

278901

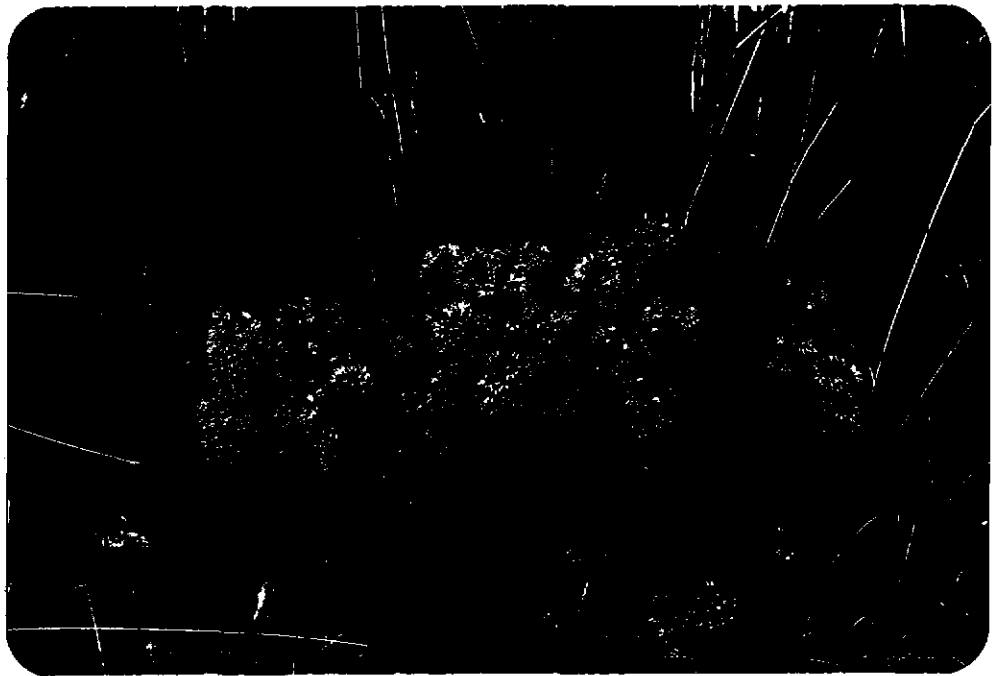
T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Thymus eigii (M. Zohary et P. H. Davis) Jalas
ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

**DOKTORA TEZİ
FARMAKOGNOZİ PROGRAMI**

**Eczacı
İclâl SARACOĞLU**

ANKARA — 1987



Thymus eigii (M.Zohary et P.H.Davis)Jalas

İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa No</u>
GİRİŞ VE AMAÇ -----	1
BOTANİK BİLGİLER -----	2
<u>Labiatae (Lamiaceae) Familyası</u> -----	3
<u>Thymus L. cinsi</u> -----	4
<u>Thymus eigii (M.Zohary et P.H.Davis) Jalas</u> -----	5
Yayıllış -----	6
Habitat -----	6
KİMYASAL BİLGİLER -----	7
Kapiler Gaz Kromatografisi -----	9
Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi -----	12
C ¹³ NMR Spektroskopisi -----	16
<u>Thymus</u> Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar -----	18
Uçucu Yağ -----	19
Gaz-Sıvı Kromatografisinde Kullanılan Sistemler -----	19
Kimyasal Yapı -----	19
<u>Thymus</u> Türlerinin Uçucu Yağlarında Görülen Kimyasal Farklılıklar -----	25
<u>Thymus vulgaris</u> Üzerindeki Çalışmalar -----	25
Diğer <u>Thymus</u> Türleri Üzerindeki Çalışmalar -----	26
Flavonoitler ve Triterpenik Asitler -----	30
Farmakolojik Etki ve Kullanılışı -----	31
MATERYAL -----	33
YÖNTEM -----	34
Uçucu Yağın Miktar Tayini -----	35
Gravimetrik Yöntem -----	35
Volumetrik Yöntem -----	36
Su Tayini -----	36
Fiziksel Tayinler -----	37
Spesifik Ağırlık -----	37
Spesifik Çevirme ve Kırılma İndeksi -----	37
Etanolde Çözünürlük -----	37

	<u>Sayfa No</u>
İndeks Tayinleri	38
Asitlik İndeksi	39
Ester İndeksi	39
Sabunlaşma İndeksi	39
Asetil İndeksi	39
Total Fenol Miktar Tayini	40
Kolon Kromatografisi	40
Kolon Hazırlanması	41
Hidrokarbonların Fraksiyonlanması	41
Oksijen Taşıyan Monoterpenlerin Fraksiyonlanması	41
Gaz-Sıvı Kromatografisi	42
Fraksiyonların Gaz-Sıvı Kromatografisine Tatbiki	43
MTHK İçin Kullanılan Sistemler	43
STHK ve OTMT İçin Kullanılan Sistemler	44
Miktar Tayini	44
BOTANİK BULGULAR	46
<u>Thymus eigi</u> (M.Zohary et P.H.Davis) Jalas	47
Yayıllığı	52
Anatomik Özellikler	52
Gövde	52
Yaprak	54
Brakte	58
KİMYASAL BULGULAR	59
Uçucu Yağın Yapısının Aydınlatılması	61
Uçucu Yağ	61
Hidrokarbon Fraksiyonu	64
Oksijen Taşıyan Monoterpen Fraksiyonu	67
Miktar Tayinleri	72
SONUÇ ve TARTIŞMA	73
ÖZET	85
SUMMARY	88
LİTERATÜR	91
EKLER	103

G İ R İ Ő v e A M A Ç

Türkiye'de halk ilacı ve çay olarak kullanılan bitkilerin tespiti ve kimyasal yapılarının aydınlatılması, araştırma konularımızdan birini teşkil etmektedir (82,83,85-91). Ekskürsiyonlarımız sırasında Thymus eigii (M.Zohary et P.H.Davis) Jalas'ın Kozan (Adana) ve civar köylerinde boğaz , mide ağrılarına karşı ve barsak gazlarını gidermek için "kekik" adı altında halk ilacı olarak kullanıldığı tespit edilmiştir.

Diğer taraftan Thymus türleri Türkiye'de yaygın olarak bulunmaktadır. Türkiye'de yetişen 37 Thymus türünden 14 tanesi endemiktir (17). Endemik Thymus türlerinden sekizinin uçucu yağı üzerinde ayrıntılı çalışmalar mevcuttur (50,51,84,104). Thymus eigii endemik olmamakla beraber Türkiye-Suriye arasında çok dar bir alanda yetişmektedir ve üzerinde hiçbir farmakognozik araştırma bulunmamaktadır. Thymus eigii (M.Zohary et P.H.Davis) Jalas herbasının Kozan ve civarında halk ilacı olarak kullanılması, bizi bu bitkinin farmakognozik yönden araştırılmasına yöneltmiştir.

Bitkinin morfolojik, anatomik özelliklerinin ve taşıdığı uçucu yağın kimyasal yapısının aydınlatılması araştırmamızın amacını teşkil etmiştir.

Araştırmalarımın her safhasında bilgi ve yardımlarından yararlandığım değerli hocam Prof.Dr.Ekrem SEZİK'e ve Anabilim Dalı Başkanı sayın Doç.Dr.İhsan ÇALIŞ'a teşekkürü bir borç bilirim.Çalışmalarım sırasında gösterdikleri yakın ilgi ve yardımlarından dolayı çalışma arkadaşlarıma da teşekkür ederim.

TEORİK BİLGİLER

BOTANİK BÖLÜM

B O T A N İ K B İ L G İ L E R

Labiatae familyasındaki bitkilerin pek çoğu eczacılık bakımından değerli bir ilaç hammaddesi olan uçucu yağ taşıdıkları için önemlidirler. Bu familyaya ait 160 kadar cins ve 3200 kadar da tür bulunmaktadır. Türkiye'de ise bu 160 cinsin kırkdördü ve 530 türü yetişmektedir (17). Yani Türkiye Labiatae familyası bakımından zengin bir ülkedir.

Diğer taraftan, Türkiye'de 37 Thymus türü bulunmaktadır. Bunlardan ondördü endemiktir (17).

Labiatae familyasına, Thymus cinsine ve Thymus eigii'ye ait literatür bilgileri teorik bilgilerin bu kısmında kendi başlıkları altında verilmiştir.

LABIATAE (LAMIACEAE) FAMILYASI

Bir veya çok yıllık, genellikle otsu, bazan çalimsı, nadiren ağaç şeklinde (Hyptis spec.) veya tırmanıcı bitkiler (Scutellaria spec.). Gövde dört köşeli, yapraklar basit veya parçalı, stipulasız; karşılıklı ve dekusat dizilişte. Damarlanma genellikle pennat.

Çiçek durumu çoğunlukla vertisillastrum, bazan panikula, kapitulum, korimbus veya simoz. Çiçekler hermafrodit, zigomorf, genellikle bilabiat. Brakteler yaprağa benzer. Kaliks kalıcı, gamosepal, 4-5 loblu, değişik sayıda damarlı, bazan kampanulat veya tubulat, çoğunlukla üst dudak 3, alt dudak 2 loblu, bilabiat. Korolla gamopetal, bilabiat, üst dudak 2, alt dudak 3 loblu, bazan üst dudak kaybolmuş, bunun yerine 5 lobun hepsi alt dudakta birleşmiş halde. Korolla, çoğunlukla pembe, beyaz, mavi-leylak veya mor renklidir.

Stamenler korollaya bağlı, genellikle 4, didinam, bazan 2; nadiren biri körelmiş ve 5 tane.

Ovaryum üst durumlu, 2 karpelli, 4 gözlü; her göz tek ovüllü. Stilus genellikle korolladan daha uzun; ginobazik, filiform, uçta bifit.

Meyva olgunlukta 4 nuksa ayrılan bir şizokarp, her nuks bir tohumlu (11,17,114).

Thymus L. Cinsi

Küçük çalılar veya çok yıllık bazan tabanda odunsu, otsu bitkiler. Yapraklar tam, düz veya kenarları revolut ve kalınlaşmış veya sadece kenarda kalınlaşmış. Sapsız veya saplı, çoğunlukla laminanın tabanına doğru siliat. Brakteler, kalikslar ve genellikle sapsız yapraklar, renksizden parlak kırmızıya kadar olan renklerde salgı tüyleri (yağ damlaları) ve ekseriya basit örtü tüyleri taşır. Vertisillastlar 2-daha çok çiçekli, braktelerin koltuğunda veya braktelerden tamamen ayrılmış, sık bir terminal baş halinde. Brakteoller sıklıkla küçük. Kaliks bariz bilabiat, tübü silindirik veya kampanulat, 10-13 damarlı, düz. Boğazı sık tüylü. Üst dudak geniş, bariz açık veya geriye doğru kıvrılmış, 1/10 dan 1/2 ye kadar inen 3 dişli. Alt dişler subulat, siliat, yukarı doğru kavis yapmış. Korolla mor, pembe, krem veya beyaz; tüp düz, üst dudak emarginat, düz veya değil; alt dudak üç loblu. Stamenler 4, korolladan dışarı çıkık, hermafrodit, tekalar paralel veya birbirlerinden ayrılmış. Meyvalar çıplak. Genellikle ginodioik bitkiler. Dişi çiçeklerde kaliks ve korolla küçük.

Çiçekli dallar bütün kenarlarda veya iki kenarda veya sadece köşelerde tüylü.

Hibritler çok sık meydana gelir. Hibritleşme farklı seksiyonların fertleri arasında olabildiği gibi, poliploidi düzeyleri farklı türler arasında da görülebilir (11,17,114).

Thymus eigii (M.Zohary et P.H.Davis) Jalas

Syn: Thymus syriacus Boiss. ssp.eigii M.Zohary et P.H. Davis(17),

Thymus syriacus Boiss (32).

Basionym : Thymus syriacus Boiss.ssp.eigii M.Zohary et P.H. Davis(32).

Tabanda odunsu çalılar. Odunsu kısımlar 2 cm çapında. Çiçekli dallar ince, uzun, yükselici, 12-20 cm. Gövde 4 köşeli, dört köşede veya karşılıklı iki kenarda zayıf tüylü.

Yapraklar dar lanseolattan linear oblanseolata kadar olan şekillerde kenarlar düz, tam veya pek az derin olmayan dişli, tabana doğru seyrek siliat, çıplak, salgı tüyleri belirgin değil, 14-18 x 2-4 (6) mm, 4-5 çift damarlı.

Çiçek durumu kapitat 2x2 cm.Brakteler 17x8 mm, ovat, akuminat, yan damarlar 4-5 çift, belirsiz, genellikle morumsu, çıplak veya damarlar boyunca kısa tüylü. Brakteoller 2-4 mm olan pedisellerden daha kısa.

Kaliks 6-7 mm, tüylü, yağ damlaları az, renksiz. Tüp silindrik veya değil, dudaklardan daha kısa, üst dudak alt dudaktan daha uzun, ovat, tütün 2 katı genişlikte. Üst dişler 1 mm batıcı, düzensiz siliat.

Korolla pembe, 10 mm ye kadar.

Stamenler dışarı çıkık, filamentler mor, seyrek tüylü (11,17,32,123).

Yayıliş

C5/6 Hatay : Amanus Dağı, İskenderun-Arsuz arası, 10.6.1967,
Y.Akman (ANK 9) (17). C6 Hatay : Amanus Dağı, Belen yakını, Çavkara'ya
doğru 915 m, Kotschyi (D1862 : 59) (17).

Habitat

T.eigii (M.Zohary et P.H.Davis) Jalas makiler ve açık Pinus brutia
orman altlarında, 500-915 metreler arasında yetişir (17).

TEORİK BİLGİLER

KİMYASAL BÖLÜM

K İ M Y A S A L B İ L G İ L E R

Uçucu yağlar, bitkilerden distilasyon, ekstraksiyon ve sıkma gibi yöntemlerle elde edilen, çoğunlukla terpenik yapıli maddelerin karışımlarıdır. Elde etmede en çok kullanılan yöntem distilasyondur. Distilasyon yoluyla elde edilen uçucu yağların yapılarının tayin edilmesi için son yıllarda pek çok araştırma yapılmıştır (34,37-39,48,61).

Uçucu yağların elde edilme yöntemi ve yapı tayininde kullanılan yöntemlerin çeşitliliği nedeniyle uçucu yağların analiz sonuçları da değişebilmektedir. Birçok araştırmacı hakiki yapıyı tayin etmek için çeşitli yöntemler denemişler, uçucu yağın fraksiyonlanması gerektiğinde, hem uygun ayırım sağlayacak hem de yapıdaki maddelerin bozulmasına sebep olmayacak kolon kromatografisi sistemlerini kullanmışlardır.

Uçucu yağların elde edilme yöntemleri, elde edilmede meydana gelebilecek değişiklikler, analizlerinde kullanılabilcek klasik yöntemler ile gaz kromatografisi ve gelişmiş enstrümental analizlerle ilgili bilgiler daha önce ayrıntılı şekilde Anabilim Dalımızda hazırlanan tezlerde incelenmiştir (8,115).

Bu sebepten dolayı, teorik kısımda, uçucu yağ analizlerinde çok kullanılan "Kapiler Gaz Kromatografisi" ile son yıllarda kullanılmaya başlanmış

olan "Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi-HPLC" ve " C^{13} NMR Spektroskopisi" ile ilgili bilgiler kısaca derlenmiştir. Ayrıca Türkiye'de yetişen Thymus türleri ile ofisinal olanlar üzerinde yapılan değişik çalışmalar da biraraya toplanmıştır.

Konu; Kapiler Gaz Kromatografisi, Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC), C^{13} NMR Spektroskopisi, Thymus Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar olmak üzere 4 başlık altında incelenecektir.

KAPİLER GAZ KROMATOĞRAFİSİ

Normal dolgulu kolonlar, uçucu yağ yapısını en ince ayrıntısına kadar açıklayamadığı için kapiler kolonlar kullanılmaya başlanmıştır. Bu kolonlar, ya cidarları kaplanmış, uçları açık tüpler şeklinde (Wall Coated Open Tubular = WCOT) (4) veya dolgu maddesi ile kaplanmış halde (Support Coated Open Tubular = SCOT) (70), olabilirler. Cam veya paslanmaz çelik kapiler kolonlar pek çok araştırmacı tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır.

Kubeczka ve arkadaşları çalışmalarında genellikle cam kapiler kolonları tercih etmişlerdir (41-43).

Kapilerlerin uzunlukları ve iç çapları değişik olabilmektedir. Şöyleki: 1,5 m x 0,8 mm (41-43,45), 14 m x 0,6 mm (80,81), 25 m x 0,24 mm (4), 63 m x 0,5 mm (70), 50 m x 0,3 mm (46,113), 90 m x 0,5 mm (80), 100 m x 1 mm (63), 100 m x 0,5 mm (80), 10-25 m (121), 22 m (93,95), 30 m (56,57), 50 m (12,30), 50-100 m (121) boyutlarda olabilirler.

Kapiler kolon kromatografisi yöntemi ile, normal olarak teşhis edilemeyen maddeler kolaylıkla teşhis edilebilmektedir. Ancak kapiler kolon kullanılan sistemlerle çalışılırken iki zorlukla karşılaşılır. Birincisi uçucu yağın tatbiki ile ilgilidir. Kapiler kolonların iç çapı çok küçük olduğu için, normalden daha az miktarda uçucu yağ tatbik edilmesi gerekir. Bu nedenle normal gaz kromatografisine tatbik şekilleri burada kullanılmaz. İkinci zorluk ise, incelenen uçucu yağda fazla sayıda madde bulunması halinde görülür. Bu tür uçucu yağların kromatogramları çok sayıda pik

taşıyacağı için ayırım bozulabilir, ayrıca bu kadar çok maddenin hemen hepsini tanımlamak ta mümkün olmayabilir (19,42).

Bernhard ve arkadaşları (9), terpenik hidrokarbonların ayırımında, paslanmaz çelik kapiler kolonlar ile aşağıda gösterilen sistemleri kullanmışlardır (Tablo-1).

	S i s t e m l e r			
	LAC-2-R446	Tween-20	n-Butil Sikloheksil ftalat.	Apiezon L
Stasyonel sıvı faz				
Dedektör	FID	FID	FID	FID
Kolon uzunluğu, ft	100	100	150	100
Kolon çapı, i.d.inç	0.010	0.010	0.010	0.010
İnjesiyon blok, t ^o C	150	150	150	157
Kolon, t ^o C	70	50	96	71
Dedektör, fırın, t ^o C	95	95	95	90
Hidrojen akış hızı ml/dk.	20	20	20	30
Hava akış hızı ml/dk.	1500	1500	1500	1500
Azot hızı, cm/sn	10	10	9	11
İnjesiyon yarığı	1:600	1:600	1:600	1:600
Numune miktarı, µl	0.2	0.1	0.2	0.1
Kaydedici, mv	10	10	10	10
Kağıt hızı, inç/saat	15	15	15	30

Tablo-1

Terpenik Hidrokarbonların Ayırımında Çok Kullanılan Kapiler

Gaz Kromatografisi Sistemleri

Thymus Türlerinin uçucu yağlarının analizinde Tablo-2'deki sistemler kullanılmıştır.

Thymus Türü	Adsorban	Sabit Faz	Gaz	Dedek.	Kolon Cinsi	Kolon Uzunluğu	Isı °C	Lit.
xcitriodorus		Superox 0.1LL		FID	WCOT	50mx0.5mm	55→200	47
praecox			N ₂		Cam WG-11	22 m	80→200	93-95
		Superox 0.1LL		FID	WCOT	50mx0.5mm	55→200	47
pulegioides		Superox 0.1LL		FID	WCOT	50mx0.5mm	55→200	47
	Fused Silika	Supelco-wax	He		Cam	30mx0.25mm	60→210	98
serpyllum		Superox 0.1LL		FID	WCOT	50mx0.5mm	55→200	47
vulgaris		Superox 0.1LL		FID	WCOT	50mx0.5mm	55→200	47

Tablo-2

Thymus Türleri Uçucu Yağları Üzerinde Kapiler Kolon Kullanılarak Yapılan Çalışmalar (*)

(*) Araştırmalarda bu konu ile ilgili bilgi bulunmadığı için bazı kısımlar boş bırakılmıştır.

YÜKSEK BASINÇLI SIVI KROMATOĞRAFİSİ

Uçucu yağların yapısının tayini için, son zamanlarda kullanılmaya başlanan yöntemlerden biri de Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) dir. Tek başına kullanılabildiği gibi kapiler gaz kromatografisi veya diğer enstrümental yöntemlerle beraber de kullanılabilmektedir. Bu yöntem yardımıyla uçucu yağdaki maddelerin ayırım ve teşhisi kısa sürede yapılabilmektedir (40,42,44,79).

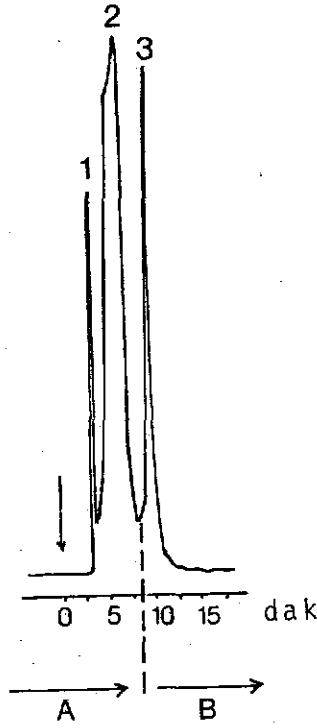
HPLC de, kırılma indeksinin tayinine ve değişen dalga boylarında ultraviyole absorpsiyonunu ölçmeye dayanan iki tip dedektör yaygın olarak kullanılmaktadır. Uçucu yağların analizinde ise 200--220 nm dalga boyunda UV dedektörünün kullanılması tercih edilmektedir.

Aromatik ve α -, β - doymamış terpenik hidrokarbonlar, UV yi absorblarlar ancak, aromatik hidrokarbonlar, α -, β - doymamış terpenik hidrokarbonlardan daha uzun dalga boylarında absorpsiyon gösterirler. Dalga boyunun değiştirilmesi ile maddeleri tek tek tayin etmek mümkün olmaktadır.

Uçucu yağlar farklı fonksiyonel grupları olan maddeler taşıdığı için HPLC de nonpolar ve polar stasyoner fazlar kullanılabilir (40). Polar bir stasyoner faz olan Kieselgel yüzeyindeki aktif bölgeler kapatılarak nonpolar stasyoner fazlar elde edilir. Buna "Reversed Phase-RP" adı verilmektedir. Meselâ Kieselgel'e Oktadesil silan bağlanarak (Li Chroprep RP-18) nonpolar stasyoner fazı elde edilmiştir. "Li Chrosorb RP-8" nonpolar fazı ve değişik oranlarda su:metanol mobil fazı kullanılarak C_9 -Fenol < Monoterpen alkol, -eter, -aldehit, -keton < C_{10} -metilfenileter < Monoterpen hidrokarbonlar, oksijenli seskiterpenler < Seskiterpen hidrokarbonlar sırasıyla ayrılır. 240 mm x 10 mm iç çaplı "Li Chroprep RP-18" (40 μ m)

kolonu kullanılarak metanol: su (82.5:17.5 v/v), metanol mobil fazı ile elüentın akış hızı 8 ml/dak.ya ayarlanır. Bu şekilde, 12 dakikada 0.5ml uçucu yağ 3 ana fraksiyona ayrılabilir (1. Oksijenli bileşikler, 2. Monoterpen hidrokarbonlar, 3. Seskiterpen hidrokarbonlar). Bu esnada dedektör UV (220 nm) dir.

Bu elüsyon ile her 3 fraksiyon da HPLC'den toplanır ve kapiler gaz sıvı kromatografisi ile analiz edilir (Şekil -1).



Kolon: 240x10mm i.d.

Li Chroprep RP-18 (40 µm)

Mobil Faz: A) Metanol: Su

(82.5:17.5 v/v)

B) Metanol

Akış Hızı : 8 ml/dak

Dedektör : UV, 220 nm

1. Oksijenli bileşikler

2. Monoterpen hidrokarbonlar

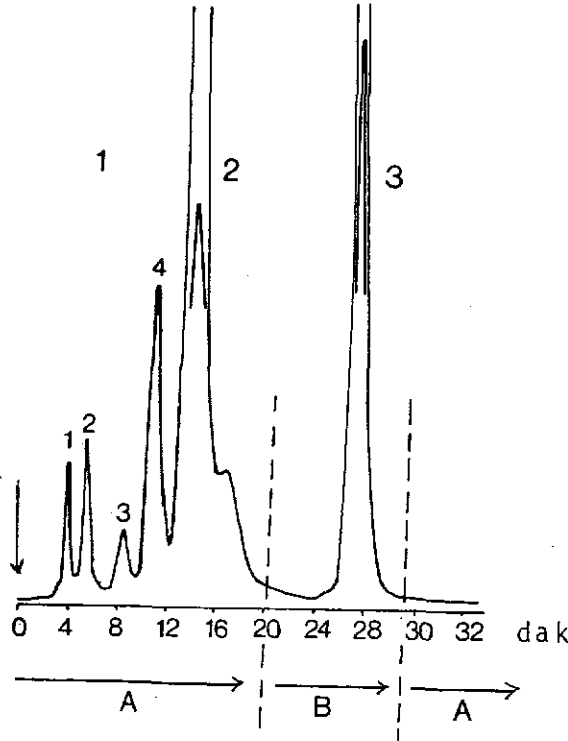
3. Seskiterpen hidrokarbonlar

Şekil-1

Uçucu Yağların HPLC ile Ön Fraksiyonlanması

RP-18 HPLC kolonda, düşük akış hızlarında bu 3 fraksiyonun ayrımı daha iyi olmaktadır fakat ayırım süresi 12 dakikadan 30 dakikaya çıkar. Akış hızı 4 ml/dak'ya düşürüldüğünde HPLC'nin ilk fraksiyonunda (daha önceki 1. fraksiyon) 4 pik görülür. Bu piklerin gaz kromatografik analizinde, mono-

terpen alkollerin HPLC piklerinin ikincisinde geldiği görülmüştür. 3.pik daha az polar monoterpen alkol esterlerini ve 4. pik de seskiterpen alkollerini ihtiva eder. Bu ayırımında 1. pikte, sadece kullanılan solvandan gelen kirlilikler bulunmaktadır (Şekil-2).



Şekil - 2

Uçucu Yağların Düşük Akış Hızlarında HPLC ile Fraksiyonlanması

Hidrokarbon fraksiyonlarının (önceki Fr. 2. ve 3.) daha ileri ayırımalarında, mobil faz olarak düşük kaynama noktalı pentan, adsorban olarak da 7 μ m partiküllü Silikajel (Li Chrosorb Si 60) kullanılmıştır. Burada önemli olan, adsorbanın belirli oranlarda su taşımasıdır. Kuru veya çok aktif adsorbanlar istenilmeyen özelliktedir ve numunede değişimlere sebep olduğu gösterilmiştir. En uygun su miktarı % 4.8 olarak tespit edilmiştir. Terpenlerin klasik ayırımında numunede değişim ve irreversibl adsorbsiyon

söz konusudur oysa silikajel'in %4 ve daha yukarı oranlarda su ile deaktivasyonu bunu önlemiştir. Hidrokarbonlar için ikinci önemli faktör de tatbik edilen ısıdır. Hidrokarbonlar sadece düşük ısıda tam olarak ayrılabilirler. Ayırım için -15°C'nin en uygun ısı olduğu tespit edilmiştir. (41,42,44).

Coridothymus capitatus uçucu yağında yapılan araştırmalarda kullanılan sistemler Tablo-3'de gösterilmiştir.

Madde Grubu	Kolon	Solvan	Akış Hızı	Dedektör	Lit
Monoterpen alkol Timol, karvakrol	25 cm Li Chrosorb RP-18	Su(%42,5) Asetonitril (%57.5)	1.3cm/dak	UV 220-280nm	54
Monoterpen alkol Timol, karvakrol	25 cm Spherisorb ODS	Asetonitril (40) Su (60)	1.5cm/dak	Elektro- kimyasal 800 mv	53
Fenolik Maddeler	300x3.9 mm µ Bondapak C ₁₈	Asetonitril (%40)	1.5ml/dak	LC-55 UV	92
	250x4.6 mm Li Chrosorb RP-18	Su (%60)			

Tablo - 3

Coridothymus capitatus Üzerinde HPLC ile Yapılan Çalışmalar

C^{13} NMR SPEKTROSKOPİSİ

C^{13} NMR spektroskopisi, uçucu yağların hem kalitatif hem de muayyen sınırlar dahilinde kantitatif analizlerinde faydalı olabilecek bir yöntemdir. Uçucu yağların analizinde çok yaygın olarak kullanılan gaz kromatografisi ile karşılaştırıldığında C^{13} NMR spektroskopisinin aşağıdaki avantajları olduğu görülmektedir (21) :

1. Maddeyi tahrip edici değildir.
2. Ana maddeler çok çabuk tayin edilirler.
3. Bilinmeyen maddelerin yapısı hakkında doğrudan bilgi verebilir.
4. Uçucu olmayan bileşikler dahil, bütün karışım hakkında bilgi verebilmektedir.

Uçucu yağların C^{13} NMR'ı ile yapılan analizleri diğer fiziksel ve fizikokimyasal teknikler ile analizde görülebilen bir takım problemleri çözdüğü için avantajlı olarak görülmektedir. En önemlisi, analizi yapılacak uçucu yağ numunesi içindeki maddelere, bir ön ayırım gerektirmeden uygulanabilmesidir. Her bir NMR sinyalinde iyi bir ayırım yapılması mümkündür. Bundan başka, kimyasal kayma değerlerinden her bir maddenin fonksiyonel grupları ve moleküler yapıları hakkında doğrudan bilgi edinilebilir.

Araştırılan uçucu yağın kalitatif analizi, yağ spektrumunun, analiz şartlarında kaydedilen saf standart maddelerin spektrumları ile karşılaştırılması suretiyle yapılır.

H^1 NMR spektroskopisinde, maddelerin bütün protonları yapıya bağlı olarak duplet ve triplet pikler verir. C^{13} NMR ise bu piklerin yerinde çok az bir kaymaya neden olarak, meselâ 3'lü pikin tek bir kalın pik şek-

linde çıkmasına yol açar. Çünkü C^{13} , karbon atomları içinde %1.1 gibi bir orandadır. Bu da daha basit bir spektrum elde edilmesine sebep olmaktadır (42).

C^{13} NMR yönteminin duyarlılığı muhtelif faktörlere (yan bantlar, C^{13} - C^{13} girişimleri) ve akümülayon zamanına bağlıdır. Akümülayon süresini kısa tutarak ve sinyal şiddetlerini azaltarak daha ince piklerin elde edilmesi sağlanır. Böylece piklerin üstüste çıkması da engellenmiş olmaktadır (21-23,42).

C^{13} NMR spektroskopisinin başarı ile uygulandığı saha 0-240 ppm arasındadır.

C^{13} NMR spektroskopisi ile kantitatif tayin yapılırken düşük konsantrasyonlar için yüksek, yüksek konsantrasyonlar için ise düşük akümülayon süresi gerekir (22,42). Çözücü olarak benzen kullanılmaktadır.

THYMUS TÜRLERİ ÜZERİNDE YAPILAN ÇALIŞMALAR

Thymus türleri üzerinde yapılan çalışmalarda genellikle uçucu yağ, flavonoit ve triterpenik asitlerin varlığı ve yapıları açıklanmıştır. Bu araştırmaların bulguları aşağıda belirtilen gruplar halinde verilecektir.

Thymus türlerinin uçucu yağı üzerinde yapılan değişik çalışmalar "Uçucu Yağ" ana başlığı altında birleştirilmiştir.

Türkiye'de yetişen Thymus türleri ve ofisinal türlerin uçucu yağlarının yapı tayininde kullanılan sistemler "Gaz-Sıvı Kromatografisinde Kullanılan Sistemler" başlığı altında sunulmuştur. Aynı türlerin kimyasal yapısını aydınlatan araştırmalar "Kimyasal Yapı" başlığı altında ve 2 grup halinde toplanmıştır. Birinci grup Türkiye'de de bulunan Thymus türleri ve ofisinal türler üzerinde diğer ülkelerde yapılan, ikinci grup ise Türk araştırmacıları tarafından yapılmış olan araştırmaları ihtiva etmektedir.

Thymus türleri uçucu yağlarının kimyasal yapıları incelendikçe, aynı türde olan farklılıkların "Kemotip" kavramı ile açıklanabileceği görülmüştür. Konuya açıklık getirebilmek üzere bu konudaki bilgiler derlenmiş ve "Thymus Türlerinin Uçucu Yağlarında Görülen Kimyasal Farklılıklar" başlığı ile takdim edilmiştir.

Thymus türlerinin flavonoitleri ve triterpenik asitleri üzerinde yapılan araştırmalar ise "Flavonitler ve Triterpenik Asitler" başlığı altında toplanmıştır.

Bu cinse ait türlerin farmakolojik etkilerini kısaca hatırlatabilmek amacıyla yapılan derleme de "Farmakolojik etki ve Kullanılış" başlığı altında sunulmuştur.

Uçucu Yağ

Gaz-Sıvı Kromatografisinde Kullanılan Sistemler

Bu konudaki bilgiler, üzerinde araştırma yapılan türler esas alınarak düzenlenmiştir. Araştırmalarda kullanılan sistemlerin tatbiki için gerekli bilgiler 2 tablo haline getirilmiştir. Araştırmalarda bazı bilgiler belirtilmemiştir. Bu yüzden tablolarda bunlarla ilgili kısımlar boş bırakılmıştır (Tablo-4,5).

Kimyasal Yapı

Bu konuda yapılan araştırmalar incelendiğinde Türkiye'de yetişen 2 türün Avrupa'nın değişik ülkelerinde de yetiştiği ve uçucu yağları üzerinde muhtelif araştırmalar yapıldığı görülmüştür. Diğer taraftan Türkiye'de yetişmediği halde ofisinal olarak kullanılan Thymus vulgaris'in muhtelif ülkelerdeki yabani veya kültür fertlerinden elde edilen uçucu yağları üzerinde de araştırmalar bulunduğu tespit edilmiştir. Ofisinal olan yağ ile araştırılan türleri mukayese imkânı hazırlamak üzere T.vulgaris'e ait bilgiler de aynı tablolara dahil edilmiştir (Tablo-6,7).

Türkiye'de yetişen ve endemik olan Thymus türleri üzerinde Türk araştırmacıların çok sayıda çalışması bulunmaktadır. Bu grup çalışmalar ayrı tablo halinde sunulmuştur (Tablo-8).

Thymus Türü	Adsorban	Sabit Faz	Gaz	Dedektör	Kolon Cinsi	Kolon Uzunluğu	Isı °C	Lit.
argeus	Chromosorb W-AW (60/80 mesh)	Σ10 PEG 20 M	N ₂	FID	Bakır	8mx1.5mm	60 140	84
		Σ10 SF 96	N ₂	FID	Bakır	8mx1.5mm	80 120	
		Σ10 ββ'ODPN	N ₂	FID	Bakır	8mx1.5mm	36	
bornmuelleri	Chromosorb W-AW (60/80 mesh)	Carbowax 20M	N ₂	FID	Bakır		70 150 170	50
		SF 96	N ₂	FID	Bakır		140	
		ODPN	N ₂	FID	Bakır		60	
cilicicus	Chromosorb W-AW (60/80 mesh)	Carbowax 20M	N ₂	FID	Bakır		70 150 170	50,51
		SF 96	N ₂	FID	Bakır		140	
		ODPN	N ₂	FID	Bakır		60	
pectinatus var.pec.	Chromosorb W-AW(60/80 mesh)	Carbowax 20M	N ₂	FID	Bakır		70 150 170	50
		SF 96	N ₂	FID	Bakır		140	
		ODPN	N ₂	FID	Bakır		60	
praecox		Superox 0.1LL		FID	WCOT	50mx0.5mm	55→200	47
			N ₂		Cam WG-11	22 m	80→200	93-95
revolutus	Chromosorb W-AW(60/80 mesh)	Carbowax 20M	N ₂	FID	Bakır		70 150 170	50,51
		SF 96	N ₂	FID	Bakır		140	
		ODPN	N ₂	FID	Bakır		60	
serpyllum		Superox 0.1LL		FID	WCOT	50mx0.5mm	55→200	47
	Embacel	Σ20 Reoplex 400	N ₂	FID	Paslanmaz çelik	2mx4mm	80→200 180	124
sipyleus ssp sipyleus	Chromosorb W (60/80 mesh)	Σ10 Carbowax 1540	N ₂	FID	Bakır	8mx1.5mm	70 125	104
		Σ 10 ββ'ODPN	N ₂	FID	Bakır	8mx1.5mm	30	
		PEG 20M	N ₂	FID	Bakır	8mx1.5mm	140	
	Chromosorb W-AW (60/80 mesh)	Carbowax 20M	N ₂	FID	Bakır		70 150 170	50,51
		SF 96	N ₂	FID	Bakır		140	
		ODPN	N ₂	FID	Bakır		60	

Tablo - 4

Thymus Türleri Uçucu Yağlarının Gaz-Sıvı Kromatografisinde

Kullanılan Sistemler

Thymus Türleri	Adsorban	Sabit Faz	Gaz	Dedektör	Kolon Cinsi	Kolon Uzunluğu	Isı °C	Lit.	
spathulifolius	Chromosorb W-AW (60/80 mesh)	Carbowax 20M	N ₂	FID	Bakır		70 150 170	50	
		SF 96	N ₂	FID	Bakır	140			
		ODPN	N ₂	FID	Bakır	60			
vulgaris		Superox 0.1LL		FID	WCOT	50mx0.5mm	55+200	47	
	Chromosorb G 60/80 mesh	%3 Carbowax 20M	He	TCD	OD Cam	10ftx0.375 inç 25ftx0.125 inç	55	66	
		%3 SF 96 (50)	He	TCD	OD Cam	10ftx0.375 inç			
	Chromosorb G A/W-DMCS 60/70 mesh	%2.5 ApiezonL	He	TCD	OD Cam	20ftx0.125 inç	100		
	Chromosorb G 100/120	Fraktonitril VI	N ₂			5'x1/8"	50+125	52	
	Chromosorb W-DMCS (80/100 mesh)	%5 Carbowax 20M	N ₂			300x0.24cm	80+180	24	
	Celite C-22	%20 Silikon 550	N ₂			2-4 m	132 156	65	
	Celite 80/100 mesh	%3 Metil Silikon SE-30	N ₂			Cam	5'x4mm	70+200	33
	Embacel	%20 Reoplex 400	N ₂	FID	Paslanmaz çelik	2mx4mm	80+200 180	124	
		Reoplex 400	N ₂			Cam	5'x4mm	70+200	33
zygioides	Chromosorb W-AW(60/80 mesh)	Carbowax 20M	N ₂	FID	Bakır		70 150 170	50,51	
		SF 96	N ₂	FID	Bakır		140		
		ODPN	N ₂	FID	Bakır		60		

Tablo - 5

Thymus Türleri Uçucu Yağlarının Gaz-Sıvı Kromatografisinde
Kullanılan Sistemler

Thymus Türleri Pike (Lit.) MTHK	praecox			serpyllum		vulgaris							
	İZL. (93)	İZL. (95)	İSV. (47)	İSV. (47)	HOL. (124)	İSV. (47)	MIS. (33)	ŞİLİ (52)	FRA. (58)	İSVÇ. (122)	ABD. (66)	İTA. (65)	HOL. (124)
Trisiklen											+		
α-Pinen	0.05	0.04		1.4	+	4.1	2.6	2.0		0.4	+	+	+
α-Tuyen													
Kamfen	0.08				+	1.8	2.7	0.1		1.7	+	+	+
β-Pinen	0.04	0.02		0.2	+	0.5	4.2	0.4		0.5	+	+	+
Sabinen	0.02	0.02		0.1	+	0.4							+
Mirsen	1.49	2.26	+	14.1	+	3.5	+				+		+
Δ ³ -Karen							5.1						
α-Terpinen	0.02			0.8		3.2					+		+
Limonen	0.29	0.46	+	3.8	+	1.1	3.4	1.5			+		+
α-Fellandren													
β-Fellandren	0.05			0.7	+	0.6							+
Cis-β-Osimen	0.65	1.00	+	5.2									
P-Simen	0.03			0.8	+	22.8	11.1	41	2-40	17.3			+
γ-Terpinen			+	1.2		31.6	+			17.3	+	+	
Trans-β-Osimer	1.40	2.10	+	8.9							+		
Terpinolen	0.32	1.00				0.4							

Tablo - 6

T.praecox, serpyllum ve vulgaris Uçucu Yağlarında Bulunan
Monoterpen Hidrokarbonlar

(İZL.) İzlanda, (İSV.) İsveç, (HOL.) Hollanda, (MIS.) Mısır, (ŞİLİ) Şili, (FRA.) Fransa,
(İSVÇ.) İsviçre, (ABD) Amerika Birleşik Devletleri, (İTA.) İtalya.

Tablolar halinde incelenen araştırmalarda maddenin varlığının yanında % oranı da hesaplanmış ise, tablolara böylece alınmış, sadece bulunup bulunmadığı belirtilmiş ise (+) ve (-) işaretleri kullanılmıştır. Çalışmada bulunup bulunmadığı hakkında herhangi bir kayıt yok ise, bu kısım boş bırakılmıştır. Madde çok az miktarda tespit edilmişse "eser miktar" karşılığı olarak (e) kullanılmıştır. Bazı çalışmalarda varlığı şüpheli karşılığı olarak kullanılan (?) işareti aynen tablolarımıza da alınmıştır.

Thymus Türleri İlke (lit.) OTM+STHK	praecox				serpyllum				vulgaris						
	İZL. (93)	İZL. (95)	GRÖ. (94)	NOR. (97)	İSV. (47)	İSV. (47)	HOL. (124)	İSV. (47)	MIS. (33)	ŞİLİ (52)	FRA. (58)	İSVÇ. (122)	ABD. (66)	İTA. (65)	HOL. (124)
1,8-Sineol	0.28	0.50	1.1	0.46		0.4	+	3.5	+		70	17.3	+		+
Cis-3-hekzen-1-ol					+	5.9		3.1							
1-Hekzen-3-ol					+	0.7		0.8							
Sitronellal							+			0.08					+
Kafur	0.15	0.53	e	0.18		0.5		1.5							
Linalol	24.73	27.42			+	17.3	+	1.5	18.1-21		0.2-75	1.8	+	+	
β-Karyofillen	4.36	2.16	4.9	3.58	+	6.7		1.7				1.3	+	+	
γ-Kadinen	0.21	0.37		1.14	+	4.0		0.4							
Borneol	0.05					0.6		1.0	e	0.9		1.2	+		+
α-Terpineol	5.96	7.38							0.51	0.5	1-30		+		+
Terpinen-4-ol	0.05										1-30	0.7	+	+	+
Linalil Asetat	25.83	25.37	62.9	69.43					1.6	+					+
Geraniol	3.41	1.43							e		0.2-41			+	+
Geraniil Asetat	3.30	3.84											+		+
Nerol	1.25	4.04													+
Neril Asetat	1.00	2.92													+
Sitral										0.1					+
Bornil Asetat	0.06			0.23											+
Terpinil Asetat	0.03			?											+
TİMOL									6.4	10-20	> 0.2-72	7.7	+	20-60	+
KARVAKROL									0.7	8-14.5	43	59.4	+		+
Nerolidol	2.99		7.8	0.73						0.8					+
Karvakrol metil eteri								1.5					+		
Timol metil eteri								2.1							
Germakren D	2.67	0.95	1.5												
Fenkon										0.2					
Anetol										0.2					
Etil Ejenol										0.2					
Tuyanol-4											0.5-42				
8-Hirsenol-Clis											0.2-25				
Amil alkol														+	
β,7-Eeanol														+	
Fenkil alkol														+	
Pinokarvon														+	
Transpinokarveol														+	
Sabinen hidrat	0.07			1.19											
β-Bisabolen	2.11		0.3												
Elemol	1.00	2.49		1.42											
Fenkil Asetat	0.04			0.05											
1-Okten-3-ol	0.70	0.79	0.5	0.73											
1-Okten-3-il Asetat	1.68	1.4	2.5	0.95											
Menton	0.04			0.05											
İzomenton	0.05			0.37											
β-Burbonen	0.19			0.12											
α-Bergmotten	0.02			0.01											
β-Elemen	0.03			0.01											
α-Kubeben	0.12			0.26											
α-Humulen	0.11		> 0.9	0.15											
β-Kubeben	0.10			0.26											
Seskiterpen KW	0.11			0.06											
E,E,α-Parnesen	0.45		0.5	0.21											
β-Sesquifellandren	1.24		0.6	0.87											
Karyofillen epoksit	0.46		0.3	0.19											
Kubenol	0.13			0.44											
7-Hidroksigeçnakren	?			?											
Hedikaryol	6.98		12.7	7.00											
T-Kadinol	0.94			3.54											
α-Kadinol	0.27			0.34											

Tablo - 7

T.praecox, serpyllum ve vulgaris Uçucu Yağlarında Bulunan
Diğer Maddeler

(İZL.) İzlanda, (GRÖ.) Grönland, (NOR.) Norveç, (HOL.) Hollanda, (MIS.) Mısır, (ŞİLİ) Şili,
(FRA.) Fransa, (İSVÇ.) İsviçre, (İSV.) İsveç, (ABD) Amerika Birleşik Devletleri, (İTA) İtalya.

MADDE	Thymus Türleri								
	argeus (84)	borameel- leri (50)	cilicicus (50,51)	pectinatus (50)	revolutus (50,51)	sipyleus (50,51) {104}		spathuli- folius (50)	zygioides (50,51)
Trisiklen	-	0.05	0.07	0.04	0.05	0.08		0.06	0.04
α- Pinen	0.25	3.00	3.01	0.70	0.85	0.63	+	1.0	0.83
α- Fenken	-	-	-	-	-	-		-	6.68
Kamfen	0.38	-	3.16	0.69	0.90	1.58	+	1.2	2.09
β-Pinen	0.16	1.56	0.68	0.48	0.21	0.32	+	0.48	0.31
Sabinen	0.13	-	0.60	-	0.85	0.25	+	-	0.10
Nirsen	0.72	-	-	-	-	-		-	-
α-Fellandren	-	1.60	0.15	0.80	0.69	2.92	+	-	0.73
Δ ³ -Karen	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Limonen	0.50	1.8	1.73	0.63	0.32	0.70	+	1.2	0.21
α-Terpinen	-	0.6	0.37	0.20	0.53	0.38	+	0.3	0.73
β-Fellandren	0.09	-	0.07	0.07	0.10	0.06	+	0.8	0.10
Cis-β-Osimen	0.50	-	0.07	-	-	-		-	-
γ-Terpinen	0.13	6.51	0.45	4.40	6.43	0.63	+	4.48	4.38
Terpinolen	0.25	0.06	0.07	-	0.05	0.06		-	0.10
Trans-β-Osimen	1.13	0.40	-	-	-	0.63		-	0.10
p-Simen	0.56	8.9	0.75	9.9	9.81	0.57	+	9.7	7.09
1,8-Sineol	1.12	1.1	3.01	1.0	1.03	4.6	13	0.9	7.21
Cis-Hekzanol	-	-	0.33	0.86	0.30	0.66		-	0.49
3-Tuyanon	1.12	-	-	-	-	-		-	-
α-Tuyon	-	-	3.84	-	1.53	3.97	+	-	0.99
β-Tuyon	-	-	1.50	-	-	-		-	0.24
Fenkon	1.88	-	-	-	-	-	+	-	-
Linalol	26.64	1.2	5.85	0.41	22.46	2.31	+	3.1	12.18
Linalil asetat	19.49	-	2.50	-	0.30	0.99		3.1	0.24
Kafur	-	0.19	8.36	0.22	-	-		1.03	-
Bornil asetat	-	-	2.30	-	0.30	2.1	+	-	1.74
Terpinen-4-ol	1.12	-	3.55	-	1.23	1.2	+	-	-
β-Terpineol	-	-	1.00	-	7.69	-		-	2.48
İzoborneol	-	-	1.83	-	-	7.05	+	-	-
Neral	-	-	-	-	-	7.18		-	-
α-Terpineol	0.37	-	33.44	-	30.46	7.28	+	-	-
Borneol	14.99	3.38	-	7.2	-	-	+	0.59	8.70
Geranial	-	-	-	-	-	32.78		-	-
Sitronellol	-	-	6.52	-	-	1.65	+	-	-
Sitral	-	-	-	-	-	-	21	-	-
TİMOL	1.50	37	e	47.8	3.69	-		1.18	24.62
KARVAKROL	1.50	24	e	7.9	6.76	-		47.5	8.20
Sitronellal	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Geranil asetat	9.37	-	-	-	-	-	+	-	-
6-metil-5-heptenon	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Nerol	3.37	-	-	-	-	0.66	+	-	-
Geraniol	4.12	-	-	-	-	-	+	-	-
Karyofillen	3.00	-	-	-	-	-		-	-

Tablo - 8

Türkiye'de Endemik Thymus Türleri Uçucu Yağları Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Thymus Türleri Uçucu Yağlarında Görülen Kimyasal Farklılıklar

Bazı araştırmacılar, değişik bölgelerden toplanan aynı türlerin uçucu yağlarının farklı yapıda olduğunu tespit etmişlerdir (13,24-26,58,94,98). Meselâ, bir bölgede fenoller yetişen o türün etken maddesi iken, aynı tür bir diğer bölgeden toplandığında linalol etken madde olarak bulunmuştur. Buradan yola çıkan araştırmacılar, farklı bölgelerden topladıkları bitki örneklerinin uçucu yağları üzerinde "Kemotip" çalışmaları yapmışlardır. Bu örnekler, morfolojik olarak bir farklılık göstermez, fakat uçucu yağlarının yapısı değişiktir. Bu durum genlerde meydana gelen değişikliklerle açıklanmıştır (13).

Bu kısımda değişik Thymus türleri üzerinde yapılan kemotip çalışmalarından örnekler verilecektir.

Thymus vulgaris Üzerindeki Çalışmalar: R.Granger ve arkadaşları 1971 de (25), Fransa'da yetişen T.vulgaris'in uçucu yağları üzerinde yaptıkları çalışmada 6 kemotip olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar 1973 te (24,26) 150 değişik örnekten elde edilen uçucu yağların GSK ile analizlerini yapmışlar ve daha önce tespit ettikleri kemotipleri aşağıdaki şekilde sınıflandırmışlardır.

- a. Geraniol Tipi: %93 oranında geraniol ve esterini,
- b. Linalol Tipi: %95 oranında linalol ve esterini,
- c. α -Terpineol Tipi: %90-96 oranında alkol ve esterini,
- d. Tüyanol-4, Terpineol-4 Tipi: %60-63 oranında serbest alkol,
- e. Karvakrol Tipi: %85 oranında karvakrol, %0.5 oranında timol
- f. Timol Tipi: %65 oranında timol, %5-10 oranında karvakrol taşımaktadır.

J.Passet (58), Fransa ve İspanya'da 200'e yakın örnek üzerinde yaptığı araştırmada 7 ayrı kemotip bulunduğunu göstermiştir. Bunlardan birinci tipin sadece İspanya'dan sağlanan örneklerde bulunduğunu tespit edip 1,8-sineol tipi olarak isimlendirmiştir. Diğer 5 tip (geraniol, linalol, α -terpineol, timol ve karvakrol) hem İspanya hem Fransa'da bulunmaktadır. 7. tip ise daha önce Thymus yağlarında bulunmayan trans-4-tuyanol ve cis-mirsenol taşıması bakımından farklı bir kemotip olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada muhtelif kemotiplerin özelliklerinin 5 yıllık kültür sonunda bile değişmediği tespit edilmiştir. Tabii kemotiplerin populasyonlarında nadiren homojen bir dağılım görülmüştür. Karvakrol ve timol kemotipleri diğerlerine nazaran daha hakim kemotipler olarak tespit edilmiştir. Bu araştırmada tespit edilen kemotipler şunlardır:

- a. Geraniol Tipi : %90 oranında geraniol ve esterini,
- b. Linalol Tipi : %90 oranında linalol ve esterini,
- c. α -Terpineol Tipi: %90 oranında alkol ve esterini,
- d. Timol Tipi: %70 oranında timol,
- e. Karvakrol Tipi: %80 oranında karvakrol,
- f. Trans-Tuyanol-4 Tipi : %60 oranında serbest alkol,
- g. 1,8-Sineol Tipi: %70 oranında 1,8-sineol taşımaktadır.

Thymus vulgaris'in 7 kemotipinin bulunduğu artık kesin olarak kabul edilmektedir (13).

Diğer Thymus Türleri Üzerindeki Çalışmalar: J.Cabo ve arkadaşları (15) Granada'da (İspanya) iki farklı bölgeden ve yükseklikten topladıkları T.zygis uçucu yağındaki kimyasal değişikliği incelemişlerdir.

T.zygis Tip1 ve Tip2, aralarında 15 km mesafe bulunan iki ayrı bölgeden saat 16³⁰-17³⁰ arasında, 15^o-25^oC de toplanarak çalışmalar yapılmış-

tır. Tip1 800m'den, Tip2 ise 600 m'den toplanmıştır. Bu araştırmada şu sonuçlar elde edilmiştir.

<u>Ana Bileşikler</u>	<u>Tip 1</u>	<u>Tip 2</u>
1.8-Sineol	8.90	15.30
p-Simen	30.30	19.80
Timol	3.10	35.95
Karvakrol	22.20	3.90

E.Stahl (94,96,97) Grönland İzlanda ve Norveç'te yetişen T.praecox ssp. arcticus uçucu yağlarındaki kimyasal farklılıkları incelemiştir.

Güney-Batı Grönland'ın farklı bölgelerinden toplanan 17 numune üzerinde çalışılmış, ana bileşik olarak linalilasetat bulunmuş, bunun yanında seskiterpen hidrokarbonlar ve oksijen taşıyan seskiterpenler de tespit edilmiştir.

Kemotipler şu şekilde sınıflandırılmıştır :

- a. B Tipi: Linalilasetat (%65), hedikaryol (%13), nerolidol (%8), karyofillen (%5).
- b. C Tipi: Linalilasetat (%60), nerolidol (%11), karyofillen (%10).
- c. D Tipi: Linalilasetat (%70), karyofillen (%10).
- d. F Tipi: Linalilasetat (%70), hedikaryol (%10), karyofillen (%6) taşır.

İzlanda ve Norveçte kemotipler Grönland'dan daha yaygın olarak görülmektedir. Bu ülkelerde 8 kemotip tespit edilmiş ve "A, B, C, D, E, F, G, H" tipleri olarak isimlendirilmiştir (96,97).

Norveç'te tespit edilen kemotipler ise şunlardır (96,97)

- a. A Tipi: Linalilasetat (%65), hedikaryol (%6), T-kadinol (%5), nerolidol (%4),
- b. B Tipi: Linalilasetat (%70), Nerolidol (%7), hedikaryol (%6).
- c. D Tipi: Linalilasetat (%75), karyofillen (%5), germakren D, (%3),
- d. E Tipi: Linalilasetat (%75), hedikaryol (%5,5), T-kadinol (%5), karyofillen (%3).
- e. F Tipi: Linalilasetat (%70), hedikaryol (%8), karyofillen (%4),
- f. H Tipi: Linalilasetat, (%70), T-kadinol, (%7), β -bisabolen (%4) taşır.

İzlanda'da H kemotipi yoktur, ancak Norveç'teki diğer kemotiplere ilave olarak C ve G kemotipleri bulunmaktadır (97).

- a. C Tipi: Linalilasetat (%70), nerolidol (%11), karyofillen (%5),
- b. G Tipi: Hedikaryol (%45), karyofillen (%9), germakren D, (%8), β -bisabolen (%6) taşır.

E.Stahl (96,98) Norveç'te yetişen T.pulegioides uçucu yağının kemotiplerini de araştırmıştır. Oslo civarında 15 farklı bölgeden toplanmış 79 numune üzerinde çalışmış ve 2 kemotip tespit etmiştir. Toplanan bitkilerin %75'inin karvakrol tipi, %25'inin ise timol tipi uçucu yağı taşıdığını bulmuştur. Karvakrol tipi, %35.24 karvakrol, %24.77 γ -terpinen, %10.18 p-simen, %6.83 karyofillen taşır. Timol tipi ise %37.24 timol, %23.24 γ -terpinen, %9.25 p-simen ve %5.05 karyofillen ihtiva etmektedir.

İspanya'da da T.Adzet ve arkadaşları (1) değişik Thymus türleri üzerinde bu konuda çalışmışlardır. Bu türler, T.longiflorus, membranaceus, antoninae, mastichina, aestivus, piperella ve zygis'tir.

T. longiflorus, T. membranaceus ve T. antoninae Güney-Doğu İspanya'da endemik olan türlerdir. Uçucu yağlarında temel madde olarak 1,8-sineol bulunur. Oranı %80'nin üzerindedir. Düşük oranlarda kafur ve borneol de taşır.

T. mastichina İspanya ve Portekiz'de çok yaygındır. Linalol bakımından zengindir (%80'nin üzerinde), fenolleri taşımaz. Sineol yönünden zengin kemotipi de vardır.

T. aestivus Doğu İspanya'da ve Valensiya'da yaygındır. Uçucu yağı sineol bakımından zengindir. Sineol, kafur ve borneol karışımını taşıyan kemotipi de vardır. T. aestivus x T. vulgaris hibriti ise fenolleri taşır.

T. piperella Valensiya'da endemiktir. Kimyasal bakımdan büyük bir homojenite gösterir. Uçucu yağı fenolik tiptedir. Timol ve karvakrol taşır.

T. zygis İber yarımadasında yaygındır. Uçucu yağında majör karakter timoldür. Granada'da toplanan türde ise timol ve karvakrole rastlanmamıştır. Yani fenolik (timol) ve nonfenolik (linalol) olmak üzere iki kemotipi tespit edilmiştir.

Kemotiplerin oluşumunda genetik faktörlerin etkili olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda kemotiplerin iklim ve toprak şartlarına bağlı olarak popülasyonlar meydana getirdikleri gösterilmiştir. Mesela timol kemotipleri kuru, sıcak iklimde, kalkerli, kıraç topraklarda yetişmektedir (58).

Flavonoitler ve Triterpenik Asitler

Thymus türlerinin flavonoitleri üzerinde yapılan araştırmalarda bulunan flavonoitler Tablo-9'de gösterilmiştir.

FLAVONOİT	Thymus Türleri																					
	A (2,3)	B (2,3, 31)	C (2,3)	D (2,3 31)	E (2,3)	F (2,3)	G (2,3)	H (2,3)	I (2,3)	K (2,3, 20)	L (2,3)	M (2,3, 7)	N (2,3)	O (2,3)	P (2,3)	R (55)	S (2,3, 55)	T (16)	U (2,3, 31)	V (2,5,13,31, 55,116)	Y (2,3, 31)	
Kersetin-3-Galaktozit																						
Luteolin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+		+	+	+
6-Hidroksi Luteolin	+	+	+	+		+	+	+	+	+		+	+	+	+	+				+	+	+
Apigenin		+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+			+	+	+
Naringenin																						+
Eriyodiktiyol													+									
Diossetin																						+
Genkvanin		+							+	+						+						
Ksantomikrol	+	+							+	+												+
Sirsimaritrin	+	+							+	+												+
Akasetin					+																	
Skutellarein																						+
Visenin-2		+		+						+		+								+		+
Timonin																						+
Sirsilineol																						+

Tablo - 9

Thymus Türlerinde Bulunan Flavonoitler

(A) aranjuezii, (E) beaticus, (C) caespitatus, (D) camphoratus, (E) capitatus, (F) granatensis, (G) hymnalis, (H) loscosii, (I) mastichina, (K) membranaceus, (L) nervosus, (M) piperella, (N) pulegoides, (O) praecox, (P) richardii, (R) serpylloides, (S) serpyllum, (T) sipyleus, (U) villosus, (V) vulgaris, (Y) zygis.

Tablodan görüldüğü üzere luteolin, 6-hidroksi luteolin ve apigenin en yaygın flavonoitlerdir. Kersetin-3-galaktozit ise sadece T.sipyleus'ta bulunmuştur.

T.vulgaris'ten oleanolik ve ursolik asit (6,14,64), T.serpyllum'dan ursolik asit (14), T.sipyleus'tan ise oleanolik asit izole edilmiştir (16).

Farmakolojik Etki ve Kullanılış

Muhtelif Thymus türleri halk arasında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Değişik araştırmacılar halk arasındaki kullanılışların uçucu yağdaki fenolik maddelere ve flavonoidlere bağlı olabileceğini ileri sürmektedirler (13,18,49,59,60,62,116-120).

Thymus türlerinin etkileri değişik gruplar altında incelenebilir.

Antispazmodik, Antitussif, Ekspektoran Etkileri : Thymus uçucu yağlarında bulunan fenollerin bu etkileri meydana getirdiği ve spazmolitik etkiye flavonoidlerin katkısının büyük olduğu belirtilmektedir (13,18,62,117,119,120).

Timol ve karvakrolün düz kas spazmlarını çözerek, iç organlarda duyulan ağrıları yok ettiği hayvan deneyleri ile de açıklanmıştır (117,119,120). Trake, duodenum ve ileum kaslarında bu etki bariz olarak görülmüştür.

Thymus uçucu yağının akciğer, bronşlar ve farenks mukozalarında, mukoza sekresyonunu arttırarak, buradaki tüylerin hareketini stimüle ettiği ve dolayısıyla ekspektoran ve antitussif etki yaptığı ileri sürülmektedir (13,117,119,120).

Antibiyotik Etkisi : Thymus türlerinin antibiyotik etkisini fenolce zengin uçucu yağları sağlamaktadır. Antibakteriyal, antifungal, antihelmintik olarak geniş ölçüde kullanılır (13,49,59,60,99,117). Uçucu yağın etkili olduğu bakteriler; *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria perflava*, *Pseudomonas aeruginosa*'dır (13,49,59,60). Funguslardan ise; *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *A.chevalieri*, *A.flavus*,

A.giganteus, A.repens, Absidia glauca, Mucor mucedo, Rhizophus nigricans, Penicillium chrysogenum, P.rubrum, P.lilacinus'a etkili olduğu gösterilmiştir (60).

Antihelmentik olarak kullanılmasına da yine fenolik yapıdaki maddelerin sebep olduğu gösterilmiştir (13,119).

Thymus turleri taşıdıkları tanenden dolayı Herpes simplex virüsüne karşı antiviral etki de göstermişlerdir (13).

Sindirim Sistemine Etkisi: Thymus türlerinin, antiseptik, antispazmodik etkilerinden ve taşıdığı tanenlerden dolayı, sindirim sistemi rahatsızlıklarında kullanılışı açıklanabilmektedir (13).

Diğer : Thymus uçucu yağlarının yağı vasatta, riboflavinin fotodekompozisyonunu önlemesi gibi hususlar antioksidan olarak gıdaların saklanması için kullanılabileceğini göstermiştir (13). Kapillerler üzerine olan etkisinden dolayı kozmetik preparatlarda, bilhassa sağ toniklerinde kullanılmaktadır (13).

DENEYSEL KISIM

M A T E R Y A L

Thymus eigii (M.Zohary et P.H.Davis) Jalas bitkisi 1985-1986 yıllarında genellikle 9-16 Temmuz tarihleri arasında Adana, Kozan ilçesinin Göller Yaylası mevkiinden çiçeklenme devresinde toplandı. Bazı örnekler, botanik çalışmalarda kullanılmak üzere 70 ° 'lik etanol içinde saklandı. Toprak üstü kısımları köklerinden kurtarıldı, gölgede kurutulup su distilasyonu ile uçucu yağ elde edildi. Bulgular kısmında 9-13 Temmuz 1986 yılında* toplanan materyalden elde edilen uçucu yağın kimyasal analiz sonuçları verilmiştir.

* : T.eigii (M.Zohary et P.H.Davis) Jalas (G5) Adana, Kozan, Akçalı Orman İşletmesi İstif Sahası 10.7.1986 (HUEF !).

Y Ö N T E M

Bitkinin botanik özellikleri, 1985-1986 yıllarında toplanan herbarium numunelerinin yanında alkol materyali de kullanılarak tespit edilmiştir.

Yukarıda belirtilen materyalde bitkinin morfolojik özellikleri, yaprak ve gövdeden alınan enine kesitlerin ve yaprak tozunun taşıdığı elementler tespit edilerek şekilleri çizilmiştir. Toz edilmiş materyalde görülen elementler kesitlerle mukayese edilerek doğrulanmıştır. Ayrıca her bir elementin boyutları mikrometrik oküler yöntemi kullanılarak ölçülmüştür.

Kimyasal araştırmamızda kullanılan yöntemlerin esası, ayrıntısı ve tercih sebepleri aşağıdaki başlıklar altında açıklanacaktır: Uçucu yağın miktar tayini, su tayini, fiziksel tayinler, indeks tayinleri, total fenol miktar tayini, kolon kromatografisi, gaz kromatografisi ve yapıdaki maddelerin miktarının tayini.

Uçucu Yağın Miktar Tayini

TF 1974'de droglardaki uçucu yağ miktarının tayini için herhangi bir yöntem bulunmadığından TK 1948'in verdiği gravimetrik yöntem, kodeks yöntemi olarak uygulanmıştır.

Gravimetrik yöntemle bulunan sonuçlar genellikle hakiki miktardan daha düşük olmaktadır, bu sebepten diğer farmakopeler ofisinal yöntem olarak volumetrik yöntemi tercih etmektedirler. Volumetrik yöntem USP XVII 'de verilen esaslara uygun olarak tatbik edilmiştir.

Gravimetrik Yöntem

İki litrelik yuvarlak altlı bir balona 100 g küçük parçalara ayrılmış herba ve 300 ml su konur. Bu balona iki defa dik açılı şekilde bükülmüş ve 30 cm uzunluğunda adi bir distilasyon borusu, buna da 22 cm lik bir soğutma ceketi taşıyan 55 cm uzunluğunda bir soğutucu borusu bağlanır. Balon, amyant tel üzerinde bunzen beki ile ısıtılır. Distila, 150 ve 200 ml'lik hacimleri işaretli 300 ml'lik bir ayırma hunisinde toplanır. 150 ml distila toplanınca distilasyona ara verilir. Bek ve su akımı kesilerek soğutucu borunun iç cidarlarında yapışık kalmış uçucu yağ damlacıklarının sürüklenmesi ve balon çalkalanarak cidara yapışmış herba parçacıklarının tekrar su ile temas etmesi sağlanır. Bek ve su akımı açılır ve distilasyona 50 ml daha distila toplanıncaya kadar devam edilir. Distilaya 60 g sodyum klorür ilave edilir, üç defa yirmişer ml pentan ile ekstra edilir. Pentanlı ekstraktlar birleştirilir, uçurulur. Sabit vezne getirilen balonun boş ve dolu tartımları arasındaki fark yüzde uçucu yağ miktarını verir.

Volumetrik Yöntem

Yuvarlak altlı 6 l'lik bir balona 100 g küçük parçalara ayrılmış herba ve 2 l kadar su konur, üzerine soğutucu taşıyan, yoğunluğu sudan hafif uçucu yağlar için kullanılan bir toplama büreti yerleştirilir. Elektrikli ısıtıcıda ısıtılır. Distilasyona uçucu yağ miktarı artmayınca kadar devam edilir. Bu işlem bitince soğuk su akımı kesilerek soğutucunun iç cidarlarına yapışmış uçucu yağın bürette toplanması sağlanır. Büretteki taksimatın yardımıyla uçucu yağ miktarı ml cinsinden okunur.

Su Tayini

Uçucu yağ taşıyan droglardaki suyun tayini için en uygun yöntem volumetrik yöntemdir. TF 1974'de bu yöntemin ayrıntısı verilmediği için Amerikan Farmakopesi (USP XIX)'nin yöntemi ve cihazı kullanılmıştır. Su tayini, yaş ve kuru bitki numunelerinde ayrı ayrı yapılmıştır. Bu uygulamalar arasındaki farklılık materyalin başlangıç tartımındadır. Bu husus yöntemin uygulanmasına ait kısımda parantez içinde verilmiştir.

Yaş herba 12-15 g (kuru materyal 30-40 g) tartılır. Küçük parçalara doğranır, 250 ml'lik bir balona konur, üzerine 100 ml ksilol ilave edilir. Cihaz elektrikli bir ısıtıcıda ısıtılır, solvanın düzgün kaynaması sağlanır. Distilasyon işlemine toplama büretinde berrak bir solvan tabakası elde edilinceye ve su miktarı artmayınca kadar devam edilir. Dipte biriken suyun ksilol tabakasından tamamen ayrılması için bir süre beklenir, su miktarı ml cinsinden okunur, materyalin taşıdığı su miktarı h/a cinsinden hesaplanır.

Fiziksel Tayinler

Spesifik Ağırlık

Uçucu yağların spesifik ağırlığı, Farmakopelere göre, piknometre kullanılarak tayin edilir. Az miktardaki uçucu yağlar için araştırmacılar özel pipetler kullanmıştır. Araştırmamızda hacmi 0.1 ml olan kapiler bir pipetten yararlanarak bu tayin yapılmıştır.

Önceden darası alınmış kapiler bir pipete hassas olarak 0.1 ml uçucu yağ çekilir, tartılır, uçucu yağ boşaltılır. Pipet önce alkol sonra eter ile yıkanır, kurutulur, aynı miktarda su tam olarak çekilir, tartılır. Tartımlar arasındaki farklar hesaplanır. Uçucu yağın ağırlığı suyun ağırlığına bölünür. Spesifik ağırlık bulunur.

Spesifik Çevirme ve Kırılma İndeksi

TF 1974'de spesifik çevirme ve kırılma indeksinin nasıl tayin edileceği belirtilmiştir. Diğer farmakopelerde de benzer yöntemler kullanıldığı için araştırmamızda TF 1974'ün kabul ettiği esaslar uygulanmıştır.

Spesifik çevirme tayini "Jena" polarimetresi ile sodyum ışığında 20°C'de yapılmıştır. Bu ölçümde kullanılan küvetin hacmi 10 ml, uzunluğu 10 cm'dir.

Kırılma indeksi ise "Abbe tipi Jena" refraktometresinde sodyum ışığında 20°C'da ölçülmüştür.

Etanolde Çözünürlük

TF 1974'de etanolde çözünürlük deneyinin nasıl yapılacağı belirtilmemiştir. TK 1948'de ise uçucu yağ monografilerinde etanolde çözünürlük verilirken deneyin yapılışı hakkında ayrıntılı bilgi bulunmakta, ancak

genel kısımda herhangi bir yöntem verilmemektedir. Bu sebepten etanolde çözünürlük deneyinde 20 ml'lik eprüvet ile E.Gunther tarafından verilen yöntem (27) kullanılmıştır.

1 Kısım uçucu yağ 20 ml'lik bir eprüvete konur, üzerine 1 k 70°'lik etanol ilave edilir, çalkalanır, kendi haline bırakılır, uçucu yağın çözünüp çözünmediği, çözeltilinin berrak olup olmadığı tespit edilir. Eğer çözeltili hafif bulanık ise etanol küçük miktarlar halinde ilave edilir, çalkalanır, tekrar incelenir. Uçucu yağ berrak olarak çözünmüyorsa toplam hacim 20 ml oluncaya kadar, dikkatle, 70°'lik etanol ilave edilir. Çözeltili berrak değilse deney etanol derecesi arttırılarak (80°, 90°, 95°) tekrarlanır.

İndeks Tayinleri

Az miktarda uçucu yağ kullanılarak, asitlik, ester ve sabunlaşma indekslerinin tayin edilmesi amaçlanmıştır. Bu yüzden önce asitlik, ardından ester indekslerinin tayinine dayanan bir mikro yöntem kullanılmış, sabunlaşma indeksi ise asitlik ve ester indekslerinin toplanması ile hesaplanmıştır. Kullanılan yöntemlerle hassas sonuçlar elde edilmekte ve çok sayıda araştırmacı tarafından tercih edilerek kullanılmaktadır (8,107, 111,115).

Asetil indeksinin tayininde dioksanlı vasatta asetik anhidriti ve fosforik asit ile asetilleme esasına dayanan bir yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemle tersiyer alkoller de tayin edilmekte, asetilleme için ısıya ve özel bir alete ihtiyaç bulunmamaktadır (10). Asetil indeksinin bu yöntemle tayin edildiği pek çok araştırma vardır (8,107,111,115).

Asitlik İndeksi (A.İ.)

0.2 g uçucu yağ, darası alınmış, 100 ml'lik bir erlende hassas olarak tartılır, fenolftaleine karşı nötr olduğu önceden kontrol edilmiş 2 ml etanol ilave edilir. Endikatör olarak fenolftaleinin alkoldeki % 1'lik çözeltisinden dört damla konur, 0.1 N alkollü potasyum hidroksit ile titre edilir. Ayrıca uçucu yağ kullanılmadan bir boş deney yapılır, her iki deneyde bulunan değerler kullanılarak asitlik indeksi hesaplanır.

Ester İndeksi (E.İ.)

Asitlik indeksi tayin edilen uçucu yağ üzerine 10 ml 0.1 N Alkollü potasyum hidroksit çözeltisi ilave edilir, geri çeviren soğutucu altında amyant tel üzerinde, bir saat kaynatılır. Soğuduktan sonra, kaynatılıp soğutulmuş, dolayısıyla taşıdığı karbondioksitten kurtarılmış 50 ml su ile seyreltilir, dört damla fenolftalein çözeltisi ilave edilir, alkollü potasyum hidroksitin fazlası 0.1 N hidroklorik asit ile geri titre edilir. Asitlik indeksi tayininde boş deney için kullanılan numune, ester indeksi tayininde de boş deney numunesi olarak kullanılır. Elde edilen değerlerden yararlanılarak sonuç hesaplanır.

Sabunlaşma İndeksi (S.İ.)

Bu indeks asitlik indeksi ile ester indeksi değerlerinin toplanması ile elde edilir.

Asetil İndeksi

Cam kapaklı bir erlene 0.2 g civarında uçucu yağ tam olarak tartılır, üzerine 5 ml reaktif (5 damla %80'lik fosforik asit, 10 ml asetik anhidrit ve 20 ml dioksan) ilave edilir, çalkalanır, oda ısısında 24 saat bekletilir. Sürenin bitiminde 15 ml piridin, 50 ml su konur,

beş dakika çalkalanır, fenolftalein endikatörü ilave edilir, 0.5 N sodyum hidroksit çözeltisi ile titre edilir. Sonuç aşağıdaki formülden hesaplanır. Deney uçucu yağ konmadan tekrarlanmalıdır

$$\text{Asetil İndeksi} = \frac{60 \times 0.5 (N-n)}{P} + \frac{A.İ. \times 60.1}{56.11}$$

P : Tartılan yağ miktarı

N : Boş denemede sarfedilen sodyum hidroksit miktarı (ml).

n : Uçucu yağ ile yapılan deneyde sarfedilen sodyum hidroksit miktarı (ml).

Total Fenol Miktar Tayini

Klasik yoldan, total fenol miktar tayini TK 1948'in verdiği yöntem ile, Kasya balonu kullanılarak yapılmıştır.

Kasya balonuna 5 cm³ uçucu yağ konur, 35 cm³ sud lesivi ve 70 cm³ sudan ibaret bir çözeltiden 50 cm³ ilave edilir, kuvvetle çalkalanır, balona aynı çözeltiden doldurularak uçucu yağ balonun boğazına gönderilir. Uçucu yağ, sulu tabakadan tamamen ayrılıncaya kadar bekletilir, ayrılan uçucu yağın miktarı Kasya balonunun boğazındaki taksimatlı kısımdan okunur.

Kolon Kromatografisi

Kolon kromatografisi, uçucu yağların gaz sıvı kromatografisine tat-
bik edilmeden önce hidrokarbon ve oksijenli bileşiklerinin ayrılmasında
ve fraksiyonlanmasında kullanılmakta olan bir yöntemdir. Svendsen ve ar-
kadaşlarının çok sayıdaki araştırmalarında (72-74, 76-78) fraksiyonlama

işlemi için kullandıkları yöntem, araştırmalarımızda da kullanılmaktadır (83,84,91). Bu yöntemin en önemli özelliği tekrarlanabilir nitelikte olmasıdır.

Kolon Hazırlanması

40 g Kieselgel G 60 0.063-0.200 mm (70-230 mesh ASTM, Merck 7734) üzerine ağırlığının % 5'i kadar su ilave edilir ve pentan ile süspansiyon haline getirilir, hava kabarcıkları kayboluncaya kadar karıştırılır, yağ yöntem ile 18 mm iç çaplı, 50 cm uzunluğundaki ceketli bir kolona doldurulur. Kolon ısısı, su akımı yardımıyla 15°C civarında sabit tutulur. Musluk açık bırakılarak adsorbanın kolona yerleşmesi sağlanır. Çözücü adsorbanın üst yüzeyine yaklaşıncaya 0.5 ml uçucu yağ kolonun kenarından akıtılarak dikkatlice adsorbe ettirilir.

Hidrokarbonların Fraksiyonlanması

Kolondaki solvan sistemi ile elüsyona başlanır. Akış hızı dakikada 2 ml olacak şekilde ayarlanır. Fraksiyonlar aşağıdaki miktarlarda toplanır.

Fraksiyon		Toplam
No	ml	ml
1	50	50
2-19	3	54
20-25	10	60
26-28	50	150
		314

Oksijen Taşıyan Monoterpenlerin Fraksiyonlanması

314 ml pentan elüe edildikten sonra OTMT fraksiyonlanmaya başlanır. Bu işlem için kullanılan kolona ilave edilen elüsyon çözeltisinin (pentan : eter) oran ve miktarları aşağıda gösterilmiştir.

<u>Elüsyon Çözeltisi</u>		
<u>Pentan (ml)</u>	<u>Eter (ml)</u>	<u>Toplam (ml)</u>
100	-	100
97.5	2.5	100
95	5	100
90	10	100
85	15	100
75	25	100
50	50	<u>200</u>
		800

Kolondan aynı miktarlarda elüat alınmamış, aşağıda gösterilen sayı ve miktarlarda fraksiyon toplanmıştır.

<u>Fraksiyon</u>		<u>Toplam</u>
<u>No</u>	<u>ml</u>	<u>ml</u>
0	100	100
1	100	100
2-19	10	180
20-37	15	270
38	150	<u>150</u>
		800

Gaz-Sıvı Kromatografisi

Uçucu yağın analizinde gaz-sıvı kromatografisi kullanılmıştır. Uçucu yağların yapı aydınlatılmasında uygun ayırımlar sağlayan ve bu yüzden araştırmacılar tarafından kullanılıp başarılı sonuçlar alınan ayırım sistemleri, fraksiyonların yapı aydınlatılmasında kullanılmıştır (35,36,68,69, 71-78, 83,84,91,100,101,107,111,112). Bu sistemler ve şartları aşağıda gösterilmiştir. Araştırmamızda "Packard Becker 419" çift alev iyonizasyon dedektörlü gaz kromatograf kullanılmıştır.

Fraksiyonların Gaz-Sıvı Kromatografisine Tatbiki

Hem pentan hem de pentan : eter karışımları rotavaporda 0°C da 1 ml'ye kadar yoğunlaştırılır. 1 µl'si gaz kromatografa tatbik edilir.

MTHK İçin Kullanılan Sistemler :

Sistem I

Kolon : Bakır, 1.5 mm çap ve 8 m uzunluğunda;
Adsorban : Chromosorb W-AW (60-80 mesh)
Stasyonier Faz : % 10 PEG 20 M
Fırın ısısı : 60°C, izotermal
Dedektör ısısı : 200°C
Enjeksiyon bölgesi ısısı : 200°C
Taşıyıcı gaz : Azot
Akış Hızı : 1.6
Yazıcı : Honeywell
Kağıdın Geçiş Hızı : 5 dak/cm.

Sistem II

Kolon : Bakır, 1.5 mm çap ve 8 m uzunluğunda
Adsorban : Chromosorb W-AW (60-80 Mesh)
Stasyonier Faz : % 10 ββ' oksidipropiyonitril (ODPN)
Fırın ısısı : 36°C izotermal
Dedektör ısısı : 200°C
Enjeksiyon Bölgesi ısısı : 200°C
Taşıyıcı Gaz : Azot
Akış Hızı : 1.2
Yazıcı : Honeywell
Kağıdın Geçiş Hızı : 5 dak/cm

Sistem III

Kolon : Bakır, 1.5 mm çap ve 8 m uzunluğunda
Adsorban : Chromosorb W-AW (60-80 Mesh)
Stasyonier Faz : % 10 SF 96
Fırın ısısı : 80°C izotermal
Dedektör ısısı : 200°C
Enjeksiyon Bölgesi ısısı : 200°C
Taşıyıcı Gaz : Azot
Akış Hızı : 3
Yazıcı : Honeywell
Kağıdın Geçiş Hızı : 5 dak/cm

STHK ve OTMT için Kullanılan Sistemler :

Sistem IV

Kolon : Bakır, 1.5 mm çap ve 8 m uzunluğunda
Adsorban : Chromosorb W-AW (60-80 Mesh)
Stasyonier Faz : % 10 PEG 20 M
Fırın Isısı : 140°C izotermal
Dedektör Isısı : 200°C
Enjeksiyon Bölgesi Isısı : 200°C
Taşıyıcı Gaz : Azot
Akış Hızı : 1.4
Yazıcı : Honeywell
Kağıdın Geçiş Hızı : 5 dak/cm

Sistem V

Kolon : Bakır 1.5 cm çap ve 8 m uzunluğunda
Adsorban : Chromosorb W-AW (60-80 Mesh)
Stasyonier Faz : % 10 SF 96
Fırın Isısı : 120°C izotermal
Dedektör Isısı : 200°C
Enjeksiyon Bölgesi Isısı : 200°C
Taşıyıcı Gaz : Azot
Akış Hızı : 2.5
Yazıcı : Honeywell
Kağıdın Geçiş Hızı : 5 dak/cm

Miktar Tayini

Uçucu yağın yapısındaki maddelerin miktar tayini, iyi ayırım sağlanmış Hidrokarbon (HK) ve Oksijen Taşıyan Monoterpen (OTMT) fraksiyonlarına ait kromatogramlar kullanılarak yapılmıştır. Bu kromatogramlar planimetre ile ölçülerek piklerin alanları toplam alana göre oranlanmış ve maddelerin % oranları hesaplanmıştır.

Uçucu yağdaki HK ve OTMT fraksiyonlarının total miktarları ise gravimetrik bir yöntem kullanılarak tayin edilmiştir. Bu yöntem pek çok araştırmacı tarafından kullanılmaktadır (83,84,91,102,103,105,107-112). Kolon kromatografisi ile ayrılan ana fraksiyonlar uçurulmuş, sabit vevne getirilip tartılmış, HK ve OTMT'lerin uçucu yağ içindeki % oranları bulunmuştur. Bu % oranlar kullanılarak HK ve OTMT fraksiyonlarındaki maddelerin mik-

tarları da ayrıca hesaplanmıştır. Miktar tayininde kullanılan yöntem ile ilgili pratik bilgiler aşağıda kısaca verilmiştir.

0.5 ml civarında uçucu yağ tam olarak tartılır. Hazırlanışı kolon kromatografisi bahsinde ayrıntılı olarak verilmiş olan kolona adsorbe ettirilir. HK'lar pentan ile elüe edilir ve 314 ml elüat toplanır. OTMT'lerin fraksiyonlanmasında ise eter kullanılarak 500 ml elüat toplanır. HK ve OTMT elüatları, önceden sabit vezne getirilmiş ve darası alınmış yuvarlak altlı balonlarda 0°C civarında, rotavaporda uçurulur. Sabit vezne getirilir, tartılır, bulunan değerlerden uçucu yağdaki HK ve OTMT % oranlarına geçilir.

BOTANİK BULGULAR

B O T A N İ K B U L G U L A R

Thymus eigii (M.Zohary et P.H.Davis) Jalas bitkisinin taksonomik özellikleri daha önce incelenmiştir. Bu araştırmalarda bitkinin morfolojisine ait Şekil vb. hususlar bulunmamaktadır. Araştırmamızda taksonomik ve anatomik bulgularımız, bu kısımda,türün özellikleri, gövde, yaprak ve braktenin anatomik özellikleri başlıkları altında verilmiştir.

Thymus eigii (M.Zohary et P.H.Davis) Jalas



Şekil - 3

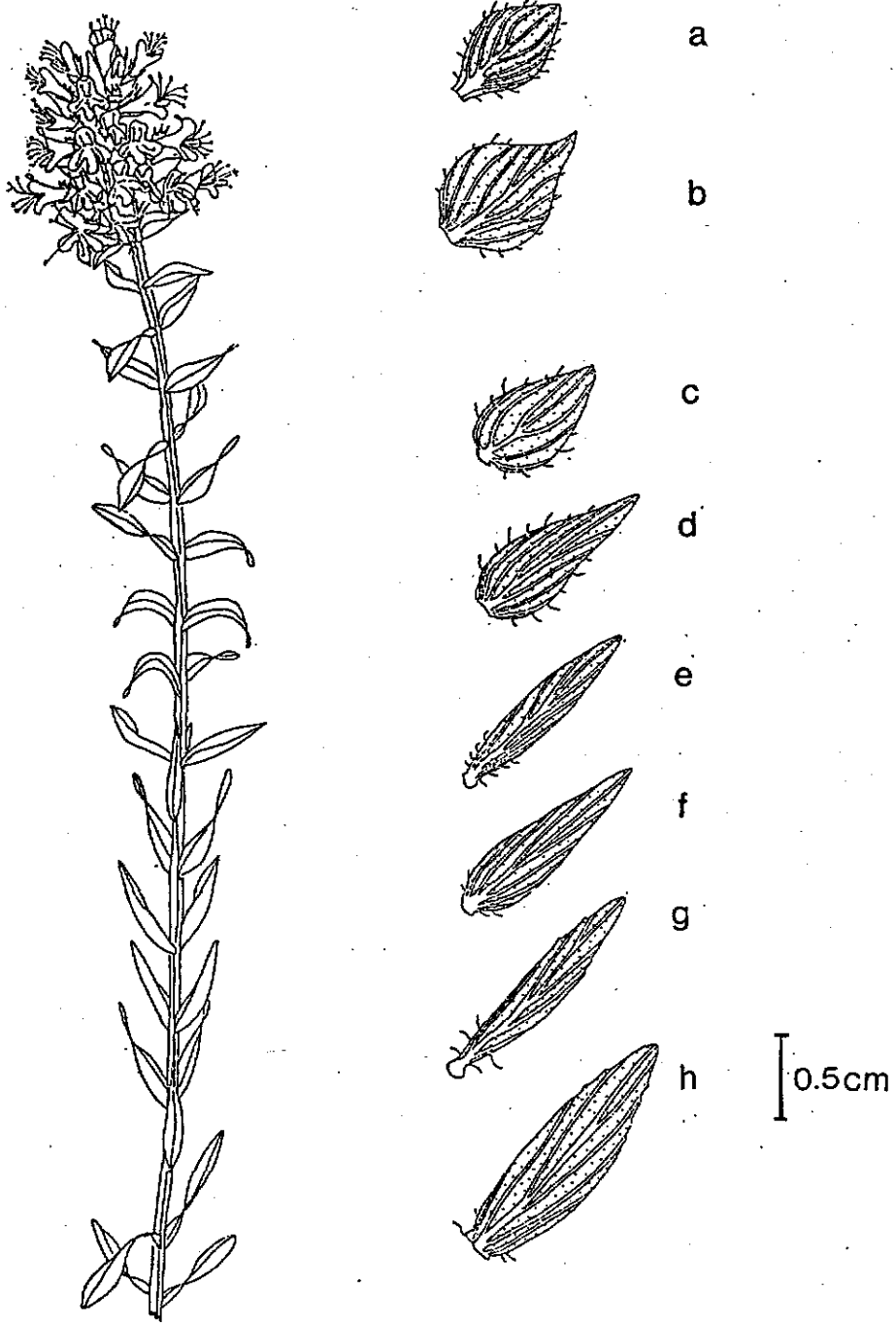
T.eigii-Genel Görünüş ve Habitat

Çok yıllık, tabanda odunsu çalılar, odunsu kısımlar 2-5 mm çapta. Çiçekli dallar ince, uzun, yükselici, 12-30 cm yüksekliğinde. Gövde 4 köşeli, dik, karşılıklı iki kenarda ince tüylü. 9-28 x 1.5-8 mm uzunluğundaki yapraklar basit, karşılıklı ve dekusat dizilişte, sapsız, linear lansolattan eliptik ovata kadar olan şekillerde, tepesi akut, taban yapraklarının kenarları sinüslü, diğerleri düz, alt ve orta yapraklar tabanda siliat, üst yapraklar kenarlarda tüylü, çıplak, 8-10 damarlı, salgı tüyleri çok (Şekil-3,4,5).

Çiçek durumu adeta bir kapitulum şeklinde, 1-5 cm, vertisillastrumlar sık, 14 çiçekli. Brakteoller pedisellerden kısa. Brakteler 8.5-15 x 4.5-9.5 mm, genellikle yeşil bazen mor; eliptik, ovat, uçta akuminat; 4-5 çift damarlı kenarları tüylü.



Şekil - 4
T. eigii - Bitki



Şekil - 5

T. eigii-Gövde Üzerinde Yaprakların Farklılaşması
a,b) Brakteler, c,d) Üst yapraklar, e,f) Orta yapraklar,
g,h) Alt yapraklar

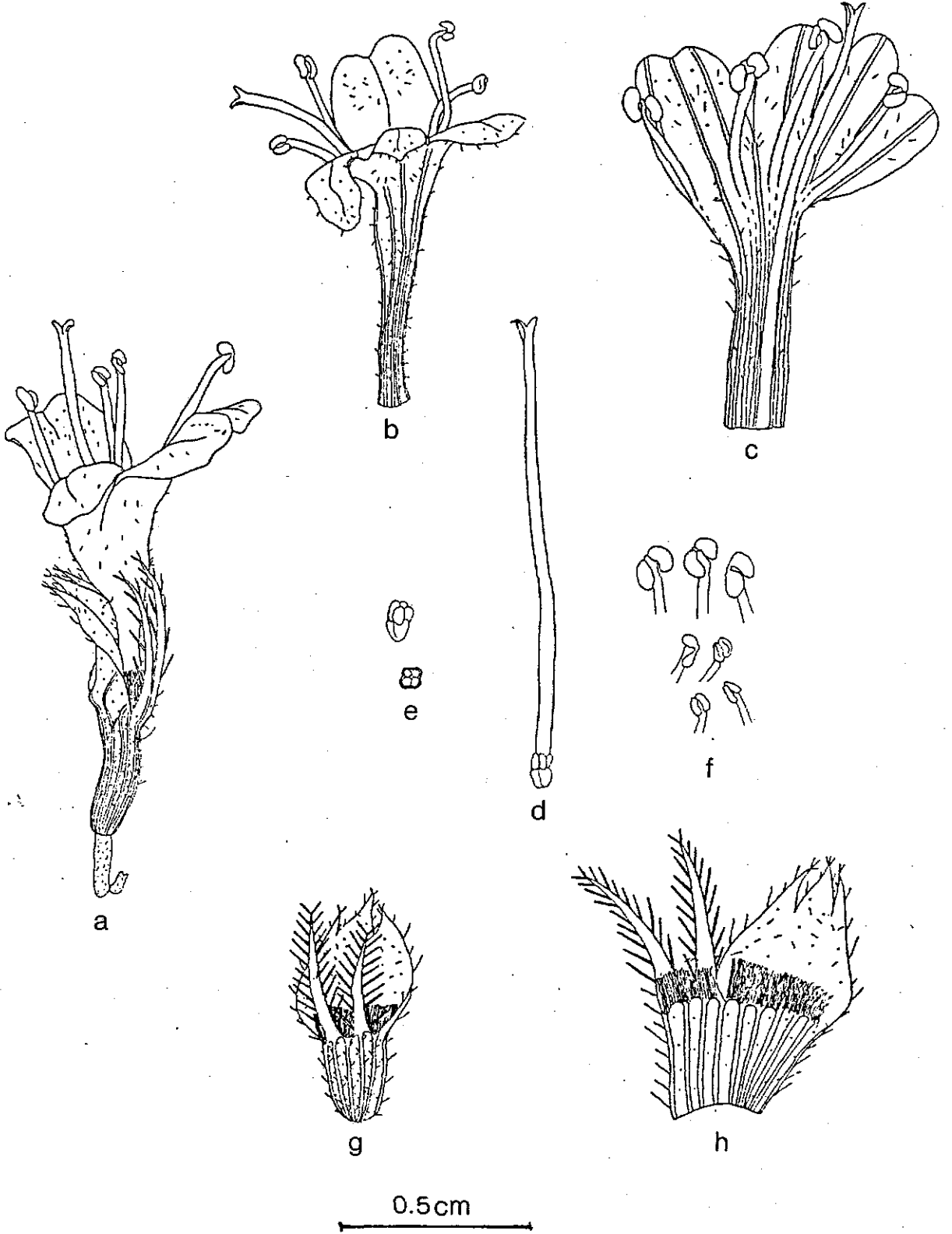


Şekil - 6

T.eigii-Çiçek Durumu

Kaliks kalıcı, gamosepal, bilabiat, tüylü, 5-7 mm, 10 damarlı, yağ damlaları az. Kaliks tübü silindrik, dudaklardan kısa, 2-3 mm, dudaklar 2.5-4.5 mm. Üst dudak ovat, geriye doğru kıvrılmış, üç dişli, yan dişler 0.5-1 mm, orta diş 1-1.5 mm. Alt dudak 2 dişli, dişler uzun, boynuz gibi, 2.5-4.5 mm, subulat, kenarları siliat. Kaliks boğazı sık, ince tüylü.

Korolla gamopetal, bilabiat, 6-10 mm. Pembeden mora kadar olan renklerde. Korolla tübü 2.5-5 mm, dudaklar 3-5 mm. Üst dudak 2 loblu, uçta bifit, emarginat, kenarları tam. Alt dudak 3 eşit, derin loblu. Korolla kaliksin dışına taşmış, seyrek salgı ve örtü tüylü (Şekil-6,7).



Şekil - 7

T. eigii - Çiçek Kısımları

a) Çiçek, b) Korolla, c) Korolla iç yüzey, d) Ginekeum, e) Ovaryum ve Enine kesiti, f) Stamenler, g) Kaliks, h) Kaliks iç yüzey.

Stamenler verimli, 4, didinam. Korolla túbünün iç yüzüne bağlı. Anterler dorsifiks, tekalar birbirine paralel değil. Filamentler, uzun, mor, korolladan taşmış.

Ovaryum üst durumda, stilus ginobazik, korolla dışına uzamış, uçta bifit, 2 karpelli, 4 gözlü, her göz 1 ovüllü. Ginofor ovaryumun 1.5 katı büyüklükte (şekil-7).

Yayılışı

C5 Adana: Kozan, Akęalı Orman İşletmesi İstif Sahası. 16.7.1985 İ.Saracoğlu, T.Ersöz (HUEF!). C5/6 Hatay: Amanus dağı, İskenderun-Arsuz arası. 10.6.1967, Y.Akman (ANK 9 !). C6 Hatay: Amanus Dağı, Belen Yakını, avkara'ya doğru, 915 m., Kotschy (D1862: 59) (17).

Anatomik Özellikler

Gövde

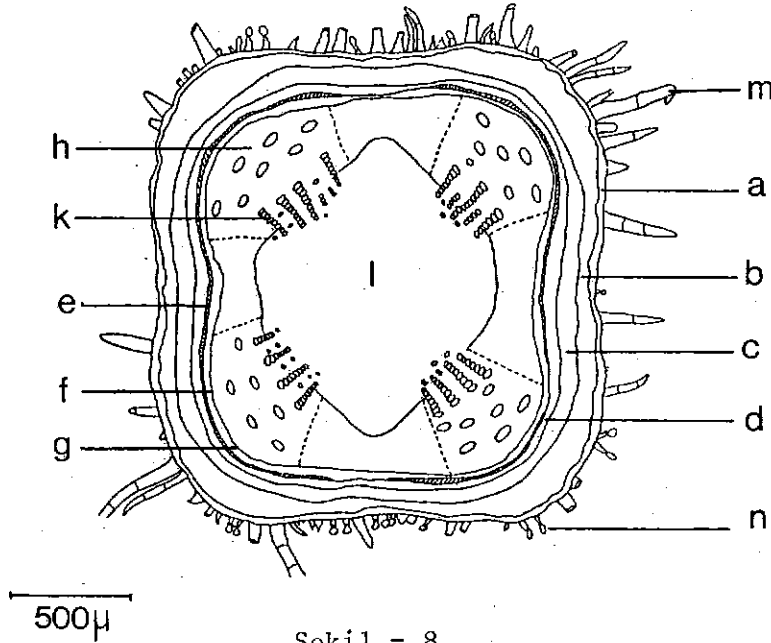
Dört köşeli, epiderma yuvarlakęa hücreli, üzeri ince bir kütiküla ile örtülü, kütiküla kıvrımlı, ortalama hücre büyüklüğü 16x15 μ , tek ve çok hücreli örtü tüylüdür. Tüyler genellikle karşılıklı iki kenarda yoğundur. Tek hücreli örtü tüyleri 84 μ , çok hücreli olanlar ise 252-336 μ dur. Taşıdığı salgı tüyleri ise ya başı ve sapı tek hücreli veya başı tek, sapı iki hücrelidir (42-112 μ). Başı sekiz hücreli salgı tüyleri daha az ve genellikle yüzeysel kesitte belirgindir.

Epidermanın altında, ęeperleri hemen hemen eşit şekilde kalınlaşmış bir kollenkima tabakası bulunur. Kollenkima, kenarlarda ince (42-56 μ), köşelerde ise daha kalındır (112 μ). Ortalama hücre büyüklüğü 22x17 μ 'dur. Kollenkima altında yer alan parenkima tabakası, kenarları kalınlaşmış 3-4

sıra hücreden meydana gelmiştir, bol ergastik madde taşır, ortalama hücre büyüklüğü $42 \times 18 \mu$ 'dur.

Endoderma genellikle tek, yer yer 2 sıralı büyük hücrelerden meydana gelmiştir, kenarlarda bariz olarak Caspary şeridi görülür. Ortalama hücre büyüklüğü $34 \times 25 \mu$ 'dur. Endodermanın altında, bazı kısımlarda görülemeyen 1-2 sıralı perisikl tabakası vardır. Floem fazla geniş olmayan, bazı kısımlarda ezilmiş $14-28 \mu$ genişliğinde, ortalama hücre büyüklüğü $12.5 \times 4 \mu$ olan bir halkadır. Kambiyum bariz olmayan ve ezilmiş ince bir tabaka halinde yer yer görülür. Ksilem odunlaşmış, öz kolları ve odun boruları belirgindir. Ksilem tabakası köşelerde $336-392 \mu$, diğer kısımlarda ise $140-168 \mu$ genişliğindedir. Ortalama hücre büyüklüğü ise $12 \times 7.5 \mu$ 'dur. Özden önce ezilmiş bir parenkima tabakası daha bulunur, odun boruları bu tabakaya kadar inmiştir.

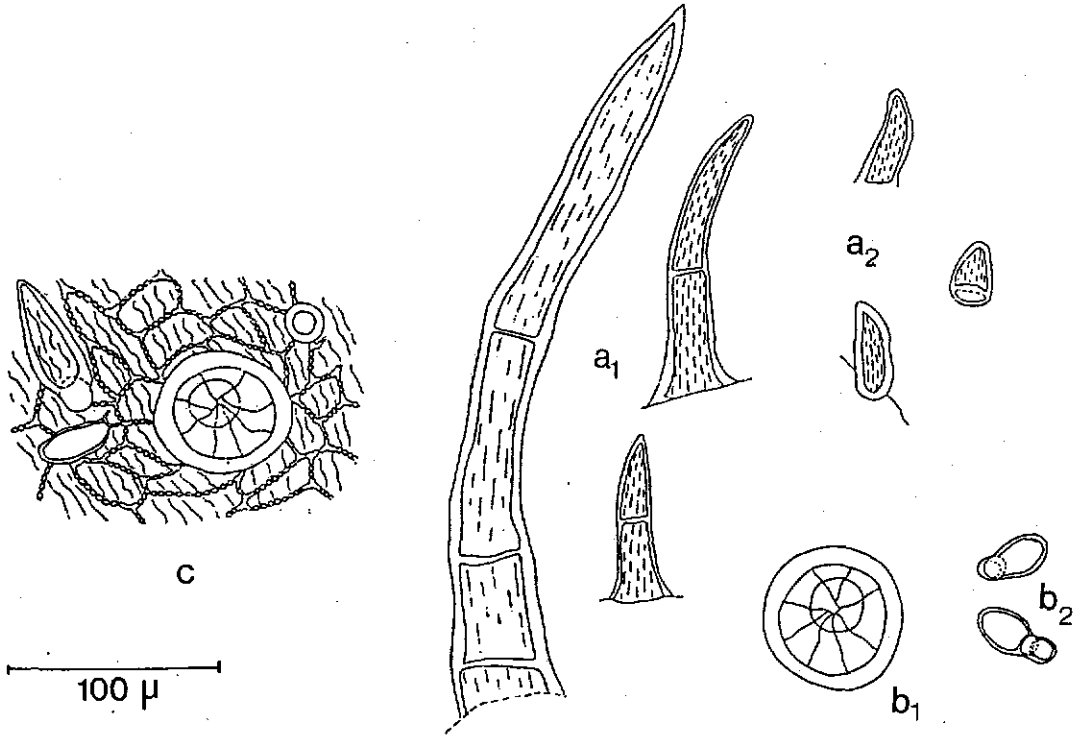
Öz, büyük, yuvarlak, ortalama hücre çapı 49μ olan parenkimatik hücrelerden ibarettir (Şekil-8,9).



Şekil - 8

T. eigii-Gövde, Enine Kesit

- a) Epiderma, b) Kollenkima, c) Parenkima, d) Endoderma, e) Perisikl, f) Floem, g) Kambiyum, h) Ksilem, k) Odun boruları, l) Öz, m) Örtü tüyü, n) Salgı tüyü.



Şekil - 9

T. eigii-Gövde, Yüzeysel Görünüş

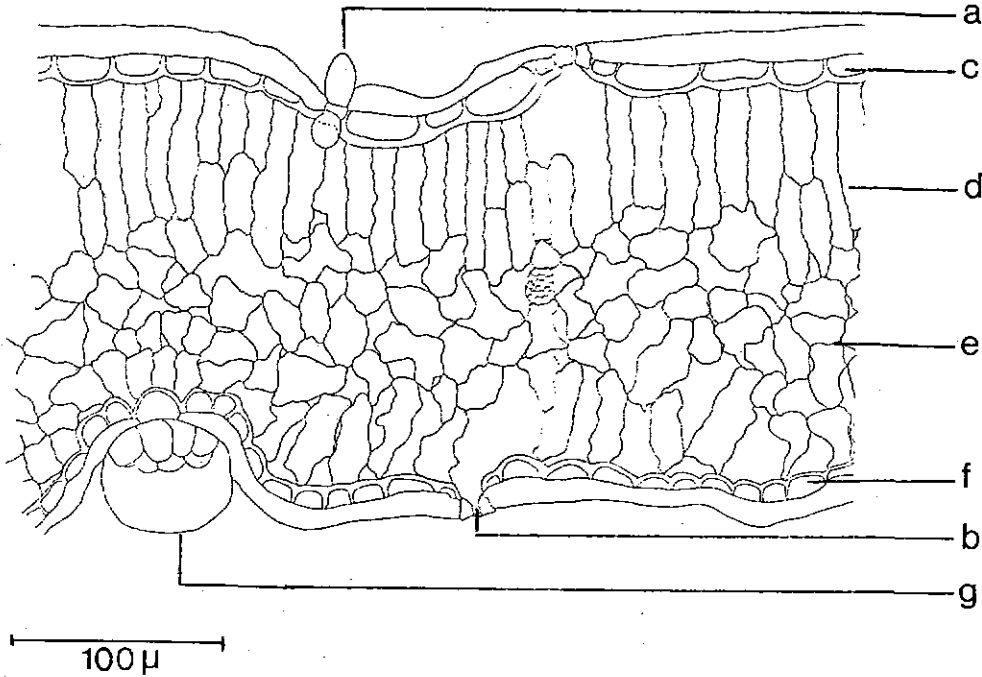
- a₁) Çok hücreli örtü tüyleri, a₂) Tek hücreli örtü tüyleri,
b₁) Labiatae tipi salgı tüyü, b₂) Başı tek hücreli salgı tüyleri, c) Salgı ve örtü tüyleri taşıyan epiderma.

Yaprak

Bifasyal, ortalama 220 μ genişliğindedir. Üst ve alt epiderma ince bir kütikula ile örtülüdür. Üst epidermada kütikula üzerinde kıvrımlar görüldüğü halde alt epiderma kütikulasında bu kıvrımlara rastlanmaz. Üst epiderma hücreleri genellikle alt epidermadan daha büyük (ortalama 27.5 μ) ve kenarları daha kalındır. Her iki epiderma da çok sayıda salgı tüyü taşır. Başı sekiz (55 μ) ve tek hücreli (42.5 μ) olan bu tüyler, mezofilin içine yarıya kadar gömülmüştür. Taban yaprakları ve gövdenin orta kısmından alınan yaprakların kesitlerinde, sadece yaprak kenarında az sayıda, dış tüy şeklinde örtü tüyleri bulunmaktadır. Üst gövde yapraklarından alı-

nan kesitlerde ise yaprağın hemen her tarafında tek ve çok hücreli örtü tüyleri görülmektedir. Stomalar her iki epidermada da çok miktarda bulunmaktadır.

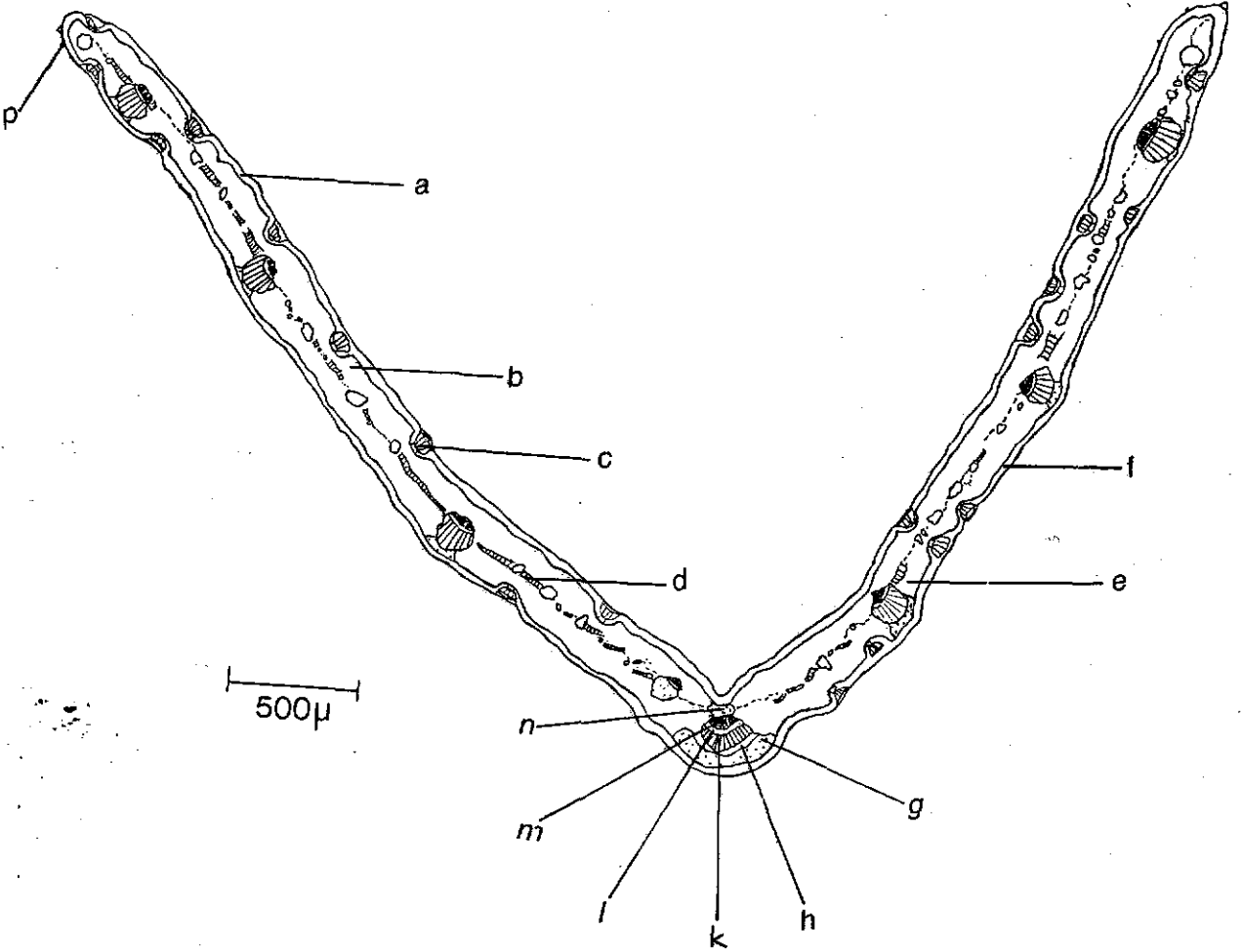
Palizat parenkiması tek, yer yer iki sıra halinde, kenarları dalgalı hücrelerden meydana gelmiştir. Palizat tabakası ortalama 70μ kalınlığındadır. Hücreler arası boşluklar fazla değildir. Ortalama hücre büyüklüğü $60 \times 12.5\mu$ dur. Sünger parenkiması 3-4 sıra hücreden meydana gelmiş, palizattan daha geniş yer kaplamaktadır (102.5μ); ortalama büyüklüğü $32 \times 10 \mu$ olan muntazam olmayan hücrelerden meydana gelmiştir. Hücreler arası boşluklar çok ve geniştir. Alt epidermaya yakın olan hücreler uzamış, adeta palizata benzer şekil almıştır. Ancak palizat hücrelerinden daha geniş ve kısa, hücreler arası boşlukları ise çoktur. Mezofilde ince iletme demetleri de görülür (Şekil-10 ,11).



Şekil - 10

T. eigii-Yaprak, Enine Kesit

- a) Başı tek hücreli salgı tüyü, b) Stoma, c) Üst epiderma, d) Palizat parenkiması, e) Sünger parenkiması, f) Alt epiderma, g) Labiatae tipi salgı tüyü.

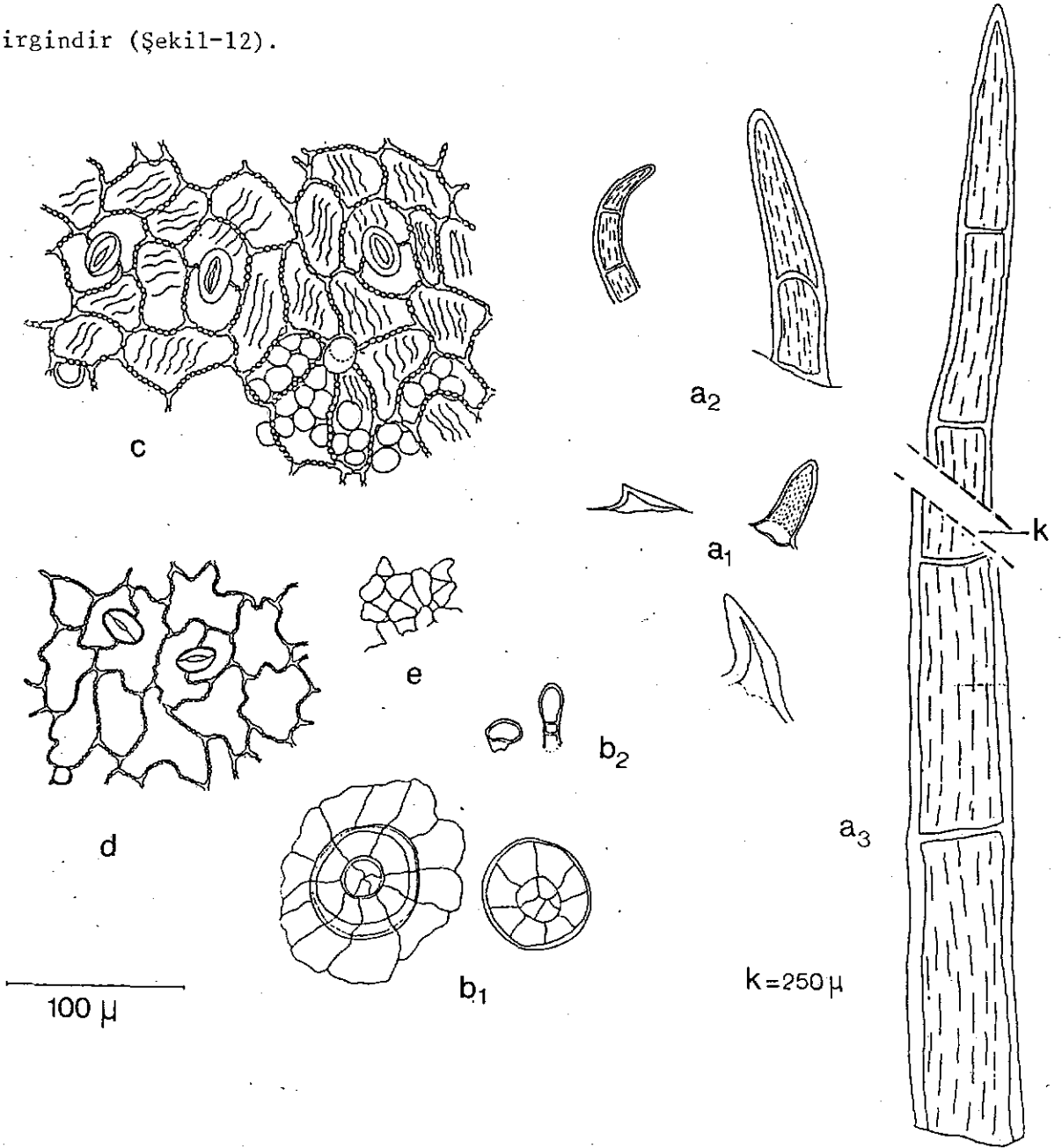


Şekil - 11

T.eigii-Yaprak Enine Kesiti, Genel Görünüş

- a) Üst epiderma, b) Palizat parenkiması, c) Labiatae tipi salgı tüyü, d) İnce iletmedemetleri, e) Sünger parenkiması, f) Alt epiderma, g) Kollenkima, h) Parenkima, k) Sklerenkima, l) Floem, m) Ksilem ve odun boruları, n) Kollenkima, p) Örtü tüyü.

Yaprak tozunda; epiderma hücrelerinin kalın ve geçirli çeperleri belirgindir (Şekil-12).

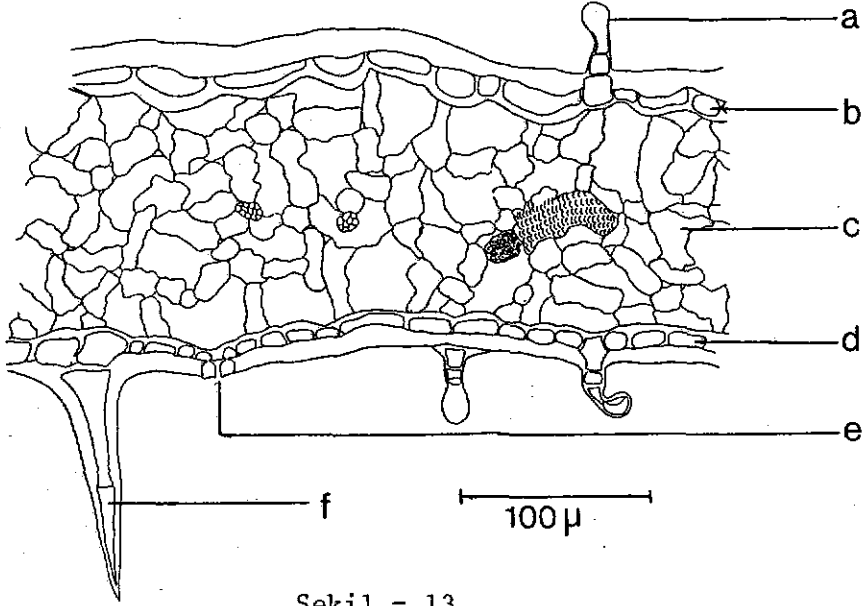


Şekil - 12

T. eigii - Yaprak Tozu

a₁) Tek hücreli örtü tüyleri, a₂) Çok hücreli örtü tüyleri, a₃) Çok hücreli uzun örtü tüyü, b₁) Labiatae tipi salgı tüyleri, b₂) Başı tek, sapı tek ve iki hücreli salgı tüyleri, c) Üst epiderma, kütiküla kıvrımları, palizat parenkiması ve stoma, d) Alt epiderma ve stoma, e) Sünger parenkiması.

Brakte



Şekil - 13

T. eigii-Brakte, Enine Kesit

- a) Başlı tek hücreli salgı tüyü, b) Üst epiderma,
c) İletme demetleri taşıyan mezofil, d) Alt
epiderma, e) Stoma, f) Örtü tüyü.

Ortalama 170μ genişliğindedir. Üst epiderma geçitli cidarlı ve stoma taşıyan, ortalama büyüklüğü, 33μ olan hücrelerden meydana gelmiştir. Kütikula ince ve üzeri kıvrımlıdır. Başlı tek, sapı iki hücreli salgı tüyleri (40μ) çoktur. Tek ve çok hücreli örtü tüyleri (122.5μ) ve diş tüyler (27.5μ) taşır. Brakte kenarında ise odunlaşmış, kalın örtü tüyelerine (siliat) rastlanır (180μ). Mezofilde sünger ve palizat diye iki farklı tabaka görülmemektedir. Ortalama 125μ luk yer kaplar, 3-4 sıralıdır. Sünger parenkimasına benzeyen, ortalama 25μ büyüklüğündeki hücrelerden meydana gelmiştir. Hücreler arası boşluklar çoktur (Şekil-13). Hücrelerin bir kısmı ince uzun, bir kısmı ise yuvarlaktır. Mezofil ince iletme demetleri taşır. Alt epidermanın cidarı kalınlaşmış, farklı büyüklüklerde, stomalı, küçük hücrelerden (20μ) meydana gelmiştir. İnce bir kütikula tabakası, salgı ve örtü tüyleri taşır.

K İ M Y A S A L B U L G U L A R

K İ M Y A S A L B U L G U L A R

Thymus eigii uçucu yağının, materyal ve yöntem kısmında açıklanan sistemler kullanılarak yapılan analiz sonuçları bulgular kısmında verilmiştir.

Materyalin taşıdığı uçucu yağ ve su miktarları Tablo-10'da, fiziksel özellikleri ile indeks tayinleri Tablo-11'de, diğer bulgular ise ayrı başlıklar halinde gösterilmiştir.

Materyalin Cinsi	Materyaldeki Uçucu Yağ (%)		Materyaldeki Su (%)
	Gravimetrik Y.	Volumetrik Y.	
Kuru	1.32	2.31	4.76
Taze	0.46	0.89	69.2

Tablo - 10

Materyaldeki Uçucu Yağ ve Su Miktarları

Spesifik Ağırlık	0.9548
Kırılma indeksi	1.5120
Spesifik çevirme α_D^{20}	+ 11
Etanolde çözünürlük 70° Etanol	2 k ve fazlasında berrak
Asitlik indeksi	3.07
Asitlik sayısı	5.46
Ester indeksi	14.06
Sabunlaşma indeksi	17.13
Asetil indeksi	324.9
Fenol M.T. (Vol)	% 80 h/h

Tablo - 11

Uçucu Yağın Fiziksel Özellikleri ve İndeks Tayinleri

Uçucu Yağın Yapısının Aydınlatılması

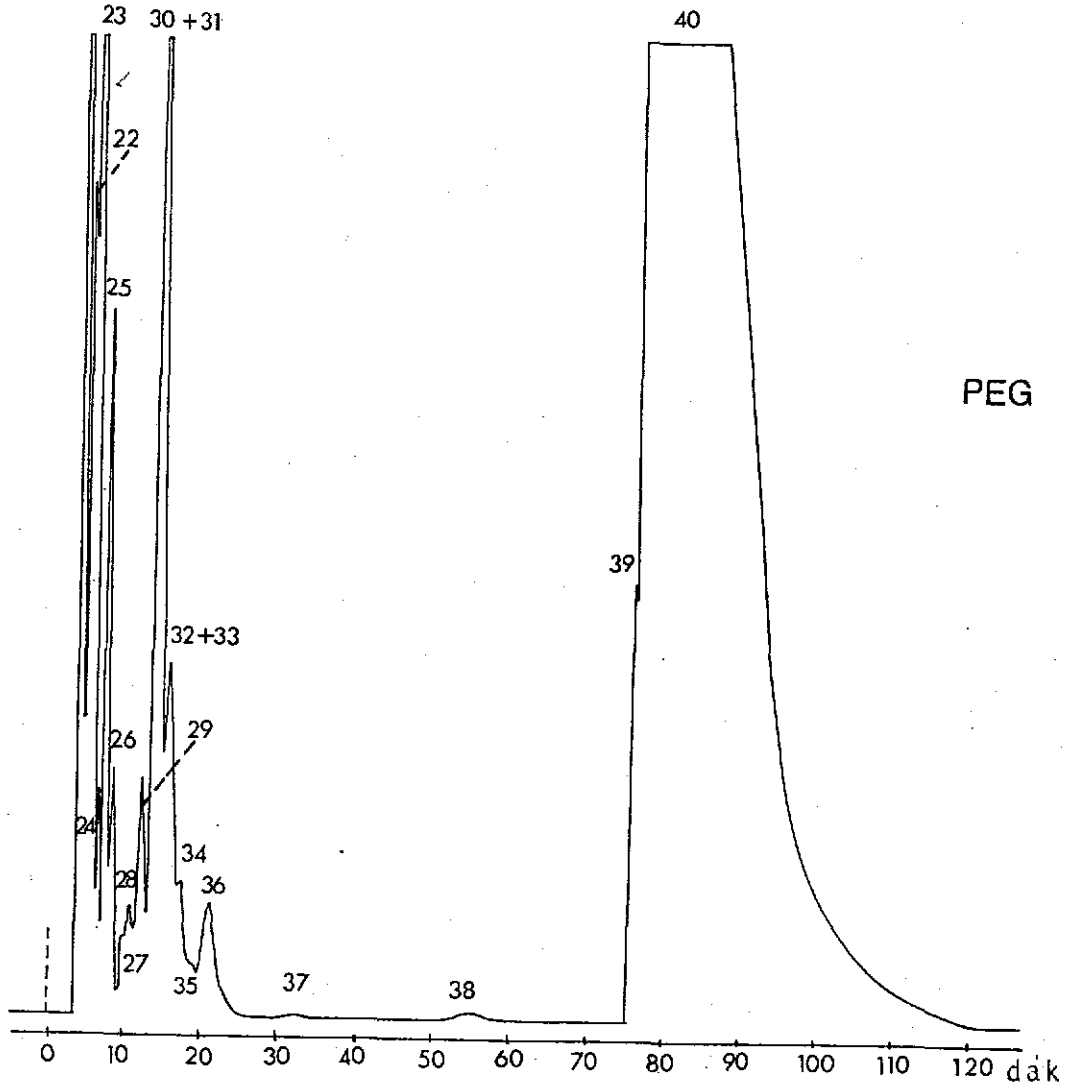
Uçucu yağ herhangi bir fraksiyonlanmaya tabii tutulmadan, iyi ayırım sağladığı ön denemelerle tespit edilmiş olan sistemlere tatbik edilmiştir. Ayrıntılı yapının aydınlatılmasında ise kolon ve gaz sıvı kromatografisi birlikte kullanılmıştır. Bir yandan uçucu yağ fraksiyonlanırken, diğer taraftan bu fraksiyonlar gaz sıvı kromatografa tatbik edilerek yapıdaki maddelerin teşhisi yapılmıştır.

Uçucu yağ iki ana fraksiyona ayrılmıştır: Hidrokarbonlar (HK), oksijen taşıyan monoterpenler (OTMT). Bu fraksiyonlarda bulunduğu tespit edilen maddeler, daha sonraki kısımda ayrı başlıklar altında verilecektir.

Uçucu Yağ

Uçucu yağ, herhangi bir fraksiyonlanmaya tabii tutulmadan, uygun ayırım veren sistem IV (PEG 20 M, 140°C) ve sistem V (SF 96, 120°C)'e tatbik edilmiş ve Şekil-14,15'deki kromatogramlar elde edilmiştir.

Kromatogramlarda teşhis edilen maddeler ve verilen numaralar Tablo 12'de gösterilmiştir. Aynı pik içinde birkaç tane madde bulunması teşhisi güçleştirmektedir.

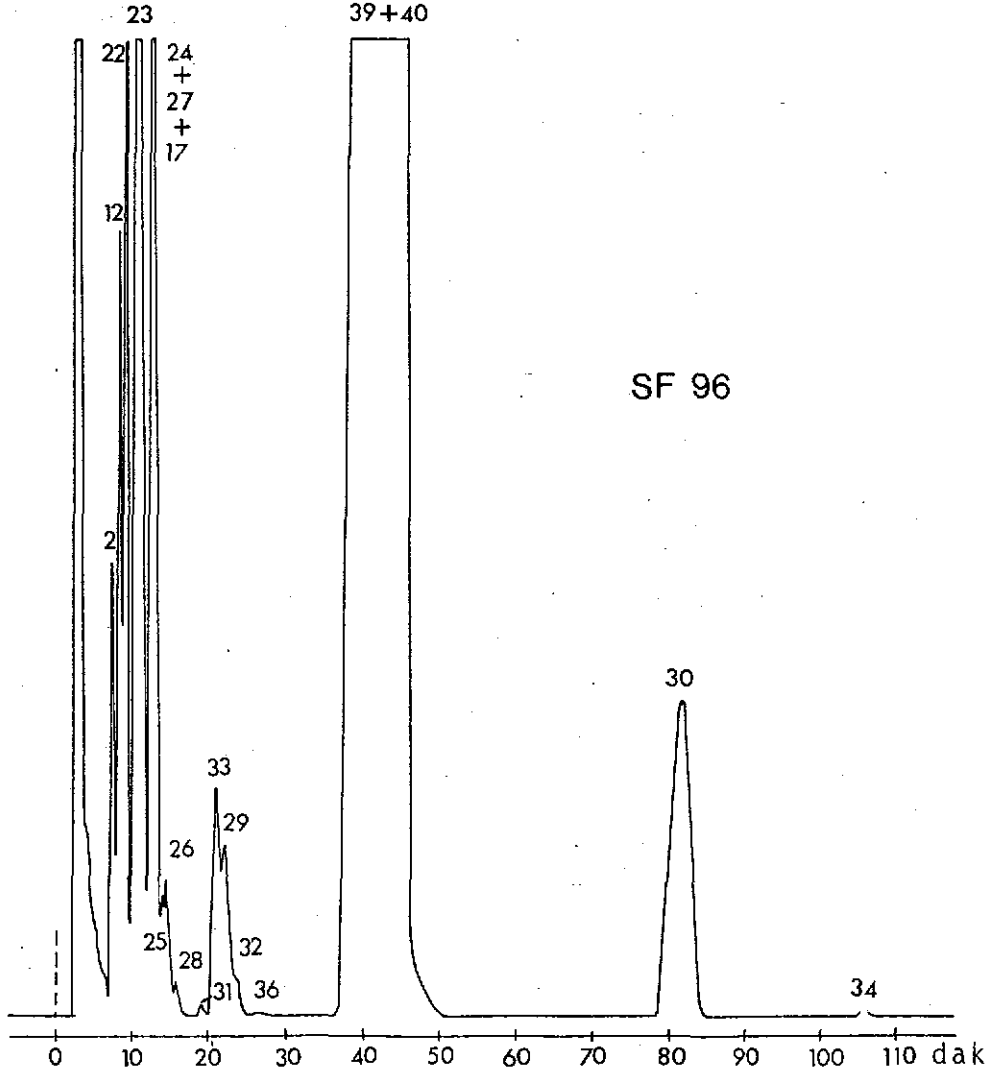


Şekil - 14

T.eigii Uçucu Yağı-GSK ile Ayırım*

Sistem IV (PEG 20 M, 140°C)

*Kromatogramlarda teşhis edilen maddeler ve verilen numaralar Tablo-12'de gösterilmiştir.



Şekil - 15

T.eigii Uçucu Yağı-GSK ile Ayırım*
Sistem V (SF 96, 120°C)

* Kromatogramlarda teşhis edilen maddeler ve verilen numaralar Tablo-12'de gösterilmiştir.

Pik No	Madde	Pik No	Madde
1	Trisiklen	22	Bilinmeyen
2	α -Pinen	23	1,8-Sineol
3	Tuyen	24	Fenkön
4	Fenken	25	α -Tuyon
5	Kamfen	26	β -Tuyon
6	Bilinmeyen	27	Linalol
7	β -Pinen	28	Kafur
8	Δ^3 -Karen	29	Terpinen-4-ol
9	Δ^4 -Karen	30	Karyofillen
10	Sabinen	31	İzoborneol
11	α -Fellandren	32	α -Terpineol
12	Mirsen	33	Borneol
13	Limonen	34	Kadinen
14	α -Terpinen	35	Bilinmeyen
15	Bilinmeyen	36	Verbenon
16	β -Fellandren	37	Bilinmeyen
17	γ -Terpinen	38	Bilinmeyen
18	Cis- β -Osimen	39	Timol
19	Terpinolen	40	Karvakrol
20	Trans- β -Osimen		
21	p-Simen		

Tablo - 12

Thymus eigii Uçucu Yağı-Kromatogramlarda

Tespit Edilen Maddeler

Hidrokarbon Fraksiyonu

Hidrokarbon fraksiyonu pentan ile elüe edilip, yoğunlaştırılarak, 1 mikrolitresi sistem I (PEG 20 M, 60°C), sistem II ($\beta\beta'$ ODPN, 36°C), sistem III (SF 96, 80°C), sistem IV (PEG 20 M, 140°C) ve sistem V (SF 96, 120°C)'e tatbik edilmiştir. İlk üç sistem ile monoterpen hidrokarbonlara (MTHK) ait, son iki sistemle ise seskiterpen hidrokarbon (STHK) olması muhtemel madde-

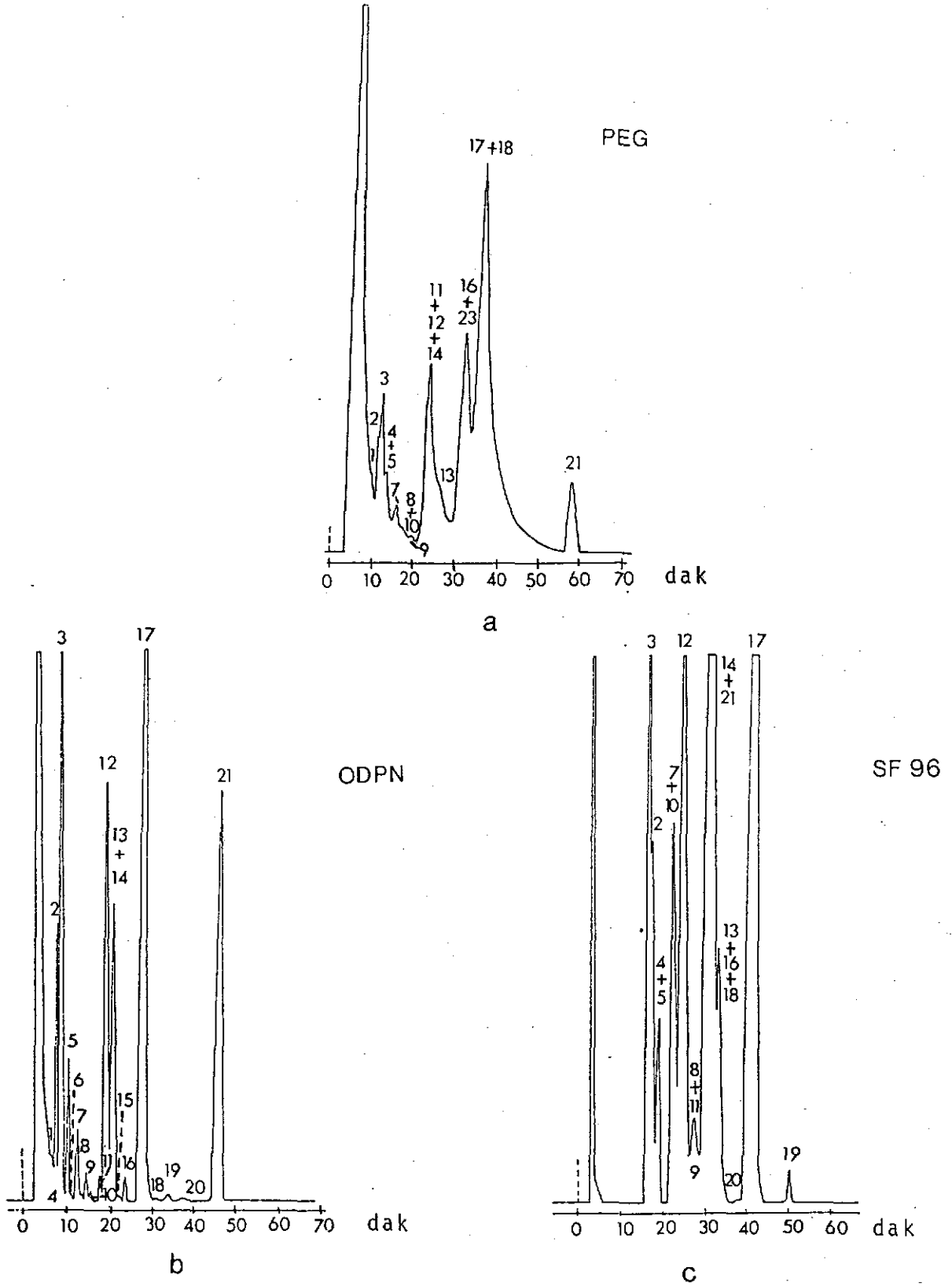
lere ait kromatogramlar elde edilmiştir. MTHK'ya ait kromatogramlar incelendiğinde (Şekil-16) en iyi ayırımın sistem II'de meydana geldiği görülmüştür. Bu yüzden daha ileri çalışmalarda sadece bu sistem kullanılmıştır.

Uçucu yağ materyal ve yöntemde belirtilen şekilde fraksiyonlanmıştır. Fraksiyonlar sistem I, II, IV ve V'e ayrı ayrı tatbik edilmiştir. Sistem IV ve V'e ait kromatogramlar incelendiğine, 18. fraksiyondan itibaren seskiterpen hidrokarbonların (STHK) gelmeye başladığı belirlenmiştir.

Hidrokarbon fraksiyonunun sistem I, II ve III'e tatbiki ile MTHK'ya ait 21 pik elde edilmiş ve bunlardan 19 tanesinin hangi maddelere ait olduğu tayin edilmiştir. Tayinde standart maddelerin yanında, J.chinensis var. pfitzeriana* yağının aynı sistemlerdeki kromatogramlarından da yararlanılmıştır. MTHK fraksiyonuna ait maddeler ve tutulma zamanları Tablo-13'de gösterilmiştir.

Hidrokarbon fraksiyonunun sistem IV ve V'e tatbiki ile STHK'ya ait 3 pik elde edilmiş, bunlardan iki tanesi tanımlanmıştır. Bu maddeler Tablo 12'de 30, 34 ve 35 numara ile gösterilmiş olan maddelerdir. Yine aynı tabloda iki sistemdeki tutulma zamanları da belirtilmiştir.

* J.chinensis var. pfitzeriana uçucu yağı, Prof.Dr.A.B.Svendsen (Leiden-Hollanda)'dan sağlanmıştır.



Şekil - 16

T.eigii Uçucu Yağı-GSK ile Ayırım, MTHK Fraksiyonları*

a) Sistem I (PEG 20 M, 60°C), b) Sistem II (ODPN, 36°C)

c) Sistem III (SF 96, 80°C)

*Kromatogramlarda teşhis edilen maddeler ve verilen numaralar Tablo-12'de gösterilmiştir.

Pik No	Madde	R _{T1}	R _{T2}	R _{T3}
1	Trisiklen	87.5	100.0	-
2	α -Pinen	93.8	110.0	175.0
3	Tuyen	106.2	115.0	162.5
4	Fenken	112.5	120.0	187.5
5	Kamfen	125.0	120.0	187.5
6	Bilinmeyen	143.8	-	-
7	β -Pinen	156.3	155.0	219.0
8	Δ^4 -Karen	175.0	165.0	269.0
9	Δ^3 -Karen	187.5	195.0	275.0
10	Sabinen	200.0	165.0	219.0
11	α -Fellandren	237.5	235.0	269.0
12	Mirsen	250.0	235.0	244.0
13	Limonen	275.0	260.0	325.0
14	α -Terpinen	275.0	235.0	306.0
15	Bilinmeyen	300.0	-	-
16	β -Fellandren	325.0	310.0	325.0
17	γ -Terpinen	381.3	360.0	412.5
18	Cis- β -Osimen	450.0	360.0	325.0
19	Terpinolen	512.5	-	500.0
20	Trans- β -Osimen	562.5	-	375.0
21	p-Simen	644.0	530.00	306.0

Tablo-13

T.eigii Uçucu Yağı-MTHK Fraksiyonunda Bulunan Maddeler ve Tutulma Zamanları

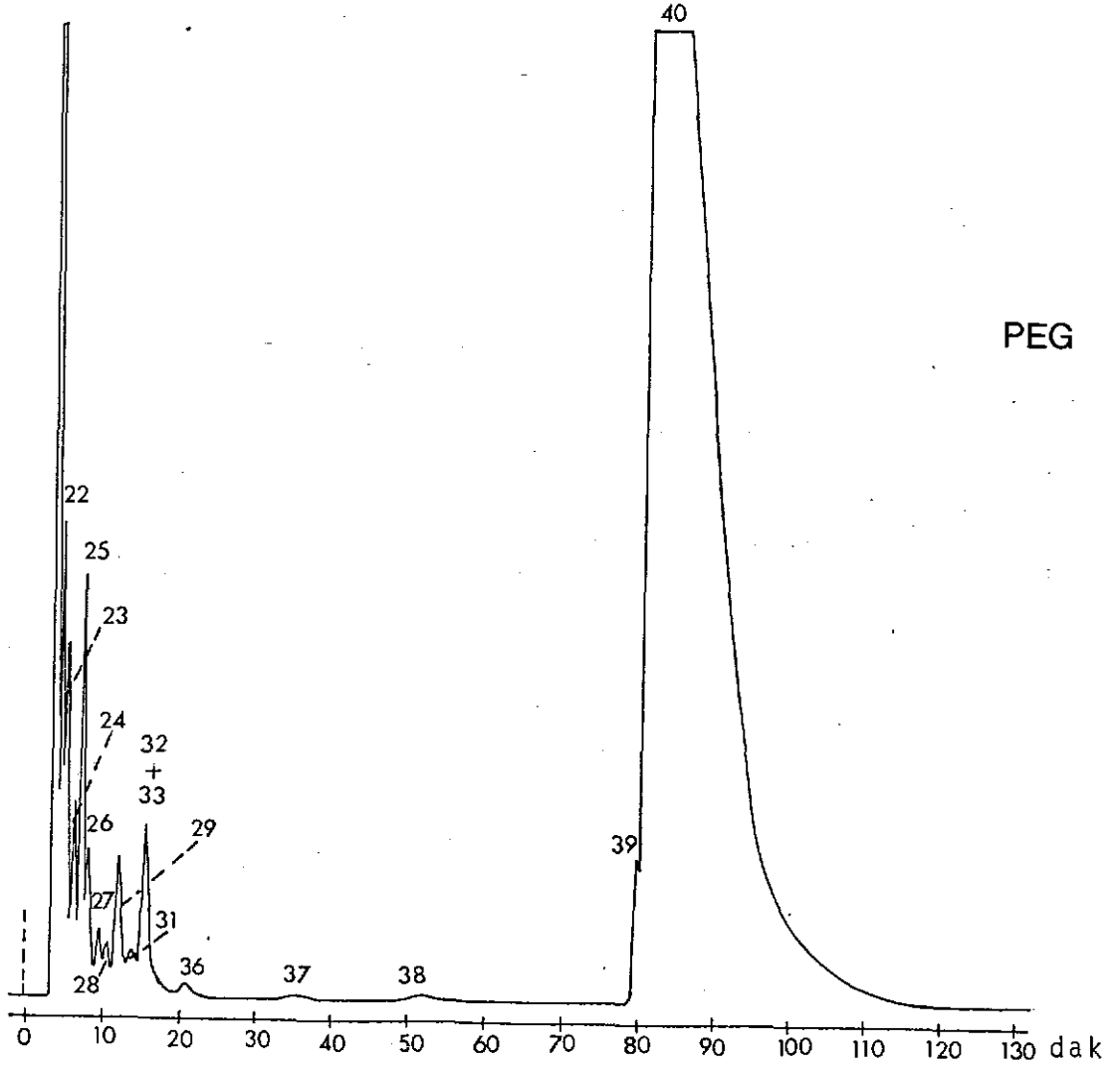
R_{T1}: Sistem II - (ODPN, 36°C)

R_{T2}: Sistem I - (PEG 20 M, 60°C)

R_{T3}: Sistem III- (SF 96, 80°C)

Oksijen Taşıyan Monoterpen Fraksiyonu

Oksijen taşıyan monoterpen fraksiyonu eter ile elüe edilerek, yoğunlaştırılmış, 1 mikrolitresinin sistem IV (PEG 20 M, 140°C) ve sistem V (SF 96, 120°C)'e tatbiki ile Şekil-17,18'deki kromatogramlar elde edilmiştir.

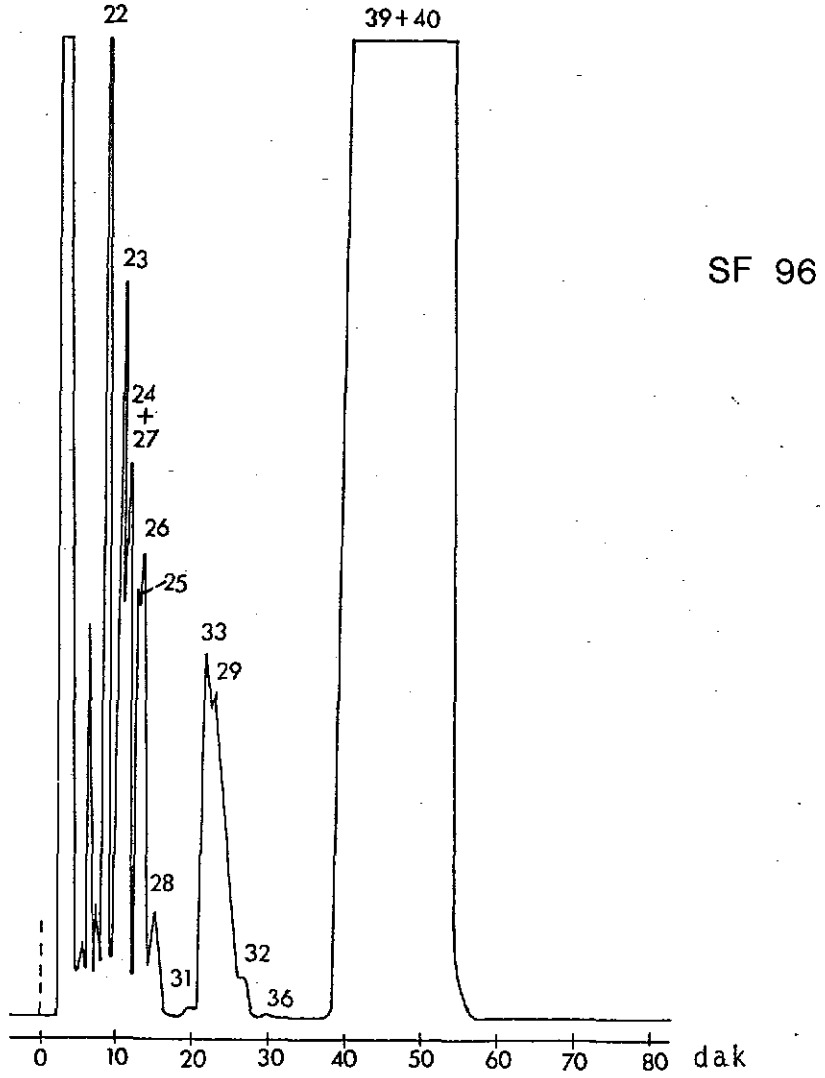


Şekil -17

T.eigii Uçucu Yağı-GSK ile Ayırım, OTMT Fraksiyonu *

Sistem IV (PEG 20 M, 140°C)

* Kromatogramlarda teşhis edilen maddeler ve verilen numaralar Tablo-12'de gösterilmiştir.



Şekil - 18

T.eigii Uçucu Yağı-GSK ile Ayırımı, OTMT Fraksiyonu*

Sistem V (SF 96, 120°C)

*Kromatogramlarda teşhis edilen maddeler ve verilen numaralar Tablo-12'de gösterilmiştir.

Uçucu yağ materyal ve yöntem kısmında açıklandığı gibi fraksiyonlanıp oksijenli maddelerin bulunduğu fraksiyonlar Sistem IV ve Sistem V'e ayrı ayrı tatbik edilmiştir.

Oksijen taşıyan monoterpen ve seskiterpen hidrokarbon* fraksiyonlarında bulunan maddeler ve tutulma zamanları Tablo-14'de gösterilmiştir.

Pik No	Madde	R _{T4}	R _{T5}
22	Bilinmeyen	44.0	81.3
23	1,8-Sineol	50.0	100.0
24	Fenkon	62.5	118.8
25	α -Tuyon	75.0	137.5
26	β -Tuyon	87.5	150.0
27	Linalol	94.0	118.8
28	Kafur	106.3	175.0
29	Terpinen-4-ol	112.5	206.3
30	Karyofillen	137.5	775.0
31	İzoborneol	137.5	206.3
32	α -Terpineol	162.5	218.8
33	Borneol	162.5	193.8
34	Kadinen	182.0	1070.0
35	Bilinmeyen	194.0	-
36	Verbenon	206.0	275.0
37	Bilinmeyen	250.0	-
38	Bilinmeyen	537.5	-
39	Timol	615.0	400.0
40	Karvakrol	800.0	400.0

Tablo - 14

T. eigii Uçucu Yağı - OTMT ve STHK Fraksiyonlarında
Bulunan Maddeler ve Tutulma Zamanları

R_{T4}: Sistem IV - (PEG 20 M, 140°C)

R_{T5}: Sistem V - (SF 96, 120°C)

*STHK da OTMT ile aynı sistemlerde incelendiği için bu tabloya dahil edilmiştir.

HİDROKARBON FRAKSİYONU				OKSİJEN TAŞIYAN MONOTERPENLER			
% 13.17 g/g				% 86.83 g/g			
Pik No	Madde	Fraksiyonda(%)	Uçucu yağda(%)	Pik No	Madde	Fraksiyonda(%)	Uçucu yağda(%)
1	Trisiklen	1.90	0.25	22	Bilinmeyen	1.95	1.69
2	α -Pinen	3.57	0.47	23	1,8-Sineol	1.81	1.57
3	Tuyen	4.63	0.61	24	Fenkon	1.12	0.97
4	Fenken	1.90	0.25	25	α -Tuyon	1.95	1.69
5	Kamfen	4.18	0.55	26	β -Tuyon	0.98	0.85
6	Bilinmeyen	0.84	0.11	27	Linalol	0.70	0.61
7	β -Pinen	2.73	0.36	28	Kafur	0.56	0.49
8	Δ^4 -Karen	0.61	0.08	29	Terpinen-4-ol	1.39	1.21
9	Δ^3 -Karen	1.29	0.17	31	İzoborneol	0.56	0.49
10	Sabinen	0.61	0.08	32	α -Terpineol	0.18	0.16
11	α -Fellandren	1.29	0.17	33	Borneol	1.63	1.41
12	Mirsen	4.63	0.61	36	Verbenon	0.28	0.24
13	Limonen	0.23	0.03	37	Bilinmeyen	0.014	0.012
14	α -Terpinen	5.70	0.75	38	Bilinmeyen	0.014	0.012
15	Bilinmeyen	1.67	0.22	39	Timol	0.42	0.36
16	β -Fellandren	6.15	0.81	40	Karvakrol	86.45	75.06
17	γ -Terpinen	22.93	3.02				
18	Cis- β -Osimen	1.29	0.17				
19	Terpinolen	0.53	0.07				
20	Trans- β -Osimen	0.11	0.014				
21	p-simen	14.12	1.86				
30	Karyofillen	17.47	2.30				
34	Kadinen	1.22	0.16				
35	Bilinmeyen	0.38	0.05				

Tablo - 15

T.eigii-Bileşiklerin Fraksiyon ve Uçucu Yağdaki
(%) Miktarları

Miktar Tayinleri

Materyal ve yöntem kısmında ayrıntısı verilen yol kullanılarak HK ve OTMT fraksiyonlarının uçucu yağdaki oranları, gravimetrik olarak tayin edilmiştir. Diğer taraftan fraksiyonlarda bulunan maddelerin miktarları alan ölçümü yöntemi ile hesaplanmıştır. Bunun için iyi ayırım sağlanan kromatogramlarda pikler planimetre ile ölçülmüştür. Tablo-15'de fraksiyonlarda bulunan maddelerin hem fraksiyon içindeki, hem de uçucu yağdaki % oranları gösterilmiştir. Bu maddelerin uçucu yağ içindeki miktarları HK ve OTMT fraksiyonlarının uçucu yağdaki miktarlarına ait değerler kullanılarak hesaplanmıştır.

S O N U Ç v e T A R T I Ş M A

Araştırmamız botanik ve kimyasal çalışmalar olarak 2 kısımdan meydana gelmiştir. Bu sebeple, elde edilen sonuçlar da aynı esasa uygun olarak tartışılacaktır.

Botanik çalışmalarımız sırasında Türkiye'de halk ilacı olarak kullanılan ve "kekik" diye isimlendirilen Thymus eigii (M.Zohary et P.H.Davis) Jalas'nin morfolojik ve anatomik özellikleri tespit edilmiştir.

Thymus eigii Flora Europaea ve Flora Orientalis'te bulunmamaktadır. 1947 yılında P.H.Davis ve M.Zohary (123) Amanus Dağlarından topladıkları örneği incelemişler ve bunun, Suriye'de bulunan Thymus syriacus Boiss.'a benzeyen, fakat alt tür olabilecek özelliklere sahip bir örnek olduğunu tespit ederek, "Thymus syriacus Boiss. ssp. eigii Zohary and Davis" adıyla, yeni bir alt tür olarak isimlendirmişlerdir. Bu çalışmalarında bitkinin, Boissier'in Flora Orientalis'inde (11) Kotschy tarafından Amanus dağlarından toplanmış T.syriacus örneğinden, braktelerinin büyük ve kaliks dişlerinin daha uzun olması gibi iki önemli farklı özelliği taşıdığını zikretmişlerdir. İsimlendirdikleri bu alt türün "Baalbek" bölgesinden toplanan T.syriacus örneklerinden çok farklı özelliklere sahip olduğunu belirtmişlerdir (123).

Bu iki bitkinin ekolojik olarak da farklı olduğunu, T.syriacus

Boiss.'un Irano-Turaniyen elementi, yeni alt türün ise Akdeniz bölgesine ait olduğunu açıklamışlardır (123).

1980 yılında, Türkiye Florası'nın Thymus cinsini hazırlayan J.Jalas (32) bu alt türün T.syriacus'tan tür ayırımını gerektirecek farklılara sahip olduğunu ve bunun yeni bir tür olması gerektiğini açıklamış, bitkiyi Thymus eigii (M.Zohary et P.H.Davis) J alas diye isimlendirmiş ve Flora of Turkey'de de aynı isimle yer almıştır (17).

Çalışmamızda T.eigii'ye ait taksonomik özellikler ayrıntılı bir şekilde incelendiği için J.Jalas'ın bu bulgusu kuvvetli bir şekilde doğrulanmış olmaktadır.

Botanik çalışmalarımız sırasında bitkinin çiçek ve diğer kısımlarının ayrıntılı resimleri çizilmiş, özellikleri ortaya çıkarılmaya çalışılmıştır. Çok sayıda materyalin incelenip, örneklerin karşılaştırılması suretiyle taksonomik özelliklerin tespiti tamamlanmıştır.

Türkiye Florası'ndaki deskripsiyondan farklı olarak çiçek durumunun 1-5 cm arasında değiştiği, yaprakların ise 9-28 x 1.5-8 mm olduğu tespit edilmiştir. Türkiye Florası'nda çiçek durumu 2x2cm, yapraklar ise 14-18 x 2-4 (6) mm olarak verilmiştir (17). Ayrıca Türkiye Florası'nda odunsu kısımların 2 cm çapta olduğu belirtilmiştir, halbuki çok sayıda materyalde yaptığımız ölçümlerde bunların en fazla 5 mm çapta olduğu tespit edilmiştir.

Bazı örneklerde çiçekli dalların boyları ise 30 cm'yi bulmaktadır. Yine Türkiye Florası'nda bu ölçüm 12-20 cm ile sınırlandırılmıştır (17).

Bitkinin anatomik yapısına ait herhangi bir yayın yoktur. Bu sebepten gövde, yaprak ve brakteden alınan kesitlerle anatomik yapı ayrıntılı

bir şekilde incelenmiştir. Yaprak toz edilmiş ve taşıdığı elementler tespit edilmiştir. Bu çalışmalarımızın sonuçları şu şekilde özetlenebilir :

Gövde dört köşeli, epiderma tek sıralı yuvarlakça hücrelerden meydana gelmiştir. Kütikula kıvrımlıdır. Örtü tüyleri genellikle karşılıklı iki kenarda yoğunlaşmıştır. Başlı ve saplı tek hücreli veya başlı tek, saplı 2 hücreli salgı tüyleri taşır. Başlı 8 hücreli (Labiatae tipi) salgı tüyleri enine kesitte görülememektedir. Buna mukabil yüzeysel kesitte bariz olarak görülür. Çeperleri hemen hemen eşit şekilde kalınlaşmış bir kollenkima tabakası bulunur. Kabuk parenkiması bol ergastik madde taşır. Endoderma tek, yer yer iki sıralı büyük hücrelerden meydana gelmiştir. Caspary şeridi taşır. Perisikl tam değildir, bazan ezildiği için görülemez. Floem bazı kısımlarda ezilmiş dar bir halka halindedir. Kambiyum ise ince bir çizgi halinde yer yer görülür. Ksilem odunlaşmış, öz kolları ve odun boruları belirgindir. Öz, büyük, yuvarlak ve parenkimatik hücrelerden meydana gelmiştir.

Bifasyal yaprakta alt ve üst epiderma tek sıra hücrelidir, üst epidermada kütikula üzerinde kıvrımlar görülür. Üst epiderma hücreleri alt epidermaya nazaran daha büyük, çeperleri ise daha kalın ve daha az dalgalıdır.

Her iki epiderma da çok sayıda salgı tüyü taşımaktadır. Başlı 8 hücreli veya tek hücreli olan bu tüyler mezofilin içine yarıya kadar gömülmüştür. Taban yaprakları ve orta gövde yapraklarından alınan kesitlerde, sadece yaprak kenarında az sayıda, dış tüy şeklinde örtü tüyleri bulunmaktadır. Gövdenin üst kısmındaki yapraklardan alınan kesitlerde ise yaprağın hemen her tarafında tek ve çok hücreli örtü tüylerinin bulunduğu tespit edilmiştir. Her iki epidermada da çok sayıda stoma bulunur. Palizat tek, yer

yer iki sıralıdır; hücre kenarları dalgalıdır. Sünger parenkiması ise gevşek, uzamış, gayrimuntazam şekilli hücrelerden meydana gelmiştir. Hücreler arası boşluklar çoktur ve ince iletme demetleri taşır.

Yaprak tozunda, epiderma hücrelerinin kalın ve geçitli çeperleri daha da belirgin olarak görülmektedir.

Thymus vulgaris ve T.serpyllum üzerinde yapılan anatomik çalışmada da (29) epiderma hücrelerinin çeperlerindeki kalınlaşma ve geçitler ile kütikula üzerinde kıvrımlar bulunduğu tespit edilmiştir. Ayrıca T.eigii'de bulunanlara benzer diş tüyler ve çok hücreli örtü tüyleri de görülmüştür (29). Yine aynı çalışmada, T.vulgaris'de örtü tüylerinin çeperleri karcıklıdır. T.eigii'de ise böyle bir durum bulunmamaktadır.

Thymus sipyleus Boiss. üzerinde yapılan araştırmada (16) da tek ve çok hücreli örtü tüyleri, kütikula kıvrımları tespit edilmiştir. Labiatae tipi salgı tüylerinin ise T.eigii de olduğu gibi mezofil içine girdiği belirtilmiştir.

T.eigii braketesinin enine kesitinde ise üst ve alt epiderma hücreleri farklı büyüklüktedir.Hücre çeperleri kalın ve geçitlidir, kütikula kıvrımlıdır. Başlı tek, saplı 2 hücreli salgı tüyleri çoktur. Tek ve çok hücreli örtü tüyleri ile diş tüyler taşır. Mezofilde sünger ve palizat parenkimaları fazla farklılaşmamış, sünger parenkimasına benzer, geniş hücreler arası boşlukları bulunan hücrelerden meydana gelmiştir.

Braktelerin yapraklardan anatomik olarak farkları şunlardır: Palizat ve sünger parenkimaları fazla farklılaşmamıştır, süngere benzeyen gevşek dokulu bir mezofil bulunur. Ayrıca Labiatae tipi salgı tüyleri yerine başlı tek, saplı 2 hücreli salgı tüyleri taşır ve örtü tüyleri yaprağa

nazaran çok miktardadır.

Türkiye'de "kekik" olarak kullanılan Thymus türlerinden T. capitatus (L.) Hoffm. et Link üzerinde de morfolojik ve anatomik bir çalışma bulunmaktadır (106). Fakat bu bitki daha sonra Türkiye Florası'nda Coridothymus capitatus (L.) Reichb. olarak isimlendirilmiştir. Bu yüzden tartışmalarımız dışında bırakılmıştır.

Botanik çalışmalarımız sonucunda bitkinin morfolojik ve taksonomik özelliklerinin yanında anatomik özellikleri de ayrıntılı bir şekilde aydınlatılmıştır.

Kimyasal çalışmalarda bitkinin herbasından elde edilen uçucu yağ kullanılmıştır. Uçucu yağın kimyasal yapısı Tablo-16'da gösterilmiştir.

Uçucu yağ %13.17 hidrokarbon, %86.83 oksijenli bileşikler taşımaktadır. Hidrokarbon fraksiyonunun %10.65'i monoterpen hidrokarbonlara, %2.52'si ise seskiterpen hidrokarbonlara aittir.

Yirmibir pikin monoterpen hidrokarbonlara ait olduğu tespit edilmiştir. Bu piklerin ondokuzunun hangi maddelere ait olduğu çalışmalarımız sonucunda ortaya çıkarılmış, 6 ve 15 nolu piklerin ise yapıları tayin edilememiştir. Bilinmeyen bu maddeler monoterpen hidrokarbon fraksiyonunun %3, hidrokarbon fraksiyonunun %2.51, uçucu yağın ise %0.33'ünü meydana getirmektedir ki bu da ihmal edilebilecek bir değerdir.

Seskiterpen hidrokarbon olarak ise 3 pik tespit edilmiş olup bunlardan iki tanesi tanımlanmıştır. Tanımlanamayan pik (35 nolu) seskiterpen hidrokarbon fraksiyonunun %2.10'unu, hidrokarbon fraksiyonunun ise %0.38'ini meydana getirmekte olup, uçucu yağdaki oranı ise sadece %0.05'tir.

HİDROKARBON FRAKSİYONU (%13.17 g/g)							
MTHK (%10.65)				OTMT (%86.83)			
Pik No	Madde	Fraaksiyonda (%)	Uçucu yağda (%)	Pik No	Madde	Fraaksiyonda (%)	Uçucu yağda (%)
1	Trisiklen	1.90	0.25	22	Bilinmeyen	1.95	1.69
2	α -Pinen	4.44	0.47	23	1,8-Sineol	1.81	1.57
3	Tuyen	5.75	0.61	24	Fenkon	1.12	0.97
4	Fenken	2.35	0.25	25	α -Tuyon	1.95	1.69
5	Kamfen	5.20	0.55	26	β -Tuyon	0.98	0.85
6	Bilinmeyen	1.04	0.11	27	Linalol	0.70	0.61
7	β -Pinen	3.39	0.36	28	Kafur	0.56	0.49
8	Δ^4 -Karen	0.78	0.08	29	Terpinen-4-ol	1.39	1.21
9	Δ^3 -Karen	1.57	0.17	31	İzoborneol	0.56	0.49
10	Sabinen	0.78	0.08	32	α -Terpineol	0.18	0.16
11	α -Fellandren	1.57	0.17	33	Borneol	1.63	1.41
12	Mirsen	5.75	0.61	36	Verbenon	0.28	0.24
13	Limonen	0.26	0.03	37	Bilinmeyen	0.014	0.012
14	α -Terpinen	7.01	0.75	38	Bilinmeyen	0.014	0.012
15	Bilinmeyen	1.96	0.22	39	Timol	0.42	0.36
16	β -Fellandren	7.57	0.81	40	Karvakrol	86.45	75.06
17	γ -Terpinen	28.42	3.02				
18	Cis- β -Osimen	1.57	0.17				
19	Terpinolen	0.66	0.07				
20	Trans- β -Osimen	0.13	0.014				
21	p-Simen	17.45	1.86				
STHK (%2.52)							
30	Karyofillen	91.58	2.30				
34	Kadinen	6.30	0.16				
35	Bilinmeyen	2.10	0.05				

Tablo - 16

T.eigii. Bileşiklerin Fraksiyon ve Uçucu Yağdaki (%) Miktarları

(MTHK) Monoterpen Hidrokarbonlar, (STHK) Seskiterpen Hidrokarbonlar, (OTMT) Oksijen Taşıyan Monoterpenler

Oksijen taşıyan monoterpen fraksiyonunda 16 pikin bulunduğu gösterilmiştir. Bu piklerin 13 tanesinin hangi maddelere ait olduğu kesinlikle tayin edilmiştir. Tayin edilemeyen maddeler oksijen taşıyan monoterpen fraksiyonunun %1.98'ini uçucu yağın ise %1.71'ini meydana getirmektedirler. Yukarıda kısaca açıklandığı üzere, uçucu yağın yapısının %97.91'i aydınlatılmış olmaktadır. Bilinmeyen maddeler ise sadece %2.09 oranındadır.

OTMT fraksiyonundaki 22, 37, 38 nolu maddeler sadece sistem IV de ayrı pikler halinde görülmekte, 22 nolu madde ise sistem V'de de ayrılmaktadır. Fakat 37 ve 38 nolu pikler bu sistemde görülememektedir. Bu maddelerin yapısının tayini için uçucu yağ, kolon kromatografisi yardımıyla fraksiyonlanmış ve sistem IV'e tatbik edilmiştir. 22 nolu pikin alkol fraksiyonunda geldiği görülmüştür, düz zincirli alkollerin alanında bulunması (hekzanol, heptanol, oktanol, dekanol, oktenol vb.), bu gruptan bir madde olabileceğini düşündürmüştür. Fakat standart madde bulunmadığı için bu husus tam doğrulanamamıştır. 37 ve 38 no'lu pikler fraksiyonlarda da görülememiştir. Çünkü miktarları çok düşüktür, bu nedenle yapıları hakkında da herhangi bir bilgi edinilememiştir.

OTMT fraksiyonunun %86.87'si fenolik maddelere aittir. Bunun da %0.42'si timol, %86.45'i karvakroldur. Uçucu yağda ise %0.36 timol, %75.06 karvakrol olmak üzere %75.42 fenolik yapıda madde bulunduğu tespit edilmiştir.

Ofisinal olarak 2 Thymus türü bulunur, T.vulgaris ve T.serpyllum. Bu türler üzerinde yapılan araştırmalar Tablo-17'de gösterilmiştir.

Bu tabloda, timol ve karvakrol oranları arasında büyük farklılıklar görülmektedir. Bunun sebebi, teorik bilgilerde açıklandığı üzere, Thymus türlerinin kemotiplerinin bulunmasıdır.

Thymus türü	Timol (%)	Karvakrol (%)	Lit.
vulgaris	6.4-37.7	0.7-0.9	47
	10-20	8-14.5	33
	-	43	52
	0.2-72	-	58
	7.7	59.4	122
	20-60	-	65
	40	-	28
	65	-	13,24-26
	-	85	13,24-26
	70	-	58
-	80	58	
serpyllum	3.8	54.7	67

Tablo - 17

Ofisinal Thymus Türlerinin Timol ve Karvakrol Oranları

Total fenol oranları göz önüne alındığında T.eigii'nin fenolik maddeler bakımından ofisinal Thymus türleri kadar zengin bir tür olduğu görülmektedir. Ayrıca T.vulgaris'in karvakrol kemotipine yakın bir değerinde karvakrol oranına sahip olduğu anlaşılmaktadır. Diğer taraftan T.serpyllum'dan hem total fenol, hem de karvakrol oranı bakımından yüksek değerlere sahiptir. Dolayısıyla T.eigii ofisinal bir Thymus türü olarak teklif edilmeye uygundur.

Türkiye'de yetişen Thymus türlerinden elde edilen uçucu yağların kimyasal yapıları üzerinde ayrıntılı çalışmalar yapılmıştır (50,51,84,104). Üzerinde çalışılan türler şunlardır: T.argeus Boiss. et Ball. T.bornmuelleri Velen, T.cilicicus Boiss. et Ball., T.pectinatus Fisch. et Mey.var.pectinatus, T.revolutus Celak, T.sipyleus ssp.sipyleus var. davisianus Ronniger, T.spathulifolius Haussk. et Velen, T.zygioides var. lycaonicus (Celak)

Ronniger. Bu çalışmalarla ve T.eigii ile ilgili bulgular Tablo-18'de gösterilmiştir.

MADDE	Thymus Türleri	eigii	argous (84)	bornm- elleri (50)	cilicicus (50,51)	portlunna (50)	revolutus (50,51)	sipyleus		spathuli- folius (50)	zygioides (50,51)
								(50,51)	(104)		
Trisiklen		0.25	-	0.05	0.07	0.04	0.05	0.08	-	0.06	0.04
α-Pinen		0.47	0.25	3.00	3.01	0.70	0.85	0.63	+	1.00	0.83
α-Penkou		0.23	-	-	-	-	-	-	-	-	6.68
Tuyen		0.61	-	-	-	-	-	-	-	-	2.09
Kamfen		0.55	0.38	-	3.16	0.69	0.90	1.58	+	1.2	0.31
β-Pinen		0.36	0.16	1.56	0.68	0.48	0.21	0.32	+	0.48	0.10
Sabinen		0.08	0.13	-	0.60	-	0.85	0.25	+	-	-
Mirzan		0.61	0.72	-	-	-	-	-	-	-	-
α-Fellandren		0.17	-	1.60	0.15	0.80	0.69	2.92	+	-	0.73
Δ ⁵ -Karen		0.08	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Δ ³ -Karen		0.17	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Limonen		0.03	0.50	1.80	1.73	0.63	0.32	0.70	+	1.2	0.21
α-Terpinen		0.75	-	0.60	0.37	0.20	0.53	0.38	+	0.3	0.73
β-Fellandren		0.81	0.09	-	0.07	0.07	0.10	0.06	+	0.8	0.10
Cis-β-Osimen		0.17	0.50	-	0.07	-	-	-	-	-	-
γ-Terpinen		3.02	0.13	6.51	0.45	4.40	6.43	0.63	+	4.48	4.38
Terpinolen		0.07	0.25	0.06	0.07	-	0.05	0.06	-	-	0.10
Trans-β-Osimen		0.014	1.13	0.40	-	-	-	0.63	-	-	0.10
p-Simen		1.86	0.56	8.9	0.75	9.9	9.81	0.57	+	9.7	7.09
1,8-Sineol		1.57	1.12	1.1	3.01	1.0	1.03	4.6	13	0.9	7.21
Cis-Hekzanol		-	-	-	0.33	0.86	0.30	0.66	-	-	0.49
3-Tuyanon		-	1.12	-	-	-	-	-	-	-	-
α-Tuyon		1.69	-	-	3.84	-	1.53	3.97	+	-	0.99
β-Tuyon		0.85	-	-	1.50	-	-	-	-	-	0.24
Fenkon		0.97	1.88	-	-	-	-	-	+	-	-
Linalol		0.61	26.64	1.20	5.85	0.41	22.46	2.31	+	3.1	12.18
Linalil asetat		-	19.49	-	2.50	-	0.30	0.99	+	3.1	0.24
Kafur		0.49	-	0.19	8.36	0.22	-	-	-	1.03	-
Bornil asetat		-	-	-	2.30	-	0.30	2.1	+	-	1.74
Terpinen-4-ol		1.21	1.12	-	3.55	-	1.23	1.2	+	-	-
β-Terpineol		-	-	-	1.00	-	7.69	-	-	-	2.48
İzoborneol		0.49	-	-	1.83	-	-	7.05	+	-	-
Neral		-	-	-	-	-	-	7.18	-	-	-
α-Terpineol		0.16	0.37	-	33.44	-	30.46	7.28	+	-	-
Borneol		1.41	14.99	3.38	-	7.2	-	-	+	0.59	8.70
Geranial		-	-	-	-	-	-	32.78	-	-	-
Sitronellol		-	-	-	6.52	-	-	1.65	+	-	-
Sitral		-	-	-	-	-	-	-	21	-	-
TIHOL		0.36	1.50	37	e	47.8	3.69	-	-	1.18	24.62
KARVUKROL		75.06	1.50	24	e	7.9	6.76	-	-	47.50	8.20
Sitronellal		-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Geranil asetat		-	9.37	-	-	-	-	-	+	-	-
6-Metil-5-heptenon		-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Nerol		-	3.37	-	-	-	-	0.66	+	-	-
Geraniol		-	4.12	-	-	-	-	-	+	-	-
Verbenon		0.24	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Karyofillen		2.30	3.00	-	-	-	-	-	-	-	-
Kadinen		0.16	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo - 18

Türkiye'de Endemik Olan Thymus Türleri Uçucu Yağlarının T.eigii ile Mukayesesi

Tablo incelendiğinde T.eigii monoterpen hidrokarbon fraksiyonunda, diğer türlerden farklı olarak tuyen ve Δ^4 -karen'in bulunduğu görülmektedir. γ -Terpinen (%3.02) ve p-simen (%1.86) T.eigi uçucu yağında yüksek oranda bulunmaktadır. Bu maddelerden γ -terpinen T.bornmuelleri'de %6.51, T.pectinatus'ta %4.40, T.revolutus'ta %6.43, T.spathulifolius'ta %4.48, T.zygioides'te ise %4.38 oranındadır. T.pectinatus uçucu yağı ise %9.9 oranında olmak üzere en yüksek p-simen oranına sahiptir. p-Simen oranı diğer türlerde sırasıyla şu şekildedir: T.revolutus %9.81, T.spathulifolius %9.7, T.bornmuelleri %8.9, T.zygioides %7.09.

Yukarıdaki kısa karşılaştırmadan görüldüğü üzere T.eigii γ -terpinen ve p-simen maddelerini diğer türlere nazaran düşük oranda taşımaktadır. Aynı karşılaştırma diğer monoterpenler bakımından yapıldığında T.eigii'nin monoterpen hidrokarbon miktarı bakımından zengin bir tür olmadığı görülmektedir. Buna mukabil taşıdığı monoterpen sayısı bakımından, çalışılan diğer türlerden daha zengin olduğu ortaya çıkmaktadır.

T.eigii uçucu yağının %86.83'ü OTMT fraksiyonuna aittir. Diğer Thymus türleri üzerinde yapılan araştırmalarda (50,51,84). OTMT bakımından en zengin tür T.argeus (%95.2) olarak bulunmuştur (84). Böylece T.eigii Türkiye'de yetişen Thymus türleri içinde T.argeus'tan sonra, OTMT bakımından zengin bir tür olarak ortaya çıkmaktadır.

T.argeus'un OTMT fraksiyonunun %83.49'u alkoller ve esterlerinden (linalol, linalil asetat, terpinen-4-ol, α -terpineol, borneol, geranil asetat, nerol ve geraniol) meydana gelmiştir. Fenolik yapıdaki madde miktarı ise %3.14'tür (84). T.eigii uçucu yağının OTMT fraksiyonunda ise total

alkoller %6.41 oranındadır. Buna mukabil %86.87'si fenolik yapıdaki maddelerdir (%0.42 timol, %86.45 karvakrol). Yukarıdaki açıklamadan görüldüğü üzere OTMT fraksiyonunda bulunan fenolik madde oranı en yüksek olan tür T.eigii'dir.

Diğer taraftan T.eigii uçucu yağı diğer 8 türün taşıdığından daha fazla oranda fenolik yapıda madde taşımaktadır (Tablo-19).

Thymus Türü	Timol (%)	Karvakrol (%)	Total Fenol (%)
<u>eigii</u>	0.36	75.06	74.42
<u>bornmuelleri</u>	37	24	61
<u>pectinatus</u>	47.8	7.9	55.7
<u>spathulifolius</u>	1.18	47.5	48.68
<u>zygioides</u>	24.62	8.2	32.82
<u>revolutus</u>	3.69	6.76	10.45
<u>argeus</u>	1.5	1.5	3.0
<u>cilicicus</u>	eser	eser	eser
<u>sipyleus</u>	-	-	-

Tablo - 19

Türkiye'de Araştırılmış Thymus Türlerinin Fenolik Madde Miktarları

Oksijenli maddelerden verbenon ve seskiterpen hidrokarbonlardan kadinen de sadece T.eigii uçucu yağında bulunmuştur.

Üzerinde araştırma yapılan Thymus türleri içinde uçucu yağ en yüksek oranda (%2.8) T.spathulifolius'ta (50) bulunmuştur. Diğer türlerin uçucu yağ oranları ise; T.pectinatus %1.6, T.cilicicus %1.5, T.bornmuelleri %1.25, T.sipyleus %1.2, T.revolutus %0.47, T.argeus %0.45 (50), %0.8 (84) dir. T.eigii ise % 2.31 gibi, diğer türlerden daha yüksek oranda uçucu yağ taşıyan bir tür olarak ortaya çıkmaktadır.

Sonuç olarak; T.eigii, yüksek oranda uçucu yağ taşır. Bu uçucu yağ fenolik yapıda maddeler ve oksijen taşıyan monoterpenler bakımından zengindir. Uçucu yağ bu özellikleri ile ofisinal T.vulgaris'in karvakrol kemotiplerine ait değerlere yakın özelliklerdedir. Bu iki husus göz önüne alındığında T.eigii ve uçucu yağının ofisinal bir Thymus türü olarak teklif edilmeye uygun özelliklere sahip olduğu görülmektedir.

Ayrıca, Türkiye'de üzerinde araştırma yapılan diğer Thymus türlerinde bulunmayan tuyen, Δ^4 -karen, kadinen ve verbenon gibi maddeleri de taşıyan ve halk ilacı olarak kullanılan bir Thymus türü olması da araştırmamızın önemli bir sonucudur.

Ö Z E T

Adana, Kozan civarında boğaz ağrılarında ve gastrointestinal sistem rahatsızlıklarında halk ilacı olarak kullanılan Thymus eigii (M.Zohary et P.H.Davis) Jalas'nin 1985-1986 yıllarında 9-16 Temmuz tarihleri arasında, Adana, Kozan, Göller Yaylası civarında çiçeklenme devresinde toplanan herbası üzerinde farmakognozik araştırmalar yapılmıştır.

Botanik çalışmalar sırasında, bitkinin morfolojik özellikleri, yaprak, brakte ve gövdenin anatomik yapısı ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Kimyasal çalışmalar T.eigii'nin herbasından elde edilen uçucu yağ üzerinde yapılmıştır. Materyalin taşıdığı uçucu yağ, su miktarı ve uçucu yağın fiziksel değerleri ile indeks tayinleri Tablo-20,21'de gösterilmiştir.

Materyalin Cinsi	Materyaldeki Uçucu yağ (%)		Materyaldeki su (%)
	Gravimetrik y.	Volümetrik y.	
Kuru	1.32	2.31	4.76
Taze	0.46	0.89	69.2

Tablo-20

Materyaldeki Uçucu Yağ ve Su Miktarları

Spesifik Ağırlık	0.9548
Kırılma İndeksi	1.5120
Spesifik Çevirme α_D^{20}	+11
Etanolde Çözünürlük 70° Etanol	2 k ve fazlasında berrak
Asitlik İndeksi	3.07
Asitlik Sayısı	5.46
Ester İndeksi	14.06
Sabunlaşma İndeksi	17.13
Asetil İndeksi	324.9
Total Fenol M.T. (vol.)	% 80 h/h

Tablo - 21

Uçucu Yağın Fiziksel Özellikleri ve İndeks Tayinleri

Uçucu yağın %13.17'sinin hidrokarbonlardan, % 86.83'ünün ise oksijen taşıyan monoterpenlerden meydana geldiği gravimetrik yöntem kullanılarak tayin edilmiştir.

Uçucu yağda hidrokarbonlardan trisiklen %0.25, α -pinen %0.47 tuyen %0.61, fenken %0.25, kamfen %0.55, β -pinen % 0.36, Δ^4 -karen %0.08, Δ^3 -karen %0.17, sabinen %0.08, α -fellandren %0.17, mirsen %0.61, limonen %0.03, α -terpinen %0.75, β -fellandren %0.81, γ -terpinen %3.02, cis- β -Osimen %0.17, terpinolen %0.07, trans- β -Osimen %0.014, p-simen %1.86, karyofillen %2.30, kadinen %0.16 ve oksijen taşıyan monoterpenlerden de 1,8-sineol %1.57, fenkon %0.97, α -tuyon %1.69, β -tuyon %0.85, linalol %0.61, kafur %0.49, terpinen-4-ol %1.21, izoborneol %0.49, α -terpineol %0.16, borneol %1.41, verbenon, %0.24, timol %0.36, ve karvakrol %75.06 bulunduğu GSK yöntemi kullanılarak gösterilmiştir.

T.eigii, yüksek oranda uçucu yağ taşır. Bu uçucu yağ fenolik yapıda maddeler ve oksijen taşıyan monoterpenler bakımından zengindir. Uçucu yağ bu özellikleri ile ofisinal T.vulgaris'in karvakrol kemotiplerine ait değerlere yakın özelliklerdedir. Bu iki husus gözönüne alındığında T.eigii ve uçucu yağının ofisinal bir Thymus türü olarak teklif edilmeye uygun özelliklere sahip olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak T.eigii'nin morfolojik ve anatomik özelliklerinin yanında taşıdığı uçucu yağın kimyasal yapısı da ayrıntılı bir şekilde aydınlatılmıştır, ofisinal olarak kullanılabilen bir Thymus türü olarak teklif edilebileceği tespit edilmiştir.

S U M M A R Y

Pharmacognostical investigations have been carried out on the flowering herbs of Thymus eigii (M.Zohary et P.H.Davis) Jalas, used as folk medicine in sore throat, and gastrointestinal system disorders, collected from the high plateau of Göller, Kozan (Adana) in July 9-16, 1985-86.

The morphological characteristics of the plant, the anatomical structure of the leaf, bract and stem is determined in detail during the botanical studies.

The chemical analysis have been carried out on the essential oil, obtained from the herbs of T.eigii . The oil and the water content of the material as well as the physical properties of the oil with the results of indices, are shown in Table -20,21.

Material	Volatile oil (%)		Water Content (%)
	By Weight	Volumetric	
Dried	1.32	2.31	4.76
Fresh	0.46	0.89	69.2

Table - 20

The Oil and Water Content in Material

Specific Gravity	0.9548
Optical Rotation	+ 11
Refractive Index	1.5120
Solubility in Ethanol 70° Ethanol	Soluble in 2v and more
Acid Index	3.07
Acid number	5.46
Saponification Index	17.13
Esterification Index	14.06
Acetylation Index	324.9
Phenol Content (by vol.)	% 80 v/v

Tablo - 21

The Physical Properties of the Oil

The oil is composed of hydrocarbons and oxygen containing monoterpenes in the proportions of 13,17% and 86.83% by weight respectively.

The components in the oil which are determined by GLC method are as follows: Tricyclene (0.25%), α -pinene (0.47%), thujene (0.61%), Fenchene (0.25%), camphene (0.55%), β -pinene (0.36%), Δ^4 -carene (0.08%), Δ^3 -carene (0.17%), sabinene (0.08%), α -phellandrene (0.17%), myrcene (0.61%), limonene (0.03%), α -terpinene (0.75%), β -phellandrene (0.81%), γ -terpinene (3.02%), cis- β -ocimene (0.17%), terpinolene (0.07%), trans- β -osimene (0.014%), p-cymene (1.86%), caryophyllene (2.30%), cadinene (0.16%) as hydrocarbons; 1,8-cineole (1.57%), fenchone (0.97%), α -thujone (1.69%), β -thujone (0.85%), linalool (0.61%), camphor (0.49%), terpinene-4-ol (1.21%), isoborneol (0.49%), α -terpineol (0.16%), borneol (1.41%), verbenone (0.24%), thymol (0.36%), and carvacrol (75,06%) as oxygen containing monoterpenes.

T.eigii is a species with a high yield of essential oil containing phenolic compounds and oxygen containing monoterpenes in high proportions.

Thus the essential oil of T.eigii has similar properties with that of official T.vulgaris carvacrol chemotypes. Under the light of these two properties it can be said that, T.eigii and its essential oil have appropriate specifications to be proposed as an official Thymus species.

As a result, morphological and anatomical properties of T.eigii as well as chemical structure of the essential oil were studied in detail. It can be proposed that, T.eigii could be used as an official Thymus species.

L İ T E R A T Ü R

1. Adzet, T., Granger, R., Passet, J., San Martin, R., Le Polymorphisme Chimique dans le Genre Thymus: sa signification Taxonomique, Biochem.Syst.Ecol., 5, 269 (1977).
2. Adzet, T., Martinez-Verges, F., Luteolin and 6-Hydroxyluteolin: Taxonomically important flavones in the genus Thymus, Planta Med., (Suppl.), 52 (1980).
3. Idem., Flavonoids in the leaves of Thymus : A Chemotaxonomic Survey, Biochem. Syst. Ecol., 2, (1981).
4. Aishima, T., Comparison of Headspace and Distillation Techniques for Soy Sauce Aroma in Relation to Analysis by Silica Capillary Gas Chromatography and Sensory Evaluation, Agric.Biol. Chem., 46, 2759 (1982).
5. Awe, W., Schaller, J.F., Kümmel, H.J., Die Flavone von Thymus vulgaris. Naturwissenschaften, 46, 558 (1959).
6. Idem., Über einige Inhaltsstoffe von Thymus vulgaris. Die Triterpensäuren von Thymus vulgaris, ihr Nachweis im Papier-chromatogramm und ihre Bedeutung für die Herstellung Galenischer Präparate, Pharm.Zentralhalle, 98, 433 (1959).
7. Barberan, F.A.T., Hernandez, L., Ferreres, F., and Tomas, F., Highly Methylated 6-Hydroxyflavones and Other Flavonoids from Thymus piperella, Planta Med., 1985, 452 (1985).
8. Başaran, A., Stachys lavandulifolia Vahl var. lavandulifolia Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, H.Ü.Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, (1984).
9. Bernhard, R.A., Separation of Terpene Hydrocarbons by Gas Liquid Chromatography Utilizing Capillary Columns and Flame Ionization Detection, Anal. Chem., 34, 1576 (1962).
10. Bertucat, M., Mesnard, P., Official Applications of Phosphoric Acetylation, Bull.Soc.Pharm.Bordeaux, 97, 117 (1958).

11. Boissier, E., Flora Orientalis, Genova (1879).
12. Brandauer, H., Ziegler, E., Vortrennung von Atherischen Ölen, Speziell für die Kapillar-Gaschromatographie, Kubeczka, K.H., Atherische Öle, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1982).
13. Brasseur, T., Etudes Botaniques, Phytochimiques et Pharmacologiques Consacrees au Thym, J.Pharm., Belg., 38, 261 (1983).
14. Brieskorn, C.H., Briner, M., Schlumprecht, L., Eberhard, K.H., Vergleichende Quantitative Bestimmungen der Ursolsäure und des Atherischen Öls in Pharmazeutisch-und Lebensmittelchemisch-wichtigen Labiaten, Arch. Pharm., 285, 290 (1952).
15. Cabo, J., Jemenez, J., Revert, A., Bravo, L., Effect of Ecological Factors (altitude) on the Content and Composition of Essential Oils from the Sample of Thymus zygis L., Collected in Different Areas, Ars. Pharm., 22, 187 (1981).
16. Çubukçu, A., Thymus sipyleus Boiss. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, H.Ü.Sağlık Bilimleri Fakültesi, Doktora Tezi, (1976).
17. Davis, P.H., Flora of Turkey and East Aegean Islands, Cilt 7, University Press, Edinburgh (1982).
18. Debelmas, A.M., Rochat, J., Etude Pharmacologique des Huiles Essentiels. Activite Antispasmodique Etudiée sur une Cinquantaine d'échantillons Differents, Plantes Med. et Phytoth., 1, 23 (1967).
19. Farnow, H., Experiences in Studying Essential Oils by means of Gas Chromatography and Spectroscopy, Qual.Plant.Mater.Veg., 18, 100 (1969).
20. Ferreres, F., Barberan, F.A.T., Tomas, F., 5,6,4'-Trihydroxy -7,8-dimethoxy-flavone from Thymus membranaceus, Phytochemistry, 24, 1869 (1985).
21. Formacek, V., Kubeczka, K.H., Einsatzmöglichkeiten der ¹³C-NMR Spektroskopie bei der Analyse Atherischer Öle, Kubeczka, K.H., Vorkommen und Analytik Atherischer Öle, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1979).

22. Idem., Quantitative Analyse Atherischer Öle Mittels ^{13}C -NMR Spektroskopie, Kubeczka, K.H., Atherische Öle, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1982).
23. Idem., ^{13}C -NMR Analysis of Essential Oils, Koedam, A., Margaris, N., Vokou, D., Aromatic Plants: Basic and Applied Aspects, Martinus Nijhoff Publ., Amsterdam (1982).
24. Granger, R., Passet, J., Thymus vulgaris spontane de France: Races Chimiques et Chemotaxonomie, Phytochemistry, 12, 1683 (1973).
25. Idem., Biochimie Vegetale. Types Chimiques (Chémotypes) de l'espèce Thymus vulgaris, C.R.Acad.Sc., Paris, 273, 2350 (1971).
26. Granger, R., Passet, J., Arbousset, G., Les Essences Vegetales. Difficulte de Leur Identification et de leur Controle., Labo-Pharma.Probl. Tech., 21, 65 (1973).
27. Guenther, E., The Essential Oils, Cilt I, D.Van Nostrand Ltd., New York (1948).
28. Guenther, E., The Essential Oils, 6.Baskı, Cilt III, D.Van Nostrand Company Inc., Londra (1967).
29. Hassan, I., Dunn, M.S. Studies of the Genus Thymus. I. Comparison of the Diagnostic Microscopical Characteristics of Thymus vulgaris L., and Thymus serpyllum, L., Am.J.Pharm., 129, 362 (1957).
30. Hefendehl, F.W., Ziegler, E., Analytik von Pfefferminzölen, Deutsche Lebensmittel-Rundschau, 71, 287 (1975).
31. Husain, S.Z., Markham, K.R., The Glycoflavone Vicenin-2 and its Distribution in Related Genera within the Labiatae, Phytochemistry, 20, 1171 (1981).
32. Jalas, J., Turkish Taxa of Thymus (Labiatae) Described as New or Revised, Ann.Bot.Fennici, 17, 315 (1980).
33. Karawya, M.S., Hifnawy, M.S., Analytical Study of the Volatile Oil of Thymus vulgaris L. Growing in Egypt, J.AOAC., 57, 997 (1974).

34. Karlsen, J., Baerheim Svendsen, A., Direct Gas Liquid Chromatography of Volatile Oil Constituents in Plant Material. I. The Monoterpene hydrocarbons of Norwegian Spruce Needle Oil, Medd. Norsk. Farm. Selsk., 30, 85 (1966).
35. Karlsen, J., Baerheim Svendsen, A., Chinkova, B., Zolotovitch, G., Studies on the Fruits of Foeniculum spec. and Their Essential Oil, Planta Med., 17, 280 (1969).
36. Karlsen, J., Chinkova, B., Zvetkov, R., Baerheim Svendsen, A., Studies on the Essential Oil of the Fruits of Coriandrum sativum L. by means of Gas Chromatography XI. Studies on Terpenes and Related Compounds, Pharm. Weekbl., 106, 293 (1971).
37. Koedam, A., Looman, A., Effect of pH During Distillation on the Composition of the Volatile Oil of J. sabina, Planta Med. (Suppl.), 22 (1980).
38. Koedam, A., Scheffer, J.J.C., Baerheim Svendsen, A., Comparison of Isolation Procedures for Essential Oils II. Ajowan, Caraway, Coriander and Cumin, Z. Lebensm. Unters. Forsch., 168, 106 (1979).
39. Idem., Comparison of Isolation Procedures for Essential Oils. IV. Leyland cypress, Perfumer and Flavorist, 5, 56 (1981).
40. Kovar, K.A., Friess, D., Bestimmung von Aetherischen Ölen in Mischungen - Vergleich HPLC mit GC, Arch. Pharm., 313, 416 (1980).
41. Kubeczka, K.H., Chromatographische Kombinationstechniken bei der Analyse von Naturstoffen, Planta Med., 35, 291 (1979).
42. Idem., Standardization and Analysis of Essential Oils. A Perspective of the Perfumes and Flavours Industry in India, Proceedings of the Vth. PAFAI Seminar, Yeni Delhi (1981).
43. Idem., Neue Techniken zur Isolierung Kleinster Aetherischer Ölmengen für Gas Chromatographische Analysen, Aetherische Öle, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1982).

44. Idem., Progress in Isolation Techniques for Essential Oil Constituents, Vlietinck, A.J., Dommise, R.A., Advances in Medicinal Plants Research, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart (1985).
45. Kugler, E., Temperatur Programmierte Kapillar-Gaschromatographische Analyse Aetherischer Öle, Kubeczka, K.H., Vorkommen und Analytik Aetherischer Öle, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1979).
46. Lamparsky, D., Schenk, H.P., Analyse des Rosmarinöls, Kubeczka, K.H., Aetherische Öle, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1982).
47. Lundgren, L., Stenhagen, G., Leaf Volatiles from Thymus vulgaris, T. serpyllum, T. praecox, T. pulegioides and T. xcitriodorus (Labiatae), Nord.J.Bot., 2, 445 (1982).
48. Maarse, H., Von Os, F.H.L., Volatile Oil of Origanum vulgare L. ssp. vulgare II. Oil Content and Quantitative Composition of the Oil, Flavour Ind., 4, 481 (1973).
49. Maruzzella, J.C., Lichtenstein, M.B., The in vitro Antibacterial Activity of Oils, J.Am.Pharm. Assoc., 45, 378 (1956).
50. Meriçli (İlisulu), F., Türkiye'de Yetişen Endemik Thymus Türlerinin Timol Yönünden Değerlendirilmesi, Doğa, Tr.Tıp ve Ecz. D., 10, 187 (1986).
51. Meriçli (İlisulu), F., Tanker, M., The Volatile Oils of some Endemic Thymus Species Growing in Southern Anatolia, Planta Med., 1986, 340 (1986).
52. Montes Guyot, M.A., Valenzuela, R.L., Wilkomirsky, F.T., Aceite Esencial de Tomillo (Thymus vulgaris L.), An. Real Acad. Farm., 47, 285 (1981).
53. Newbery, J.E., Lopez de Haddad, M.P., Terpenoid Analysis. II. The Separation of Monoterpene Alcohols by High-Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection, J.Chromatogr., 260, 173 (1983).

54. Newbery, J.E., Lopez de Haddad, M.P., Charlwood, K.A., High Performance Liquid Chromatography of Alcohols in Essential Oils, *Anal. Chim. Acta*, 147, 387 (1983).
55. Olechnowicz-Stepien, W., Lamer-Zarawska, E., Study of the Flavonoid Fraction of Some Plants of the Labiatae Family (Herba Serpylli L., H. Thymi L., Herba Majoranae L., H. Origani.), *Herba Pol.*, 21, 347 (1975).
56. Papageorgiou, V.P., GLC-MS Computer Analysis of the Essential Oil of Thymus capitatus, *Planta Med.*, (suppl.), 29 (1980).
57. Papageorgiou, V.P., Argyriadou, N., Trace Constituents in the Essential Oil of Thymus capitatus, *Phytochemistry*, 20, 2295 (1981).
58. Passet, J., Chemische Differenzierung beim Thymianöl, seine Eigenschaften und seine Bedeutung, *Dragoco Rep.* 27, 234 (1980).
59. Patakova, D., Chladek, M., Über die Antibakterielle Aktivität von Thymian- und Quendelölen, *Pharmazie*, 29, 140 (1974).
60. Pellecuer, J., Allegrini, J., Simeon de Buochberg, M., Huiles essentielles Bactericides et Fongicides, *Rev. Inst. Pasteur Lyon*, 9, 135 (1976).
61. Rasmussen, K.E., Rasmussen, S., Baerheim Svendsen, A., Quantitative Determination of the Various Compounds of the Volatile Oil in Small Amounts of Plant Material by means of Gas Liquid Chromatography XVIII. Terpenes and Related Compounds, *Pharm. Weekbl.*, 107, 277 (1972).
62. Rochat, J., Contribution a l'etude des Huiles Essentielles (Activité antispasmodique et recherche des constituants actifs), *Bull Tech., Gattefosse SFPA*, 1970, 62 (1970).
63. Ross, M.S.F., Microcolumn Chromatography as an Aid to the Gas Chromatographic Analysis of Volatile Oils, *Chromatogr.*, 106, 392 (1975).

64. Rowe, E.J., Orr, J.E., Uhl, A.H., Parks, L.M., Isolation of Oleanolic Acid and Ursolic Acid from *Thymus vulgaris* L., *J. Am. Pharm. Assoc.*, 38, 122 (1949).
65. Runti, C., Bruni, G., Applicazione della Cromatografia Gassosa All' analisi di olii di Timo, *Boll. Chim. Farm.*, 99, 435 (1960).
66. Russel, G.F., Olson, K.V., The Volatile Constituents of Oil of Thyme, *J. Food Sci.*, 37, 405 (1972).
67. Salgues, R., Les Essences de Quelques Labiées de Provence, *Rev. gén. Sci.*, 52, 35 (1942).
68. Salveson, A.A., Baerheim Svendsen, A., Gas Liquid Chromatographic Separation and Identification of the Constituents of Caraway Seed Oil. I. The Monoterpene Hydrocarbons, *Planta Med.*, 30, 93 (1976).
69. Idem., Gas Chromatographische Trennung und Identifizierung der Bestandteile Des Kümmelöles II. Die Sauerstoffhaltigen Monoterpene, *Sci. Pharm.*, 46, 93 (1978).
70. Sang, J.P., Estimation of Menthone, Menthofuran, Menthyl Acetate and Menthol in Peppermint Oil by Capillary Gas Chromatography, *J. Chromatogr.*, 253, 109 (1982).
71. Savchenko, V.N., Khvorostinka, V.N., Bolotina, Z.L., Entina, T.K., Melnikova, S.M., Effect of a Preparation from Swollen Hedge Nettle on the Release of Bile and Its Physicochemical Properties, *Farm. Zh.*, 30, 57 (1975).
72. Scheffer, J.J.C., Baerheim Svendsen, A., Improved Gas Chromatographic Analysis of Naturally Occuring Monoterpene Hydrocarbons Following Prefractionation by LSC, *J. Chromatogr.*, 115, 607 (1975).
73. Idem., Zur Analytik Atherischer Öle. Zehn-Jahre Atherische-Öle-Forschung. 1969 bis 1979, *Dtsch. Apoth.-Ztg.*, 120, 1645 (1980).

74. Scheffer, J.J.C., Gijbels, M.J.M., Koedam, A., Baerheim Svendsen, A., Analysis of Essential Oil by Combined Liquid Solid and Gas Liquid Chromatography III. Monoterpene Hydrocarbons in the Essential Leaf Oil of Juniperus chinensis L. var. pfitzeriana, *Fitoterapia*, 1, 16 (1978).
75. Scheffer, J.J.C., Koedam, A., Baerheim Svendsen, A., Occurrence and Prevention of some Monoterpene Hydrocarbons from Essential Oils During LSC on Silicagel, *Chromatographia*, 9, 425 (1976).
76. Idem., Analysis of Essential Oils by Combined Liquid Solid and Gas Liquid Chromatography. II. Monoterpenes in the Essential Seed Oil of Anethum graveolens, *Medd. Norsk. Farm. Selz.*, 39, 161 (1977).
77. Scheffer, J.J.C., Koedam, A., Gijbels, M.J.M., Baerheim Svendsen, A., Trace Components of Essential Oils Isolated by Combined Liquid Solid and Gas Liquid Chromatography. I. Monoterpene Hydrocarbons in the Essential Needle Oil of Abies alba Miller, *Pharm. Weekbl.*, 111, 1309 (1976).
78. Scheffer, J.J.C., Ruys-Catlender, C.M., Koedam, A., Baerheim Svendsen, A., A Comparative Study of X Cupressocyparis leylandii Clones by Gas Chromatographic Analysis of Their Leaf Oils, *Bot. J. Linn. Soc.*, 81, 215 (1980).
79. Schwanbeck, J., Kubeczka, K.H., Einsatzmöglichkeiten der HPLC bei der Trennung von flüchtigen Terpenkohlenwasserstoffen. Kubeczka, K.H., *Vorkommen und Analytik Ätherischer Öle*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1979).
80. Sendra, J.M., Cunat, P., Volatile Constituents of Spanish Origanum (Coridothymus capitatus) Essential Oil, *Phytochemistry*, 19, 89 (1980).
81. Idem., Volatile Phenolic Constituents of Spanish Origanum (Coridothymus capitatus) Essential Oil, *Ibid.*, 19, 1513 (1980).

82. Sezik, E., Başaran, A., Türkiye'de Halk İlacı ve Çay Olarak Kullanılan Bitkiler Üzerinde Morfolojik ve Anatomik Araştırmalar III. Stachys lavandulifolia Vahl var. lavandulifolia, Doğa Bilim Dergisi, C, 9, 210 (1985).
83. Idem., Phytochemical Investigations on the Plants Used as Folk Medicine and Herbal Tea in Turkey. III. Essential Oil of Stachys lavandulifolia Vahl var. lavandulifolia, J.Fac Pharm. İstanbul, 21, 98 (1985).
84. Idem., The Volatile Oil of Thymus argeus Boiss. et Ball., Acta Pharmaceutica Turcica, 28, 93 (1986).
85. Sezik, E., Ezer, N., Sideritis congesta'nın Diterpeni ve Diğer Sideritis Türleri ile Karşılaştırılması, IV. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı-Eskişehir 27-29 Mayıs 1982.
86. Idem., Türkiye'de Halk İlacı ve Çay Olarak Kullanılan Bitkiler Üzerinde Morfolojik ve Anatomik Araştırmalar. I. Sideritis congesta Davis et Huber-Morath, Doğa Bilim Dergisi -Tıp 7, 163, (1983).
87. Idem., Phytochemical Investigations on the Plants Used as Folk Medicine and Herbal Tea in Turkey. I. Flavonoids of Sideritis congesta Davis et Huber-Morath, Acta Pharmaceutica Turcica, 26, 4 (1984).
88. Sezik, E., Ezer, N., Tümen, G., Pharmacognostical Investigations on the Plants Used as Folk Medicine in Turkey-1. The Third International Conference on Islamic Medicine İstanbul, 28 Eylül - 2 Ekim 1984.
89. Sezik, E., Kaya, S., Aydan, N., Ecbalium elaterium Meyvalarının Sinüzite Etkisi, Eczacılık Bülteni, 24, 93 (1982).
90. Sezik, E., Tümen, G., Türkiye'de Halk İlacı ve Çay Olarak Kullanılan Bitkilerin Üzerinde Morfolojik ve Anatomik Araştırmalar. II. Ziziphora taurica M. Bieb. ssp. taurica, Doğa Bilim Dergisi, C, 8, 98 (1984).

91. Idem., Türkiye'de Halk İlacı ve Çay Olarak Kullanılan Bitkilerin Kimyasal Yapısı. III. Ziziphora taurica M.Bieb.ssp.taurica J.R.Edmondson' un Uçucu Yağı, Ibid., 10, 59 (1986).
92. Solinas, V., Gessa, C., Falchi Delitala, L., High-Performance Liquid Chromatographic Analysis of Carvacrol and Thymol in the Essential Oil of Thymus capitatus, J.Chromatogr., 219, 332 (1981).
93. Stahl,E., The Essential Oil from Thymus praecox ssp. arcticus, World Crops: Prod.,Util., Descr., 7 (Aromat.Plants), 203 (1982).
94. Idem., Chemical Polymorphism of Essential Oil in Thymus praecox ssp. arcticus (Lamiaceae) from Greenland, Nord.J.Bot., 4, 597 (1984).
95. Idem., Das Ätherische Öl aus Thymus praecox ssp. arcticus Islandischer Herkunft, Planta Med. (Suppl.), 157 (1984).
96. Idem., Chemical Composition and Variation of the Essential Oil from the Norwegian Thymus praecox ssp. arcticus and T.pulegioides, Brunke, E. J., Progress in Essential Oil Research, Walter de Gruyter and Co., Berlin (1986).
97. Idem., Das Ätherische Öl Norwegischer Thymusarten. I.Thymus praecox ssp.arcticus, Planta Med., 1986, 36 (1986).
98. Idem., Das Ätherische Öl Norwegischer Thymian-Arten; Thymus pulegioides, Ibid., 1986, 233 (1986).
99. Sticher,O., Plant Mono-, Di-, and Sesquiterpenoids with Pharmacological or Therapeutical Activity, Wagner, H., Wolff, P., New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutical Activity Springer. Verlag., Berlin (1977).
100. Şarer, E., Scheffer, J.J.C., Baerheim Svendsen, A., Monoterpenes in the Essential Oil of Origanum majorana, Planta Med., 46, 236 (1982).
101. Idem., Composition of the Essential Oil of Cymbopogon citratus (DC) Stapf Cultivated in Turkey, Sci.Pharm., 51, 58 (1983).

102. Tanker, M., Akı, O., Şener, B., Soner, O., Orta Anadolu'da Yetiştirilen Bazı Mentha Türleri Üzerinde Bir Araştırma, Ankara Ecz.Fak. Mec., 6, 126 (1976).
103. Tanker, M., Şarer, E., Tanker, N., Salvia triloba L.f. Bitkisinin Uçucu Yağı Üzerinde Gaz Kromatografisi ile Araştırmalar, Ibid., 6, 198 (1976).
104. Tanker, N., Gas Liquid Chromatographic Researches on the Volatile Oil of a Thymus species (Thymus sipyleus Boiss.) with a Lemon Like Odour, Ibid., 3, 115 (1973).
105. Tanker, N., Doğan, A., Şener, B., Thuja orientalis Uçucu Yağı Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, Ibid., 7, 67 (1977).
106. Tanker, N., İlisulu, F., Türkiye'de Kekik Olarak Kullanılan Bitkilerden Thymus capitatus (L.) Hoffm. et Link, Ibid., 11, 127 (1981).
107. Tanker, N., Şarer, E., Lavandula cariensis Boiss. Bitkisinin Uçucu Yağı Üzerinde Araştırmalar, Ibid., 5, 19 (1975).
108. Idem., Bazı Juniperus (Ardıç) Türlerinin Yaprak ve Meyvalarından Elde Edilen Uçucu Yağların Gaz Kromatografisi ile Araştırılması, Ibid., 5, 171 (1975).
109. Idem., Anadolu'da Yetişen Acorus calamus L. Uçucu Yağının Monoterpenik Hidrokarbonları, Ibid., 9, 60 (1979).
110. Tanker, N., Şarer, E., Başaran, V., Lavandula stoechas L. Bitkisinin Uçucu Yağı Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, Ibid., 7, 61 (1977).
111. Tanker, N., Şener, B., Orthurus heterocarpus (Boiss.) Juz. Bitkisinin Kökleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, Ibid., 7, 120 (1977).
112. Tanker, N., Tanker, M., Şener, B., Baerheim Svendsen, A., Echinophora tenuifolia L. subsp. sibthorpiana (Guss.) Tutin Uçucu Yağının Gaz Kromatografisi ile Araştırılması, Ibid., 6, 161 (1976).
113. Traud, J., Musche, H., Determination and Identification of α - and β -Thujone in Plants by Capillary Gas Chromatography- Mass Spectrometry, Fresenius' Z. Anal. Chem., 315, 221 (1983).

114. Tutin, T.G., et al., Flora Europaea, Cilt 3, Cambridge Univ. Press, Cambridge (1972).
115. Tümen, G., Ziziphora taurica J.R. Edmondson ssp. taurica Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, H.Ü. Sağlık Bilimleri Fakültesi, Doktora Tezi, (1980).
116. Van den Broucke, C.O., New Pharmacologically Important Flavonoids of Thymus vulgaris, World Crops: Prod., Util., Descr., 7 (Aromat. Plants) 271 (1982).
117. Idem., The Therapeutic Value of Thymus Species, Fitoterapia, 54, 171 (1983).
118. Van den Broucke, C.O., Dommise, R.A., Esmans, E.L., Lemli, J.A., Three Methylated Flavones from Thymus vulgaris, Phytochemistry, 21, 2581 (1982).
119. Van den Broucke, C.O., Lemli, J.A., Pharmacological and Chemical Investigation of Thyme Liquid Extracts, Planta Med., 41, 129 (1981).
120. Idem., Spasmolytic Activity of the Flavonoids from Thymus vulgaris, Pharm. Weekbl., Sci. Ed., 5, 9 (1983).
121. Verzele, M., Capillary or High Resolution Chromatography, Journal of HRC γ CC, 5, 685 (1982).
122. Weiss, B., Flück, H., Untersuchungen über die Variabilität von Gehalt und Zusammensetzung des Atherischen Öles in Blatt- und Krautdrogen von Thymus vulgaris L., Pharm. Acta Helv., 45, 169 (1970).
123. Zohary, M., Davis, P.H., Thymus syriacus Boiss. subsp. eigii Zohary et Davis, Kew Bull., 1947, 93 (1947).
124. Zwaving, J.H., Een Gaschromatografische Bepaling van Thymol en Carvacrol in Thymi Herba en Thymi Serpylli Herba, Vergeleken Met Enkele Spectrofotometrische Bepalingsmethoden, Pharm. Weekbl., 103, 273 (1968).

Ş E K İ L L E R

<u>Şekil</u>		<u>Sayfa No</u>
1	Uçucu Yağların HPLC ile Ön Fraksiyonlanması	13
2	Uçucu Yağların Düşük Akış Hızlarında HPLC ile Fraksiyonlanması	14
3	<u>T.eigii</u> - Genel Görünüş ve Habitat	47
4	<u>T.eigii</u> -Bitki	48
5	<u>T.eigii</u> -Gövde Üzerinde Yaprakların Farklılaşması	49
6	<u>T.eigii</u> -Çiçek Durumu	50
7	<u>T.eigii</u> -Çiçek Kısımları	51
8	<u>T.eigii</u> -Gövde, Enine Kesit	53
9	<u>T.eigii</u> -Gövde, Yüzeysel Görünüş	54
10	<u>T.eigii</u> -Yaprak, Enine Kesit	55
11	<u>T.eigii</u> -Yaprak Enine Kesiti, Genel Görünüş	56
12	<u>T.eigii</u> -Yaprak Tozu	57
13	<u>T.eigii</u> -Brakte, Enine Kesit	58
14	<u>T.eigii</u> Uçucu Yağı-GSK ile Ayırım	62
15	<u>T.eigii</u> Uçucu Yağı-GSK ile Ayırım	63
16	<u>T.eigii</u> Uçucu Yağı-GSK ile Ayırım, MTHK Fraksiyonları	66
17	<u>T.eigii</u> Uçucu Yağı-GSK ile Ayırım, OTMT Fraksiyonu	68
18	<u>T.eigii</u> Uçucu Yağı-GSK ile Ayırım, OTMT Fraksiyonu	69

T A B L O L A R

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa No</u>
1 Terpenik Hidrokarbonların Ayırımında Çok Kullanılan Kapiler Gaz Kromatografisi Sistemleri	10
2 <u>Thymus</u> Türleri Uçucu Yağları Üzerinde Kapiler Kolon Kullanılarak Yapılan Çalışmalar	11
3 <u>Coridothymus capitatus</u> Üzerinde HPLC ile Yapılan Çalışmalar	15
4 <u>Thymus</u> Türleri Uçucu Yağlarının Gaz Sıvı Kromatografisinde Kullanılan Sistemler	20
5 <u>Thymus</u> Türleri Uçucu Yağlarının Gaz Sıvı Kromatografisinde Kullanılan Sistemler	21
6 <u>T.praecox</u> , <u>serpyllum</u> ve <u>vulgaris</u> Uçucu Yağlarında Bulunan Monoterpen Hidrokarbonlar	22
7 <u>T. praecox</u> , <u>serpyllum</u> ve <u>vulgaris</u> Uçucu Yağlarında Bulunan Diğer Maddeler	23
8 Türkiye'de Endemik <u>Thymus</u> Türleri Uçucu Yağları Üzerinde Yapılan Çalışmalar	24
9 <u>Thymus</u> Türlerinde Bulunan Flavonoidler	30
10 Materyaldeki Uçucu Yağ ve Su Miktarları	60
11 Uçucu Yağın Fiziksel Özellikleri ve İndeks Tayinleri	60
12 <u>T.eigii</u> Uçucu Yağı-Kromatogramlarda Tespit Edilen Maddeler ..	64
13 <u>T.eigii</u> Uçucu Yağı-MTHK Fraksiyonunda Bulunan Maddeler ve Tutulma Zamanları	67
14 <u>T.eigii</u> Uçucu Yağı-OTMT ve STHK Fraksiyonlarında Bulunan Maddeler ve Tutulma Zamanları	70
15 <u>T.eigii</u> -Bileşiklerin Fraksiyon ve Uçucu Yağdaki (%) Miktarları	71

16	<u>T.eigii</u> -Bileşiklerin Fraksiyon ve Uçucu Yağdaki (%) Miktarları	78
17	Ofisinal <u>Thymus</u> Türlerinin Timol ve Karvakrol Oranları ...	80
18	Türkiye'de Endemik Olan <u>Thymus</u> Türleri Uçucu Yağlarının <u>T.eigii</u> ile Mukayesesi	81
19	Türkiye'de Araştırılmış <u>Thymus</u> Türlerinin Fenolik Madde Oranları	83
20	Materyaldeki Uçucu Yağ ve Su Miktarları	85
21	Uçucu Yağın Fiziksel Özellikleri ve İndeks Tayinleri	86

HAYAT HİKAYESİ

1956 yılında Ezine'de doğdum. İlk öğrenimimi Havran, Orta öğrenimimi Edremit'te yaptım. 1973 yılında Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesine girdim. 1978 yılı Haziran döneminde mezun oldum. 1979 yılında Farmakognozi Anabilim Dalı'na asistan olarak girdim. Halen aynı Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

