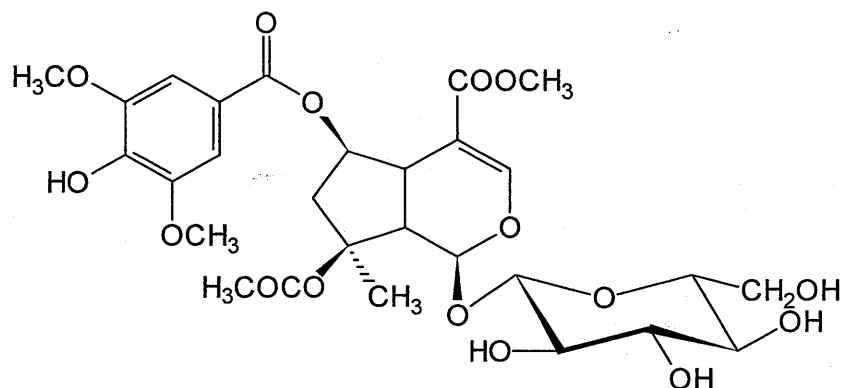


Spektrum 9. 8-O-Asetilşanzizit metil ester (LGL-2)'in 2D ^1H , ^1H -Homonükleer Korelasyonlu Spektrumu (DQF-COSY)



Spektrum 11. 8-O-Asetilşanzizit metil ester (LGL-2)'in 2D ^1H , ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) Spektrumu (HMBC)

6-O-Siringil-8-O-asetilşanzizit metil ester (LGL-3)



C₂₈H₃₆O₁₆ (Mol. Ağı. 628)

UV $\lambda_{\text{maks.}}$ (MeOH) nm	IR $\nu_{\text{maks.}}$ (% 1 KBr) cm^{-1}	$[\alpha]^{33}_{\text{D}}$
214, 278	3440 (OH), 1710 (C=O), 1637 (C=C), 1613, 1516 (aromatik halka)	- 62° (c 0,1; MeOH)

¹ H NMR Spektrumu (CD ₃ OD, 400 MHz)	: Spektrum 13, Tablo 15
DEPT-135 ve ¹³ C NMR Spektrumları (CD ₃ OD, 100 MHz)	: Spektrum 14, Tablo 15
2D ¹ H, ¹ H-Homonükleer Korelasyonlu Spektrumu (DQF-COSY)	: Spektrum 15
2D ¹ H, ¹³ C-Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) Spektrumu (HMQC)	: Spektrum 16
2D ¹ H, ¹³ C-Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) Spektrumu (HMBC)	: Spektrum 17, Tablo 15
2D nOe Korelasyonlu Spektrumu (NOESY)	: Spektrum 18

6-O-Siringil-8-O-asetilşanzizit metil ester (LGL-3)

LGL-3 bileşiği beyaz renkli, amorf bir toz şeklinde elde edilmiştir. İTK analizinde vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile bileşiğe ait leke pembe-mor bir renk almıştır (Şekil 2).

Değerlendirilen UV (λ_{maks} . 214, 278 nm) ve IR (3440, 1710, 1637, 1613, 1516 cm⁻¹) spektroskopik verileri, **LGL-3** bileşiğinin C-4 metoksikarbonil sübstitüe bir iridoit bileşiği yapısında olabileceğini düşündürmüştür.

Bileşiğin kapalı formülü, ESI-MS spektrumunda gözlenen pozitif iyon (m/z 651 [M+Na]⁺) piki ve ¹³C NMR (Spektrum 14; Tablo 15) spektrumunda gözlenen 28 karbon rezonansı yardımıyla C₂₈H₃₆O₁₆ olarak hesaplanmıştır.

LGL-3 bileşiğinin ¹H NMR spektrumunda (Spektrum 13, Tablo 15), metoksikarbonil grubu ile konjuge olmuş bir enol-eter sistemine ait proton rezonansları (δ_H 7,55, s, H-3; δ_H 3,69, s, COOCH₃), 5,49 ppm'de gözlenen oksimetin (*gd*, H-6), 2,50 ve 2,23 ppm'de gözlenen metilen (*d*, J = 14,9 Hz, H-7 _{α} ; *dd*, J = 14,9/5,4 Hz, H-7 _{β}) ve 1,61 ppm'de gözlenen tersiyer metil (s, H₃-10) gruplarına ait proton sinyalleri ile bir asetoksi (δ_H 1,91, s) ve bir anomerik protona (δ_H 4,71, 1H, *d*, J = 7,8 Hz, H-1') ait sinyaller gözlenmiştir. **LGL-3** bileşiğinin ¹H ve ¹³C NMR spektroskopik verilerinin 8-O-asetilşanzizit metil ester (**LGL-2**) bileşiğinin NMR rezonansları ile büyük bir uyum gösterdiği ve ek olarak tetrasübstitüe bir aromatik asit ünitesine ait proton ve karbon rezonanslarının yer aldığı anlaşılmıştır.

Bileşiğin ¹H ve ¹³C NMR spektrumlarında yer alan oz sinyallerinin incelenmesinden yapıda bir β -glukopiranoz ünitesinin yer aldığı anlaşılmıştır. HMBC spektrumunda (Spektrum 17, Tablo 15) C-1/H-1' arasında gözlenen HMBC etkileşmesi, glukopiranoz ünitesinin, aglikonun C-1 konumundan bağlandığını göstermektedir.

Bileşiğin diğer proton ve karbon rezonanslarının çözümü için 2D NMR (DQF-COSY, HMQC, HMBC ve NOESY) analizlerinden yararlanılmıştır.

DQF-COSY (Spektrum 15) analizinde ise H-1 (δ_H 5,91), H-9 (δ_H 1,91), H-5 (δ_H 3,46) ve H-6 rezonanslarının birbirleri ile yakın mesafe etkileşimi

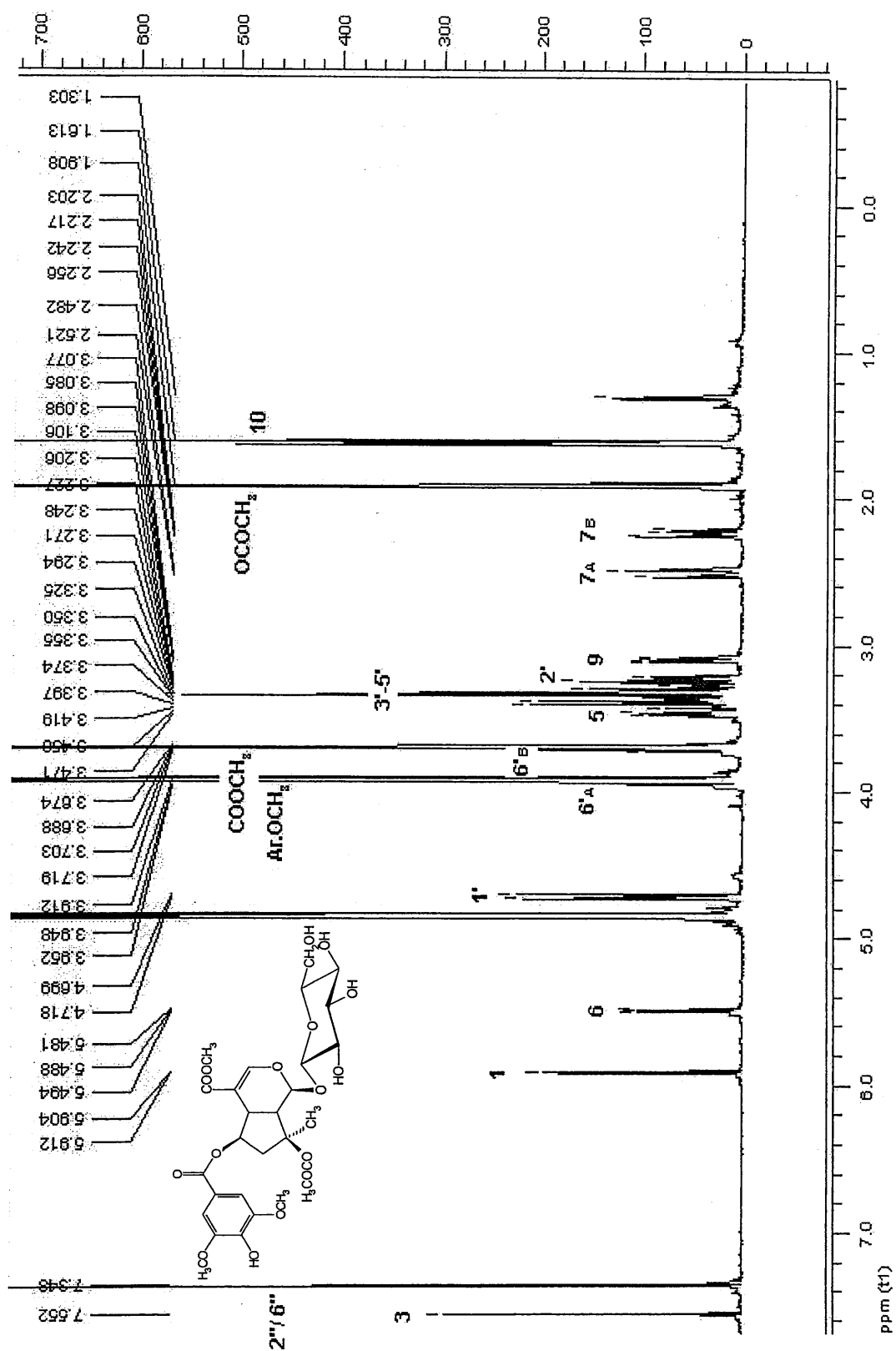
gösterdikleri; H-6 rezonansının da, birbirleri ile geminal etkileşme gösteren H₂-7 metilen protonları ile homonükleer yakın mesafe etkileşmesi gösterdiği belirlenmiştir. C-6 (δ_C 79,6) karbonunun kimyasal kayma değerinden bu konumda bir sekonder hidroksil grubunun yer aldığı anlaşılmıştır. C-6(OH) grubunun konfigürasyonu, bundan önceki iki bileşikte olduğu gibi yine ¹³C NMR değerlerinin benzer yapı taşıyan C-6(OH) epimer iridoitler ile karşılaştırılması sonucunda β olarak yorumlanmıştır (11, 12). NOESY analizinde (Spektrum 18) H-5 ve H-6 rezonanslarının arasında herhangi bir nOe etkileşmesinin gözlenmemesi de bu değerlendirmeyi desteklemiştir.

LGL-3 bileşiğinin ¹H NMR spektrumunda 7,35 ppm'de 2H değerinde bir *singlet* şeklinde gözlenen proton rezonansı, aromatik halkanın H-2" ve H-6" protonlarına atfedilmiştir. 3,89 ppm'de gözlenen 6H şiddetindeki metoksi (s) sinyali aromatik halkanın C-3" (δ_C 149,0) ve C-5" (δ_C 149,0) karbonları ile HMBC etkileşmesi göstermektedir. H-2" ve H-6" rezonansları ile HMBC etkileşmesi gösteren C-4" (δ_C 142,4) rezonansının kimyasal kayma değeri, bu konumda oksijenli bir sübstitüent bulunduğunu işaret etmektedir. Bu değerlendirmelerin ışığında, **LGL-3** bileşiğinin yapısında bir siringil ünitesinin yer aldığı düşünülmüştür. **LGL-3** bileşiğinin kütlelerinin, 8-O-asetilşanzizit metil ester (**LGL-2**) bileşiğinin kütlelerinden 180 birim daha fazla olması da bu görüşü doğrulamaktadır. **LGL-3** bileşiğinin C-6 (δ_C 79,6) ve H-6 (δ_H 5,49) rezonansları 8-O-asetilşanzizit metil ester (**LGL-2**)'e göre daha düşük alanda (C-6: +3,6 ppm ve H-6: +1,15 ppm) gözlenmiştir. Bunun yanı sıra, 167,4 ppm'de gözlenen karbonil karbon rezonansının siklopentan-piran sisteminin H-6 sinyali ile; ayrıca, H-2" ve H-6" rezonansları ile HMBC etkileşmesi göstermesi, siringil ünitesinin C-6(OH) grubu üzerinden bağlandığını göstermiştir.

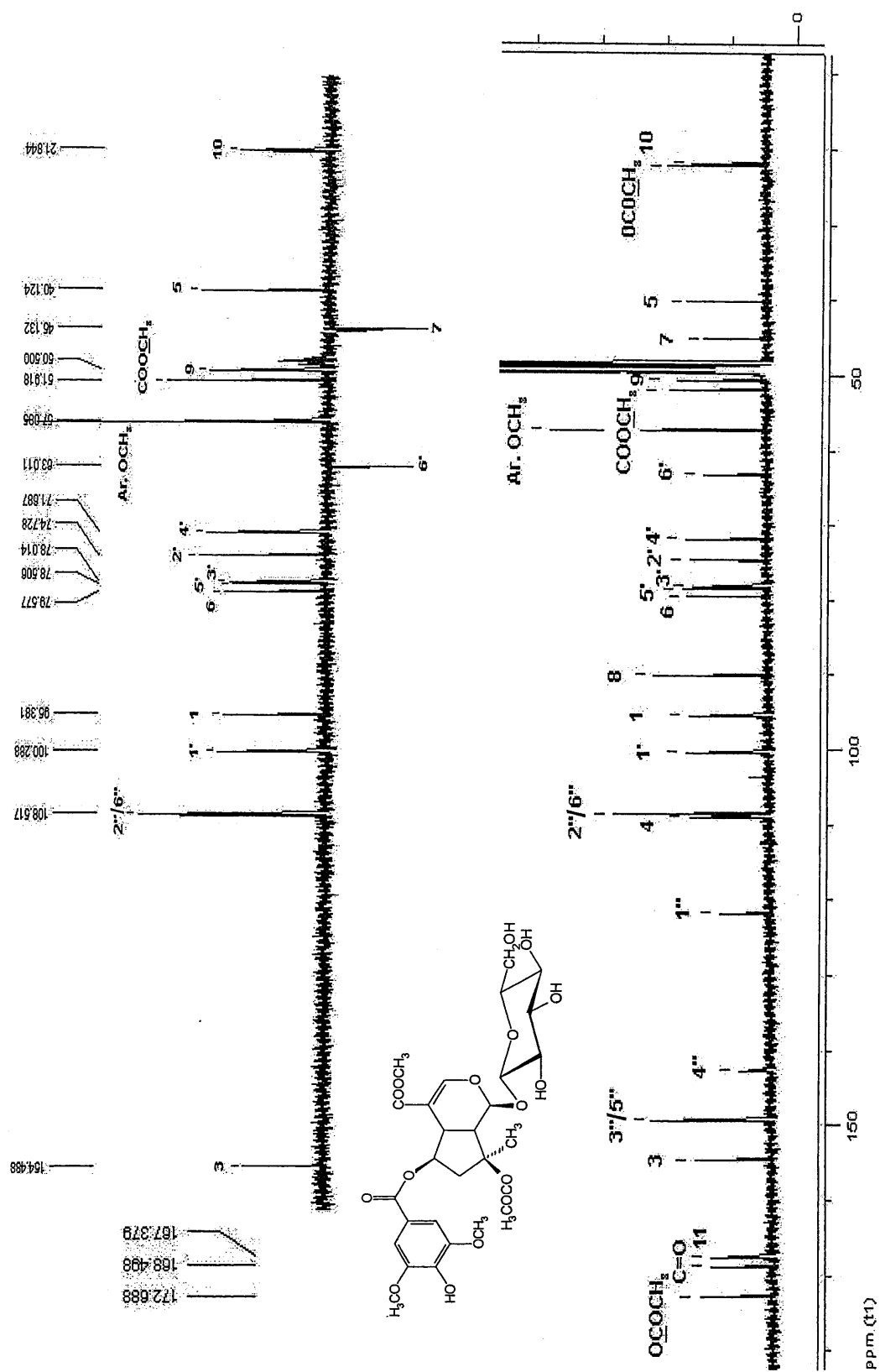
2D NMR analizlerinin yardımıyla yorumlanan ¹H ve ¹³C NMR spektroskopik bulgularının literatürdeki verilerle uyuşması sonucunda, **LGL-3** bileşiğinin yapısı 6-O-siringil-8-O-asetilşanzizit metil ester (55, 56) olarak aydınlatılmıştır.

Tablo 15. 6-O-Siringil-8-O-asetilşanzizit metil ester (**LGL-3**) bileşiğinin ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) ve ^1H (400 MHz, CD_3OD) NMR spektroskopik değerleri ve HMBC etkileşimleri.

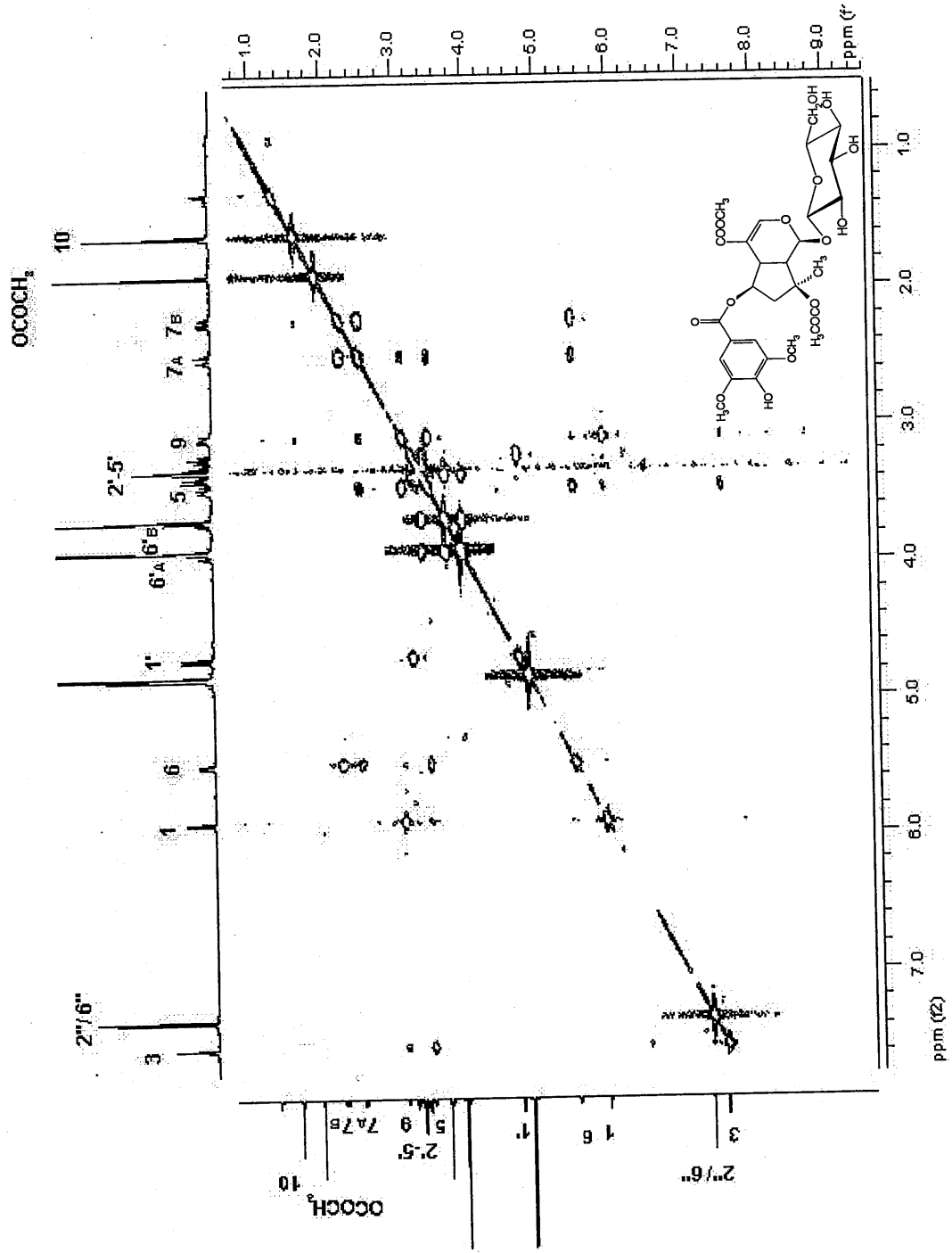
C/H	DEPT	δ_{C}	δ_{H}	J (Hz)	HMBC (C→H)
Aglikon					
1	CH	95,4	5,91 <i>d</i>	(3,4)	H-3, H-1'
3	CH	154,5	7,55 <i>s</i>		
4	C	108,7			
5	CH	40,1	3,46 <i>d</i>	(8,5)	H-3, H-7
6	CH	79,6	5,49 <i>gd</i>	(5,2)	H ₂ -7, H-9
7	CH ₂	45,1	2,50 <i>d</i> 2,23 <i>dd</i>	(15,6) (15,6/5,2)	H-6, H-9, H ₃ -10
8	C	89,2			H-5, H-7, H ₃ -10
9	CH	50,5	3,09 <i>dd</i>	(8,5/3,4)	H-5, H ₃ -10
10	CH ₃	21,8	1,61 <i>s</i>		H-7, H-9
11	C	168,5			
Glukoz					
1'	CH	100,3	4,71 <i>d</i>	(7,8)	H-2'
2'	CH	74,7	3,17 <i>dd</i>	(7,8/8,0)	H-3'
3'	CH	78,0	3,36 <i>t</i>	(8,9)	H-2', H-4'
4'	CH	71,7	3,23 <i>dd</i>	(8,4/8,5)	H-3'
5'	CH	78,5	3,32 <i>m</i>		H-4', H ₂ -6'
6'	CH ₂	63,0	3,90 <i>dd</i> 3,67 <i>dd</i>	(11,9/2,2) (11,9/5,6)	H-5'
Siringil					
1''	C	121,7			H-2'', H-6''
2''	CH	108,5	7,35 <i>s</i>		
3''	C	149,0			Ar. OCH ₃
4''	C	142,4			H-2'', H-6''
5''	C	149,0			Ar. OCH ₃
6''	CH	108,5	7,35 <i>s</i>		
C=O	C	167,4			H-6, H-2'', H-6''
Ar. OCH ₃	CH ₃	57,1	3,89 <i>s</i>		H-2'', H-6''
OCOCH ₃	C	172,7			
OCOCH ₃	CH ₃	22,3	1,91 <i>s</i>		
COOCH ₃	CH ₃	51,9	3,69 <i>s</i>		



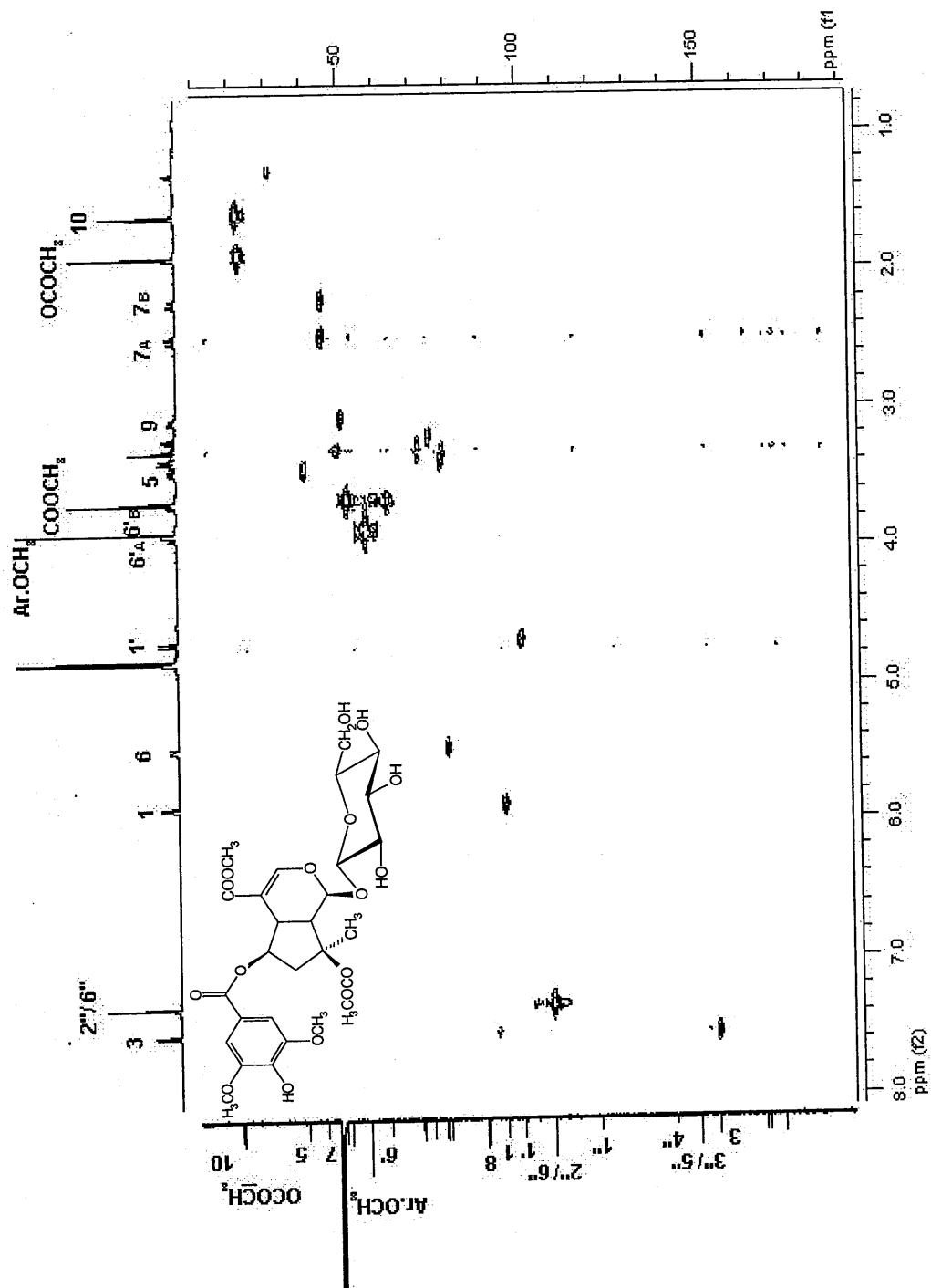
Spektrum 13. 6-O-Siringil 8-O-asetilsanzit metil ester (LGL-3)'in ^1H NMR Spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)

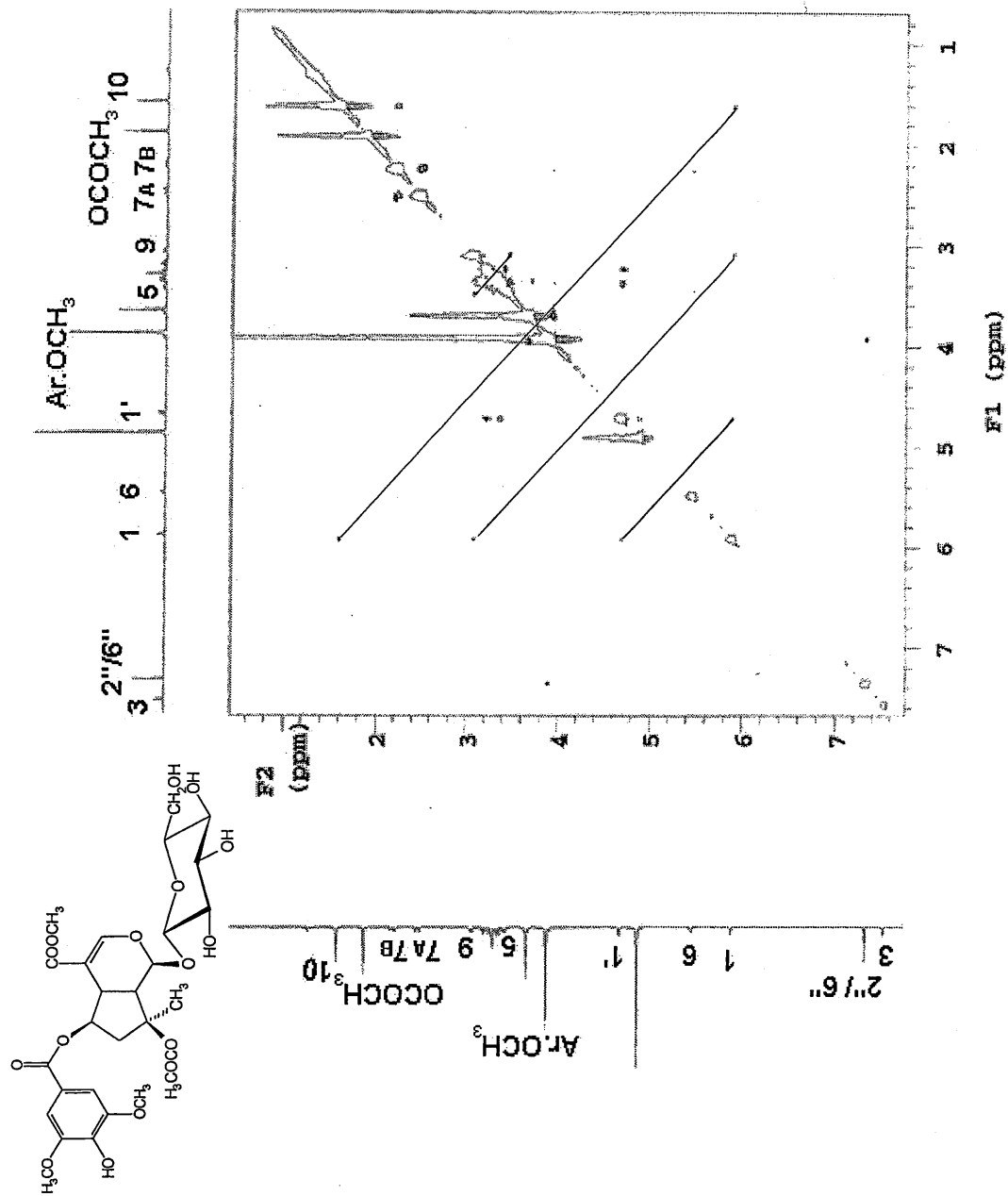


Spektrum 14. 6-O-Siringil 8-O-asetilşanzizit metil ester (**LGL-3**)'in DEPT-135 ve ^{13}C NMR Spektrumları (CD_3OD , 100 MHz)



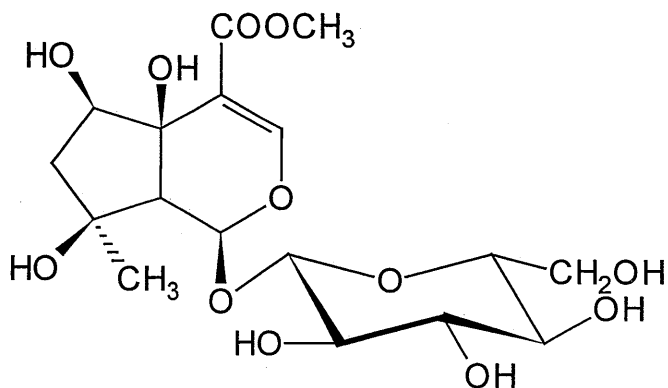
Spektrum 15. 6-O-Siringil 8-O-acetylşanzizit metil ester (LGL-3)'in 2D ¹H,¹H-Homonükleer Korelasyonlu Spektrumu (DQF-COSY)





Spektrum 18. 6-O-Siringil 8-O-asetilşanzizit metil ester (LGL-3)'in 2D nOe Korelasyonlu Spektrumu (NOESY)

6β-Hidroksiipolamiit (LGL-4)



$C_{17}H_{26}O_{12}$ (Mol. Ağı. 422)

UV $\lambda_{maks.}$ (MeOH) nm	IR $\nu_{maks.}$ (% 1 KBr) cm^{-1}	$[\alpha]^{33}_D$
231	3440 (OH), 1710 (C=O), 1640 (C=C)	- 161° (c 0,2; MeOH)

^1H NMR Spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)	: Spektrum 19, Tablo 16
DEPT-135 ve ^{13}C NMR Spektrumları (CD_3OD , 100 MHz)	: Spektrum 20, Tablo 16
2D $^1H, ^1H$ -Homonükleer Korelasyonlu Spektrumu (DQF-COSY)	: Spektrum 21
2D $^1H, ^{13}C$ -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) Spektrumu (HMQC)	: Spektrum 22
2D $^1H, ^{13}C$ -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) Spektrumu (HMBC)	: Spektrum 23, Tablo 16
2D nOe Korelasyonlu Spektrumu (NOESY)	: Spektrum 24

6β-Hidroksiipolamiit (LGL-4)

LGL-4 bileşiği beyaz renkli, amorf bir toz şeklinde elde edilmiştir. Bileşiğin İTK analizinde, vanilin/H₂SO₄ reaktifi püskürtülüp 105 °C'de 1-2 dakika ısıtılması sonrasında bileşik kahverengi bir leke şeklinde gözlenmiştir (Şekil 2).

Bileşiğin UV spektrumunda 231 nm'de gözlenen maksimum ve IR spektrumunda elde edilen absorpsiyon bantları [3440 (OH), 1710 (C=O), 1640 (C=C) cm⁻¹] bileşiğin, C-4 konumunda metoksikarbonil grubu taşıyan bir iridoit bileşiği olabileceğini düşündürmüştür.

Bileşiğin pozitif iyon ESI-MS analizinde gözlenen moleküler iyon piki (*m/z* 445 [M+Na]⁺) ve ¹³C (Spektrum 20, Tablo 16) spektrumunda gözlenen 17 karbon rezonansı bileşiğin molekül formülünün C₁₇H₂₆O₁₂ olduğunu işaret etmektedir.

LGL-4 bileşiğinin ¹H (Spektrum 19) ve ¹³C (Spektrum 20) spektroskopik verileri (Tablo 16) şanzizit metil ester (**LGL-1**) bileşiğine ait değerlerle benzerlik göstermektedir. Buna göre, **LGL-4**'ün yapısının da metoksikarbonil grubu ile konjuge olmuş bir enol-eter sistemine (δ_H 7,50, s, H-3 ve δ_C 154,1, C-3; δ_H 3,74, s, COOCH₃ ve δ_C 51,9 COOCH₃) sahip bir iridoit bileşiği olduğu ve siklopentanpiran iskeletinde bir oksimetin (δ_H 4,06, *dd*, *J*= 8,8/6,4 Hz, H-6), bir metilen (δ_H 2,01, *dd*, *J*= 12,4/8,8 Hz, H-7_α; 1,90, *dd*, *J*= 12,4/6,4 Hz, H-7_β) ve bir tersiyer metil (δ_H 1,14, s, H₃-10) grubunun yer aldığı belirlenmiştir. 4,59 (*d*, *J*= 7,9 Hz, H-1' ve δ_C 99,8) ppm'de gözlenen sinyal, bir ozun anomerik proton sinyali olarak değerlendirilmiştir. Anomerik protonun kenetlenme sabiti ve ona karşılık gelen anomerik karbon sinyali (δ_C 99,8, C-1') ile oz ünitesine ait proton ve karbon rezonanslarının yorumlanması sonucunda, oz ünitesinin yapısı β-glukopiranoz olarak aydınlatılmıştır. HMBC (Spektrum 23, Tablo 16) analizinde C-1/H-1' ve C-1'/H-1 arasında gözlenen heteronükleer uzak-mesafe etkileşimleri glukopiranoz ünitesinin aglikonun C-1 konumundan bağlı olduğunu göstermektedir.

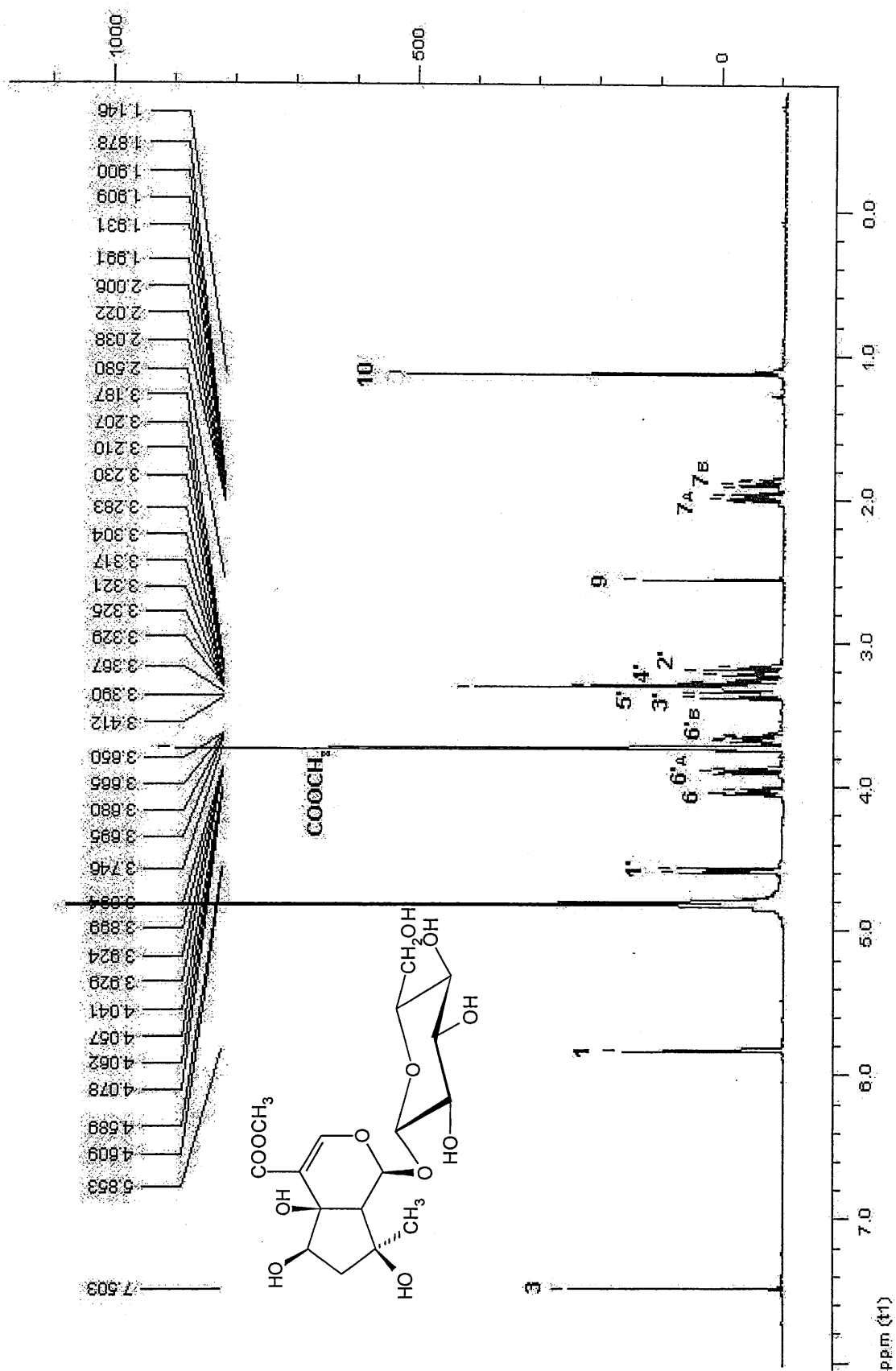
Bileşiğin geri kalan proton ve karbon rezonanslarının çözümü 2D NMR (DQF-COSY, HMQC, HMBC ve NOESY) analizlerine dayanılarak gerçekleştirilmiştir.

LGL-4 bileşiğinin H-3 (δ_H 7,50 s) rezonansının *singlet*, H-1 (δ_H 5,85 gs) ve H-9 (δ_H 2,60 gs) proton rezonanslarının *geniş singlet (gs)* şeklinde gözlenmesi, C-5 konumunun sübstitüe olduğunu düşündürmüştür. C-5 (δ_C 70,3)'in kimyasal kayma değerinin düşük alana kayması ve **LGL-4** bileşiğinin molekül ağırlığının şanzit metil ester (**LGL-1**)' den 16 birim daha fazla olması, C-5 konumunda bir tersiyer hidroksil grubunun yer aldığını işaret etmektedir. DQF-COSY spektrumunda (Spektrum 21) birbirleri ile geminal etkileşim gösteren H₂-7 rezonanslarının, aynı spin sistemi içerisinde yer alan H-6 rezonansı ile da ¹H, ¹H-COSY etkileşmesi gösterdiği belirlenmiştir. DQF-COSY analizinde, birbirleri ile yakın-mesafe etkileşimi gösteren diğer protonlar H-9 (δ_H 2,60, gs) ve H-1 (δ_H 5,85, gs) olarak belirlenmiştir. C-6 (δ_C 74,6)'nın kimyasal kayma değeri, bu konumda sekonder bir hidroksil grubunun bulunduğunu işaret etmektedir. C-6/H₂-7 ve C-5/H₂-7 rezonansları arasında gözlenen HMBC (Spektrum 23) etkileşimleri de bu değerlendirmeyi doğrulamaktadır. C-6(OH) fonksiyonunun konfigürasyonu, şanzit metil ester (**LGL-1**), 8-O-asetil şanzit metil ester (**LGL-2**) ve benzer yapı gösteren diğer iridoit bileşiklerinin (11, 12) spektroskopik bulguları ile yapılan karşılaştırmalar sonucunda β olarak tayin edilmiştir. NOESY (Spektrum 24) analizinde H-6 ve H₃-10 proton rezonansları arasında gözlenen nOe etkileşmesi de her iki protonun siklopentan sisteminin aynı (α) yüzünde yer aldığını göstererek yukarıdaki değerlendirmeyi doğrulamaktadır.

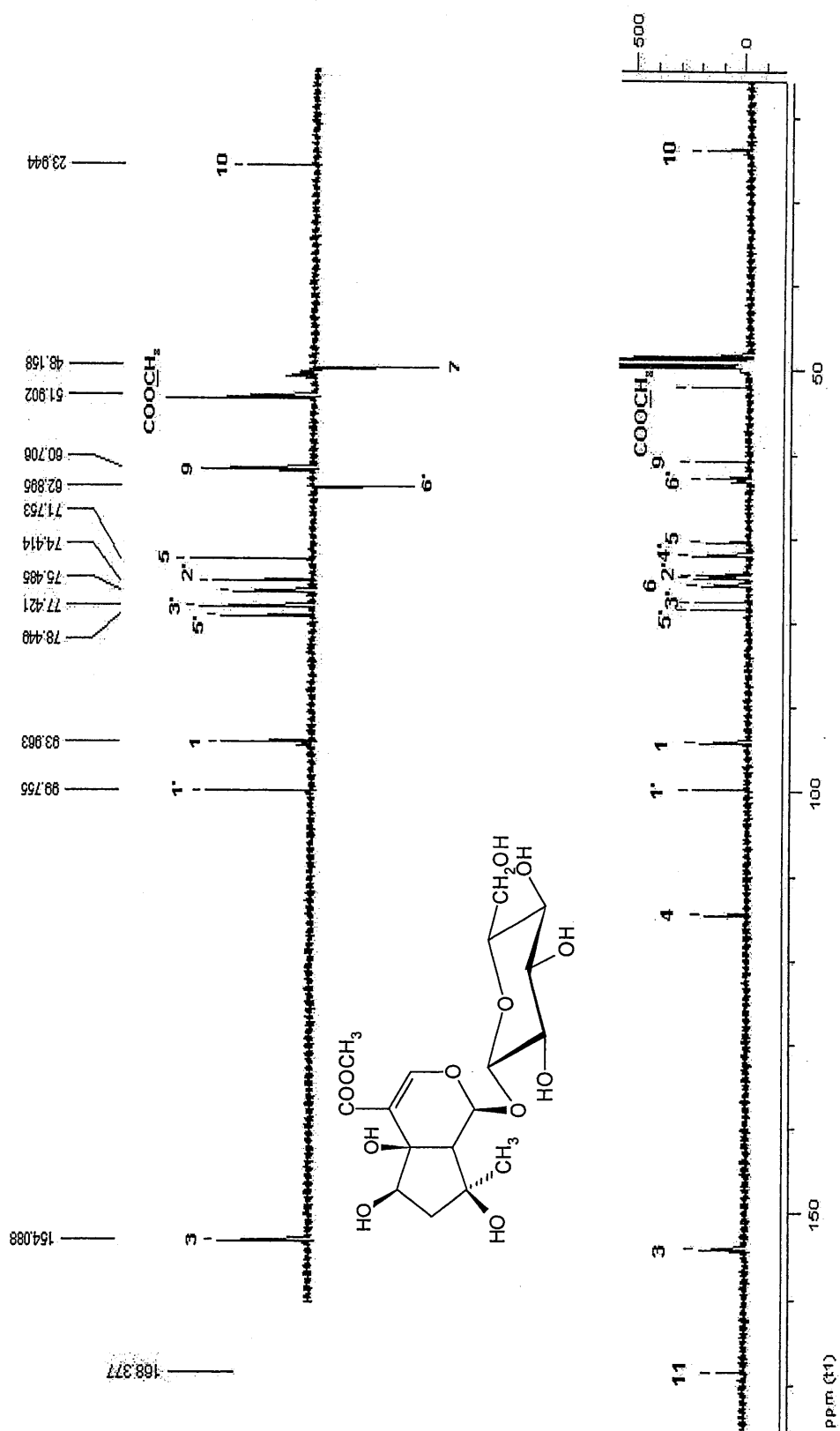
Spektroskopik verilerin yorumlanması ve literatür (23) bilgileri ile yapılan karşılaştırmalar sonucunda **LGL-4** bileşiğinin yapısı 6 β -hidroksiipolamiit olarak aydınlatılmıştır.

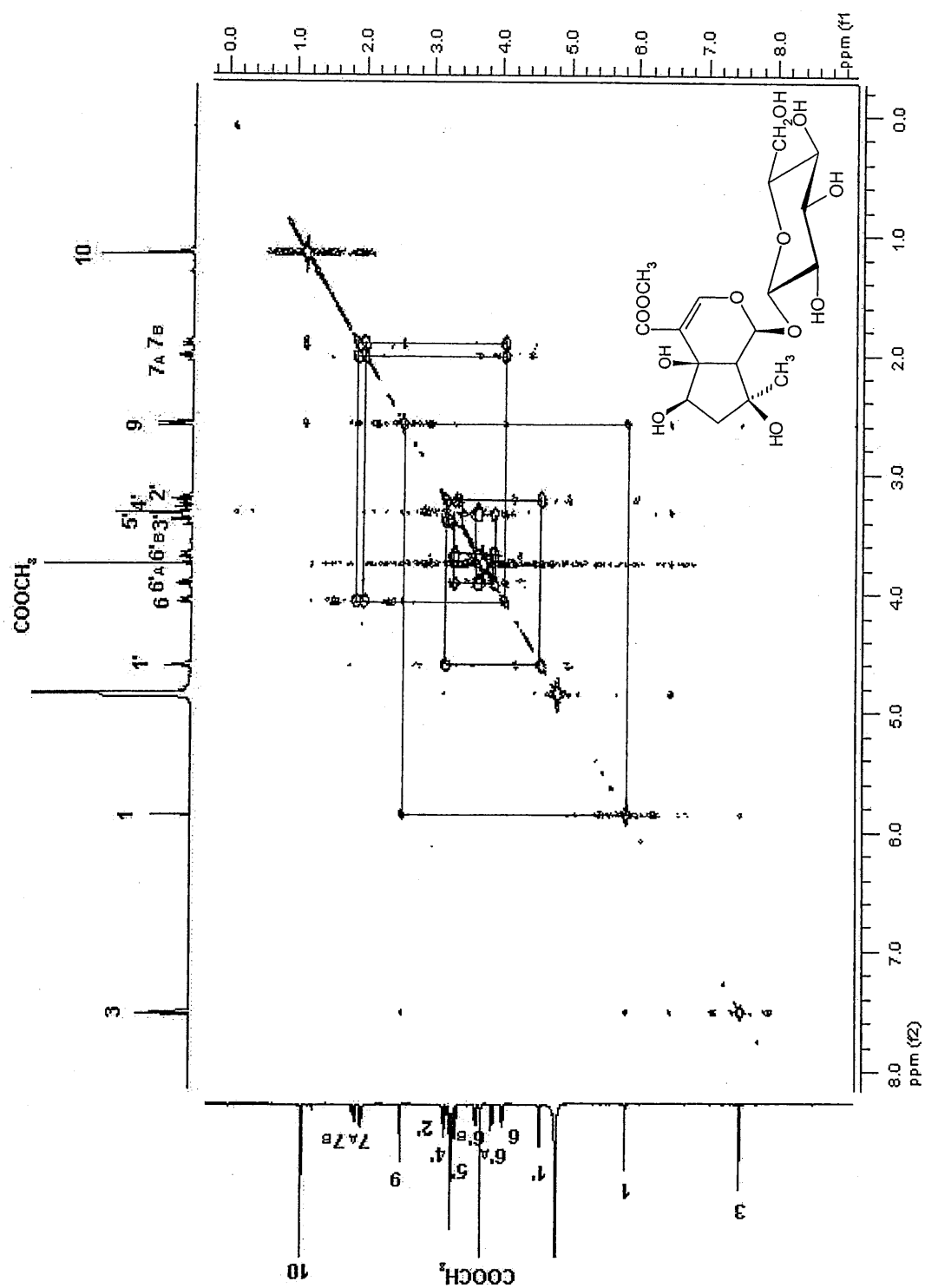
Tablo 16. 6 β -Hidroksiipolamiit (**LGL-4**) bileşığının ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) ve ^1H (400 MHz, CD_3OD) NMR spektroskopik değerleri ve HMBC etkileşimleri.

C/H	DEPT	δ_{C}	δ_{H}	J (Hz)	HMBC (C $\rightarrow$ H)
Aglikon					
1	CH	93,9	5,85 <i>gs</i>		H-3, H-9, H-1'
3	CH	154,1	7,50 <i>s</i>		H-1
4	C	114,4			H-1, H-3, H-6, H-9
5	C	70,3			H-1, H-3, H ₂ -7, H-9
6	CH	74,6	4,06 <i>dd</i>	(8,8/6,4)	H ₂ -7
7	CH ₂	48,2	2,01 <i>dd</i>	(12,4/8,8)	H-9, H ₃ -10
			1,90 <i>dd</i>	(12,4/6,4)	
8	C	75,5			H-9
9	CH	60,7	2,60 <i>gs</i>		H ₂ -7, H ₃ -10
10	CH ₃	23,9	1,14 <i>s</i>		H ₂ -7, H-9
11	C	168,3			H-3, COOCH ₃
COOCH ₃	CH ₃	51,9	3,74 <i>s</i>		
Glukoz					
1'	CH	99,8	4,59 <i>d</i>	(7,9)	H-1, H-2'
2'	CH	74,4	3,21 <i>dd</i>	(8,6/7,9)	H-1', H-3'
3'	CH	77,4	3,39 <i>t</i>	(9,2)	H-1', H-2'
4'	CH	71,8	3,29 <i>d</i>	(8,6)	H-3', H-5', H ₂ -6'
5'	CH	78,5	3,32 <i>m</i>		H ₂ -6'
6'	CH ₂	62,9	3,90 <i>dd</i>	(11,9/2,0)	H-4', H-5'
			3,67 <i>dd</i>	(11,9/5,9)	

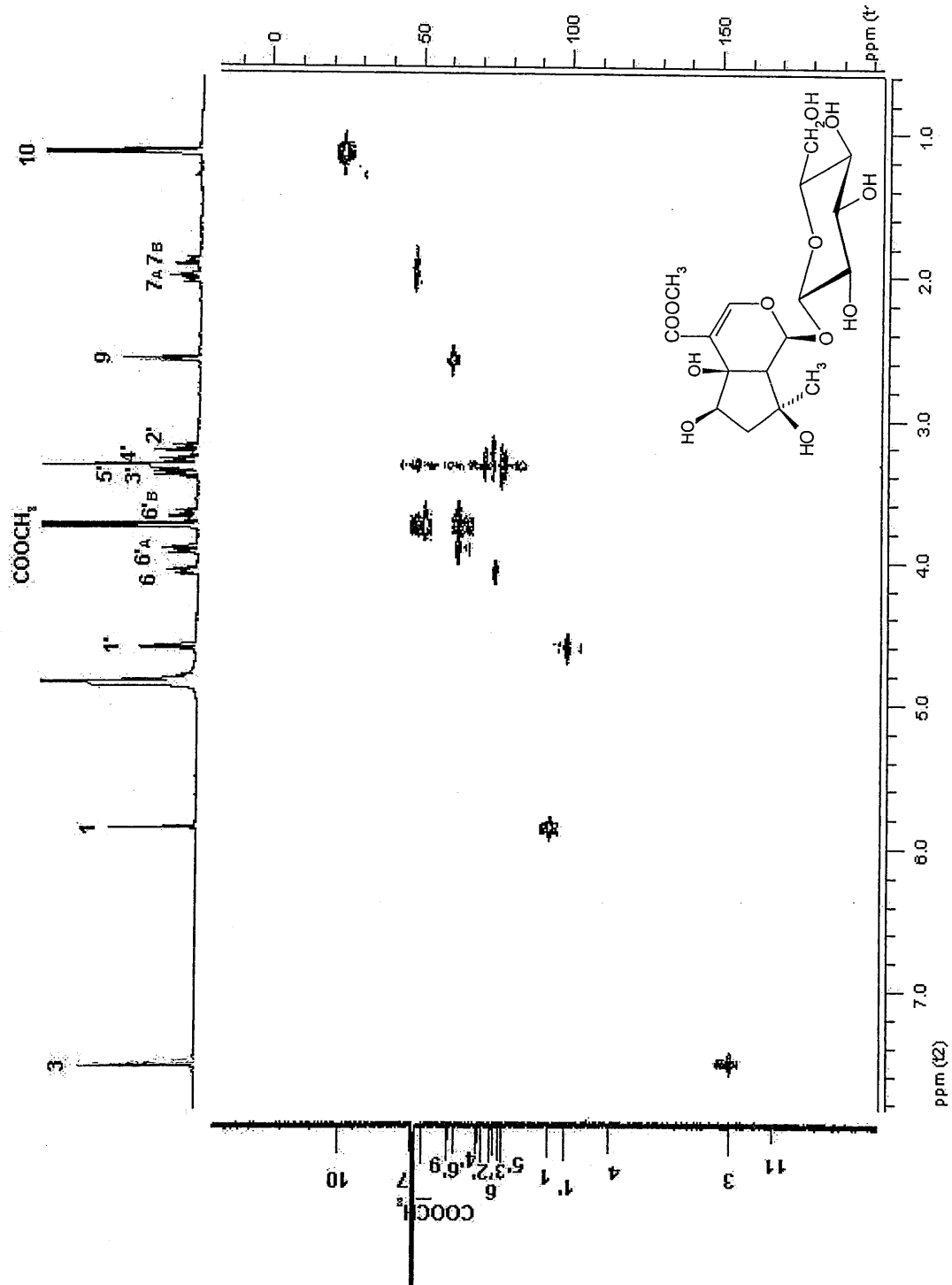


Spektrum 19. 6β-Hidroksiipolamiit (LGL-4) in ¹H NMR Spektrumu (CD₃OD, 400 MHz)

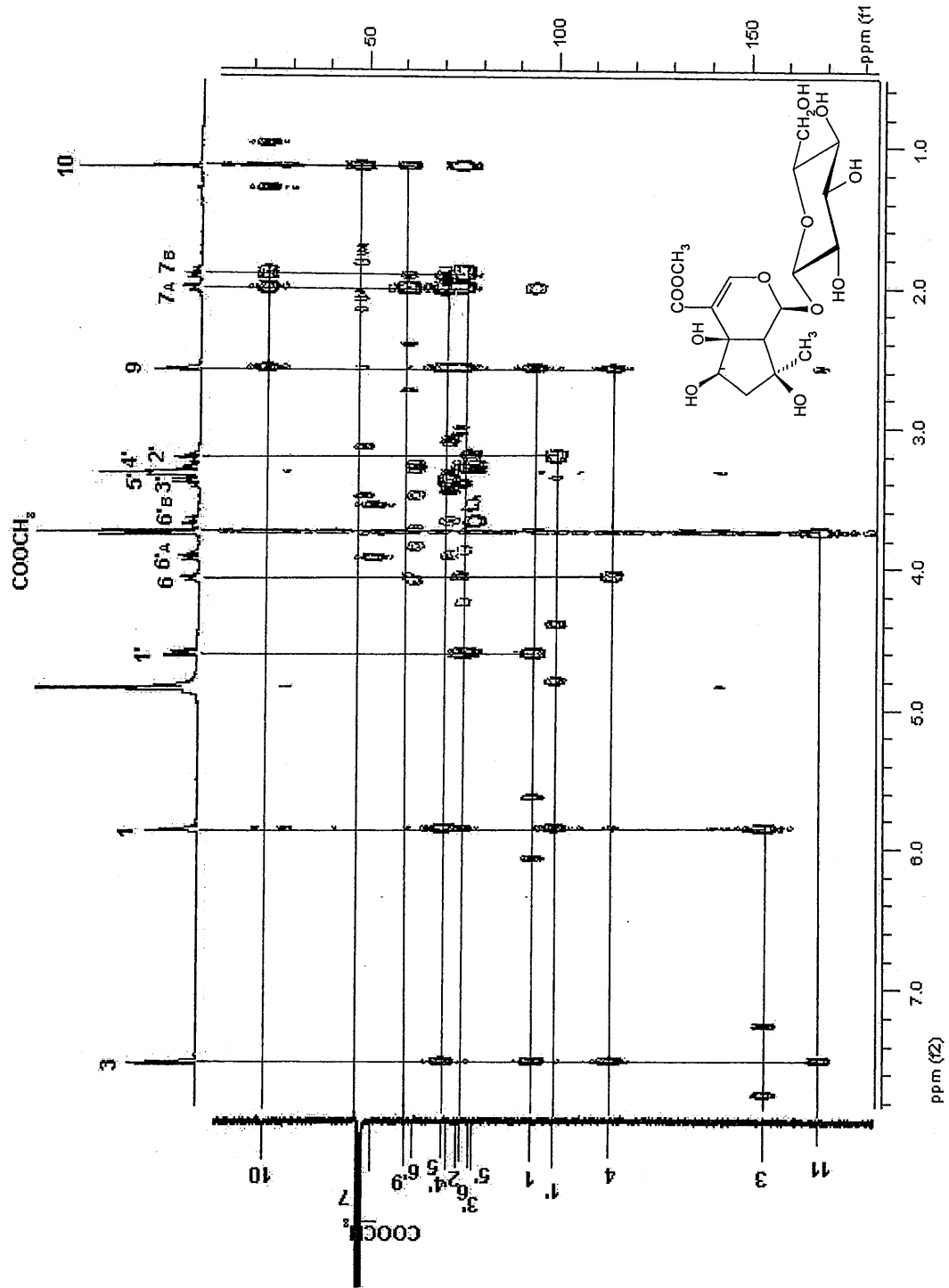




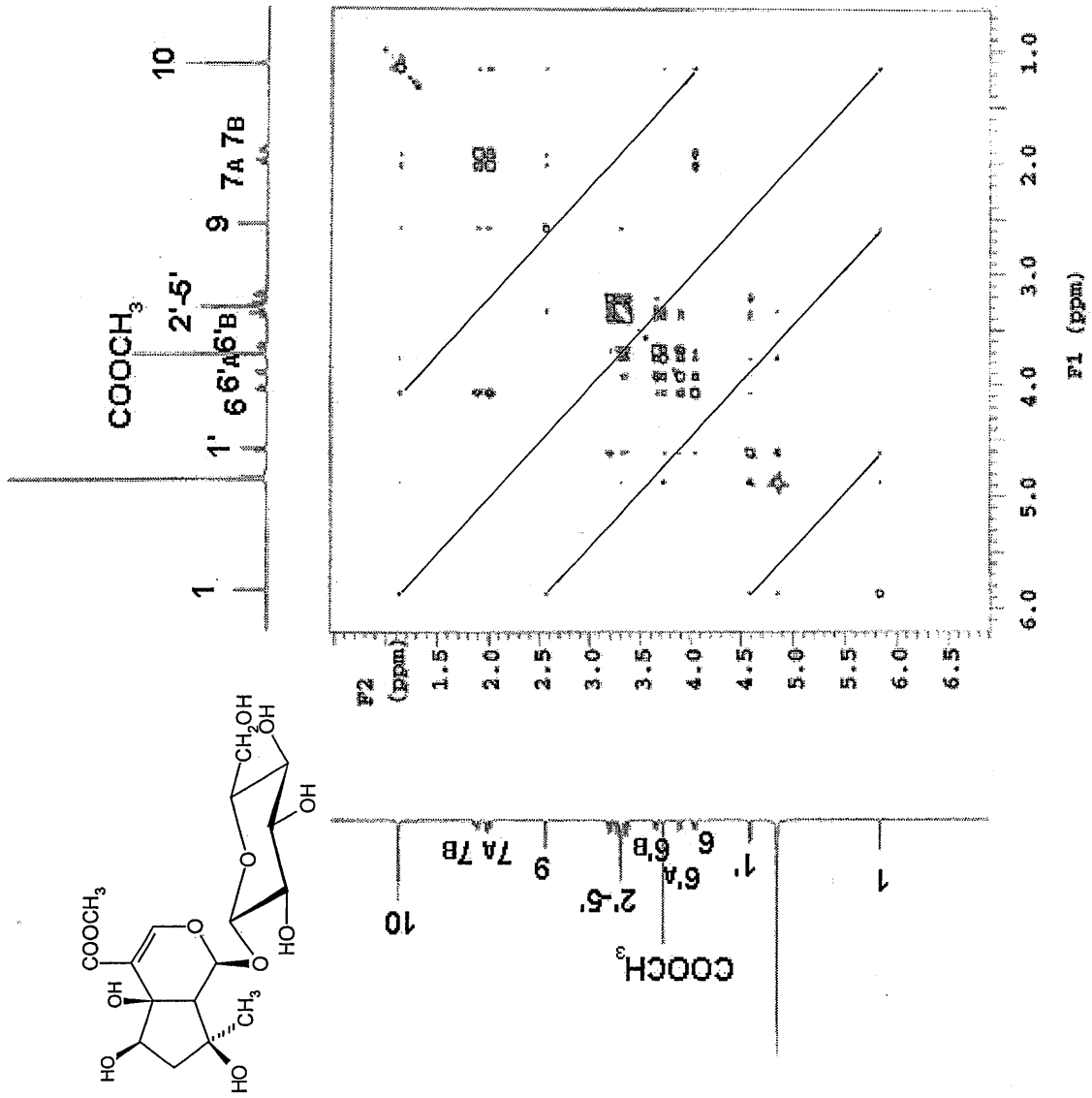
Spektrum 21. 6β-Hidroksiipolamiit (LGL-4)'in 2D ¹H, ¹H-Homonukleer Korelasyonlu Spektrumu (DQF-COSY)



Spektrum 22. 6 β -Hidroksiipolamiit (LGL-4)'in 2D ^1H , ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) Spektrumu (HMQC)

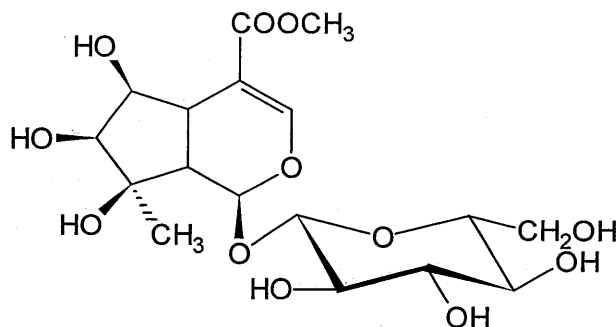


Spektrum 23. 6 β -Hidroksiipolamiit (LGL-4)'in 2D ^1H , ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) Spektrumu (HMBC)



Spektrum 24. 6β-Hidroksiipolamiit (LGL-4)'in 2D nOe Korelasyonlu Spektrumu (NOESY)

Lamalbit (LGL-5)



$C_{17}H_{26}O_{12}$ (Mol. Ağı. 422)

UV $\lambda_{maks.}$ (MeOH) nm	IR $\nu_{maks.}$ (% 1 KBr) cm^{-1}	$[\alpha]^{33}_D$
235	3440 (OH), 1710 (C=O), 1640 (C=C)	- 123° (c 0,1; MeOH)

^1H NMR Spektrumu (CD ₃ OD, 400 MHz)	: Spektrum 25, Tablo 17
DEPT-135 ve ^{13}C NMR Spektrumları (CD ₃ OD, 100 MHz)	: Spektrum 26, Tablo 17
2D $^1H, ^{13}C$ -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) Spektrumu (HMQC)	: Spektrum 27
2D $^1H, ^{13}C$ -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) Spektrumu (HMBC)	: Spektrum 28, Tablo 17

Lamalbit (LGL-5)

LGL-5 bileşiği beyaz renkli, amorf bir toz şeklinde elde edilmiştir. İTK analizinde vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile bileşiğin lekesi açık kahve bir renk almıştır (Şekil 2). UV (235 nm) ve IR [(3440 (OH), 1710 (C=O), 1640 (C=C)] analizlerinde bu bileşiğin, C-4 süsbütüe bir iridoit bileşiği olabileceğini destekleyen veriler elde edilmiştir.

LGL-5 bileşiğinin molekül formülü, ESI kütle spektrumunda m/z 445 [M+Na]⁺'de gözlenen moleküler iyon piki ve ¹³C NMR (Spektrum 26, Tablo 17) spektrumunda gözlenen 17 karbon rezonansı yardımıyla, C₁₇H₂₆O₁₂ olarak hesaplanmıştır.

¹H ve ¹³C NMR spektrumlarında (Spektrum 25,26; Tablo 17) gözlenen proton ve karbon rezonansları **LGL-5** bileşiğinin bir metoksikarbonil (δ_H 3,72, s, COOCH₃; δ_C 51,9, COOCH₃ ve 169,6, C-11), bir tersiyer metil grubu (δ_H 1,20, s, H₃-10; δ_C 22,1, C-10) taşıyan bir siklopentan-piran yapısına sahip olduğunu işaret etmektedir. 4,60 (d, J = 7,9 Hz) ppm'de gözlenen anomerik proton rezonansı ve diğer oz proton sinyalleri (δ_H 3,23-3,88), yapıda bir heksoz ünitesinin bulunduğunu göstermiştir. Oz kısmına ait proton ve karbon rezonanslarının çözülmesi ile yapıda bir β -glukopiranoz ünitesinin bulunduğu anlaşılmıştır. HMBC (Spektrum 28, Tablo 17) analizinde C-1'/H-1' ve C-1'/H-1 arasında gözlenen heteronükleer uzak mesafe etkileşimleri (Spektrum 28, Tablo 17), glukopiranoz ünitesinin, aglikona C-1 konumundan bağlanmış olduğunu göstermektedir.

Bileşiğin geri kalan proton ve karbon rezonanslarının çözümü için HMQC ve HMBC analizlerinden yararlanılmıştır.

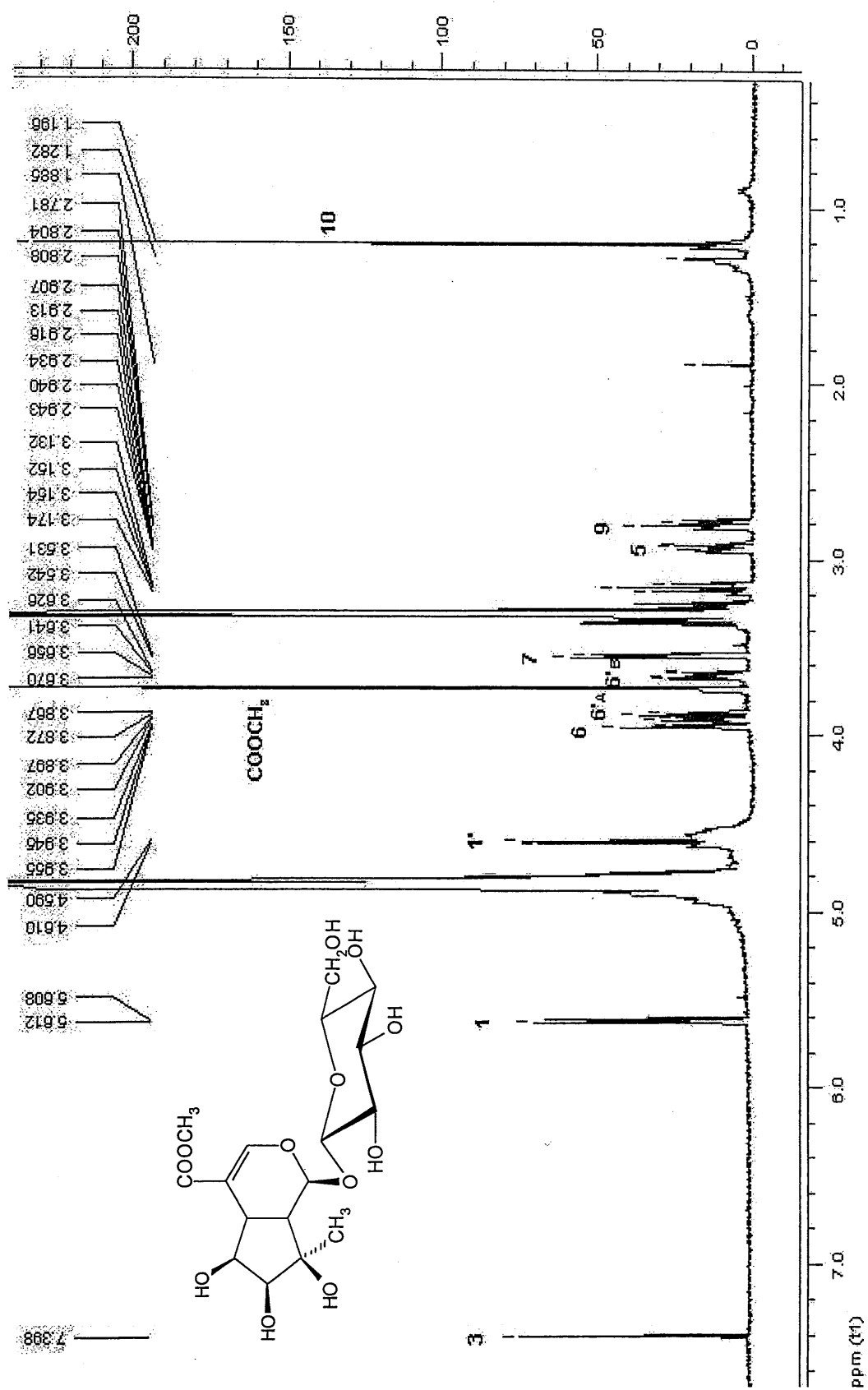
LGL-5 bileşiği, 6 β -hidroksiipolamiit (**LGL-4**) bileşiği ile aynı kapalı formüle ve molekül ağırlığına sahiptir. Ancak, **LGL-5** bileşiğinin ¹H NMR spektrumunda 2,92 (dd, J = 10,8/3,4 Hz) ppm'de gözlenen ve HMQC spektrumunda (Spektrum 27) C-5 (δ_C 78,6) karbon rezonansı ile eşleşen sinyal, H-5 protonuna atfedilmiştir. H-5 sinyalinin dd olarak gözlenmesinin yanı sıra C-4 (δ_C 111,7) ile H-5 (δ_H 2,92) arasında gözlenen HMBC etkileşmesi de C-5 konumunun serbest olduğunu göstermektedir. 2,79 (d, J =

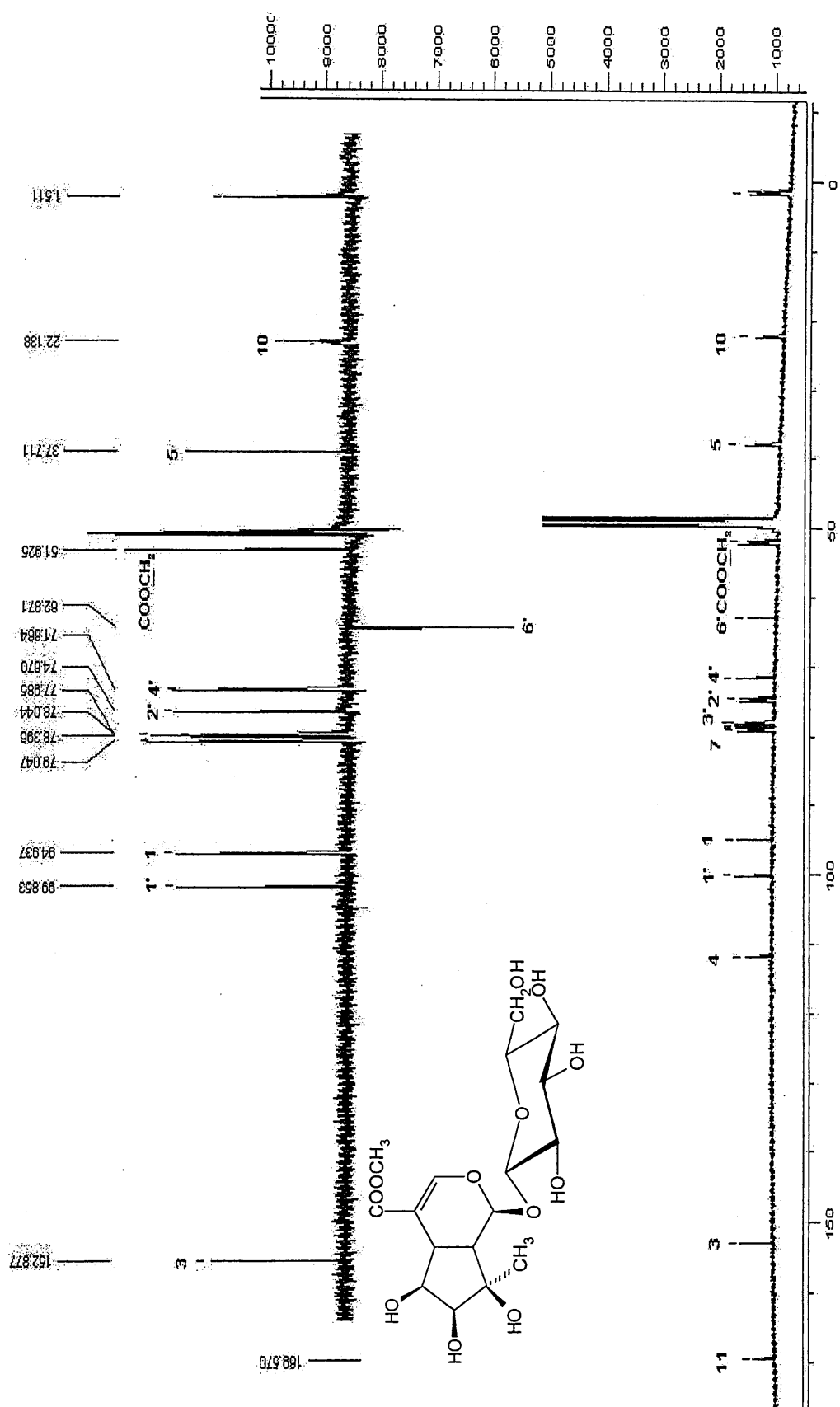
10,8 Hz) ppm'de gözlenen proton rezonansı H-9 protonuna atfedilmiştir. H-9 sinyalinin, H-5 ve H₃-10 protonları ile HMBC etkileşimi de bu değerlendirmeyi doğrulamıştır. H-6 ve H-7 (δ_H 3,94, *dd*, $J = 4,4/3,4$ Hz; δ_H 3,53, *d*, $J = 4,4$ Hz) ile C-6 ve C-7 (δ_C 78,4; δ_C 79,1) rezonanslarının kimyasal kayma değerleri, bu karbonlar üzerinde birer sekonder hidroksil grubunun bulunduğunu işaret etmektedir. Her iki protonun sinyallerinin yarıma biçimleri ve kenetlenme sabiti değerleri ile, C-5/H-6 ve C-5/H-7 arasında gözlenen HMBC etkileşimleri de yukarıdaki yapıyı doğrulamaktadır. C-8 (δ_C 78,6) karbonunun ve H₃-10 (δ_H 1,20) protonunun kimyasal kayma değerleri, C-8 konumunda, tersiyer metil fonksiyonu ile birlikte bir hidroksil grubunun da yer aldığını göstermekte; C-8/H₃-10 arasındaki heteronükleer uzak mesafe etkileşimi de bu değerlendirmeyi doğrulamaktadır.

Yukarıdaki bulguların ışığında yapılan çözümler ile elde edilen spektroskopik verilerin ve bileşiğin optik çevirme değerinin literatürde verilen değerlerle uyuşması sonucunda **LGL-5** bileşiğinin yapısı lamalbit (14, 28) olarak aydınlatılmıştır.

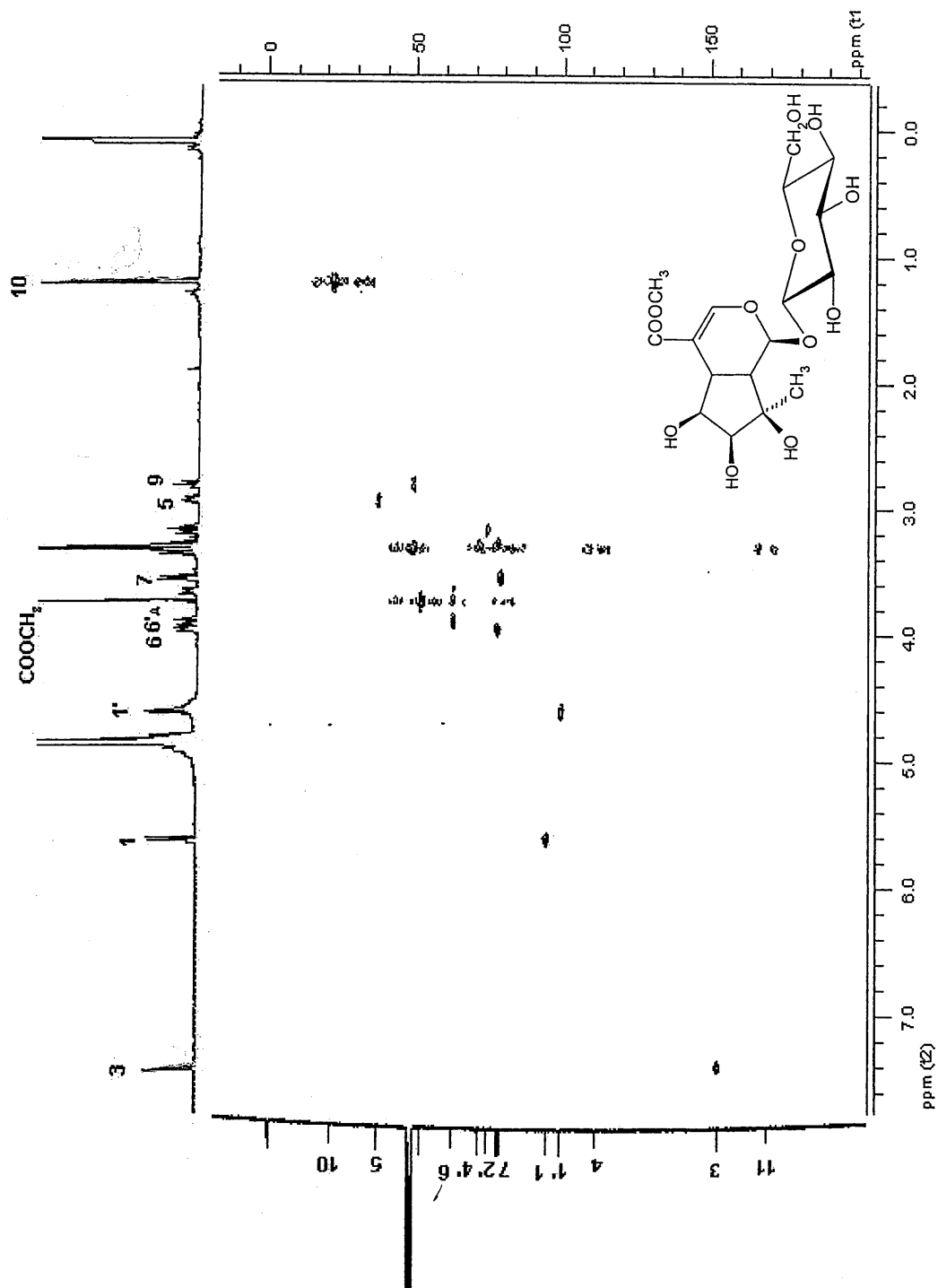
Tablo 17. Lamalbit (**LGL-5**) bileşiğinin ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) ve ^1H (400 MHz, CD_3OD) NMR spektroskopik değerleri ve HMBC etkileşimleri.

C/H	DEPT	δ_{C}	δ_{H}	J (Hz)	HMBC (C→H)
Aglikon					
1	CH	94,9	5,60 <i>d</i>	(1,8)	H-3, H-1'
3	CH	152,8	7,40 <i>s</i>		H-1, H-5, H-9
4	C	111,7			H-3, H-5, H-6,
5	CH	37,7	2,92 <i>dd</i>	(10,8/3,4)	H-1, H-3, H-6, H-7, H-9
6	CH	78,4	3,94 <i>dd</i>	(4,4/3,4)	H-5, H-7, H-9
7	CH	79,1	3,53 <i>d</i>	(4,4)	H-5
8	C	78,6			H-6, H-7, H ₃ -10
9	CH	49,3	2,79 <i>d</i>	(10,8)	H-5, H ₃ -10
10	CH ₃	22,1	1,20 <i>s</i>		H-7
11	C	169,6			H-3
COOCH ₃	CH ₃	51,9	3,72 <i>s</i>		
Glukoz					
1'	CH	99,8	4,60 <i>d</i>	(7,9)	H-1, H-2', H-3'
2'	CH	74,7	3,23 <i>dd</i>	(9,0/7,9)	H-3'
3'	CH	77,9	3,38 <i>t</i>	(8,7)	H-4'
4'	CH	71,7	3,29 <i>t</i>	(8,7)	H-5', H-6' _b
5'	CH	78,1	3,31 <i>m</i>		H- 4', H-6' _a
6'	CH ₂	62,8	3,88 <i>dd</i>	(11,9/2,1)	H- 4'
			3,65 <i>dd</i>	(11,9/5,9)	

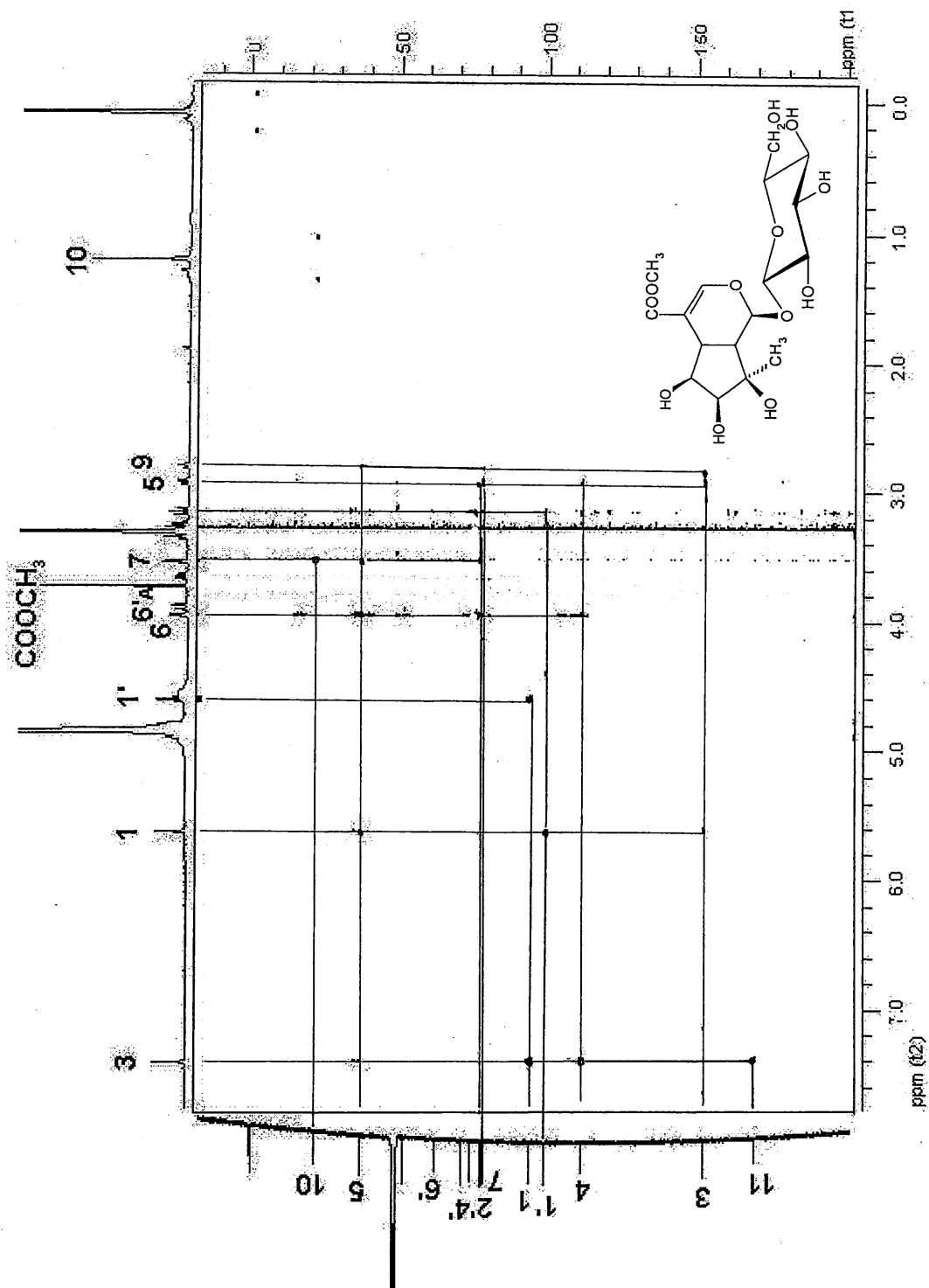




Spektrum 26. Lamalbit (LGL-5)'in DEPT-135 ve ¹³C NMR Spektrumları (CD₃OD, 100 MHz)

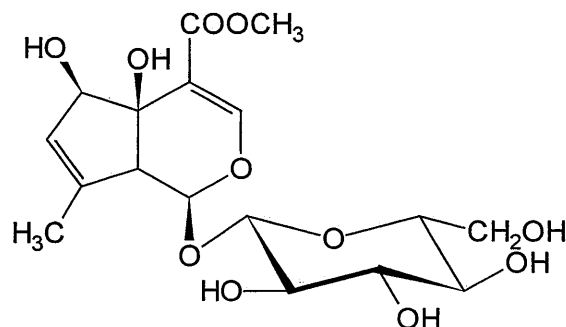


Spektrum 27. Lamalbit (LGL-5)'in 2D ^1H , ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) Spektrumu (HMQC)



Spektrum 28. Lamalbit (LGL-5)'in $2\text{D } ^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) Spektrumu (HMQC)

Dehidropenstemozit (LGL-6)



$C_{17}H_{24}O_{11}$ (Mol. Ağı. 404)

UV $\lambda_{maks.}$ (MeOH) nm	IR $\nu_{maks.}$ (% 1 KBr) cm^{-1}	$[\alpha]^{33}_D$
234	3400 (OH), 1700 (C=O), 1630 (C=C)	- 94° (c 0,1; MeOH)

^1H NMR Spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)	: Spektrum 29, Tablo 18
DEPT-135 ve ^{13}C NMR Spektrumları (CD_3OD , 100 MHz)	: Spektrum 30, Tablo 18
2D $^1H, ^1H$ -Homonükleer Korelasyonlu Spektrumu (DQF-COSY)	: Spektrum 31
2D $^1H, ^{13}C$ -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) Spektrumu (HMQC)	: Spektrum 32
2D $^1H, ^{13}C$ -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) Spektrumu (HMBC)	: Spektrum 33, Tablo 18
2D nOe Korelasyonlu Spektrumu (NOESY)	: Spektrum 34

Dehidropenstemozit (LGL-6)

LGL-6 bileşiği beyaz renkli, amorf bir toz şeklinde elde edilmiştir. İTK analizinde vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile zamanla koyulaşan mavi-mor renklenme gözlenmiştir (Şekil 2). Bileşiğin UV spektrumunda, 234 nm'de maksimum absorpsiyon piki görülmesi ve IR spektrumundaki absorpsiyon bantları [3400 (OH), 1700 (C=O), 1630 (C=C) cm⁻¹], bu bileşiğin C-4 süstitüe bir iridoit olduğunu düşündürmektedir..

Bileşiğin moleköl formülü, ESI kütle spektrumunda elde edilen m/z 427 [M+Na]⁺ moleküler iyon piki ve ¹³C NMR (Spektrum 30, Tablo 18) spektrumunda gözlenen 17 karbon rezonansı yardımıyla C₁₇H₂₄O₁₁ olarak hesaplanmıştır.

Bileşiğin ¹H ve ¹³C (Spektrum 29,30; Tablo 18) NMR spektrumlarında metoksikarbonil grubu ile konjuge olmuş enol-eter sistemine ait sinyallerin (δ_H 7,52, s, H-3; δ_C 155,1, C-3 ve δ_H 3,74, s, COOCH₃; δ_C 51,8 COOCH₃) yanı sıra; bir olefinik metin grubuna (δ_H 5,55, dd, J = 2,4/1,6 Hz, H-7 ve δ_C 128,9, C-7), bir olefinik katerner karbon atomuna (δ_C 143,5, C-8) ve bir metil grubuna (δ_H 1,83, d, J = 1,2 Hz, H₃-10 ve δ_C 15,8, C-10) ait rezonanslar gözlenmiştir. 4,59 (d, J = 7,9 Hz, H-1') ppm'de gözlenen anomerik protonun kenetlenme sabiti ile ona karşılık gelen karbon (δ_C 100,0, C-1') rezonansının değerlendirilmesi ve oz ünitesine ait diğer proton ve karbon rezonanslarının yorumlanması sonucunda yapıda bir β -glukopiranoz ünitesinin bulunduğu anlaşılmıştır. C-1/H-1' ve C-1'/H-1 HMBC etkileşimleri glukopiranoz ünitesinin aglikonun C-1 konumunda yer aldığını göstermiştir.

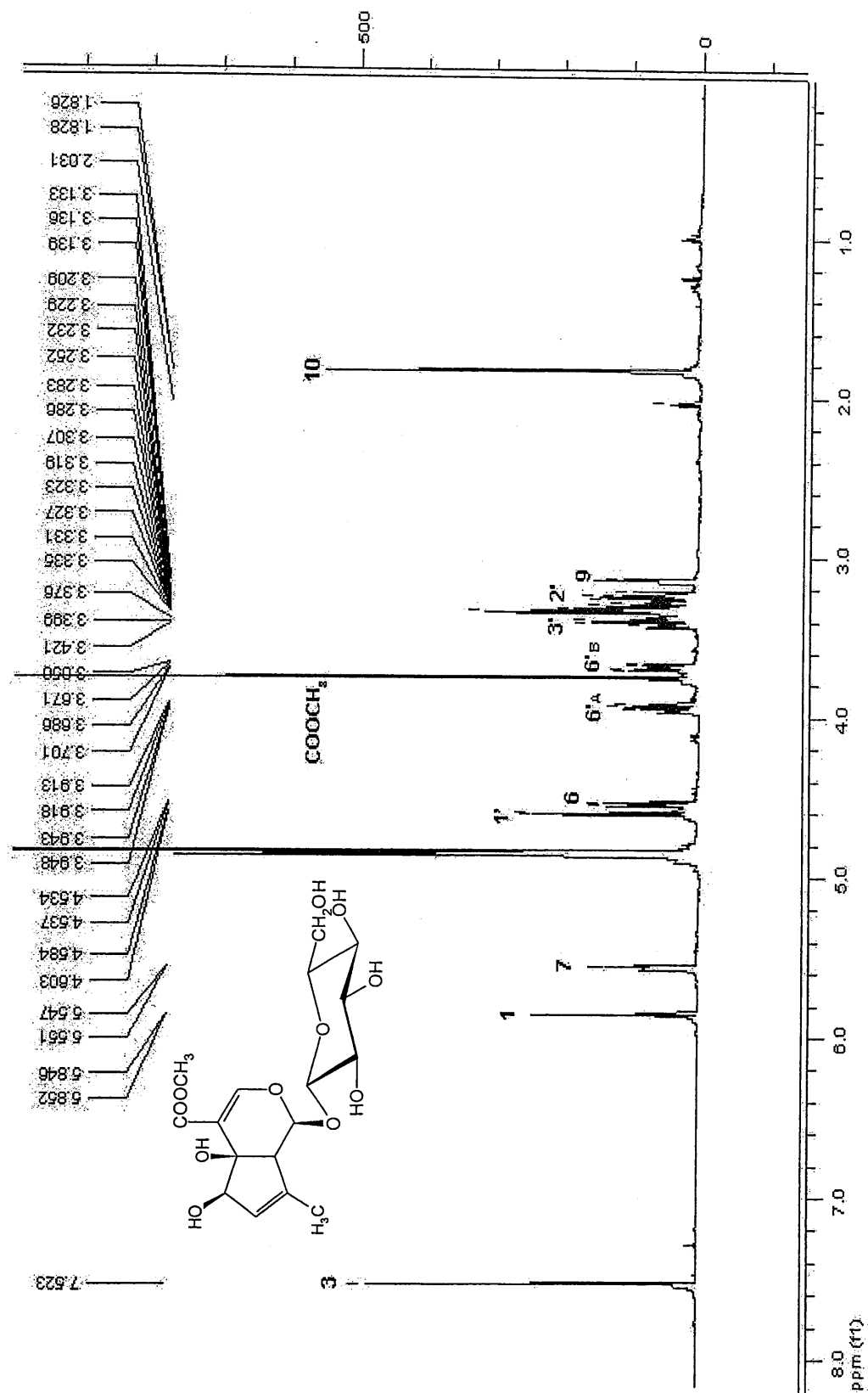
C-5 (δ_C 73,7) rezonansının kimyasal kayma değeri, bu karbon atomu üzerinde bir hidroksil grubunun yer aldığını işaret etmektedir. H-3 sinyalinin bir *singlet* şeklinde gözlenmesi de bu yorumu doğrulamaktadır. DQF-COSY spektrumunda (Spektrum 31) H-6 oksimetin (δ_H 4,53) ve H-7 olefinik metin protonlarının rezonansları arasında visinal bir etkileşim gözlenirken; H-7 protonu ile H-9 ve H₃-10 protonları arasında da uzak-mesafe etkileşimleri olduğu belirlenmiştir. H-6 ile H₃-10 arasında da uzak-mesafeli bir etkileşme gözlenmektedir. C-7 (δ_C 128,9) ve C-8 (δ_C 143,5) karbon atomlarının

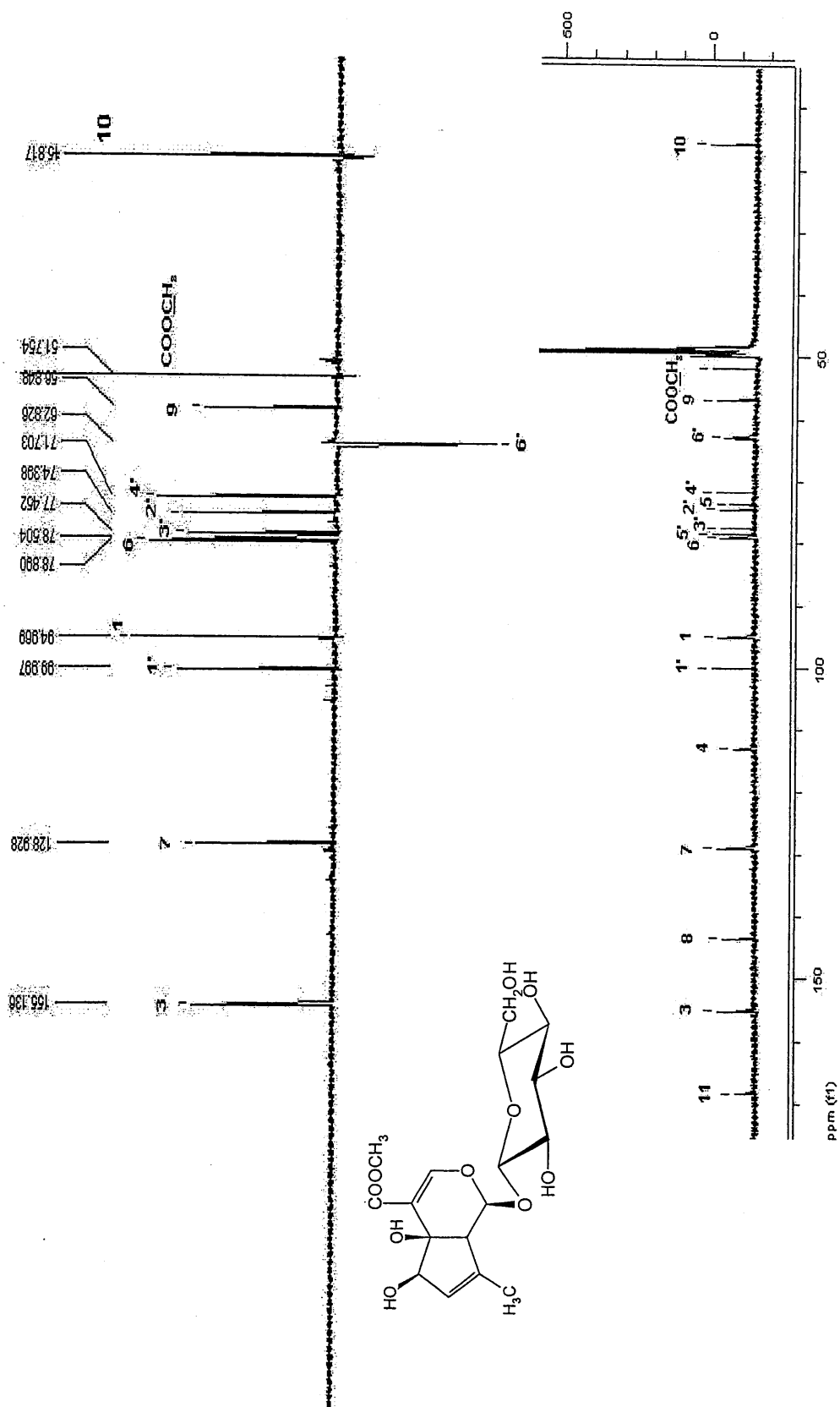
kimyasal kayma değerleri, bu iki karbon atomu arasında bir ifte bağ fonksiyonunun yer aldığını işaret etmektedir. H₃-10 protonlarının oldukça düşük alanda (δ_H 1,83) gözlenmiş olmasının yanı sıra, HMBC spektrumunda (Spektrum 33, Tablo 18) C-7, C-8 ve C-9 (δ_C 56,8) karbonları ile H₃-10 protonları arasında ve C-5 (δ_C 73,7), C-6 (δ_C 78,9) ve C-9 rezonansları ile H-7 proton sinyali arasında gözlenen HMBC etkileşimleri de C-7 ve C-8 karbonları arasında bir ifte bağ fonksiyonunun bulunduğunu doğrulamaktadır. C-6 (δ_C 78,9) karbon atomunun kimyasal kayma değeri, bu konumda yer alan sekonder hidroksil grubunun varlığını göstermektedir. Bu sekonder alkol grubunun konfigürasyonu NOESY analizinde (Spektrum 34) H-1/H₃-10, H-7/H₃-10 ve H-6/H-7 arasında gözlenen nOe etkileşmelerine dayanılarak β olarak belirlenmiştir. Bu değerlendirme, bileşiğin ¹³C NMR değerlerinin benzer yapıdaki iridoitlere ait spektroskopik veriler ile karşılaştırılması sonucunda doğrulanmıştır (11, 12).

Spektroskopik özömlerlerin işığında elde edilen bulguların literatürde kayıtlı verilerle uyuşması sonucu **LGL-6** bileşiğinin yapısı dehidropenstemozit (68) olarak aydınlatılmıştır.

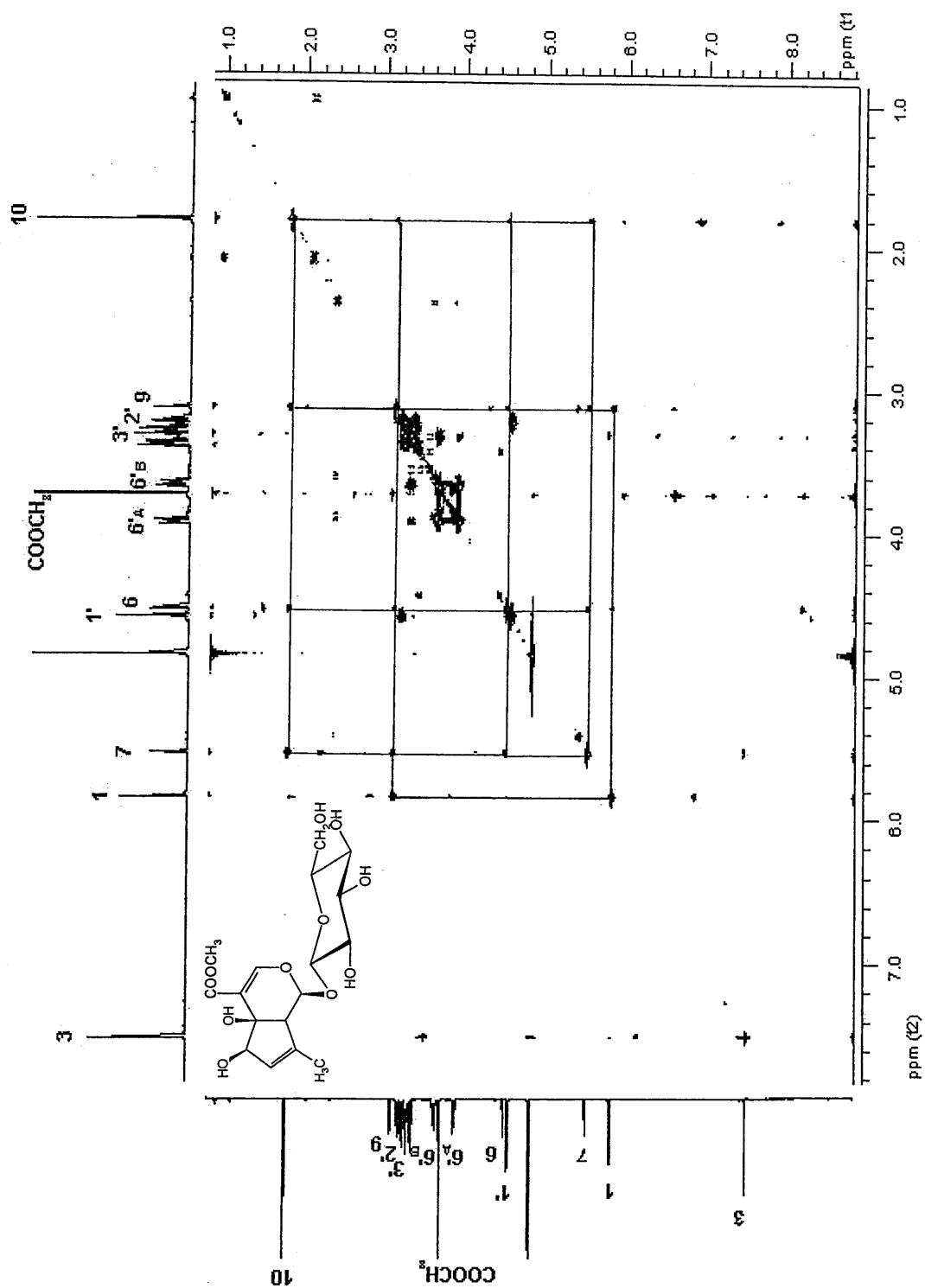
Tablo 18. Dehidropenstemozit (**LGL-6**) bileşığının ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) ve ^1H (400 MHz, CD_3OD) NMR spektroskopik değerleri ve HMBC etkileşimleri.

C/H	DEPT	δ_{C}	δ_{H}	J (Hz)	HMBC (C→H)
Aglikon					
1	CH	94,9	5,85 <i>d</i>	(2,4)	H-3, H-1'
3	CH	155,1	7,52 <i>s</i>		H-1
4	C	112,8			H-3
5	C	73,7			H-1, H-3, H-7, H-9
6	CH	78,9	4,53 <i>d</i>	(1,1)	H-7
7	CH	128,9	5,55 <i>dd</i>	(2,4/1,6)	H-7, H ₃ -10
8	C	143,5			H-6, H-9, H ₃ -10
9	CH	56,8	3,13 <i>d</i>	(2,4)	H-7, H ₃ -10
10	CH ₃	15,8	1,83 <i>d</i>	(1,2)	
11	C	168,3			H-3
COOCH ₃	CH ₃	51,8	3,74 <i>s</i>		
Glukoz					
1'	CH	100,0	4,59 <i>d</i>	(7,9)	H-1, H-2'
2'	CH	74,4	3,23 <i>dd</i>	(8,8/7,9)	H-3'
3'	CH	77,5	3,38 <i>t</i>	(8,8)	
4'	CH	71,7	3,29 <i>d</i>	(8,6)	
5'	CH	78,5	3,31 <i>m</i>		H-3', H-4', H-6'
6'	CH ₂	62,8	3,93 <i>dd</i>	(12,0/2,1)	H-4', H-5'
			3,67 <i>dd</i>	(12,0/6,1)	

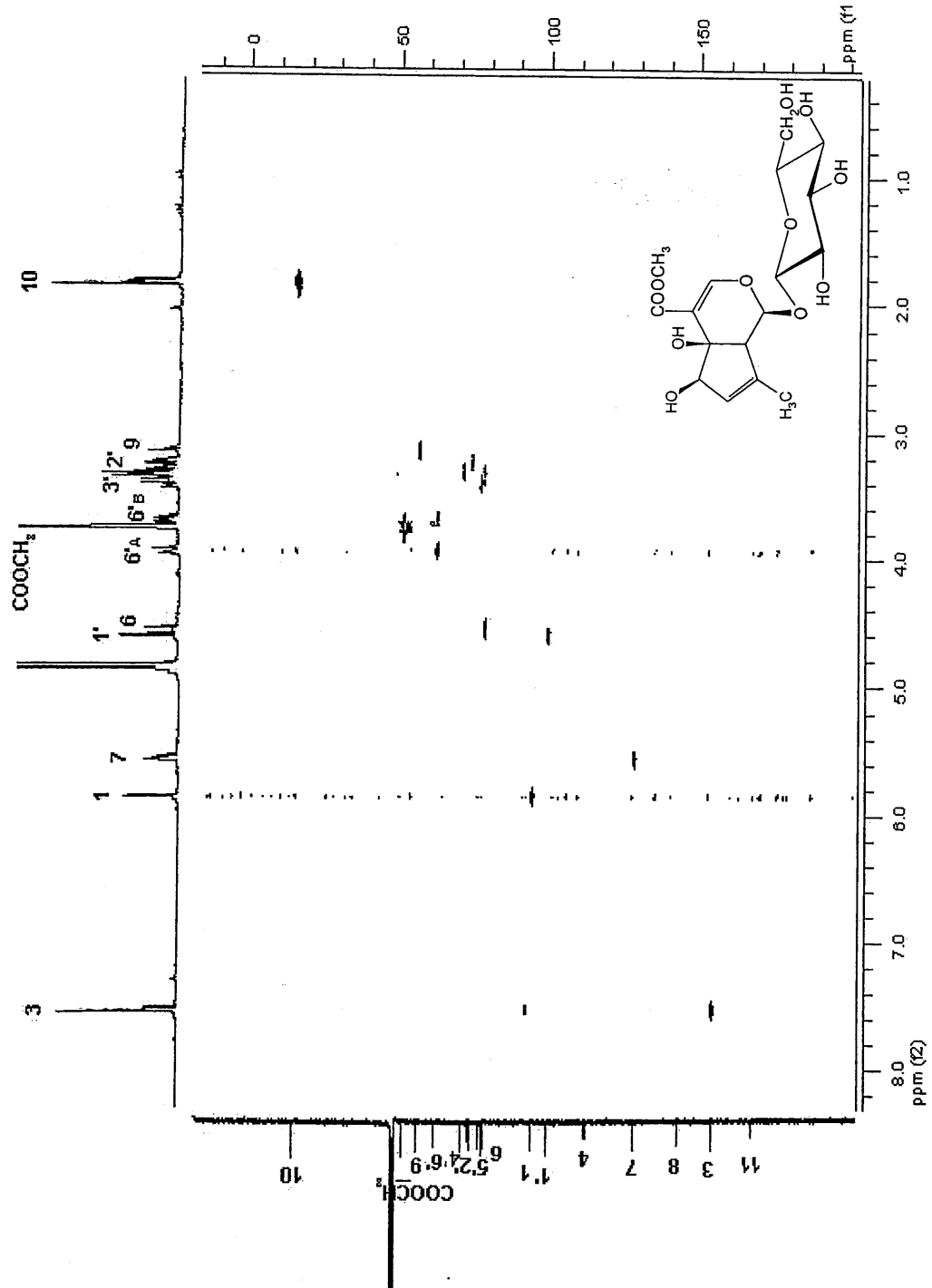




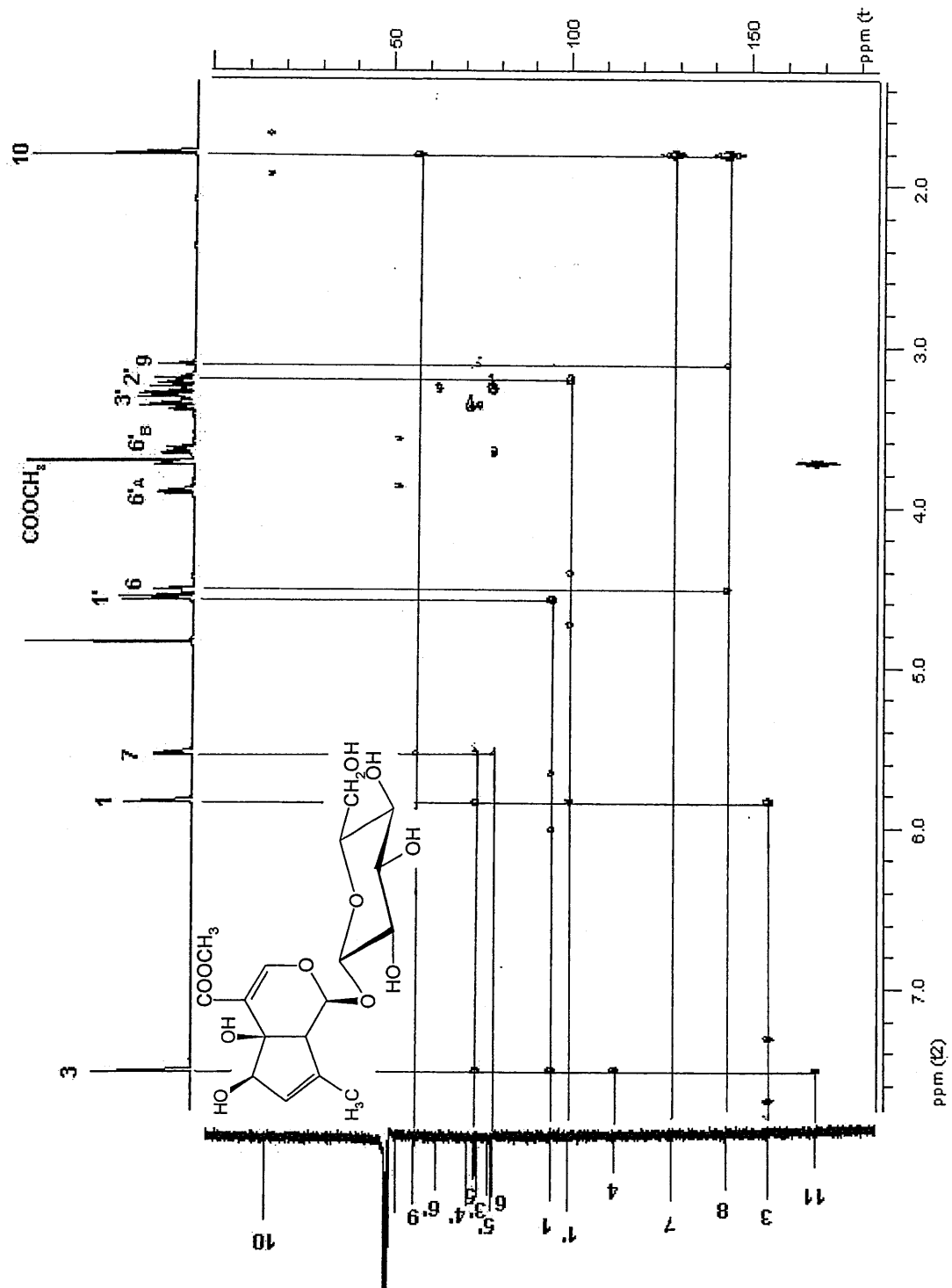
Spektrum 30. Dehidropenstemoziti (LGL-6)'in DEPT-135 ve ^{13}C NMR Spektrumları (CD_3OD , 100 MHz)



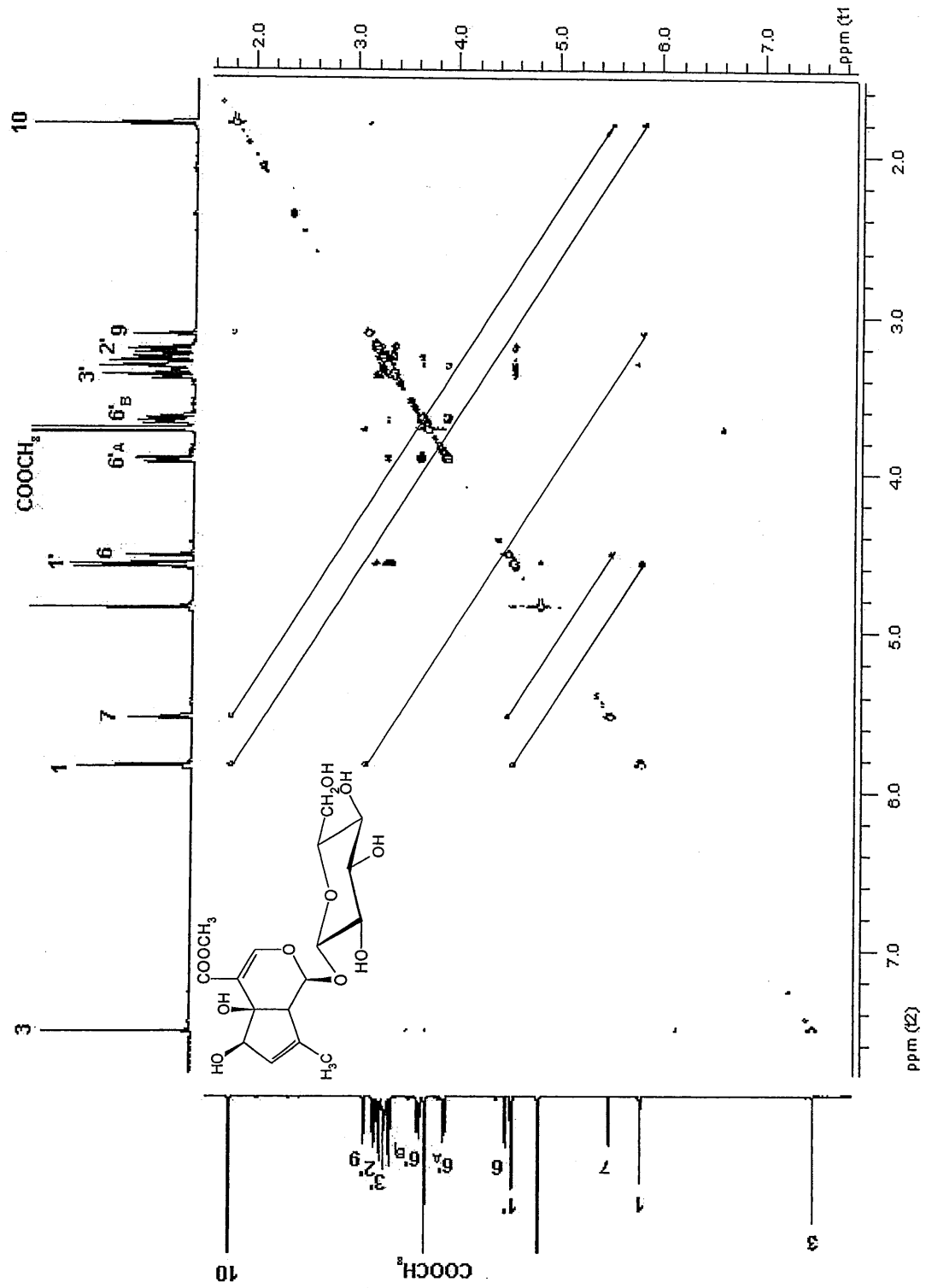
Spektrum 31. Dehidropenstemozit (LGL-6)'in 2D ¹H-¹H-Homonükleer Korelasyonlu Spektrumu (DQF-COSY)



Spektrum 32. Dehidropenstemozit (LGL-6)'in 2D ^1H , ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) Spektrumu (HMQC)

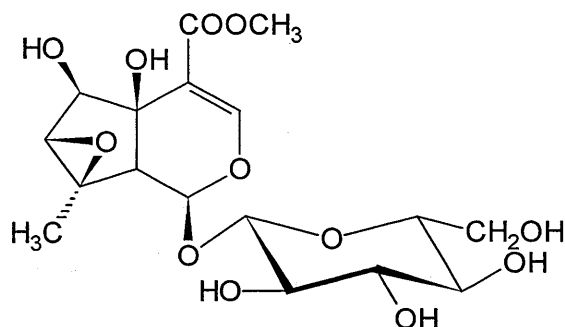


Spektrum 33. Dehidropenstemozit (LGL-6)'in 2D ¹H, ¹³C-Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) Spektrumu (HMBC)



Spektrum 34. Dehidropenstemozīt (LGL-6) in 2D nOe Korelasyonlu Spektrumu (NOESY)

Sesamozit (LGL-7)



C₁₇H₂₄O₁₂ (Mol. Ağı. 420)

UV $\lambda_{\text{maks.}}$ (MeOH) nm	IR $\nu_{\text{maks.}}$ (% 1 KBr) cm^{-1}	$[\alpha]_{\text{D}}^{33}$
235	3410 (OH), 1695 (C=O), 1635 (C=C)	- 77° (c 0,1; MeOH)

¹ H NMR Spektrumu (CD ₃ OD, 400 MHz)	: Spektrum 35, Tablo 19
¹³ C NMR Spektrumu (CD ₃ OD, 100 MHz)	: Spektrum 36, Tablo 19
2D nOe Korelasyonlu Spektrumu (NOESY)	: Spektrum 37

Sesamozit (LGL-7)

LGL-7 bileşiği beyaz renkli, amorf bir toz şeklinde elde edilmiştir. İTK analizlerinde bileşik, vanilin/H₂SO₄ reaktifi püskürtüldükten sonra kahverengi bir leke halinde gözlenmiştir (Şekil 2). UV (235 nm) ve IR [(3410 (OH), 1695 (C=O), 1635 (C=C)] spektroskopik verileri bu bileşiğin bir C-4 sübstitüe iridoit glikoziti olabileceğini işaret etmiştir.

ESI-MS analizinde elde edilen m/z 443 [M+Na]⁺ moleküler iyon piki ve ¹³C NMR spektrumunda (Spektrum 36, Tablo 19) gözlenen 17 karbon rezonansı bileşiğin molekül formülünün C₁₇H₂₄O₁₂ olduğunu göstermektedir.

Bileşiğin ¹H ve ¹³C (Spektrum 35 ve 36, Tablo 19) NMR spektrumlarında metoksikarbonil grubu ile konjuge olmuş enol-eter sistemine ait rezonanslar (δ_H 7,58, s, H-3; δ_C 155,5, C-3 ve δ_H 3,75, s, COOCH₃; δ_C 51,9 COOCH₃) ile, bir oksimetin grubuna (δ_H 4,32, gs H-6 ve δ_C 77,6, C-6), bir tersiyer metil fonksiyonuna (δ_H 1,51, s, H₃-10 ve δ_C 17,8, C-10) ve bir oz (δ_H 4,73, d, J = 8,0 Hz, H-1' ve δ_C 99,9, C-1') ünitesine ait rezonanslar gözlenmiştir. Oz ünitesinin anomerik protonunun kenetlenme sabiti ve ¹H ve ¹³C NMR spektrumlarında gözlenen diğer oz sinyallerinin çözümlenmesi sonucunda yapıda bir β -glukopiranoz ünitesinin bulunduğu anlaşılmıştır.

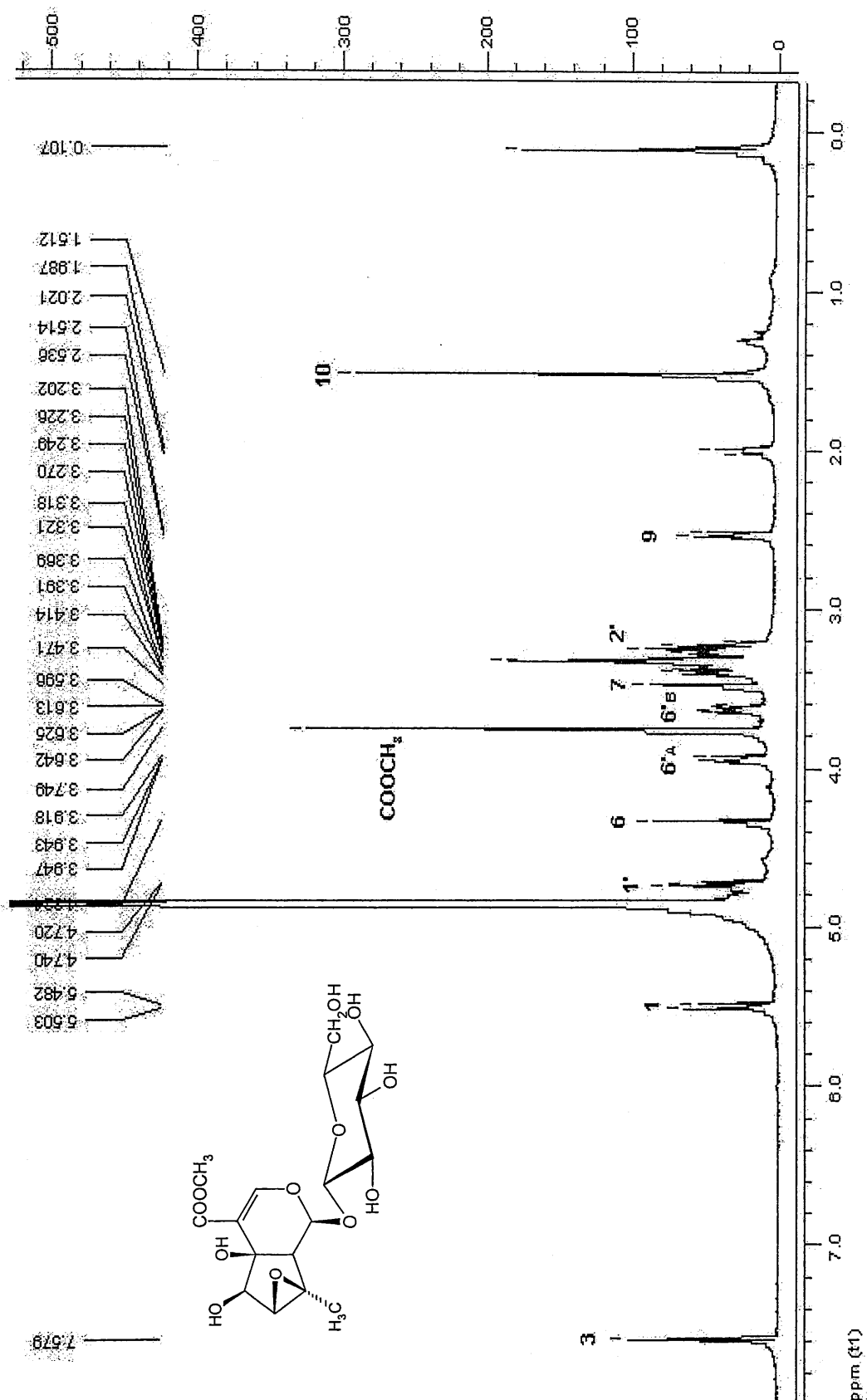
C-5 (δ_C 74,9) rezonansının kimyasal kayma değeri ve H-3 sinyalinin bir *singlet* şeklinde görülmesi, **LGL-7** bileşiğinin C-5 konumunda bir hidroksil grubunun yer aldığını işaret etmektedir. **LGL-7** ve dehidropenstemozit (**LGL-6**) bileşiklerinin NMR spektroskopik verileri birbirleriyle oldukça uyum göstermektedir. Ancak, **LGL-7** bileşiğinin C-7 (δ_C 66,0) ve C-8 (δ_C 63,0) rezonansları, dehidropenstemozit (**LGL-6**) bileşiğinin C-7 ve C-8 karbon rezonanslarına göre daha yüksek alanda gözlenmektedir. Bu bulgu, **LGL-7** bileşiğinin C-7 ve C-8 karbonları arasında bir epoksit sisteminin yer aldığını göstermektedir. C-10 (δ_C 17,8) karbon atomuna ait sinyalin **LGL-1** – **LGL-5** bileşiklerine göre daha yüksek alanda gözlenmesi ve **LGL-7** bileşiğinin molekül ağırlığının dehidropenstemozit (**LGL-6**) bileşiğinden 16 birim daha fazla olması da bu görüşü desteklemektedir.

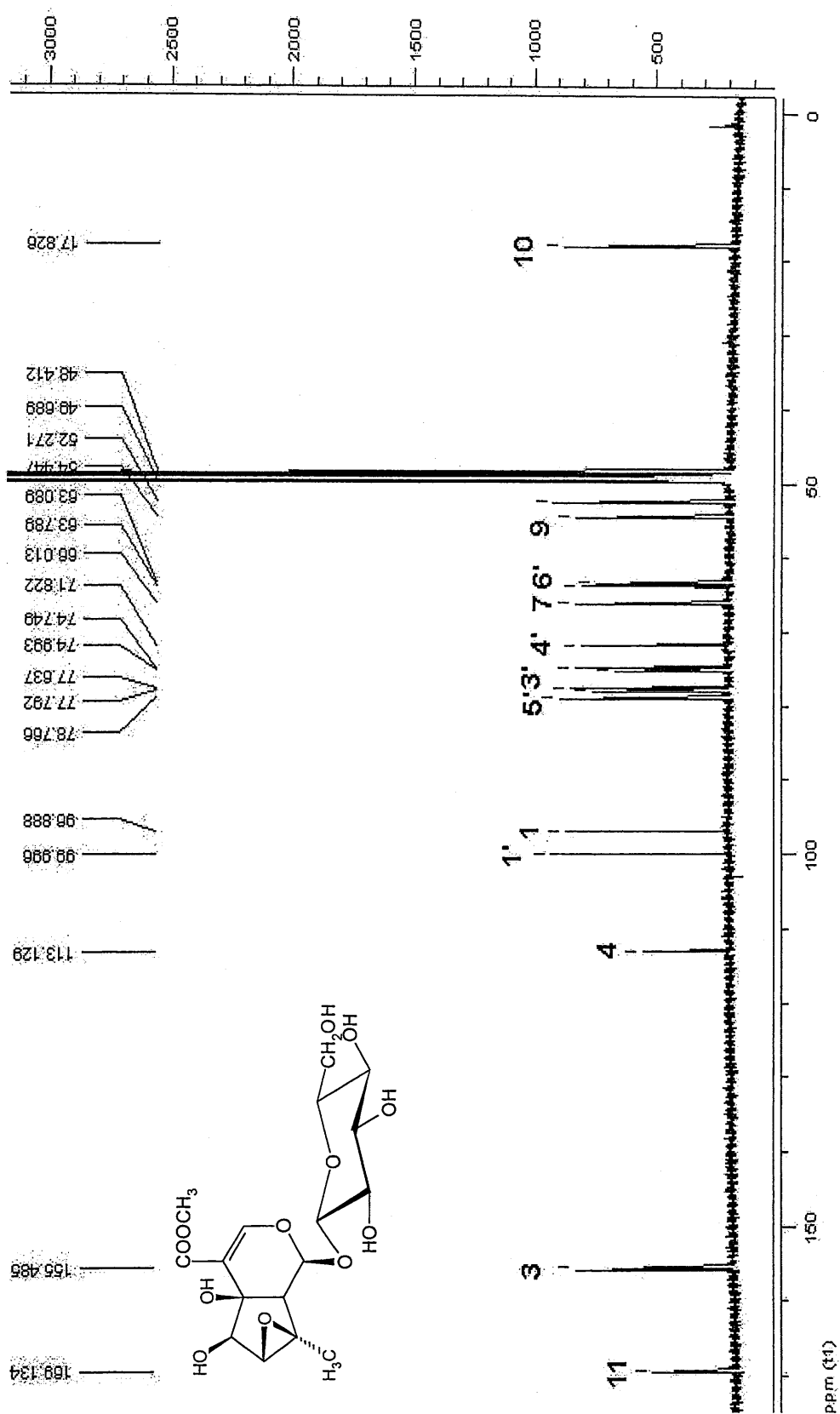
Bileşğin NOESY (Spektrum 37) analizinde H-1/H₃-10, H-6/H₃-10, H-7/H₃-10 ve H-6/H-7 protonları arasında gözlenen nOe etkileşimleri tüm bu protonların siklopentanpiran sisteminin aynı (α) yüzünde yer aldığını göstermektedir. Bu bulgulara ve literatürde (11, 12) benzer iridoitler için kayıtlı spektroskopik değerler ile yapılan karşılaştırmalara dayanarak C-6(OH) grubunun konfigürasyonu β olarak tayin edilmiştir.

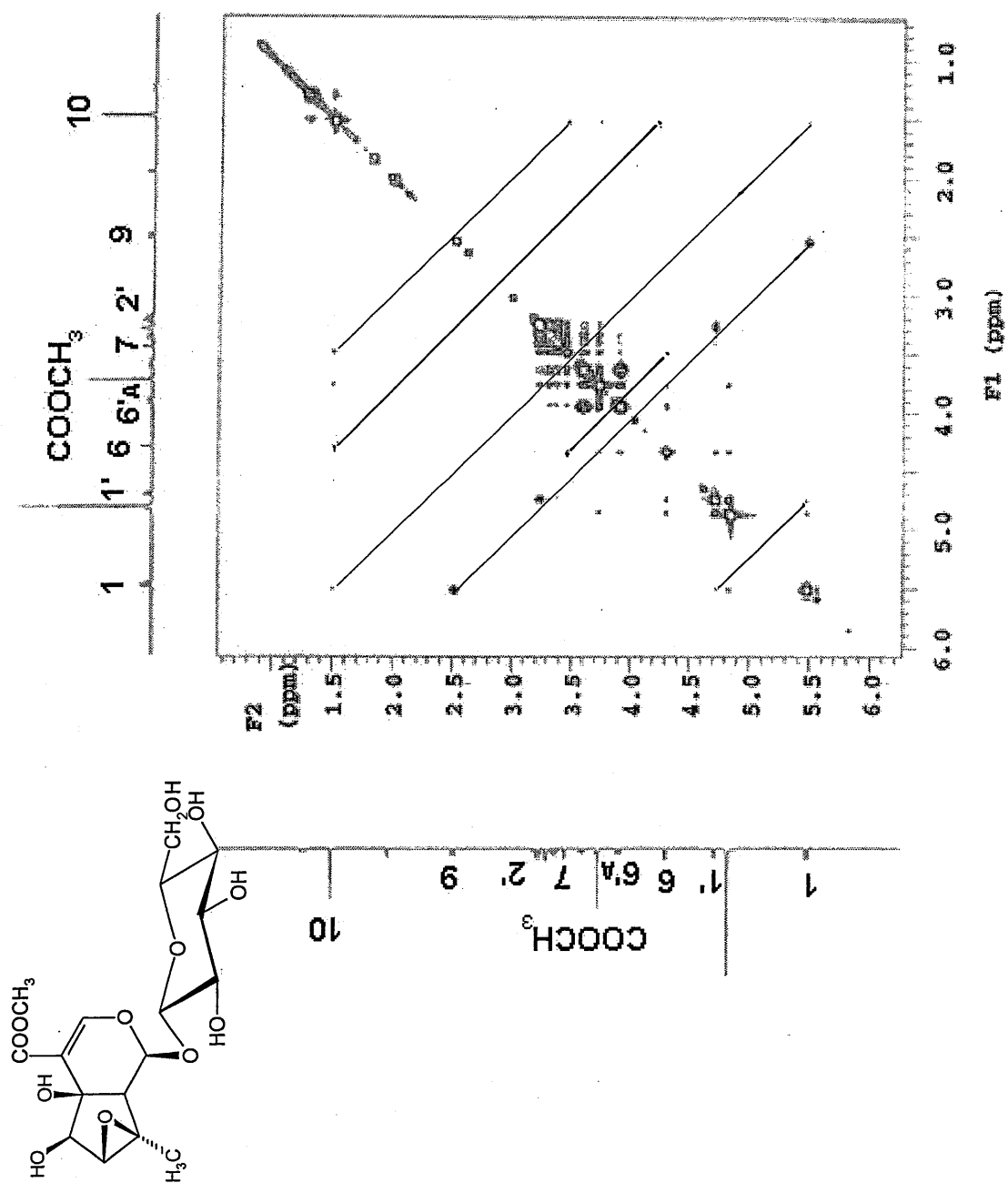
Spektroskopik verilerin değerlendirilmesi ve bulguların literatürdeki değerlerle uyuşması sonucunda, **LGL-7** bileşğinin yapısı sesamozit (48) olarak belirlenmiştir.

Tablo 19. Sesamozit (**LGL-7**) bileşiğinin ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) ve ^1H (400 MHz, CD_3OD) NMR spektroskopik değerleri.

C/H	δ_{C}	δ_{H}	J (Hz)
Aglikon			
1	96,9	5,49 <i>d</i>	(8,8)
3	155,5	7,58 <i>s</i>	
4	113,1		
5	74,9		
6	77,6	4,32 <i>gs</i>	
7	66,0	3,47 <i>gs</i>	
8	63,0		
9	54,5	2,52 <i>d</i>	(8,8)
10	17,8	1,51 <i>s</i>	
11	169,1		
COOCH ₃	51,9	3,75 <i>s</i>	
Glukoz			
1'	99,9	4,73 <i>d</i>	(8,0)
2'	74,8	3,23 <i>dd</i>	(9,2/8,0)
3'	77,8	3,38 <i>t</i>	(9,2)
4'	71,8	3,26 <i>t</i>	(8,4)
5'	78,8	3,32 <i>m</i>	
6'	63,1	3,93 <i>dd</i>	(11,6/1,6)
		3,62 <i>dd</i>	(11,6/6,8)





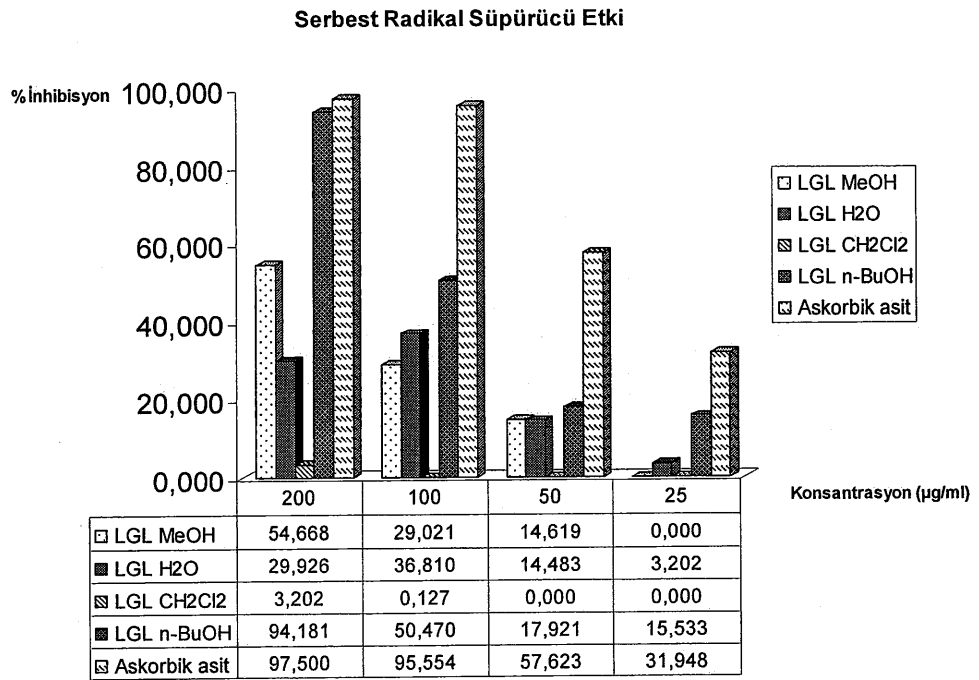


Spektrum 37. Sesamozit (LGL-7)'in 2D nOe Korelasyonlu Spektrumu (NOESY)

4.2. Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular

4.2.1. Serbest Radikal Süpürücü Etki Tayini Çalışmalarına Ait Bulgular

Lamium garganicum subsp. *laevigatum*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan MeOH, H₂O, CH₂Cl₂ ve *n*-BuOH ekstralarının, DPPH radikali kullanılarak yapılan serbest radikal süpürücü etki tayini çalışmalarında 200 mg/ml dozda askorbik asit ile karşılaştırılabilir sonuçlar elde edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre en yüksek radikal süpürücü etki *n*-BuOH ekstresinde gözlenmiştir. MeOH ve H₂O ekstralarında da etki gözlenmekle beraber, bu etkiler *n*-BuOH ekstresinden daha düşük bulunmuştur. CH₂Cl₂ ekstresi en düşük radikal süpürücü etki gösteren ekstre olarak dikkati çekmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. *L. garganicum* subsp. *laevigatum* ekstralarının serbest radikal süpürücü etkileri (*n* = 2).

4.2.2. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular

Lamium garganicum subsp. *laevigatum*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan MeOH, H₂O, CH₂Cl₂ ve *n*-BuOH ekstrlerinin antimikrobiyal etkilerine ait sonuçlar Tablo 20'de gösterilmiştir.

Tablo 20. *Lamium garganicum* subsp. *laevigatum*'dan hazırlanan ekstrlerinin antimikrobiyal aktiviteleri.

Ekstreler	Bakteriler / MiK (µg/ml)				Mantarlar / MiK (µg/ml)			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. parapsilosis</i>	
	ATCC 29213	ATCC 29212	ATCC 25922	ATCC 27853	ATCC 90028	ATCC 6258	ATCC 22019	
LGL MeOH	512	512	1024	1024	256	512	512	
LGL H ₂ O	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	
LGL CH ₂ Cl ₂	256	512	512	512	256	256	512	
LGL <i>n</i> -BUOH	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	
Ampisilin	1	8	2	-	-	-	-	
Flukonazol	-	-	-	-	1	64	8	

(-): Test edilmedi

Ekstrelerin antimikrobiyal aktiviteleri birbirleri ile karşılaştırıldığında CH₂Cl₂ ve MeOH ekstrlerinin test edilen mikroorganizmalara karşı diğer iki ekstreten daha yüksek bir aktivite (= düşük MİK değeri) gösterdiği gözlenmiştir. CH₂Cl₂ ekstresi özellikle bir gram pozitif bakteri (*Staphylococcus aureus*) ile iki maya benzeri mantara (*Candida albicans* ve *C. krusei*) karşı daha yüksek aktivite göstermiştir. MeOH ekstresinin ise çalışılan dört bakteriden *S. aureus* ve *Enterococcus faecalis* bakterilerine daha fazla etkili olduğu ve maya benzeri mantarlardan da en fazla *Candida albicans*'a karşı yüksek bir antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *n*-BuOH ve H₂O ekstrlerinin test edilen bakteri ve mantarlara karşı belirlenen MİK değerleri çalışılan aralıklarda çıkmamıştır.

TARTIŞMA

Bu çalışmada, Türkiye bitki örtüsünde doğal olarak yetişmekte olan *Lamium garganicum* subsp. *laevigatum*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan *n*-BuOH ekstresi, taşıdığı sekonder bileşenler yönünden araştırılmıştır. Ayrıca, bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan MeOH, H₂O, CH₂Cl₂ ve *n*-BuOH ekstrlerinin DPPH radikaline karşı serbest radikal süpürücü etkileri incelenmiş ve aynı ekstrelerin antimikrobiyal etkileri de 2 Gram (+) ve 2 Gram (-) bakteri ile 3 maya benzeri mantara karşı test edilmiştir.

Asya, Avrupa ve Afrika kıtalarında 40 kadar türle yayılmış olan *Lamium* cinsi Türkiye bitki örtüsünde 10 tanesi endemik olmak üzere, toplam 30 tür ile temsil edilmektedir. 6 *Lamium* türü de alttür veya varyete düzeyinde endemik bitkiler taşımaktadır (45). *L. garganicum* Akdeniz havzasındaki pek çok ülkede yayılış göstermekte ve bitki örtümüzde de 7 alttür ile kayıtlı bulunmaktadır. Bulgaristan, Yunanistan ve İtalya'da yetişmekte olan *L. garganicum* üzerinde yapılan kimyasal çalışmalar sonucunda bu türden çeşitli iridoitler elde edilmiş (5, 10) ve uçucu yağının yapısı aydınlatılmıştır (4). Ancak, İtalya ve Bulgaristan'da yetişen bitkiler sadece *L. garganicum* olarak kayıtlıdır ve bu çalışmalarda herhangi bir alttür belirtilmemiştir. Yunanistan'da yetişen bitkinin ise *L. garganicum* subsp. *laevigatum* olarak kayıt altına alındığı görülmektedir (49). Anabilim dalımızda *Lamium* türleri üzerinde başlatılan bir araştırma projesi kapsamında *L. eriocephalum* subsp. *eriocephalum* ve *L. garganicum* subsp. *pulchrum* üzerinde çalışmalar sürdürülmektedir. Bu çalışmamızda *L. garganicum* türünün bir diğer alttürü olan *L. garganicum* subsp. *laevigatum* bitkisinin toprak üstü kısımlarının taşıdığı iridoit bileşiklerinin aydınlatılması ve bitkinin değişik ekstrlerinin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışma materyali olarak *L. garganicum* subsp. *laevigatum*'un açık havada ve gölgede kurutulduktan sonra toz edilmiş toprak üstü kısımları kullanılmıştır. Toz edilmiş materyal 40 °C'de metanol ile ekstre edilmiş; bu işlem üç kez daha aynı şartlarda tekrarlanmıştır. Toplanan süzüntüler

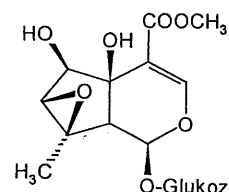
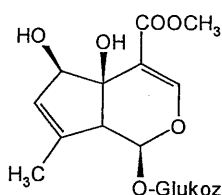
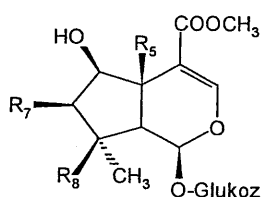
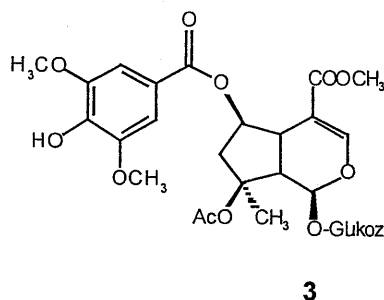
birleştirilerek rotavaporda, düşük ısıda ve alçak basınç altında kuruluğa kadar yoğunlaştırılmıştır (MeOH ekstresi, 27,1 g; % 9,51).

Ham metanol ekstresi suda çözüldükten sonra sırasıyla CH_2Cl_2 ve *n*-BuOH ile ekstre edilmiştir. *n*-BuOH ekstresi 40 °C'de kuruluğa kadar uçurulmuş ve liyofilize edilmiştir. (*n*-BuOH ekstresi, 20 g; % 7,02).

Kimyasal çalışmalar *n*-BuOH ekstresi üzerinde yürütülmüştür. Ekstre, bileşiminde yer alan fenolik ve fenolik olmayan bileşiklerin ayrılması amacıyla önce poliamit kolon kromatografisi sistemine uygulanarak bir ön ayırım işlemi gerçekleştirilmiştir. Poliamit kolon kromatografisi ile toplanan fraksiyonlar üzerinde gerçekleştirilen çeşitli kromatografik (açık kolon kromatografisi, vakumlu sıvı kromatografisi ve orta basınçlı sıvı kromatografisi) ayırım çalışmaları sonucunda 7 iridoit bileşiği (**LGL-1–7**) elde edilmiştir.

Spektroskopik (UV, IR, 1D-, 2D NMR ve kütle spektroskopisi) yöntemler yardımıyla yapılan yapı tayini çalışmaları sonucunda *Lamium garganicum* subsp. *laevigatum* bitkisinden elde edilen iridoit bileşiklerinin yapıları şanzizit metil ester (**LGL-1**), 8-O-asetilşanzizit metil ester (**LGL-2**), 6-O-siringil-8-O-asetilşanzizit metil ester (**LGL-3**), lamalbit (**LGL-5**), dehidropenstemozit (**LGL-6**) ve sesamozit (**LGL-7**) olarak tayin edilmiştir (Şekil 4).

Bu çalışmada elde edilen iridoit bileşiklerinin tümü C_{10} iridoit glukoziti yapısı göstermektedir. **LGL-1,2,4-7** bileşiklerinin UV spektrumlarında $\lambda_{\text{maks.}}$ 231-236 nm bölgesinde gözlenen absorpsiyon bantları C-4 sübstitüe iridoit enol-eter fonksiyonu için karakteristiktir. **LGL-3** bileşiğinin UV spektrumunda elde edilen değerler ($\lambda_{\text{maks.}}$ 278, 214 nm) ise bileşiğin yapısında C-4 sübstitüe bir iridoit iskeletinin yanı sıra aromatik bir ünitenin de yer aldığını işaret etmektedir. Tüm bileşiklerin IR spektrumlarında ortak olarak hidroksil (3400-3440 cm^{-1}), ester karbonili (1688-1710 cm^{-1}) ve konjuge enol-eter fonksiyonuna (1630-1645 cm^{-1}) ait absorpsiyon bantları gözlenmiştir.



Bileşik	R ₅	R ₇	R ₈
1	H	H	OH
2	H	H	AcO
4	OH	H	OH
5	H	OH	OH

Şekil 4. *Lamium garganicum* subsp. *laevigatum*'dan elde edilen iridoitler.

¹H NMR spektrumlarında H-3 protonuna ait sinyalin 7,41-7,58 ppm bölgesine kaymış bir *singlet* (**LGL-2** için: *d*, *J*= 1,4 Hz) şeklinde gözlenmiş olması ve bir metoksikarbonil (δ_H 3,69-3,75, 3H, *s*) grubuna ait sinyallerin varlığı, iridoit bileşiklerinin tümünün C-4 konumlarından bir metoksikarbonil grubu ile sübstitüe olduklarını göstermektedir.

Bileşiklerin taşıdıkları proton ve karbon atomları ile ilgili yorumlamalar ¹H ve ¹³C NMR analizlerinin yanı sıra 2D (DEPT, DQF-COSY, HSQC veya HMQC, HMBC) NMR ve NOESY analizleri yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

LGL-1-7 bileşiklerinin C-6 konumlarında bir sekonder hidroksil grubu yer almaktadır. Spektroskopik değerlendirmeler ve benzer yapıli iridoit bileşiklerinin spektroskopik verileri ile yapılan karşılaştırmalar ışığında C-6 konumunda yer alan C-6(OH) fonksiyonunun konfigürasyonu tüm bileşikler için β olarak tayin edilmiştir. Ayrıca, **LGL-3** bileşiğinin C-6 konumunda yer alan hidroksil grubunun bir siringil ünitesiyle esterleştiği görülmüştür. **LGL-1**, **4** ve **5** bileşiklerinin C-8 konumunda bir hidroksil grubu ile bir tersiyer metil (δ_H

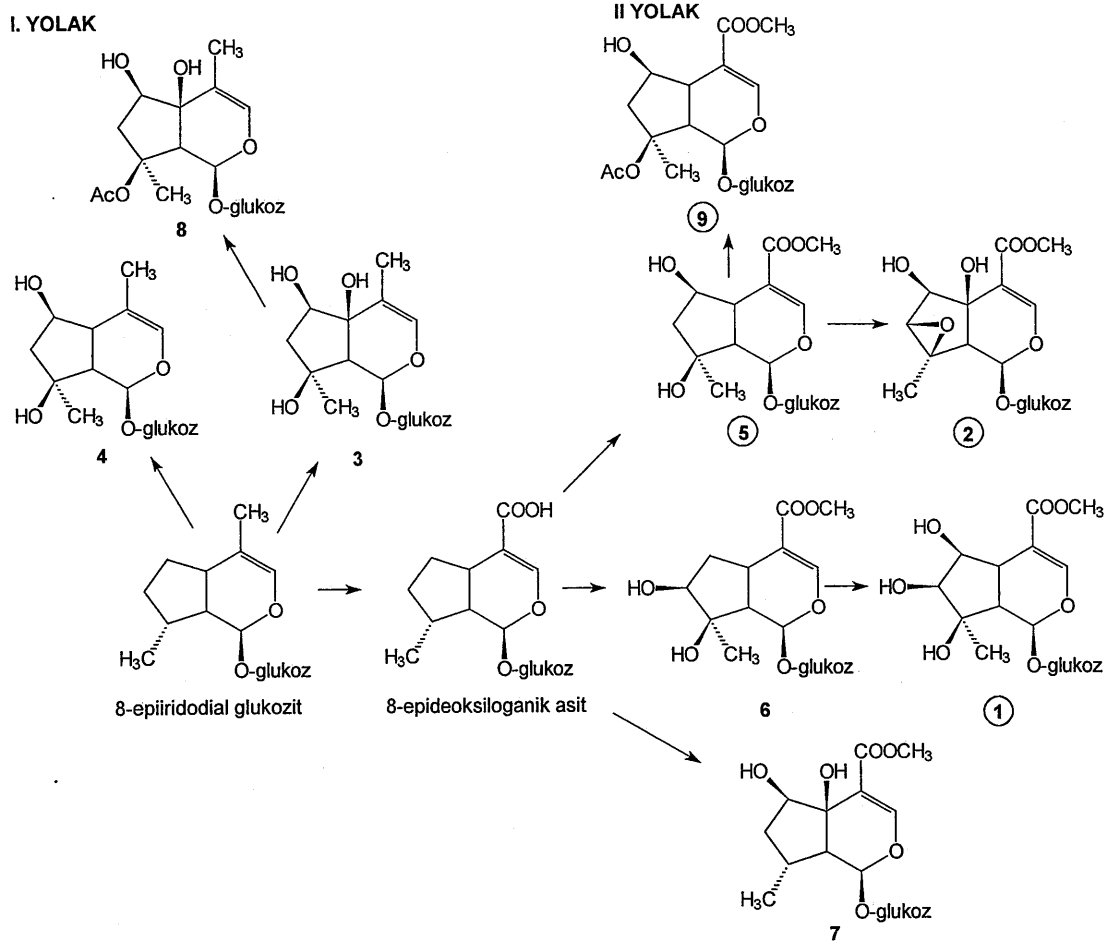
1,14-1,26, s) fonksiyonu birlikte yer alırken; **LGL-2** ve **LGL-3** bileşiklerinin C-8 konumlarında bir tersiyer metil grubu ile birlikte bir asetoksi (δ_H 1,91-2,03, s) fonksiyonu taşıdıkları anlaşılmıştır. **LGL-6** ve **LGL-7** bileşiklerinde ise C-7 ve C-8 karbonları arasında, sırasıyla, bir çifte bağ (δ_C 127,8, C-7 ve 143,5, C-8) ve bir epoksit grubu (δ_C 66,0, C-7 ve 63,0, C-8) yer almaktadır. Bu nedenle de her iki bileşiğin C-8 konumunda bir katerner metil grubu bulunmaktadır. İridoit bileşiklerinin tümü yapılarında bir β -glukopiranoz (δ_H 4,59-4,73 d, $J = 7,8-8,0$ Hz, H-1') ünitesi taşımaktadır. Glukozidasyon noktası tüm iridoit bileşikleri için C-1(OH) olarak belirlenmiştir.

L. garganicum türünden bugüne kadar elde edilen iridoit bileşiklerine bakıldığında İtalya'da yetişen örneklerden sadece 8-O-asetilşanzizit metil ester (**LGL-2**) (10) bileşiğinin elde edildiği; Bulgaristan'da yetişen *L. garganicum* bitkisinden ise 8-O-asetilşanzizit metil ester (**LGL-2**) ile birlikte şanzizit metil ester (**LGL-1**), lamalbit (**LGL-5**) ve sesamozit (**LGL-7**) adlı iridoitlerin elde edildiği görülmektedir (5, 7). *L. garganicum* subsp. *laevigatum* bitkisi üzerinde tamamlanan çalışmamızda ise İtalya ve Bulgaristan örneklerinden elde edilen iridoit bileşiklerine ek olarak 6-O-siringil-8-O-asetilşanzizit metil ester (**LGL-3**), 6 β -hidroksiipolamiit (**LGL-4**) ve dehidropenstemozit (**LGL-6**) bileşikleri de elde edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen iridoitlerin tümü doğadan daha önce elde edilmiş bileşiklerdir. Ancak, 6-O-siringil-8-O-asetilşanzizit metil ester (**LGL-3**), 6 β -hidroksiipolamiit (**LGL-4**) ve dehidropenstemozit (**LGL-6**) bir *Lamium* türünden ilk kez bu çalışmada elde edilmektedir. İçerik açısından bakıldığında Türkiye bitki örtüsünde yetişen bitkinin, İtalya ve Bulgaristan örneklerinden daha zengin olduğu söylenebilir. Ancak, yine de alttür düzeyinde bir karşılaştırma yapmak mümkün olamamaktadır.

Lamium türleri taşıdıkları 11-COOCH₃ veya 11-CH₃ tipi iridoit glukozitleri ile karakterize olan bitkileridir. Bu tip iridoit bileşiklerinin türler arasındaki dağılımının incelenmesinin biyogenetik açıdan önemli olduğu ve cinsin kemotaksonomisi ile ilgili çalışmalarda belirleyici unsurlar olabileceği kabul edilmektedir (5, 6). Öte yandan, Wink ve Kauffmann (63)'ın sonuçlarına göre *Lamium* türleri, kimyasal yapılarında yer alan 11-COOCH₃ veya 11-CH₃

sübstitüe iridoit glukozitlerin yoğunluğuna bağlı olarak iki ana grupta toplanırlar. Bu sınıflamaya göre *L. garganicum* taşıdığı 11-COOCH₃ tipi iridoit glukozitleri nedeniyle I. grupta yer almaktadır. *Lamium* türlerinde bulunan iridoitlerin biyosentezleri iridodialden başlayan iki ayrı yolak üzerinden tamamlandığı bilinmektedir (35). Şanzizit metil ester, 8-O-asetilşanzizit metil ester (= barlerin), lamalbit ve sesamozit gibi 11-COOCH₃ sübstitüe iridoitler 8-*epi*-deoksiloganik asit üzerinden yürüyen bir yolaktan sentezlenirken; 11-CH₃ grubu taşıyan iridoitler ise 8-*epi*-iridodial üzerinden oluşurlar (6, 21) (Şekil 5). *L. garganicum* subsp. *laevigatum* üzerindeki çalışmalarımız sonucunda bitkiden elde edilen iridoit glukozitlerinin tümünün 11-COOCH₃ grubu taşıyan bileşikler olması, yukarıdaki sınıflandırmayı ve *Lamium* iridoitlerinin biyosentezlerine ilişkin kuramları desteklemektedir.

İridoitlerin siklopentan ve piran halka sistemlerinin bağlantısının β,β -*cis* bağlantısı şeklinde olduğu görüşü uzun yıllardır geçerliğini koruyan bir değerlendirme olarak benimsenmiştir. Bu nedenle de iridoitlerin C-5 ve C-9 karbonları üzerinde yer alan sübstitüentlerin stereokimyası çoğunlukla ¹H ve ¹³C NMR spektroskopik verilerinin yorumlanması, kimyasal doğrulama yöntemlerinin kullanılması veya stereokimyasal yapısı bilinen bileşikler ile yapılan karşılaştırmalar sonucunda belirlenmiştir. 1980'li yılların başlarından itibaren 2D NMR tekniklerindeki gelişmelerin ışığında, NOESY analizleri de stereokimyasal yapının tayin edilmesi için kullanılmaya başlanmıştır. Ancak, ilerleyen dönemlerde *Penstemon* türleri gibi bazı bitkilerden H-5/H-9 *cis*-bağlı iridoitlerin yanı sıra, H-5/H-9-*trans* bağlı iridoitlerin de elde edilmesi (30-32, 41, 42) iridoitlerin stereokimyası ile ilgili çalışmalara yeni bir boyut getirmiştir.



Şekil 5. *Lamium* türlerinde bulunan iridoitlerin olası biyosentez yolları (7).

1: lamalbit, 2: sesamozit, 3: lamiol, 4: 5-deoksilamiol, 5: şanzizit metil ester, 6: karyoptozit, 7: penstemozit, 8: lamiozit, 9: barlerin (= 8-O-asetilşanzizit metil ester).

Yakın dönemde *Eremostachys glabra* (Lamiaceae) bitkisinden elde edilen 6,9-*epi*-8-O-asetilşanzizit metil ester, 5,9-*epi*-7,8-didehidropenstemozit ve 5,9-*epi*-penstemozit adlı iridoit glukozitlerinin stereokimyalarına ait değerlendirmeler bileşiklerin $^1\text{H}, ^1\text{H}$ NOESY analizlerine dayanılarak yapılmıştır (24). Bu çalışmada 6,9-*epi*-8-O-asetilşanzizit metil ester bileşiğinin NOESY analizinde H-1, H-9 ve H₃-10 proton rezonansları arasında gözlenen nOe etkileşimleri nedeniyle her iki protonun konfigürasyonu da α olarak belirlenmiştir. H-5 ve H-6 protonlarının konfigürasyonlarının tayininde de yine bu iki protonun sinyalleri arasında gözlenen nOe etkileşimlerinden hareket edilmiş ve protonların β konfigürasyona sahip oldukları belirtilmiştir. Benzer şekilde 5,9-*epi*-penstemozit bileşiğinin stereokimyasının belirlenmesinde de H-1, H-6 ve H-9 proton rezonansları arasında gözlenen nOe

etkileşmelerinin görülebileceği belirtilmektedir (32). *Leonurus persicus* bitkisinden elde edilen 6-O-asetilajugol ve 7,8-epoksi-8-*epi*-loganik asit üzerinde gerçekleştirilen moleküler modelleme ve X-ışını kristalografisi analizleri sonucunda da iridoitlerin siklopentanpiran halka sisteminde yer alan H-1(α)/H-9(β) veya H-5(β)/H-6(α) protonlarının bazı durumlarda uzayda birbirlerine yakınlaşabildikleri ve aralarında beklenmedik bazı nOe etkileşmelerinin görülmesinin mümkün olabileceği gösterilmiştir. Bu nedenle de iridoitlerin stereokimyası konusundaki çalışmalarda 1,2 NOESY analizlerinin çok iyi yorumlanmasının gerektiği ve mümkün olan durumlarda 1,3 nOe etkileşmelerinin değerlendirilmesinin daha uygun olacağı; ayrıca stereokimyasal yorumlamaların moleküler modelleme, X-ışınları kristalografisi gibi çalışmalarla da desteklenmesinin daha kesin sonuçlar sağlayacağı vurgulanmaktadır (57). Nitekim, son dönemlerde gerçekleştirilen bir başka çalışmada, *Eremostachys glabra*'dan daha önce elde edildikleri açıklanan epimer iridoitlerin NOESY analizlerinde gözlenen bazı nOe etkileşmelerine karşın, aslında epimer bileşikler olmadıkları ve bilinen yapılardaki iridoit glukozitleri oldukları açıklanmıştır (36).

L. garganicum subsp. *laevigatum* üzerinde yürüttüğümüz bu çalışmada elde edilen 8-O-asetilşanzizit metil ester (**LGL-2**) ve dehidropenstemozit (**LGL-6**) bileşiklerinin NMR verileri, Delazar ve arkadaşları (24) tarafından *E. glabra* bitkisinden elde edilen 6,9-*epi*-8-O-asetilşanzizit metil ester ve 5,9-*epi*-7,8-didehidropenstemozit bileşiklerinin spektroskopik verileri ile çok büyük bir uyum göstermektedir. Ayrıca, her iki bileşiğin NOESY analizlerinde de H-1/H-9 protonlarının rezonansları arasında nOe etkileşmeleri görülmüştür. Bu nedenle başta her iki bileşiğin de 9-epimer iridoit yapısında oldukları düşünülmüştür. Ancak, yukarıda özetlenen stereokimyasal çalışmaların ışığında yapılan değerlendirmeler sonucunda, her iki iridoit bileşiğinin H-9 protonunun konfigürasyonu da, H-1/H-9 rezonansları arasında gözlenen nOe etkileşmelerine karşılık, β olarak belirlenmiştir. Bileşiklerinin yapısında yer alan C-6(OH) gruplarının stereokimyasının belirlenmesinde ise benzer iridoitlerin ^{13}C NMR verileri ile yapılan karşılaştırmalardan hareket edilmiştir. **LGL-2** ve **LGL-6** bileşiklerine

belirlenmiştir. Bileşiklerinin yapısında yer alan C-6(OH) gruplarının stereokimyasının belirlenmesinde ise benzer iridoitlerin ^{13}C NMR verileri ile yapılan karşılaştırmalardan hareket edilmiştir. **LGL-2** ve **LGL-6** bileşiklerine ait bu değerlendirmelerimiz, bileşiklerin optik çevirme değerlerinin literatürde kayıtlı değerlerle uyum göstermesiyle de desteklenmiştir. *L. garganicum* subsp. *laevigatum*'dan elde edilen diğer iridoit bileşiklerinin (**LGL1, 3-5, 7**) yapısında yer alan şiral merkezlerin konfigürasyonları da yukarıdaki iki bileşikte olduğu gibi belirlenmiş; ayrıca **LGL 4, 6 ve 7** bileşiklerinin C-6(OH) fonksiyonlarının konfigürasyonlarının belirlenmesinde NOESY analizlerinden de yararlanmıştır. Varılan sonuçlar, bileşiklerin NMR verilerinin yanı sıra, optik çevirme değerlerinin de literatürde verilen değerlerle uyum göstermesi sonucunda doğrulanmıştır.

Lamium türlerinin sahip oldukları biyolojik aktivitelerinin bir bölümü serbest radikal süpürücü ve antioksidan özelliklerinden kaynaklanmaktadır (44, 58). Bu çalışmamızda *L. garganicum* subsp. *laevigatum* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan 4 ekstrenin (metanol, su, diklorometan, *n*-butanol) 2,2,-difenil-1-pikril-hidrazil (DPPH) serbest radikale karşı süpürücü etkileri askorbik asit ile karşılaştırılarak test edilmiştir. Sonuçlar Tablo 21'de verilmiştir.

Tablo 21. *L. garganicum* subsp. *laevigatum*'dan hazırlanan ekstrelerin serbest radikal süpürücü etkileri (%).

Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	200	100	50	25
LGL MeOH	54,7	29,0	14,6	0,0
LGL H ₂ O	29,9	36,8	14,5	3,2
LGL CH ₂ Cl ₂	3,2	0,1	0,0	0,0
LGL <i>n</i> -BuOH	94,2	50,5	17,9	15,5
Askorbik asit	97,5	95,6	57,6	31,9

Test çalışmaları sonucunda en yüksek serbest radikal süpürücü etki *n*-BuOH ekstresinde ve 200 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda gözlenmiştir. Bu konsantrasyonda *n*-BuOH ekstresinin radikal süpürücü etkisi referans madde olarak kullanılan askorbik asidin etkisine çok yakın bir değerde bulunmuştur. MeOH ve H₂O ekstrelerinde de yine 200 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda belirgin bir

etki görülmekle birlikte elde edilen değerler *n*-BuOH ekstresinin değerlerinden daha düşük çıkmıştır. Daha düşük konsantrasyonlarda da etkili ekstrenin yine *n*-BuOH ekstresi olduğu; ancak elde edilen değerlerin askorbik asite göre oldukça düşük çıktığı gözlenmiştir.

Flavonoitler ve feniletanoit glikozitleri gibi serbest OH grubu taşıyan fenolik yapıli bileşikler tıbbi bitkilerin gösterdikleri serbest radikal süpürücü ve diğer antioksidan etkilerinden sorumlu bileşikler olarak kabul edilirler (16, 34, 61, 65). Iridoit bileşikleri ise fenolik bir yapıya sahip olmadıkları için böyle bir etki göstermezler (65). Bileşiklerin bulundukları ortamdaki çözünürlükleri de aktivitelerini etkileyen bir başka önemli konu olarak değerlendirilir. Fenolik yapı taşıyan glikozidik bileşikler, bu yapısal özellikleri nedeniyle *n*-BuOH çözeltisi içerisinde daha yoğun olarak çözünürler. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar, *L. garganicum* subsp. *laevigatum* bitkisinin serbest radikal süpürücü etkisinin bulunduğunu ortaya koyması bakımından diğer *Lamium* türlerine ait literatür bilgileri ile uyum göstermektedir. *L. garganicum* subsp. *laevigatum* bitkisi esas olarak iridoit bileşikleri bakımından zengin bir bitki olarak değerlendirilmekle beraber, izolasyon çalışmaları sırasında poliamit kolondan elde edilen ve bu çalışma kapsamında çalışılmayan fraksiyonlarda bulundukları belirlenen bazı fenolik bileşiklerin gözlenen serbest radikal süpürücü etkiden sorumlu oldukları düşünülmektedir. Nitekim aralarında *L. garganicum* subsp. *laevigatum* bitkisinin de yer aldığı bazı *Lamium* türlerinin MeOH, H₂O CH₂Cl₂ ve *n*-BuOH ekstrelerinin antioksidan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, çalışılan 4 *Lamium* türünün de serbest radikal süpürücü etki gösterdiği ve bitkilerin *n*-BuOH ekstrelerinin serbest radikal süpürücü etkilerinin diğer ekstrelerinin süpürücü etkilerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir (37).

Lamium garganicum subsp. *laevigatum* bitkisinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması amacıyla topraküstü kısımlarından hazırlanan H₂O, MeOH, CH₂Cl₂ ve *n*-BuOH ekstrelerinin iki gram pozitif, iki gram negatif bakteri ve üç maya benzeri mantara karşı yapılan testlerinde CH₂Cl₂ ve MeOH ekstrelerinin özellikle maya benzeri mantarlara karşı daha bir yüksek aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. CH₂Cl₂ ekstresi özellikle *Staphylococcus*

aureus, *Candida albicans* ve *C. krusei*'ye karşı yüksek aktivite göstermiştir. MeOH ekstresi ise *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis* bakterilerine karşı daha etkili bulunmuştur. Ancak, iki ekstrenin söz konusu antibakteriyel etkileri de referans olarak kullanılan antibiyotik maddelerin etkilerine göre oldukça düşük bulunmuştur. *n*-BuOH ve H₂O ekstrelerinin ise test edilen bakteri ve mantarlara karşı, çalışılan aralıklarda, etkili olmadıkları gözlenmiştir. *Lamium* türleri üzerinde yapılan çalışmalarda, bitkinin uçucu yağlarının antibakteriyel etkilerinin bulunduğu belirtilmektedir (49). Bu açıdan bakıldığında *L. garganicum* subsp. *laevigatum* bitkisinin uçucu yağının bileşiminde yer alan terpenik bileşiklerin bitkinin MeOH ve özellikle de CH₂Cl₂ ekstrelerinde daha yoğun bulunması beklenir. Nitekim, antimikrobiyal aktivite çalışmalarında elde edilen sonuçlar da bu düşüncemizi desteklemektedir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Lamium garganicum subsp. *laevigatum* bitkisi üzerinde gerçekleştirilen fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları bu bitkinin iridoit glukozitleri bakımından, Avrupa'da yetişen *Lamium garganicum* türlerinden daha zengin olduğunu ve doza bağlı olarak serbest radikal süpürücü ve antimikrobiyal etkilerinin bulunduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlar bitkinin halk ilacı olarak kullanılan diğer *Lamium* türleri ile yapı ve etki yönünden benzer olduğunu ve aynı amaçlarla kullanılabileceğini işaret etmektedir.

Bu çalışmada *L. garganicum* subsp. *laevigatum*'un sadece iridoit içeriği aydınlatılmıştır. Bu nedenle de öncelikli olarak bitkinin kimyasal yapısında yer alan diğer bileşiklerin de elde edilerek yapılarının aydınlatılması ve bitkinin genel kimyasal yapısının belirlenmesi gerekmektedir.

L. garganicum subsp. *laevigatum* türü iridoit içeriği açısından, aynı iklim kuşağında yer alan ve benzer bir bitki örtüsüne sahip olan Yunanistan, Bulgaristan ve İtalya gibi ülkelerde doğal olarak yetişen kardeş türlerden daha zengin bulunmuştur. Bu zenginliğin Türkiye bitki örtüsünde yetişen diğer *Lamium* türlerinde de gözlenebileceğini varsaymak çok da yanlış bir düşünce olmayacaktır. Anabilim dalımızda uzun yıllardır Lamiaceae bitkieri üzerinde sürdürülen araştırmalar sonucunda gerek deneyim ve bilgi birikimi yönünden ve gerekse araştırmalarda uygulanacak yöntemler açısından yeterli bir düzeye ulaşılmıştır. Dolayısıyla bundan sonraki aşamada, *L. garganicum* türünün bitki örtümüzde kayıtlı diğer alt türlerinin de belirli bir çalışma programı çerçevesinde incelenerek kimyasal yapılarının ve biyolojik aktivitelerinin açıklanması yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Abuzaina, A.E.S., Handjieva, N., Popov, S. ve Evstatieva, L. (1993). Volatile constituents from *Lamium maculatum* leaves and *Nepeta mussini* roots. Dokladi na Bolgarskata Akademiya na Naukite, 46, 37-39. Ref: C.A. 121: 276682 (1993).
2. Achenbach, H., Waibel, R., Raffelsberger, B. ve Addae-Mensah, I. (1981). Iridoid and other constituents of *Canthium subcordatum*. *Phytochemistry*, 20(7), 1591-1595.
3. Agostini, A., Guiso, M., Marini-Bettolo, R. ve Martinazzo, G. (1982). 5-Deoxylamioside, a new iridoid glucoside from *Lamium amplexicaule* L. and reassignment of OH-6 configuration of ajugol. *Gazzetta Chimica Italiana*, 112, 9-12.
4. Alipieva, K.I., Evstatieva, L., Handjieva, N. ve Popov, S. (2003). Comparative analysis of the composition of flower volatiles from *Lamium* L. species and *Lamiastrum galeobdolon* Heist. ex Febr.. *Zeitschrift Fur Naturforschung C*, 58c(11-12), 779-782.
5. Alipieva, K.I., Taskova, R.M., Evstatieva, L.N., Handjieva, N.V. ve Popov, S.S. (2003). Benzoxazinoids and iridoid glucosides from four *Lamium* species. *Phytochemistry*, 64(8), 1413-1417.
6. Alipieva, K.I., Taskova, R.M., Jensen, S.R. ve Handjieva, N.V. (2006). Iridoid glucosides from *Lamium album* and *Lamium maculatum* (Lamiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 34(1), 88-91.
7. Alipieva, K.I., Kokubun, T., Taskova, R., Evstatieva, L. ve Handjieva, N.V. (2007). LC-ESI-MS analysis of iridoid glucosides in *Lamium* Species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35(1), 17-22.
8. Baytop, T. (1999). *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün)* (II. Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.
9. Bianco, A., Guiso, M., Iavarone, C., Marini-Bettolo, R. ve Trogolo, C. (1976). Iridoids XXI. The stereochemistry of ipolamiide and the structure of its natural 8-O-acetyl derivative, ipolamiidoside. *Gazzetta Chimica Italiana*, 106, 947-953.
10. Bianco, A., Melchioni, C., Ramunno, A. ve Serafini, M. (2003). Iridoid glucosides from *Lamium garganicum* flowers. *Natural Product Research*, 17(4), 225-227.
11. Bianco, A., Passacantilli, P., Polidori, G., Nicoletti, M. ve Messana, I. (1983). NMR spectroscopy of epimeric pairs of glucosidic iridoids. *Gazzetta Chimica Italiana*, 113, 829-834.
12. Boros, C.A. ve Stermitz, F.R. (1990). Iridoids. An updated review. Part I. *Journal of Natural Products*, 53(5), 1055-1147.

13. Bremness, L. (1995). *The Complete Book of Herbs*. Londra: Dorling Kindersley.
14. Brieskorn, C.H. ve Ahlborn, R. (1973). Lamalbid, ein neues Iridoid aus Flores Lamii Albi. *Tetrahedron Letters*, 41, 4037-4038.
15. Budzianowski, J. ve Skrzypczak, L. (1995). Phenylpropanoid esters from *Lamium album* flowers. *Phytochemistry*, 38(4), 997-1001.
16. Çakır, A., Mavi, A., Yıldırım, A., Duru, M.E., Harmandar, M. ve Kazaz, C. (2003). Isolation and characterization of antioxidant phenolic compounds from the aerial parts of *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fractionation. *Journal of Ethnopharmacology*, 87, 73-83.
17. Chudnicka, A. ve Matysik, G. (2005). Research of enzymatic activities of fresh juice and water infusions from dry herbs. *Journal of Ethnopharmacology*, 99, 281-286.
18. Damtoft, S. (1992). Iridoid glucosides from *Lamium album*. *Phytochemistry*, 31(1), 175-178.
19. Damtoft, S. ve Jensen, S.R. (1995). Hemialboside, a hemiterpene glucoside from *Lamium album*. *Phytochemistry*, 39(4), 923-924.
20. Damtoft, S., Jensen, S.R. ve Nielsen, B.J. (1982). Structural revision of barlerin and acetyl barlerin. *Tetrahedron Letters*, 23(40), 4155-4156.
21. Damtoft, S., Jensen, S.R. ve Nielsen, B.J. (1992). Biosynthesis of iridoid glucosides in *Lamium album*. *Phytochemistry*, 31(1), 135-137.
22. Davis, P.H. (1982). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (Cilt VII). Edinburgh: University Press.
23. De Luca, C., Guiso, M. ve Martino, C. (1983). 6 β -hydroxyipolamiide, an iridoid glucoside from *Stachytarpheta mutabilis*. *Phytochemistry*, 22(5), 1185-1187.
24. Delazar, A., Byres, M., Gibbons, S., Kumarasamy, Y., Modarresi, M., Nahar, L., Shoeb, M. ve Sarker, S.D. (2004). Iridoid glycosides from *Eremostachys glabra*. *Journal of Natural Products*, 67(9), 1584-1587.
25. Deng Y.R., He L., Li W.Q. ve Wang H.Q. (2003). Studies on chemical constituents in herb of *Lamium maculatum* L. var. *kansuense*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 28(8), 730-732, Ref: C.A. 142: 276784 (2005).
26. Deng Y.R., Ding L., Wu S.X. ve Wang H.Q. (2005). Studies on chemical constituents in herb of *Lamium maculatum* var. *kansuense* (II). *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 30(4), 272-274. Ref: SciFinder AN: 2006 725494. Erişim: 5 Aralık 2006, PubMed.
27. Eigtved, P., Jensen, S.R. ve Nielsen, B.J. (1974). A Novel iridoid glucoside isolated from *Lamium album* L.. *Acta Chemica Scandinavica B*, 28, 85-91.

28. Ersöz, T., Schühly, W., Popov, S., Handjieva, N., Sticher, O. ve Çalış, İ. (2001). Iridoid and phenylethanoid glycosides from *Phlomis longifolia* var. *Longifolia*. *Natural Product Letters*, 15(5), 345-351.
29. Flamini, G., Cioni, P.L. ve Morelli, I. (2005). Composition of the essential oils and in vivo emission of volatiles of four *Lamium* species from Italy: *L. purpureum*, *L. hybridum*, *L. bifidum* and *L. amplexicaule*. *Food Chemistry*, 91 63-68.
30. Foderaro, T.A. ve Stermitz, F.R. (1992). Chemistry of the Scrophulariaceae. 24. Iridoid glycosides from *Penstemon* species: A C-5, C-9 trans iridoid and C-8 epimeric pairs. *Phytochemistry*, 31(12), 4191-4195.
31. Foderaro, T.A., Stermitz, F.R. ve Hope, H. (1992). (5 α H)-6-Epidihydrocornin, the first known iridoid glycoside with a transfused ring system. *Tetrahedron Letters*, 33(21), 2953-2954.
32. Franzyk, H., Jensen, S.R. ve Stermitz, F.R. (1998). Iridoid glucosides from *Penstemon secundiflorus* and *P. grandiflorus*: Revised structure of 10-hydroxy-8-epihastatoside. *Phytochemistry*, 49(7), 2025-2030.
33. Guiso, M. ve Martino, C. (1983). 6-Deoxylamioside, a new iridoid glucoside from *Lamium amplexicaule*. *Journal of Natural Products*, 46(2), 157-160.
34. Harput, Ü.Ş., Çalış, İ., Saraçoğlu, İ., Dönmez, A.A. ve Nagatsu, A. (2006). Secondary metabolites from *Phlomis syriaca* and their antioxidant activities. *Turkish Journal of Chemistry*, 30, 383-390.
35. Inouye, H., Ueda, S. ve Uesato, S. (1977). Intermediacy of iridodial in the biosynthesis of some iridoid glucosides. *Phytochemistry*, 16, 1669-1675.
36. Jensen, S.R., Çalış, İ., Gottfredsen, C.H. ve Sørensen, I. Structural revision of some recently published iridoid glucosides. *Journal of Natural Products*. (baskıda).
37. Kaya, D., Yalçın, F.N., Kılıç, E., Özalp, M., Ersöz, T. ve Çalış, İ. (Eylül 2006). Antioxidant and antimicrobial activities of some *Lamium* species [Poster]. 9th Eurasia Conference on Chemical Sciences, Antalya.
38. Kaynak, G., Daşkın, R. ve Yılmaz, Ö. (2005). *Bursa Bitkileri* (T.C. Uludağ Üniversitesi Kent Tarihi ve Araştırmaları Merkezi, Yayın No. 2). Bursa: F. Özsan Matbaası.
39. Kobayashi, S., Mima, A., Kihara, M. ve Imakura, Y. (1986). Iridoid glucosides from *Lamium amplexicaule*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 34(2), 876-880.
40. Kory, M., Hodisan, V., Toader, S. ve Gugu, P. (1982). Pharmacodynamic studies on *Lamium album* L. Species. *Clujul Medical*, 55(2), 156-160, Ref: C.A. 98: 46480, 1983.

41. Krull, R.E. ve Stermitz, F.R. (1998). Trans-fused Iridoid glycosides from *Penstemon mucronatus*. *Phytochemistry*, 49(8), 2413-2415.
42. Krull, R.E., Stermitz, F.R., Franzyk, H. ve Jensen, S.R. (1998). Iridoid glycoside biosynthesis in *Penstemon secundiflorus*. Another H-5, H-9 trans-iridoid glycoside. *Phytochemistry*, 49(6), 1605-1608.
43. Kurihara, T. ve Kikuchi, M. (1976). The constituents of the essential oil from *Lamium purpureum* L.. *Yakugaku Zasshi*, 96(11), 1348-1351; Ref: C.A. 86: 60395, 1977.
44. Matkowsi, A. ve Piotrowska, M. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from Lamiaceae. *Fitoterapia*, 77, 346-353.
45. Mill, R. R. (1982). *Lamium* L. P.H. Davis (Ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (Cilt VII, s. 126-148). Edinburgh: University Press.; Duman, H. (2000). *Lamium* L. A. Güner, N. Özhatay, T. Ekim, K.H.C. Başer (Ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (Cilt XI (Suppl. 2), s. 199-200). Edinburgh: University Press.
46. Nicoletti, M., Chappya, W.A., Messana, I., Galeffi, C., Sperandei, M. ve Marini-Bettolo, G. B. (1984). Research on African medicinal plants. VII. New iridoid glucosides from two Rubiaceae: *Mussaenda arcuata* Lam. and *Tarenna graveolens* (S. Moore) Bremek. *Gazzetta Chimica Italiana*, 114, 49-53.
47. Paduch, R., Wójciak-Kosior, M. ve Matysik, G., Investigation of biological activity of *Lamii albi* flos extracts, *Journal of Ethnopharmacology*, doi:10.1016/j.jep. 2006.09.004. Erişim: 17 Eylül 2006, ScienceDirect.
48. Potterat, O., Msonthi, J.D. ve Hostettmann, K. (1988). Four iridoid glucosides and a phenylpropanoid glycoside from *Sesamum angolense*. *Phytochemistry*, 27(8), 2677-2679.
49. Roussis, V., Chinou, I., Perdetzoglou D. ve Loukis, A. (1996). Identification and bacteriostatic activity of the essential oil of *Lamium garganicum* L. subsp. *laevigatum* Arcangeli. *Journal of Essential Oil Research*, 8(3), 291-293.
50. Saito, N. ve Harborne, J.B. (1992). Correlations between anthocyanin type pollinator and flower colour in the Labiatae. *Phytochemistry*, 31(9), 3009-3015.
51. Sarker, S.D., Dinan, L., Šik V. ve Rees, H. (1997). 9 ζ -O- β -D-Glucopyranosyloxy-5-megastigmen-4-one from *Lamium album*. *Phytochemistry*, 45(7), 1431-1433.
52. Savchenko, T., Blackford, M., Sarker, S.D. ve Dinan, L. (2001). Phytoecdysteroids from *Lamium* spp: Identification and distribution within plants. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29(9), 891-900.

53. Scarpati, M.L. ve Guiso, M. (1967). Lamioside from *Lamium amplexicaule*. *Tetrahedron*, 22, 4709-4718.
54. Shuya, C., Xingguo, C. ve Zhide, H. (2003). Identification and determination of ecdysone and phenylpropanoid glucoside and flavonoids in *Lamium maculatum* by capillary zone electrophoresis. *Biomedical Chromatography*, 17, 477-482.
55. Tanaka, T., Tanaka, O., Lin, Z-W., Zhou, J. ve Ageta, H. (1983). Sweet and bitter glycosides of the Chinese plant drug, Bai-Yun-Shen. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 31(2) 780-783.
56. Tanaka, T., Tanaka, O., Lin, Z.W. ve Zhou, J. (1985). Sweet and bitter principles of the Chinese plant drug, Bai-Yun-Shen: Revision of the assignment of the source plant and isolation of two new diterpene glycosides. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 33(10), 4275-4280.
57. Taşdemir, D., Scappoza, L., Zerbe, O., Linden, A., Çalış, İ. ve Sticher, O. (1999). Iridoid glycosides of *Leonurus persicus*. *Journal of Natural Products*, 62(6), 811-816.
58. Trouillas, P. Calliste, C.-A., Allais, D.-P., Simon, A., Marfak, A., Delge, C. ve Duroux, J.-L. (2003). Antioxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas. *Food Chemistry*, 80, 399-407.
59. Wayne, P.A. (1997). *National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*. Approved Standard M7-A4.
60. Wayne, P.A. (1997). *National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Methods for dilution antifungal susceptibility tests for yeasts*. Approved Standard M27-A4.
61. Weng, X.C. ve Wang, W. (2000). Antioxidant activity of compounds isolated from *Salvia plebeia*. *Food Chemistry*, 71, 489-493.
62. Willis, J.C. (1973). *A Dictionary of Flowering Plants and Ferns* (VIII. Baskı). Cambridge: Cambridge University Press.
63. Wink, N. ve Kaufmann, M. (1996). Phylogenetic relationships between some members of the subfamily Lamioideae (Family Labiatae) inferred from nucleotide sequences of the *rbcl* gene. *Botanica Acta*, 109(2), 139-148.
64. Wood, K.V., Bonham, C.C., Miles, D., Rothwell, A.P., Peel, G., Wood, B.C. ve Rhodes, D. (2002). Characterization of betaines using electrospray MS/MS. *Phytochemistry*, 59, 759-765.
65. Yalçın, F.N., Ersöz, T., Akbay, P., Çalış, İ., Dönmez, A.A. ve Sticher, O. (2003). Iridoid and phenylpropanoid glycosides from *Phlomis samia*, *P. monocephala* and *P. carica*. *Turkish Journal of Chemistry*, 27, 295-305.

66. Yalçın, F.N., Ersöz, T., Avcı, K., Gotfredsen, C.H., Jensen, S.R. ve Çalış, İ. New iridoid glycosides from *Lamium eriocphalum* subsp. *eriocephalum*. *Helvetica Chimica Acta*. (baskıda).
67. Yuan, Z.-X., Patel, A.V., Blunden, G. ve Turner, C.H. (1992). *Trans*-4-hydroxypipelicolic acid betaine from *Lamium maculatum*. *Phytochemistry*, 31(12), 4351-4352.
68. Zhang, C.-Z., Li, C., Feng, S.-I. ve Shi, J.-G. (1991). Iridoid glucosides from *Phlomis rotata*. *Phytochemistry*, 30(12), 4156-4158.

ÖZGEÇMİŞ

18 Şubat 1983 tarihinde Bursa'da doğdum. İlk öğrenimimi Alaşehir (Manisa) 19 Mayıs İlköğretim Okulu'nda; orta öğrenimimi Alaşehir Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 2000 yılında H. Ü. Eczacılık Fakültesi'ne girdim. 2004 yılında bu fakülteden mezun oldum; aynı yıl Farmakognozi Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak göreve başladım. Halen aynı görevi sürdürmekteyim.