

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

MICROMERIA CILICICA VE *M. JULIANA* TÜRLERİNDE
ANTIOKSİDAN BİLEŞİKLERİN HPLC İLE ANALİZİ VE
YAPILARININ AYDINLATILMASI

MEHMET ÖZTÜRK

DANIŞMAN
DOÇ. DR. UFUK KOLAK

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI
ANALİTİK KİMYA PROGRAMI

İSTANBUL - 2008

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

08 / 07 / 2008


Prof. Dr. Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : Analitik Kimya Programı
Programın seviyesi : Yüksek Lisans Doktora
Anabilim Dalı : Analitik Kimya Anabilim Dalı
Tez Sahibi : Mehmet ÖZTÜRK
Tez Başlığı : Micromeria cilicica ve M. juliana Türlerinde Antioksidan Bileşiklerin HPLC ile Analizi ve Yapılarının Aydınlatılması
Sınav Yeri : İ.Ü. Eczacılık Fakültesi B Blok Seminer Salonu
Sınav Tarihi : 01 / 07 / 2008

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

1. Prof. Dr. Mansur HARMANDAR

Muğla Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü



2. Prof. Dr. Aysel ÖZTUNÇ (Tez İzleme Komitesi Üyesi)

İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı

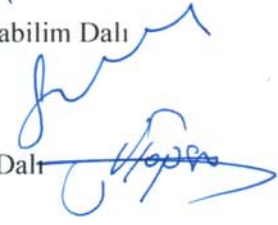
3. Prof. Dr. Sıdıka SUNGUR (Tez İzleme Komitesi Üyesi)

Yıldız Teknik Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı



4. Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU

İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Organik Kimya Anabilim Dalı



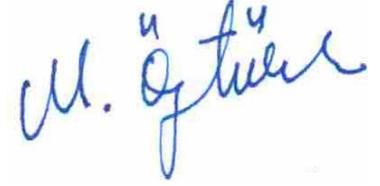
5. Doç. Dr. Ufuk KOLAK (Tez Danışmanı, Tez İzleme Komitesi Üyesi)

İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasında elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.



Arş. Gör. Mehmet ÖZTÜRK

Sevgili eşim Fatma ve oğlum Ahmet Kürşat'a ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Bilgisinden ve tecrübesinden yararlandığım bana her konuda destek olan çok değerli hocam **Prof.Dr. Ayhan ULUBELLEN'e**,

Bitki Kimyası alanını bana çok sevdiren ve İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde aynı konuda doktora yapmama sebep olan, tezimle ilgili çalışmalarda projeleriyle maddi destek sağlayan değerli hocam **Prof. Dr. Mansur HARMANDAR'a**,

Beni doktora öğrencisi olarak kabul eden ilk danışmanım ve tez konumun seçiminde beni yönlendiren canım hocam **Prof.Dr. Sevil ÖKSÜZ'e**,

Tezimin ilerlemesinde bana çok katkısı olan bilgisi ve tecrübesinden çok yararlandığım, maddi ve manevi desteğiyle hep yanımda olan ikinci danışmanım **Prof.Dr. Gülaçtı TOPÇU'ya**,

Tezimi bitirmem için büyük gayret gösteren, zamanının neredeyse tamamını benim için ayıran, tezimin yazımında da bilgisinden ve tecrübesinden çok yararlandığım danışman hocam **Doç.Dr. Ufuk KOLAK'a**,

Tezimin içeriğinde bulunan GC ve GC/MS çalışmalarına yardımcı olan, bilgisi ve tecrübesi ile beni yönlendiren değerli hocam **Yrd.Doç.Dr. Mehmet Emin DURU'ya**,

Tez çalışmamda enstitüsünün tüm imkânlarını kullanmamı sağlayan "International Center for Chemical Sciences - H.E.J. Research Institute of Chemistry, Karachi, Pakistan" enstitüsü müdürü **Prof. Dr. M. Iqbal Choudhary'ye** ve öğrencilerine,

Tezimin konusunu oluşturan iki Micromeria türünün teşhisini yapan Balıkesir Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi **Yrd. Doç. Dr. Tuncay DİRMENCI'ye**,

Tez çalışmam süresince bana yardımını esirgemeyen **Arş.Gör. Mehmet BOĞA'ya**, ve bölümümüzün diğer çalışanlarına,

Çalışmamın her döneminde çoğu zaman kendilerine zaman ayıramadığım halde sürekli olarak desteğini ve ilgisini gördüğüm için eşim **Fatma AYDOĞMUŞ-ÖZTÜRK'e** ve aileme candan teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	İ
TABLolar LİSTESİ.....	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	Xİ
ÖZET	Xİİİ
ABSTRACT.....	XİV
TEZ BİTKİLERİNİN RESİMLERİ.....	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Botanik Bilgiler.....	2
2.1.1. Labiatae (Lamiaceae) Familyası	2
2.1.2. <i>Micromeria</i> Bentham Cinsi.....	2
2.1.3. <i>Micromeria cilicica</i> Hausskn. ex P.H. Davis.....	4
2.1.4. <i>Micromeria juliana</i> (L.) Bentham ex Reichb.....	4
2.2. <i>Micromeria</i> Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı	5
2.3. <i>Micromeria</i> Türleri İle Yapılan Kimyasal Araştırmalar ve Aktivite Çalışmaları	6
2.4. Antioksidanlar	14
2.4.1. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	16
2.4.1.1. Birincil Antioksidanlar.....	17
2.4.1.2. İkincil Antioksidanlar	20
2.4.2. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri.....	21
2.4.2.1. Folin Ciocalteu Fenol Reaktifile Toplam Fenolik Miktar Tayini Yöntemi	21
2.4.2.2. β -Karoten Renk Açılım Yöntemi.....	21
2.4.2.3. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi	22
2.4.2.4. ABTS Yöntemi	22
2.4.2.5. CUPRAC Yöntemi (Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi)	23
2.4.2.6. FRAP Yöntemi (Demir (III) İyonu İndirgeme Gücü).....	23
2.4.2.7. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi	23
2.4.2.8. Ferrisiyanür İndirgeme Gücü Yöntemi	24

2.4.2.9. TRAP Yöntemi (Toplam Radikal Tutma Parametresi).....	24
2.4.2.10. Luminol Yöntemi (Kemilüminesans)	25
2.4.2.11. Diklorofloresin-Diasetat Yöntemi.....	25
2.4.2.12. ORAC Yöntemi (Oksijen Radikalini Absorplama Kapasitesi).....	26
2.4.2.13. Siklik Voltametri Yöntemi.....	26
2.5. Terpenler	27
2.5.1. Dağılımları	27
2.5.2. Oluşumları.....	27
2.5.3. Terpenlerin Sınıflandırılmaları	32
2.5.3.1. Monoterpenler.....	33
2.5.3.2. Seskiterpenler.....	36
2.5.3.3. Diterpenler	39
2.5.3.4. Triterpenler	43
2.6. Flavonoitler	44
2.7. Glikozitler	48
2.7.1. O-Glikozitler	50
2.7.1.1. Alkol Glikozitleri	50
2.7.1.2. Fenol Glikozitleri	51
2.7.1.3. Steroit Glikozitleri	52
2.7.2. N-Glikozitleri	52
2.7.3. C-Glikozitleri	53
2.7.4. S-Glikozitleri (Tiyoglikozitler)	53
3. GEREÇ VE YÖNTEM	54
3.1. Bitkisel Materyaller.....	54
3.2. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler	54
3.2.1. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler.....	54
3.2.2. Çözeltilerin Hazırlanması	55
3.2.2.1. Toplam Fenolik Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler	55
3.2.2.2. Toplam Flavonoit Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler	55
3.2.2.3. β -Karoten Renk Açılım Yönteminde Kullanılan Çözelti	55
3.2.2.4. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözelti	55
3.2.2.5. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözeltiler	56
3.2.2.6. Flavonoit Kayma Belirteçlerinin Hazırlanması	56
3.2.2.7. İTK'da Kullanılan Belirteçlerin Hazırlanması.....	56

3.3. Aletler ve Diğer Gereçler	57
3.4. Ekstrelerin Hazırlanması	58
3.5. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarlarının Belirlenmesi	58
3.5.1. Toplam Fenolik Miktar Tayini.....	58
3.5.2. Toplam Flavonoit Miktar Tayini.....	59
3.6. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri.....	59
3.6.1. β -Karoten Renk Açılım Yöntemi	59
3.6.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi	60
3.6.3. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi	60
3.6.4. İstatistik Hesaplamalar	61
3.7. Kromatografik Yöntemler	61
3.7.1. Kolon Kromatografisi	61
3.7.2. İnce Tabaka Kromatografisi.....	62
3.7.3. Gaz Kromatografisi ve Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi Şartları.....	62
3.7.3.1. GC Çalışma Şartları	62
3.7.3.2. GC/MS Çalışma Şartları	62
3.7.4. LC/NMR Çalışma Şartları	64
3.7.5. Preparatif HPLC Çalışma Şartları.....	64
3.8. Spektroskopik Yöntemler	65
3.8.1. UV Spektroskopisi	65
3.8.2. Kayma Belirteçleri İle Flavonoitlerin UV Spektrumlarının Alınması	65
3.8.2.1. Sodyum Metoksit (NaOCH ₃) Belirteci İle UV Spektrumunun Alınması	65
3.8.2.2. Alüminyum Klorür/Hidrojen Klorür Belirteci İle UV Spektrumunun Alınması	65
3.8.2.3. Sodyum Asetat/Borik Asit Belirteci İle UV Spektrumunun Alınması	66
3.8.3. NMR Spektroskopisi.....	66
3.8.4. Kütle Spektroskopisi	66
3.8.5. X-Işınları Spektroskopisi	66
4. BULGULAR.....	67
4.1. Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları	67
4.1.1. β -Karoten Renk Açılım Yöntemi Sonuçları.....	67
4.1.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları	68
4.1.3. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları	69
4.1.4. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktar Tayinleri Sonuçları	70
4.2. <i>M. cilicica</i> 'dan Elde Edilen Sonuçlar.....	71
4.2.1.1. <i>M. cilicica</i> 'nın Aseton Ekstresinin (MCA) Fraksiyonlandırılması	72

4.2.1.2. MCA Fraksiyonlarının Antioksidan Aktivite Sonuçları	72
4.2.1.3. Birinci Aktif Fraksiyonun (MCA 37–40) LC-NMR Sonucu	75
4.2.1.4. Birinci Aktif Fraksiyondan (MCA 37-40) Elde Edilen Saf Maddelerin Yapı Tayinleri.....	77
4.2.1.5. İkinci Aktif Fraksiyonun (MCA 54) Preparatif HPLC İle Analizi	112
4.2.1.6. İkinci Aktif Fraksiyondan (MCA 54) Elde Edilen Saf Maddelerin Yapı Tayinleri.....	114
4.2.1.7. Üçüncü Aktif Fraksiyonun (MCA 11) GC ve GC/MS Analizi.....	136
4.3. <i>M. juliana</i> 'dan Elde Edilen Sonuçlar	141
4.3.1. <i>M. juliana</i> Petrol Eteri Ekstresi (MJP).....	141
4.3.1.1. <i>M. juliana</i> 'nın Petrol Eteri Ekstresinin Fraksiyonlandırılması	141
4.3.1.2. MJP Fraksiyonlarının Antioksidan Aktivite Sonuçları	142
4.3.1.3. MJP 1–3, MJP 4–5, MJP 8–9 ve MJP 12'nin GC ve GC/MS Analizi.....	143
4.3.2. <i>M. juliana</i> 'nın Aseton Ekstresi (MJA).....	165
4.3.2.1. <i>M. juliana</i> 'nın Aseton Ekstresinin Fraksiyonlandırılması	165
4.3.2.2. MJA Fraksiyonlarının Antioksidan Aktivite Sonuçları	165
4.3.2.3. MJA 54-55'in Preparatif HPLC ile Analizi	167
4.3.2.4. MJA 54-55'den Elde Edilen Saf Maddenin Yapı Tayini.....	169
4.4. <i>Micromeria cilicica</i> ve <i>M. juliana</i> 'dan Elde Edilen Saf Maddelerin Antioksidan Aktivite Test Sonuçları	175
5. TARTIŞMA	179
KAYNAKLAR	181
ÖZGEÇMİŞ	194

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: <i>Micromeria</i> Türleri İle Yapılan Uçucu Yağ ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	8
Tablo 2-2: <i>M. thymifolia</i> ve <i>M. albanica</i> Türlerinin Yağ Asidi Kompozisyonları (%)	13
Tablo 2-3: Reaktif Oksijen ve Azot Türleri	14
Tablo 2-4: Terpenlerin Sınıflandırılması	32
Tablo 2-5: Flavonoidlerin Renk Reaksiyonları.....	45
Tablo 2-6: Bazı Flavonoidlerin NH ₃ buharı ve NA Belirteciyle Oluşturdukları Renkler.....	46
Tablo 3-1: <i>Micromeria cilicica</i> ve <i>M. juliana</i> 'dan Elde Edilen Ekstreler ve % Verimleri.....	58
Tablo 4-1: MCA'dan Elde Edilen Fraksiyonların Kodları ve % Verimleri	72
Tablo 4-2: MCA-2'nin ¹³ C- NMR, HMQC ve HMBC Değerleri	85
Tablo 4-3: MCA-3'ün ¹³ C- NMR, HMQC ve HMBC Değerleri	95
Tablo 4-4: LC-2-3'ün NMR, HMBC ve HMQC Değerleri.....	116
Tablo 4-5: LC-4-1'in NMR Kimyasal Kaymaları, HMBC ve COSY ilişkileri	126
Tablo 4-6: MCA 11'den Elde Edilen Bileşikler.....	138
Tablo 4-7: MJP'den Elde Edilen Fraksiyonların Adları, Miktarları ve % Verimleri.....	142
Tablo 4-8: MJP 1-3'den Elde Edilen Bileşikler	146
Tablo 4-9: MJP 4-5'den Elde Edilen Bileşikler	154
Tablo 4-10: MJP 8-9'dan Elde Edilen Bileşikler	157
Tablo 4-11: MJP 12'den Elde Edilen Bileşikler	161
Tablo 4-12: MJA'dan Elde Edilen Fraksiyonların Adları, Miktarları ve %Verimleri	165
Tablo 4-13: LC-7-3'ün NMR Değerleri	170
Tablo 4-14: Saf Maddelerin Antioksidan Aktivite Yöntemlerinde Bulunan IC ₅₀ Değerleri....	178

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Birincil antioksidanlar	19
Şekil 2-2: İkincil Antioksidanlar	20
Şekil 2-3: DPPH Molekülünün Antioksidan Madde ile Reaksiyonu	22
Şekil 2-4: NBT'den Diformazon Oluşumu	24
Şekil 2-5: Lüminolün Bazik Ortamda Yükseltgenme Reaksiyonu	25
Şekil 2-6: İzopren.....	27
Şekil 2-7: Mevalonik Asit	27
Şekil 2-8: İkincil Metabolitlerin Oluşumu	28
Şekil 2-9: Mevalonik Asit–5–Pirofosfat Oluşumu	28
Şekil 2-10: İzopentil Pirofosfat Oluşumu	29
Şekil 2-11: İzopentil Pirofosfatın İzomerizasyonu.....	29
Şekil 2-12: Geranil Pirofosfatın Oluşumu.....	30
Şekil 2-13: Farnesil Pirofosfatın Oluşumu.....	30
Şekil 2-14: Geranil-Geranil Pirofosfat Oluşumu	31
Şekil 2-15: Terpenlerin Oluşumu	31
Şekil 2-16: Doğada Çok Bulunan Monoterpen İskeletleri	33
Şekil 2-17: Asiklik Monoterpenler.....	34
Şekil 2-18: Monosiklik Monoterpenler	34
Şekil 2-19: Bisiklik Monoterpenler.....	35
Şekil 2-20: Trisiklik Monoterpenler.....	35
Şekil 2-21: Monoterpen Glikozitler	36
Şekil 2-22: Doğada Çok Bulunan Bazı Seskiterpen İskeletleri.....	36
Şekil 2-23: Asiklik Seskiterpenler	37
Şekil 2-24: Monosiklik Seskiterpenler.....	37
Şekil 2-25: Bisiklik Seskiterpenler.....	38
Şekil 2-26: Trisiklik Seskiterpenler	38
Şekil 2-27: Seskiterpen Laktonlar	38
Şekil 2-28: Doğada Çok Bulunan Diterpen İskeletleri.....	39
Şekil 2-29: Monosiklik Diterpenler	40
Şekil 2-30: Bisiklik, Trisiklik, Tetrasiklik ve Pentasiklik Diterpenler.....	41
Şekil 2-31: Lakton ya da Furan Halkası İçeren Diterpenler.....	41
Şekil 2-32: Aromatik ve Kinoit Yapıdaki Diterpenler	42
Şekil 2-33: Diterpen Alkaloidler.....	42
Şekil 2-34: Triterpen İskeletleri	43

Şekil 2-35: 2-Fenil Benzopiran	44
Şekil 2-36: Flavonoit İskeletleri.....	44
Şekil 2-37: Bant I ve Bant II'yi Veren Gruplar.....	47
Şekil 2-38: Doğada Çok Bulunan Monosakkaritler	49
Şekil 2-39: D-Glukozun α,β -Piranoz ve α,β -Furanoz Yapıları.....	50
Şekil 2-40: Siyanogenetik Bir Glikozitin Hidrolizi (Amigdalin'in Amigdonitril'e ve	51
Şekil 2-41: Fenol Glikozitleri.....	51
Şekil 2-42: Steroit Glikozit	52
Şekil 2-43: N-Glikozitler.....	52
Şekil 2-44: C-Glikozitler.....	53
Şekil 2-45: S-Glikozit.....	53
Şekil 4-1: <i>M. cilicica</i> ve <i>M. juliana</i> 'dan Hazırlanan Ekstrelerin β -Karoten Renk Açılım Yöntemi ile Toplam Antioksidan Aktivitesi	68
Şekil 4-2: <i>M. cilicica</i> ve <i>M. juliana</i> 'dan Hazırlanan Ekstrelerin DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi.....	69
Şekil 4-3: <i>M. cilicica</i> ve <i>M. juliana</i> 'dan Hazırlanan Ekstrelerin O_2^- Anyon Radikali Giderim Aktivitesi.....	70
Şekil 4-4: <i>M. cilicica</i> ve <i>M. juliana</i> 'dan Hazırlanan Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarları	71
Şekil 4-5: MCA Fraksiyonlarının DPPH Giderim Aktivitesi	73
Şekil 4-6: MCA Fraksiyonlarının Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarları	74
Şekil 4-7: MCA-37-40'ın LC-NMR Kromatogramı.....	76
Şekil 4-8: Ursolik Asit	77
Şekil 4-9: Ursolik Asit'in UV Spektrumu.....	78
Şekil 4-10: Ursolik Asit'in 1H -NMR Spektrumu	79
Şekil 4-11: Ursolik Asit'in ^{13}C -NMR Spektrumu	80
Şekil 4-12: Ursolik Asit'in DEPT 135 Spektrumu.....	81
Şekil 4-13: Ursolik Asit'in Kütle Spektrumu.....	82
Şekil 4-14: İzotimonin 4'-metil eter	83
Şekil 4-15: İzotimonin 4'-metil eter'in Kayma Belirteçleriyle Alınan UV Spektrumları	86
Şekil 4-16: İzotimonin 4'-metil eter'in 1H -NMR Spektrumu	87
Şekil 4-17: İzotimonin 4'-metil eter'in ^{13}C -NMR Spektrumu.....	88
Şekil 4-18: İzotimonin 4'-metil eter'in DEPT 135 Spektrumu.....	89
Şekil 4-19: İzotimonin 4'-metil eter'in HMQC Spektrumu.....	90
Şekil 4-20: İzotimonin 4'-metil eter'in HMBC Spektrumu.....	91
Şekil 4-21: İzotimonin 4'-metil eter'in Kütle Spektrumu.....	92

Şekil 4-22: Sudachitin.....	93
Şekil 4-23: Sudachitin'in Kayma Belirteçleriyle Alınan UV Spektrumları.....	96
Şekil 4-24: Sudachitin'in ¹ H-NMR Spektrumu	97
Şekil 4-25: Sudachitin'in ¹³ C-NMR Spektrumu	98
Şekil 4-26: Sudachitin'in DEPT 135 Spektrumu	99
Şekil 4-27: Sudachitin'in HMQC Spektrumu	100
Şekil 4-28: Sudachitin'in HMBC Spektrumu	101
Şekil 4-29: Sudachitin'in Kütle Spektrumu	102
Şekil 4-30: İzomukronulatol	103
Şekil 4-31: İzomukronulatol'un UV-Vis Spektrumu	104
Şekil 4-32: İzomukronulatol'ün ¹ H-NMR Spektrumu.....	105
Şekil 4-33: İzomukronulatol'ün Kütle Spektrumu.....	106
Şekil 4-34: İzomukronulatol'ün X –Ray'i	107
Şekil 4-35: MCA 54 Fraksiyonundan Saf Maddelerin Elde Edilme Şeması	113
Şekil 4-36: Piperiton 7- <i>O</i> -β-D-Glikozit	114
Şekil 4-37: Piperiton 7- <i>O</i> -β-D-Glikozit'in UV Spektrumu	115
Şekil 4-38: Piperiton 7- <i>O</i> -β-D-Glikozit'in ¹ H-NMR Spektrumu.....	117
Şekil 4-39: Piperiton 7- <i>O</i> -β-D-Glikozit'in ¹³ C-NMR Spektrumu.....	118
Şekil 4-40: Piperiton 7- <i>O</i> -β-D-Glikozit'in DEPT 135 Spektrumu	119
Şekil 4-41: Piperiton 7- <i>O</i> -β-D-Glikozit'in HMQC Spektrumu	120
Şekil 4-42: Piperiton 7- <i>O</i> -β-D-Glikozit'in HMBC Spektrumu	121
Şekil 4-43: Piperiton 7- <i>O</i> -β-D-Glikozit'in Kütle Spektrumu	122
Şekil 4-44: Piperiton 7- <i>O</i> -β-D-Glikozit'in FAB [⊕] MS Spektrumu.....	123
Şekil 4-45: Rutin	124
Şekil 4-46: Rutin'in UV-Vis Spektrumu.....	128
Şekil 4-47: Rutin'in ¹ H-NMR Spektrumu.....	129
Şekil 4-48: Rutin'in ¹³ C-NMR Spektrumu.....	130
Şekil 4-49: Rutin'in DEPT 135 Spektrumu	131
Şekil 4-50: Rutin'in COSY Spektrumu.....	132
Şekil 4-51: Rutin'in HMQC Spektrumu	133
Şekil 4-52: Rutin'in HMBC Spektrumu	134
Şekil 4-53: Rutin'in FAB [⊕] MS Spektrumu.....	135
Şekil 4-54: MCA-11'in GC Kromatogramı	137
Şekil 4-55: MCA 11 Fraksiyonundan Elde Edilen Bileşiklerin Formülleri.....	138
Şekil 4-56: Timol'ün Kütle Spektrumu.....	139
Şekil 4-57: Karvakrol'ün Kütle Spektrumu	139

Şekil 4-58: Monoetilhekzilfitalat'ın Kütle Spektrumu.....	140
Şekil 4-59: Vitamin-E'nin Kütle Spektrumu	140
Şekil 4-60: MJP Fraksiyonlarının β -Karoten Renk Açılım Yöntemine Göre Antioksidan Aktivitesi.....	142
Şekil 4-61: MJP-1-3'ün GC Kromatogramı	144
Şekil 4-62: MJP-1-3'ün GC Kromatogramı (14 ile 30 dakika arası)	145
Şekil 4-63: MJP 1-3'den GC ve GC/MS Analizi Sonucu Elde Edilen Bileşiklerin Formülleri	147
Şekil 4-64: 2,4,6-Triizopropilfenol'ün Kütle Spektrumu.....	148
Şekil 4-65: 2,3-Difenilbütan'ın Kütle Spektrumu.....	148
Şekil 4-66: 2,6-Diizopropilnaftalin'ın Kütle Spektrumu	149
Şekil 4-67: 1,3,3-Trimetil-1-fenilindan'ın Kütle Spektrumu	149
Şekil 4-68: Cembren'in Kütle Spektrumu.....	150
Şekil 4-69: Biformen'in Kütle Spektrumu	150
Şekil 4-70: 18-Demetil abieta-8,11,13-trien'in Kütle Spektrumu	151
Şekil 4-71: Abieta-8,11,13-trien'in Kütle Spektrumu.....	151
Şekil 4-72: Abieta-8,11,13-trien-18-al'ın Kütle Spektrumu.....	152
Şekil 4-73: MJP-4-5'in GC Kromatogramı	153
Şekil 4-74: MJP 4-5'den GC ve GC/MS Analizi Sonucu Elde Edilen Bileşiklerin Formülleri	154
Şekil 4-75: Dihydroactinidiolit'in Kütle Spektrumu.....	155
Şekil 4-76: Hekzahidrofarnesil aseton'un Kütle Spektrumu.....	155
Şekil 4-77: MJP-8-9'un GC Kromatogramı	156
Şekil 4-78: MJP 8-9'dan GC ve GC/MS Analizi Sonucu Elde Edilen Bileşiklerin Formülleri	157
Şekil 4-79: 2,6-Ditersiyerbütikinin'ün Kütle Spektrumu.....	158
Şekil 4-80: 3,5-Ditersiyerbütıl-4-hidroksi Asetofenon'un Kütle Spektrumu	158
Şekil 4-81: Eikosan'ın Kütle Spektrumu	159
Şekil 4-82: Heneikosan'ın Kütle Spektrumu	159
Şekil 4-83: MJP-12'nin GC Kromatogramı	160
Şekil 4-84: MJP 12'den GC ve GC/MS Analizi Sonucu Elde Edilen Bileşiklerin Formülleri .	161
Şekil 4-85: 14-Metil-8-hekzadekanal'ın Kütle Spektrumu	162
Şekil 4-86: Dokosan'ın Kütle Spektrumu	162
Şekil 4-87: Trikosan'ın Kütle Spektrumu	163
Şekil 4-88: Tetrakosan'ın Kütle Spektrumu.....	163
Şekil 4-89: Pentakosan'ın Kütle Spektrumu	164
Şekil 4-90: Pentakosanol'ün Kütle Spektrumu	164
Şekil 4-91: MJA Fraksiyonlarının DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi	166
Şekil 4-92: MJA Fraksiyonlarının Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarları.....	166
Şekil 4-93: MJA 54-55 Fraksiyonundan Saf Maddelerin Elde Edilme Şeması	168

Şekil 4-94: Sakkaroz	169
Şekil 4-95: Sakkaroz'un ¹ H-NMR Spektrumu	171
Şekil 4-96: Sakkaroz'un ¹³ C-NMR ve DEPT 135 Spektrumları	172
Şekil 4-97: Sakkaroz'un Kütle Spektrumu	173
Şekil 4-98: Sakkaroz'un FAB [⊕] MS Spektrumu	174
Şekil 4-99: Saf Maddelerin β-Karoten Renk Açılım Yöntemiyle Antioksidan Aktiviteleri	175
Şekil 4-100: Saf Maddelerin DPPH Serbest Radikali Giderim Aktiviteleri	176
Şekil 4-101: Saf Maddelerin Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktiviteleri	177

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AAPH	: 2,2'-Azobis (2-amidopropan) dihidroklorür
ABTS	: 2,2'-Azinobis (3-etilbenzotrazolin-6-sülfonat)
BHA	: Bütillenmişhidroksi anisol
BHT	: Bütillenmişhidroksi toluen
COSY	: Correlation Spectroscopy
CUPRAC	: Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi
DEPT	: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
EI-MS	: Elektrom impakt kütle spektroskopisi
FAB [®] MS	: Hızlı atom bombardımanı kütle spektroskopisi
FCR	: Folin Ciocalteu Fenol Reaktifi
FRAP	: Demir (III) indirgeme antioksidan gücü
GC	: Gaz Kromatografisi
GC/MS	: Gaz kromatografisi kütle spektroskopisi
GSH	: Glutasyon
HMBC	: Heteronuclear Multiple Bond Coherence
HMQC	: Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
LC-NMR	: Sıvı kromatografisi nükleer magnetik rezonans spektroskopisi
MCA	: <i>Micromeria cilicica</i> aseton ekstresi
MCM	: <i>Micromeria cilicica</i> metanol ekstresi
MCP	: <i>Micromeria cilicica</i> petrol eteri ekstresi

MJA	: <i>Micromeria juliana</i> aseton ekstresi
MJM	: <i>Micromeria juliana</i> metanol ekstresi
MJP	: <i>Micromeria juliana</i> petrol eteri ekstresi
NaAc	: Sodyum asetat
NADH	: Nikotinamitadeninidinükleotit
NBT	: Nitroblutetrazolyum
NMR	: Nükleer magnetik rezonans
O ₂ ^{•-}	: Süperoksit anyon radikali
ORAC	: Oksijen Radikalini Absorplama Kapasitesi
PG	: Propil gallat
PMS	: Fenazinmetasülfat
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBHQ	: <i>t</i> -Bütilhidrokinon
TOC	: α -Tokoferol
TPTZ	: Tripiridiltriazin
TRAP	: Toplam radikal tutma parametresi
UV	: Ultraviyole spektroskopisi

ÖZET

Öztürk M. *Micromeria cilicica* ve *M. juliana* Türlerinde Antioksidan Bileşiklerin HPLC ile Analizi ve Yapılarının Aydınlatılması. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya ABD, Analitik Kimya Programı, İstanbul. 2008.

Bu doktora tez çalışmasında, *Micromeria cilicica* Hausskn. ex P.H. Davis (endemik) ve *M. juliana* (L.) Bentham ex Reichb. türlerinin topraküstü kısımlarından hazırlanan petrol eteri, aseton ve metanol ekstralarının toplam fenolik miktarları pirokatekole, toplam flavonoid miktarları kersetine eşdeğer olarak tayin edildikten sonra antioksidan aktiviteleri β -karoten renk açılım, DPPH serbest radikali giderim ve süperoksit anyon radikali giderim yöntemleri kullanılarak belirlendi. Yüksek antioksidan aktivite gösteren ekstralar fraksiyonlandırıldı, elde edilen fraksiyonların da antioksidan aktiviteleri incelendi. Aktif çıkan fraksiyonlardan kromatografik yöntemler kullanılarak yedi madde saflaştırıldı. *M. cilicica*'nın aseton ekstresinden ikisi yeni (izotimonin 4'-metil eter, piperiton 7-O- β -D-glikozit), dördü bilinen (ursolik asit, sudachitin, izomukronulatol, rutin) ve *M. juliana*'nın aseton ekstresinden bilinen bir madde (sakkaroz) elde edildi. Saf maddelerin yapılarının belirlenmesinde spektroskopik yöntemler ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesinde β -karoten renk açılım, DPPH serbest radikali giderim ile süperoksit anyon radikali giderim yöntemleri kullanıldı. Ayrıca *M. cilicica*'nın aseton ve *M. juliana*'nın petrol eteri ekstralarından antioksidan aktivite gösteren fraksiyonların GC ve GC/MS analizleri yapıldı. GC ve GC/MS analizleri sonucunda yirmi beş maddenin yapıları belirlendi.

Bu tez çalışması ile *M. cilicica*'dan hazırlanan tüm ekstraların ve *M. juliana*'nın petrol eteri ile aseton ekstralarının antioksidan aktiviteleri ilk kez incelendi. Ursolik asit hariç diğer saf maddelerin *Micromeria* türlerinden ilk kez elde edildiği tespit edildi. Ursolik asit ve rutin dışındaki diğer saf maddelerin antioksidan aktiviteleri de yine ilk kez bu tez çalışmasında belirlendi. Rutin'in, β -karoten renk açılım, DPPH serbest radikali giderim ve süperoksit anyon radikali giderim yöntemlerinin hepsinde en yüksek aktiviteyi gösterdiği saptandı.

Anahtar Kelimeler : *Micromeria cilicica*, *Micromeria juliana*, Lamiaceae, Antioksidan Aktivite

ABSTRACT

Öztürk M. HPLC Analysis of Antioxidant Compounds from *Micromeria cilicica* and *M. juliana* and Their Structure Elucidation. Ph.D. Thesis, Istanbul University, The Institute of Medical Sciences, Department of Analytical Chemistry, Analytical Chemistry Programme, Istanbul. 2008.

In this thesis, the aerial parts of *Micromeria cilicica* Hausskn. ex P.H. Davis (endemic) and *M. juliana* (L.) Benth. ex Reichb. were extracted with petroleum ether, acetone and methanol, successively. Total phenolic and total flavonoid contents of these extracts were determined as pyrocatechol and quercetin equivalents, respectively, and their antioxidant activity, was carried out by using three different methods; namely, β -carotene bleaching method, DPPH free radical scavenging activity and superoxide anion radical scavenging activity assays. The extracts that exhibited high antioxidant activity were fractionated, and then the antioxidant activity of all fractions were also determined. Seven compounds were isolated from active fractions by using chromatographic methods. Two new (isothymonin 4'-methyl ether, piperitone 7-O- β -D-glucoside) and four known (ursolic acid, sudachitin, isomucronulatol, rutin) compounds were obtained from the acetone extract of *M. cilicica*, and a known compound (saccharose) from the acetone extract of *M. juliana*. For structural elucidation of the isolated compounds, spectroscopic methods were used while for their antioxidant activity, β -carotene bleaching method, DPPH free radical scavenging activity and superoxide anion radical scavenging activity assays were used. Furthermore, GC and GC/MS analyses of active nonpolar fractions from the acetone extract of *M. cilicica* and the petroleum ether extract of *M. juliana* were performed and the structure of twenty five compounds were elucidated.

In this thesis, the antioxidant activity of all extracts of *M. cilicica*, the petroleum ether and the acetone extracts of *M. juliana* was determined for the first time. All compounds except ursolic acid were isolated for the first time from *Micromeria* species. The antioxidant activity of these compounds, except for ursolic acid and rutin, was also determined for the first time in this study. Rutin showed the highest activity in the three antioxidant activity assays.

Key Words: *Micromeria cilicica*, *Micromeria juliana*, Lamiaceae, Antioxidant Activity



Micromeria cilicia Hausskn. ex P.H. Davis
(Endemik)



Micromeria juliana (L.) Bentham ex Reichb.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yaşam için gerekli olan oksijen aynı zamanda toksik etkiye de sahiptir. Bu toksisite oksijenin oluşturduğu reaktif oksijen türlerinden kaynaklanmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin çeşitli hastalıkların gelişmesinde önemli rolü olduğunu ortaya koyan pek çok çalışma vardır. Reaktif oksijen türleri lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın hasarına yol açar. DNA'nın hasarı da kanser riskini arttırmaktadır. Reaktif oksijen türleri özellikle kanserin ilerleme aşamasında rol oynar¹.

Antioksidanlar, reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerini azaltırlar veya ortadan kaldırırlar. Canlılarda, reaktif oksijen türlerinin meydana getirdiği zararları ortadan kaldırmak için çeşitli antioksidan savunma mekanizmaları mevcuttur. Bu mekanizmaların savunmada yetersiz kalması sonucunda ortaya çıkabilecek hastalıklardan korunmak için antioksidan etkiye sahip meyve, sebze ve şifalı bitkilerin tüketilmesinin insan sağlığı açısından faydalı olduğunu gösteren çok sayıda araştırma vardır^{1,2}.

İşlenmiş gıdaların bozunmasını önlediği ve raf ömrünü uzattığı için sentetik antioksidanlar gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Ancak sentetik antioksidanlar ve oluşturdukları yan ürünlerin başta kanser olmak üzere çeşitli hastalıklara neden oldukları belirlenmiştir³⁻⁵. Son yıllarda işlenmiş gıdalarda koruyucu olarak kullanılmak üzere doğal kaynaklı antioksidanların bulunması amacı ile yapılan araştırmalar artmıştır.

Bu doktora tez çalışmasında, *Micromeria cilicica* (endemik) ve *M. juliana*'nın topraküstü kısımlarından hazırlanan petrol eteri, aseton ve metanol ekstraktlarının toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarlarının belirlenerek β -karoten renk açılım, DPPH serbest radikali giderim ve süperoksit anyon radikali giderim yöntemleri kullanılarak antioksidan aktivitelerinin saptanması, antioksidan aktiviteden sorumlu bileşenlerin HPLC kullanılarak belirlenmesi, kromatografik yöntemlerle maddelerin saflaştırılması, saf maddelerin spektroskopik yöntemler kullanılarak yapılarının aydınlatılması ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Labiatae (Lamiaceae) Familyası

Micromeria cinsi, Labiatae familyasının bir üyesidir. Labiatae familyasında bir, iki ya da çok yıllık otsular veya çalimsılar bulunur. Bu bitkiler salgı tüyü taşırlar ve kokuludurlar. Labiatae familyası tıpta ve parfümeride kullanılan birçok uçucu yağ içeren bir familya olarak önem taşımaktadır. Uçucu yağ, yaprak epiderması üzerindeki salgı tüylerinde bulunur. Başlı sekiz hücreli pul şeklindeki salgı tüyleri bu familya için karakteristiktir⁶.

Gövdeleri genellikle 4 köşelidir. Yapraklar dekusat dizilişlidir. Çiçekler vertisillastrum durumdadır. Korolla çoğunlukla iki dudaklıdır. Stamenler 4 veya 2 tanedir. Meyva 4 nuksa yarılan bir şizokarpıdır⁷.

Labiatae familyasının yeryüzünde 200 kadar cinsi ve 3200 türü mevcuttur⁶. Yurdumuzda ise 46 cinsi, 257 taksası endemik olmak üzere 758 taksası ve 275 türü bulunmaktadır⁸. Labiatae familyasındaki birçok türün hem süs bitkisi olarak hem de tıbbi özelliklerinden dolayı kültürü yapılmaktadır.

2.1.2. *Micromeria* Benthams Cinsi

Micromeria Benthams cinsine ait türler yarı çalimsı otlardır, nadiren tek yıllıktır. Yapraklar düz ya da kenarı sık damarlı, her iki kenarı dışarı doğru kıvrılmış, saplı, palizat dokusu sadece üst taraftadır. Çiçek durumu tirsustan kısa saplı simül ya da sapsız çiçekli vertisillere kadar değişir. Kaliks tüpsü ya da obkonik, \pm dik, 13 (-15) damarlı, aktinomorf ya da hemen hemen iki dudaklıdır. Dişler üçgenimsi subulata kadar değişen, boğazı tüylü ya da tüylü değildir. Korolla iki dudaklı, mor, leylak ya da beyazdır. Tüp dik, alt dudak üç lopludur. Stamenler 4, nadiren korolladan daha uzundur. Genellikle eğik ve yaklaşmıştır. Tekalar dışı doğru yönelmiştir. Meyvaları tüysüz ya da küçük ince tüylü, obtus, sivri, tepecikli ya da akuminattır. Sıklıkla ginodioiktir. Çiçek açma zamanı Mayıs-Eylül dönemidir. Çayırlarda ve nemli ortamlarda 150–200 m rakımda yetişmektedir, 1200–1300 m rakımda da bulunmaktadır⁷.

Yurdumuzda yetişen 22 *Micromeria* taksonunun listesi aşağıda verilmiştir, bunların 12 tanesi endemiktir⁷.

Endemik türler

- *M. carica* P.H. Davis
- *M. cilicica* Hausskn. ex P.H. Davis
- *M. cremnophila* Boiss. & Heldr. subsp. *amana* (Rech. fil.) P.H. Davis
- *M. cremnophila* Boiss. & Heldr. subsp. *anatolica* P.H. Davis
- *M. cymuligera* Boiss. & Hausskn.
- *M. dolichodonta* P.H. Davis
- *M. elliptica* C. Koch
- *M. cristata* (Hampe) Griseb. subsp. *carminea* P.H. Davis
- *M. cristata* (Hampe) Griseb. subsp. *orientalis* P.H. Davis
- *M. cristata* (Hampe) Griseb. subsp. *phrygia* P.H. Davis
- *M. cristata* (Hampe) Griseb. subsp. *xylorrhiza* (Boiss. & Heldr.) Davis
- *M. fruticosa* (L.) Druce subsp. *giresunica* P.H. Davis

Endemik olmayan türler

- *M. congesta* Boiss. & Hausskn. ex Boiss.
- *M. cristata* (Hampe) Griseb. subsp. *cristata*
- *M. fruticosa* (L.) Druce subsp. *barbata* (Boiss. & Kotschy) Davis
- *M. fruticosa* (L.) Druce subsp. *brachycalyx* P.H. Davis
- *M. fruticosa* (L.) Druce subsp. *serpyllifolia* (Bieb.) P.H. Davis
- *M. graeca* (L.) Benth. ex Reichb. subsp. *graeca*
- *M. juliana* (L.) Benth. ex Reichb.
- *M. mollis* Benth.
- *M. myrtifolia* Boiss. & Hohen.
- *M. nervosa* (Desf.) Benth.

2.1.3. *Micromeria cilicica* Hausskn. ex P.H. Davis

Çok yıllık bitkidir. Orta yapraklar ovattır. Yapraklar gri-yeşil arası oymalı-dişli baskın bir şekilde damarlı, petiol 1–2 (-4) mm. Çiçek durumu araya girmiş şekilde, ince, simüller 3–20 çiçeklidir. Kaliks tüpleri, 2 mm birbiriyle az çok karışmış (\pm) gevşek yumuşak tüylü, boyun çıplak; dişler subekual, dar bir şekilde üçgenimsi, sivri, kaliks kadar kısa (1/4–1/3), ince, temelde saça benzerdir. Korolla beyaz, 5–6 mm. Meyvalar dikdörtgenimsi-elipstir. 1200–1300 m’de yetişir. Endemik olan *M. cilicica*, Doğu Akdeniz Bölgesi elementidir⁷.

Çiçek açma zamanı	:Haziran-Ağustos
Yetiştirme Ortamı	:Kalkerli kayalıklar, sulu ortamlı çayırlar
Tip Örneği	:C5, İçel’in kuzeybatısında kalan Gözne’den toplanan örneklerden tanımlanmıştır.
Yayıliş	:Doğu Akdeniz’e endemiktir. İçel’de yayılış gösterir.

2.1.4. *Micromeria juliana* (L.) Bentham ex Reichb.

İnce, zayıf, çok yıllık yarı çalimsı bir bitkidir. Yüzeyine dikey olarak bağlı kısa sert tüylü gövdesinden dolayı *M. myrtifolia*’dan farklılık gösterir. Alta doğru kıvrık, daha dar, dikdörtgenimsi lanseolat yapraklar taşır. Kaliks tüylü değildir. Akdeniz Bölgesi elementidir⁷.

Çiçek açma zamanı	:Mayıs-Haziran
Yetiştirme Ortamı	:Kurak kireçtaşı ve kayalık yamaçlar.
Tip Örneği	:A1, Balıkesir ve Marmara Denizi Adaları’ndan toplanan örneklerden tanımlanmıştır.
Yayıliş	:Batı Avrupa, Kuzey Avrupa ve Akdeniz’de yayılış gösterir. Türkiye’de Aydın, Balıkesir, Bursa, Çanakkale, İstanbul, İzmir ve Manisa’da yayılış gösterir.

2.2. *Micromeria* Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı

Ülkemizde halk arasında *Micromeria* türleri, çay halinde iştah açıcı, kas gevşetici, uyarıcı ve balgam söktürücü olarak kullanılmaktadır.⁹⁻¹¹ Bu türlerin sedatif, antiseptik, antiromatizmal ve merkezi sinir sistemini stimule edici özellikleri de vardır¹¹⁻¹³.

Micromeria cilicica'nın kurutulmuş yaprakları Fethiye bölgesinde “dağ çayı” olarak bilinmekte ve çay halinde iştah açıcı, gaz söktürücü, üst solunum yolu hastalıklarında, mide rahatsızlıklarında ve uyarıcı olarak kullanılmaktadır. Akdeniz ülkelerinde hazımsızlıkta, öksürükte ve soğuk algınlıklarında ayrıca kan basıncını düşürmede kullanıldığı bilinmektedir¹⁴.

M. myrtifolia “Dağ Çayı”, “Topuk Çayı” adı ile Akdeniz Bölgesi’nde Alanya, Anamur, Kaş yörelerinde çay halinde iştah açıcı, gaz söktürücü ve uyarıcı olarak kullanılmaktadır^{9,15}. *M. myrtifolia* bitkisinin sindirim sistemi ve bulaşıcı hastalıklarda kullanıldığı da literatürde kayıtlıdır¹⁶.

M. fruticosa Doğu Akdeniz ülkelerinde çay halinde mide hastalıklarında, gaz söktürücü ve iştah açıcı olarak¹⁷, ishalde, göz enfeksiyonlarında, kalp hastalıklarında, baş ağrılarında^{10,12,13}, yüksek tansiyonda, yorgunlukta, soğuk algınlığında ve haricen açık yaralarda kullanılmaktadır^{18,19}. *M. fruticosa*'nın kurutulmuş yaprakları Erzurum bölgesinde “taş nanesi”, Gaziantep yöresinde “Kaya Yarpuzu” adı ile bilinmekte ve nane yerine kullanılmaktadır⁹.

M. graeca mide ağrılarında, *M. biflora* sindirim bozukluklarında, *M. herpyllomorpha* ve *M. varia* tonik olarak ve ağrıyan gözler için infüzyon halinde kullanılırken²⁰, *M. nervosa* karın ağrılarında, kalbi güçlendirici olarak ve kabızlıkta dahilen, deri hastalıklarında haricen kullanılmaktadır²¹. *M. graeca* subsp. *graeca*'nın toprak üstü kısımları ise infüzyon halinde öksürüğe karşı kullanılmaktadır²².

M. capitellata'nın uçucu yağı % 80 oranında pulegon taşımaktadır ve parfümeri sanayiinde kullanılmaktadır²³. Güney Anadolu’da yetişen ve uçucu yağında yüksek oranda pulegon bulunan *M. fruticosa* subsp. *brachycalyx* ve *M. fruticosa* subsp. *barbata* türlerinden elde edilen penniroyal** yağının ihracatı yapılmaktadır²⁴.

** Penniroyal yağı: *Mentha pulegium* bitkisinden elde edilen uçucu yağdır. % 80 oranında pulegon içeren, çok düşük dozlarda bile zehirli olan penniroyal yağı, halk arasında adet sökümünü kolaylaştırıcı ve çocuk düşürmede kullanılmaktadır. Penniroyal çayı da çocuk düşürücü olarak kullanılmaktadır.

2.3. *Micromeria* Türleri İle Yapılan Kimyasal Araştırmalar ve Aktivite Çalışmaları

Bugüne kadar *Micromeria* türleri ile en çok çalışma uçucu yağları ve antimikrobiyal aktiviteleri üzerine yapılmıştır. Bu türlerle yapılan uçucu yağ ve biyolojik aktivite çalışmaları Tablo 2.1’de verilmiştir.

Uçucu yağları dışında *Micromeria* türleriyle yapılan diğer çalışmalar şunlardır:

M. albanica, *M. cristata*, *M. dalmatica*, *M. juliana* ve *M. thymifolia* yapraklarının metanol ekstralarında acacetin 7-*O*-[6''-*O*-asetilglukozil(1'''→2'')] ramnozil (1'''→6'') glukozit ve acacetin 7-*O*-ramnozil (1'''→6'') glukozit bileşiklerinin varlığı HPLC kullanılarak araştırılmış ve bu *Micromeria* türlerinin her iki bileşiği de içerdiği tespit edilmiştir. *M. dalmatica* her iki bileşik açısından zengin, *M. cristata*'nın ise fakir olduğu tespit edilmiştir²⁵.

Kalogjera ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *M. thymifolia*'nın topraküstü kısımlarının ursolik asit ile oleanolik asit içerdiği ve bağıl miktarlarının sırası ile %79.35 ve %20.65 olduğu belirlenmiştir²⁶.

M. juliana, *M. graeca*, *M. fruticosa*, *M. montana* ve *M. thymifolia*'nın naringenin, neoponsirin ve izosakuranetin 7-rutinosit bileşiklerini içerdikleri bulunmuştur²⁷.

Tomas-Barberan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada *M. nervosa* (Girit), *M. cristata* (Yugoslavya), *M. parviflora* (İspanya), *M. hispida* (Girit), *M. filiformis* (İspanya) ve *M. fruticosa* (İspanya) türlerinin 6-hidroksiflavon glikozitlerini içerdikleri tespit edilmiştir²⁸.

M. graeca (Yugoslavya), *M. serpyllipia* (İsrail), *M. fruticosa* (İspanya), *M. marginata* (Fransa), *M. nervosa* (Balearic adaları), *M. juliana* (Yunanistan), *M. cristata* (Yugoslavya), *M. parviflora* (Yugoslavya), *M. inodora* (İspanya), *M. filiformis* (Bali adaları), *M. hispida* (Girit) türlerinde thymonin, thymusin, 5,6-dihidroksi-7,8,3',4'-tetrametoksiflavon, pebrellin, 5,6,4'-trihidroksi-7,3'-dimetoksiflavon, 5,6-dihidroksi-7,3',4'-trimetoksiflavon, ladanein bileşiklerinin varlığı araştırılmıştır. *M. graeca*'nın thymonin ve 5,6,4'-trihidroksi-7,3'-dimetoksiflavon içerdiği, *M. serpyllipia* ve *M. fruticosa*'nın thymonin, 5,6,4'-trihidroksi-7,3'-dimetoksiflavon ve 5,6-dihidroksi-7,3',4'-trimetoksiflavon içerdikleri tespit edilirken diğer *Micromeria* türlerinin çalışılan flavonları içermediği belirlenmiştir²⁹.

M. albanica'nın 5,6,4'-trihidroksi-7,3'-dimetoksiflavon, thymusin, thymonin, genkwanin, 5,6-dihidroksi-7,8,3',4'-tetrametoksiflavon, ladanein, 5,4'-dihidroksi-6,7,8,3'-tetrametoksiflavon, 5-demetilnobiletin ve 5-hidroksi-6,7,3',4'-tetrametoksi flavon bileşiklerini, *M. thymifolia*, *M. dalmatica* ve *M. albanica* türlerinin acacetin türevi glikozitlerinin yanısıra az miktarda luteolin ve apigenin türevi glikozitleri içerdikleri tespit edilmiştir^{27,30}.

Kanarya Adaları'ndan toplanan *M. benthami*'den betulinik asit, oleanolik asit, ursolik asit, micromeric asit, 19 α -hidroksi-ursolik asit, yine aynı bitkiden β -sitosterol, betulin, lupeol, α -amirin, β -amirin, erythrodiol ve uvaol^{31,32}, *M. pineolens*'den oleanolik asit, ursolik asit, betulinik asit, 3 β -hidroksi-ursa $\Delta^{12,20(30)}$ dien- 28-oik asit, 3 β ,19 α -dihidroksi-ursolik asit elde edilmiştir³³.

M. chamissonis bitkisinden glukoz, xanthamicrol, micromerol, micromeritol, hentriacontan, fitosterol, palmitik asit, araşidik asit ve behenik asit izole edilmiştir³⁴.

Ristic ve arkadaşlarının³⁵ yaptığı çalışmada *M. thymifolia* ve *M. albanica* bitkilerinin metil laurat, metil miristat, metil palmitat, metil stearat, metil oleat, metil linolat, metil linolenat, metil araşidat ve metil behenat olmak üzere toplam 9 yağ asidi içerdikleri tespit edilmiştir (Tablo 2.2).

Dudai ve arkadaşları tarafından *M. fruticosa*'nın bioherbisit* olarak kullanılabilirliği araştırılmış ve aktif sonuçlar bulunmuştur³⁶.

* Yabani otlara karşı kullanılan biyolojik materyal.

Tablo 2-1: *Micromeria* Türleri İle Yapılan Uçucu Yağ ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Bitki Adı	Yetiştığı Yer	Uçucu Yağ Ana Bileşenleri	Biyolojik Aktivite	
<i>M. fruticulosa</i>	İtalya	γ -Terpinen (%14,5); β -karyofilen (%12,6); <i>p</i> -simen (%8,9); α -pipen (%8,2)	Antimikrobiyal	10
<i>M. biflora spp. arabica</i>	Suudi Arabistan	<i>trans</i> -Karyofilen (%43,7); karyofilen oksit (%18,0); spatulenol (%8,5); α -humulen (%4,6)	Antimikrobiyal	37
<i>M. fruticosa</i>	Türkiye	-	Antiinsektisidal	38
<i>M. cristata</i>	Sırbistan	İzoborneol (%11,3); borneol (%8,5); 10- <i>epi</i> - α -kandidol (%8,2); tujen-3-ol (%8,0)	Antimikrobiyal	39
<i>M. juliana</i>	Sırbistan	Verbenol (%11,8); timol (%10,8); karyofilen oksit (%10,5); borneol (%9,3)	Antimikrobiyal	39
<i>M. myrtifolia</i>	Türkiye	-	Antifungal	40
<i>M. persica</i>	İran	Timol (%33,1); γ -terpinen (%28,7); limonen (%5,0); 1,8-sineol (%14,2)	-	41
<i>M. juliana</i>	Hırvatistan	α -Pinen (%10,6); β -pinen (%7,0); linalool (%7,6); β -karyofilen (%4,2)	-	42
<i>M. thymifolia</i>	Sırbistan	Piperiton oksit (%63,8); limonen (%11,7); piperitenon oksit (%9,2); β -pinen (%3,0)	-	43

<i>M. thymifolia</i>	Karadağ	Pulegon (%48,0); Piperitenon (%13,9); limonen (%3,0); piperiton (%2,8)	-	43
<i>M. dalmatica</i>	Karadağ	Piperitenon (%56,7); pulegon (%12,1); limonen (%8,3); germakren D (%3,0)	-	43
<i>M. pulegium</i>	Sırbistan	İzomentan (%27,2); piperiton oksit (%7,4); limonen (%6,8); karyofilen (%4,7)	-	43
<i>M. albanica</i>	Kosova	Piperiton oksit (%36,9); piperitenon oksit (%21,9); piperitenon (%10,0); limonen (%7,0)	-	43
<i>M. juliana</i>	Karadağ	<i>o</i> -Simen (%10,8); karvakrol (%18,1); karyofilen oksit (%20,4); pulegon (%8,1)	-	43
<i>M. cristata</i>	Sırbistan	Spatulenol (%11,7); α -kadinen (%4,3); globulol (%6,0); <i>trans</i> -verbenol (%5,7)	-	43
<i>M. parviflora</i>	Karadağ	<i>p</i> -Simen (%14,6); spatulenol (%46,7); β -burbonen (%4,9); karvakrol (%10,6)	-	43
<i>M. libanotica</i>	Lübnan	İzomenton (%44,5); pulegon (%13,5); izopulegon (%6,5)	-	44
<i>M. fruticosa</i>	Erzurum	-	Antiinsektisidal	13
<i>M. fruticosa</i> supsp. <i>serpyllifolia</i>	Erzurum	Piperiton (%50,6); pulegon (%29,2); izomenton (%3,9); piperiton (%3,1)	Antimikrobiyal ve antioksidan	12

<i>M. juliana</i>	Yunanistan	-	Antioksidan	45
<i>M. graeca</i>	Yunanistan	-	Antioksidan	45
<i>M. dalmatica</i>	Karadağ	Piperitenon oksit (%41,8); pulegon (%15,1); piperitenon (%10,2); limonen (%5,8)	Antifungal ve antibakteriyal	20
<i>M. albanica</i>	Kosova	Piperitenon oksit (%38,7); pulegon (%13,4); piperitenon (%9,7); limonen (%3,2)	Antifungal ve antibakteriyal	20
<i>M. dalmatica</i>	Karadağ	Pulegon (%32,8); piperitenon (%25,7); piperiton (%11,7); izomenton (%5,0)	Antifungal ve antibakteriyal	20
<i>M. fruticosa</i> subsp. <i>barbata</i>	Türkiye	Pulegon (%81,0); piperitenon (%3,0); neomentol (%2,0)	-	24,46
<i>M. fruticosa</i> subsp. <i>brachycalyx</i>	Türkiye	Pulegon (%57,0); piperitenon (%21,0); menton (%8,0)	-	22
<i>M. fruticosa</i> subsp. <i>giresunica</i>	Türkiye	Pulegon (%40,0); mentol (%24,0); menton (%24,0)	-	24,47
<i>M. fruticosa</i> subsp. <i>serpillifolia</i>	Türkiye	Pulegon (%33,0); piperitenon (%33,0); piperiton oksit (%4,0)	-	24,48
<i>M. congesta</i>	Türkiye	Piperiten oksit (%45,0); pulegon (%10,0); verbenon (%9,0)	-	24,49
<i>M. dolichodontha</i>	Türkiye	İzomenton (%24,0); <i>cis</i> -piperiton oksit (%17,0); pulegon (%15,0)	-	24

<i>M. elliptica</i>	Türkiye	<i>cis</i> -Piperiton oksit (%44,0); piperitenon oksit (%17,0); piperiton oksit (%4,0)	-	24
<i>M. cristata</i> subsp. <i>phrygia</i>	Türkiye	Borneol (%40,0); kamfor (%13,0)	-	24,59
<i>M. cristata</i> subsp. <i>xyllorrhiza</i>	Türkiye	Borneol (%26,0); kamfor (%9,0)	-	24
<i>M. cristata</i> subsp. <i>carminea</i>	Türkiye	Borneol (%26,0)	-	24
<i>M. cristata</i> subsp. <i>orientalis</i>	Türkiye	Borneol (%13,0)	-	24
<i>M. mollis</i>	Türkiye	Hekzadekanoik asit (%9,0); borneol (%8,0); karyofilen oksit (%7,0)	-	24
<i>M. myrtifolia</i>	Türkiye	β -karyofilen (%43,0); karyofilen oksit (%9,0); germakren D (%7,0)	-	51
<i>M. juliana</i>	Türkiye	β -karyofilen (%40,0); karyofilen oksit (%9,0); germakren D (%4,0)	-	24
<i>M. cristata</i> subsp. <i>phrygia</i>	Afyon	Borneol (%26,9); kamfor (%14,5); karvakrol (%4,0); karyofilen oksit (%3,7)	Antimikrobiyal	51
<i>M. cristata</i> subsp. <i>phrygia</i>	Isparta	Borneol (%31,4); kamfor (%9,1); karyofilen oksit (%5,5); <i>trans</i> - verbenol (%5,6)	Antimikrobiyal	51

<i>M. cristata</i> subsp. <i>phrygia</i>	Kütahya	Borneol (%39,3); kamfor (%10,7); Antimikrobiyal karyofilen oksit (%3,8); <i>trans</i> -verbenol (%5,0)		51
<i>M. gracea</i>	Yunanistan	Karyofilen oksit (%17,0); <i>epi-α</i> -bisabolol (%12,8); <i>trans</i> -verbenol (%10,4)	-	52
<i>M. thymifolia</i>	Macaristan	Pulegon (%67,5); α -pinen (%6,1); linalool (%5,2)	-	11
<i>M. albanica</i>	Yugoslavya	Piperitenon oksit (%44,0)	-	53
<i>M. myrtifolia</i>	Türkiye	-	Antifungal	40
<i>M. nervosa</i>	İsrail	-	Antimikrobiyal	21,54
<i>M. cremnophilla</i> subsp. <i>amana</i>	Türkiye	Germakren (%24,0); β -karyofilen (%22,7); karyofilen oksit (%16,9)	-	55
<i>M. dolichodontha</i>	Türkiye	İzomenton (%23,5); pulegon (%14,9); <i>cis</i> -piperiton oksit (%16,9)	-	50
<i>M. carminea</i>	Türkiye	Borneol (%26,0); kamfor (%11,0)	-	50,56
<i>M. varia</i>	Kanarya Adaları	Borneol (%19,2); <i>E</i> -nerolidol (%13,1); α -pinen (%13,9)	-	57
<i>M. herpyllomorpha</i>	Kanarya Adaları	Borneol (%8,8); <i>E</i> -nerolidol (%4,4); α -pinen (%9,2)	-	57
<i>M. lachnophylla</i>	Kanarya Adaları	Borneol (%22,0); (-)-bornil asetat (%16,9); kamfen (%10,0)	-	57
<i>M. hyssopifolia</i>	Kanarya Adaları	Borneol (% 13,7); kamfor (% 5,0); α -pinen (% 8,3)	-	57

<i>M. losiophylla</i> subsp. <i>palmensis</i>	Kanarya Adaları	Borneol (% 24,9); kamfor (% 8,6); linalool (% 11,0)	-	57
<i>M. thymifolia</i>	Macaristan	-	Antimikrobiyal	58
<i>M. fruticosa</i>	İsrail	-	Antifungal	59
<i>M. sinaica</i>	Suudi Arabistan	İzo Eugenol (% 31,5)	Antimikrobiyal	60
<i>M. congesta</i>	Türkiye	Piperitenon oksit (% 40,0); pulegon (% 11,8); verbenon (%8,3)	-	49

Tablo 2-2: *M. thymifolia* ve *M. albanica* Türlerinin Yağ Asidi Kompozisyonları (%)

Yağ asitleri	<i>M. thymifolia</i>	<i>M. albanica</i>
Metil laurat	1,46	0,38
Metil miristat	0,91	1,27
Metil palmitat	15,64	22,96
Metil stearat	2,37	3,95
Metil oleat	6,05	7,75
Metil linolat	12,45	12,64
Metil linolenat	37,42	32,86
Metil araşidat	1,21	1,75
Metil behenat	1,06	0,94

2.4. Antioksidanlar

Vücutumuzdaki ve besinlerdeki lipitler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler oksidasyona uğrayabilir ve canlı organizma için zararlı olabilecek oksidasyon ürünleri oluşturabilirler⁶¹. Bu durum yaygın olarak “Oksidatif Stres” şeklinde ifade edilir. Oksidatif stresin baş sorumluları reaktif oksijen ve azot türleridir⁶² (Tablo 2.3).

Tablo 2-3: Reaktif Oksijen ve Azot Türleri

Reaktif Oksijen Türleri		Reaktif Azot Türleri	
Radikaller	Radikal Olmayanlar	Radikaller	Radikal Olmayanlar
Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$)	Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	Azot Oksit (NO^{\bullet})	Nitröz Asit (HNO_2)
Hidroksi (HO^{\bullet})	Hipokloröz Asit ($HOCl$)	Azot dioksit (NO_2^{\bullet})	Nitrozil Katyonu (NO^+)
Peroksi (RO_2^{\bullet})	Hipobromik Asit ($HOBr$)		Nitroksi Anyonu (NO^-)
Alkoksi (RO^{\bullet})	Ozon (O_3)		Diazot tetraoksit (N_2O_4)
Hidroperoksi (HO_2^{\bullet})	Singlet Oksijen ($^1\Delta_g \ ^1O_2$)		Diazot trioksit (N_2O_3)
			Peroksinitrit ($ONOO^-$)
			Peroksinitröz Asit ($ONOOH$)
			Nitronyum Katyonu (NO_2^+)
			Alkilperoksi nitritler ($ROONO$)

Reaktif oksijen ve azot türleri insan vücudunda çeşitli şekillerde meydana gelirler:

- Hücrenin normal solunumu sırasında yan ürün olarak reaktif oksijen ve azot türleri oluşur.
- Süperoksit ve hidrojen peroksit miktarı, bazı biyomoleküllerin (adrenalin, dopamin, tetrahidrofolat, sitokrom P450 ve elektron transport zincirlerinin bazı bileşikleri) oksijen tarafından doğrudan oksidasyonu ile artabilir^{63,64}.
- Vücudumuz, doğal ve insan kaynaklı radyasyona maruz kalabilir. Yüksek enerjili elektromagnetik ışın, suyu parçalayabilir ve hidroksi radikali oluşturur⁶⁵.

Reaktif oksijen ve azot türleri dışarıdan da organizmaya alınabilirler. Sigara dumanının ana bileşiği NO_2^\bullet 'dir. NO_2^\bullet 'in sigara olefinleri ile reaksiyona girmesiyle karbon merkezli radikallerin oluştuğu düşünülmektedir. Ayrıca sigara içimi nötrofilleri aktive ederek dolaylı olarak serbest radikal üretimini artırmaktadır⁶¹.

Yabancı organizmalara karşı koruyucu görev yapan fagositler (nötrofiller, monositler, makrofajlar, eosinofiller) yabancı organizmayı öldürmek için süperoksit ve hidrojen peroksit üretirler. Bu önemli savunma sisteminin bozukluğu, doku hasarıyla sonuçlanan aşırı fagosit aktivitesinin eşlik ettiği romatoit artirit ve iltihaplı bağırsak hastalığı gibi bazı hastalıklara sebep olur⁶⁶⁻⁶⁸.

Oksidasyon, radikalik zincir reaksiyonları üzerinden yürür. Radikaller eşleşmemiş elektronlarını eşleştirme eğiliminde oldukları için özellikle gevşek bağlı elektronları koparırlar. Bu özellikleri, radikallerin kimyasal olarak aktif olmalarını sağlar ve bunların organizmadaki varlığı biyomoleküllerin modifikasyonuna sebep olur.

Reaktif oksijen ve azot türleri DNA bazlarını hasara uğratarak mutasyona sebep olur. $\text{O}_2^{\bullet-}$ ^{68, 69}, OH^\bullet ^{70,71}, ve ONOO^- ^{72,73} DNA hasarının sebebi olarak bilinir. DNA hasarı kanserden sorumlu olan baş faktördür⁷⁵. Hücrede DNA tamir mekanizmaları mevcut olmasına rağmen bu mekanizmalar bazen yetersiz kalabilirler.

Antioksidanlar, oksidasyonu başlangıç ve/veya gelişme basamağında önleyen veya geciktiren maddelerdir. Canlı organizmalarda antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin bulunması yaşam için önemli bir ihtiyaçtır. Antimutajenik, antikarsinojenik,

yaşlanmayı geciktirici gibi birçok etki canlılardaki antioksidan özellikteki maddelerden kaynaklanır⁷⁶. Antioksidan maddelerin eksikliğinde reaktif oksijen ve azot türleri kanser, diabet, kireçlenme, parkinson, AIDS, beyin ve kalp hastalıkları gibi birçok hastalığın ortaya çıkmasına sebep olurlar⁷⁷.

Doğal kaynaklı antioksidanlar, bitkilerde bulunan fenolik bileşikler (tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler), azotlu bileşikler (alkaloitler, klorofil türevleri, proteinler, aminler), organik asitler ve karotenoidlerdir^{78,79}. Sistein, metiyonin, histidin, triptofan ve lizin⁸⁰ gibi aminoasitler ile sülfürlerce zengin olan tiyoredoksin⁸¹ proteini de antioksidan özellik gösterirler.

Birçok epidemiyolojik çalışma bol meyve-sebze tüketiminin kalp-damar ve kanser hastalıklarını azalttığını ortaya koymuştur^{82,83}. Sebze ve meyvelerin bu özellikleri içerdikleri antioksidan maddelere (askorbik asit, tokoferoller, karotenoidler, flavonoidler) dayandırılmaktadır. Örneğin yeşil çay yaprakları (-)-epikateşin, (-)-epikateşin gallat, (-)-epigallokateşin ve (-)-epigallokateşin gallat içerirler^{84,85} ve antihipertansif⁸⁶, antioksidatif⁸⁷, antiaterosklerotik^{82,88}, antikarsinojenik^{88,90} gibi etkilere sahiptirler. Kateşinler metal iyonlarını bağlayıcı ve oksijen radikalini tutucu antioksidanlar olarak tanınırlar^{91,92}.

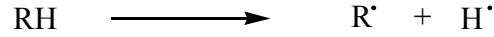
Diğer taraftan sentetik antioksidanlar gıdaların bozunmasını önlemek ve raf ömrünü uzatmak için kullanılmaktadırlar. Günümüzde BHA (bütilenmiş hidroksi-anisol), BHT (bütilenmiş hidroksitoluen), PG (propil gallat) ve TBHQ (*t*-bütilhidrokinon) en çok kullanılan sentetik antioksidanlardır. Ancak sentetik antioksidanlar ve oluşturdukları yan ürünlerin çeşitli hastalıklara yol açabileceğini ortaya koyan çalışmalar vardır^{93,94}. Bu nedenle doğal kaynaklardan, sentetik antioksidanların yerini tutabilecek yeni antioksidan maddelerin bulunmasına yönelik çalışmalar giderek önem kazanmış ve bu alanda yapılan araştırmalar artmıştır.

2.4.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

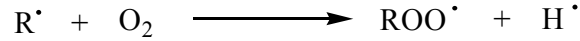
Antioksidanlar, reaksiyon mekanizmalarına göre birincil ve ikincil antioksidanlar olarak ikiye ayrılırlar. Bazı antioksidanlar ise birden fazla aktivite mekanizması gösterirler ve bunlar çok fonksiyonlu antioksidanlar olarak adlandırılırlar⁹⁵.

2.4.1.1. Birincil Antioksidanlar

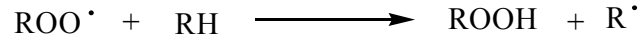
Birincil antioksidanlar (tip-1 veya zincir kırıcı antioksidanlar) otooksidasyonun başlangıç aşamasını erteleyen veya engelleyen ya da otooksidasyonun ileri aşamasını yarıda kesen serbest radikal alıcılarıdır. Bir lipit (alkil) radikali (R[•]) oluşturmak için, doymamış yağdan α -metilenik hidrojen ayrıldığında otooksidasyon başlar⁹⁵.



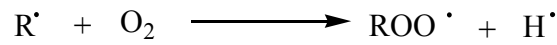
Oluşan lipit radikali çok reaktiftir, ilerleyen aşamalarda peroksi radikali (ROO[•]) oluşturmak için oksijenle reaksiyona girer⁹⁵.



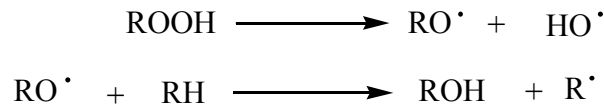
Reaksiyonun ilerleyen aşamalarında peroksi radikalleri lipitle reaksiyona girerek hidroperoksit ve yeni bir kararsız lipit radikali oluştururlar⁹⁵.



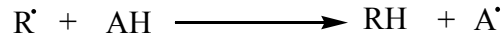
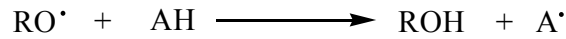
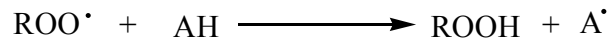
Daha sonra bu lipit radikali başka peroksi radikali oluşturmak üzere oksijen ile reaksiyona girecektir. Bu oksidatif mekanizma kendiliğinden katalizlenir ve böylece otooksidasyon devam eder⁹⁵.



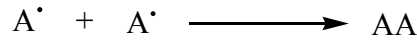
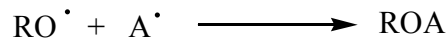
Hidroperoksitler (ROOH) kararsızdırlar ve bozunarak radikaller oluştururlar. Bu da reaksiyonun hızlanmasına neden olur⁹⁵.



Birincil antioksidanlar (AH) lipid radikali (R^\bullet) ve peroksi radikalleriyle (ROO^\bullet) reaksiyona girerler ve onları daha kararlı, radikal olmayan ürünlere çevirirler. Birincil antioksidanlar lipid radikallerine hidrojen atomları verirler ve lipid türevleri ile antioksidan radikaller meydana getirirler (A^\bullet). Hidrojen verici olarak birincil antioksidanlar peroksi radikallerine lipidlerden daha çok ilgi gösterirler. Bu yüzden otooksidasyon reaksiyonunda oluşan peroksi (ROO^\bullet) ve oksid (RO^\bullet) serbest radikalleri birincil antioksidanlar tarafından giderilirler. Antioksidanlar lipid radikalleriyle doğrudan da etkileşebilirler⁹⁵.



Hidrojenin verilmesiyle oluşan antioksidan radikali lipidlerle çok az reaksiyona girer. Oksijen veya lipidlerle antioksidan radikalinin reaksiyonu çok yavaş olduğundan reaksiyon hızı azalır. Kararlı rezonans hibritler oluşturmak için fenol halkasının çevresindeki ortaklanmamış elektronun delokalizasyonu ile antioksidan radikali kararlı hale getirilir. Antioksidan radikaller peroksi, oksid ve diğer antioksidan radikaller ile sonlandırma reaksiyonlarına katılabilme yeteneğine sahiptirler⁹⁵.



Katı ve sıvı yağlarda antioksidan dimerlerin oluşumu göze çarpar ve bu oluşum fenolik antioksidan radikallerin kolayca sonlandırma reaksiyonlarına uğradığını gösterir. Antioksidan dimerler, radikal olmayan şekillerinde ne kadar uzun süre kalırlarsa otokatalitik serbest radikal zincir mekanizmasını o kadar etkili şekilde durdururlar⁹⁵.

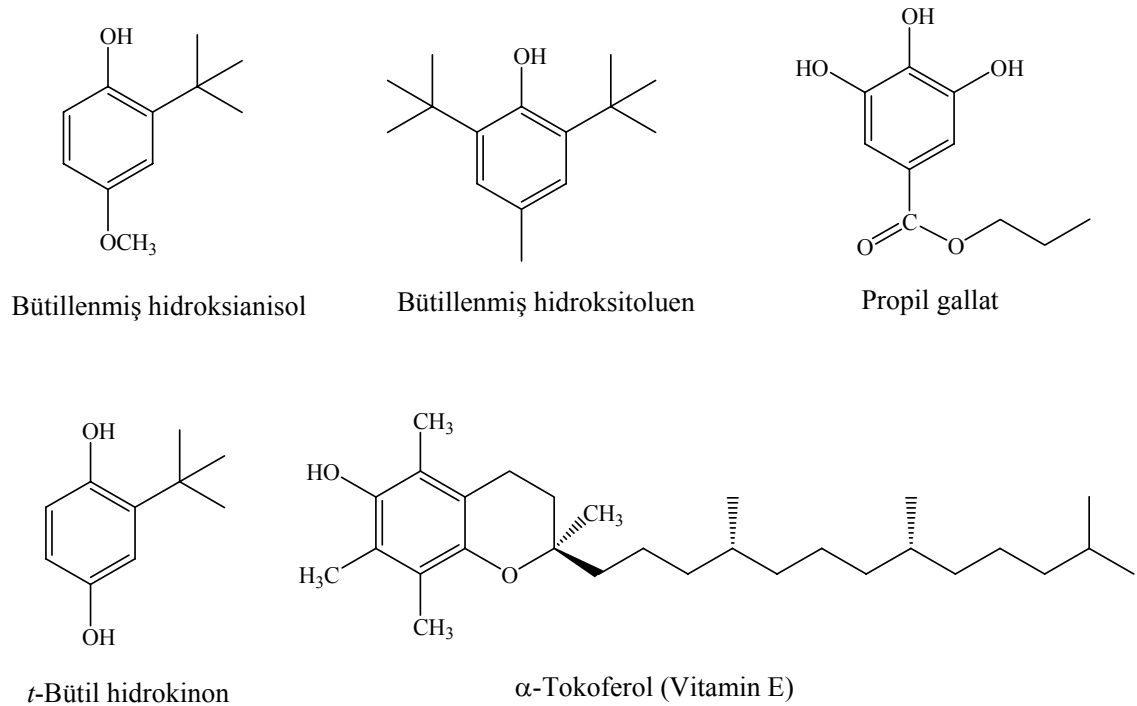
Otooksidasyonun başlangıcından önce, antioksidanların tüketildiği ve serbest radikallerin oluştuğu indüksiyon zamanı olmalıdır. Bu yüzden birincil antioksidanlar,

otoksidasyon basamakları meydana gelmeden oksidasyonun indüksiyon ve başlangıç aşamalarında ilave edilirlse daha etkili olurlar⁹⁵.

Radikal gidermeye ilaveten birincil antioksidanlar, hidroperoksitleri hidroksi bileşiklerine indirgeyebilirler. Bununla beraber birincil antioksidanların esas antioksidatif mekanizması radikal gidermedir⁹⁵.

Birincil antioksidanlar, çeşitli halka süstitüsyonlarına sahip mono veya polihidroksi fenollerdir. Fenoldeki hidroksil grubuna göre orto ve para konumuna elektron veren grupların süstitüsyonundan oluşan indüktif etki bileşiğin antioksidan aktivitesini artırır. Fenolik antioksidanlar, hidroksil grubunun elektron yoğunluğunu arttırarak onun reaktifliğini azaltır. Hidroksil grubuna göre para konumunda etil veya bütül grupların süstitüsyonu, antioksidan aktiviteyi arttırır. Bununla beraber sterik engelleme nedeniyle para pozisyonlardaki uzun zincir veya dallanmış alkil gruplarının varlığı antioksidan etkiyi azaltabilir. Orto pozisyonlardaki dallanmış alkil gruplarının süstitüsyonları kararlı rezonans yapılar oluşturarak fenolik antioksidanın etkisini arttırırlar ve antioksidan radikalinin reaksiyonlara katılma yeteneğini azaltırlar⁹⁵.

Sentetik birincil antioksidanlara örnek olarak bütillenmiş hidroksianisol, bütillenmiş hidroksitoluen, propil gallat ve *t*-bütül hidrokinon verilebilir (Şekil 2.1). Tokoferoller ve karotenoitler doğal kaynaklı birincil antioksidanlardır⁹⁵.



Şekil 2-1: Birincil antioksidanlar

2.4.1.2. İkincil Antioksidanlar

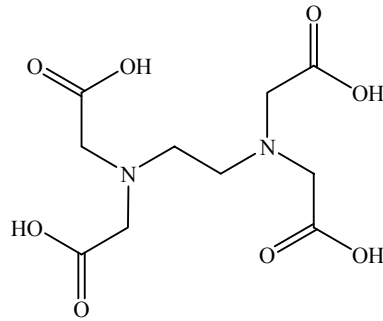
İkincil (tip-2 veya koruyucu antioksidanlar) antioksidanlar çok çeşitli reaksiyon mekanizmalarına sahiptirler. Bu antioksidanlar oksidasyon hızını yavaşlatırlar, fakat serbest radikalleri daha kararlı ürünlere dönüştürmezler. İkincil antioksidanlar prooksidan metallere kelat yapabilirler ve onları deaktive edebilirler, hidroksiperoksitlerin radikal olmayan türlere parçalanmasını sağlayabilirler, singlet oksijeni deaktive edebilirler, ultraviyole radyasyonu absorbe edebilirler veya oksijen giderici olarak davranabilirler. Bu antioksidanlar, genellikle birincil antioksidanların aktivitesini arttırlar. Sitrik asit, askorbik asit, askorbil palmitat, lesitin, tartarik asit, EDTA ve β -karoten ikincil antioksidanlara örnek olarak verilebilir⁹⁵ (Şekil 2.2).

İkincil antioksidanlar en önemli etki mekanizmalarına göre başlıca üç gruba ayrılabilirler⁹⁵:

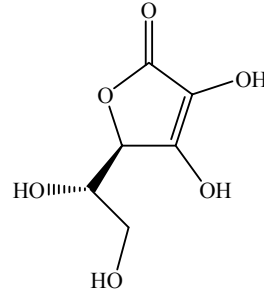
a) Kelat Yapıcılar: Sitrik asit, fosforik asit, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), tartarik asit

b) Oksijen Gidericiler ve İndirgeme Ajanları: Askorbik asit, askorbil palmitat, eritorbik asit, sodyum eritorbat, sülfidler.

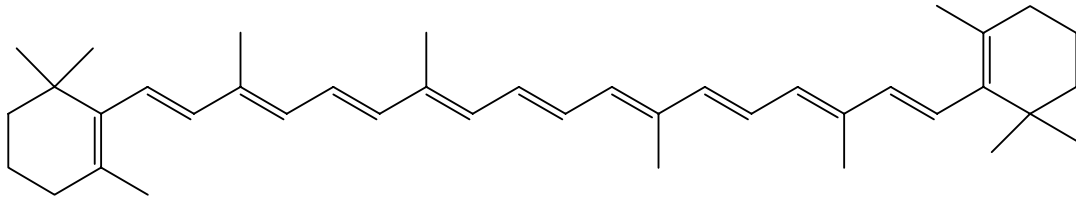
c) Singlet Oksijen Gidericiler: Karotenoitler (β -Karoten, likopen ve lutein)



Etilendiamintetraasetikasit (EDTA)



Askorbik asit

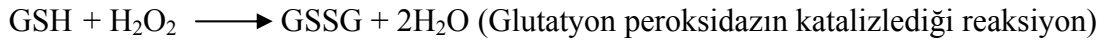


β -Karoten (A vitamini)

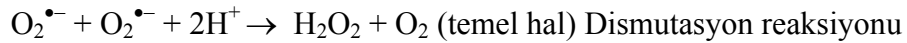
Şekil 2-2: İkincil Antioksidanlar

Antioksidanlar, enzimler (Katalaz, Glutasyon peroksidaz, Süperoksit Dismutaz (SOD)), doğal kaynaklı ve sentetik antioksidanlar olarak da sınıflandırılabilirler⁹⁶.

Katalaz ve glutasyon peroksidaz enzimleri hidrojen peroksidin uzaklaştırılmasında görev alırlar.



SOD, dismutasyon reaksiyonunu katalizler ve süperoksidin uzaklaştırılmasını sağlar;



2.4.2. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

2.4.2.1. Folin Ciocalteu Fenol Reaktifiyle Toplam Fenolik Miktar Tayini Yöntemi

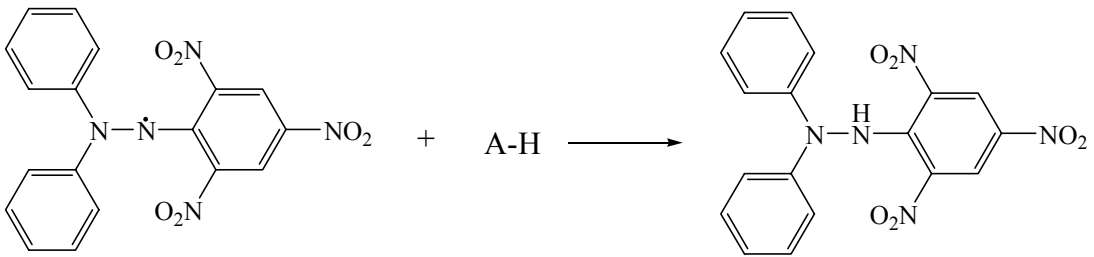
Bu yöntem toplam fenolik miktarı için geliştirilmiştir^{97,98}. Fenolik bileşikler, Folin Ciocalteu Fenol Reaktifi ile sadece alkali ortamda reaksiyon verdiklerinden sodyum karbonat ile ortamın pH'sı yaklaşık 10'a ayarlanır. Fenolik antioksidanların varlığında Mo(VI)'in indirgenmesiyle renk sarıdan maviye döner. Oda şartlarında 2 saat kadar bekletildikten sonra absorbans 760 nm dalga boyunda ölçülür.

2.4.2.2. β -Karoten Renk Açılım Yöntemi

Bu yöntemde, önceden oksijen ile doyurulmuş suya linoleik asit ve β -karoten koyulur. Linoleik asitten oluşan radikaller ($\cdot\text{OH}$, $\cdot\text{OR}$, $\cdot\text{OOR}$, vs.), 490 nm'de maksimum absorbans veren β -karoteni parçalayarak renginin açılmasına neden olurlar. Antioksidanlar, oluşan radikalleri söndürerek β -karotenin renginin açılmasını önlerler^{99,100}. Bu yöntem hidrofilik, hidrofobik ve emülsiyonların oksidasyonunu ölçmek için kullanılır¹⁰⁰.

2.4.2.3. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi

Bu yöntem, antioksidanların serbest radikali giderme kabiliyetlerini belirleyen hızlı, pratik ve güvenilirliği yüksek olan bir yöntemdir. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) kararlı yapıda bir azot radikalidir. DPPH'nin etanoldeki çözeltisi mor renklidir ve 517 nm'de absorbansı ölçülür. DPPH çözeltisine antioksidanların ilave edilmesiyle söz konusu dalga boyundaki absorbansta düşüş meydana gelir ve çözeltinin rengi sarıya doğru kayar. DPPH ve antioksidan madde arasındaki reaksiyon Şekil 2.3'de gösterilmiştir¹⁰¹.



Şekil 2-3: DPPH Molekülünün Antioksidan Madde ile Reaksiyonu

Bu yöntemin olumsuz yönlerinden birisi 517 nm'de absorpsiyon yapan karotenoidler gibi bazı maddelerin analizinin güç olmasıdır. Bazı antioksidan maddeler, sterik engellemeden dolayı DPPH ile reaksiyona yavaş girerler veya giremezler. Bu nedenle antioksidan kapasiteyi tam anlayabilmek için bu testin yanında başka testler de yapılmalıdır.

2.4.2.4. ABTS Yöntemi

Bu yöntemde 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat) (ABTS) $K_2S_2O_8$, MnO_2 , H_2O_2 gibi güçlü yükseltgenler ile tepkimeye sokulup $ABTS^{+\bullet}$ oluşturulur. Bu radikal 2 gün karanlıkta oda sıcaklığında kararlıdır. 660, 734 ve 820 nm dalga boylarında maksimum absorbans veren radikal, konjuge çifte bağlı antioksidanların aktivitesini ölçmede yararlıdır. Antioksidan ile tepkimeye sokulduğunda, $ABTS^{+\bullet}$ 'nin absorbansındaki düşme antioksidanın aktif olduğunu gösterir. Geliştirilen bu yöntemin en büyük avantajı hem hidrofilik hem de lipofilik sistemlerde kullanılabilmesidir¹⁰².

2.4.2.5. CUPRAC Yöntemi (Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi)

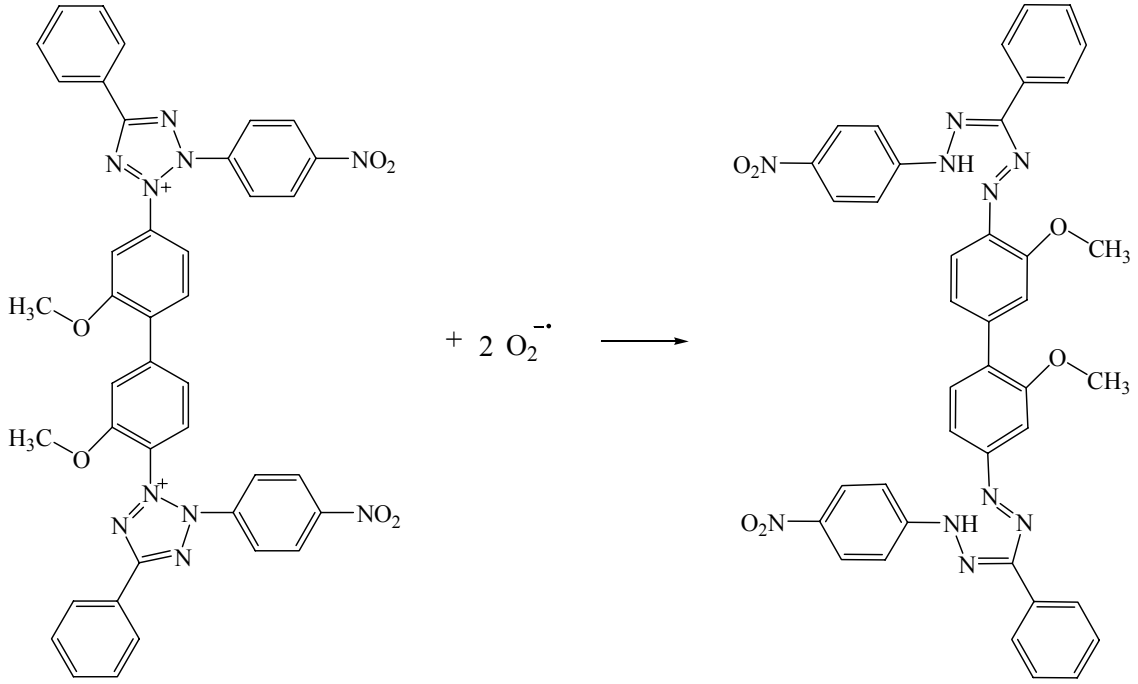
Bu yöntemde 2,9–dimetil–1,10–fenantrolin (Neokuproin) ve Cu (II) aynı ortama koyulur. Antioksidanın Cu (II)'yi indirgemesi sonucu oluşan Cu (I)'in Neokuproin ile yaptığı kompleks 450 nm dalga boyunda maksimum absorbands verir¹⁰³. Bu yöntemde absorbandsı yüksek çıkan maddeler antioksidan aktivite gösterirler. Bu yöntem hem hidrofilik hem de lipofilik sistemlere uygulanabilir, kolaydır ve pratiktir.

2.4.2.6. FRAP Yöntemi (Demir (III) İyonu İndirgeme Gücü)

FRAP yöntemi, demir (III)'ün indirgenmesi yoluyla antioksidanların aktivitelerinin belirlenmesine dayanır. Düşük pH'larda Fe (III), tripiridiltriazin (TPTZ) ile reaksiyona girerek [Fe(III)-TPTZ] kompleksini oluşturur. Fe (III)'ün antioksidan tarafından indirgenmesiyle [Fe(II)-TPTZ] kompleksi meydana gelir, 593 nm'de maksimum absorbands veren bu kompleksin rengi koyu mavidir¹⁰⁴.

2.4.2.7. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi

pH=8'e ayarlanmış tampon ortamında nikotinamitadeninükleotit (NADH) ile fenazinmetasülfat (PMS) arasındaki tepkime sonucu açığa çıkan süperoksit anyon radikalının ($O_2^{\bullet-}$), nitroblutetrazolyum (NBT) boyasının rengini gidermesine dayanan bir yöntemdir. Süperoksit, NBT ile reaksiyona girdiğinde önce monoformazon sonra diformazon oluşur. NBT boyası 560 nm dalga boyunda maksimum absorbands vermezken diformazon bu dalga boyunda yüksek absorbands vermektedir (Şekil 2.4). Süperoksit anyon radikali enzimlerle de üretilebilmektedir. Örneğin, ksantin oksidaz varlığında oksijenle doyurulmuş suda hipoksantin, ürik asitin yanı sıra $O_2^{\bullet-}$ 'i de üretmektedir. Antioksidanlar oluşan $O_2^{\bullet-}$ 'i gidererek NBT boyasının 560 nm'deki absorbandsında azalma sağlarlar. Absorbandtaki düşüşün fazla olması antioksidanın $O_2^{\bullet-}$ 'i çok iyi giderdiğini göstermektedir¹⁰⁵.



Şekil 2-4: NBT'den Diformazon Oluşumu

2.4.2.8. Ferrisiyanür İndirgeme Gücü Yöntemi

pH'ı 6.6 olan fosfat tamponuyla hazırlanmış $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, antioksidan madde ile birlikte inkübasyona tutulduktan sonra asitlendirilir. Trikloroasetik asit ile düşük pH sağlandıktan sonra Fe (III) ile muamele edilir. Oluşan Prusya mavisi rengindeki $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$ kompleksinin 700 nm'de absorbanısı okunur. Bu yöntemde absorbanısı yüksek çıkan maddelerin antioksidan aktivitesi de yüksektir¹⁰⁶.

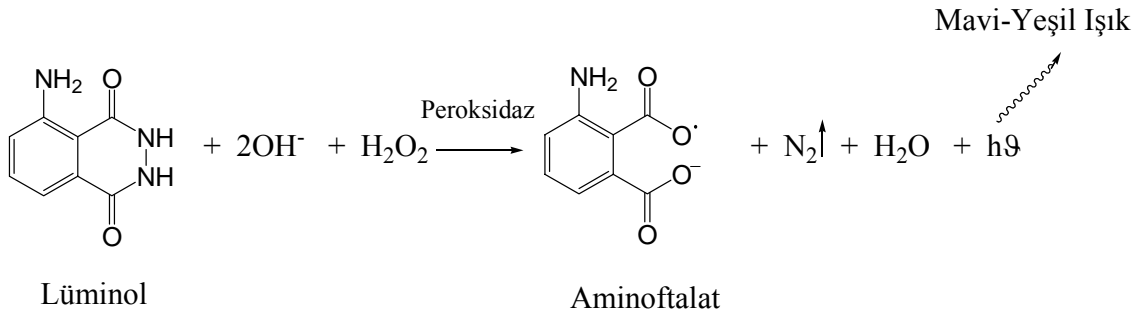
2.4.2.9. TRAP Yöntemi (Toplam Radikal Tutma Parametresi)

Bu yöntemde, plazma ve diğer biyolojik sıvılarda bulunan peroksitlenebilen maddelerden ve 2,2'-azobis (2-amidopropan) dihidroklorürden (AAPH) meydana gelen peroksil radikalleri kullanılır. Plazmaya AAPH'ün ilavesinden sonra, yükseltgenebilen maddelerin oksidasyonu, reaksiyon sırasında tüketilen oksijenin ölçülmesiyle belirlenir. Plazma içerisinde bulunan antioksidan maddeler oksidasyon reaksiyonunun yavaş gerçekleşmesine neden olurlar. Reaksiyonun gecikme zamanı ölçülerek plazmadaki antioksidan kapasite hesaplanır¹⁰⁷. Wayner ve ark. daha sonraki çalışmalarında bu

yöntemi, peroksil radikalleri tarafından oksidasyon başlatılmadan önce ortama linoleik asit ilave ederek geliştirmişlerdir¹⁰⁸.

2.4.2.10. Luminol Yöntemi (Kemilüminesans)

AAPH'dan üretilen peroksil radikallerinin lüminolü yükseltgemesi sonucu ışık saçan luminol radikalleri meydana gelir. Yayılan ışık lüminometre ile ölçülür. Antioksidanlar kemilüminesans ışımalarının oluşumunu belli bir süre için engellerler. Gecikme zamanı bir örnekteki toplam antioksidan aktivitesi ile doğrudan orantılıdır¹⁰⁹. Lüminolü yükseltgeyen AAPH'den başka H₂O₂ veya perborat gibi yükseltgenler de kullanılmıştır¹¹⁰. Bu deneyde reaksiyonu daha çabuk gerçekleştirebilmek için horseradish peroksidaz katalizörü kullanılarak ışık yayılması hızlandırılmıştır. Ortama *p*-iyodofenol konulması ışığın emisyonunu daha şiddetli, uzun süreli ve kararlı hale getirmektedir. Bazık ortamda lüminolün hidrojen peroksit ile yükseltgenme reaksiyonu Şekil 2.5'de verilmiştir.



Şekil 2-5: Lüminolün Bazık Ortamda Yükseltgenme Reaksiyonu

2.4.2.11. Diklorofloresin-Diasetat Yöntemi

Bu yöntemde AAPH peroksil radikalini oluşturmak için kullanılırken 2,7-diklorodihidrofloresin diasetat (DCFH-DA) yükseltgenebilen substrat olarak kullanılmıştır. AAPH'dan oluşan peroksil radikali ile DCFH-DA arasındaki oksidasyon reaksiyonu sonucu oluşan diklorofloresin (DCF) floresans özellik gösterir¹¹¹. DCF 480 nm'de uyarılıp 526 nm'de emisyon yapar. 504 nm'de de absorpsiyon maksimumu gösterdiğinden hem floresans yöntemi hem de spektrofotometrik yöntem ile antioksidan aktivite tayinleri yapılabilir.

2.4.2.12. ORAC Yöntemi (Oksijen Radikalini Absorplama Kapasitesi)

Bu yöntemde peroksil radikalini oluşturmak için AAPH, hidroksil radikalini oluşturmak için Cu (II)-H₂O₂ ve yükseltgenebilen protein substratı olarak fikoeritrin kullanılmaktadır. Oluşturulan radikaller ile fikoeritrin arasındaki yükseltgenme reaksiyonu sonucunda, fikoeritrin floresansındaki zamana bağlı düşüş ölçülerek toplam antioksidan aktivite hesaplanmaktadır^{112,113}. Serbest radikal etkisini inceleyen ve miktar tayininde eğri altında kalan alan tekniği kullanılan bu yöntemde serbest radikalleri hem inhibe etme yüzdesi hem de inhibe etme süresi belirlenebilir.

2.4.2.13. Siklik Voltametri Yöntemi

Biyolojik sıvılarda veya doku homojenatlarındaki düşük molekül ağırlıklı antioksidanların toplam indirgeme güçlerini ölçen bir yöntemdir. Örnek hazırlandıktan sonra camsı karbon bir çalışma elektrot, Ag/AgCl'den oluşan referans elektrot ve platin telden oluşan yardımcı elektrot olmak üzere üç elektrotlu bir sistem içine yerleştirilir. Çalışma elektroduna sabit bir hızla (100 mV/dk) pozitif ve negatif potansiyeller uygulanmaktadır. Bu işlem sırasında potansiyel akım eğrisi (voltamogram) elde edilir. Örneğin indirgeme gücü, pik potansiyeli olan [Ep(a)] ve anodik akım olan (AC) ye bağlıdır. Ep(a) akımın yarı artışında ölçülür ve yarı dalga potansiyeli (E_{1/2}) olarak ifade edilir. Yarı dalga potansiyelinin düşük olması durumunda, analizlenen bileşiklerin çalışma elektroduna elektron verme yeteneği daha yüksektir. Ancak bazı antioksidanların camsı karbon elektroduna elektronları yeteri kadar verememeleri durumunda başka tip elektrotlarla çalışılması uygun olabilir. Örneğin, tiyol yapısındaki glutatyon, camsı karbon elektrodu ile tayin edilemediğinden bu elektrodun yerine Au/Hg elektrodunun kullanılması daha uygun olur¹¹⁴.

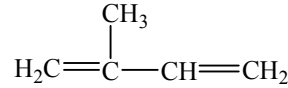
2.5. Terpenler

2.5.1. Dağılımları

Terpenler değişik yapısal özellikler gösteren ve yaygın olarak bulunan geniş bir doğal bileşikler sınıfıdır. Terpenler bitki dokularında genellikle serbest olarak, bazıları glikozitleri ya da organik asit esterleri halinde, bazıları da proteinlerle birleşmiş olarak bulunurlar. 10 ya da 15 karbonlu olan terpenler bitkilerden su buharı distilasyonu ile, daha fazla karbonlu olanlar ekstraksiyon yöntemleri ile ayrılırlar¹¹⁵.

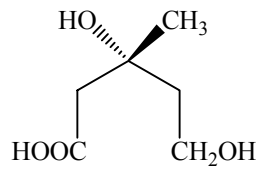
2.5.2. Oluşumları

Terpenlerin ana iskeleti beş karbonlu izopren birimlerinden oluşur. Yapısında izopren (Şekil 2.6) birimi bulunan bileşiklere izoprene benzeyen anlamına gelen izoprenoit ismi verilmiştir.



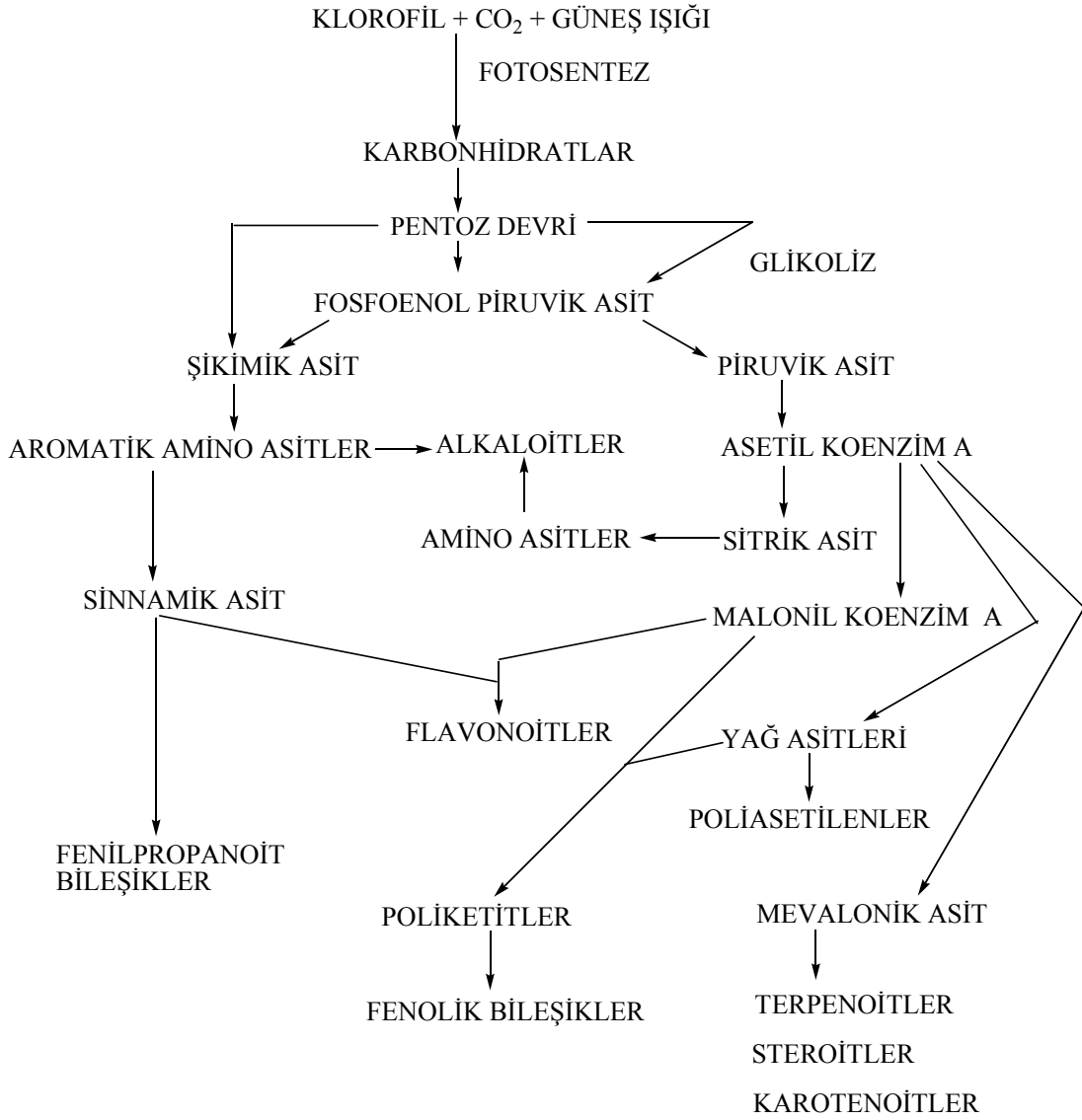
Şekil 2-6: İzopren

İzopren birimini oluşturan mevalonik asitin (Şekil 2.7) başlangıç maddesi asetil koenzim A'dır¹¹⁶.



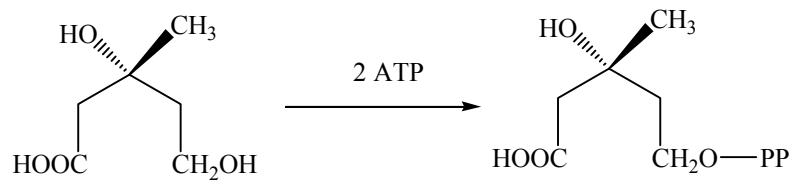
Şekil 2-7: Mevalonik Asit

Asetil coenzim A'nın ikincil metabolitlerin oluşumundaki rolü Şekil 2.8'de gösterilmiştir.



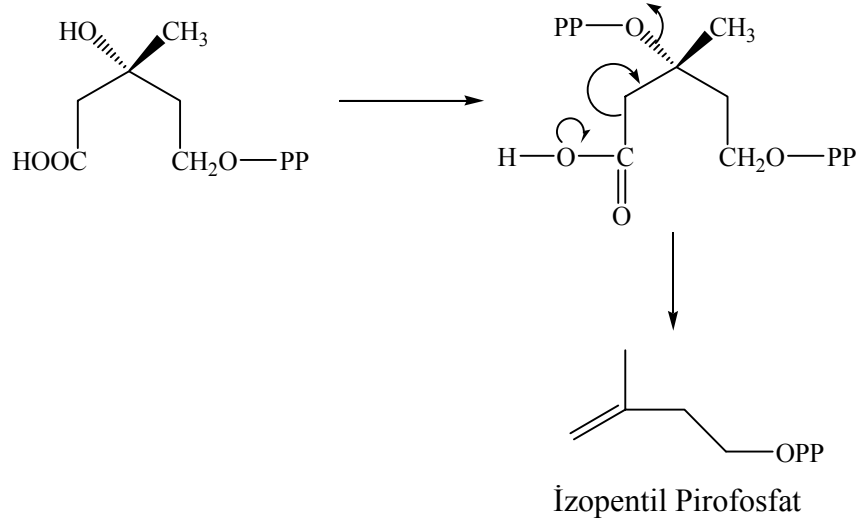
Şekil 2-8: İkincil Metabolitlerin Oluşumu

Mevalonik asitin 2 molekül ATP (adenozintrifosfat) ile fosforlanması sonucu mevalonik asit-5-pirofosfat oluşur (Şekil 2.9).



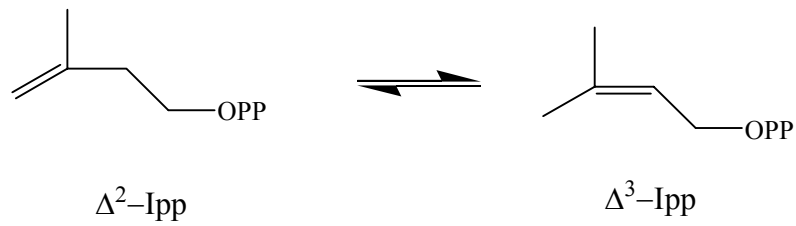
Şekil 2-9: Mevalonik Asit-5-Pirofosfat Oluşumu

Mevalonik asit-5-pirofosfatın tersiyer OH grubunun fosforlanması sonras dekarboksilasyon ve dehidrasyon ile izopentil pirofosfat oluşur (Şekil 2.10).



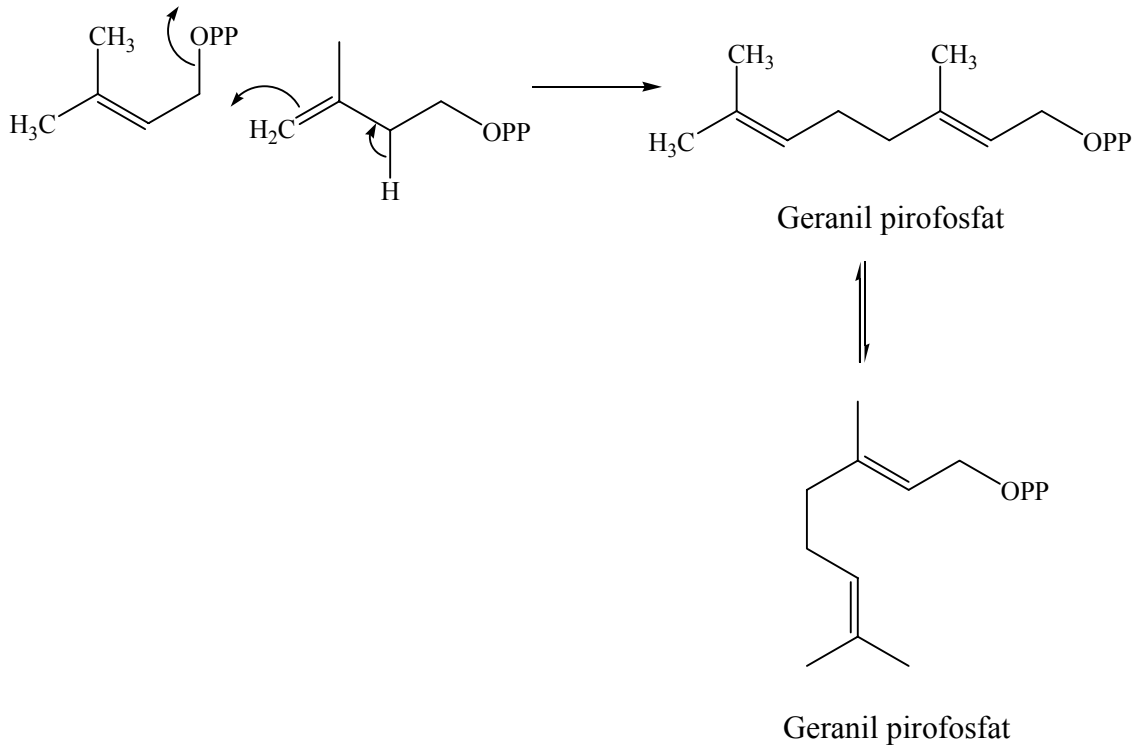
Şekil 2-10: İzopentil Pirofosfat Oluşumu

İzopentil pirofosfatın enzim ile izomerizasyonu sonucu dimetilallil ester oluřur¹¹⁷ (Şekil 2.11).



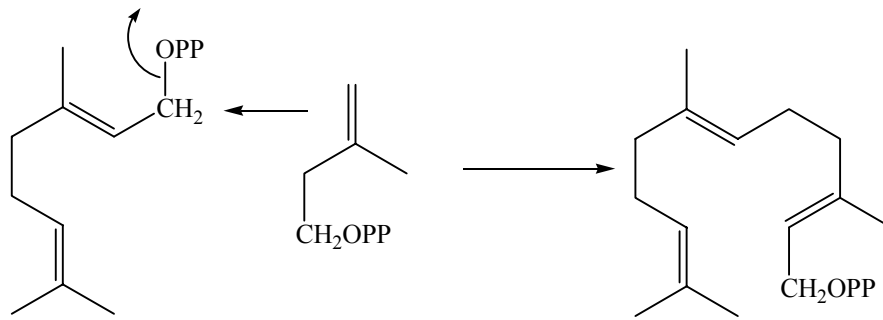
Şekil 2-11: İzopentil Pirofosfatın İzomerizasyonu

Bu iki izomerin kondenzasyonu geranil pirofosfatı oluşturur (Şekil 2.12). Bu madde monoterpenleri verir.



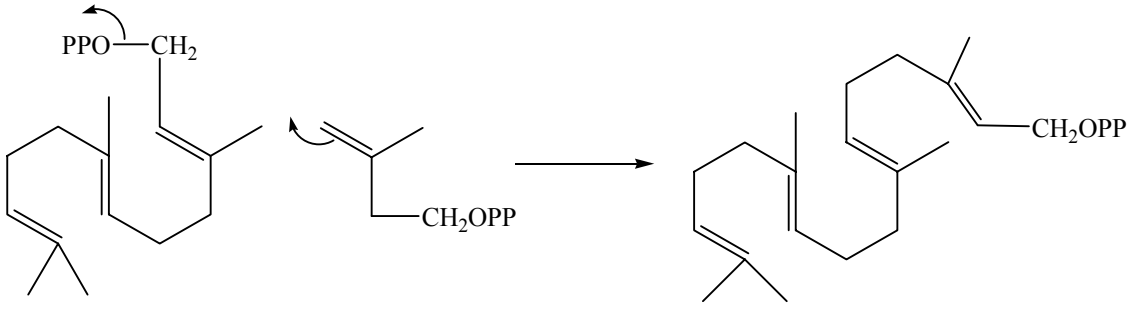
Şekil 2-12: Geranil Pirofosfatın Oluşumu

Geranil pirofosfatın izopentil pirofosfat ile kondenzasyonu farnesil pirofosfatı oluşturur (Şekil 2.13). Bu madde seskiterpenlerin geçiş bileşiğidir.



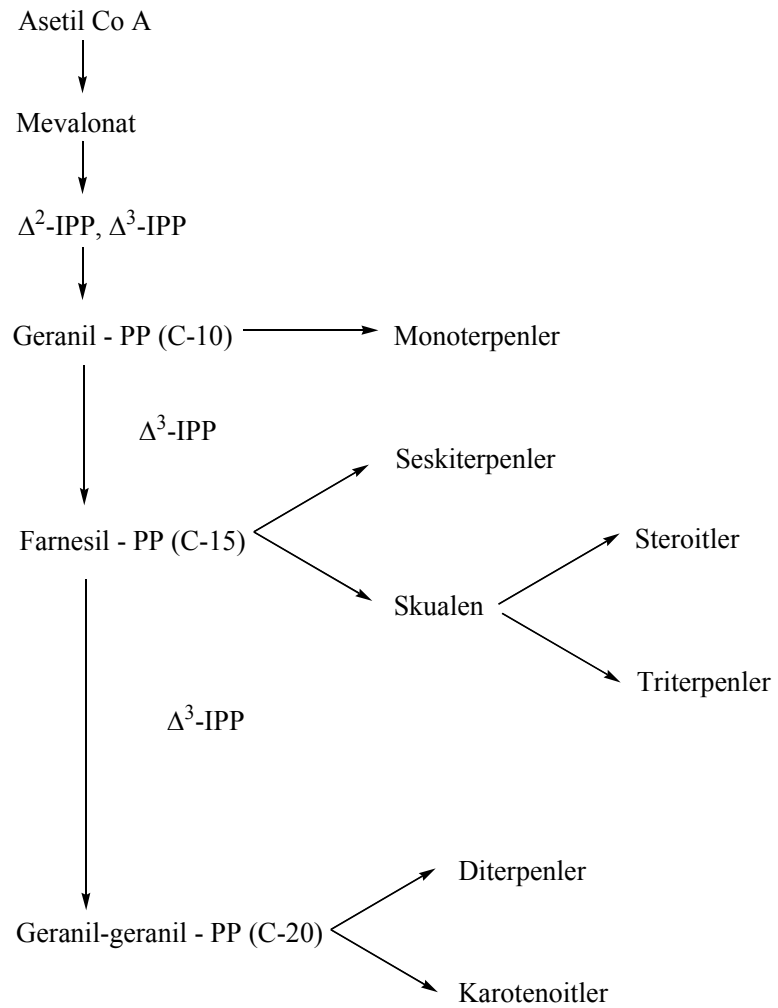
Şekil 2-13: Farnesil Pirofosfatın Oluşumu

Bu maddenin tekrar izopentil pirofosfat ile kondenzasyonu geranil-geranil pirofosfatı verir (Şekil 2.14). Geranil-geranil pirofosfat diterpenleri ve karotenoidleri oluşturur.



Şekil 2-14: Geranil-Geranil Pirofosfat Oluşumu

İzopentil, geranil ve farnesil pirofosfat moleküllerinin birbirleriyle değişik kondenzasyonları sonucu daha yüksek yapılı terpenler oluşur. Örneğin; triterpenler iki farnesil pirofosfatın, karotenoitler ise iki geranil-geranil pirofosfatın kondenzasyonu ile oluşmaktadır. Terpenlerin oluşumu Şekil 2.15’de gösterilmiştir.



Şekil 2-15: Terpenlerin Oluşumu

2.5.3. Terpenlerin Sınıflandırılmaları

İzopentil pirofosfat aktif bir olefin bileşimidir. İzopentil pirofosfat moleküllerinden iki, üç, dört, beş, altı ve sekizi birleşerek açık zincirli ya da halkalı terpenleri oluştururlar. Terpenlerin ana iskeletleri 5 karbonlu izopren (2-metil-1,3-butadien) moleküllerinden oluştuğundan sınıflandırılmaları izopren birimlerinin sayısına göre yapılır (Tablo 2.4). Ruzicka tarafından ortaya atılmış olan “İzopren Kuralına” göre bütün terpenlerin karbon iskeletleri izopren birimlerinin iki ya da daha fazlasının birleşmesiyle oluşmuştur¹¹⁸.

Tablo 2-4: Terpenlerin Sınıflandırılması

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

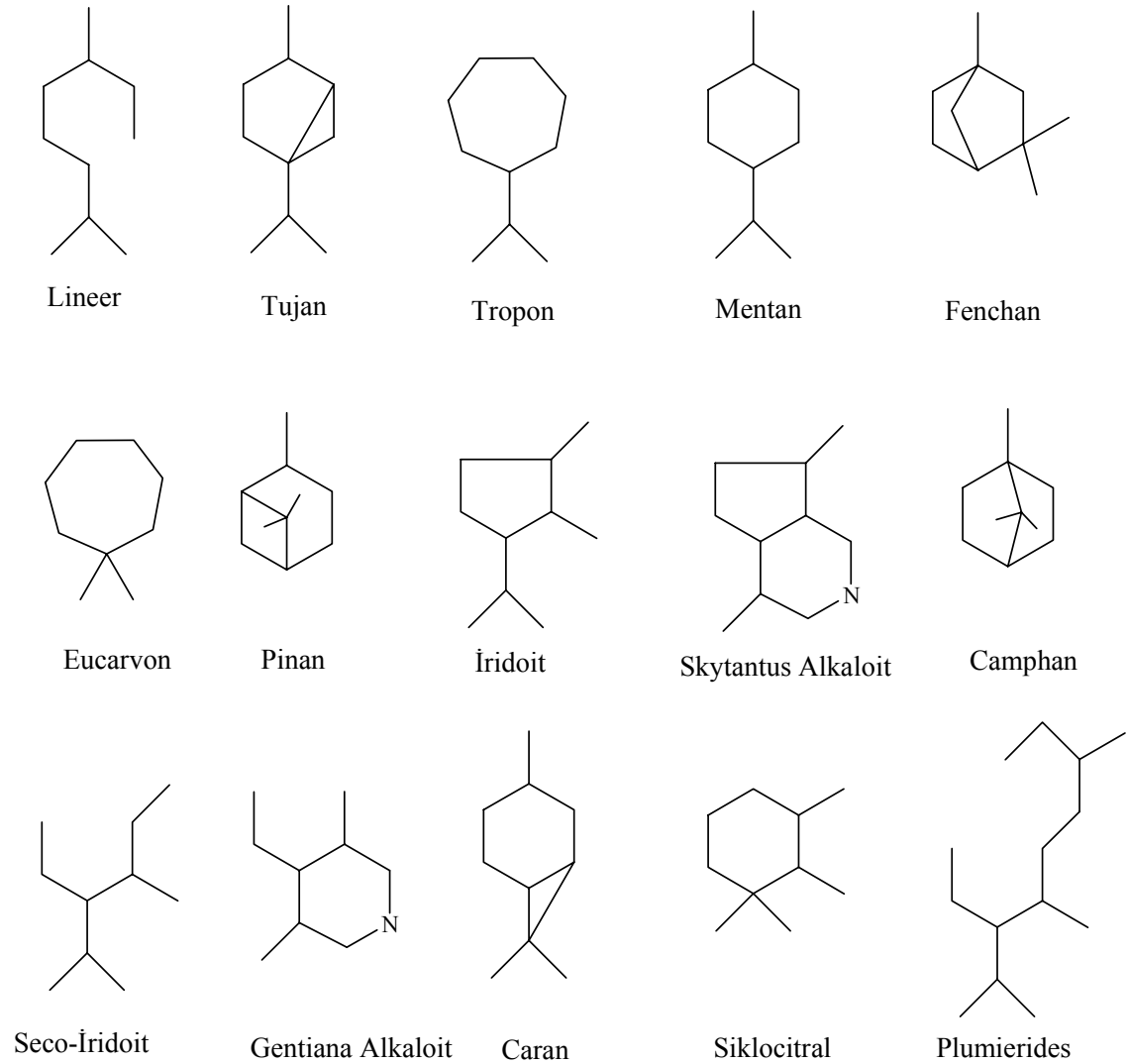
Terpenler fiziksel özelliklerine göre iki gruba ayrılırlar:

1. Uçucu Terpenler: Su buharı ile sürüklenebilen küçük moleküllü terpenlerdir ve uçucu yağlar olarak adlandırılırlar.

2. Uçucu Olmayan Terpenler: Büyük moleküllü terpenler; bazı seskiterpenler, diterpenler, sesterterpenler, triterpenler ve politerpenler.

2.5.3.1. Monoterpenler

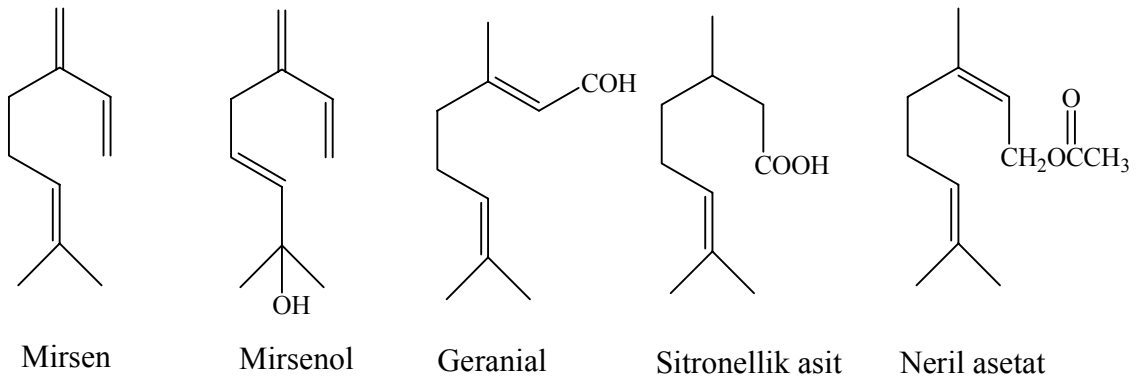
Monoterpenler 10 karbonlu olup bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan uçucu bileşiklerdir. İki izopren molekülünden meydana gelirler. *Trans*-geranil pirofosfat, *cis*-geranil pirofosfata dönüşerek siklik monoterpenlerin biyosentezinde ana bileşen rolünü oynar. Parfüm ve gıda maddelerinde koku verici olarak kullanılırlar, bazıları antifungal, antibakteriyal ve antikanser etkiye sahiptirler. Monoterpenler taşıdıkları ana iskelete göre sınıflandırılırlar, doğada çok bulunan bazı monoterpen iskeletleri Şekil 2.16'da gösterilmiştir¹¹⁹.



Şekil 2-16: Doğada Çok Bulunan Monoterpen İskeletleri

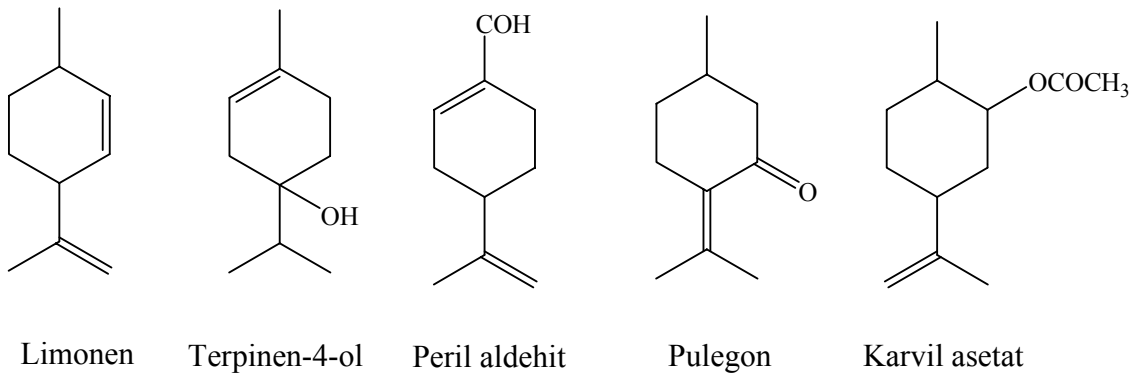
Çeşitli biyolojik aktiviteye sahip monoterpenler başlıca 3 grup altında toplanabilir:

- ❖ Asiklik monoterpenler: Düz zincirlidirler, çifte bağ taşıyabilirler. Asimetrik karbon atomları nedeniyle optikçe aktiftirler. Hidrokarbonlarına mirsen, alkollerine mirsenol, aldehytlarına geranial, asitlerine sitronellik asit ve esterlerine neril asetat örnek olarak verilebilir (Şekil 2.17).



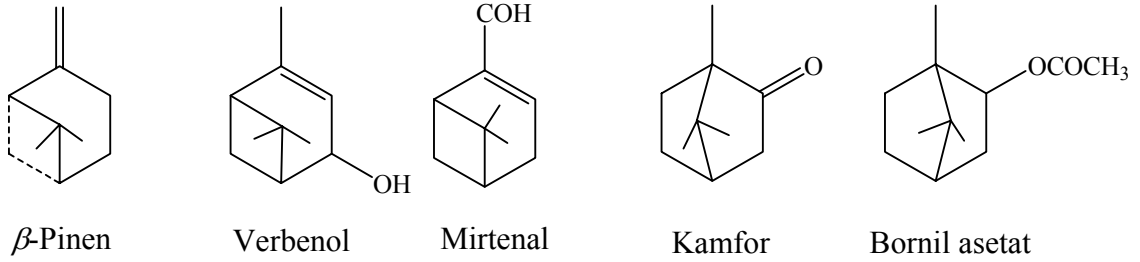
Şekil 2-17: Asiklik Monoterpenler

- ❖ Monosiklik monoterpenler: Çifte bağ ve bir halka taşırlar. Hidrokarbonlarına limonen, alkollerine terpinen-4-ol, aldehytlarına peril aldehit, ketonlarına pulegon, esterlerine karvil asetat örnek olarak verilebilir (Şekil 2.18).



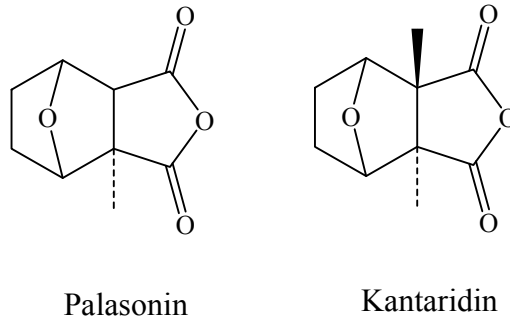
Şekil 2-18: Monosiklik Monoterpenler

- ❖ Bisiklik monoterpenler: İki halka ve çifte bağ taşırlar. Hidrokarbonlarına β -pinen, alkollerine verbenol, aldehitlerine mirtenal, ketonlarına kamfor, esterlerine bornil asetat örnek olarak verilebilir (Şekil 2.19).



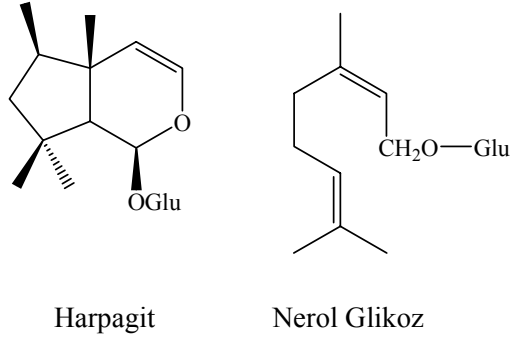
Şekil 2-19: Bisiklik Monoterpenler

- ❖ Trisiklik monoterpenler: Üç halka taşırlar, palasonin ve kantaridin örnek olarak verilebilir (Şekil 2.20).



Şekil 2-20: Trisiklik Monoterpenler

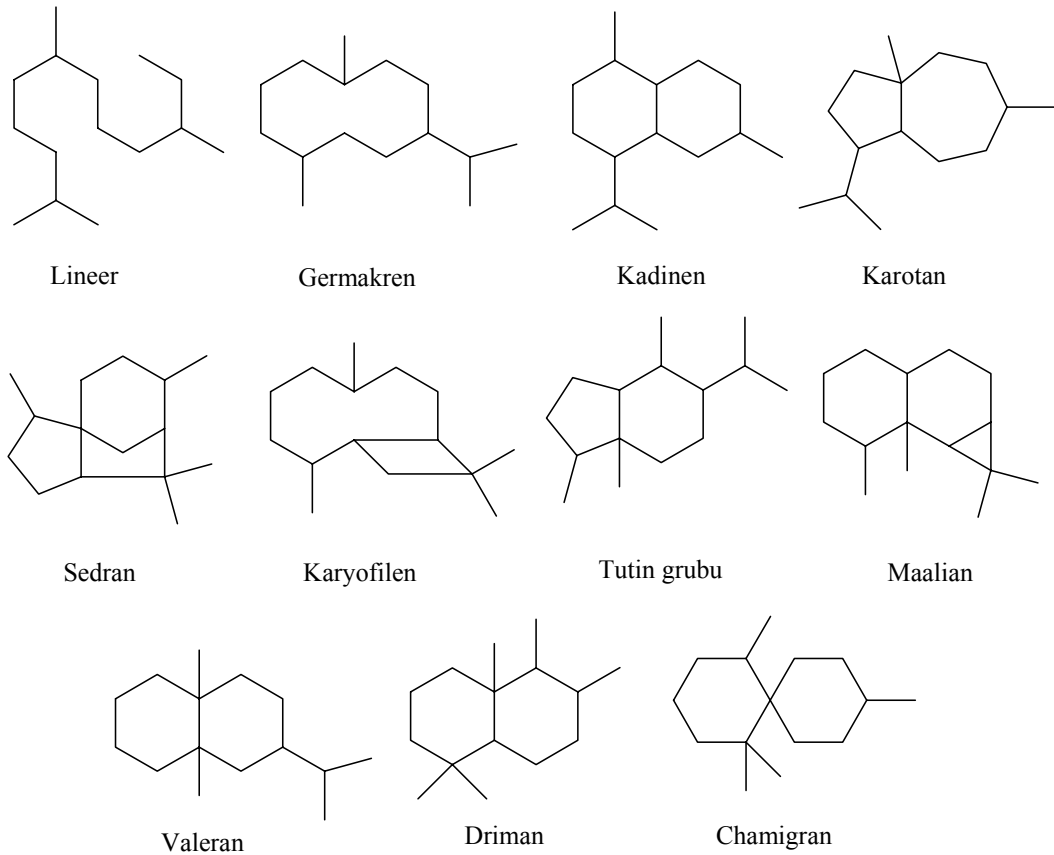
- ❖ Monoterpen glikozitlere örnek olarak harpagit ve nerol glikoz verilebilir (Şekil 2.21).



Şekil 2-21: Monoterpen Glikozitler

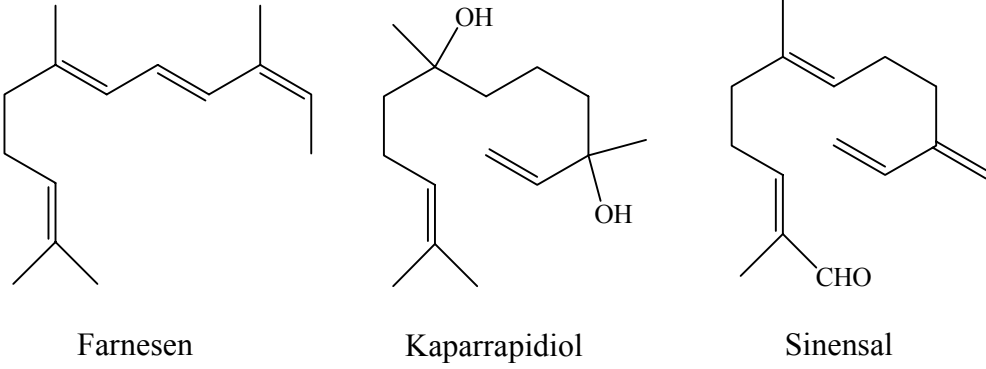
2.5.3.2. Seskiterpenler

Seskiterpenler, geranil pirofosfata bir IPP molekülünün katılmasıyla meydana gelen farnesil pirofosfattan oluşurlar. Farnesil pirofosfat *cis*- ve *trans*- formlarından hareketle 6 farklı monosiklik iskelet meydana getirir. Seskiterpenler taşıdıkları ana iskelete göre sınıflandırılırlar, doğada çok bulunan bazı seskiterpen iskeletleri Şekil 2.22’de gösterilmiştir¹¹⁹.



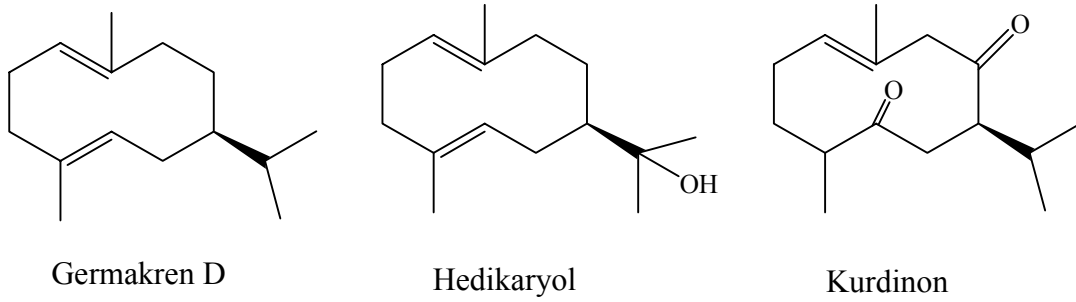
Şekil 2-22: Doğada Çok Bulunan Bazı Seskiterpen İskeletleri

- ❖ Asiklik seskiterpenler: Düz zincirlidirler ve çifte bağ taşırlar. Asimetrik karbon atomları nedeniyle optikçe aktiftirler. Hidrokarbonlarına farnesen, alkollerine kaparrapidiol ve aldehitlerine sinensal örnek olarak verilebilir (Şekil 2.23).



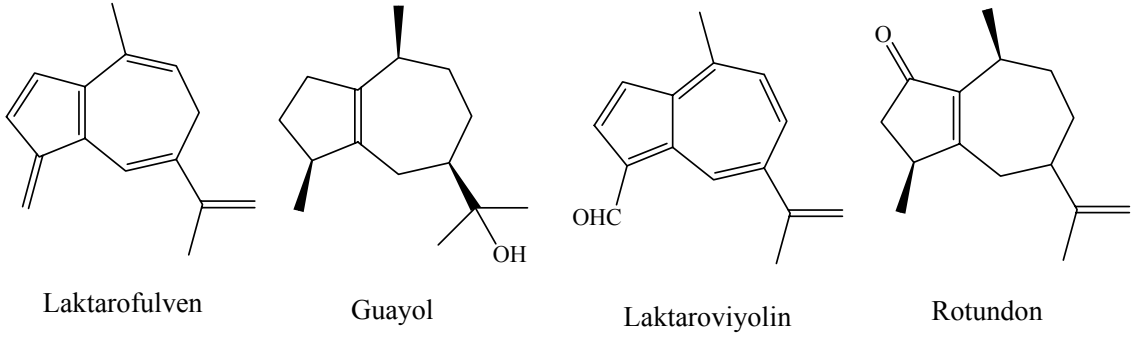
Şekil 2-23: Asiklik Seskiterpenler

- ❖ Monosiklik seskiterpenler: Bir halka ve çifte bağ taşırlar. Hidrokarbonlarına germakren D, hedikaryol, ketonlarına kurdinon örnek olarak verilebilir (Şekil 2.24).



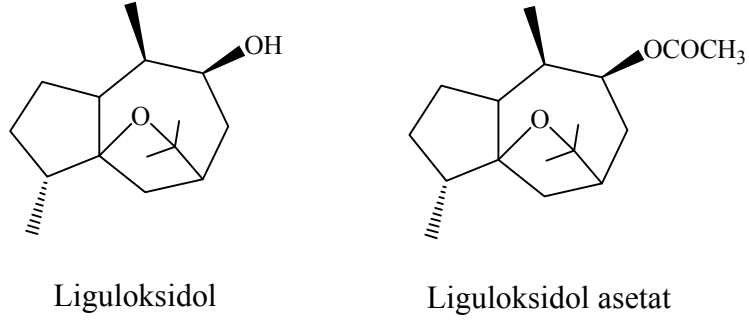
Şekil 2-24: Monosiklik Seskiterpenler

- ❖ Bisiklik seskiterpenler: İki halka ve çifte bağ taşırlar. Hidrokarbonlarına laktarofulven, alkollerine guayol, aldehitlerine laktaroviyoilin, ketonlarına rotundon örnek olarak verilebilir (Şekil 2.25).



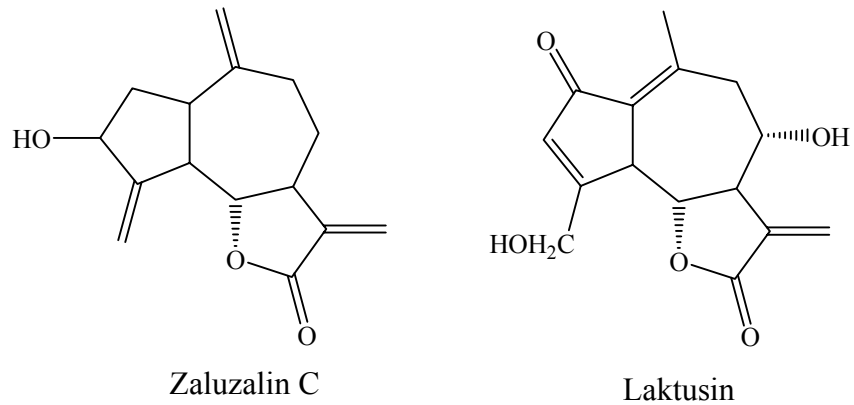
Şekil 2-25: Bisiklik Seskiterpenler

- ❖ Trisiklik seskiterpenler: Üç halka taşırlar, liguloksidol ve liguloksidol asetat örnek verilebilir (Şekil 2.26).



Şekil 2-26: Trisiklik Seskiterpenler

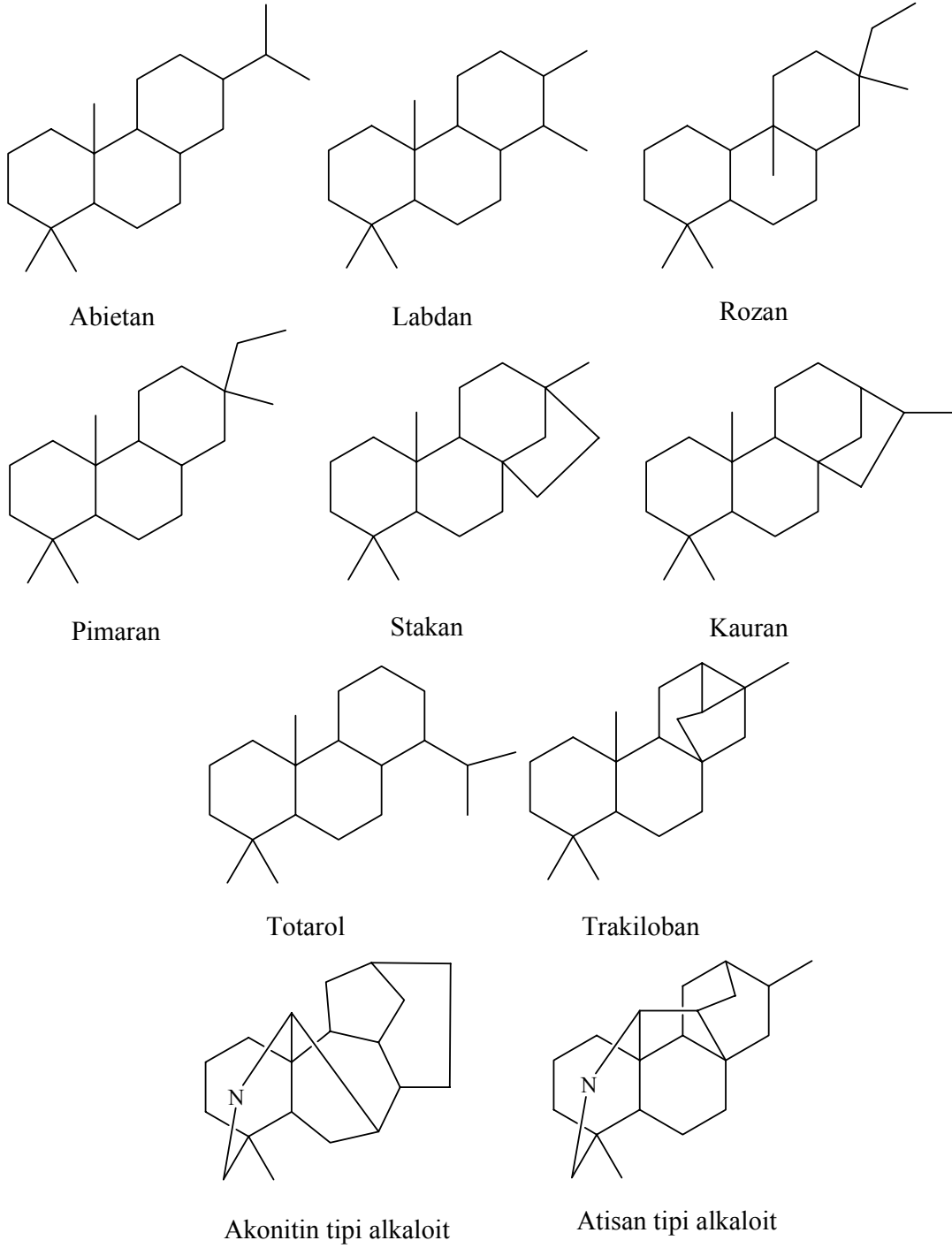
- ❖ Seskiterpen laktonlara örnek olarak zaluzalin C ve laktusin verilebilir (Şekil 2.27).



Şekil 2-27: Seskiterpen Laktonlar

2.5.3.3. Diterpenler

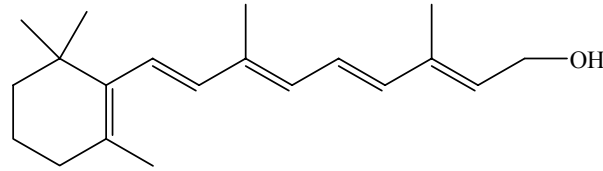
Dört izopren molekülünden meydana gelen, çeşitli farmakolojik etkilere sahip olan diterpenler 20 karbonlu olup bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan bileşiklerdir. Diterpenler taşıdıkları ana iskelete göre sınıflandırılırlar, doğada çok bulunan bazı diterpen iskeletleri Şekil 2.28’de gösterilmiştir.



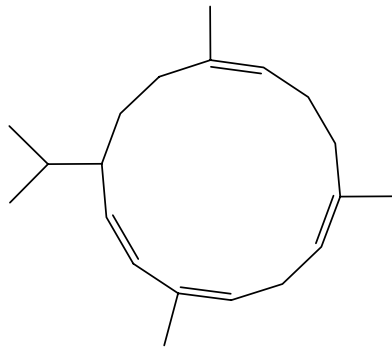
Şekil 2-28: Doğada Çok Bulunan Diterpen İskeletleri

Çeşitli biyolojik aktiviteye sahip diterpenlerin oksijenli türevleri kimyasal yapılarına göre şu şekilde gruplandırılabilir:

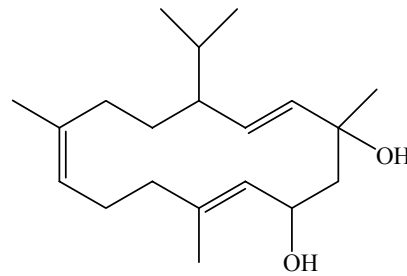
- ❖ Asiklik diterpenler: Doğada nadir olarak bulunurlar, geranilgeraniol, 1,3-*cis*-fitadien, fitol örnek olarak verilebilir¹¹⁹.
- ❖ Monosiklik diterpenler: En çok bilinenlerden biri A₁ vitaminidir (Retinol) (Şekil 2.29). Retinol bitkilerde bulunmaz, omurgalı hayvan organizmasında karotenoitlerin ikiye bölünmesi ile oluşan bir bileşiktir. *Pinus albicaulis* oleoresininin içeriğinde bulunan cembren ve tütünde bulunan 4,8,13-duvatrien-1,3-diol monosiklik diterpenlere örnek olarak verilebilir (Şekil 2.29)¹¹⁷.
- ❖ Bisiklik diterpenlere manool ve sclareol örnek olarak verilebilir (Şekil 2.30).
- ❖ Trisiklik diterpenlere karnosik asit örnek verilebilir (Şekil 2.30)¹¹⁷.
- ❖ Tetrasiklik diterpenlere stachen ve beyerol örnek olarak verilebilir (Şekil 2.30)¹¹⁷.
- ❖ Pentasiklik diterpenlere örnek olarak trakiloban (Şekil 2.30) verilebilir¹¹⁷.



Vitamin A₁ (Retinol)

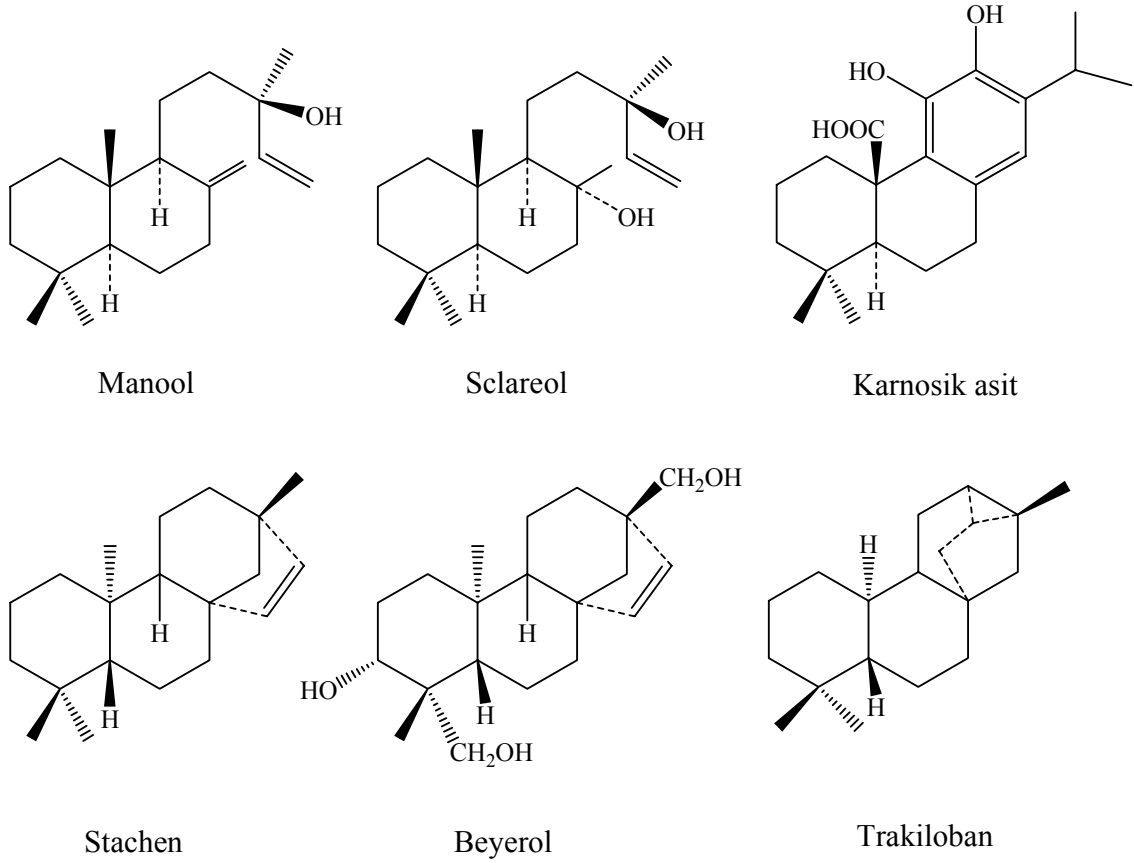


Cembren



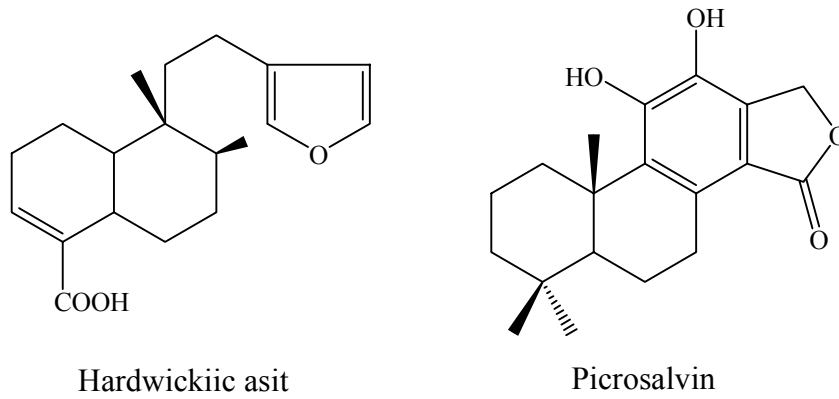
4,8,13-duvatrien-1,3-diol

Şekil 2-29: Monosiklik Diterpenler



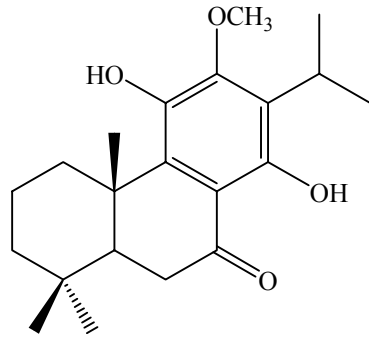
Şekil 2-30: Bisiklik, Trisiklik, Tetrasiklik ve Pentasiklik Diterpenler

- ❖ Lakton ya da furan halkası içeren diterpenlere örnek olarak hardwickiic asit ve picrosalvin verilebilir (Şekil 2.31)¹¹⁷.

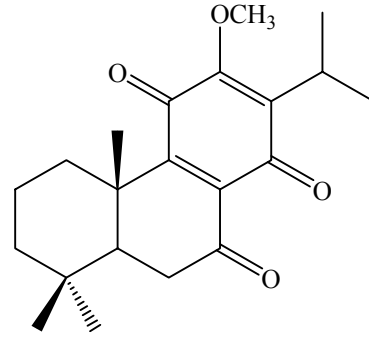


Şekil 2-31: Lakton ya da Furan Halkası İçeren Diterpenler

- ❖ Aromatik (inuroleanol) ve kinoit (7-okso-royleanon-12-metil eter) yapıdaki diterpenlere örnekler Şekil 2.32’de verildi¹²⁰.



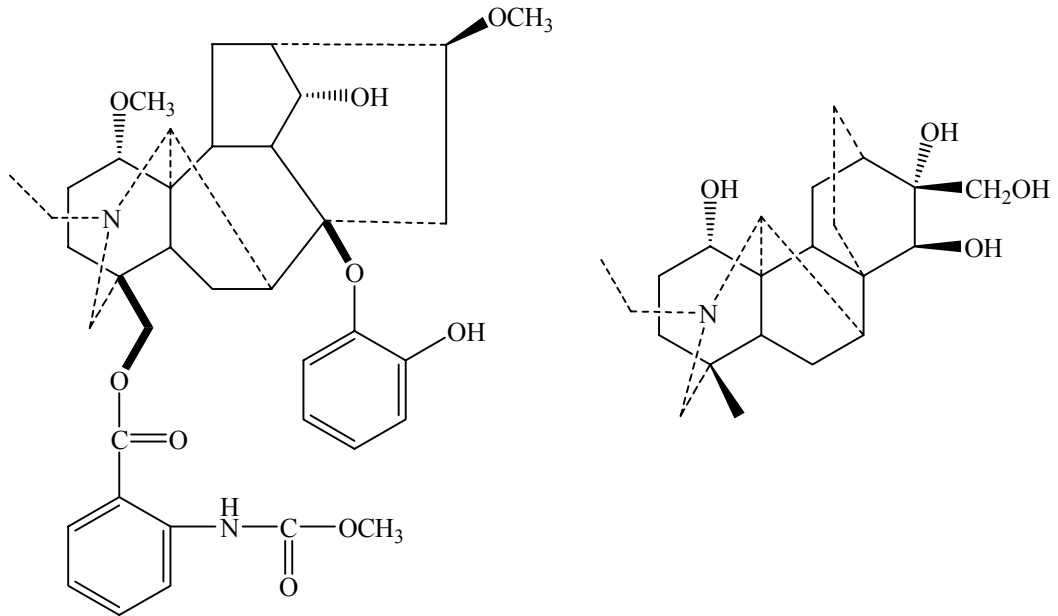
İnuroleanol



7-Okso-royleanon-12-metil eter

Şekil 2-32: Aromatik ve Kinoit Yapıdaki Diterpenler

- ❖ Bitkilerde diterpenlerin oksijenli türevlerinin yanında yan zincirde ya da halka içinde azot atomu ihtiva eden ve “Diterpen Alkaloitler” olarak bilinen 19 ya da 20 karbonlu bileşikler bulunmaktadır. Şekil 2.33’de diterpen alkaloitlere örnek verildi¹²¹.



Linearilobin

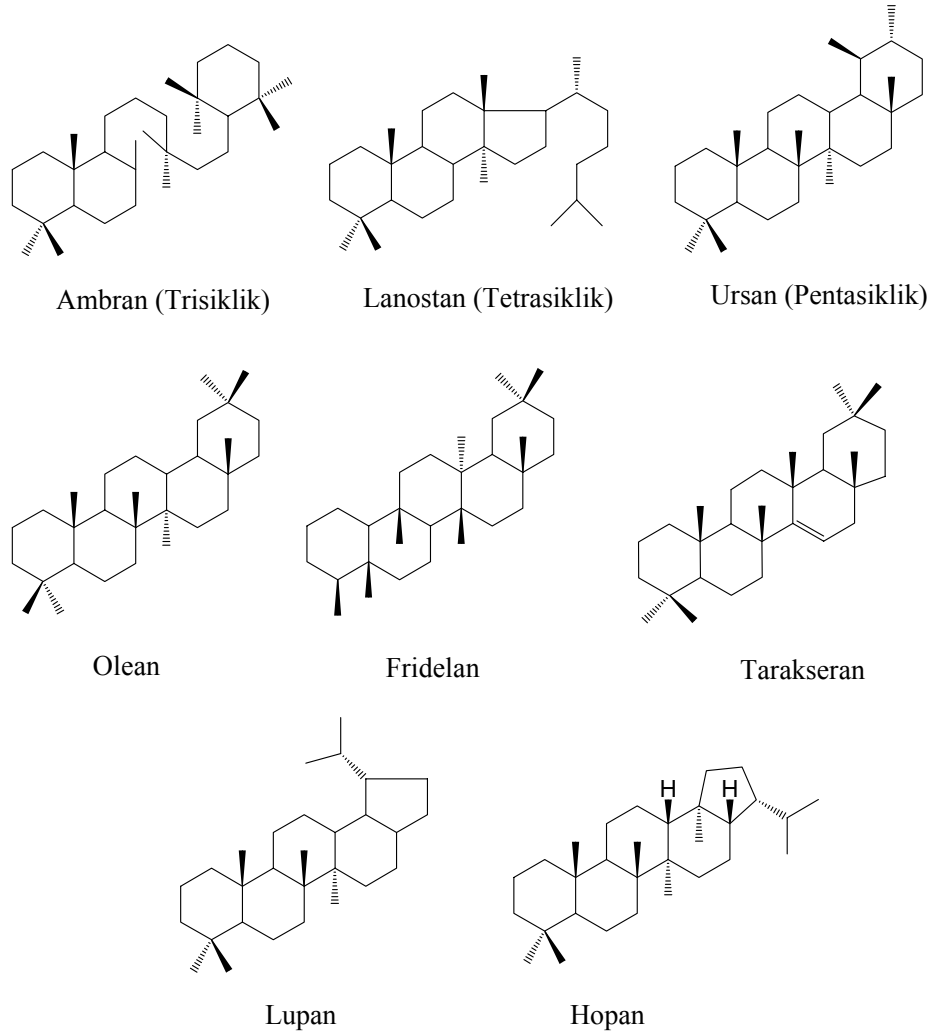
Cochlearenin

Şekil 2-33: Diterpen Alkaloitler

2.5.3.4. Triterpenler

Triterpenler altı izopren biriminden oluşmuş 30 karbonlu halkalı yapılardır. Bitkilerde serbest olarak bulunabildikleri gibi triterpenik saponinler olarak adlandırılan glikozitleri halinde de bulunabilirler. Serbest triterpenler, asit, alkol, aldehit, keton, epoksi ve lakton gruplarından bir ya da birkaçını bir arada taşıyabilirler. Doğal triterpenik bileşiklerin iskelet yapıları Şekil 2.34’de verilmiştir. Taşıdıkları halka sayısı ve fonksiyonel gruplar da isimlendirmede etkindir. Triterpenler taşıdıkları halka sayılarına göre trisiklik, tetrasiklik ve pentasiklik olarak üç grupta toplanmaktadırlar. Hiç süstitüent taşımazlarsa triterpen hidrokarbonlar olarak adlandırılırlar.

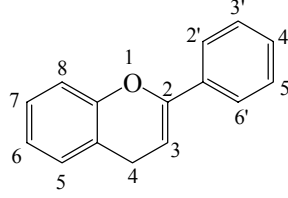
Triterpenlerin tanınmasında renk reaksiyonları önemlidir. Liebermann-Burchard en çok kullanılan renk reaksiyonudur. Mavi–yeşil renk triterpenlerin varlığını gösterirken, aynı reaksiyon steroidlerle yavaş yürür ve kızıl kahve bir renk verir¹¹⁸.



Şekil 2-34: Triterpen İskeletleri

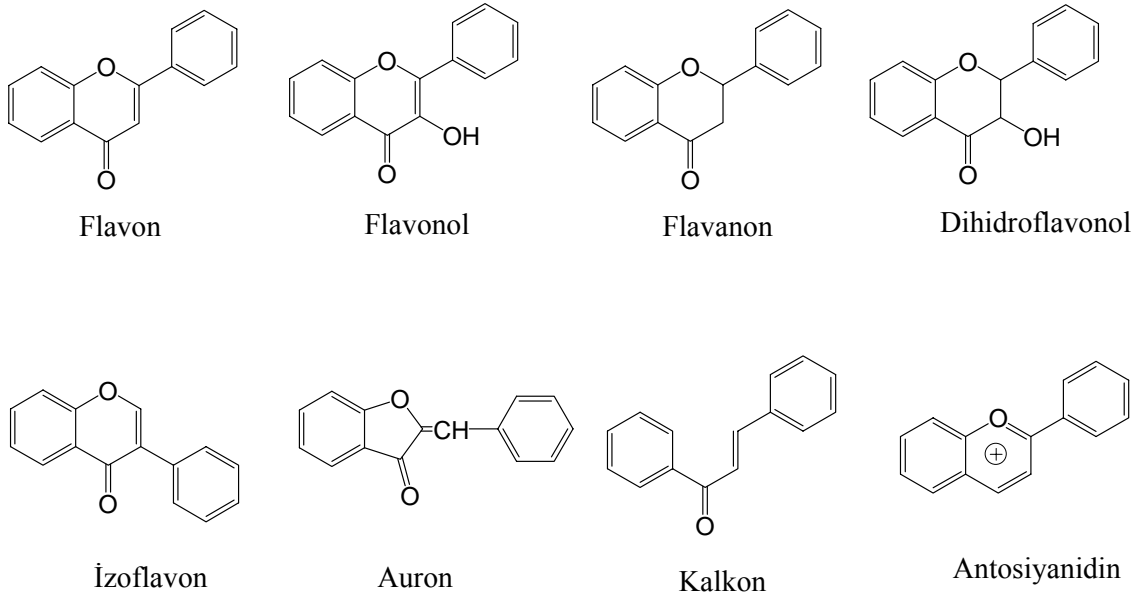
2.6. Flavonoitler

Flavonoitler 2-fenil benzopiran yapısındadır (Şekil 2.35).



Şekil 2-35: 2-Fenil Benzopiran

Flavonoitler bitkilerin fotosentezle oluşturdukları ve hayati gereksinimleri için kullandıkları karbonhidrat, amino asitler gibi birincil metabolitlerden türerler¹¹⁷. Biyosentez araştırmalarından elde edilen bulgulara göre fenil alanin gibi amino asitlerin enzimatik deaminasyonlarından oluşan sinamik asit türevleri malonil koenzim A ile kondanse olarak flavonoitleri oluştururlar. Karbon iskeleti C₆-C₃-C₆ şeklinde olan flavonoitlerin ana iskeletinde 15 karbon bulunur^{117,122}. Flavonoit iskeletleri Şekil 2.36'da gösterilmiştir.



Şekil 2-36: Flavonoit İskeletleri

Flavonoitler glikozit halinde de bulunabilirler. Glikozitleşme eter bağı ile (*O*-glikozitler) ya da karbon bağları arasında (*C*-glikozitler) oluşur. *O*-glikozitlerin yapılarının aydınlatılmasında kimyasal ve enzimatik hidrolizden yararlanır. Hidroliz sonucu şeker grubu aglikondan kopar ve hem aglikon hem de şeker grubunun yapıları belirlenir. Şekerin bağı bulunduğ yeri saptamak için önce glikoziti metillemek, asetillemek veya trimetilsillemek ve ardından hidrolizlemek gerekir. Serbest kalan hidroksil grubu şekerin bağı olduğu yeri belirleyecektir. *C*-glikozitleri ise enzim ya da asit ile hidrolizlenmezler, şekerin yeri UV kaymaları ile saptanır¹²³.

Tablo 2.5’de flavonoitlerin bazı belirteçlerle verdikleri renkler gösterilmiştir¹²⁴.

Tablo 2-5: Flavonoitlerin Renk Reaksiyonları

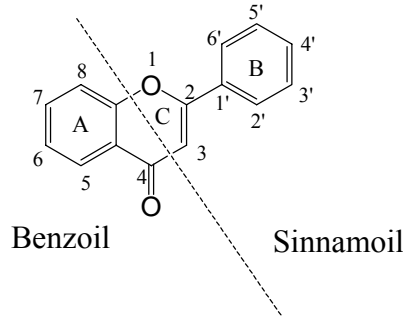
RENK REAKSİYONLARI				
Flavonoit	Sulu NaOH	Der.H₂SO₄	Magnezyum-HCl	Sodyum Amalgam sonra asit
Kalkon	Turuncudan kırmızıya	Turuncu, kırmızı veya parlak koyu kırmızı	-	Çok soluk sarı
Auron	Kırmızıdan mora	Kırmızıdan parlak kırmızıya	-	Çok soluk sarı
Flavanon	Soğukta sarıdan turuncuya, ısıtılınca koyu kırmızıdan mora	Turuncudan koyu kırmızıya	Kırmızı, parlak koyu kırmızı, menekşe, mavi	Kırmızı
Flavon	Sarı	Sarıdan turuncuya	Sarıdan kırmızıya	Kırmızı
Flavonol	Sarıdan turuncuya (havanın oksidasyonu ile kahverengi olur)	Sarıdan turuncuya (karakteristik fluoresans gösterir)	Kırmızıdan koyu parlak kırmızıya	Sarıdan soluk kırmızıya
İzoflavon	Sarı	Sarı	Sarı	Soluk kırmızı veya pembe

Renk reaksiyonları flavonoidlerin yapılarının belirlenmesinde önemli bir yere sahiptir. Flavonoid lekelerinin selüloz plaktaki rengi UV ışığı (366 nm) altında incelenir, sonra plak amonyak buharına tutulup UV ışığı (366 nm) altında lekelerin renginin değişip değişmediğine bakılır, NA belirteci püskürtülür ve UV ışığı altında yine lekelerin rengi incelenir (Tablo 2.6) ¹²⁵.

Tablo 2-6: Bazı Flavonoidlerin NH₃ buharı ve NA Belirteciyle Oluşturdukları Renkler

Flavonoidler	UV	UV/NH ₃	UV/NH ₃ /NA
5-OH açık, 3-OH yok ya da dolu, 3', 4'-OH yok ya da dolu	Koyu mor	Koyu mor	Koyu mor
5-OH açık, 3-OH yok ya da dolu, 4'-OH yok ya da dolu, 3'-OH açık	Koyu mor	Koyu mor	Sarı
5-OH açık, 3-OH yok ya da dolu, 4'-OH serbest, 3'-OH yok ya da dolu	Koyu mor	Sarı	Sarı
5-OH açık, 3-OH yok ya da dolu, 3', 4'-OH açık	Koyu mor	Sarı	Turuncu
5,6-OH var, 3-OH yok ya da dolu, 3' ya da 4' OH açık	Koyu mor	Koyu kahverengi	Kahverengi
5-6 OH var, 3-OH yok ya da dolu 3', 4'-OH var	Koyu mor	Koyu kahverengi	Turuncu
Serbest 3 ve 5-OH var	Sarı	Sarı	Sarı
3 ve 5-OH açık, 3', 4'-OH var	Sarı	Sarı	Kırmızı-turuncu
5-OH yok ya da dolu, 3-OH yok ya da dolu	Parlak floresan mavi	Parlak floresan mavi-yeşil	Mavi
5-OH yok ya da dolu, 3-OH yok ya da dolu, 3',4'-OH var	Parlak floresan mavi	Parlak floresan mavi-yeşil	Mavi-yeşil
5-OH yok ya da dolu, 3', 4'-OH yok	Parlak floresan mavi	Daha parlak floresan sarı	Mavi
5-OH yok ya da dolu, 3', 4'-OH var	Parlak floresan sarı	Daha parlak floresan sarı	Mavi-yeşil

Flavonoitlerin UV spektrumunda, biri uzun diğeri ona göre daha kısa dalga boyunda olmak üzere iki absorpsiyon bandı gözlenir. Uzun dalga boyundaki banta Bant I adı verilir ve bu bant flavonoit yapısının B halkasıyla (sinnamoil grubu) ilişkilidir. Daha kısa dalga boyundaki bant Bant II olarak isimlendirilir ve flavonoit yapısının A halkası (benzoil grubu) ile ilişkilidir¹²² (Şekil 2.37).



Şekil 2-37: Bant I ve Bant II'yi Veren Gruplar

Flavonoitlerin A ve B halkalarında hidroksil sayısı arttıkça bantlar uzun dalga boylarına kayarlar. Özellikle 3, 5 ve 4' konumlarındaki hidroksil grupları metillendikleri ya da glikozitlendiklerinde Bant I ve Bant II hidroksil grubu serbest olan bileşiğe göre daha kısa dalga boyuna kayar¹²³.

Flavonlarda, Bant I 304–350 nm arasında, flavonollerde ise 3-OH grubu serbest ise 352–385 nm arasında, eğer hidroksil grubu serbest değilse 328–357 nm arasında izlenir. B halkasında oksijen fonksiyonunun artması Bant I'in, A halkasında 6 ile 8 konumunun oksidasyonu Bant II'nin daha uzun dalga boyuna kaymasına neden olur. Örneğin; 6-OCH₃ olduğunda Bant II 270-275 nm aralığında görülürken, 6-OH olduğunda 280-285 nm aralığında gözlenir. Flavon ve flavonollerde B halkasında 3' ve 4' konumlarında oksijenasyon söz konusu ise Bant II genellikle ikiye bölünür¹²³.

UV kayma belirteçleri (sodyum metoksit, alüminyum klorür, seyreltik HCl, sodyum asetat, borik asit) ile alınan spektrumlar flavonoitlerin yapı tayininde önemli bilgiler verir.

Sodyum metoksit, flavon üzerindeki tüm hidroksil gruplarını iyonize eder. Sodyum metoksit ile alınan spektrumdaki Bant I, MeOH'de alınan spektrumdaki Bant I'den daha uzun dalga boyuna (~50-60 nm) kayarsa ve şiddeti artarsa 4' konumunda –OH grubunun bulunduğu anlaşılır.

Alüminyum klorür, A halkasında 3 ve 5 konumundaki serbest hidroksil grupları ve B halkasındaki *o*-dihidroksi grupları ile ayrı ayrı kelat oluşturur. Seyreltik HCl ilavesiyle B halkasındaki *o*-dihidroksi grupları ile oluşan kelat bozunur. Ayrıca, AlCl₃/HCl spektrumunda Bant I'in metanol spektrumundaki Bant I'e oranla 34-50 nm ileri kayması 5-OH ve 6-H olduğunu, 25-30 nm kayması 5-OH, 6-OH olduğunu, 16-25 nm ileri kayması 5-OH ve 6-OCH₃ olduğunu gösterir^{122,127}.

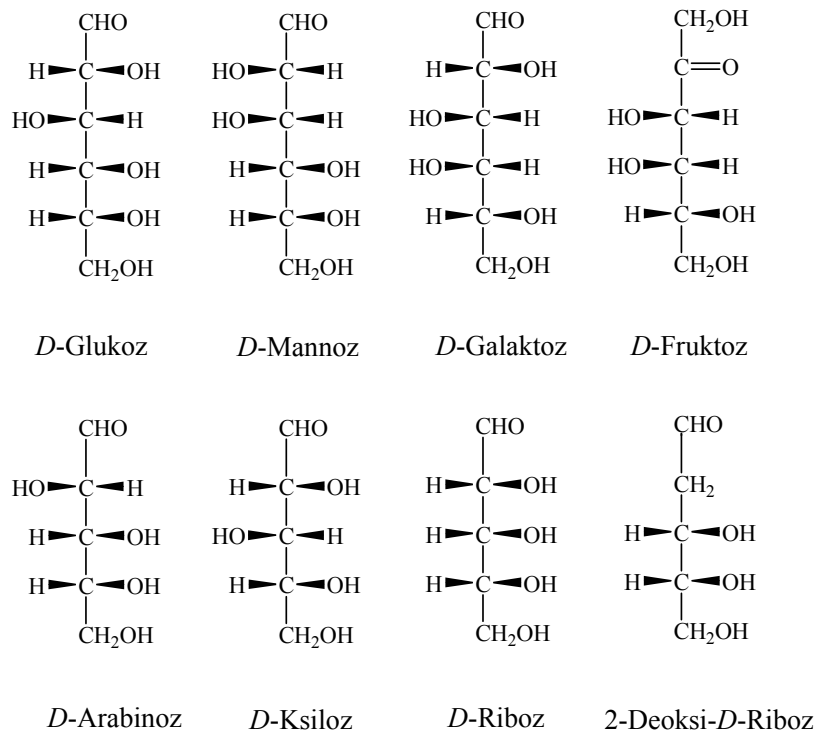
Sodyum asetat, sodyum metoksitten daha zayıf bir baz olduğu için asidik karakterdeki 3, 7 ve 4' hidroksillerini etkiler. Flavon ve flavonollerde 7 konumunda -OH grubu varsa Bant II 5-20 nm uzun dalga boyuna kayar. Ancak flavonlarda C-6 veya C-8'de oksijen fonksiyonu varsa bu durum görülmeyebilir. 4' konumunda -OH ve 7 konumunda metoksi veya şeker varsa Bant I, sodyum metoksit ile alınan spektrumdaki Bant I ile aynı dalga boyunda çıkar. Borik asit ilavesinde, flavon ve flavonollerde B halkasında *o*-dihidroksi grupları varsa bunlar borik asit ile kelat oluştururlar ve Bant I 12-30 nm daha uzun dalga boyuna kayar^{122,123}.

2.7. Glikozitler

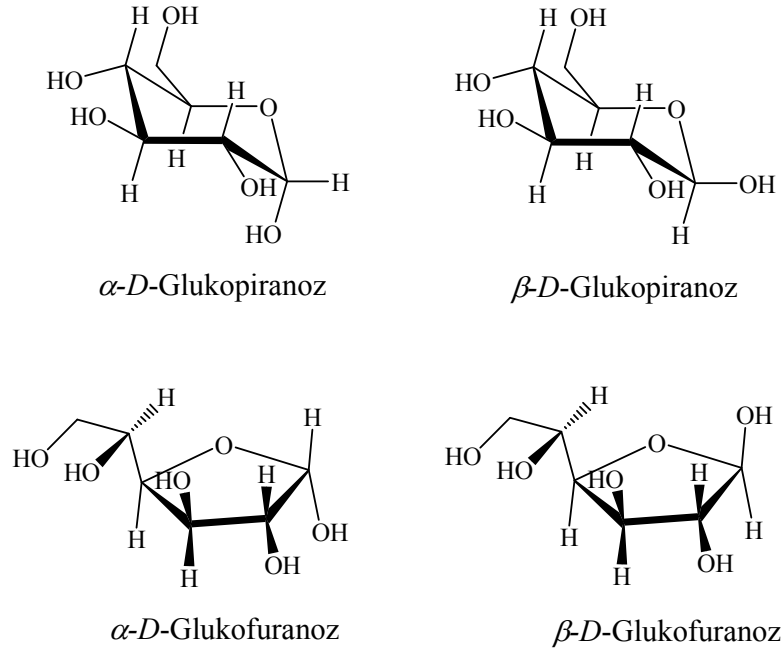
Glikozitler şeker eterleri olarak bilinirler. Karbonhidrat sınıfındadırlar. Genel formülleri CH₂O'dur. Monosakkaritler en basit karbonhidrat birimleridir. Doğada çok rastlanan monosakkaritler Şekil 2.38'de verilmiştir. Glukoz, galaktoz gibi aldehit grubu içeren monosakkaritler "aldozlar" şeklinde tanımlanırken, fruktoz gibi keton grubu içeren monosakkaritlere ise ketozlar denir. Glikozitler α - ve β - anomer olarak tüm bitki organlarında bulunabilirler. Doğada β - glikozitler yaygın, α - glikozitler daha az bulunurlar. D-glukozun α, β -piranoz ve α, β -furanoz yapıları Şekil 2.39'de gösterilmiştir¹²⁸.

Monosakkaritler dimer, trimer ve polimer oluşturmak üzere birbirlerine bağlanabilirler. Dimerlere disakkaritler nedir. Sakkaroz bir disakkarittir ve hidrolizlendiğinde glukoz ve fruktoza ayrılır. İki den sekize kadar monosakkarit birimi içeren karbonhidratlar oligosakkaritler olarak tanımlanırlar. Sekizden fazla monosakkarit birimi içerenler polisakkaritlerdir. Nişasta ve selüloz polisakkaritlere örnek olarak verilebilirler¹²⁸.

Kan şekeri, üzüm şekeri olarak da adlandırılan glukoz en önemli monosakkaritlerden biridir. Polarize ışığı sağa çevirdiği için dekstroz olarak da anılır. Sakkaroz, maltoz, laktoz ve nişasta memeliler tarafından glukozla dönüştürülebilir ve organizma tarafından enerji elde etmek için kullanılırlar. Fruktoz en tatlı doğal şekerdir, meyvelerde ve balda bulunur. Polarize ışığı sola çevirdiği için levuloz olarak da adlandırılır¹²⁸.



Şekil 2-38: Doğada Çok Bulunan Monosakkaritler



Şekil 2-39: *D*-Glukozun α , β -Piranoz ve α , β -Furanoz Yapıları

Glikozitler genel olarak katı, kristalize, renksiz ve acı lezzeti olan bileşiklerdir. Çok farklı yapılara sahip olduklarından stabiliteleri, çözünürlükleri ve polarize ışığa karşı olan etkileri değişiktir. Sudaki çözünürlük dereceleri değişik olmakla birlikte genellikle alkolde de çözünürler¹²⁸.

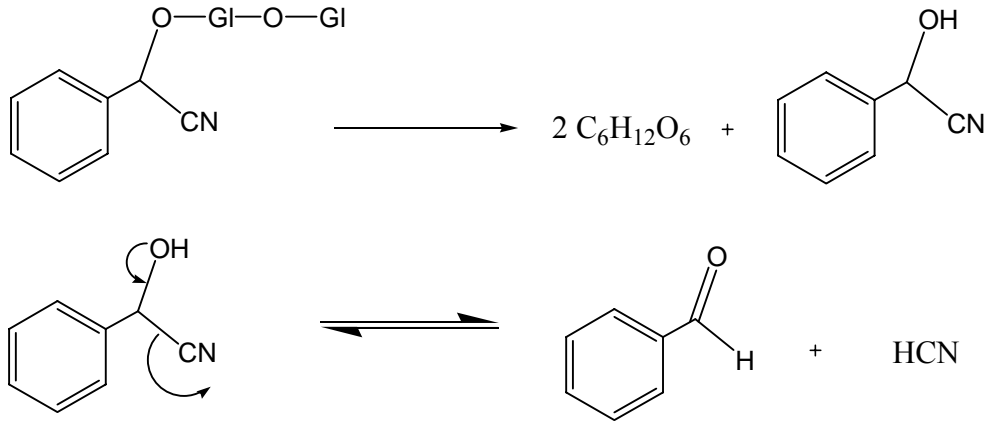
Şeker ile aglikonu bağlayan atomun cinsine göre glikozitler *O*-, *C*-, *N*- ve *S*-glikozitleri olarak sınıflandırılırlar:

2.7.1. *O*-Glikozitler

Aglikonun hidroksil grubu ile şekerin redüktör grubunun bir molekül su kaybederek birleşmesi sonucu oluşurlar. Doğada yaygın olarak bulunan glikozitlerdir. Aglikonun cinsine göre sınıflandırılırlar¹²⁸.

2.7.1.1. Alkol Glikozitleri

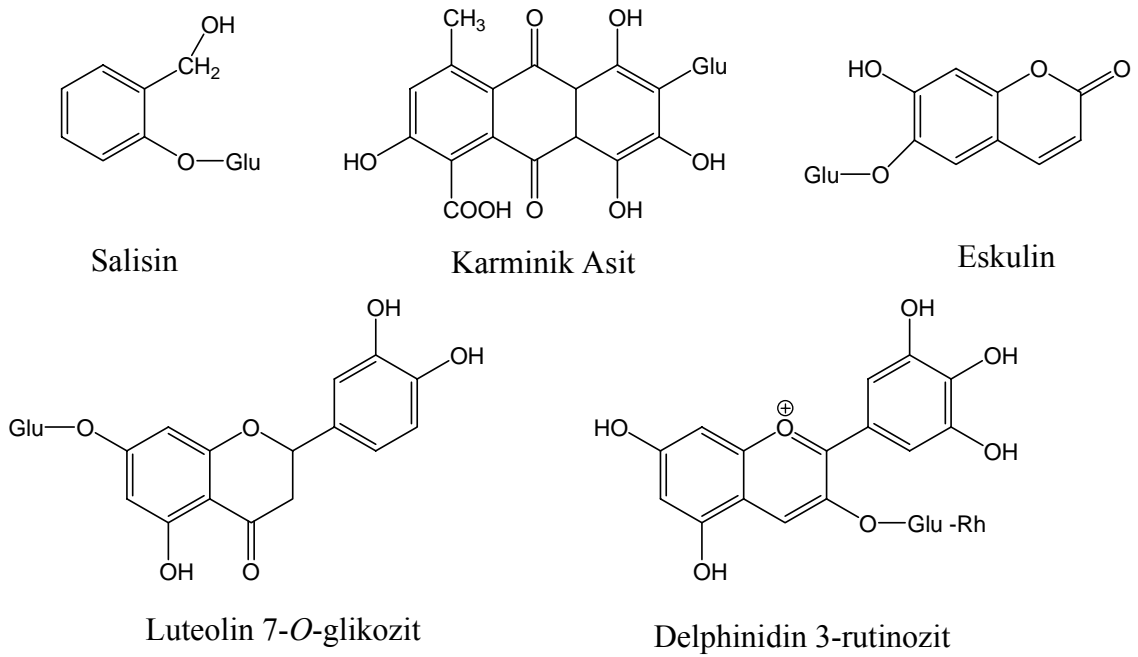
Aglikonları alkol fonksiyonu taşıyan basit bileşiklerdir. Bu glikozitlere doğada az rastlanır. Tıbbi yönden önemli olan siyanogenetik glikozitler örnek olarak verilebilir (Şekil 2.40). Bu glikozitler hidroliz sonunda siyanhidrik asit verirler¹²⁸.



Şekil 2-40: Siyanogenetik Bir Glikozitin Hidrolizi (Amigdalın'ın Amigdonitril'e ve Benzaldehit'e Hidrolizi)

2.7.1.2. Fenol Glikozitleri

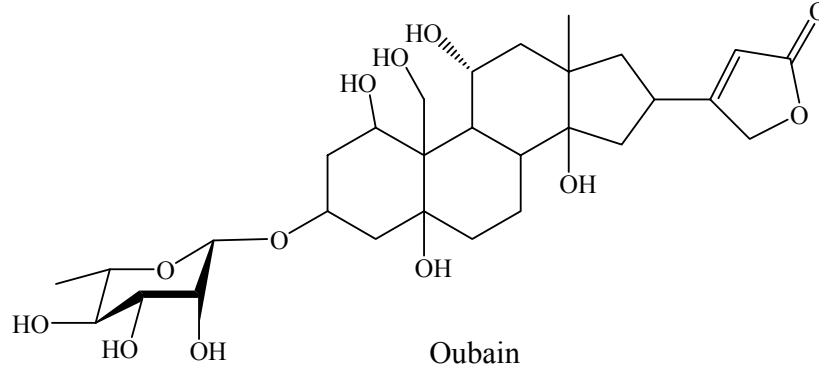
Doğada çok rastlanan ve aglikon kısmında fenol grubu taşıyan glikozitlerdir. Önemli olanları, basit fenol glikozitleri, antresen glikozitleri, flavon glikozitleri, antosiyanidin glikozitleri ve kumarin glikozitleridir. Bu glikozitlere Şekil 2.41'de örnekler verilmiştir¹²⁸.



Şekil 2-41: Fenol Glikozitleri

2.7.1.3. Steroit Glikozitleri

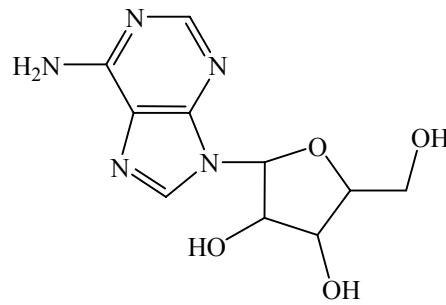
En bilinenleri kalp glikozitleridir. Aglikonları steroid ya da triterpen iskeleti olabilir. Steroit glikozitine örnek olarak oubain verilebilir (Şekil 2.42)¹²⁸.



Şekil 2-42: Steroit Glikozit

2.7.2. N-Glikozitleri

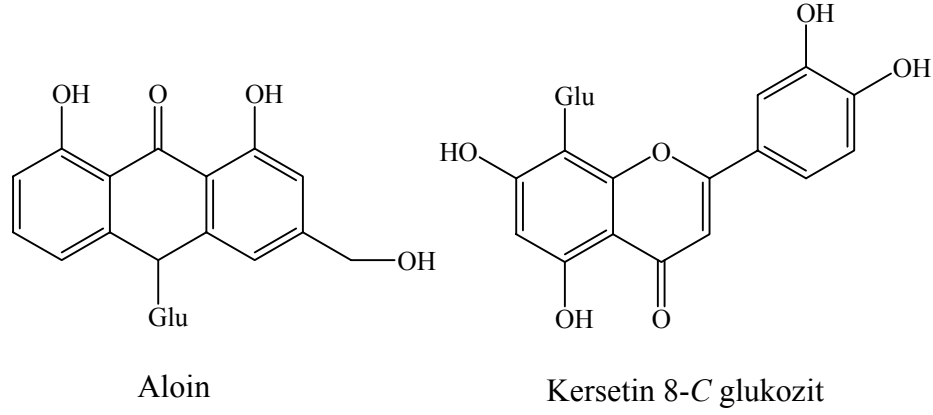
Şekerin redüktör grubu ile aglikonun amin grubunun bir molekül su kaybederek birleşmesi sonunda meydana gelirler. Fosfat esterleri halinde nükleik asitlerde bulunurlar (Şekil 2.43)¹²⁸.



Şekil 2-43: N-Glikozitler

2.7.3. C-Glikozitleri

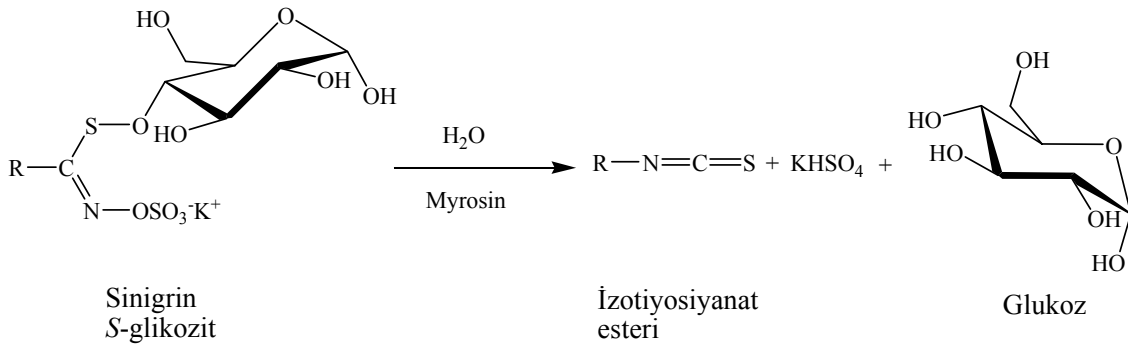
Şeker ile aglikon arasında karbon-karbon bağı bulunmaktadır. Asit ya da bazlarla hidroliz olmazlar. Bu glikozitlerin FeCl_3 ile oksidasyonu sonucu aglikon ve şeker kısımları teşhis edilir. C-glikozitlere örnek Şekil 2. 44’de verilmiştir¹²⁸.



Şekil 2-44: C-Glikozitler

2.7.4. S-Glikozitleri (Tiyoglikozitler)

S-Glikozitleri, şekerin redüktör grubu ile tiyolün su kaybederek birleşmesi sonucunda meydana gelirler. Bu tip glikozitler ancak mirosin isimli bir ferment ile hidroliz edilebilirler. Hidroliz sonucunda oluşan izotiyosiyanat esterleri, tahriş edici ve uçucu bir sıvıdır. Bunlar hardal esansı ismini alırlar (Şekil 2.45)



Şekil 2-45: S-Glikozit

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bitkisel Materyaller

Micromeria cilicica 16.09.2005 tarihinde Mersin'in Gözne yaylasından yaklaşık 1400–1600 metreden toplanmış ve Dr. Tuncay Dirmenci tarafından teşhis edilmiştir. Bitki örneği İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda ISTE 84197 kodu ile saklanmaktadır.

M. juliana 20.05.2005 tarihinde Muğla'nın Akyaka mevkiinden toplanmış ve Dr. Tuncay Dirmenci tarafından teşhis edilmiştir. Bitki örneği, Muğla Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Herbaryumu'nda M-102 kodu ile saklanmaktadır.

3.2. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler

3.2.1. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler

Sephadex LH-20, β -karoten, linoleik asit, Tween-40 (polioksietilensorbitan monopalmitat), kersetin, kateşin, pirokatekol, Folin Ciocalteu Fenol Reaktifi (FCR), 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), nikotinamid adenindinükleotit (NADH), fenazinmeta-sülfat (PMS), nitroblutetrazolyum (NBT), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), troloks ve α -tokoferol (TOC) Sigma'dan (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Almanya), silika jel 60 (0,063-0,200 mm; 70-230 mesh ASTM, Merck KGaA 1.07734), ince tabaka plakları (Alufolien Kieselgel 60F₂₅₄, Merck KGaA 1.05554), difenil borik asit- β -aminoetilester (NA) askorbik asit, kloroform, diklormetan, etil asetat, etil alkol, alüminyum nitrat, sodyum karbonat, potasyum asetat, sodyum asetat, borik asit, metalik sodyum, alüminyum klorür, amonyak ve hidroklorik asit Merck KGaA'dan (Darmstadt, Germany), Poliamit 6, tris(hidroksimetil) aminometan hidroklorür (Tris) Fluka'dan (Fluka Chemie GmbH, Steinheim, İsviçre'de paketlenmiş) temin edildi. Kullanılan tüm kimyasallar ve çözücüler analitik saflıktadır.

3.2.2. Çözeltilerin Hazırlanması

3.2.2.1. Toplam Fenolik Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler

- % 2'lik Sodyum karbonat çözeltisinin hazırlanması: 2 g Na_2CO_3 100 mL'lik balon jøjeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile hacmine tamamlandı.
- Folin-Ciocalteu Fenol Reaktifi (Fosfotungistik-fosfomolibdik asit + CuSO_4) satın alındığı şekilde kullanıldı.

3.2.2.2. Toplam Flavonoit Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler

- % 10'luk Alüminyum nitrat çözeltisinin hazırlanması: 17,6 g $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 100 mL'lik balon jøjeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile balonun hacmine tamamlandı.
- 1 M Potasyum asetat çözeltisinin hazırlanması: 9,6150 g CH_3COOK 100 mL'lik balon jøjeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile balonun hacmine tamamlandı.

3.2.2.3. β -Karoten Renk Açılım Yönteminde Kullanılan Çözelti

- β -Karoten reaktifinin hazırlanması: 0,2 mg β -Karoten 1 mL kloroformda çözümlenerek bir balona aktarıldı. Üzerine 200 mg Tween-40 ve 20 μL lineloik asitten ilave edip karıştırıldı. Vakum altında kloroform uçurulduktan sonra üzerine daha önceden oksijen ile doyurulmuş 50 mL su ilave edildi ve kuvvetlice çalkalandı.

3.2.2.4. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözelti

- 0.1 mM DPPH çözeltisinin hazırlanması: 4 mg DPPH tartılarak 100 mL etil alkolde çözüldü.

3.2.2.5. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözeltiler

- 16 mM pH: 8 Tris-HCl tamponunun hazırlanması: 0,1938 g Tris bir miktar suda çözüldükten sonra 0.1 M'lık HCl ile pH metre kullanılarak pH'ı 8'e getirildi. Son hacmi 100 mL'ye deiyonize su ile tamamlandı.
- 78 µM NADH çözeltisinin hazırlanması: 5,6 mg NADH tartılarak 100 mL Tris-HCl tamponu (16 mM, pH=8) ile çözüldü.
- 10 µM PMS çözeltisinin hazırlanması: 6,1 mg PMS tartılarak 10 mL Tris-HCl tamponu (16 mM, pH=8) ile çözüldü. Bu çözeltiden 50 µL alınarak Tris-HCl tamponu ile hacmi 100 mL'ye tamamlandı.
- 50 µM NBT çözeltisinin hazırlanması: 4,1 mg NBT tartılarak 100 mL Tris-HCl tamponu (16 mM, pH=8) ile çözüldü.

3.2.2.6. Flavonoit Kayma Belirteçlerinin Hazırlanması

- Sodyum metoksit çözeltisinin hazırlanması: 2,5 g metalik sodyum 100 mL spektroskopik saflıktaki metanole eklendi ve hidrojen gazının tamamının çıkması beklendi.
- Alüminyum klorür çözeltisinin hazırlanması: 5,0 g nem içermeyen susuz AlCl₃ 100 mL spektroskopik saflıktaki metanole dikkatlice eklenerek çözüldü. Çözünme oda şartlarında yaklaşık 24 saatte tamamlandı.
- Hidroklorik asit çözeltisinin hazırlanması: 50 mL konsantre HCl 100 mL deiyonize su ile karıştırılarak hazırlandı.
- Susuz sodyum asetat ve susuz borik asit toz halde kullanıldılar.

3.2.2.7. İTK'da Kullanılan Belirteçlerin Hazırlanması

- Serik Sülfat Belirtecinin Hazırlanması: 2,0 g seryum (IV) sülfat 100 mL % 10'luk H₂SO₄'de çözümlenerek hazırlandı. Belirteç, uygun çözücü sisteminde yürütülen ince tabaka plaklarına pulvarizatör kullanılarak püskürtüldü.

- DPPH Belirtecinin Hazırlanması: 0,2 g DPPH 100 mL etanolde çözülerek hazırlandı. Belirteç, uygun çözücü sisteminde yürütülen ince tabaka plaklarına pulvarizatör kullanılarak püskürtüldü. Mor bir renk alan plak 30 dk oda sıcaklığında bekletildi. Bu süre zarfında antioksidan aktivite gösteren madde veya madde karışımları beyaz-sarı renk aldılar.
- Amonyak (NH₃) buharı: Doğrudan amonyak buharı kullanıldı.
- NA Belirtecinin (Naturstoffreagenz A: Difenil borik asit-β-aminoetilester) Hazırlanması: 100 mg toz NA bileşiği 100 mL metanolde çözülerek hazırlandı.

3.3. Aletler ve Diğer Gereçler

- Döner Buharlaştırıcı (Rota Evaporatör)
- Gaz Kromatografisi (GC) Cihazı (Shimadzu GC-17AAF,V3,230V LV)
- Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi Cihazı (GC/MS) (Varian 2100)
- Nükleer Manyetik Rezonans Cihazı (NMR), (Bruker Avance, 300 MHz, 400 MHz, 500 MHz ve 600 MHz (Cryo-cooled Probu))
- Preperatif HPLC (LC-908, Geri Dönüşümlü Preperatif HPLC, JNİ, Japan Analytical Industry Co., Ltd.).
- LC-NMR (Bruker Avance, 300 ve 500 MHz)
- Kütle Spektrometresi (EI için: JEOL MSRoute resolüsyon: 1.000; FAB⊕MS için: JEOL JMS-HX110 (Gliserol standart matriks, gaz olarak xenon kullanıldı)
- Ultraviyole Spektrofometresi (UV-Vis), (Shimadzu UV-1601)
- X Işımları Spektrometresi (P-IV ve Apex Smart, Bruker)
- Erime derecesi cihazı (Reichert firmasının Kofler model cihazı, Almanya)
- Otomatik pipetler (20-200µL, 100-1000µL, 50-5000µL) (Eppendorf, Almanya)
- Hassas terazi (Scaltec SBA 31)
- Manyetik Karıştırıcı (Heidolph MR 3001, Almanya)
- pH-metre (Thermo, Amerika Birleşik Devletleri)
- Ultra saf su cihazı (Younglin Instrument, aquaMAX-Ultra, Kore)
- Hesap makinesi (Casio fx-3650P Super FX, Japonya)
- Pulvarizatör, Balon jöjeler, armudi cam balonlar, Magnetler
- Azot ve Oksijen Tüpleri

3.4. Ekstrelerin Hazırlanması

Micromeria cilicica'nın toprak üstü kısımları (1030 g) gölgede kurutulup toz edildikten sonra, önce petrol eteri (15 L), sonra aseton (15 L) ve en son olarak da metanol (15 L) ile oda sıcaklığında birer hafta boyunca arada sırada çalkalanarak dörder defa masere edildi. Petrol eteri ekstresi 5,01 g, aseton ekstresi 22,43 g ve metanol ekstresi 15,52 g olarak elde edildi (Tablo 3.1).

M. juliana'nın toprak üstü kısımlarına (930 g) da aynı işlemler uygulandı. Petrol eteri ekstresi 3,88g, aseton ekstresi 21,69 g ve metanol ekstresi 40,48 g olarak elde edildi (Tablo 3.1).

Tablo 3-1: *Micromeria cilicica* ve *M. juliana*'dan Elde Edilen Ekstreler ve % Verimleri

Bitki Materyalleri	Kullanılan Çözücüler	Ekstrelerin Adları	Ekstrelerin Kısaltmaları	Verimleri (%)
<i>M. cilicica</i>	Petrol eteri	Petrol eteri ekstresi	MCP	0,49
	Aseton	Aseton ekstresi	MCA	2,18
	Metanol	Metanol ekstresi	MCM	1,51
<i>M. juliana</i>	Petrol eteri	Petrol eteri ekstresi	MJP	0,42
	Aseton	Aseton ekstresi	MJA	2,33
	Metanol	Metanol ekstresi	MJM	4,35

3.5. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarlarının Belirlenmesi

3.5.1. Toplam Fenolik Miktar Tayini

Toplam fenolik miktarları FCR kullanılarak pirokatekole eşdeğer olarak belirlendi^{97,98}. 1 mg örnek içeren çözeltiler deiyonize su ile 46 mL'ye tamamlandı. Bu karışıma 1mL FCR ve 3 dk sonra 3 mL % 2'lik Na₂CO₃ çözeltilisinden ilave edildi. Karışım 2 saat oda sıcaklığında çalkalanarak bekletildikten sonra örneklerin absorbansları 760 nm'de okundu. Ekstrelerin toplam fenolik miktarları standart pirokatekol grafiğinden elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlendi:

$$\text{Absorbans} = 0,0870 \text{ pirokatekol } (\mu\text{g}) - 0,0075 \quad (R^2 : 0,9976)$$

3.5.2. Toplam Flavonoit Miktar Tayini

Bitki ekstralarının toplam flavonoit miktarları kersetine eşdeğer olarak alüminyum nitrat yöntemi ile belirlendi¹²⁹. 1 mg örnek içeren çözeltiler % 80'lik etanol ile 4,8 mL'ye tamamlandı. Bu karışıma 100 µL 1 M potasyum asetat eklendikten hemen sonra 100 µL % 10'luk alüminyum nitrat çözeltisinden ilave edildi. Karışımlar 40 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra 415 nm'de absorbansları okundu. Ekstrelerin toplam flavonoit miktarları standart kersetin grafiğinden elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlendi:

$$\text{Absorbans} = 0,0887 \text{ kersetin } (\mu\text{g}) - 0,0070 \quad (R^2 : 0,9988)$$

3.6. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

3.6.1. β -Karoten Renk Açılım Yöntemi

Toplam antioksidan aktivite, linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerinin inhibisyonunun ölçülmesine dayanan β -karoten-linoleik asit yöntemiyle belirlendi⁹⁹. Bu yöntem, β -karotenin renginin açılmasına dayanan bir yöntemdir. 50 µg ile 500 µg arasında değişen konsantrasyonlardaki 1 mL örnek içeren çözeltilerin üzerine 4 mL β -karoten karışımı ilave edildi. Emülsiyon, test tüplerine ilave edilir edilmez spektrofotometre kullanılarak başlangıç absorbansları 490 nm'de ölçüldü. Kontrol olarak 1 mL metanol kullanıldı. Tüpler 50°C'de inkübasyona bırakıldı ve kontrol olarak kullanılan tüpteki β -karotenin rengi kayboluncaya kadar (yaklaşık 120 dk) inkübasyona devam edildi. β -karoten renk açılım oranı (R), aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı:

$$R = \frac{\ln \frac{a}{b}}{t}$$

ln: doğal logaritma, a : başlangıç absorbansı, b : inkübasyondan sonraki absorbans, t : inkübasyon süresi (dk).

Antioksidan aktivite (AA) aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı:

$$\text{AA (\% İnhibisyon)} = \frac{R_{\text{Kontrol}} - R_{\text{Örnek}}}{R_{\text{Kontrol}}} \times 100$$

R_{Kontrol} kontrolün renginin açılma hızı ve $R_{\text{Örnek}}$ örneğin renginin açılma hızıdır.

3.6.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi

Bitki ekstralarının, fraksiyonların ve saf maddelerin serbest radikali giderim aktiviteleri DPPH serbest radikali kullanılarak belirlendi¹⁰¹. 50 µg ile 500 µg arasında değişen konsantrasyonlardaki 1 mL örnek içeren örneklerin üzerine DPPH çözeltisinden 4 mL ilave edildi. Kontrol olarak 1 mL metanol kullanıldı. Oda sıcaklığında 30 dk inkübasyondan sonra 517 nm’de absorbansları ölçüldü. Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\text{DPPH Giderim Aktivitesi (\% İnhibisyon)} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100$$

A_{Kontrol} kontrolün absorbansı, $A_{\text{Örnek}}$ örneğin absorbansıdır.

3.6.3. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi

Bitki ekstralarının ve saf maddelerin süperoksit anyon radikali giderim aktiviteleri NADH-PMS-NBT sistemine göre belirlendi¹⁰⁵. Bu yöntemde 125 µg ile 500 µg arasında değişen konsantrasyonlardaki 1 mL örnek içeren çözeltilerin üzerine 1 mL Tris tamponundan, 1 mL NADH ve 1 mL NBT çözeltilerinden koyuldu. Reaksiyon 1 mL PMS’nin ilavesi ile başlatıldı. 1 mL metanol kontrol olarak kullanıldı. 5 dk sonra karışımın 560 nm’de absorbansı ölçüldü. Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. Süperoksit anyon radikali giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\text{O}_2^{\bullet -} \text{ Giderim Aktivitesi (\% İnhibisyon)} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100$$

A_{Kontrol} kontrolün absorbansı ve $A_{\text{Örnek}}$ örneğin absorbansıdır.

3.6.4. İstatistik Hesaplamalar

Antioksidan aktivite sonuçları 3 paralel testin ortalaması \pm standart sapması olarak verildi. Sonuçlar Student-*t* testine göre % 95 güven sınırları içinde bulundu. Paralel ölçümler arasında anlamlı bir fark görülmedi. En küçük kareler yönteminin kullanıldığı doğrusal regresyon analizi eğim, intersept ve korelasyon katsayılarının değerlendirilmesiyle yapıldı.

3.7. Kromatografik Yöntemler

3.7.1. Kolon Kromatografisi

Antioksidan aktivite gösteren ekstreleri fraksiyonlandırmak ve bu fraksiyonlardan saf maddeler elde etmek amacıyla üç çeşit dolgu maddesi kullanıldı. Bu dolgu maddeleri silika jel, poliamit ve Sephadex LH-20'dir.

Antioksidan aktivite gösteren ekstreleri fraksiyonlandırmak için kolon kromatografisinde silika jel kullanıldı. Ekstreler az miktarda uygun çözücüde çözülerek adsorban ile karıştırıldı. Karışım oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Kuruyan karışım dibine az miktarda pamuk yerleştirilmiş, ekstre miktarına uygun olarak seçilmiş ve boyunun 2/3 oranında silika jel ile doldurulmuş kolonun üst kısmına paketleme yöntemiyle yerleştirildi. Elüsyona % 100 petrol eteri ile başlandı ve sırasıyla kloroform, aseton ve metanol ile polarite arttırılarak elüsyona devam edildi, sonunda % 100 metanol ile elüsyon tamamlandı. Benzer fraksiyonlar birleştirildi ve saflaştırma için daha küçük boyuttaki kolonlarda silika jelin yanı sıra poliamit ve Sephadex LH-20 adsorban olarak kullanıldı.

Antioksidan aktivite gösteren fraksiyonlardan saf madde elde etmek için Sephadex LH-20 içeren kolonlar kullanıldı. Bu yöntemde karışımın polaritesine göre iki çözücü sistemi kullanıldı: apolar özellik gösteren fraksiyonlar için hekzan: kloroform:metanol (7:4:1) çözücü sistemi, polar özellik gösteren fraksiyonlar için ise % 100 metanol kullanıldı. Fraksiyonlar kolonda kullanılacak çözücü sisteminde çözülerek sıvı halde Sephadex LH-20 ile doldurulmuş kolonun üst kısmından tatbik edildi. Elüsyon tek bir çözücü sistemi kullanılarak sonlandırıldı. Bazı fraksiyonlar ise poliamitin adsorban olarak kullanıldığı kolonlarda ayrıldı.

3.7.2. İnce Tabaka Kromatografisi

İnce tabaka kromatografisinde (İTK), silika jel hazır plaklardan (20 x 20 cm) yararlanıldı. Antioksidan aktivite gösteren ekstrelerin kolon kromatografisi ile ayrılmasıyla elde edilen fraksiyonların karşılaştırılmasında İTK plakları kullanıldı. Maddeleri saflaştırmak için preparatif ince tabaka kromatografisinden yararlanıldı.

3.7.3. Gaz Kromatografisi ve Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi Şartları

3.7.3.1. GC Çalışma Şartları

M. cilicica'nın aseton ekstresinden elde edilen MCA-11 ve *M. juliana*'nın petrol eteri ekstresinden elde edilen MJP 1–3, MJP 4–5, MJP 8–9 ve MJP 12 fraksiyonları gaz kromatografisinde bileşenlerine ayrıldı.

o *GC Çalışma Şartları*

Kolon	: DB–1 0.32 µm (30 m x 0.25 mm ID)
Dedektör	: FID
Taşıyıcı gaz	: He
Kolon basıncı	: 100 kPa
Toplam akış hızı	: 71 mL/dk
Kolon akış hızı	: 3.23 mL/dk

Sıcaklıklar

Enjeksiyon	: 250°C
Kolon (<i>M. juliana</i> için)	: 100°C'de 5 dk bekletildi ve 4 °C/dk hızla 220°C'ye yükseltildi. 220°C'de 15 dk bekletildi.
Kolon (<i>M. cilicica</i> için)	: 50°C'de 5 dk bekletildi ve 5°C/dk hızla 250°C'ye yükseltildi, 250°C'de 15 dk bekletildi.
Dedektör	: 270°C
Split oranı	: 1:20
Enjeksiyon miktarı	: 1 µL

3.7.3.2. GC/MS Çalışma Şartları

M. cilicica'nın aseton ekstresinden elde edilen MCA 11 ve *M. juliana*'nın petrol eteri ekstresinden elde edilen MJP 1–3, MJP 4–5, MJP 8–9 ve MJP 12 kodlu fraksiyonların bileşenlerinin belirlenmesi için Muğla Üniversitesi Fen-Edebiyat

Fakültesi Kimya Bölümü GC, GC/MS laboratuvarında bulunan Varian 2100 GC/MS cihazı kullanıldı. Bileşenler gaz kromatografisi kolonunda ayrılıp iyonlaştırıldıktan sonra her birinin tek tek kütle spektrumları alındı. Bileşenlerin yapılarının belirlenmesinde Nist 2005 kütüphane verileri ve “Eight Peak Index of Mass Spectra”, “Monoterpenes” ve “Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy” adlı spektroskopi atlasları kullanıldı. Ayrıca bileşenlerin alıkonulma süreleri göz önüne alınarak ve Kovatz indeks değerleri hesaplanarak yapıların doğruluğu desteklendi. Buna ilave olarak aynı şartlarda standart maddeler kolonda yürütüldü ve alıkonulma zamanları ile bileşenler karşılaştırıldı.

o **GC Çalışma Şartları**

Kolon	: DB-1 0.32 μ m (30 m x 0.25 mm ID)
Taşıyıcı gaz	: He (15 psi)
Kolon basıncı	: 100 kPa
Toplam akış hızı	: 71 mL/dk
Kolon akış hızı	: 1.3 mL/dk

Sıcaklıklar

Enjeksiyon	: 300°C
Kolon (<i>M. juliana</i> için)	: 100°C’de 5 dk bekletildi ve 4°C/dk hızla 220°C’ye yükseltildi. 220°C’de 15 dk bekletildi.
Kolon (<i>M. cilicica</i> için)	: 50°C’de 5 dk bekletildi ve 5°C/dk hızla 250°C’ye yükseltildi, 250°C’de 15 dk bekletildi.
Split oranı	: 1:30
Enjeksiyon miktarı	: 1 μ L

o **MS Çalışma Şartları**

İyon kaynağı sıcaklığı	: 250°C
Elektron enerjisi	: 70eV
Kütle aralığı	: 10–600 m/e

3.7.4. LC/NMR Çalışma Şartları

M. cilicica'nın aseton ekstresinden elde edilen MCA 37-40 kodlu fraksiyonun, bu fraksiyona % 0,004'lük DPPH'nin CD₃OD'deki çözeltisinin ilave edilmesiyle elde edilen çözeltinin ve DPPH çözeltisinin LC-NMR kromatogramları alındı.

o *LC/NMR Çalışma Şartları*

Kolon: NUCLEOSIL 100 C₁₈ (250 x 4.6 mm ID; S-5µM)

Dedektör: UV (280 nm) ve ¹H-NMR 300 MHz

Çözücü: CD₃OD ve D₂O (1:2)

Kolon basıncı: 20 kg/cm²

Kolon akış hızı: 1.00 mL/dk

Enjeksiyon miktarı : 20 µL

3.7.5. Preparatif HPLC Çalışma Şartları

M. cilicica ve *M. juliana*'nın aseton ekstratlarından elde edilen ve antioksidan aktivite gösteren MCA 54 ve MJA 54-55 kodlu fraksiyonlar önce Sephadex LH-20 sonra poliamit içeren kolonlardan geçirilerek fraksiyonlandırıldı. Buradan LC-1, LC-2, LC-3, LC-4, LC-5, LC-6 ve LC-7 kodlu örnekler elde edildi. Bu örnekleri saflaştırmak için preparatif HPLC kullanıldı. Preparatif HPLC şartları aşağıda verilmiştir.

o *Preparatif HPLC Çalışma Şartları*

Kolon: YMC-ODS-L-80, C₁₈ kolon(250 x 20 mm ID; S-4µM)

Dedektörler: UV ve Refraktif İndeks

Çözücü: Metanol: Su (1:1)

Kolon basıncı: 80 kg/cm²

Toplam akış hızı: 3.00 mL/dk

Kolon akış hızı: 3.00 mL/dk

Enjeksiyon miktarı: 3 mL

3.8. Spektroskopik Yöntemler

3.8.1. UV Spektroskopisi

Saf maddeler metanolde çözülerek köre karşı 200–500 nm dalga boyları arasında UV spektrumları alındı. Flavonoitlerin yapılarının belirlenmesinde kayma belirteçleri kullanılarak spektrumları alındı.

3.8.2. Kayma Belirteçleri İle Flavonoitlerin UV Spektrumlarının Alınması

UV spektrumu alınacak flavonoitin absorpsiyon bantlarının 0,600 ile 0,800 arasında absorbans değerlerini verebilmesi için metanol ile flavonoidin 35 ppm'lik stok çözeltisi hazırlandı¹²³.

3.8.2.1. Sodyum Metoksit (NaOCH₃) Belirteci İle UV Spektrumunun Alınması

Flavonoitin stok çözeltisinden 3 mL alınarak köre karşı dakikada 50 nm okuma hızı ile UV spektrumu alındı. Metanolde alınan spektrumu, dalga boylarının doğruluğunu belirlemek için dakikada 10 nm okuyarak düşük tarama hızında tekrar alındı. Bu çözeltinin üzerine sodyum metoksit stok çözeltisinden 3–5 damla ilave edilir edilmez hemen UV spektrumu alındı. 5 dakika sonra flavonoitin bozulup bozulmadığını anlamak için tekrar ölçüm yapıldı¹²³.

3.8.2.2. Alüminyum Klorür/Hidrojen Klorür (AlCl₃/HCl) Belirteci İle UV Spektrumunun Alınması

Flavonoitin stok çözeltisinden 3 mL alınarak köre karşı metanol spektrumu alındı. Altı damla alüminyum klorür çözeltisi eklendikten hemen sonra yeniden spektrum alındı. Bazı izoflavonların ve dihidroflavonollerin AlCl₃ reaktifi ile en iyi etkiyi yapabilmesi için 1 dakika gibi zamana ihtiyaç olduğundan 1 dakika sonra tekrar spektrum alındı. Daha sonra flavonoit ve AlCl₃ içeren çözeltiye seyreltik HCl'den 3–5 damla eklenerek UV spektrumu alındı¹²³.

3.8.2.3. Sodyum Asetat/Borik Asit (NaOAc/H₃BO₃) Belirteci İle UV Spektrumunun Alınması

Flavonoitin stok çözeltisinden 3 mL alınarak köre karşı metanol spektrumu alındı. Bu çözeltiliye sodyum asetatın aşırısı toz halinde eklendi ve yaklaşık 2 dakika sonra spektrum alındı. Beş dakika sonra, bozunmanın olup olmadığını anlamak için yeniden spektrum alındı. Bu çözeltiliye susuz borik asit ilave edildikten sonra UV spektrumu alındı¹²³.

3.8.3. NMR Spektroskopisi

Kromatografik yöntemlerle saflaştırılan bileşiklerin ¹H NMR, ¹³C NMR, DEPT, COSY, HMBC, HMQC spektrumları alındı. Referans olarak tetrametilsilan (TMS) ve çözücü olarak döterokloroform (CDCl₃), döterometanol (CD₃OD) ve döterodimetilsülfoksit (CD₃SOCD₃) kullanıldı.

3.8.4. Kütle Spektroskopisi

Elektron impact (EI) ve hızlı atom bombardımanı-kütle spektroskopisi (FAB⁺MS) yöntemleri kullanılarak saf maddelerin spektrumları alındı.

3.8.5. X-Işınları Spektroskopisi

Kristal halde elde edilen saf bileşiğin X-Ray'i alındı.

4. BULGULAR

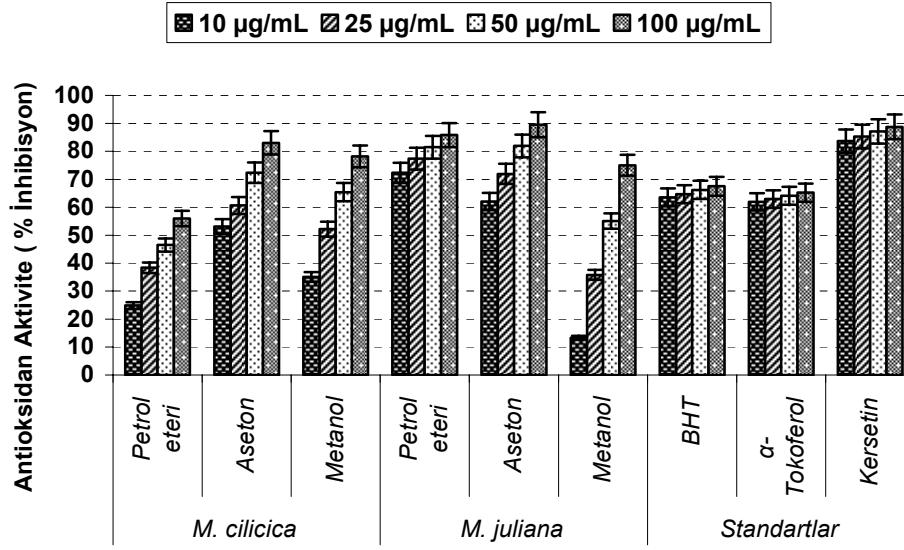
Bu tez çalışmasında, *M. cilicica* ve *M. juliana*'dan hazırlanan (MCP, MCA, MCM, MJP, MJA, MJM) ekstrelerin antioksidan aktivite tayinleri, β -karoten renk açılım metodu, DPPH serbest radikali giderim aktivitesi ve süperoksit anyon radikali giderim aktivitesi yöntemleriyle yapıldı. Ayrıca tüm ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları da sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlendi.

M. cilicica'nın petrol eteri, aseton ve metanol ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri ilk kez bu çalışmada incelendi. *M. juliana*'nın ise topraküstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinin antioksidan aktivitesinin Couladis ve ark. tarafından belirlendiği tespit edildi⁴⁵. *M. juliana*'nın petrol eteri ve aseton ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri ilk kez bu tez çalışmasında belirlendi.

4.1. Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları

4.1.1. β -Karoten Renk Açılım Yöntemi Sonuçları

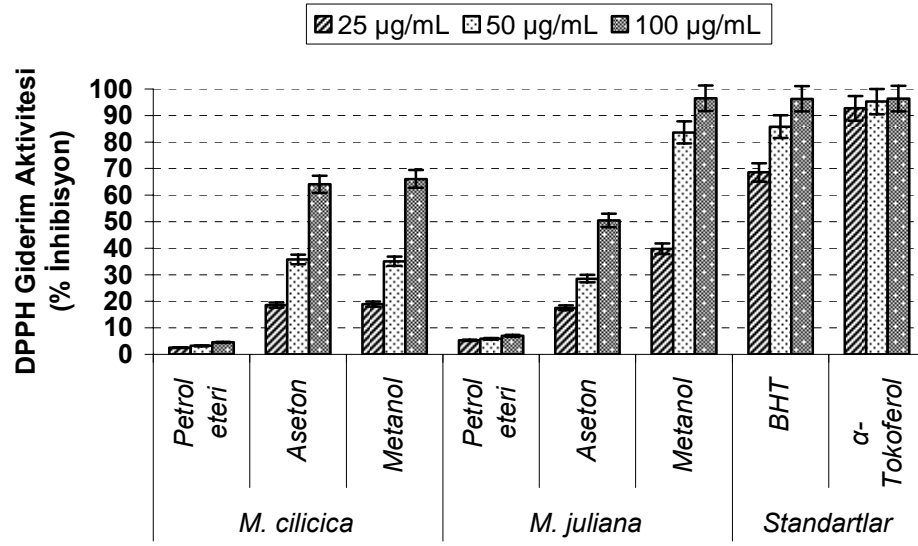
M. cilicica ve *M. juliana* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin toplam antioksidan aktiviteleri β -karoten renk açılım yöntemine göre dört farklı konsantrasyonda (10, 25, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$) yapıldı. Antioksidan aktivite karşılaştırmalarında standart olarak BHT, α -tokoferol ve kersetin kullanıldı. β -karoten renk açılım yönteminde *M. cilicica*'nın aseton ekstresinin, *M. juliana*'nın petrol eteri ve aseton ekstrelerinin BHT ve α -tokoferolden daha yüksek aktivite gösterdiği belirlendi (Şekil 4.1).



Şekil 4-1: *M. cilicica* ve *M. juliana*'dan Hazırlanan Ekstrelerin β -Karoten Renk Açılım Yöntemi ile Toplam Antioksidan Aktivitesi (Antioksidan aktivite sonuçları 3 paralel testin ortalamasıdır. Sonuçlar Student-*t* testine göre % 95 güven sınırları içinde bulundu).

4.1.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları

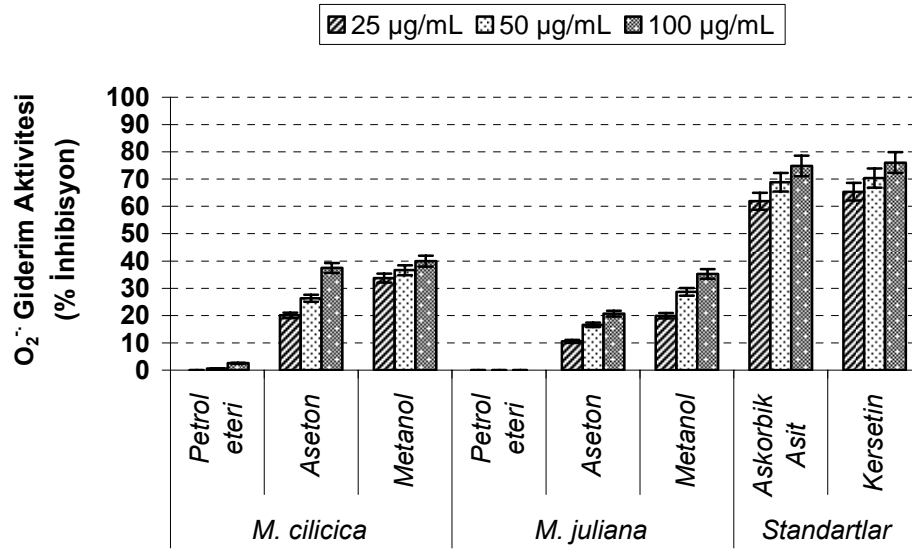
M. cilicica ve *M. juliana*'dan hazırlanan ekstrelerin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi üç farklı konsantrasyonda (25, 50, 100 µg/mL) tayin edildi. Standart olarak kullanılan BHT ve α -tokoferole göre aktivite karşılaştırmaları yapıldı. Bu yöntemde, *M. cilicica*'nın aseton ve metanol ekstrelerinin aktivitelerinin hemen hemen aynı olduğu, ancak BHT ve α -tokoferolden daha düşük etkiye sahip olduğu, *M. juliana*'nın metanol ekstresinin aktivitesinin diğer ekstrelerden daha yüksek olduğu ve 100 µg/mL'de BHT ve α -tokoferol ile aynı aktiviteyi gösterdiği tespit edildi (Şekil 4.2).



Şekil 4-2: *M. cilicica* ve *M. juliana*'dan Hazırlanan Ekstrelerin DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi (Antioksidan aktivite sonuçları 3 paralel testin ortalamasıdır. Sonuçlar Student-*t* testine göre % 95 güven sınırları içinde bulundu).

4.1.3. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları

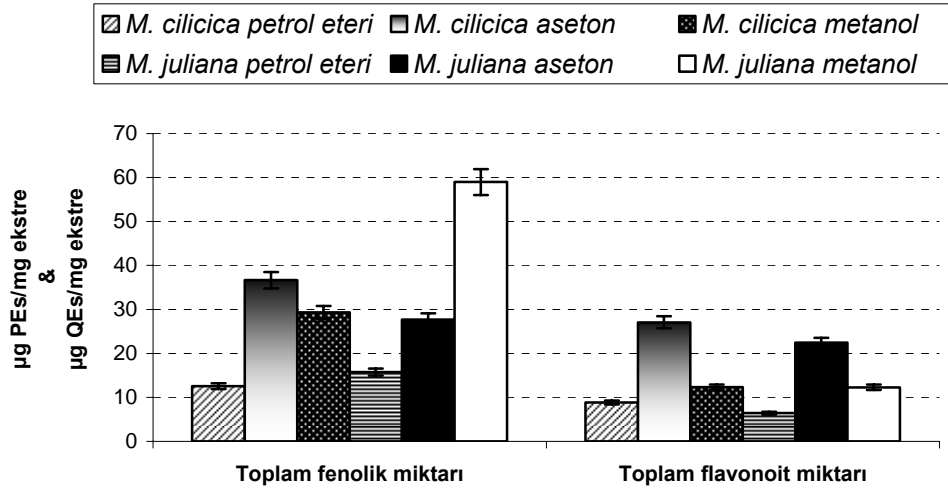
M. cilicica ve *M. juliana*'dan hazırlanan ekstrelerin süperoksit anyon radikal giderim aktiviteleri, NADH-PMS-NBT yöntemine göre üç farklı konsantrasyonda (25, 50, 100 µg/mL) belirlendi. Standart olarak askorbik asit ve kersetin kullanıldı. Bu yöntemde, *M. cilicica*'nın aseton ve metanol ekstreleri ile *M. juliana*'nın metanol ekstresinin diğer ekstrelerden daha yüksek aktivite gösterdikleri ancak hiçbir ekstrenin askorbik asit ve kersetin kadar aktivite göstermediği belirlendi (Şekil 4.3). Ayrıca her iki bitkinin petrol eteri ekstrelerinin süperoksit anyon radikalini hiç gidermedikleri tespit edildi.



Şekil 4-3: *M. cilicica* ve *M. juliana*'dan Hazırlanan Ekstrelerin O₂^{·-} Anyon Radikali Giderim Aktivitesi (Antioksidan aktivite sonuçları 3 paralel testin ortalamasıdır. Sonuçlar Student-*t* testine göre % 95 güven sınırları içinde bulundu).

4.1.4. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktar Tayinleri Sonuçları

Tüm ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoit miktarları sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlendi. *M. cilicica*'nın toplam fenolik ve flavonoit miktarları açısından en zengin ekstresinin aseton ekstresi (MCA), *M. juliana*'da toplam fenolik miktarı açısından metanol ekstresinin (MJM) daha zengin, toplam flavonoit miktarı yönünden ise en zengin ekstrenin aseton ekstresi (MJA) olduğu tespit edildi (Şekil 4.4).



Şekil 4-4: *M. cilicica* ve *M. juliana*'dan Hazırlanan Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarları (PEs: Pirokatekole Eşdeğer; QEs: Kersetine Eşdeğer. Sonuçlar 3 paralel testin ortalamasıdır. Sonuçlar Student-*t* testine göre % 95 güven sınırları içinde bulundu)

4.2. *M. cilicica*'dan Elde Edilen Sonuçlar

M. cilicica'nın aseton ve metanol ekstraları β -karoten renk açılım, DPPH serbest radikali giderim ve süperoksit anyon radikali giderim yöntemlerinde benzer aktivite gösterirken tüm yöntemlerde petrol eteri ekstresi diğer iki ekstreten daha düşük etki gösterdi. Hem toplam fenolik hem de toplam flavonoit miktarı bakımından *M. cilicica*'nın aseton ekstresinin petrol eteri ve metanol ekstralarından daha yüksek olduğu tespit edildi. Bu sonuçlar doğrultusunda *M. cilicica*'nın aseton ekstresinden saf madde elde edilmesi yoluna gidildi.

4.2.1.1. *M. cilicica*'nın Aseton Ekstresinin (MCA) Fraksiyonlandırılması

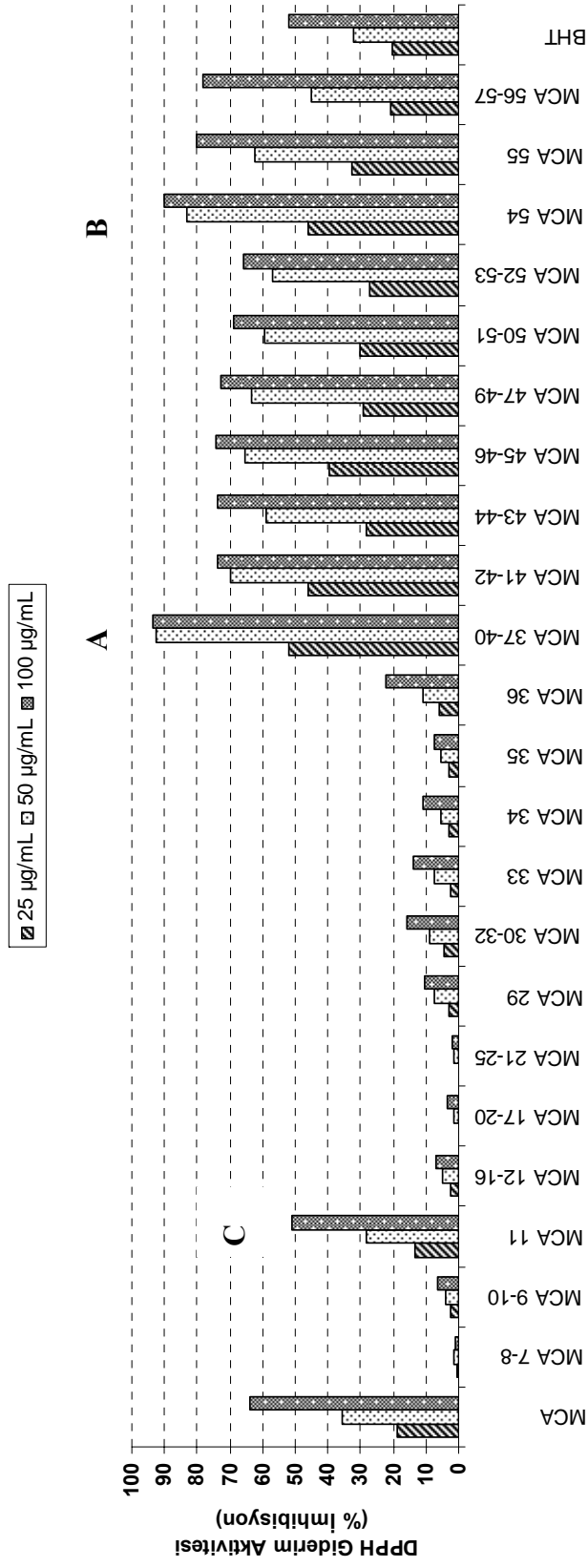
MCA silika jel içeren kolonda fraksiyonlandırıldı. Elüsyona % 100 petrol eteri ile başlandı ve elüsyona % 5 çözücü polaritesi artırılarak sırasıyla kloroform, aseton ve metanol ile devam edildi, % 100 metanole ulaşıncaya elüsyon tamamlandı. İTK ile benzer fraksiyonlar birleştirildi. Toplam 24 fraksiyon elde edildi (Tablo 4.1).

Tablo 4-1: MCA'dan Elde Edilen Fraksiyonların Kodları ve % Verimleri

Fraksiyon Adı	Miktarı (mg)	% Verim	Fraksiyon Adı	Miktarı (mg)	% Verim
1 MCA 1-8	2996,10	13,36	13 MCA 36	953,40	4,25
2 MCA 9-10	183,60	0,82	14 MCA 37-38	883,10	3,94
3 MCA 11	140,10	0,62	15 MCA 39-40	841,40	3,75
4 MCA 12-16	1782,50	7,95	16 MCA 41-42	741,20	3,30
5 MCA 17-20	1373,60	6,12	17 MCA 43-44	411,90	1,84
6 MCA 21-25	1916,30	8,54	18 MCA 45-46	175,80	0,78
7 MCA 26-28	2900,30	12,93	19 MCA 47-49	668,90	2,98
8 MCA 29	680,10	3,03	20 MCA 50-51	242,40	1,08
9 MCA 30-32	363,90	1,62	21 MCA 52-53	679,60	3,03
10 MCA 33	220,80	0,98	22 MCA 54	227,60	1,01
11 MCA 34	153,30	0,68	23 MCA 55	1599,90	7,13
12 MCA 35	91,50	0,41	24 MCA 56-57	1341,10	5,98

4.2.1.2. MCA Fraksiyonlarının Antioksidan Aktivite Sonuçları

MCA'dan elde edilen 24 fraksiyonun antioksidan aktivitesi, DPPH serbest radikali giderim aktivitesine göre standart olarak BHT kullanılarak belirlendi (Şekil 4.5). Ayrıca fraksiyonların toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları da tayin edildi.



Şekil 4-5: MCA Fraksiyonlarının DPPH Giderim Aktivitesi

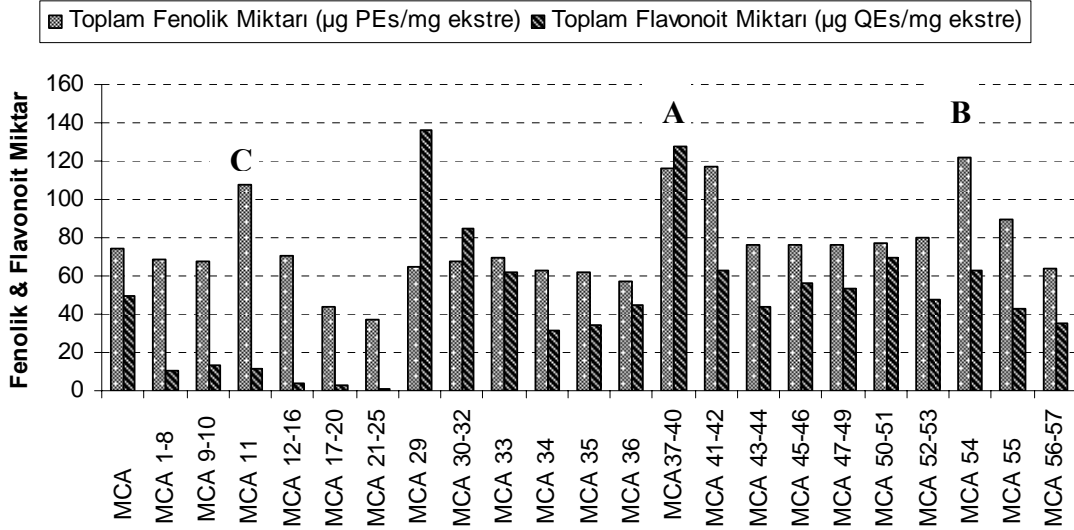
DPPH Aktivite Sırasına Göre Fraksiyonların Kodlanması

A: Birinci Aktif Fraksiyon (MCA 37-40)

B: İkinci Aktif Fraksiyon (MCA 54)

C: Üçüncü Aktif Fraksiyon (MCA 11)

Bu yöntemde MCA 37–40 en aktif, MCA 54 ikinci aktif ve MCA 11 üçüncü aktif fraksiyon olarak belirlendi.



Şekil 4-6: MCA Fraksiyonlarının Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarları

[A: Birinci Aktif Fraksiyon (MCA 37–40); B: İkinci Aktif Fraksiyon (MCA 54); C: Üçüncü Aktif Fraksiyon (MCA 11)]

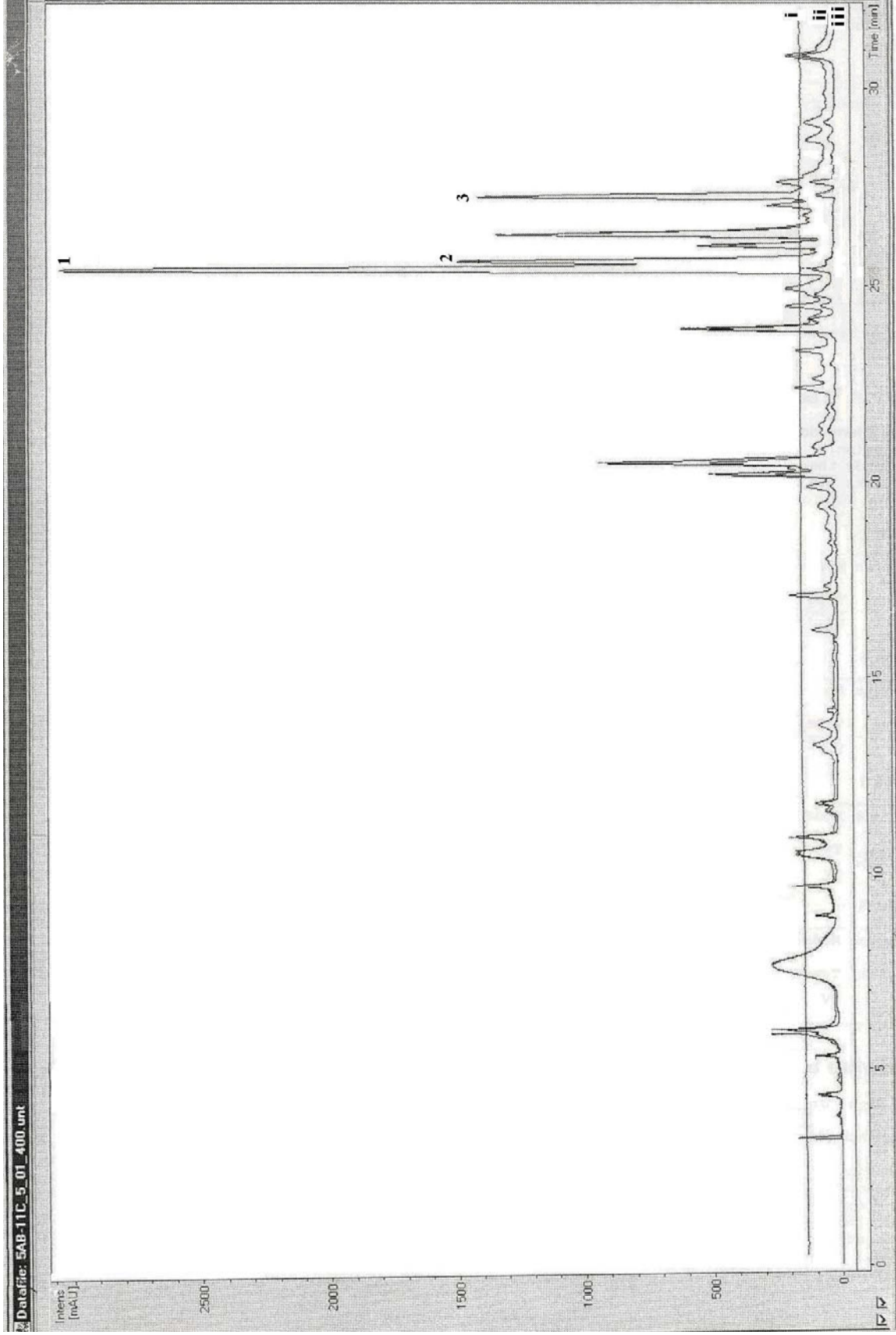
Şekil 4.6’da MCA fraksiyonlarının pirokatekole eşdeğer toplam fenolik ve kersetine eşdeğer toplam flavonoit miktarları verildi. Fraksiyonların DPPH serbest radikali giderme potansiyelleri toplam fenolik miktarı ile doğrudan ilişkilidir. DPPH serbest radikalini gidermede en aktif fraksiyon olan MCA 37-40’ın hem toplam fenolik hem de toplam flavonoit miktarı açısından en zengin fraksiyon olduğu belirlendi. İkinci aktif fraksiyon olan MCA 54’ün toplam fenolik miktarı açısından zengin olduğu ama toplam flavonoit miktarı açısından MCA 37–40 kadar zengin olmadığı tespit edildi. Üçüncü aktif fraksiyon olan MCA 11’in ise toplam fenolik miktarı açısından zengin olduğu, toplam flavonoit miktarı açısından oldukça fakir olduğu saptandı. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi sonuçlarını destekleyen bu iki tayin ile MCA 37–40, MCA 54 ve MCA 11’den madde saflaştırılması yoluna gidildi.

4.2.1.3. Birinci Aktif Fraksiyonun (MCA 37–40) LC-NMR Sonucu

MCA 37–40, LC-NMR cihazında bölüm 3.8.4’de verilen şartlarda analiz edildi. Bu çalışmada LC-NMR'a üç örnek verildi ve her bir örneğin kromatogramı alındı: bunlardan ilki sadece DPPH içeren çözelti (i), ikincisi MCA 37–40 (ii), üçüncüsü ise DPPH çözeltisinin MCA 37–40’a ilave edilmesiyle elde edilen çözeltidir (iii). (ii.) Kromatogramın 25 ile 27,5. dakikası arasında izlenen bazı piklerin, (iii.) kromatogramda kaybolduğu belirlendi (Şekil 4.7). Böylece, kaybolan piklerin DPPH serbest radikalini gideren antioksidan özellikteki maddelere ait olduğu saptandı.

Antioksidan etkiye sahip maddeleri saflaştırmak için MCA 37-40 (1,72 g) hekzan:kloroform:metanol (7:4:1) çözücü sisteminde çözülerek Sephadex LH-20 ile doldurulmuş kolona sıvı olarak tatbik edildi. Aynı çözücü sistemi kullanılarak elüsyon yapıldı. Benzer fraksiyonlar İTK yapılarak birleştirildi. Sonuç olarak MC–1, MC–2, MC–3 ve MC–4 kodlu 4 saf madde elde edildi, bu maddelerin yapıları spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatıldı.

Şekil 4.7’de verilen kromatogramda 1 numara ile gösterilen ve 25,5. dakikada gelen bileşiğin MC-4 (izomukronulatol), 2 numara ile gösterilen ve 25,7. dakikada gelen bileşiğin MC-3 (sudachitin), 3 numara ile gösterilen ve 27,2. dakikada gelen bileşiğin MC-2 (izotimonin 4'-metil eter) olduğu tespit edildi.

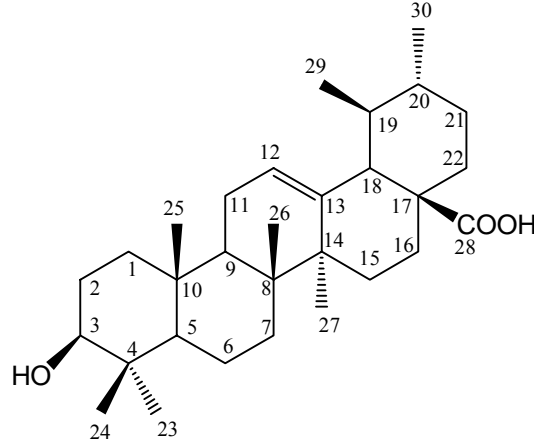


Şekil 4-7: MCA 37-40'ın LC-NMR Kromatogramı

1: İzomukronulato; **2:** Sudachitin; **3:** İzotimonin 4'-metil eter

4.2.1.4. Birinci Aktif Fraksiyondan (MCA 37-40) Elde Edilen Saf Maddelerin Yapı Tayinleri

❖ MC-1 = Ursolik Asit



Şekil 4-8: Ursolik Asit

Beyaz renkli olan MC-1 bileşiği amorf halde elde edildi. Silikajel plakta UV lamba (254 nm) altında görülmeyen bileşik serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) erguvan renk aldı.

UV spektrumunda (MeOH) 207 nm’de absorpsiyon verdi (Şekil 4.9).

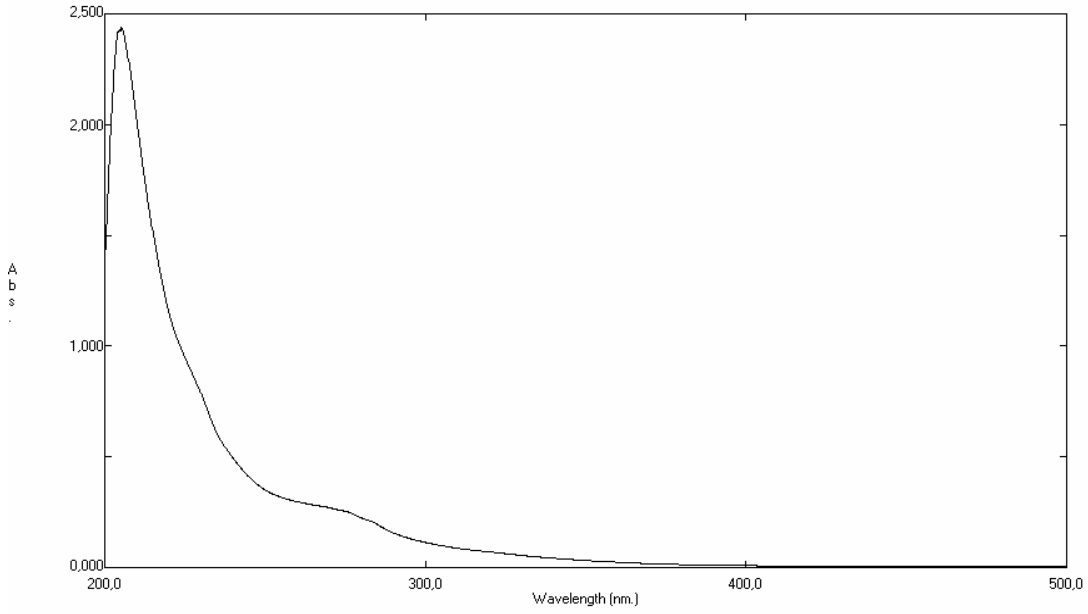
¹H-NMR spektrumunda (CDCl₃+CD₃OD, 400 MHz) (Şekil 4.10); δ 0.65 (3H, s, H-23), 0.69 (3H, s, H-24), 0.96 (3H, s, H-25), 0.85 (3H, s, H-26), 1.14 (3H, s, H-27), ve 0.97 (6H, d, J = 7.0 Hz, H-29 ve H-30)’de 7 metil piki izlendi. 3.07 ppm’de (1H, dd, J = 5.0; 10.0 Hz) hidroksil grubuna komşu proton (H-3), 5.11 ppm’de (1H, t, J = 4.0 Hz) vinilik proton (H-12) pikleri görüldü.

UV, ¹H- ve ¹³C-NMR (Şekil 4.11), DEPT 135 (Şekil 4.12) spektrumları değerlendirildiğinde MC-1 bileşiğinin triterpenik asit olduğu tespit edildi. Çifte bağın yeri kütle spektrumu ile belirlendi.

Kütle spektrumunda (EI-MS) (Şekil 4.13), m/z 456 [M]⁺ piki C₃₀H₄₈O₃ yapısını belirtti. Retro-Diels-Alder bölünmesi m/z 248’deki piki verdi, bu da çifte bağın C-12’de

olduğunu, 203 [248-COOH]⁺ piki ise karboksil grubunun C-17'de bulunduğunu gosterdi.

İTK'de standart madde ile ve literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında MC-1 bileşiğinin ursolik asit (şekil 4.8) (8.0 mg) olduğu belirlendi¹¹⁸.



şekil 4-9: Ursolik Asit'in UV Spektrumu

MEHMET/DR. IOBAL/MCA36-37R-28-1
1H

AVANCE 400
LAB. No. 117

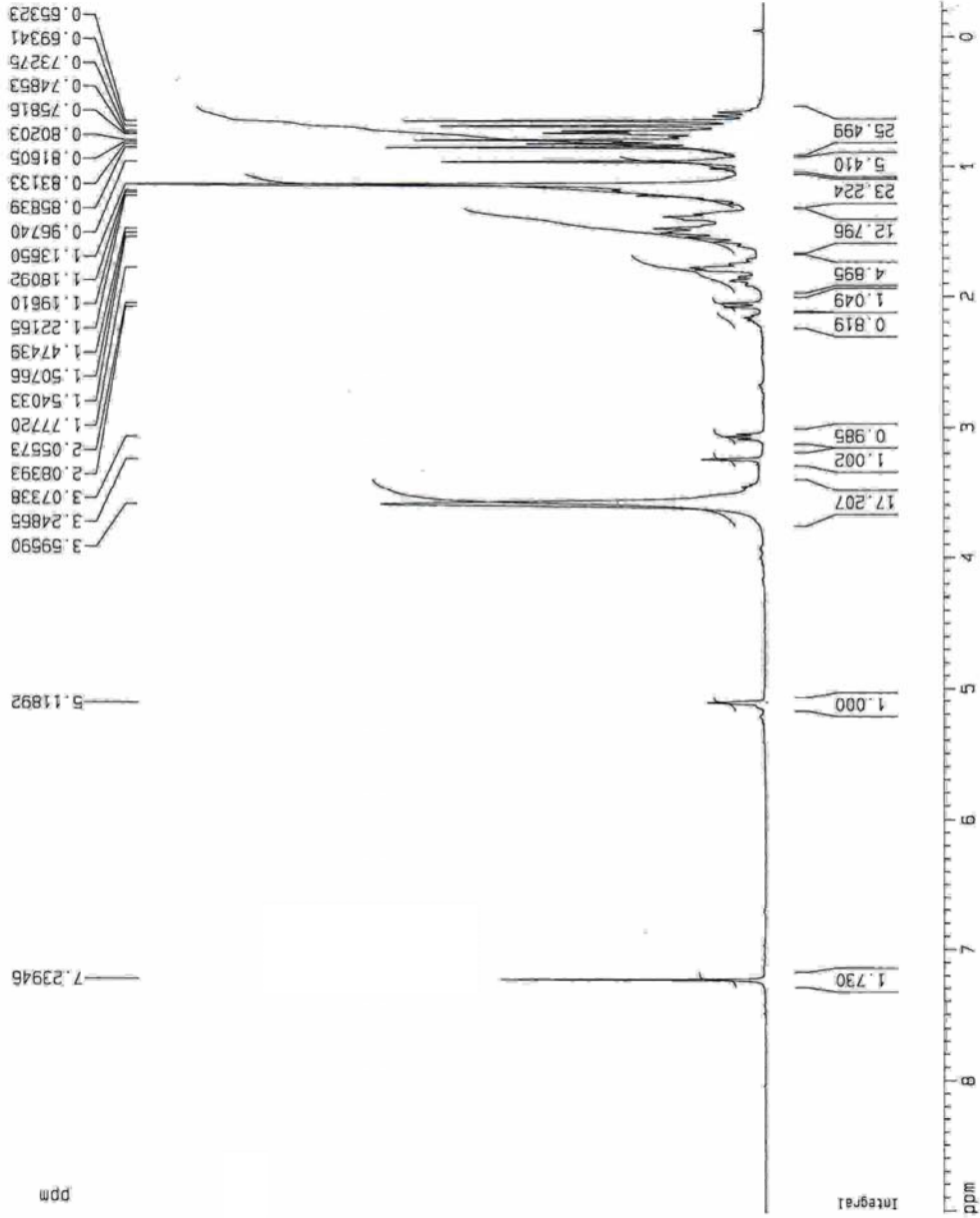
Current Data Parameters
 NAME apr02
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20070402
 Time 12.24
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG zg30
 TD 32768
 SOLVENT cdcl3+cd3od
 NS 128
 DS 0
 SWH 8620.669 Hz
 FIDRES 0.263083 Hz
 AQ 1.9005940 sec
 RG 645.1
 DM 56.000 usec
 DE 6.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 0.50000000 sec

***** CHANNEL f1 *****
 NUC1 1H
 P1 11.00 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 400.1329884 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 16384
 SF 400.1300173 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.40

1D NMR plot parameters
 CX 20.00 cm
 CY 20.00 cm
 FIP 9.021 ppm
 F1 3609.49 Hz
 F2P -0.261 ppm
 F2 -104.61 Hz
 PRNCM 0.46411 ppm/cm
 HZCN 185.70505 Hz/cm



Şekil 4-10: Ursolik Asit'in ¹H-NMR Spektrumu (CDCl₃ + CD₃OD, 400 MHz)

AVANCE 400
LAB. No. 117

MEHMET/DR. IOBAL/MCA36-37Fr28-1
C13 {BB}

Current Data Parameters
NAME mar31
EXPNO 1
PROCNO 1

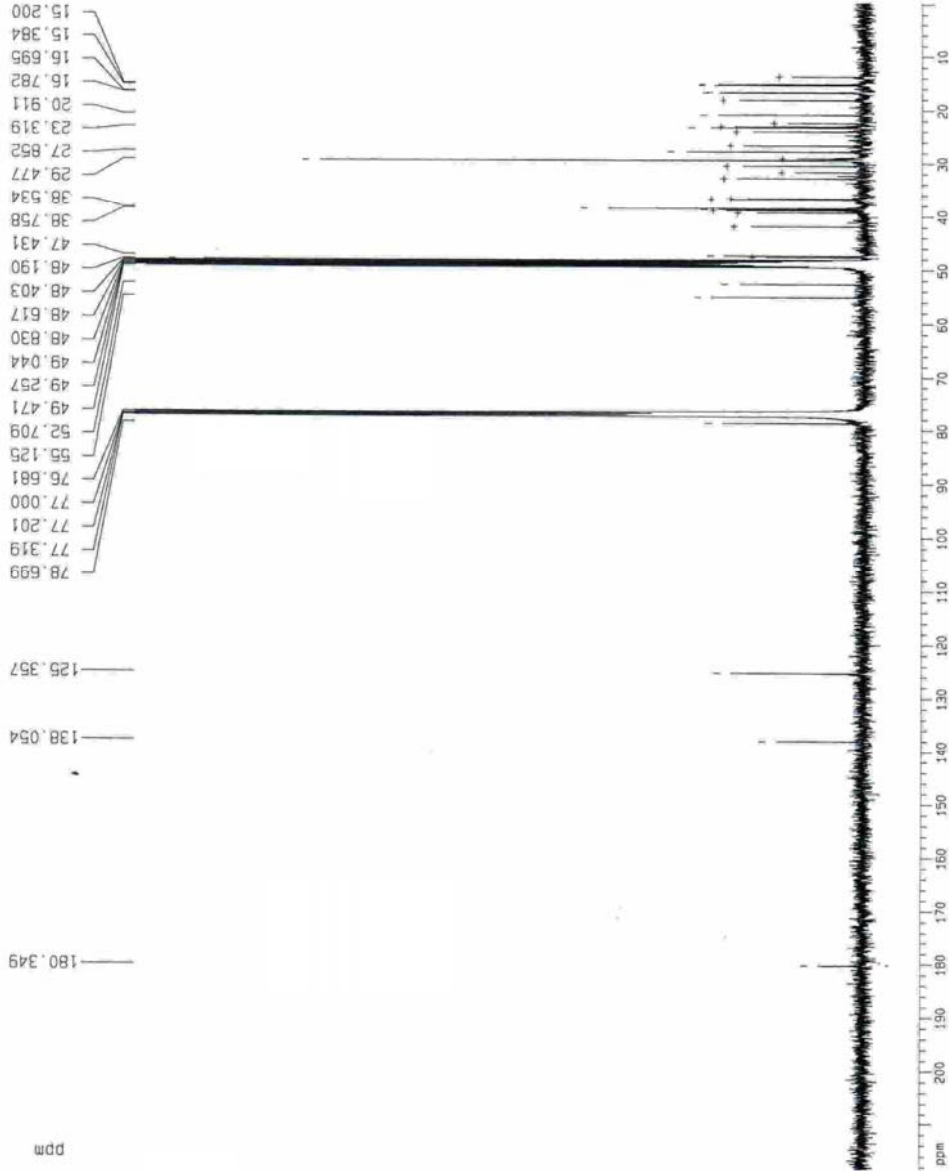
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20070331
Time 15.06
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm QNP 13C-1
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 40000
DS 2
SWH 26178.010 Hz
FIDRES 0.798889 Hz
AQ 0.6259188 sec
RG 16384
DK 19.100 usec
DE 20.00 usec
TE 300.0 K
D1 1.50000000 sec
d11 0.03000000 sec
d12 0.00002000 sec

***** CHANNEL f1 *****
NUC1 13C
P1 5.50 usec
PL1 0.00 dB
SFO1 100.6243395 MHz

***** CHANNEL f2 *****
CPOPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 100.00 usec
PL2 -3.00 dB
PL12 16.50 dB
PL13 16.50 dB
SFO2 400.1320007 MHz

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 100.6127160 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.50 Hz
GB 0
PC 1.40

1D NMR plot parameters
CX 20.00 cm
CY 180.00 cm
F1P 218.405 ppm
F1 21974.33 Hz
F2P -0.166 ppm
F2 -16.71 Hz
PPMCM 10.52855 ppm/cm
HZCM 1099.55188 Hz/cm



Şekil 4-11: Ursolik Asit'in ¹³C-NMR Spektrumu (CDCl₃ + CD₃OD, 100 MHz)

MEHMET/DR. IOBAL/MCA36-37Fr28-1
135#CH; CH3; /CH2;

AVANCE 400
IAB. No. 117

Current Data Parameters
NAME mar31
EXPNO 2
PROCNO 1

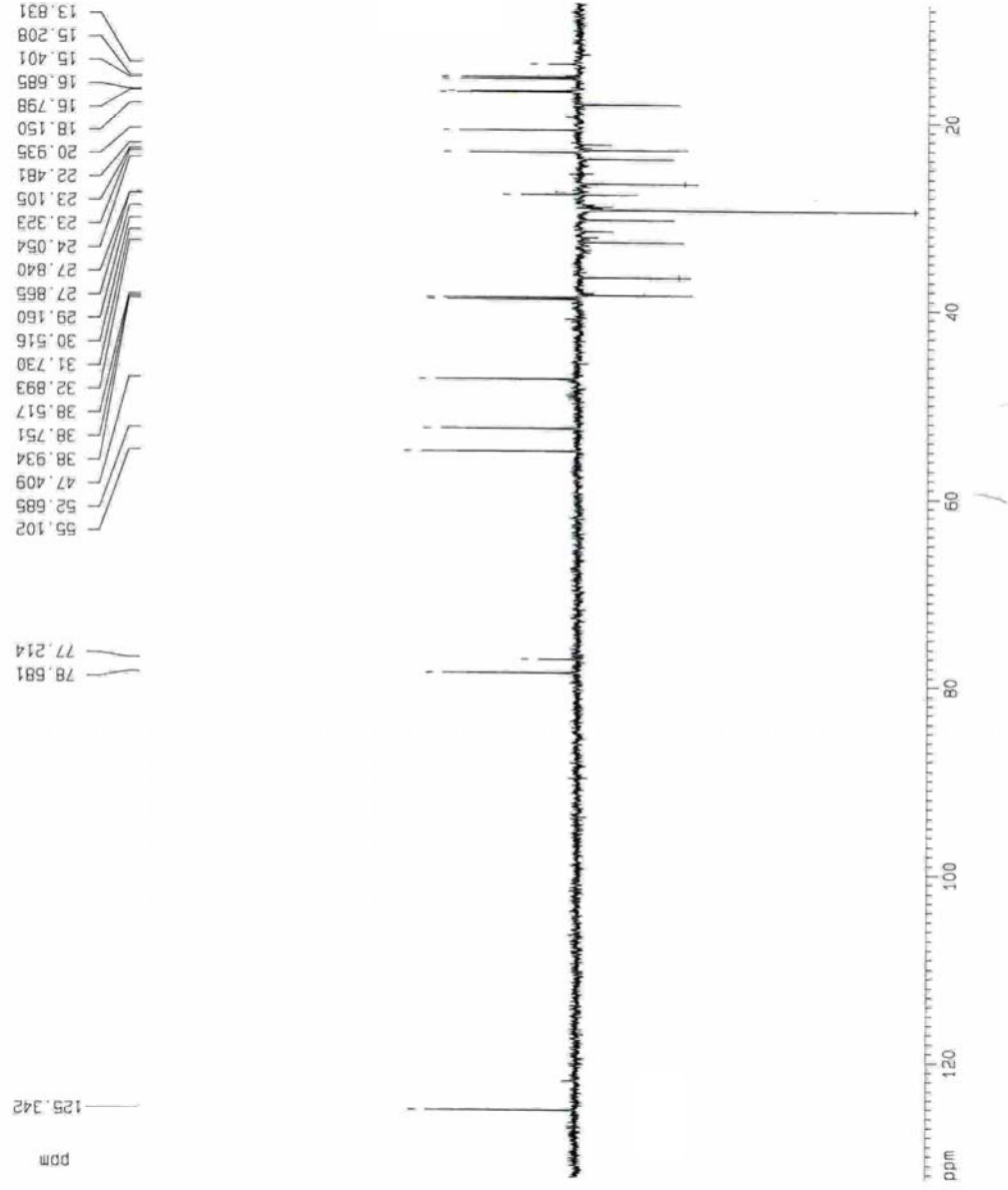
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20070402
Time 7.20
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG dept135
TD 32768
SOLVENT cdcl3/cd3od
NS 30000
DS 2
SWH 19157.088 Hz
FIDRES 0.584628 Hz
AQ 0.0592948 sec
RG 16384
GM 26.100 USEC
DE 50.00 USEC
TE 300.0 K
CNS12 145.0000000
D1 1.50000000 sec
d2 0.00348288 sec
d12 0.00802000 sec
DELTA 0.00000700 sec

***** CHANNEL f1 *****
NUC1 13C
P1 5.50 USEC
PL1 11.00 USEC
PL2 0.00 dB
SFO1 100.6218241 MHz

***** CHANNEL f2 *****
CQPRG2 waltz16
NUC2 1H
P3 11.00 USEC
P4 22.00 USEC
P5 100.00 USEC
PL2 -3.00 dB
PL12 16.50 dB
SFO2 400.1320007 MHz

F2 - Processing parameters
SI 16384
SF 100.6127760 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.50 Hz
GB 0
PC 1.40

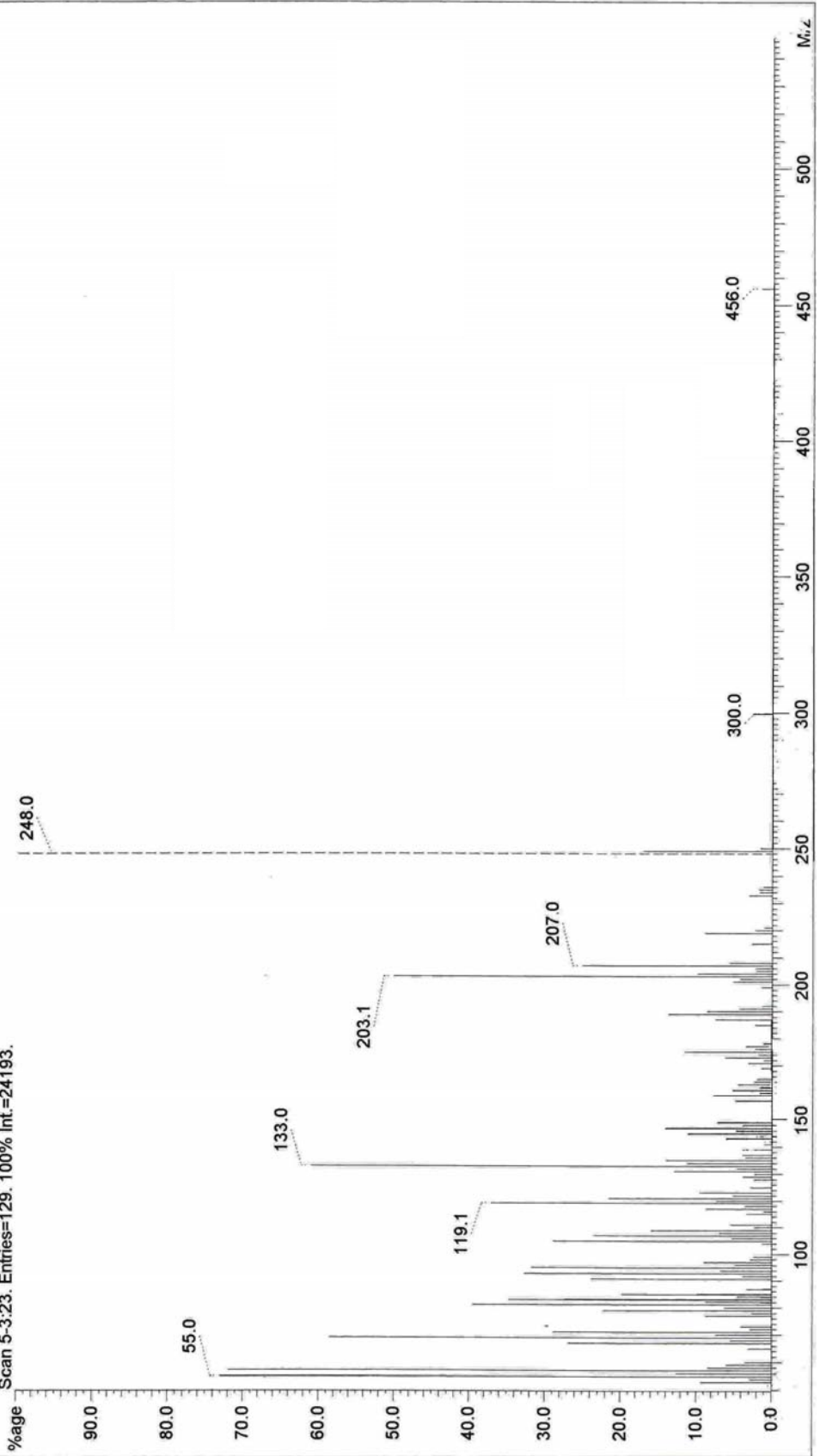
ID MR plot parameters
CX 20.00 cm
CY 6.00 cm
F1P 132.456 ppm
F1 13326.75 Hz
F2P 7.948 ppm
F2 799.40 Hz
APACK 6.65535 ppm/cm
AZCK 629.36835 Hz/cm



Şekil 4-12: Ursolik Asit'in DEPT 135 Spektrumu (CDCl₃ + CD₃OD, 100 MHz)

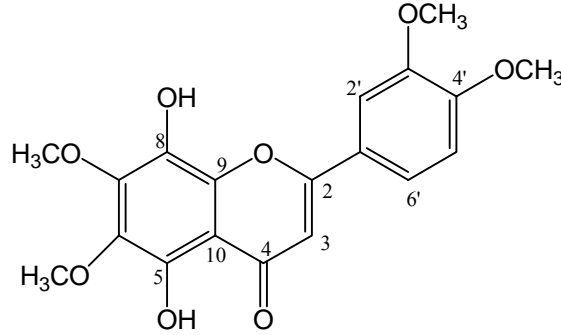
File Name : d:\mswin\data\mca328-1.mss
Creation Date/Time : 06/04/07 at 11:57:12
File Type : Lo-Res Mass Data (Centroid)
File Source : Acquired on MASPEC system [msw/A091]
File Title : EI
Operator : Barkat Ali
Instrument : MAT312

SCAN GRAPH. Flagging=M/z. Filter=[Int:1%.].
Scan 5-3:23. Entries=129. 100% Int.=24193.



Şekil 4-13: Ursolik Asit'in Kütle Spektrumu (EI-MS)

❖ MC-2 = İzotimonin 4'-metil eter (5,8-Dihidroksi-6,7,3',4'-tetrametoksi - flavon)



Şekil 4-14: İzotimonin 4'-metil eter

Sarı renkli olan MC-2 bileşiği amorf halde elde edildi.

Silikajel plakta UV lamba (254 nm) altında koyu mor görülen MC-2 bileşiği, serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu sarı bir renk aldı.

MC-2'nin EI-MS spektrumunda (Şekil 4.21) m/z 374'de izlenen $[M]^+$ piki $C_{19}H_{18}O_8$ kapalı formülünü verdi. MC-2 bileşiği selüloz plağa tatbik edilip % 30'luk CH_3COOH çözeltisinde yürütüldü. Selüloz plakta MC-2'ye ait lekenin UV lamba (366 nm) altında incelendiğinde mor, NH_3 buharına tutulup incelendiğinde mor ve NA belirteci püskürtüldüğünde mor renkte görülmesi C-5 konumunda $-OH$ ve C-3', C-4' konumlarında $-OCH_3$ gruplarının bulunabileceğini gösterdi.

Metanol içinde alınan UV spektrumunda Bant I 340 nm, Bant II 291 nm'de izlendi. Birkaç damla $NaOCH_3$ ilavesi ile alınan spektrumdaki Bant I'in orijinal Bant I'e göre şiddetinin fazla olması ve 10 nm kadar kısa dalga boyuna kayması (330 nm) C-4'ünde $-OCH_3$ grubunun bulunduğunu gösterdi. Ayrıca $NaOCH_3$ ilavesiyle alınan spektrumda Bant III'ün görülmemesi C-7'de süstitüent olduğunu düşündürdü.

MC-2'nin metanoldeki çözeltisine $AlCl_3$ eklenerek spektrum alındıktan sonra HCl ilavesiyle alınan spektrumdaki Bant I'de, orijinal Bant I'e göre 25 nm'lik kayma (365 nm) gözlenmesi C-6'da $-OCH_3$ grubunun bulunduğunu gösterdi.

MC-2'nin metanoldeki çözeltisine $NaOAc$ 'ın aşırısı ilave edilerek alınan spektrumdaki Bant I, $NaOCH_3$ ile alınan spektrumdaki Bant I'e yakın çıktığı için C-7'de $-OCH_3$ grubunun bulunduğu kesin olarak belirlendi. Daha sonra aynı çözeltiye

H₃BO₃ ilave edilerek alınan spektrumunda Bant I'in, orijinal Bant I ile yaklaşık aynı kaymayı göstermesi C-3' konumunda -OCH₃ grubunun olduğunu gösterdi. Kayma belirteçleri ile alınan UV spektrumları Şekil 4.15'de verildi.

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) (Şekil 4.17) ve DEPT 135 (Şekil 4.18) spektrumları değerlendirildiğinde MC-2'nin 4 metil, 4 metin ve 11 katerner karbon olmak üzere toplam 19 karbon içerdiği belirlendi.

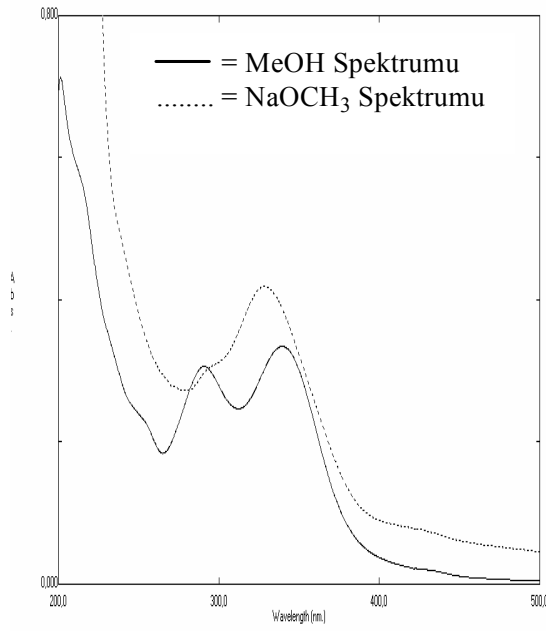
¹H-NMR spektrumunda (600 MHz, CDCl₃) (Şekil 4.16); δ 3.96 (3H, s), δ 3.97 (3H, s), δ 3.98 (3H, s) ve δ 4.12 (3H, s)'de izlenen sinyaller molekülde dört metoksi grubunun varlığını belirtti. UV kayma belirteçleri ile alınan spektrumlara bakılarak bu metoksi gruplarından ikisinin A halkasında C-6 ve C-7'de diğer ikisinin de B halkasında C-3' ve C-4' konumlarında bulunduğu belirlendi. 6.99 ppm'de (1H, d, J = 8.4 Hz) H-5', δ 7.41'de (1H, d, J = 1.8 Hz) H-2' ve 7.57 ppm'de (1H, dd, J = 1.9; 8.4 Hz) H-6'nın izlenmesi ile metoksi gruplarının yerleri kesin olarak belirlendi. 6.60 ppm'deki (1H, s) pik H-3 protonunu, 12.34 ppm'de (1H, s) izlenen pik C-5'deki OH grubuyla C-4'deki karbonil grubunun molekül içi hidrojen bağı yaptığını gösterdi. ¹H-NMR'da H-8'e ait sinyal görülmemesi ve ¹³C-NMR'da 132.9 ppm'de izlenen katerner karbonun varlığı, ayrıca kütle spektrumunda (Şekil 4.21) bileşiğin molekül ağırlığının 374 olarak çıkmasından dolayı C-8'de -OH grubunun olduğu belirlendi.

MC-2'nin yapısı UV, ¹H- ve ¹³C-NMR, DEPT 135, HMQC, HMBC ve kütle yöntemleri kullanılarak belirlendi. MC-2'ye ait ¹³C-NMR ile önemli HMQC (Şekil 4.19) ve HMBC (Şekil 4.20) değerleri Tablo 4.2'de verilmektedir.

Sentezi ilk defa 1948 yılında Murti ve Seshadri¹³⁰ tarafından yapılan MC-2 bileşiğinin spektral değerleri literatürdeki değerler ile karşılaştırıldı ve yapısı izotimonin 4'-metil eter (5,8-dihidroksi-6,7,3',4'-tetrametoksiflavon) (1.1 mg) (Şekil 4.14) olarak tespit edildi¹³¹. Literatür çalışmaları sonucu bu bileşiğin doğadan ilk defa elde edildiği belirlendi.

Tablo 4-2: MCA-2'nin ¹³C- NMR, HMQC ve HMBC Değerleri

Pozisyon	¹³ C-NMR	HMQC	HMBC
2	164,1		H-2', H-6'
3	103,8	H-3	
4	182,9		
5	149,2		
6	133,2		6-OCH ₃ , Hidrojen bağı
7	146,3		7-OCH ₃
8	132,9		
9	142,2		Hidrojen bağı
10	106,7		Hidrojen bağı
1'	123,9		H-5'
2'	108,8	H-2'	H-6'
3'	149,4		H-2', H-5', 3'-OCH ₃
4'	152,4		H-2', H-5', H-6', 4'-OCH ₃
5'	111,3	H-5'	
6'	120,1	H-6'	H-2'
3'-OCH ₃	56,1	3'-OCH ₃	
4'-OCH ₃	56,0	4'-OCH ₃	
6-OCH ₃	62,1	6-OCH ₃	
7-OCH ₃	61,5	7-OCH ₃	



UV Kayma Değerleri (λ_{max} , nm):

MeOH : 291, 340

NaOCH₃ : 293sh, 330

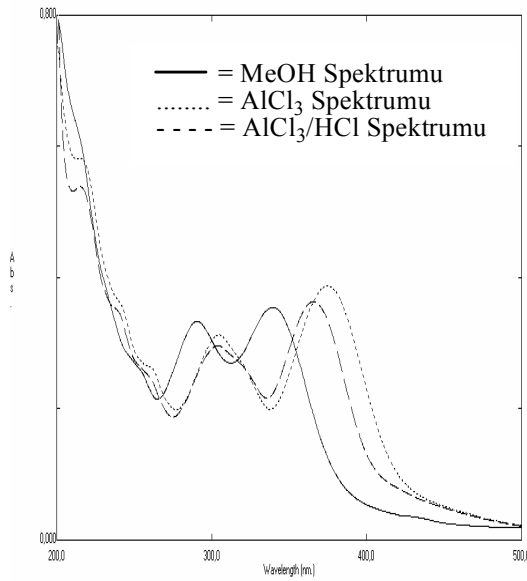
AlCl₃ : 241sh, 260sh, 305, 375

AlCl₃/HCl : 240sh, 259sh, 303, 320sh, 365

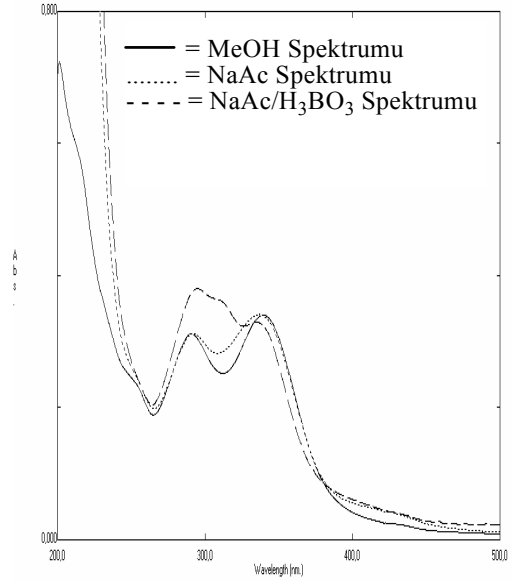
NaOAc : 292, 337

NaOAc/H₃BO₃: 295, 310sh, 337

NaOCH₃ Spektrumu



AlCl₃/HCl Spektrumu



NaOAc/H₃BO₃ Spektrumu

Şekil 4-15: İzotimonin 4'-metil eter'in Kayma Belirteçleriyle Alınan UV Spektrumları

Mehmet/Prof. Iqbal
 Sample: M-28FA-2

AVANCE AV 600
LAB. No. 108

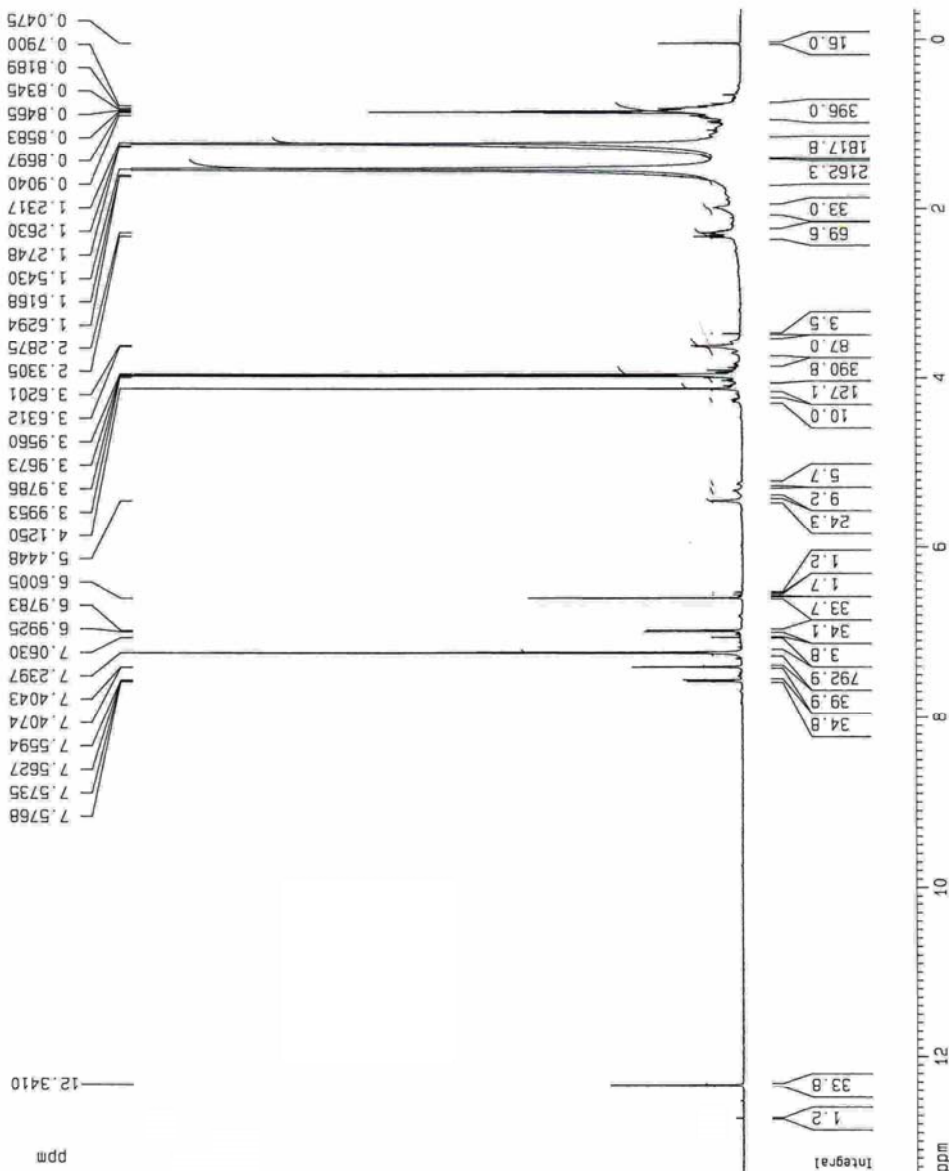
Current Data Parameters
 NAME May07
 EXPNO 9
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20070507
 Time 11.27
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm CPTCI 1H-
 PULPROG zg30
 TD 32768
 SOLVENT CDCl3
 NS 16
 DS 0
 SWH 8503.401 Hz
 FIDRES 0.259503 Hz
 AQ 1.9268672 sec
 RG 45.3
 DM 58.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 1.00000000 sec
 MCREST 0.00000000 sec
 MCWRR 0.01500000 sec

----- CHANNEL f1 -----
 NUC1 1H
 P1 7.50 usec
 PL1 3.30 dB
 SF01 600.2340215 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 16384
 SF 600.2300250 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.20

1D NMR plot parameters
 CX 20.00 cm
 CY 90.00 cm
 F1P 13.368 ppm
 F1 8023.58 Hz
 F2P -0.353 ppm
 F2 -211.93 Hz
 PPMCM 0.68603 ppm/cm
 HZCM 411.77551 Hz/cm



Şekil 4-16: İzotimonin 4'-metil eter'in ¹H-NMR Spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)

Mehmet/Prof. Iqbal

ANCE AV 600
LAB. No. 108

Current Data Parameters
NAME May07
EXPNO 14
PROCNO 1

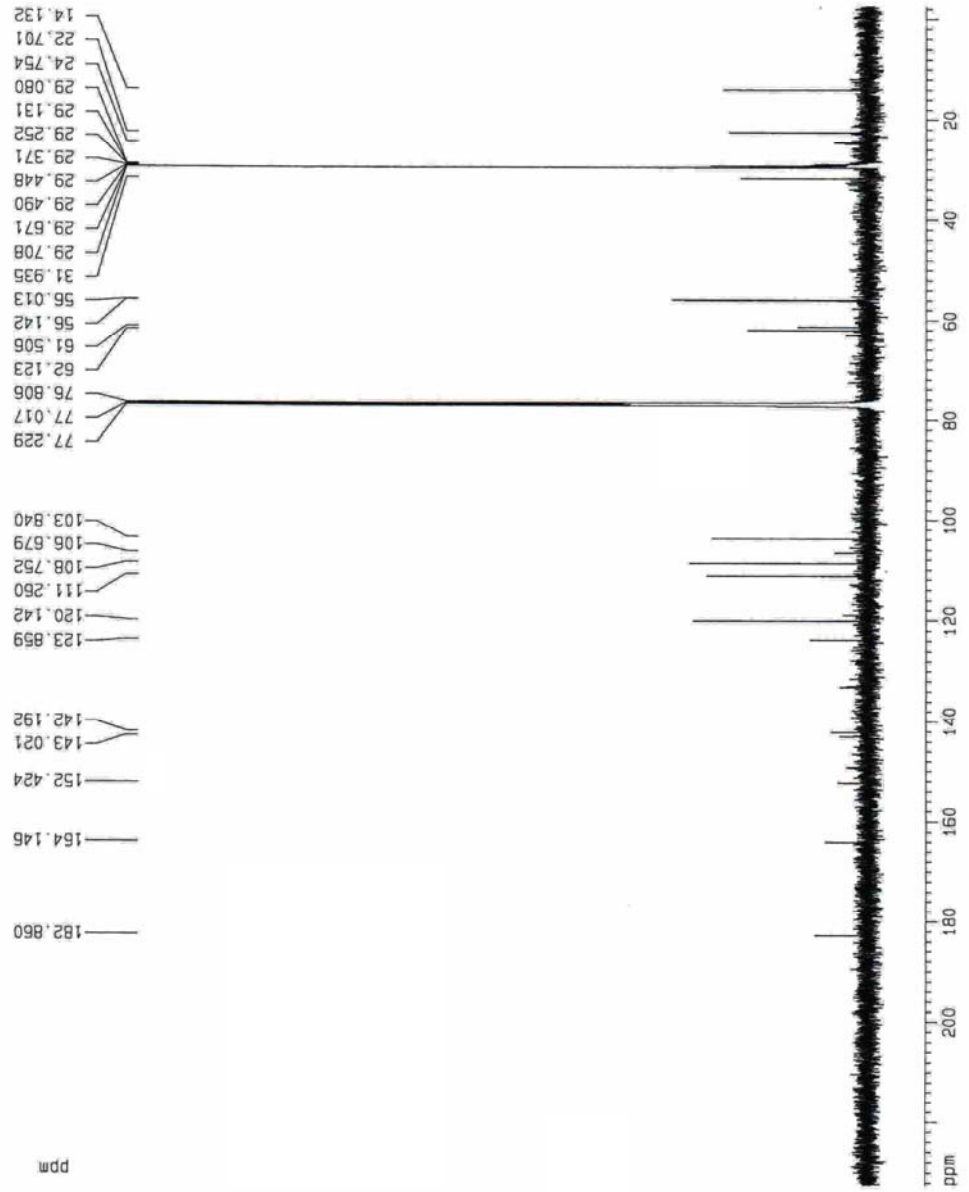
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20070507
Time 20.37
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm CPIC1 4H-
PULPROG zgpg
TD 65536
SOLVENT CDCl3
NS 14336
DS 4
SWH 35971.223 Hz
FIDRES 0.548877 Hz
AQ 0.9110143 sec
RG 32768
DM 13.900 usec
DE 6.00 usec
TE 300.0 K
D1 1.50000000 sec
d11 0.03000000 sec
DELTA 1.35000000 sec
WDECT 0.00000000 sec
WDRK 0.01500000 sec

***** CHANNEL f1 *****
NUC1 13C
P1 15.00 usec
PL1 -1.00 dB
SFO1 150.9453107 MHz

***** CHANNEL f2 *****
CPOPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 65.00 usec
PL2 3.30 dB
PL12 21.00 dB
PL13 27.00 dB
SFO2 600.2330011 MHz

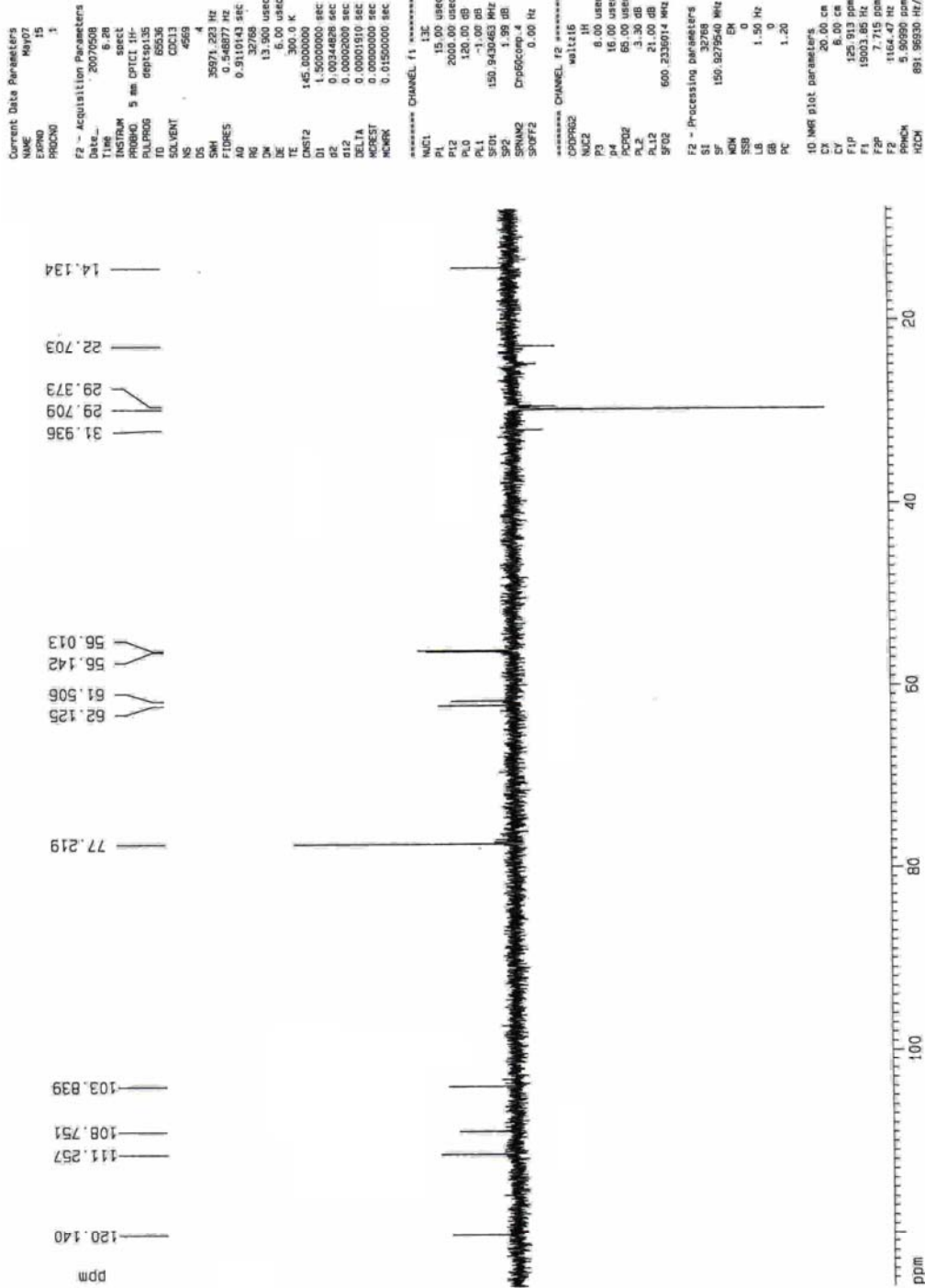
F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 150.9279540 MHz
WDW EN
SSB 0
LB 1.50 Hz
GB 0
PC 1.00

1D NMR plot parameters
CX 20.00 cm
CY 200.00 cm
FIP 232.471 ppm
F1 35086.44 Hz
F2 -2.471 ppm
F2 -373.00 Hz
PPhM 11.74714 ppm/cm
HZCM 1772.9760 Hz/cm



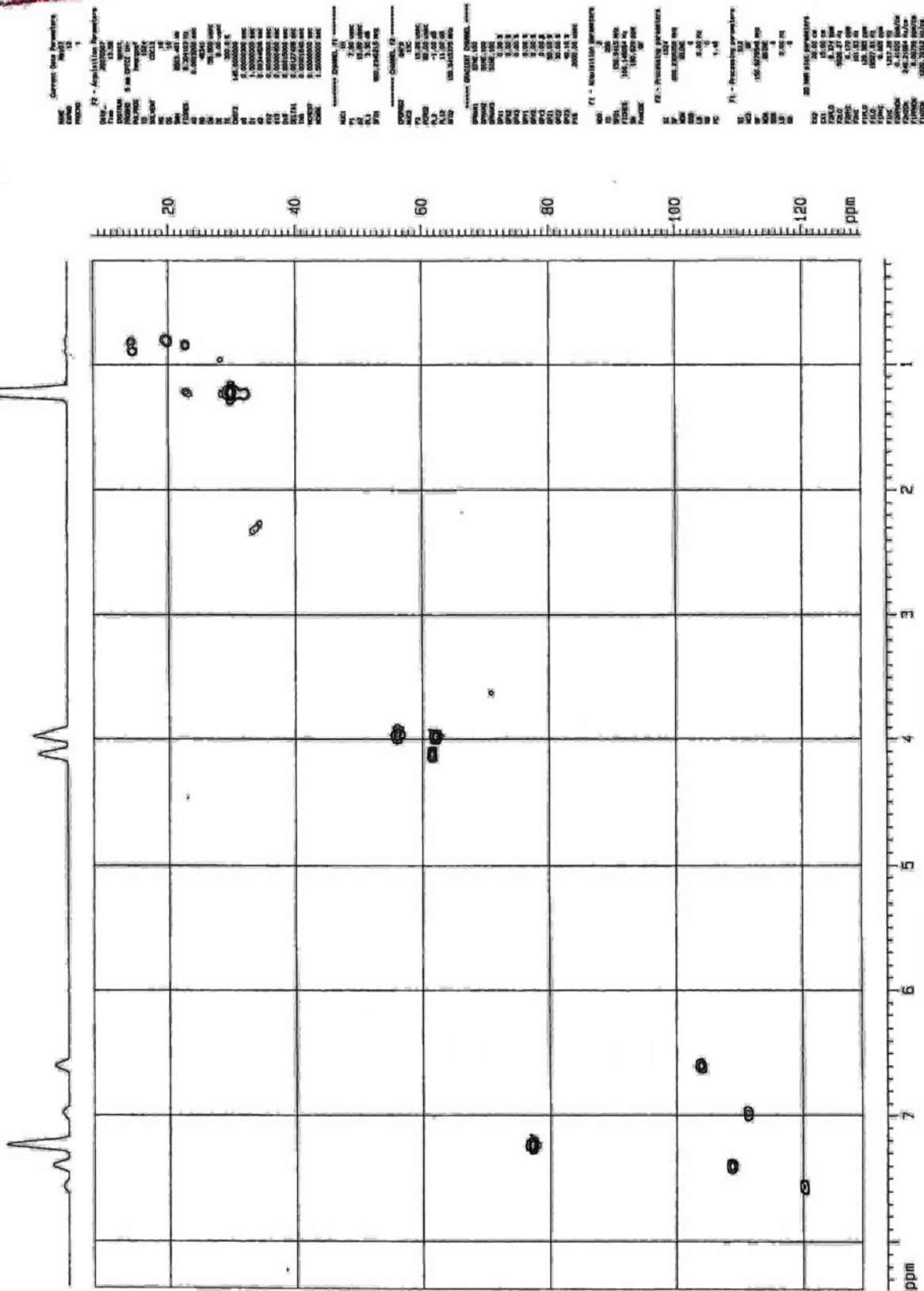
Şekil 4-17: İzotimonin 4'-metil eter'in ¹³C-NMR Spektrumu (CDCl₃, 150 MHz)

Mehmet/Prof. Iqbal
 Sample: M-28FR-2
 135# ch; ch3; /ch2;



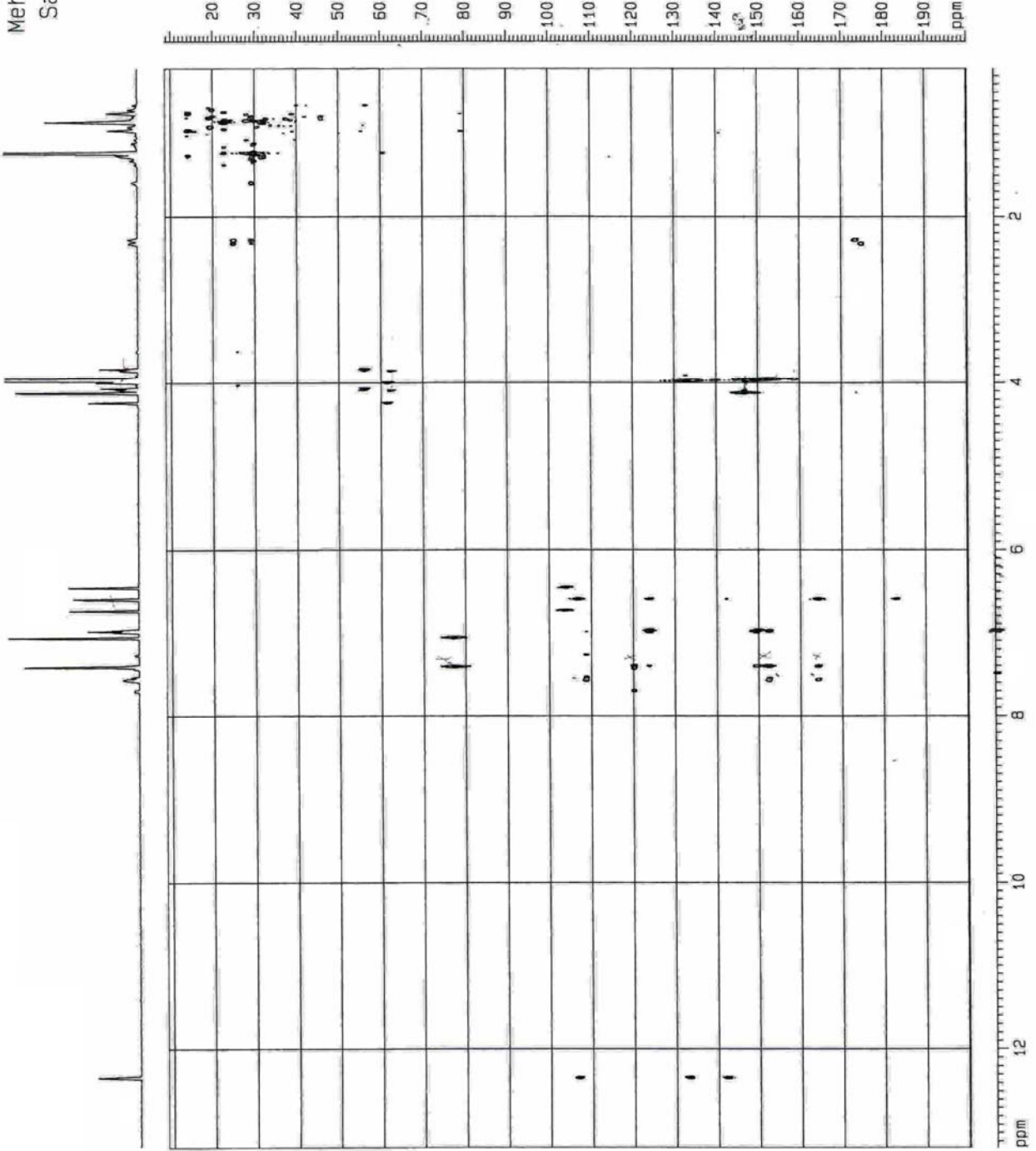
Şekil 4-18: İzotimonin 4'-metil eter'in DEPT 135 Spektrumu (CDCl₃, 150 MHz)

Mehmet/Prof. Iqbal
 Sample: M-28FR-a

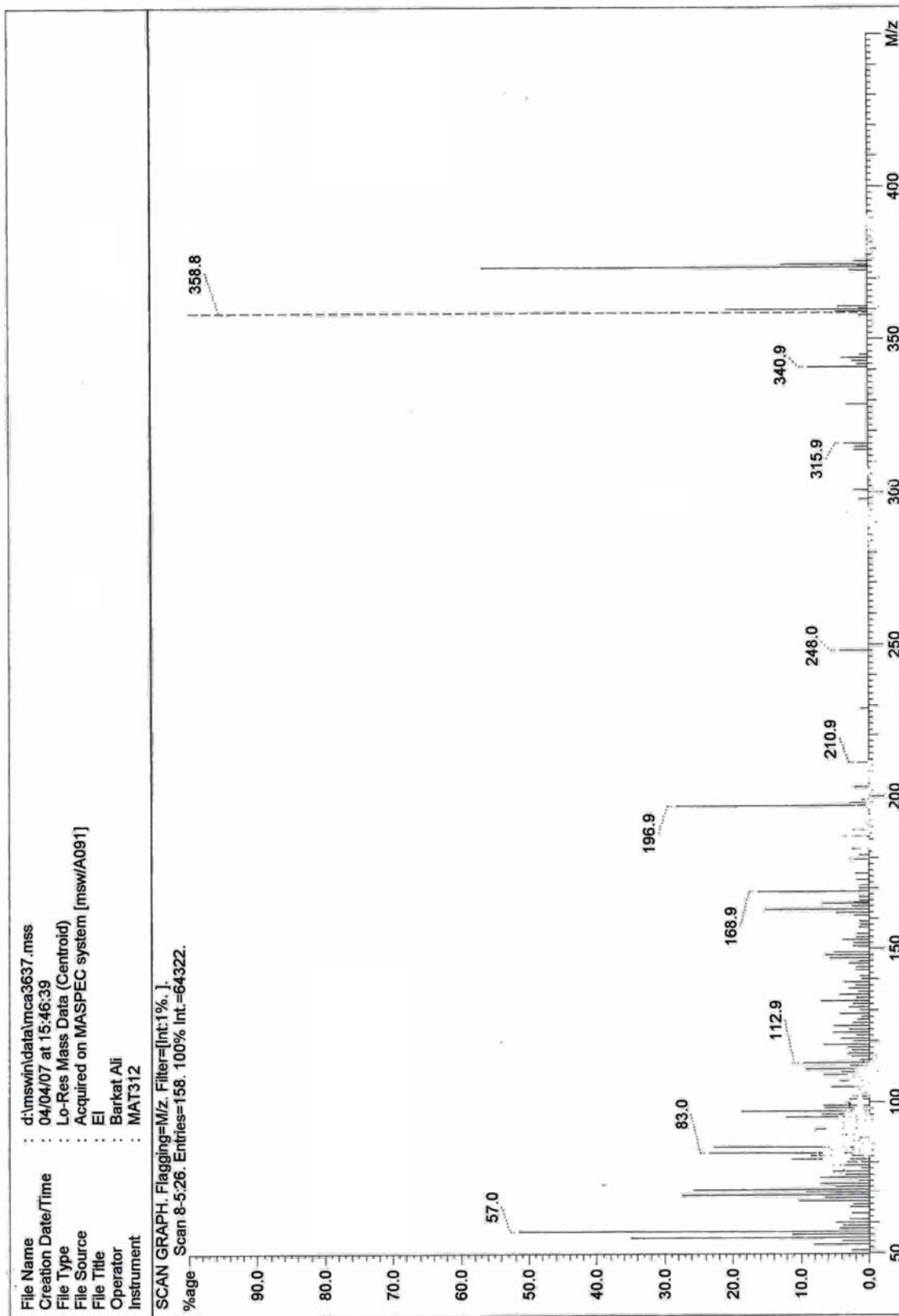


Şekil 4-19: İzotimonin 4'-metil eter'in HMQC Spektrumu (CDCl₃)

Mehmet/Prof. Iqbal
Sample: M-28FR-2

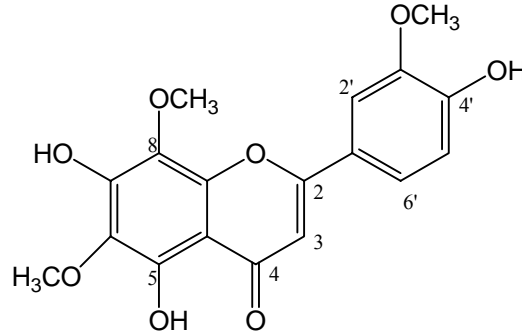


Şekil 4-20: İzotimonin 4'-metil eter'in HMBC Spektrumu (CDCl₃)



Şekil 4-21: İzotimonin 4'-metil eter'in Kütle Spektrumu (EI-MS)

❖ MC-3 = Sudachitin (5,7,4'-Trihidroksi-6,8,3'-trimetoksiflavon)



Şekil 4-22: Sudachitin

Sarı renkli olan MC-3 bileşiği amorf halde elde edildi.

Silikajel plakta UV lamba (254 nm) altında koyu mor görülen bileşik serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu sarı bir renk aldı.

MC-3'ün yapı tayininde UV, ¹H- ve ¹³C-NMR, DEPT 135, HMQC, HMBC ve Kütle yöntemleri kullanıldı. MC-3 bileşiği selüloz plağa tatbik edilip % 30'luk CH₃COOH sisteminde yürütüldü. Plaktaki lekenin UV lamba (366 nm) altında incelendiğinde koyu mor, NH₃ buharına tutulup incelendiğinde sarı ve NA belirteci püskürtülüp UV ışığı altında incelendiğinde sarı renkte görülmesi C-5 ve C-4' konumlarında -OH grubunun, C-3' konumunda -OCH₃ grubunun bulunabileceğini gösterdi .

Metanolde alınan UV spektrumunda Bant I 344 nm, Bant II 291 nm'de izlendi. Birkaç damla NaOCH₃ ilavesi ile alınan spektrumdaki Bant I'in şiddeti orijinal Bant I'den fazla olduğu ve 50 nm kayma (394 nm) gösterdiği için C-4'ünde -OH grubunun olduğu anlaşıldı. NaOCH₃ spektrumunda Bant III gözleendiği için C-7'de -OH grubunun bulunduğu düşünüldü.

MC-3'ün metanoldeki çözeltisine önce AlCl₃ eklendi, sonra HCl ilave edildi. AlCl₃/HCl spektrumundaki Bant I'de, orijinal Bant I'e göre 24 nm'lik kayma (368 nm) gözlenmesi C-6'da -OCH₃ grubunun bulunduğunu gösterdi.

NaOAc/H₃BO₃ ile alınan spektrumda Bant II, orijinal Bant II ile yaklaşık olarak aynı kaymayı gösterdiğinden ve NaOCH₃ ile alınan spektrumda Bant III izlendiğinden C-7'de –OH grubunun bulunduğu belirlendi. Bu spektrumdaki Bant I, orijinal spektrumdaki Bant I ile aynı kaymayı gösterdiğinden C-3'de –OCH₃ grubunun olabileceği düşünüldü. Kayma belirteçleri ile alınan UV spektrumları Şekil 4.23'de verildi.

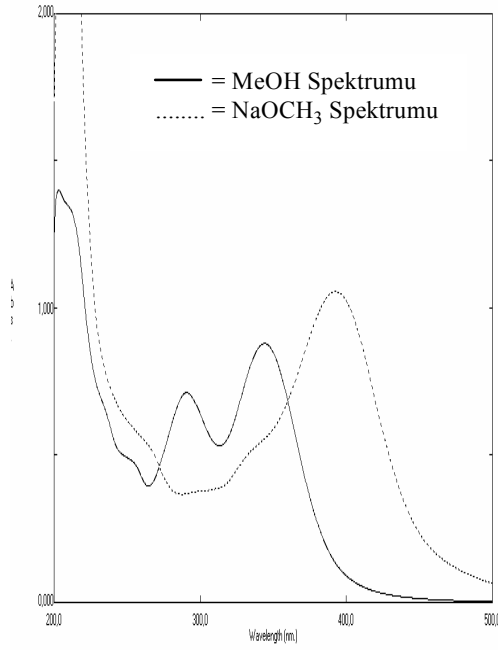
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) spektrumunda (Şekil 4.24); δ 3.98 (3H, s), δ 3.99 (3H, s) ve δ 4.12 (3H, s)'de izlenen pikler üç metoksi grubunun varlığını belirtti. UV kayma belirteçleri ile alınan spektrumlara bakılarak bu metoksi gruplarından birinin A halkasında C-6'da bulunduğu, bir diğerinin B halkasında C-3' konumunda bulunduğu tespit edildi. 7.03 ppm'de (1H, d, J = 8.3 Hz) H-5', 7.39 ppm'de (1H, d, J = 1.8 Hz) H-2' ve 7.52 ppm'de (1H, dd, J = 1.8; 8.4 Hz) H-6' izlendi. δ 6.68 (1H, s) piki H-3 protonunu, 12.34 ppm'de (1H, s) izlenen pik C-5'deki OH grubuyla C-4'deki karbonil grubunun molekül içi hidrojen bağı yaptığını gösterdi. ¹H-NMR'da H-8'e ait pikin görülmemesi, ¹³C-NMR, HMQC ve kütle spektrumları birlikte değerlendirildiğinde C-8'de –OCH₃ grubunun bulunduğu belirlendi. 5.44 ppm'de 4'-OH ve 5.99 ppm'de 7-OH sinyalleri izlendi.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) (Şekil 4.25) ve DEPT 135 (Şekil 4.26) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde 3 metil, 4 metin, ve 11 katerner karbon olmak üzere molekülün toplam 18 karbon içerdiği belirlendi. MC-3'e ait ¹³C-NMR değerleri ile önemli HMBC ve HMQC değerleri Tablo 4.3'de verildi.

Molekülün EI-MS spektrumunda (Şekil 4. 29) m/z 360'da [M]⁺ piki (C₁₈H₁₆O₈) izlendi. MC-3'ün spektral değerleri literatürdeki değerlerle karşılaştırıldığında¹³² bu bileşiğin sudachitin (mentocubanon; 5,7,4'-trihidroksi-6,8,3'-trimetoksiflavon) (12,1 mg) olduğu ve *Micromeria* türlerinden ilk defa elde edildiği tespit edildi (Şekil 4. 22).

Tablo 4-3: MCA-3'ün ¹³C- NMR, HMQC ve HMBC Değerleri

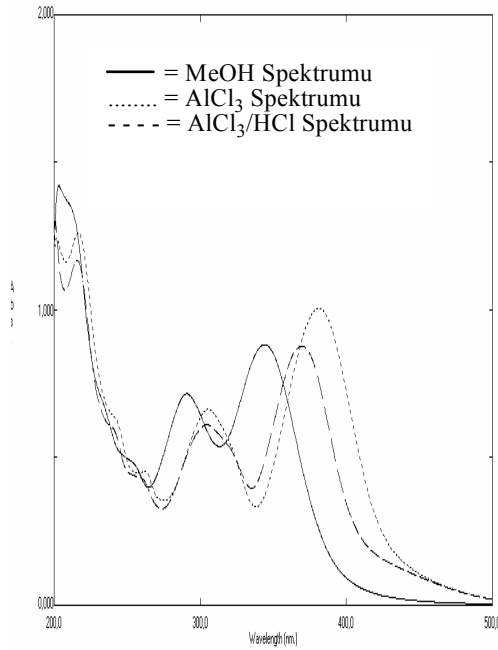
Pozisyon	¹³ C-NMR	HMQC	HMBC
2	164,2		H-3, H-2', H-6'
3	103,7	H-3	
4	182,9		
5	149,2		
6	133,3		6-OCH ₃ , Hidrojen bağı
7	149,4		
8	130,2		8-OCH ₃
9	146,7		Hidrojen bağı
10	106,7		Hidrojen bağı
1'	123,6		H-3, H-5'
2'	108,4	H-2'	H-3, H-6'
3'	146,9		H-2', H-5', H-6', 3'-OCH ₃
4'	149,4		
5'	115,1	H-5'	
6'	120,8	H-6'	H-2'
6-OCH ₃	62,1	6-OCH ₃	
8-OCH ₃	61,5	8-OCH ₃	
3'-OCH ₃	56,1	3'-OCH ₃	



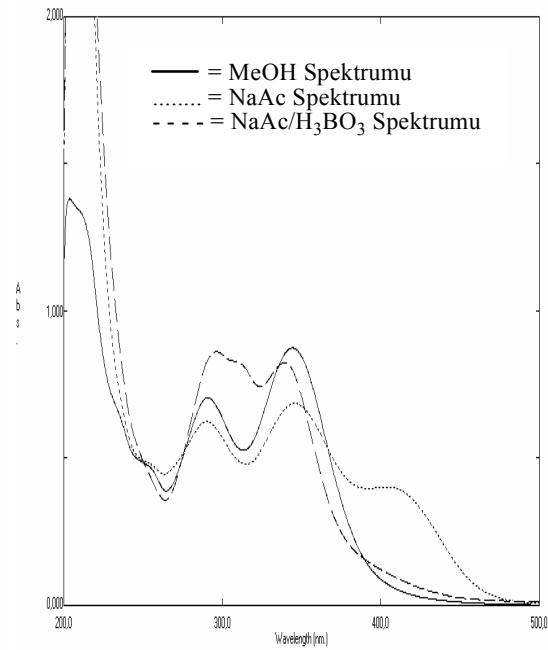
UV Kayma Değerleri (λ_{max} , nm):

MeOH	: 255sh, 291, 344
NaOCH₃	: 268sh, 330sh, 394
AlCl₃	: 262, 305, 380
AlCl₃/HCl	: 262, 305, 368
NaOAc	: 255sh, 291, 348, 407
NaOAc/H₃BO₃	: 295, 311, 339

NaOCH₃ Spektrumu



AlCl₃/HCl Spektrumu



NaOAc/H₃BO₃ Spektrumu

Şekil 4-23: Sudachitin'in Kayma Belirteçleriyle Alınan UV Spektrumları

MEHMET/DR. IOBAL
 Sample: MCA.39.40S.32.40

AVANCE 500
 LAB: No: 118

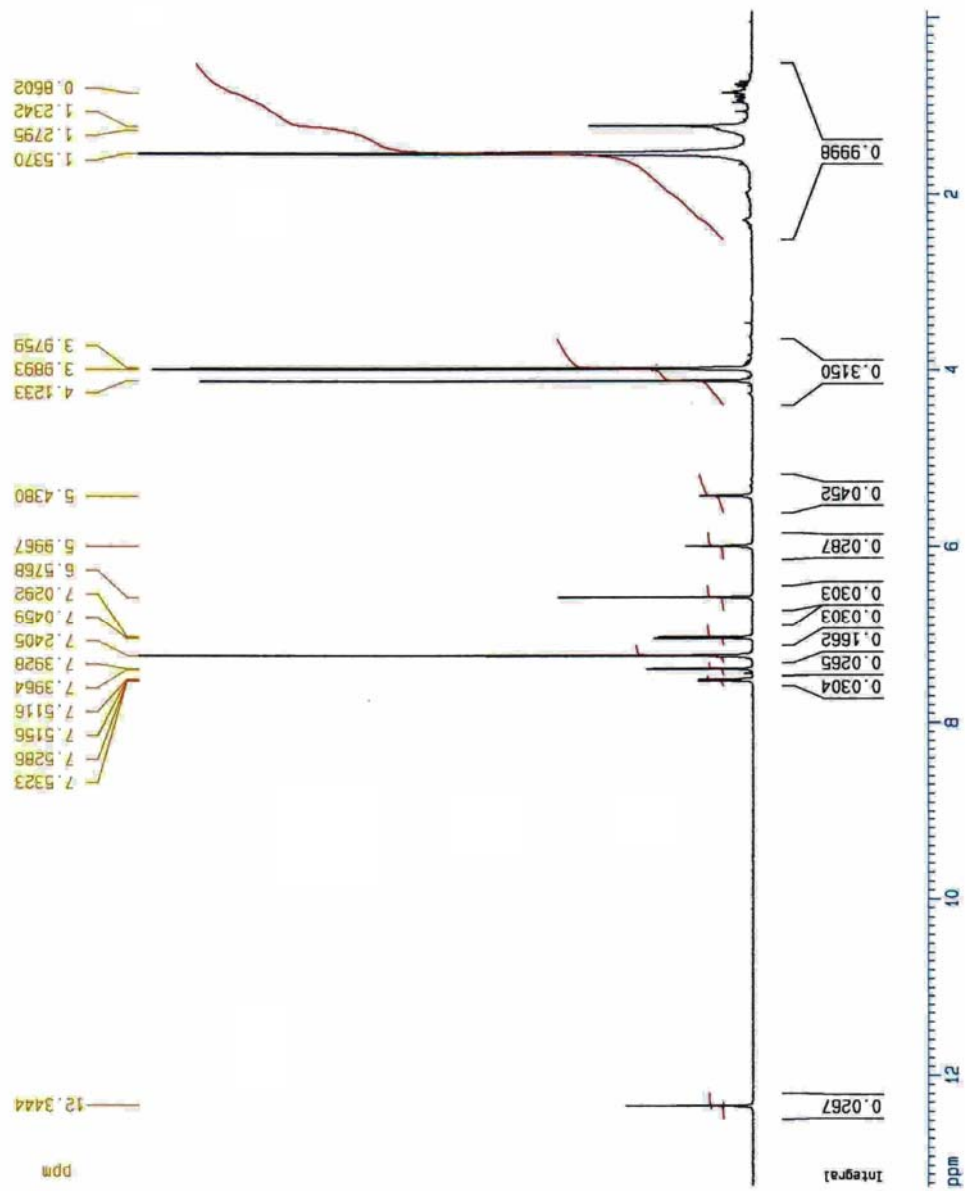
Current Data Parameters
 NAME apr04
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20070404
 Time 11.16
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm TXI 1H-13
 PULPROG zg30
 TD 32768
 SOLVENT CDCl3
 NS 32
 DS 0
 SWH 10330.578 Hz
 FIDRES 0.315264 Hz
 AQ 1.5860696 sec
 RG 724.1
 DM 48.400 usec
 DE 6.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 0.20000000 sec

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 7.50 usec
 PL1 -3.00 dB
 SF01 500.2330891 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 16384
 SF 500.2300192 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00

1D NMR plot parameters
 CX 20.00 cm
 CY 12.00 cm
 F1P 13.236 ppm
 F1 6621.09 Hz
 F2P -0.071 ppm
 F2 -35.37 Hz
 PPM0H 0.66534 ppm/cm
 HZCM 332.82297 Hz/cm



Şekil 4-24: Sudachitin'in ¹H-NMR Spektrumu (CDCl₃, 500 MHz)

AVANDE 400
LAB. No. 117

MEHMET/DR. IOBAL/MCA39-40S32-40
C13 (BB)

Current Data Parameters
NAME apr05
EXPNO 5
PROCNO 1

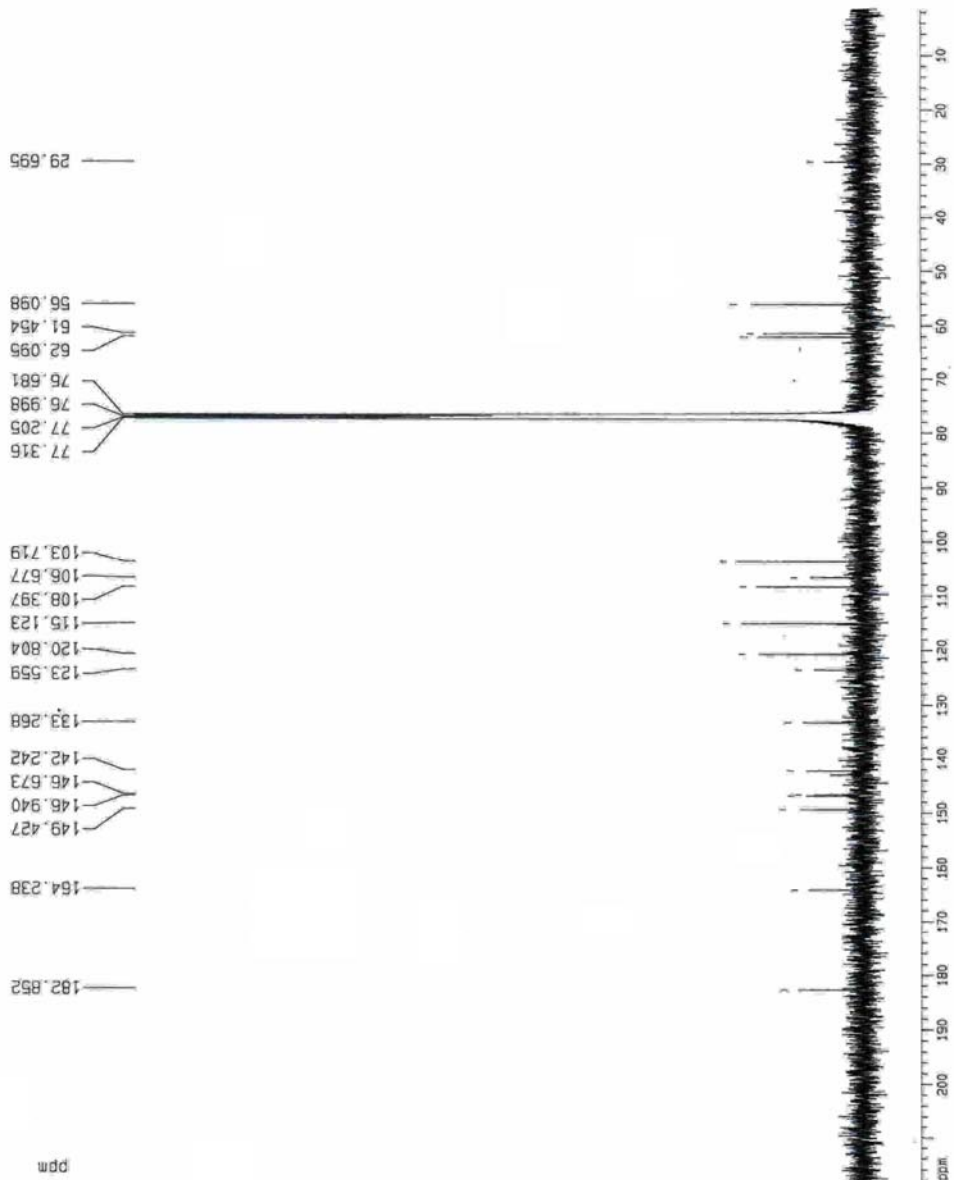
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20070405
Time 12.41
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm DUL J3C-1
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 40480
DS 2
SWH 26176.010 Hz
FIDRES 0.798889 Hz
AQ 0.6259188 sec
RG 16384
DN 19.100 usec
DE 20.00 usec
TE 300.0 K
d1 1.50000000 sec
d11 0.03000000 sec
d12 0.00002000 sec

***** CHANNEL f1 *****
NUC1 13C
P1 5.50 usec
PL1 0.00 dB
SFO1 100.6243395 MHz

***** CHANNEL f2 *****
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 100.00 usec
PL2 -3.00 dB
PL12 16.50 dB
PL13 16.50 dB
SFO2 400.1320007 MHz

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 300.6127672 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.50 Hz
GB 0
PC 1.40

ID NMR plot parameters
CX 20.00 cm
CY 300.00 cm
F1P 218.867 ppm
F1 22020.84 Hz
F2P 1.421 ppm
F2 142.96 Hz
PPMKX 10.87232 ppm/cm
HZCX 1093.88368 Hz/cm



Şekil 4-25: Sudachitin'in ¹³C-NMR Spektrumu (CDCl₃, 100 MHz)

MEHMETDR. IOBAL/MCA39-40S32-40
135#CH; CH3; /CH2;

129.16 177

```

Current Data Parameters
NAME      apr08
EXPNO    1
PROCNO   1

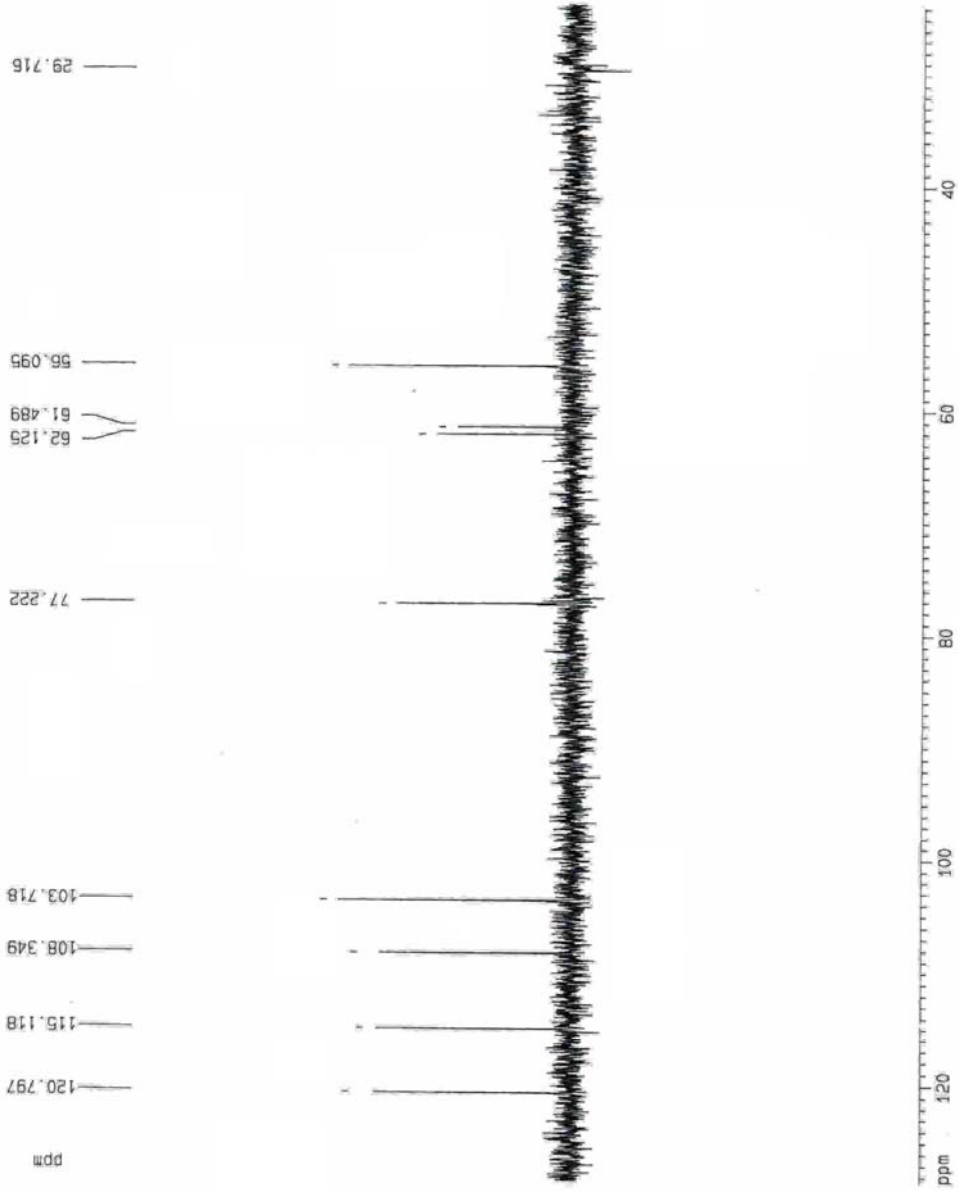
F2 - Acquisition Parameters
Date_    20070407
Time     7.11
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm QNP 13C-1
PULPROG  zgpg30
TD        65536
SOLVENT  CDCl3
NS        3000
DS        2
SWH       19157.068 Hz
FIDRES   0.384628 Hz
AQ        0.8952948 sec
RG         16384
DK        26.100 usec
DE        50.00 usec
TE        300.0 K
CNS12    145.0000000
D1        1.50000000 sec
d2        0.00344628 sec
d12       0.00002000 sec
DELTA    0.00000700 sec

===== CHANNEL f1 =====
NUC1     13C
P1        5.50 usec
P2        11.00 usec
PL1       0.00 dB
SFO1     100.6218241 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2  waltz16
NUC2     1H
P3        11.00 usec
P4        22.00 usec
PCPD2    100.00 usec
PL2       -3.00 dB
PL12      16.50 dB
SFO2     400.1320007 MHz

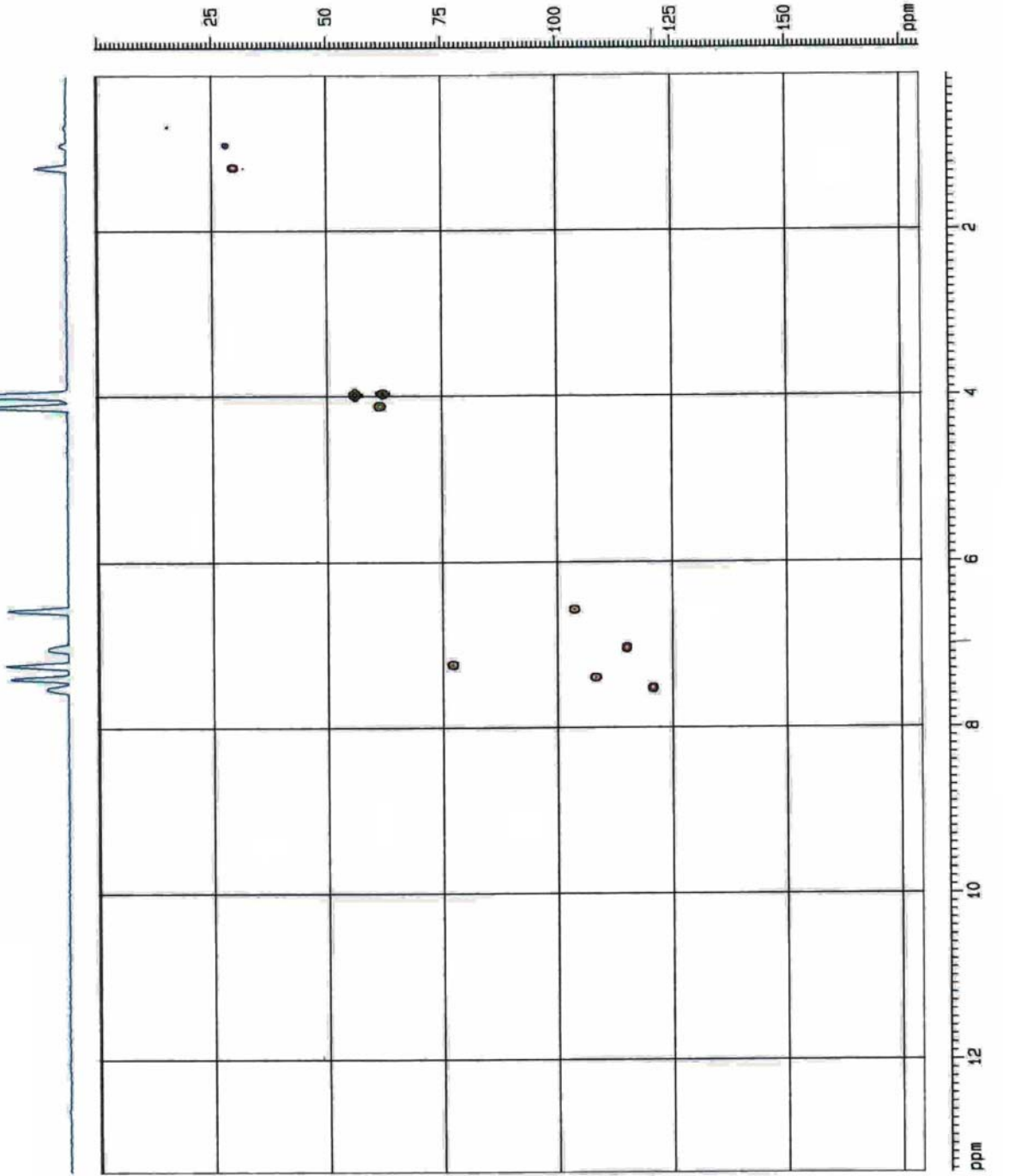
F2 - Processing parameters
SI        16384
SF        100.6127672 MHz
WDW       EM
SSB       0
LB        1.50 Hz
GB        0
PC        1.40

1D NMR plot parameters
CX        20.00 cm
CY        4.00 cm
FAP       128.624 ppm
F1        12928.14 Hz
F2        23.749 ppm
FZ        2385.46 Hz
PNUC1    5.23724 ppm/cm
NUC1N    926.93395 Hz/cm
    
```



Şekil 4-26: Sudachitin'in DEPT 135 Spektrumu (CDCl₃, 100 MHz)

MEHMET/DR. IQBAL
 Sample: MCA.39.40S.32.40



Convert Data Parameters
 Name: MCA3940
 Product: MCA3940

F2 - Acquisition Parameters
 Date_: 20070424
 Time: 18.08
 Instrument: spect
 PROBHD: 5 mm TCI 1H-13
 PULPROG: zgpg30
 TD: 65536
 CH2: 4094
 SFO: 125.760180
 AS: 500.130450
 DS: 4
 SWH: 1611.5182
 FIDRES: 0.48217 Hz
 AQ: 0.072640 sec
 RG: 327.500
 GB: 8.00 umic
 TE: 300.2 K
 CHFT2: 145.000000 sec
 SI: 1.00000000 sec
 EI: 1.00000000 sec
 E2: 0.00140000 sec
 E3: 0.00140000 sec
 E4: 0.00140000 sec
 E5: 0.00140000 sec
 E6: 0.00140000 sec
 E7: 0.00140000 sec
 E8: 0.00140000 sec
 E9: 0.00140000 sec
 E10: 0.00140000 sec
 E11: 0.00140000 sec
 E12: 0.00140000 sec
 E13: 0.00140000 sec
 E14: 0.00140000 sec
 E15: 0.00140000 sec
 E16: 0.00140000 sec
 E17: 0.00140000 sec
 E18: 0.00140000 sec
 E19: 0.00140000 sec
 E20: 0.00140000 sec

***** CHANNEL F1 *****
 NUC1: 13C
 P1: 7.00 umic
 PL1: 0.00 dB
 PL2: -5.00 dB
 PL3: -5.00 dB
 PL4: 500.232000 MHz

***** CHANNEL F2 *****
 NUC2: 1H
 P2: 15.00 umic
 PL2: 0.00 dB
 PL3: -5.00 dB
 PL4: -5.00 dB
 PL5: 125.760180 MHz

***** GRABENT CHANNEL *****
 SFO1: 125.760180 MHz
 SFO2: 500.130450 MHz
 SFO3: 0.00 MHz
 SFO4: 0.00 MHz
 SFO5: 0.00 MHz
 SFO6: 0.00 MHz
 SFO7: 0.00 MHz
 SFO8: 0.00 MHz
 SFO9: 0.00 MHz
 SFO10: 0.00 MHz
 SFO11: 0.00 MHz
 SFO12: 0.00 MHz
 SFO13: 0.00 MHz
 SFO14: 0.00 MHz
 SFO15: 0.00 MHz
 SFO16: 0.00 MHz
 SFO17: 0.00 MHz
 SFO18: 0.00 MHz
 SFO19: 0.00 MHz
 SFO20: 0.00 MHz

F1 - Acquisition Parameters
 SI: 1.00000000 sec
 SF: 500.130450 MHz
 SFO1: 125.760180 MHz
 SFO2: 500.130450 MHz
 SFO3: 0.00 MHz
 SFO4: 0.00 MHz
 SFO5: 0.00 MHz
 SFO6: 0.00 MHz
 SFO7: 0.00 MHz
 SFO8: 0.00 MHz
 SFO9: 0.00 MHz
 SFO10: 0.00 MHz
 SFO11: 0.00 MHz
 SFO12: 0.00 MHz
 SFO13: 0.00 MHz
 SFO14: 0.00 MHz
 SFO15: 0.00 MHz
 SFO16: 0.00 MHz
 SFO17: 0.00 MHz
 SFO18: 0.00 MHz
 SFO19: 0.00 MHz
 SFO20: 0.00 MHz

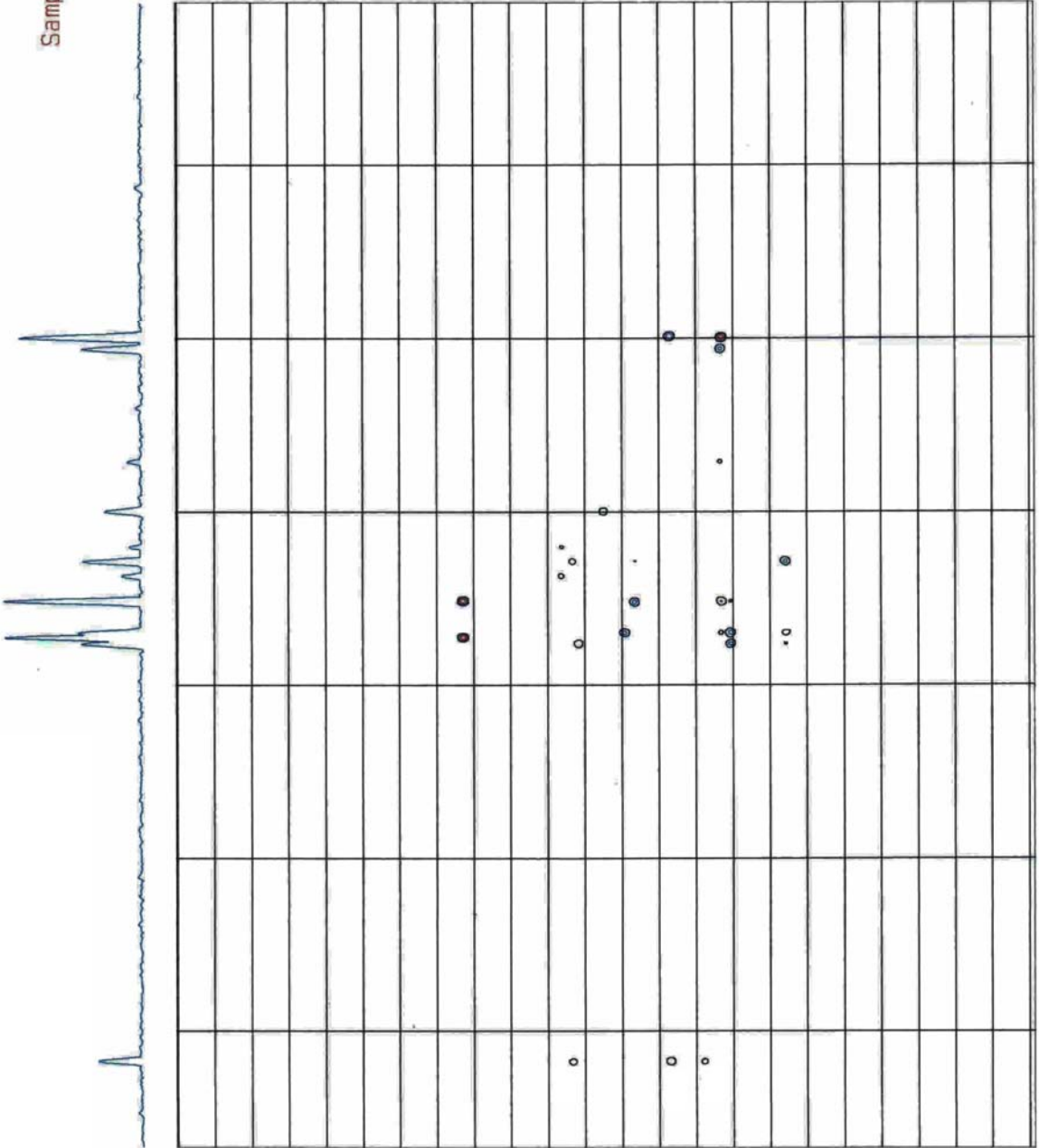
F2 - Processing parameters
 SI: 1.00000000 sec
 SF: 500.130450 MHz
 SFO1: 125.760180 MHz
 SFO2: 500.130450 MHz
 SFO3: 0.00 MHz
 SFO4: 0.00 MHz
 SFO5: 0.00 MHz
 SFO6: 0.00 MHz
 SFO7: 0.00 MHz
 SFO8: 0.00 MHz
 SFO9: 0.00 MHz
 SFO10: 0.00 MHz
 SFO11: 0.00 MHz
 SFO12: 0.00 MHz
 SFO13: 0.00 MHz
 SFO14: 0.00 MHz
 SFO15: 0.00 MHz
 SFO16: 0.00 MHz
 SFO17: 0.00 MHz
 SFO18: 0.00 MHz
 SFO19: 0.00 MHz
 SFO20: 0.00 MHz

F1 - Processing parameters
 SI: 1.00000000 sec
 SF: 125.760180 MHz
 SFO1: 125.760180 MHz
 SFO2: 125.760180 MHz
 SFO3: 0.00 MHz
 SFO4: 0.00 MHz
 SFO5: 0.00 MHz
 SFO6: 0.00 MHz
 SFO7: 0.00 MHz
 SFO8: 0.00 MHz
 SFO9: 0.00 MHz
 SFO10: 0.00 MHz
 SFO11: 0.00 MHz
 SFO12: 0.00 MHz
 SFO13: 0.00 MHz
 SFO14: 0.00 MHz
 SFO15: 0.00 MHz
 SFO16: 0.00 MHz
 SFO17: 0.00 MHz
 SFO18: 0.00 MHz
 SFO19: 0.00 MHz
 SFO20: 0.00 MHz

2D NMR List Parameters
 SI: 1.00000000 sec
 SF: 500.130450 MHz
 SFO1: 125.760180 MHz
 SFO2: 500.130450 MHz
 SFO3: 0.00 MHz
 SFO4: 0.00 MHz
 SFO5: 0.00 MHz
 SFO6: 0.00 MHz
 SFO7: 0.00 MHz
 SFO8: 0.00 MHz
 SFO9: 0.00 MHz
 SFO10: 0.00 MHz
 SFO11: 0.00 MHz
 SFO12: 0.00 MHz
 SFO13: 0.00 MHz
 SFO14: 0.00 MHz
 SFO15: 0.00 MHz
 SFO16: 0.00 MHz
 SFO17: 0.00 MHz
 SFO18: 0.00 MHz
 SFO19: 0.00 MHz
 SFO20: 0.00 MHz

Şekil 4-27: Sudachitin'in HMQC Spektrumu (CDCl₃)

MEHMET/DR. IQBAL
Sample: MCA.39.40S.32.4



Current Data Parameters
 EXPNO 1
 PROCNO 1

Acquisition Parameters
 Date_ 20070408
 Time 8.14
 INSTRUM spect
 PRGNAME sm 131-13
 PULPROG zgpg30
 AQ 0.0776400 SEC
 SFO 500.1362000 MHz
 NUC1 13C
 NUC2 13C
 P1 7.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO1 500.1362000 MHz

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 13C
 P1 7.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO1 500.1362000 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 NUC2 13C
 P2 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO2 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f3 =====
 NUC3 13C
 P3 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO3 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f4 =====
 NUC4 13C
 P4 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO4 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f5 =====
 NUC5 13C
 P5 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO5 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f6 =====
 NUC6 13C
 P6 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO6 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f7 =====
 NUC7 13C
 P7 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO7 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f8 =====
 NUC8 13C
 P8 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO8 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f9 =====
 NUC9 13C
 P9 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO9 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f10 =====
 NUC10 13C
 P10 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO10 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f11 =====
 NUC11 13C
 P11 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO11 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f12 =====
 NUC12 13C
 P12 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO12 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f13 =====
 NUC13 13C
 P13 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO13 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f14 =====
 NUC14 13C
 P14 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO14 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f15 =====
 NUC15 13C
 P15 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO15 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f16 =====
 NUC16 13C
 P16 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO16 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f17 =====
 NUC17 13C
 P17 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO17 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f18 =====
 NUC18 13C
 P18 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO18 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f19 =====
 NUC19 13C
 P19 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO19 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f20 =====
 NUC20 13C
 P20 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO20 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f21 =====
 NUC21 13C
 P21 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO21 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f22 =====
 NUC22 13C
 P22 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO22 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f23 =====
 NUC23 13C
 P23 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO23 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f24 =====
 NUC24 13C
 P24 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO24 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f25 =====
 NUC25 13C
 P25 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO25 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f26 =====
 NUC26 13C
 P26 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO26 125.7601000 MHz

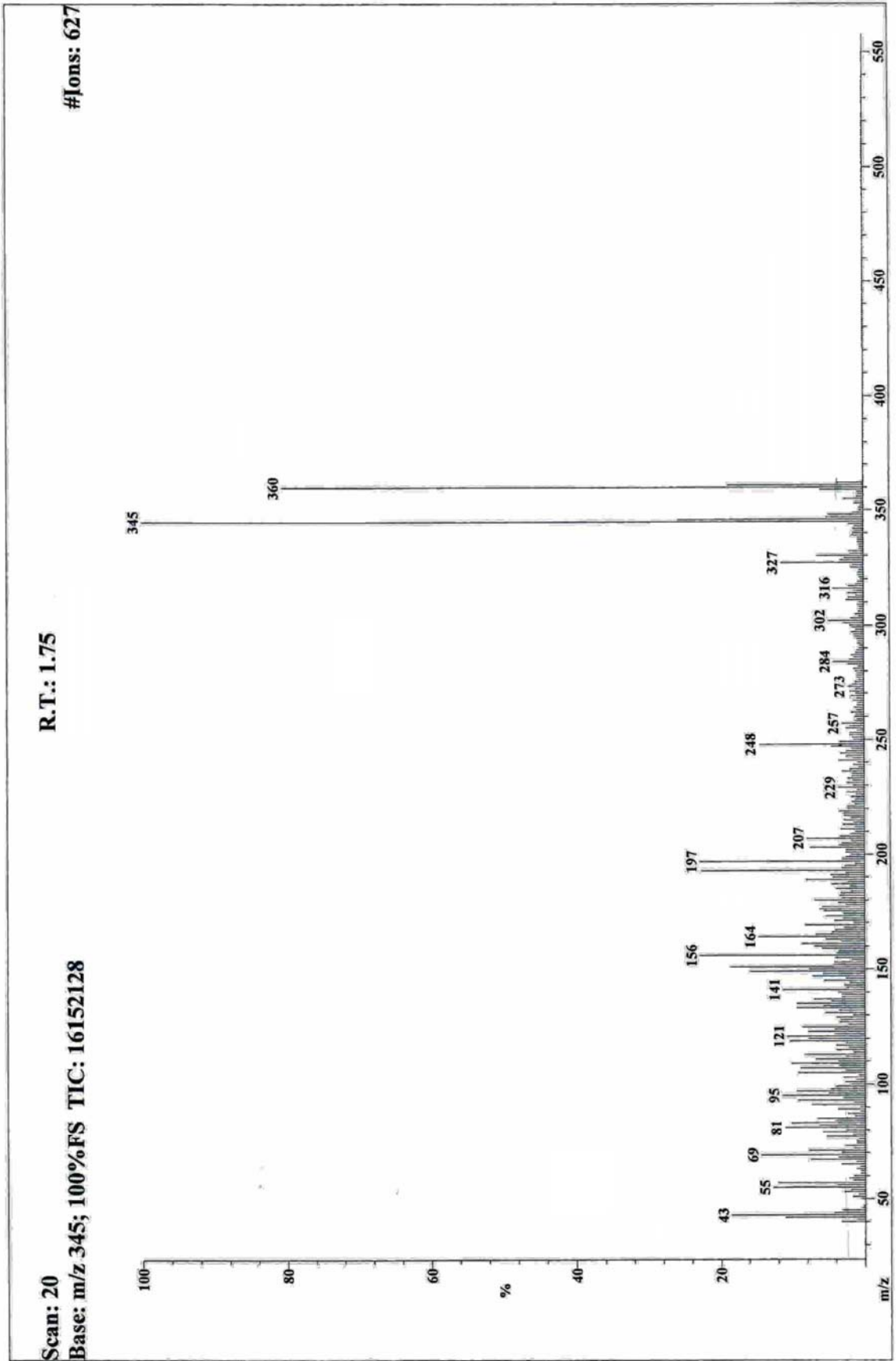
===== CHANNEL f27 =====
 NUC27 13C
 P27 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO27 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f28 =====
 NUC28 13C
 P28 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO28 125.7601000 MHz

===== CHANNEL f29 =====
 NUC29 13C
 P29 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO29 125.7601000 MHz

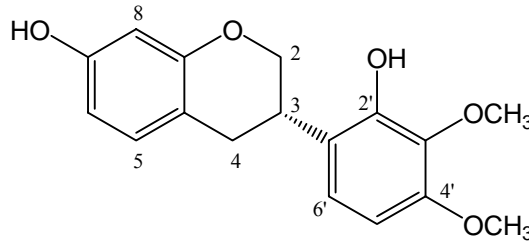
===== CHANNEL f30 =====
 NUC30 13C
 P30 13.00 SEC
 PL 0.00 dB
 FL 0.00 SEC
 SFO30 125.7601000 MHz

Şekil 4-28: Sudachitin'in HMBC Spektrumu (CDCl₃)



Şekil 4-29: Sudachitin'in Kütle Spektrumu (EI-MS)

❖ MC-4 = İzomukronulatol (7,2'-Dihidroki-3',4'-dimetoksiizoflavan)



Şekil 4-30: İzomukronulatol

Açık sarı renkli olan MC-4 bileşiği kristal halde elde edildi (E.D.= 152°C). MC-4 bileşiğine ait X-Ray spektrumu Şekil 4.34'de verildi.

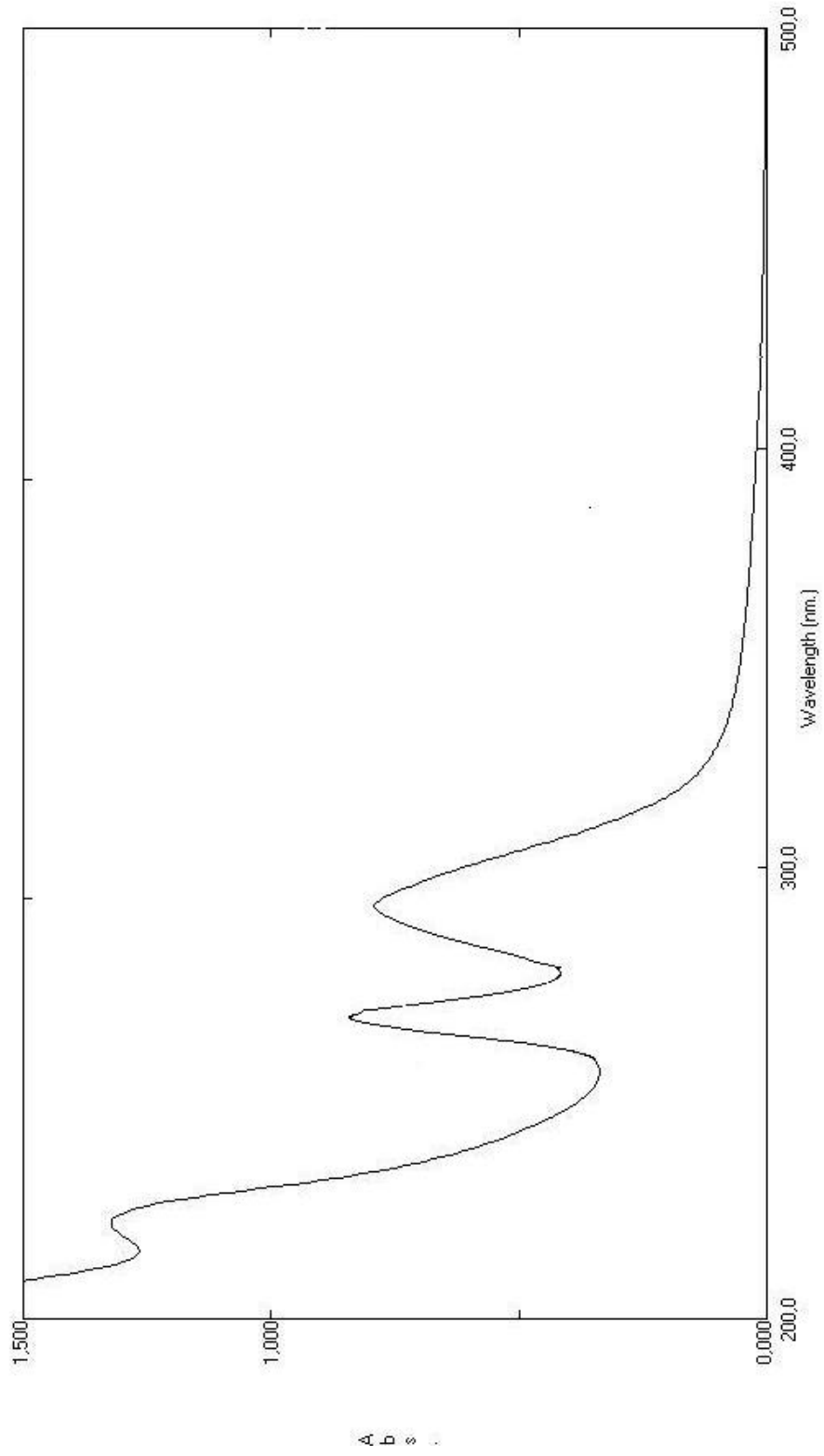
Silikajel plakta UV lamba (254 nm) altında parlak mavi görülen bileşik serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu sarı bir renk aldı.

EI-MS spektrumunda (Şekil 4.33) moleküler iyon piki m/z 302 $[M]^+$ olarak izlendi ve bileşiğin kapalı formülü $C_{17}H_{18}O_5$ olarak belirlendi .

Metanolde alınan UV spektrumunda (Şekil 4.31) Bant I 290 nm, Bant II 280 nm'de gözlemlendi.

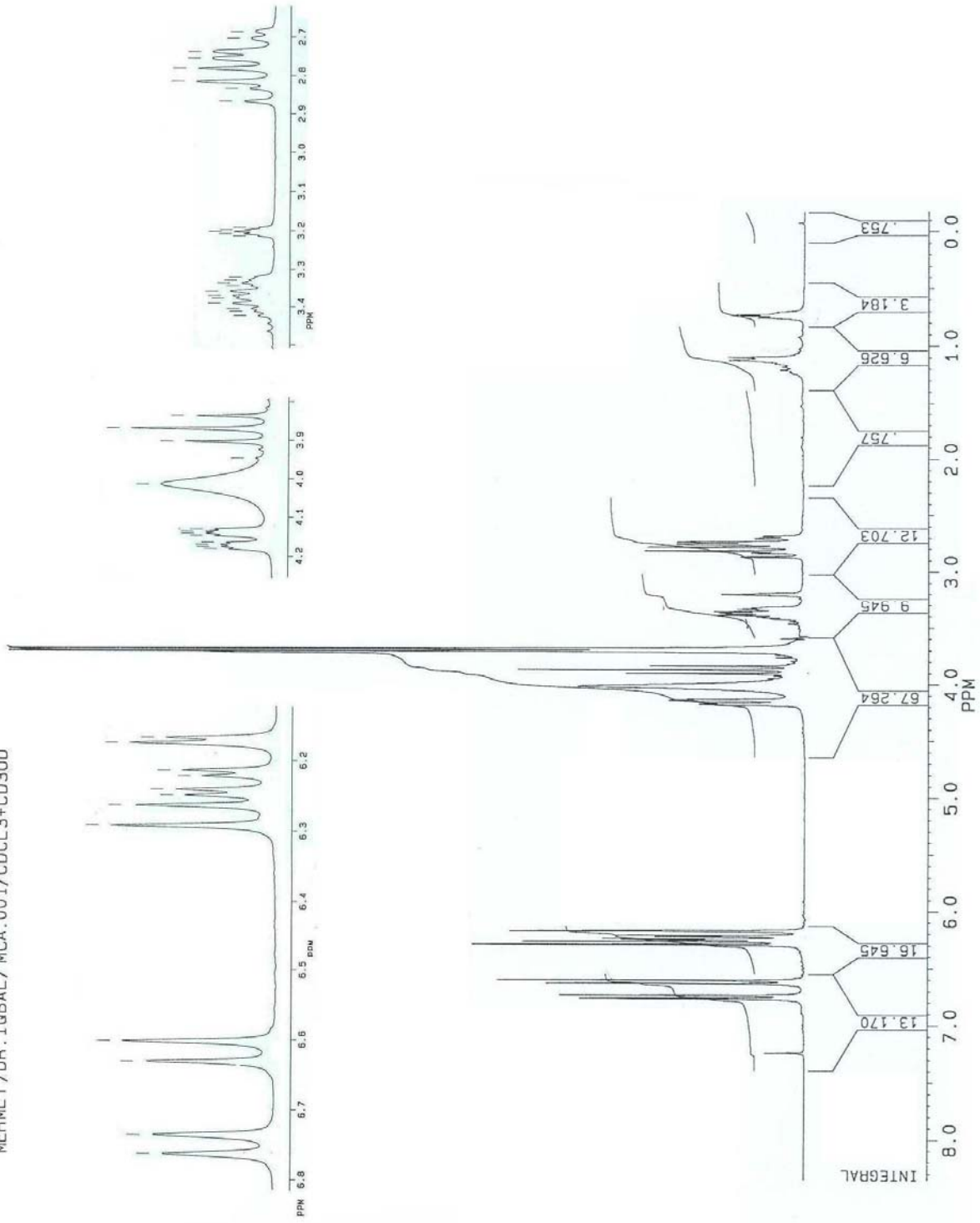
1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3+CD_3OD$) spektrumunda (Şekil 4.32); δ 3.71 (3H, s) ve δ 3.68 (3H, s)'de izlenen pikler iki metoksi grubunun varlığını belirtti. 6.75 ppm'de (1H, d, $J = 8.2$ Hz) H-5, 6.24 ppm'de (1H, dd, $J = 2.3; 8.2$ Hz) H-6 ve 6.17 ppm'de (1H, d, $J = 2.3$ Hz) H-8 izlendi. B halkasına ait aromatik sinyaller δ 6.28 (1H, d, $J = 8.6$ Hz) H-5' ve δ 6.62'de (1H, d, $J = 8.6$ Hz) H-6' görüldü. 3.87 ppm'de (1H, t, $J = 10.1$ Hz) H-2 α ve δ 4.16'de (1H, dq, $J = 1.6; 10.3$ Hz) H-2 β protonları, 2.72 ppm'de (1H, dd, $J = 5.1; 15.6$ Hz) H-4 α ve 2.82 ppm'de (1H, dd, $J = 10.3; 15.6$ Hz) H-4 β izlendi. 3.37 ppm'de (1H, m) izlenen sinyal H-3 β protonuna aittir^{133,134}.

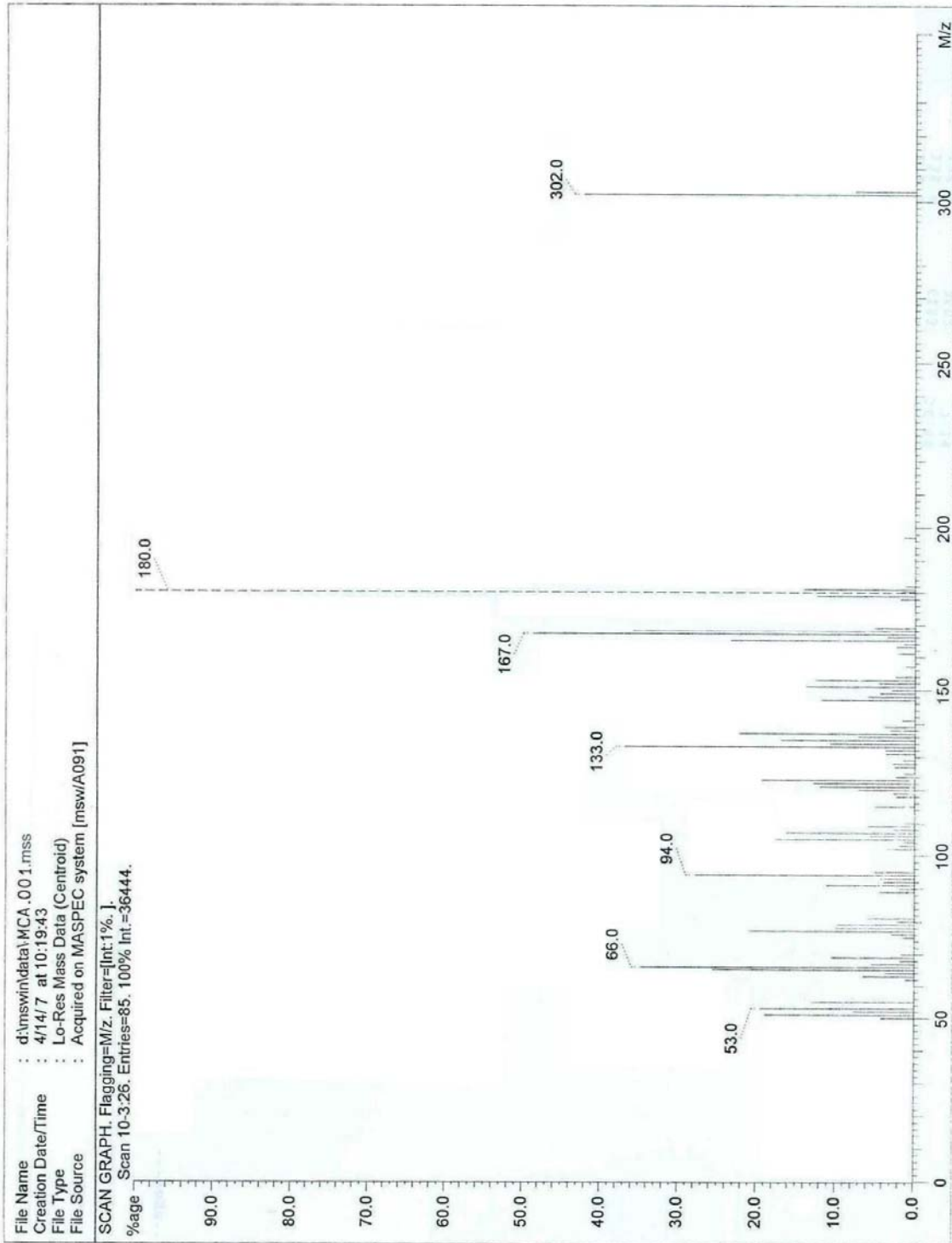
MC-4'ün yapısı X-Ray (Şekil 4.34) ile kesinleştirildi. Spektral değerleri literatürdeki^{133,134} değerlerle uyum gösteren MC-4'ün yapısı izomukronulatol (astraisoflavan; 7,2'-dihidroksi-3',4'-dimetoksiizoflavan) (Şekil 4.30) (1,3 mg) olarak belirlendi ve *Micromeria* türlerinden ilk kez elde edildiği tespit edildi.



Şekil 4-31: İzomukronolatol'un UV Spektrumu

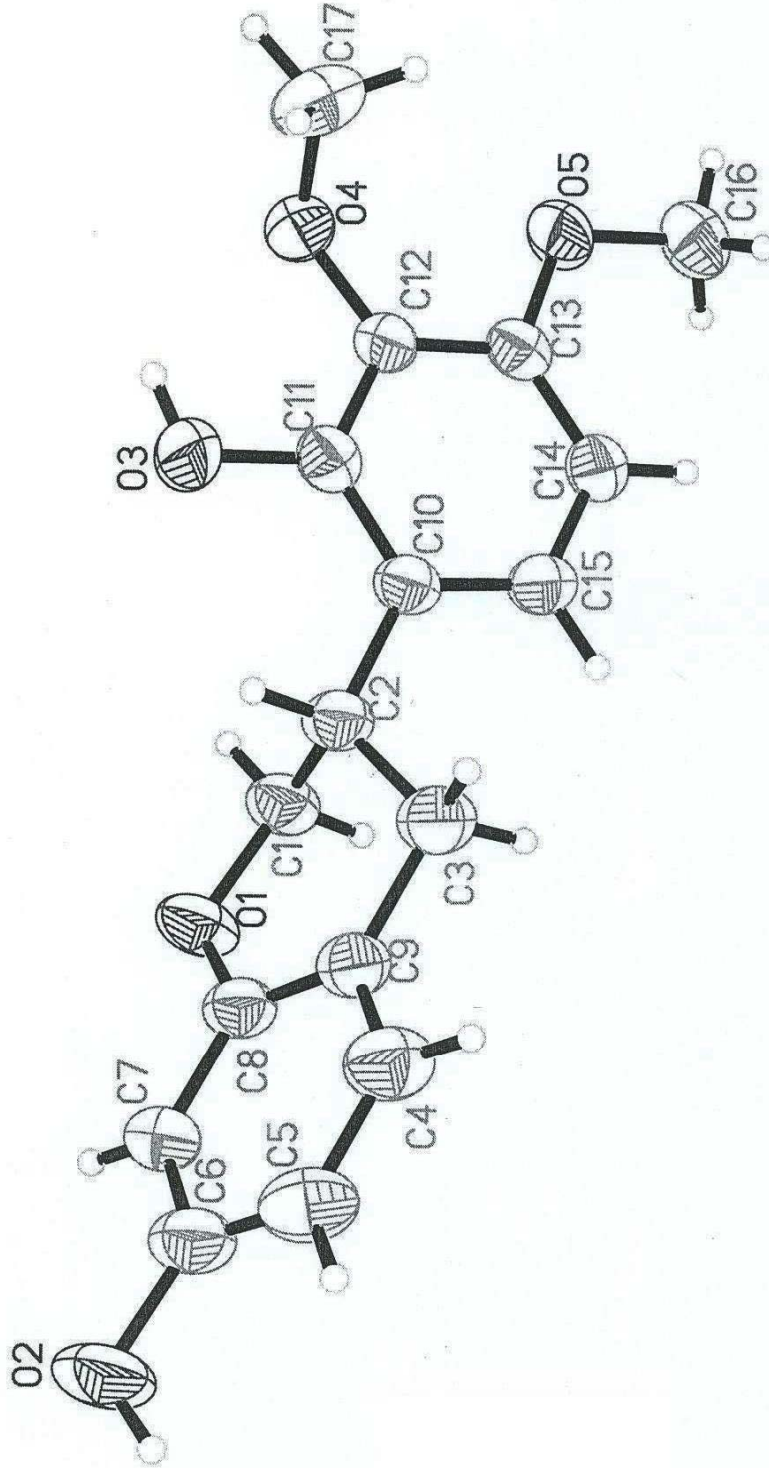
MEHMET / DR. IOBAL / MCA..001 / CDCL3 + CD300

Şekil 4-32: İzomukronulatol'ün $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$, 300 MHz)

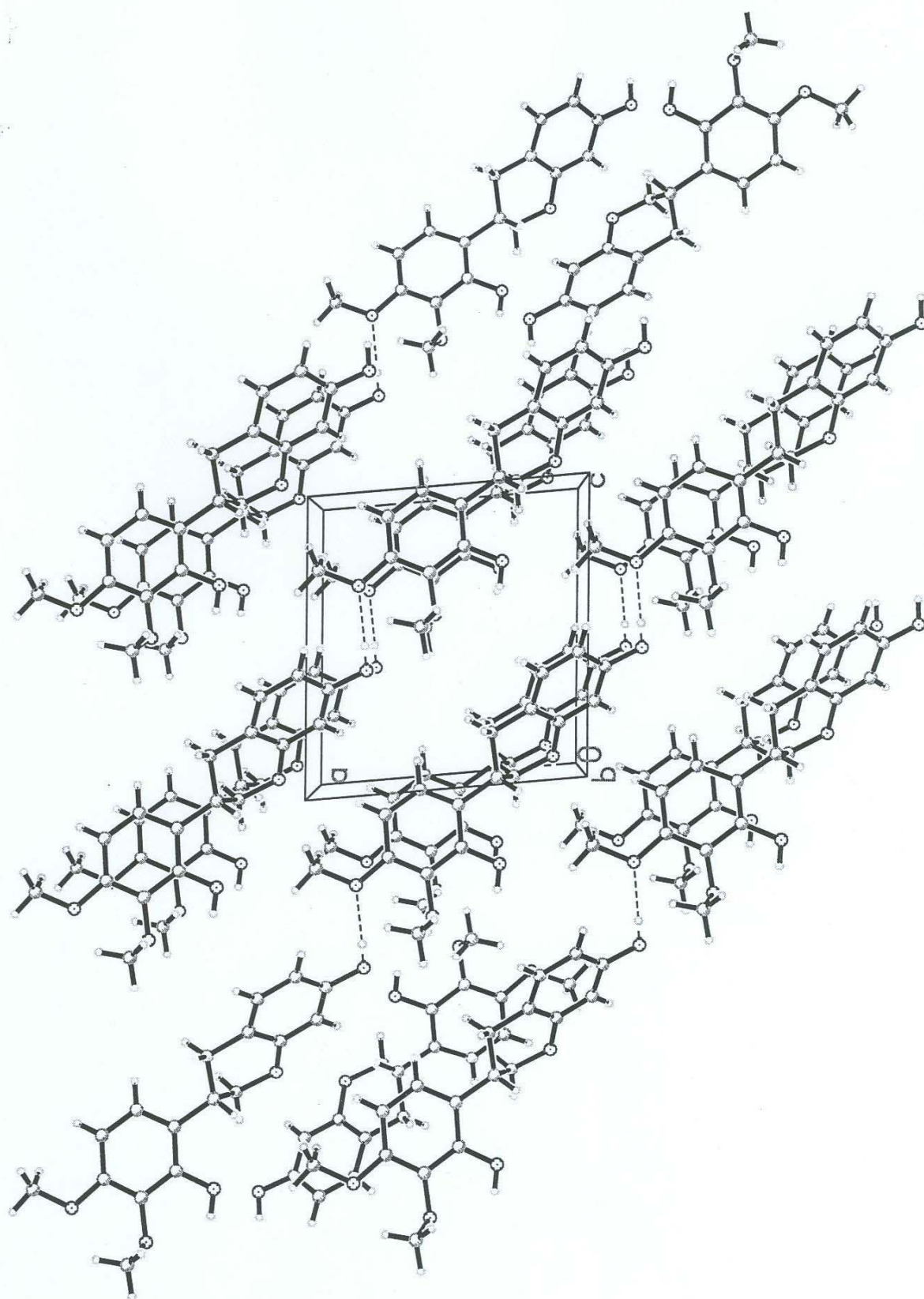


Şekil 4-33: İzomukronatolol'ün Kütle Spektrumu (EI-MS)

MEHMET / MCA.001



Şekil 4-34: İzomukronulatol'ün X-Ray'i



Crystal data and structure refinement for mca-001.

Identification code	mca.001
Empirical formula	C17 H18 O5
Formula weight	302.31
Temperature	293(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system, space group	Monoclinic, P2(1)
Unit cell dimensions	a = 8.9147(19) Å alpha = 90 deg. b = 8.7063(19) Å beta = 95.459(4) deg c = 9.633(2) Å gamma = 90 deg.
Volume	744.3(3) Å ³
Z, Calculated density	2, 1.349 Mg/m ³
Absorption coefficient	0.099 mm ⁻¹
F(000)	320
Crystal size	0.49 x 0.14 x 0.04 mm
Theta range for data collection	2.12 to 25.00 deg.
Limiting indices	-9<=h<=10, -10<=k<=10, -11<=l<=9
Reflections collected / unique	3941 / 2483 [R(int) = 0.0217]
Completeness to theta = 25.00	99.7 %
Absorption correction	None
Max. and min. transmission	0.9960 and 0.9530
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	2483 / 1 / 199
Goodness-of-fit on F ²	1.090
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0465, wR2 = 0.0891
R indices (all data)	R1 = 0.0577, wR2 = 0.0958
Absolute structure parameter	2.1(13)
Largest diff. peak and hole	0.167 and -0.122 e.Å ⁻³

Bond lengths [Å] and angles [deg] for mca.001.

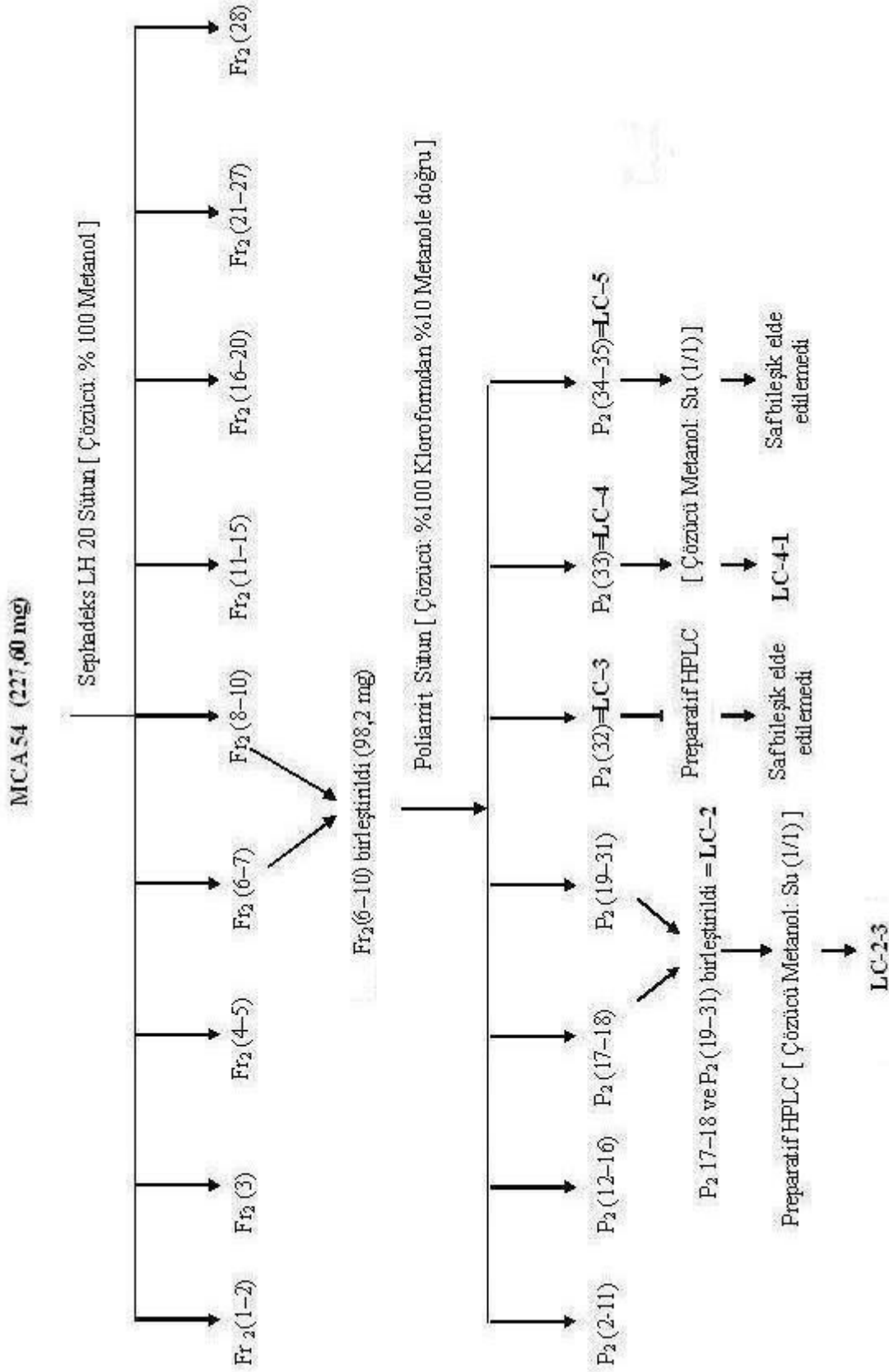
O(1)-C(8)	1.374(3)	
O(1)-C(1)	1.439(3)	
O(2)-C(6)	1.376(3)	
O(2)-H(2A)	0.8200	
O(3)-C(11)	1.363(3)	
O(3)-H(3A)	0.8200	
O(4)-C(12)	1.385(3)	
O(4)-C(17)	1.429(3)	
O(5)-C(13)	1.371(3)	
O(5)-C(16)	1.436(3)	
C(1)-C(2)	1.512(4)	
C(1)-H(1A)	0.9700	
C(1)-H(1B)	0.9700	
C(2)-C(3)	1.518(4)	
C(2)-C(10)	1.519(3)	
C(2)-H(2B)	0.9800	
C(3)-C(9)	1.517(3)	
C(3)-H(3B)	0.9700	
C(3)-H(3C)	0.9700	
C(4)-C(5)	1.382(4)	
C(4)-C(9)	1.386(4)	
C(4)-H(4A)	0.9300	
C(5)-C(6)	1.382(4)	
C(5)-H(5A)	0.9300	
C(6)-C(7)	1.370(4)	
C(7)-C(8)	1.373(3)	
C(7)-H(7A)	0.9300	
C(8)-C(9)	1.386(4)	
C(10)-C(11)	1.385(3)	
C(10)-C(15)	1.386(3)	
C(11)-C(12)	1.389(3)	
C(12)-C(13)	1.389(3)	
C(13)-C(14)	1.377(3)	
C(14)-C(15)	1.378(4)	
C(14)-H(14A)	0.9300	
C(15)-H(15A)	0.9300	
C(16)-H(16A)	0.9600	
C(16)-H(16B)	0.9600	
C(16)-H(16C)	0.	C(16)-H(16C)
C(17)-H(17A)	0.9600	
C(17)-H(17B)	0.9600	
C(17)-H(17C)	0.9600	
C(8)-O(1)-C(1)	116.9(2)	
C(6)-O(2)-H(2A)	109.5	
C(11)-O(3)-H(3A)	109.5	
C(12)-O(4)-C(17)	115.0(2)	
C(13)-O(5)-C(16)	115.9(2)	
O(1)-C(1)-C(2)	113.1(2)	
O(1)-C(1)-H(1A)	109.0	
C(2)-C(1)-H(1A)	109.0	
O(1)-C(1)-H(1B)	109.0	
C(2)-C(1)-H(1B)	109.0	
H(1A)-C(1)-H(1B)	107.8	
C(1)-C(2)-C(3)	108.3(2)	
C(1)-C(2)-C(10)	108.0(2)	

C(3) -C(2) -C(10)	115.9(2)	
C(1) -C(2) -H(2B)	108.1	
C(3) -C(2) -H(2B)	108.1	
C(10) -C(2) -H(2B)	108.1	
C(9) -C(3) -C(2)	109.0(2)	
C(9) -C(3) -H(3B)	109.9	
C(2) -C(3) -H(3B)	109.9	
C(9) -C(3) -H(3C)	109.9	
C(2) -C(3) -H(3C)	109.9	
H(3B) -C(3) -H(3C)	108.3	
C(5) -C(4) -C(9)	122.0(3)	
C(5) -C(4) -H(4A)	119.0	
C(9) -C(4) -H(4A)	119.0	
C(4) -C(5) -C(6)	119.7(3)	
C(4) -C(5) -H(5A)	120.2	
C(6) -C(5) -H(5A)	120.2	
C(7) -C(6) -O(2)	116.6(3)	
C(7) -C(6) -C(5)	119.4(3)	
O(2) -C(6) -C(5)	124.0(3)	
C(6) -C(7) -C(8)	120.2(3)	
C(6) -C(7) -H(7A)	119.9	
C(8) -C(7) -H(7A)	119.9	
C(7) -C(8) -O(1)	115.3(2)	
C(7) -C(8) -C(9)	122.1(2)	
O(1) O(1) -C(8) -C(9)	122.6(2)	
C(8) -C(9) -C(4)	116.6(2)	
C(8) -C(9) -C(3)	121.2(2)	
C(4) -C(9) -C(3)	122.1(3)	
C(11) -C(10) -C(15)	117.1(2)	
C(11) -C(10) -C(2)	119.9(2)	
C(15) -C(10) -C(2)	122.8(2)	
O(3) -C(11) -C(10)	118.8(2)	
O(3) -C(11) -C(12)	119.6(2)	
C(10) -C(11) -C(12)	121.6(2)	
O(4) -C(12) -C(13)	121.8(2)	
O(4) -C(12) -C(11)	118.3(2)	
C(13) -C(12) -C(11)	119.7(2)	
O(5) -C(13) -C(14)	125.1(2)	
O(5) -C(13) -C(12)	115.5(2)	
C(14) -C(13) -C(12)	119.4(2)	
C(13) -C(14) -C(15)	119.8(2)	
C(13) -C(14) -H(14A)	120.1	
C(15) -C(14) -H(14A)	120.1	
C(14) -C(15) -C(10)	122.3(3)	
C(14) -C(15) -H(15A)	118.8	
C(10) -C(15) -H(15A)	118.8	
O(5) -C(16) -H(16A)	109.5	
O(5) -C(16) -H(16B)	109.5	
H(16A) -C(16) -H(16B)	109.5	
O(5) -C(16) -H(16C)	109.5	
H(16A) -C(16) -H(16C)	109.5	
H(16B) -C(16) -H(16C)	109.5	
O(4) -C(17) -H(17A)	109.5	
O(4) -C(17) -H(17B)	109.5	
H(17A) -C(17) -H(17B)	109.5	
O(4) -C(17) -H(17C)	109.5	
H(17A) -C(17) -H(17C)	109.5	
H(17B) -C(17) -H(17C)	109.5	

4.2.1.5. İkinci Aktif Fraksiyonun (MCA 54) Preparatif HPLC İle Analizi

Metanolde çözülen MCA 54 (227,60 mg) metanol ile hazırlanmış Sephadex LH-20 kolonuna sıvı olarak tatbik edildi. Metanol kullanılarak elüsyon yapıldı. İTK ile benzer fraksiyonlar birleştirildi ve toplam 9 fraksiyon elde edildi. Fr₂(6-7) ve Fr₂(8-10)'nun birleştirilmesiyle elde edilen Fr₂(6-10) kodlu fraksiyon (98,20 mg) az miktarda poliamite emdirildikten sonra poliamit kolona katı olarak koyuldu. Elüsyona % 100 kloroform ile başlandı ve polarite % 1 arttırılarak % 10 metanole ulaşılnca elüsyon tamamlandı. İTK ile benzer olanların birleştirilmesinden sonra 7 fraksiyon elde edildi. P₂(17-18) ile P₂(19-31)'in birleştirilmesiyle elde edilen LC-2, P₂(32)'den LC-3, P₂(33)'den LC-4 ve P₂(34-35)'den LC-5 kodları verilen örnekler preparatif HPLC ile bölüm 3.7.5'de verilen şartlarda analiz edildi.

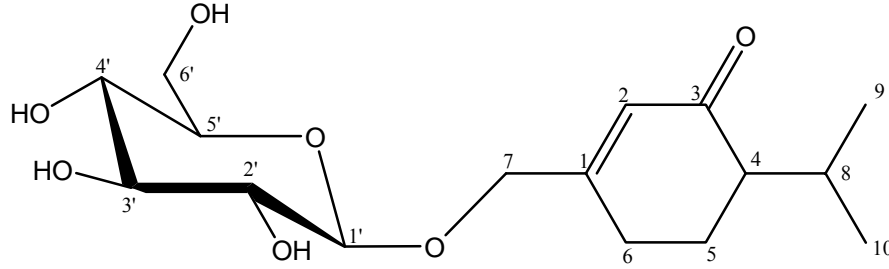
LC-2 örneğinden LC-2-3 ve LC-4 örneğinden LC-4-1 kodu verilen saf maddeler elde edildi. LC-3 ve LC-5 örneklerinden saf madde elde edilemedi (Şekil 4.35).



Şekil 4-35: MCA 54 Fraksiyonundan Saf Maddelerin Elde Edilme Şeması

4.2.1.6. İkinci Aktif Fraksiyondan (MCA 54) Elde Edilen Saf Maddelerin Yapı Tayinleri

❖ LC-2-3 = Piperiton 7-*O*-β-D-Glikozit



Şekil 4-36: Piperiton 7-*O*-β-D-Glikozit

Renksiz olan LC-2-3 bileşiği amorf halde elde edildi. Silikajel plakta UV lamba (254 nm) altında mor görülen bileşik serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) kahverengimsi yeşil renk aldı.

LC-2-3'ün yapı tayininde UV, ¹H- ve ¹³C-NMR, DEPT 135, HMQC, HMBC ve Kütle yöntemleri kullanıldı.

FAB[⊕]MS spektrumu (Şekil 4.44) ve EI-MS spektrumunda (Şekil 4.43) *m/z* 330 [M]⁺ piki C₁₆H₂₆O₇ yapısını belirtti. *m/z* 288 [M-C₃H₇-H]⁺ izopropil grubunun ayrıldığını gösterdi.

UV spektrumunda (MeOH) 205, 230 ve 283 nm'de absorpsiyon gösterdi (Şekil 4.37).

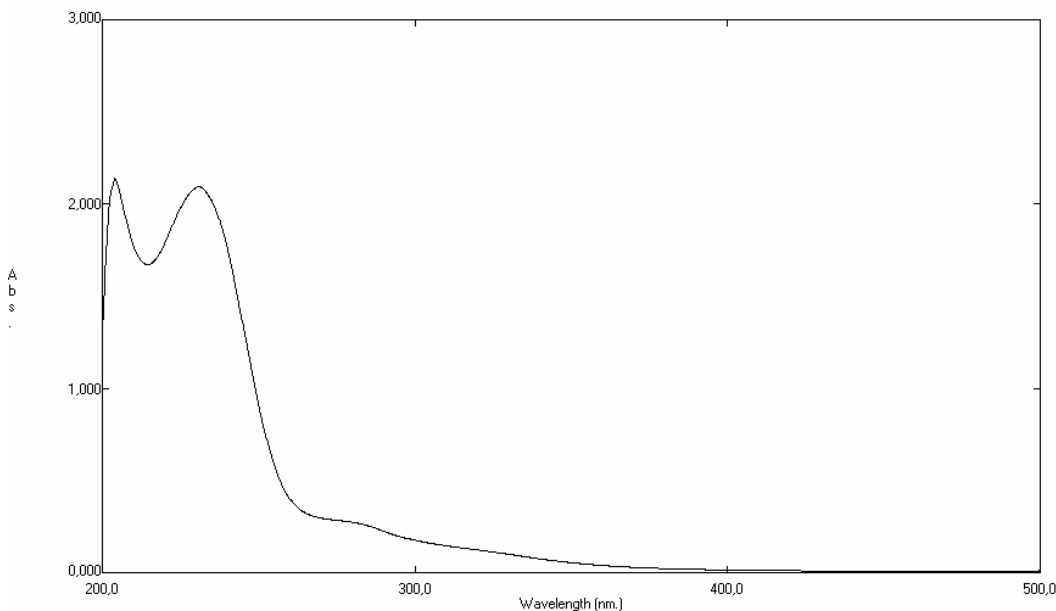
¹³C-NMR (CD₃OD, 150 MHz) (Şekil 4.39) ve ¹³C-NMR DEPT 135 (Şekil 4.40) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde 2 metil, 4 metilen, 8 metin ve 2 katerner karbon olmak üzere molekülün toplam 16 karbon içerdiği belirlendi. LC-2-3'e ait ¹³C-NMR ile HMBC değerleri Tablo 4.4'de verildi.

¹H NMR spektrumunda (CD₃OD, 600 MHz) (Şekil 4.38); δ 0.94 (3H, *d*, *J* = 6.7 Hz, H-9), 0.86 (3H, *d*, *J* = 6.7 Hz, H-10) ve δ 2.33'de (1H, *m*, H-8) izlenen pikler izopropil grubunun varlığını, δ 6.11'de (1H, *s*, H-2) izlenen pik vinilik protonu

gösterdi¹³⁵. δ 4.26'de (1H, *d*, $J = 15.8$ Hz, H-7 α) ve δ 4.47'de (1H, *d*, $J = 15.8$ Hz, H-7 β) izlenen pikler HMQC spektrumunda 71.4 ppm'deki karbona karşılık geldi ve HMBC spektrumunda bu sinyallerin şekerin anomerik karbonu (δ 103.9) ile etkileştiği belirlendi. Böylece monoterpenin şekerle C-7'den bağlı olduğu tespit edildi.

δ 4.29'da (*d*, H-1') izlenen pik şekerin anomerik protonuna aittir ve bu sinyalin etkileşme sabiti ($J = 7.9$ Hz) şekerin β -bağlı olduğunu gösterdi. Bu proton HMBC spektrumunda (Şekil 4.42), 71.6, 75.1, 78.0 ve 78.1 ppm'de rezonans olan karbonlar ile etkileşmektedir. HMQC deneyi ile bu karbonlara karşılık gelen protonlar sırasıyla δ 3.26 (1H, *dd*, $J = 8.5; 8.9$ Hz, H-4'), 3.23'de (1H, *dd*, $J = 7.8; 8.3$ Hz, H-2'), 3.27'de (1H, *m*, H-5') ve 3.34'de (1H, *dd*, $J = 8.0; 8.5$ Hz, H-3') olarak belirlendi. Ayrıca δ 3.65 (1H, *dd*, $J = 5.5; 11.8$ Hz) ve 3.85'de (1H, *dd*, $J = 1.8; 11.8$ Hz) H-6' α ve H-6' β sinyalleri izlendi. Literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında şekerin glukoz olduğu tespit edildi^{136,137}.

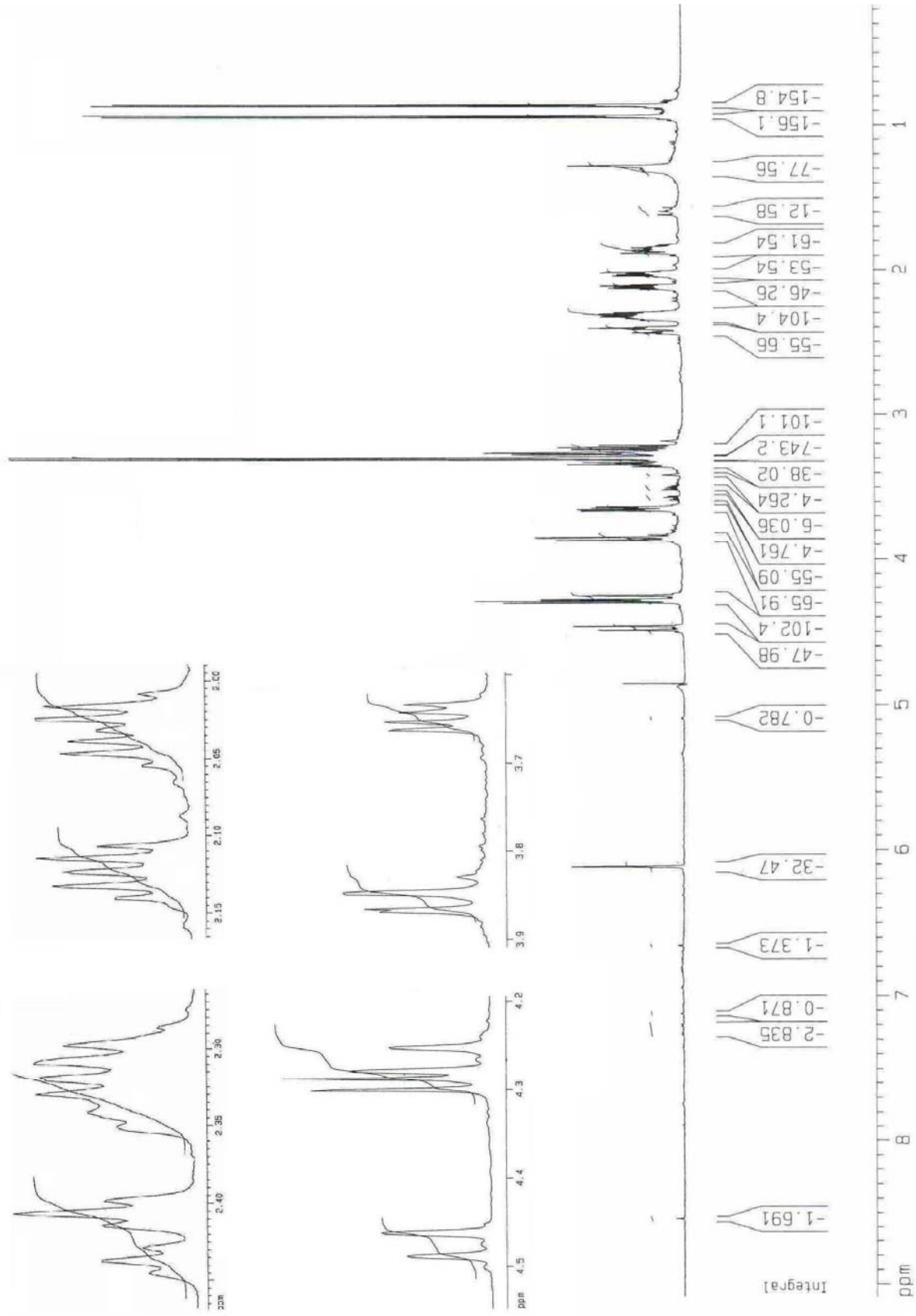
LC-2-3 bileşiğinin yapısı piperiton 7-*O*- β -D-glikozit (1,1 mg) (Şekil 4.36) olarak belirlendi. Literatür çalışmaları sonucu bu bileşiğin doğadan ilk defa elde edildiği tespit edildi.



Şekil 4-37: Piperiton 7-*O*- β -D-Glikozit'in UV Spektrumu

Tablo 4-4: LC-2-3'ün NMR, HMBC ve HMQC Değerleri

Pozisyon	¹ H-NMR	¹³ C-NMR	HMBC (H→C)	HMQC
1	-	163,5		
2	6,11 <i>s</i>	125,0	C-4, C-6, C-7	C-2
3	-	204,1		
4 _α	2,12 <i>m</i>	53,7	C-3, C-5, C-8, C-9, C-10	C-4
5 _α	2,02 <i>m</i>	24,1	C-3, C-4, C-8	C-5
5 _β	2,28-2,35 <i>m</i>		C-4, C-6, C-9, C-10	
6 _α	2,42 <i>dt</i> (4,8; 18,4)	26,5	C-1, C-4, C-5, C-7	C-6
6 _β	2,28-1,25 <i>m</i>		C-4	
7 _α	4,26 <i>d</i> (15,8)	71,4	C-1, C-2, C-1', C-6	C-7
7 _β	4,47 <i>d</i> (15,8)		C-1, C-2, C-1', C-6	
8	2,33 <i>m</i>	27,2		
9	0,94 <i>d</i> (6,7)	20,9	C-4, C-8	C-9
10	0,86 <i>d</i> (6,7)	19,0	C-4, C-8	C-10
1'	4,29 <i>d</i> (7,9)	103,9	C-7, C-2', C-3', C-5'	C-1'
2'	3,23 <i>dd</i> (7,8; 8,3)	75,1		
3'	3,34 <i>dd</i> (8,0; 8,5)	78,1		
4'	3,26 <i>dd</i> (8,5; 8,9)	71,6		
5'	3,27 <i>m</i>	78,0		
6' _α	3,65 <i>dd</i> (5,5; 11,8)	62,8	C-4'	C-6'
6' _β	3,85 <i>dd</i> (1,8; 11,8)			



Şekil 4-38: Piperiton 7-O-β-D-Glikozit'in ¹H-NMR Spektrumu (CD₃OD, 600 MHz)

ANCE AV 000
LAB. No. 108

Mehmet/Prof. Iqbal
Sample: MCA54LC23

```

Current Data Parameters
NAME      May21
EXPNO    13
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20070521
Time     22.36
INSTRUM spect
PROBHD   5 mm CP1CI 1H-
PULPROG zgpg
TD        65536
SOLVENT  MeOD
NS        14336
DS        4
SWH       35971.223 Hz
FIDRES   0.548677 Hz
AQ        0.9110143 sec
RG        32768
DM        13.900 usec
DE        6.00 usec
TE        300.0 K
D1        1.50000000 sec
d11       0.03000000 sec
DELTA    1.39959988 sec
WREST    0.00000000 sec
MCURK    0.01500000 sec

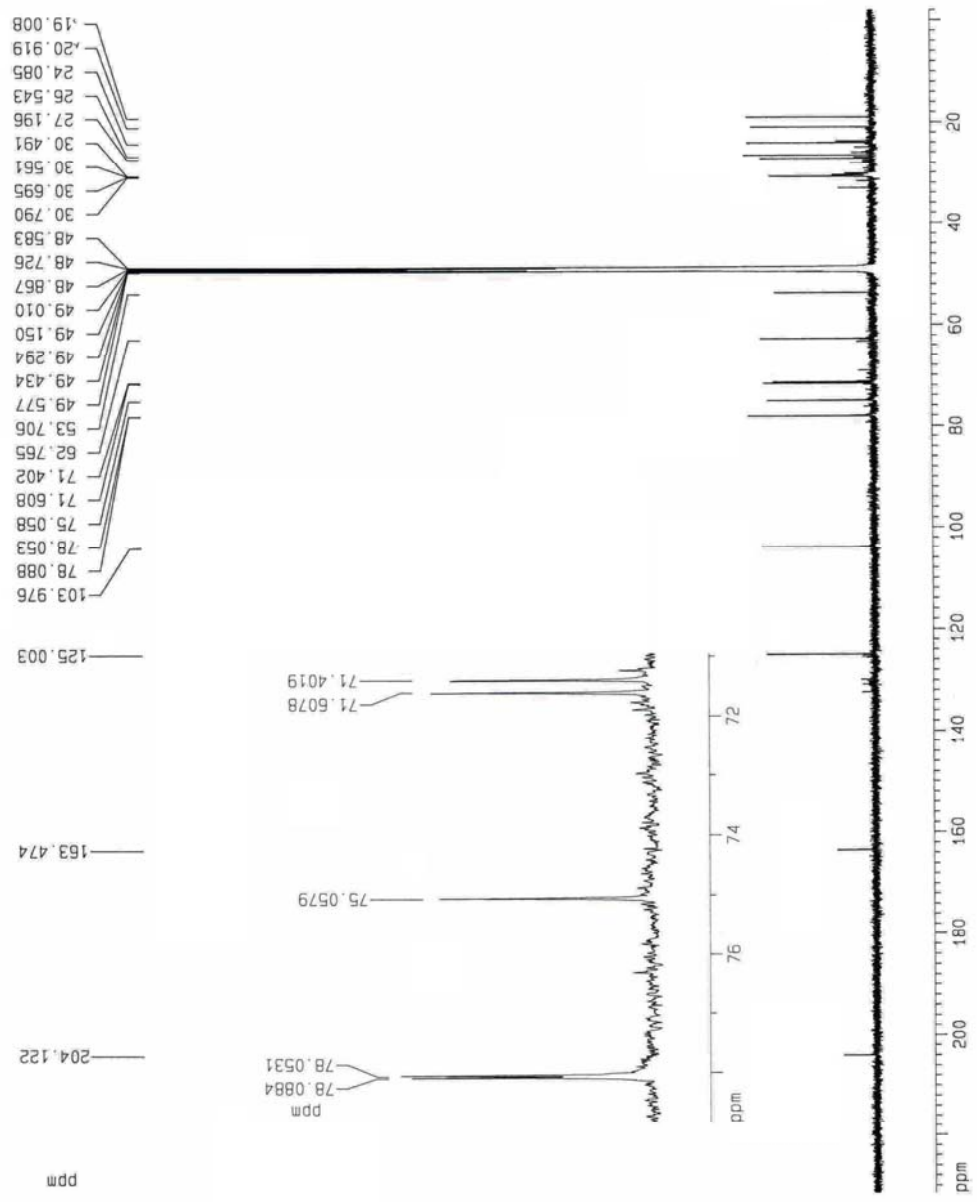
***** CHANNEL f1 *****
NUC1      13C
P1        15.00 usec
PL1       -1.00 dB
SFO1     150.9453107 MHz

***** CHANNEL f2 *****
CPDPRG2  waltz16
NUC2      1H
PCPD2    65.00 usec
PL2       3.30 dB
PL12     21.00 dB
PL13     27.00 dB
SFO2     600.2330011 MHz

F2 - Processing parameters
SI        32768
SF        150.9277397 MHz
WDW       EM
SSB       0
LB        1.50 Hz
GB        0
PC        1.20

10 NMR plot parameters
CX        20.00 cm
CY        400.00 cm
F1P       231.470 ppm
F1        34535.19 Hz
F2P       -2.020 ppm
F2        -304.91 Hz
PPHMCN   11.67449 ppm/cm
HZCM      1762.00500 Hz/cm

```



Şekil 4-39: Piperiton 7-O-β-D-Glikozit'in ¹³C-NMR Spektrumu (CD₃OD, 150 MHz)

Mehmet/Prof. Iqbal
 Sample: MCA54LC23
 135# ch; ch3; /ch2;

ANCE AV 600
 LAB. No. 108

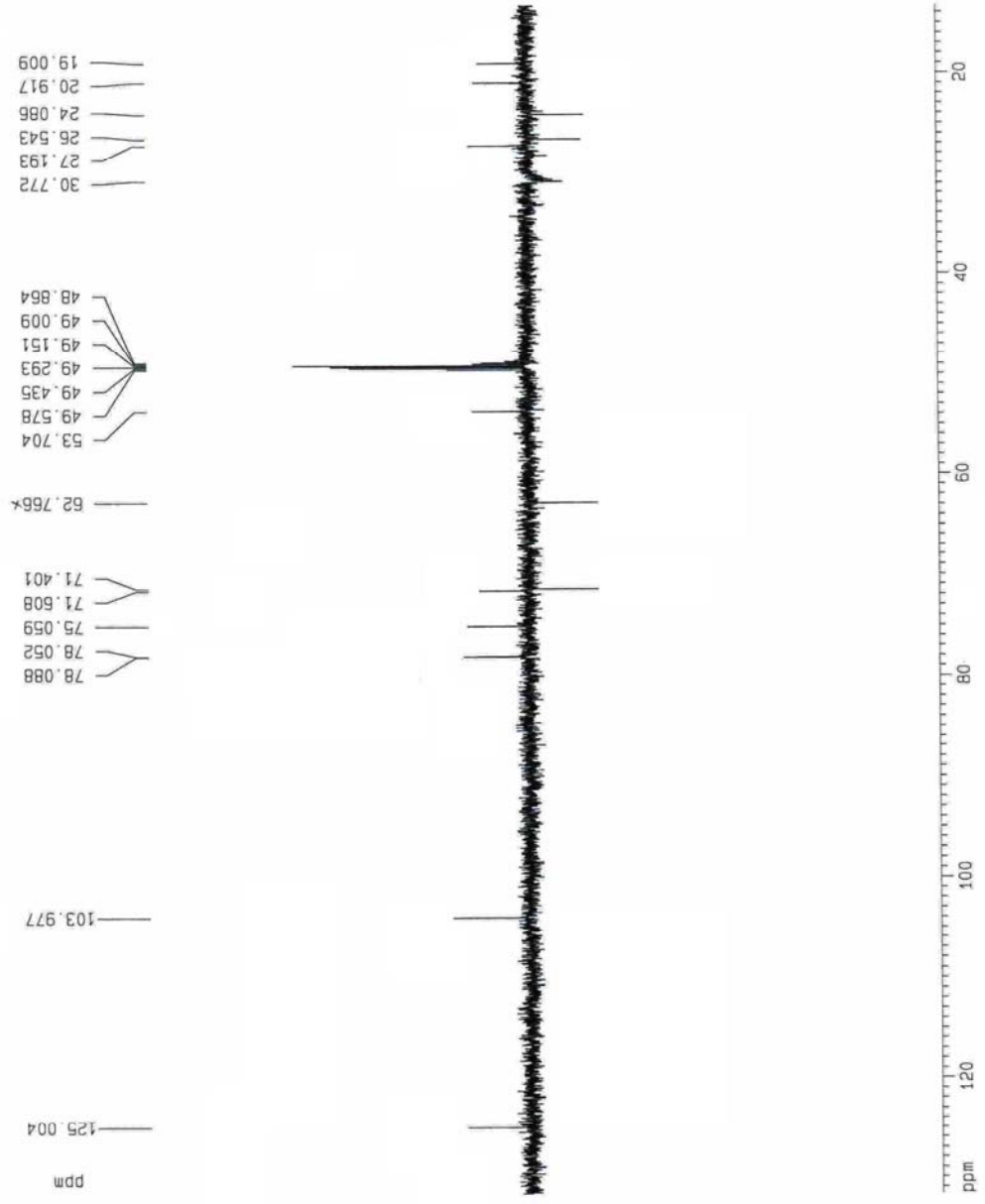
```

Current Data Parameters
NAME          May21
EXPNO        14
PROCNO       1
F2 - Acquisition Parameters
Date_        20070522
Time         8.27
INSTRUM      spect
PROBHD0      5 mm CPIC 1H-
PULPROG      zgpg30
TD           65536
SOLVENT      CD3OD
NS           1179
DS           4
SFO          35971.223 Hz
FIDRES       0.548877 Hz
AQ           0.9110143 sec
RG           32768
DK           13.900 usec
DE           6.00 usec
TE           300.0 K
CONST2       145.0000000
D1           1.50000000 sec
DELTA        0.00000000 sec
DELTA2       0.00000000 sec
DELTA3       0.00000000 sec
KCREST       0.00000000 sec
KCMWRK       0.015000000 sec

***** CHANNEL f1 *****
NUC1         13C
P1           15.00 usec
PL1          2000.00 usec
PL0          120.00 dB
PL1          -1.00 dB
SFO1         150.9434444 MHz
SFO2         600.2356014 MHz
SFO3         0.0000000 MHz
SFO4         0.0000000 MHz
SFO5         0.0000000 MHz
SFO6         0.0000000 MHz
SFO7         0.0000000 MHz
SFO8         0.0000000 MHz
SFO9         0.0000000 MHz
SFO10        0.0000000 MHz
SFO11        0.0000000 MHz
SFO12        0.0000000 MHz
SFO13        0.0000000 MHz
SFO14        0.0000000 MHz
SFO15        0.0000000 MHz
SFO16        0.0000000 MHz
SFO17        0.0000000 MHz
SFO18        0.0000000 MHz
SFO19        0.0000000 MHz
SFO20        0.0000000 MHz
SFO21        0.0000000 MHz
SFO22        0.0000000 MHz
SFO23        0.0000000 MHz
SFO24        0.0000000 MHz
SFO25        0.0000000 MHz
SFO26        0.0000000 MHz
SFO27        0.0000000 MHz
SFO28        0.0000000 MHz
SFO29        0.0000000 MHz
SFO30        0.0000000 MHz
SFO31        0.0000000 MHz
SFO32        0.0000000 MHz
SFO33        0.0000000 MHz
SFO34        0.0000000 MHz
SFO35        0.0000000 MHz
SFO36        0.0000000 MHz
SFO37        0.0000000 MHz
SFO38        0.0000000 MHz
SFO39        0.0000000 MHz
SFO40        0.0000000 MHz
SFO41        0.0000000 MHz
SFO42        0.0000000 MHz
SFO43        0.0000000 MHz
SFO44        0.0000000 MHz
SFO45        0.0000000 MHz
SFO46        0.0000000 MHz
SFO47        0.0000000 MHz
SFO48        0.0000000 MHz
SFO49        0.0000000 MHz
SFO50        0.0000000 MHz
SFO51        0.0000000 MHz
SFO52        0.0000000 MHz
SFO53        0.0000000 MHz
SFO54        0.0000000 MHz
SFO55        0.0000000 MHz
SFO56        0.0000000 MHz
SFO57        0.0000000 MHz
SFO58        0.0000000 MHz
SFO59        0.0000000 MHz
SFO60        0.0000000 MHz
SFO61        0.0000000 MHz
SFO62        0.0000000 MHz
SFO63        0.0000000 MHz
SFO64        0.0000000 MHz
SFO65        0.0000000 MHz
SFO66        0.0000000 MHz
SFO67        0.0000000 MHz
SFO68        0.0000000 MHz
SFO69        0.0000000 MHz
SFO70        0.0000000 MHz
SFO71        0.0000000 MHz
SFO72        0.0000000 MHz
SFO73        0.0000000 MHz
SFO74        0.0000000 MHz
SFO75        0.0000000 MHz
SFO76        0.0000000 MHz
SFO77        0.0000000 MHz
SFO78        0.0000000 MHz
SFO79        0.0000000 MHz
SFO80        0.0000000 MHz
SFO81        0.0000000 MHz
SFO82        0.0000000 MHz
SFO83        0.0000000 MHz
SFO84        0.0000000 MHz
SFO85        0.0000000 MHz
SFO86        0.0000000 MHz
SFO87        0.0000000 MHz
SFO88        0.0000000 MHz
SFO89        0.0000000 MHz
SFO90        0.0000000 MHz
SFO91        0.0000000 MHz
SFO92        0.0000000 MHz
SFO93        0.0000000 MHz
SFO94        0.0000000 MHz
SFO95        0.0000000 MHz
SFO96        0.0000000 MHz
SFO97        0.0000000 MHz
SFO98        0.0000000 MHz
SFO99        0.0000000 MHz
SFO100       0.0000000 MHz

***** CHANNEL f2 *****
CPDPRG2      waltz16
NUC2         1H
P3           8.00 usec
P4           16.00 usec
PCPD2       65.00 usec
PL2         3.30 dB
PL12        21.00 dB
SFO2        600.2356014 MHz
F2 - Processing parameters
SI           32768
SF           150.927397 MHz
WDW          EM
SSB          0
LB           1.50 Hz
GB           0
PC           1.20

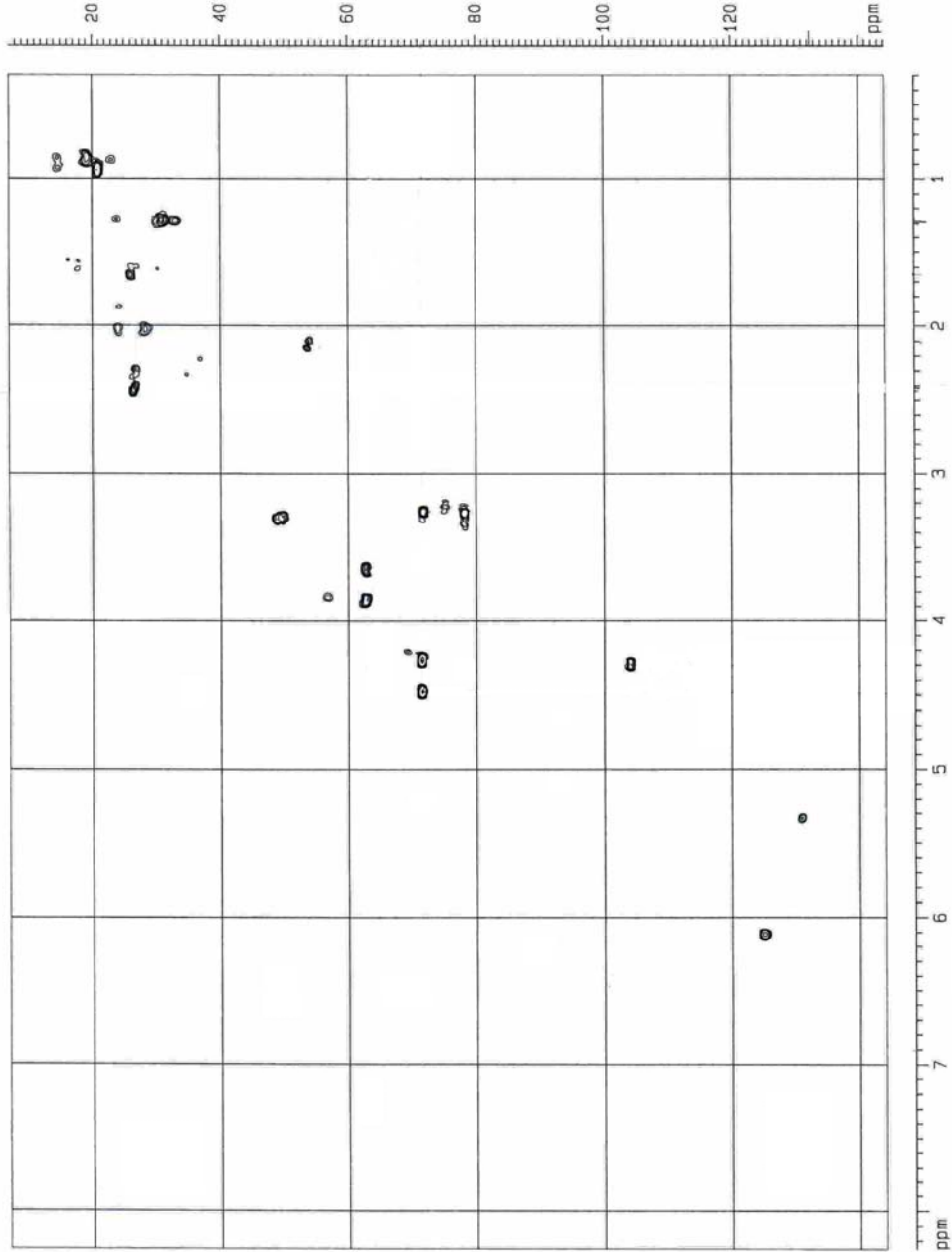
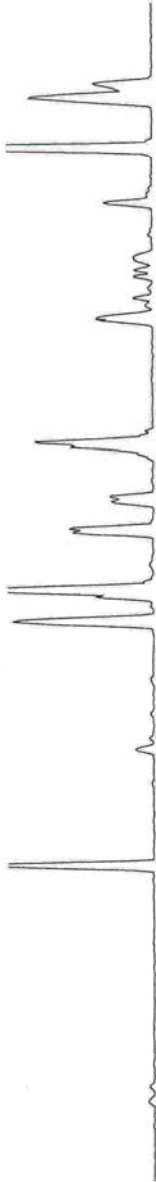
ID NMR plot parameters
CX           200.00 cm
CY           200.00 cm
CZ           200.00 cm
FIP          131.693.00M
F1           19976.16 Hz
F2           13.253.00M
F3           2000.24 Hz
F4           5.92602 ppm/cm
F5           893.79715 Hz/cm
    
```



Şekil 4-40: Piperiton 7-O-β-D-Glikozit'in DEPT 135 Spektrumu (CD₃OD, 150 MHz)

Mehmet/Prof. Iqbal
Sample: MCA54LQ23

ADVANCE AV 600
LAB. NO. 108



Şekil 4-41: Piperiton 7-O-β-D-Glikozit'in HMQC Spektrumu (CD₃OD)

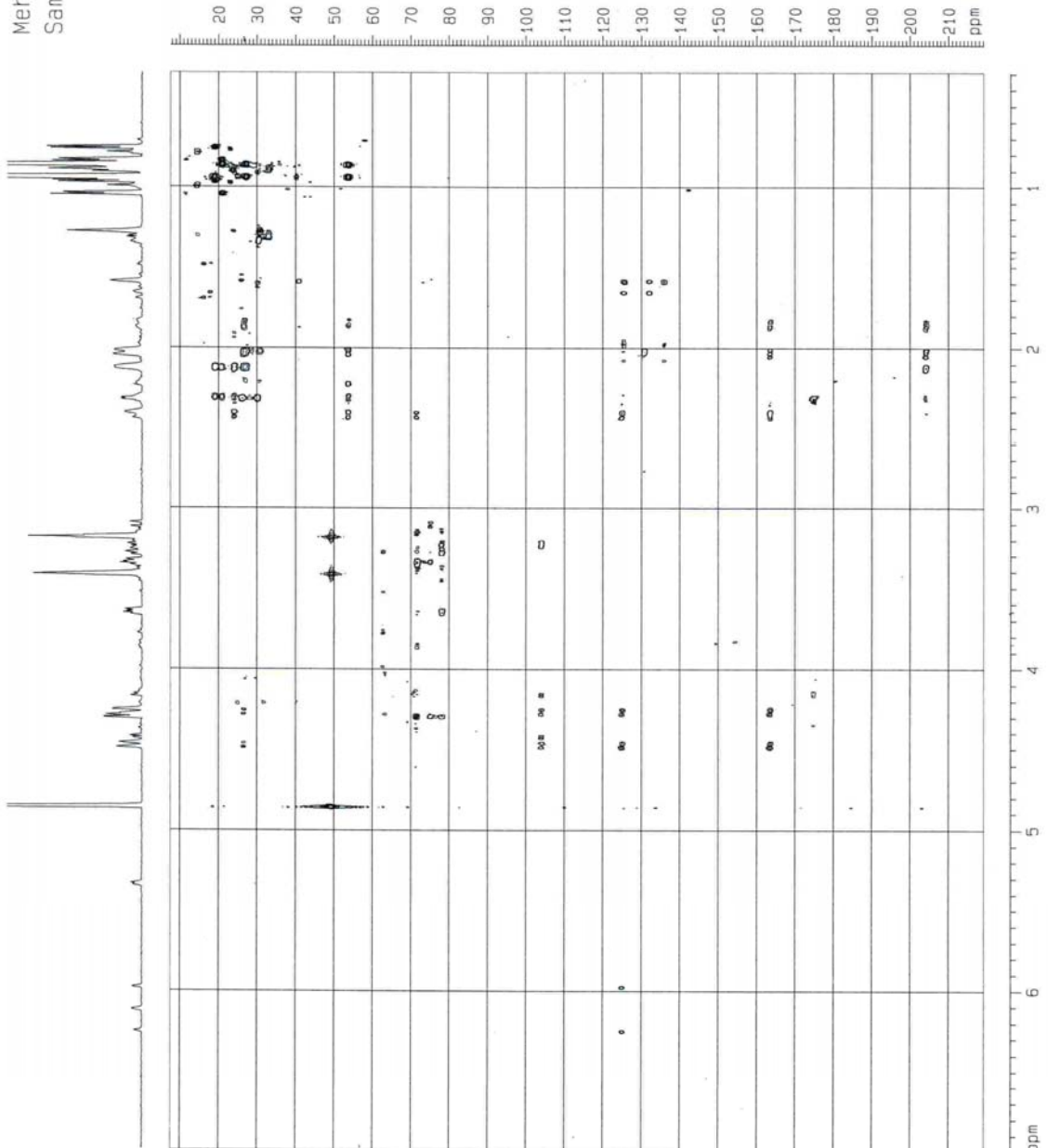
Mehmet/Prof. Iqbal
Sample: MCA54LC23

ADVANCE AV 600
LAB. NO. 108

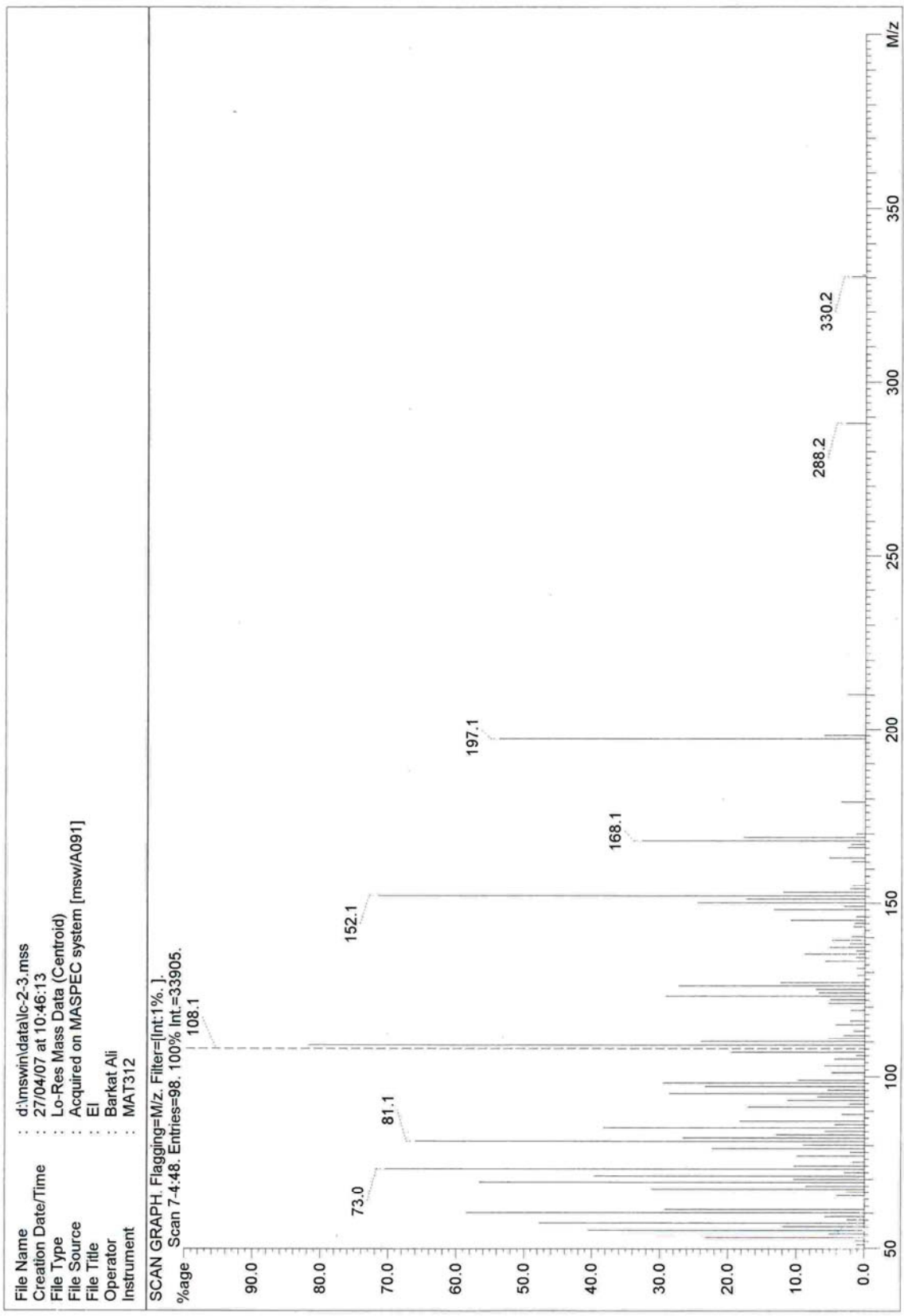
Current Data Parameters

NAME: MCA54LC23
PROCNO: 1

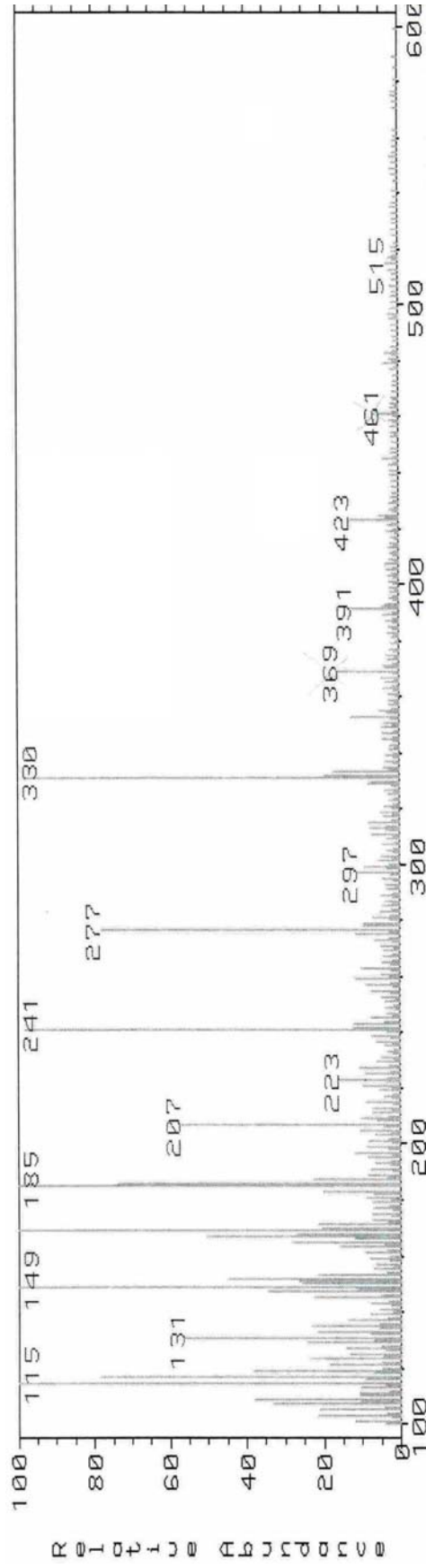
EX - Acquisition Parameters
DATE_: 20170501
TIME: 17:35
INSTRUM: spect
PROBHD: 5 mm CPY1 91-
TD: 4
SOLVENT: H2O
P1: 16.00
PC: 1.45
SMA1 B13 H2
SMA2 B13 H2
ADVERT: 0.300000 SEC
DE: 0.100000
TE: 300.2
AQ: 0.000000
RG: 0.000000
RG2: 0.000000
RG3: 0.000000
RG4: 0.000000
RG5: 0.000000
RG6: 0.000000
RG7: 0.000000
RG8: 0.000000
RG9: 0.000000
RG10: 0.000000
RG11: 0.000000
RG12: 0.000000
RG13: 0.000000
RG14: 0.000000
RG15: 0.000000
RG16: 0.000000
RG17: 0.000000
RG18: 0.000000
RG19: 0.000000
RG20: 0.000000
RG21: 0.000000
RG22: 0.000000
RG23: 0.000000
RG24: 0.000000
RG25: 0.000000
RG26: 0.000000
RG27: 0.000000
RG28: 0.000000
RG29: 0.000000
RG30: 0.000000
RG31: 0.000000
RG32: 0.000000
RG33: 0.000000
RG34: 0.000000
RG35: 0.000000
RG36: 0.000000
RG37: 0.000000
RG38: 0.000000
RG39: 0.000000
RG40: 0.000000
RG41: 0.000000
RG42: 0.000000
RG43: 0.000000
RG44: 0.000000
RG45: 0.000000
RG46: 0.000000
RG47: 0.000000
RG48: 0.000000
RG49: 0.000000
RG50: 0.000000
RG51: 0.000000
RG52: 0.000000
RG53: 0.000000
RG54: 0.000000
RG55: 0.000000
RG56: 0.000000
RG57: 0.000000
RG58: 0.000000
RG59: 0.000000
RG60: 0.000000
RG61: 0.000000
RG62: 0.000000
RG63: 0.000000
RG64: 0.000000
RG65: 0.000000
RG66: 0.000000
RG67: 0.000000
RG68: 0.000000
RG69: 0.000000
RG70: 0.000000
RG71: 0.000000
RG72: 0.000000
RG73: 0.000000
RG74: 0.000000
RG75: 0.000000
RG76: 0.000000
RG77: 0.000000
RG78: 0.000000
RG79: 0.000000
RG80: 0.000000
RG81: 0.000000
RG82: 0.000000
RG83: 0.000000
RG84: 0.000000
RG85: 0.000000
RG86: 0.000000
RG87: 0.000000
RG88: 0.000000
RG89: 0.000000
RG90: 0.000000
RG91: 0.000000
RG92: 0.000000
RG93: 0.000000
RG94: 0.000000
RG95: 0.000000
RG96: 0.000000
RG97: 0.000000
RG98: 0.000000
RG99: 0.000000
RG100: 0.000000



Şekil 4-42: Piperiton 7-O-β-D-Glikozit'in HMBC Spektrumu (CD₃OD)

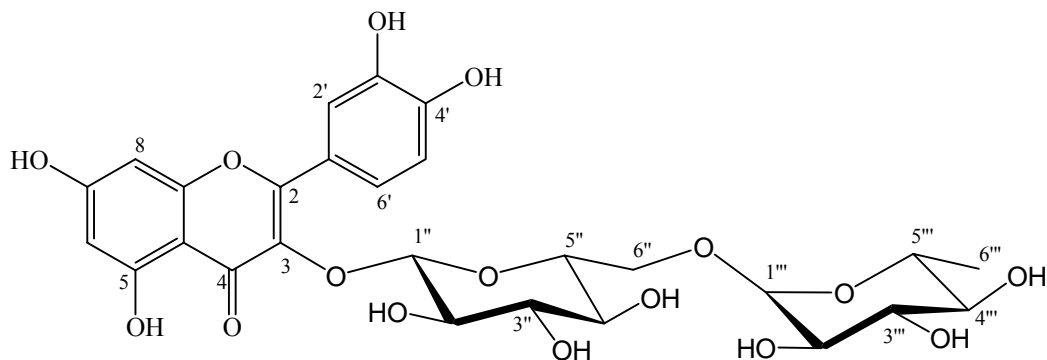


Şekil 4-43: Piperiton 7-O-β-D-Glikozit'in Kütle Spektrumu (EI-MS)



Şekil 4-44: Piperiton 7-O-β-D-Glikozit'in FAB[®]MS Spektrumu

❖ LC-4-1 = Rutin (Kersetin 3-O- Rutinosit)



Şekil 4-45: Rutin

Sarı renkli olan LC-4-1 bileşiği amorf halde elde edildi.

UV lamba (254 nm) altında koyu mor görülen bileşik serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) koyu sarı bir renk aldı.

LC-4-1'e ait FAB⁺MS spektrumu *m/z* 610 molekül ağırlığına uyan C₂₇H₃₀O₁₆ formülünü verdi (Şekil 4.53).

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz) (Şekil 4.48) ve DEPT 135 (DMSO-d₆, 125 MHz) (Şekil 4.49) spektrumları incelendiğinde LC-4-1'in 1 metil, 1 metilen, 15 metin ve 10 katerner olmak üzere toplam 27 karbon içerdiği belirlendi.

LC-4-1 bileşiği selüloz plağa tatbik edilip % 30'luk CH₃COOH çözeltisinde yürütüldü. Plaktaki lekenin UV lamba (366 nm) altında incelendiğinde sarı, NH₃ buharına tutulup incelendiğinde koyu sarı ve NA belirteci püskürtülüp UV ışığı altında incelendiğinde turuncumsu sarı renkte görülmesi C-5, C-3' ve C-4' konumunda -OH gruplarının bulunduğunu ve C-3 konumunun süstitue olabileceğini gösterdi.

LC-4-1'in metanol içinde alınan UV spektrumunda Bant I 358 nm, Bant II 257 nm'de izlendi. NaOCH₃ ile alınan spektrumdaki Bant I'in (412 nm), orijinal Bant I'e göre daha şiddetli olduğu ve 54 nm kayma gösterdiği için 4' konumunda -OH olduğu anlaşıldı. NaOCH₃ spektrumunda 326 nm'de Bant III'ün gözlenmesi 7 konumunda -OH olduğu gösterdi.

AlCl_3/HCl spektrumunda Bant I ile orijinal spektrumdaki Bant I arasında 42 nm'lik kayma (400 nm) gözlenmesi C-6'nın boş olabileceğini gösterdi. Ayrıca AlCl_3 ile alınan spektrumdaki Bant I, orijinal Bant I'e göre 74 nm kayma (432 nm) gösterdi, böylece 3' ve 4' konumlarında orto-dihidroksi gruplarının olduğu tespit edildi.

$\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$ ile alınan spektrumda Bant II (261 nm), orijinal Bant II (257 nm) ile yaklaşık olarak aynı kaymayı göstermesi C-7'de $-\text{OH}$ grubunun bulunduğunu gösterdi. Ayrıca $\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$ spektrumunda Bant I, orijinal Bant I'e göre 20 nm kayma (378 nm) gösterdiğinden 3' ve 4' konumlarında hidroksil gruplarının bulunduğu belirlendi. LC-4-1'in kayma belirteçleri ile alınan UV spektrumları Şekil 4.46'da verilmektedir.

DMSO- d_6 ile alınan ^1H -NMR spektrumunda (500 MHz) (Şekil 4.47); δ 6.18 (1H, *d*, $J = 1.95$ Hz) ve 6.37 (1H, *d*, $J = 1.95$ Hz) izlenen piklerin sırası ile H-6 ve H-8 protonlarına ait olduğu COSY (Şekil 4.50), HMQC (Şekil 4.51) ve HMBC spektrumlarındaki (Şekil 4.52) ilişkilerden belirlendi. δ 6.82'de (1H, *d*, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 7.52'de (1H, *d*, $J = 1.8$ Hz, H-2') ve 7.53'de (1H, *dd*, $J = 1.8; 8.0$ Hz, H-6') izlenen pikler ile B halkasında 3' ve 4' konumlarında hidroksil gruplarının bulunduğu tespit edildi. δ 12.58'de (1H, *s*) izlenen pik C-5'deki $-\text{OH}$ grubuyla C-4'deki karbonil grubunun molekül içi hidrojen bağı yaptığını gösterdi.

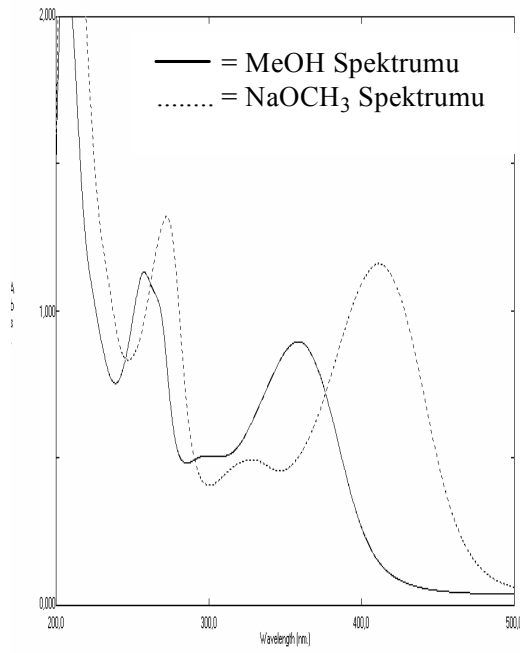
δ 5.33'de (1H, *d*, $J = 7.2$ Hz, H-1'') izlenen pik, aglikona β - konumda bağlanmış glukozun anomerik protonudur (δ 101.1, C-1'')^{138,139}. δ 4.37'de (1H, *d*, $J = 1.8$ Hz, H-1''') görülen pik ramnoza ait anomerik protonudur¹⁴⁰. HMBC spektrumu incelendiğinde glukozun 6 konumundan (C-6'') ramnozun bağlandığı belirlendi. LC-4-1'e ait ^{13}C -NMR değerleri ile önemli HMQC, HMBC ve COSY ilişkileri Tablo 4.5'de verildi.

LC-4-1'in spektral değerleri literatürdeki değerlerle karşılaştırıldığında bu bileşiğin rutin (3,6 mg) olduğu¹⁴¹ ve *Micromeria* türlerinden ilk defa elde edildiği tespit edildi (Şekil 4. 45).

Tablo 4-5: LC-4-1'in NMR Kimyasal Kaymaları, HMBC ve COSY ilişkileri

Pozisyon	¹ H NMR	¹³ C NMR	HMQC	HMBC (H→C)	COSY
2	--	156,6			
3	--	133,3			
4	--	177,3			
5	--	161,2			
6	6,18 <i>d</i> (1,95)	98,6	C-6	C-5, C-7, C-8, C-10	H-8
7	--	164,0			
8	6,37 <i>d</i> (1,95)	93,5	C-8	C-6, C-7, C-9, C-10	H-6
9	--	156,4			
10	--	103,9			
1'	--	121,1			
2'	7,52 <i>d</i> (1,8)	116,2	C-2'	C-2, C-3', C-4'	
3'	--	144,7			
4'	--	148,4			
5'	6,82 <i>d</i> (8,0)	115,2	C-5'	C-1', C-3', C-4'	H-6'
6'	7,53 <i>dd</i> (1,8; 8,0)	121,5	C-6'	C-2', C-4'	H-5'
1''	5,33 <i>d</i> (7,2)	101,1	C-1''		H-2''
2''	3,34 <i>m</i>	74,0	C-2''		
3''	3,23 <i>m</i>	76,4	C-3''		
4''	3,06 <i>t</i> (9,3)	70,3	C-4''		
5''	3,30 <i>m</i>	75,9	C-5''		H-6''
6 _a ''	3,69 <i>d</i> (10,5)	66,9	C-6''	C-1'', C-1'''	H-5''
6 _b ''	3,32 <i>m</i>				

1'''	4,37 <i>d</i> (1,8)	100,7	C-1'''	C-6'', C-3'''	H-2'''
2'''	3,53 <i>m</i>	70,5			H-1'''
3'''	3,26 <i>m</i>	69,9	C-3'''		
4'''	3,07 <i>t</i> (9,3)	71,8	C-4'''	C-2'''	
5'''	3,40 <i>m</i>	68,2			H-6'''
6'''	0,98 <i>d</i> (6,1)	17,7	C-6'''	C-5''', C-4'''	H-5'''



UV Kayma Değerleri (λ_{max} , nm):

MeOH : 257, 267sh, 296, 358

NaOCH₃ : 272, 326, 412

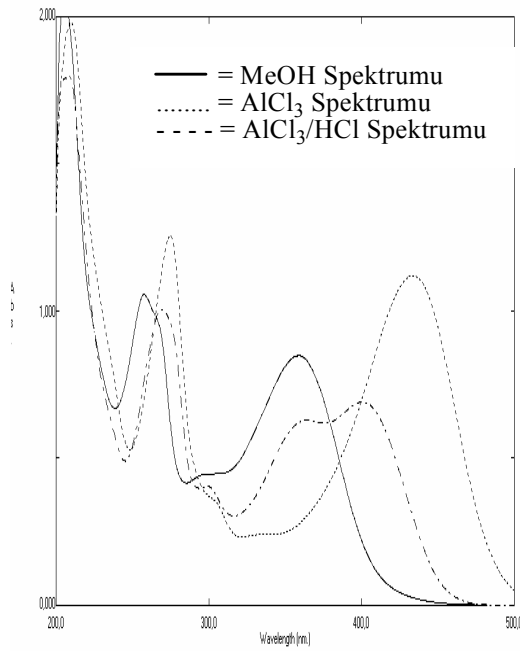
AlCl₃ : 274, 306sh, 432

AlCl₃/HCl : 268, 302sh, 360, 400

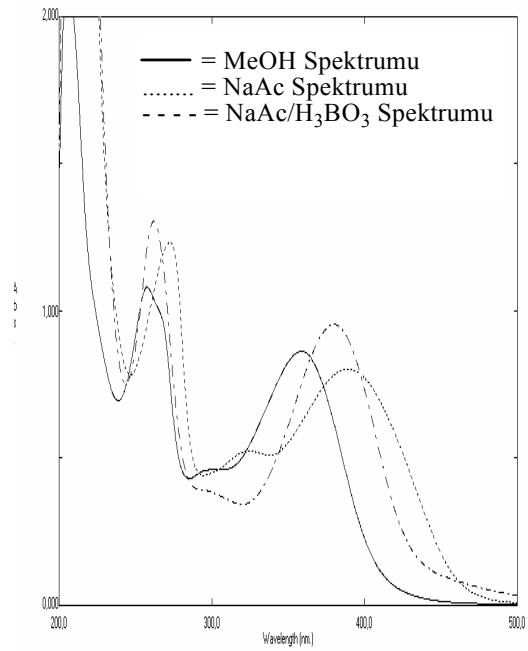
NaOAc : 273, 320, 390

NaOAc/H₃BO₃ : 261, 297, 378

NaOCH₃ Spektrumu



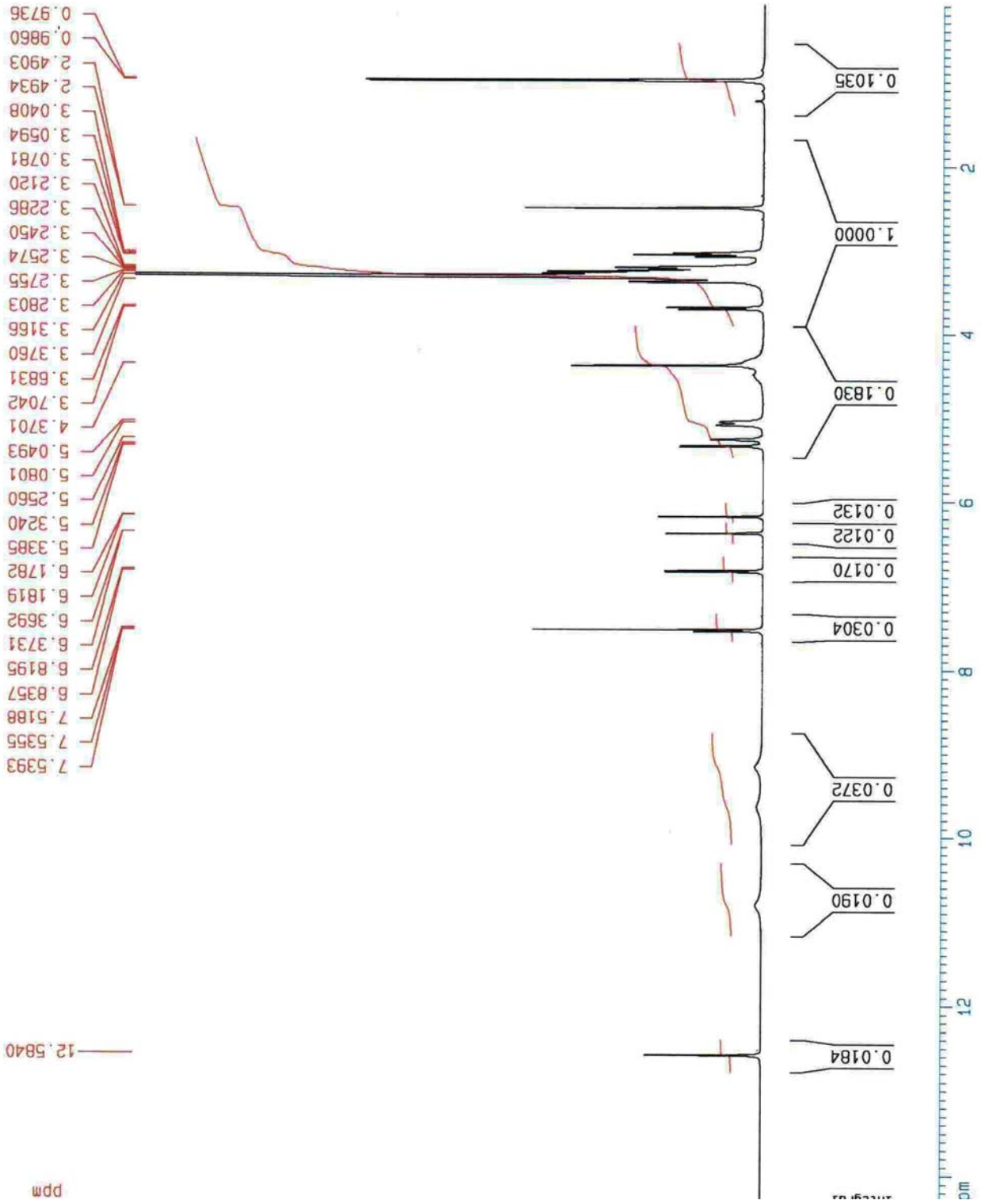
AlCl₃/HCl Spektrumu



NaOAc/H₃BO₃ Spektrumu

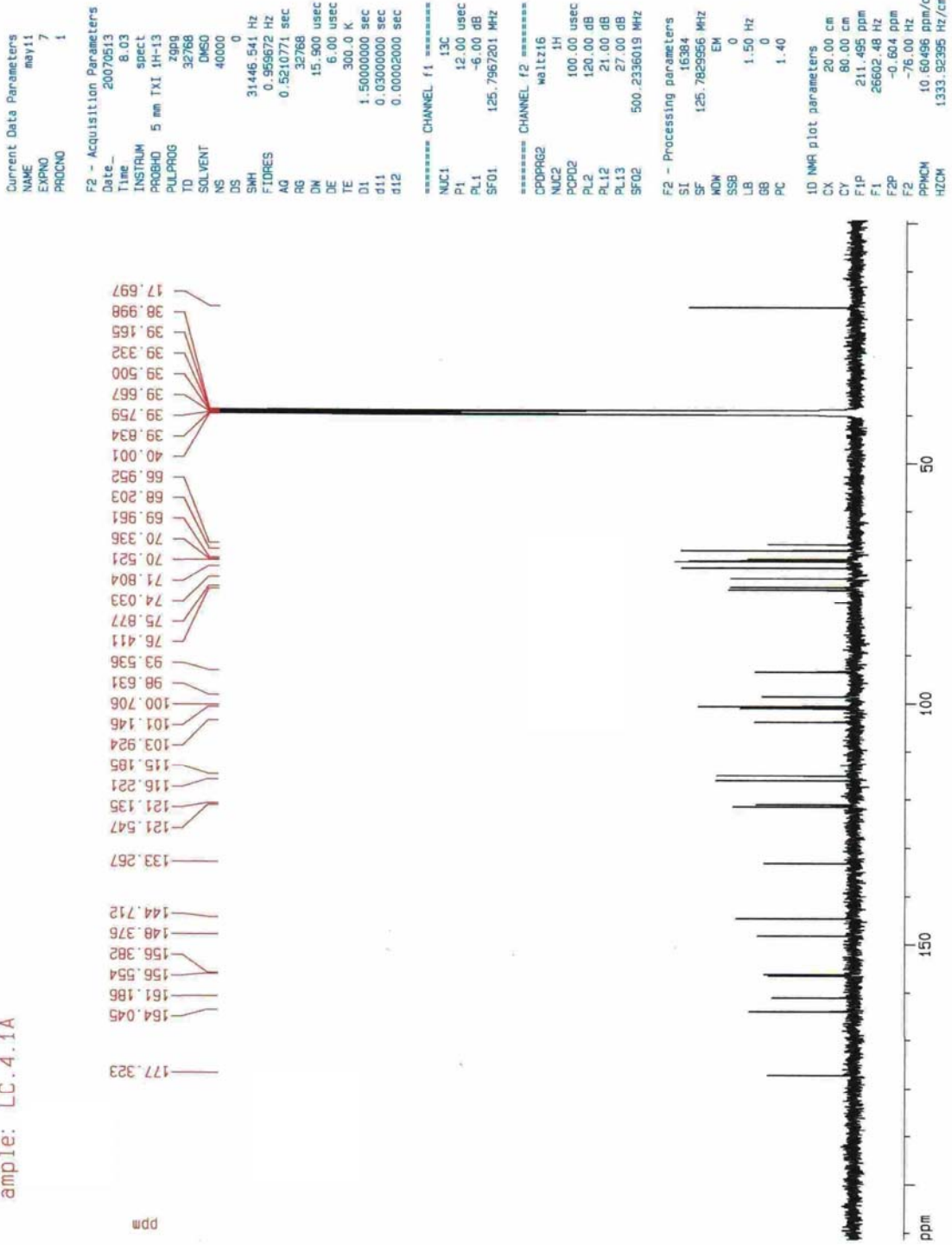
Şekil 4-46: Rutin'in UV-Vis Spektrumu

Şekil 4-47: Rutin'in ¹H-NMR Spektrumu (DMSO, 500 MHz)



AVANCE 500
LAB. No. 118

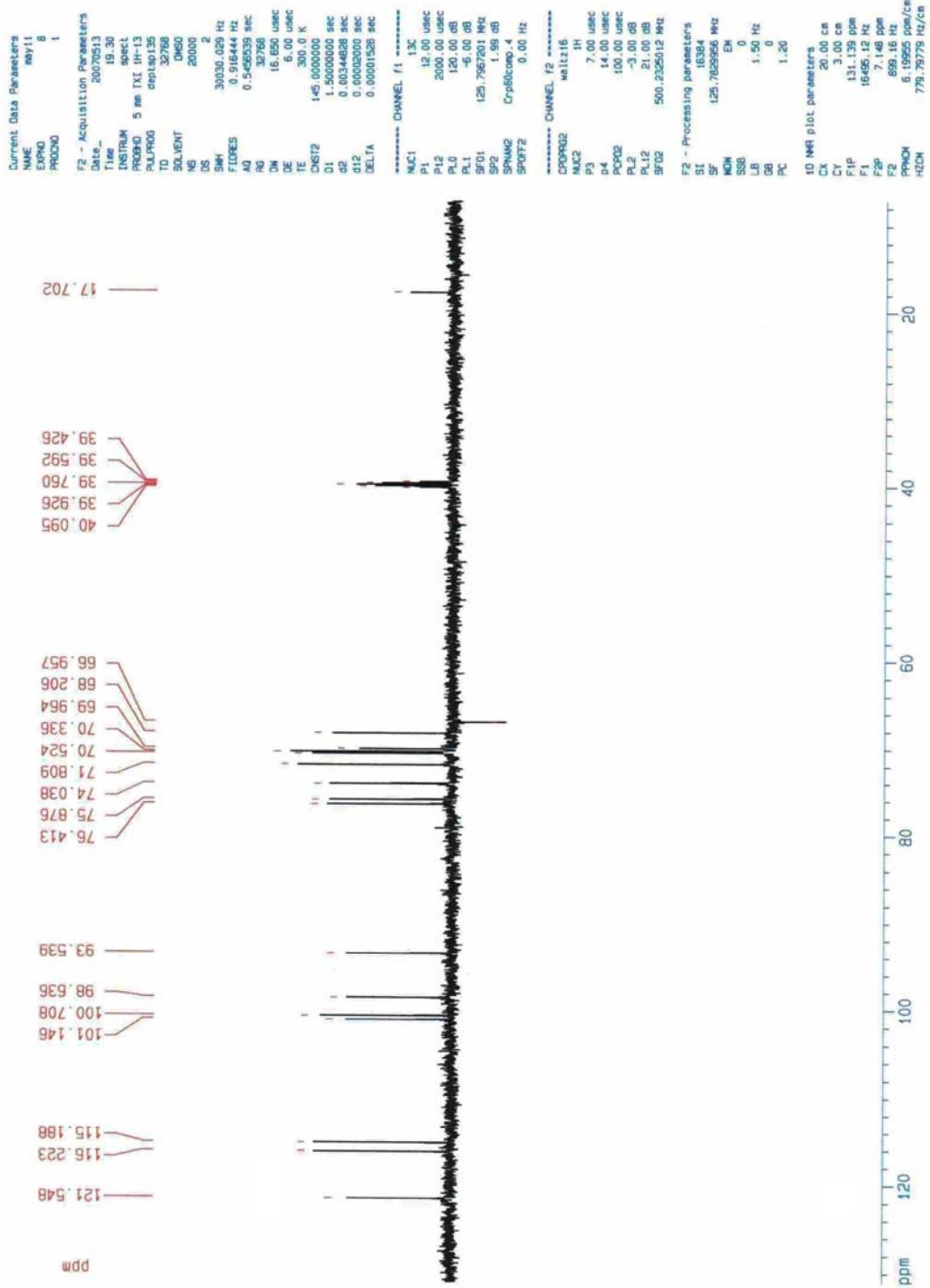
MEHMET/DR. IQBAL
ample: LC.4.1A



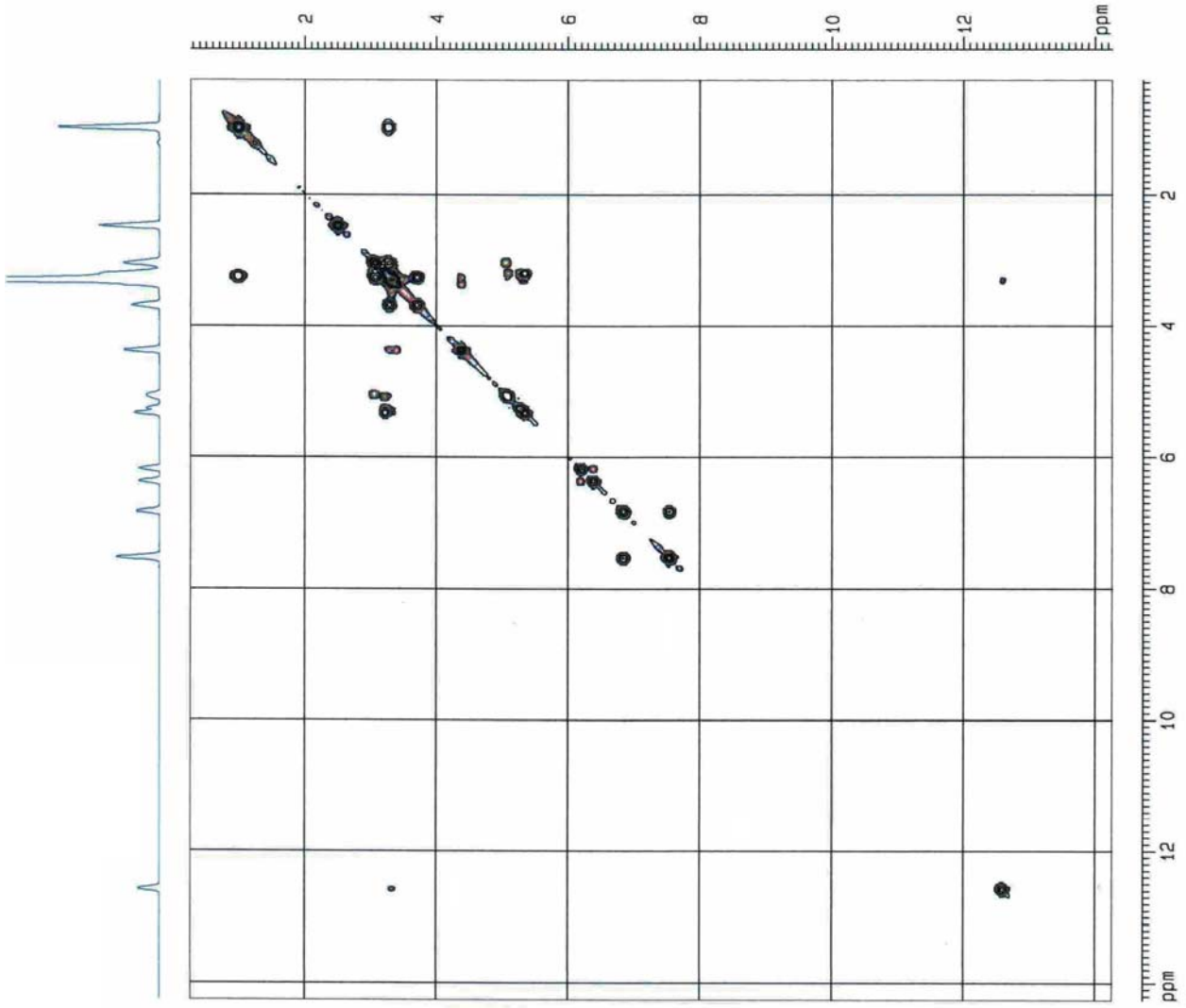
Şekil 4-48: Rutin'in ¹³C-NMR Spektrumu (DMSO, 125 MHz)

MEHMET/DR.IQBAL
Sample: LC.4.1A dept13

AVANCE 500
LAB. No: 118



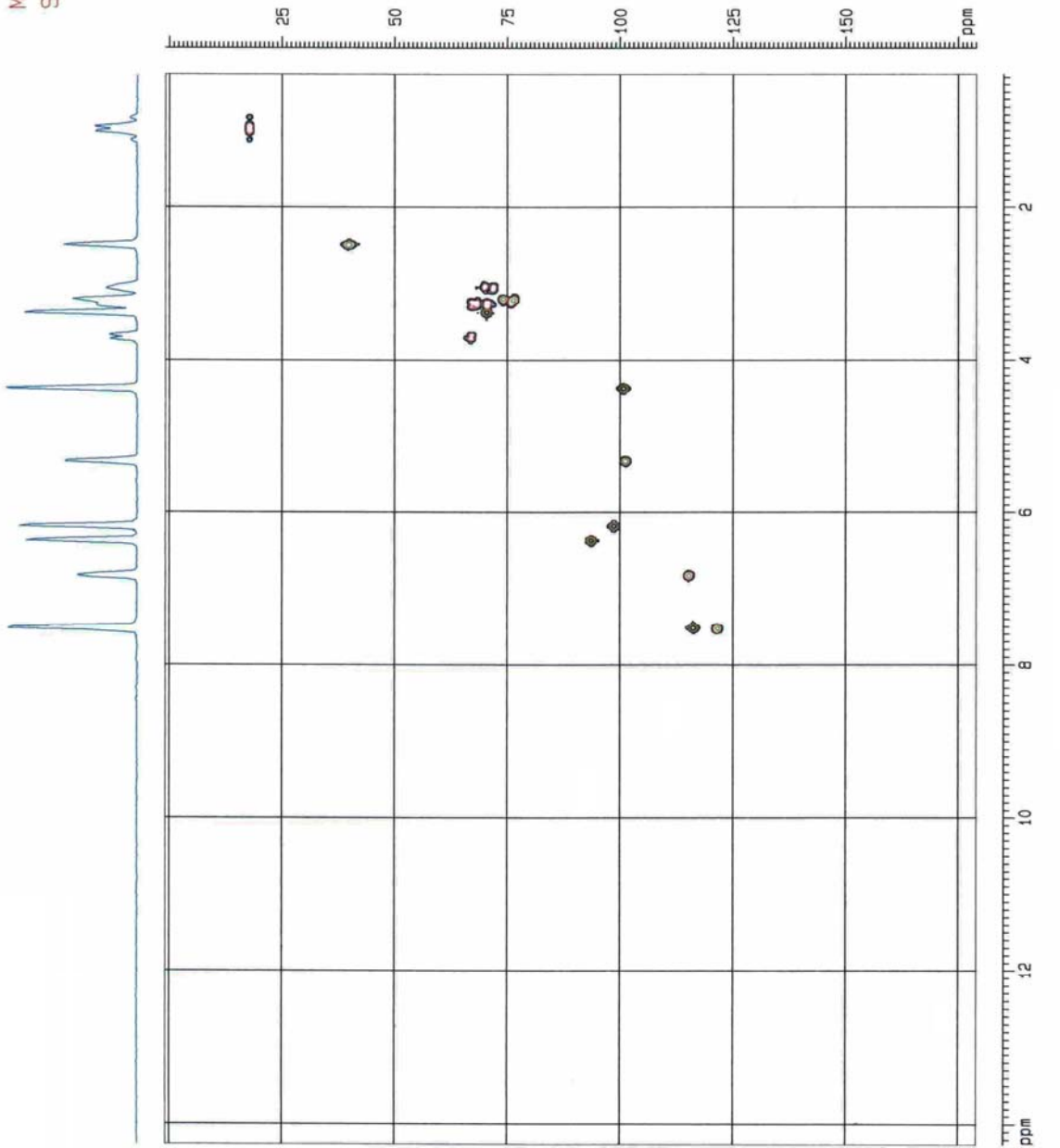
Şekil 4-49: Rutin'in DEPT 135 Spektrumu (DMSO, 125 MHz)



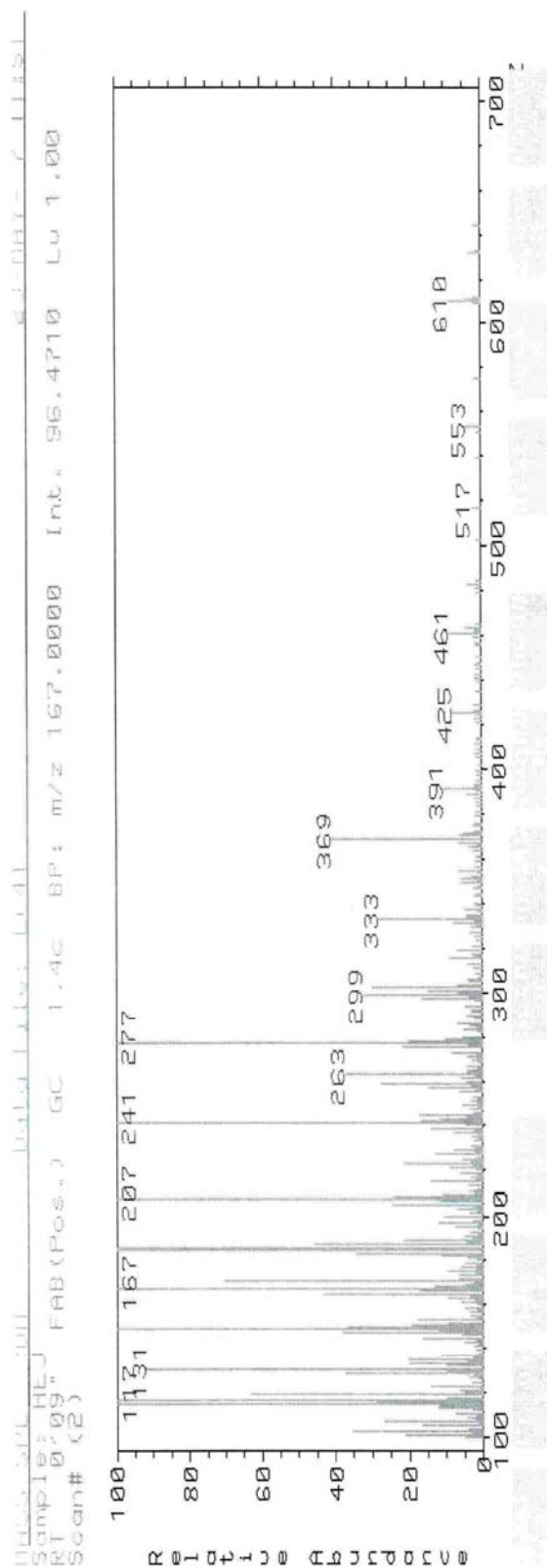
Şekil 4-50: Rutin'in COSY Spektrumu (DMSO, 500 MHz)

MEHMET/DR. IOGBAL
Sample: LC.4.1A

AVANCE 500
LAB. No. 118



Şekil 4-51: Rutin'in HMQC Spektrumu (DMSO)



Şekil 4-53: Rutin'in FAB[®]MS Spektrumu

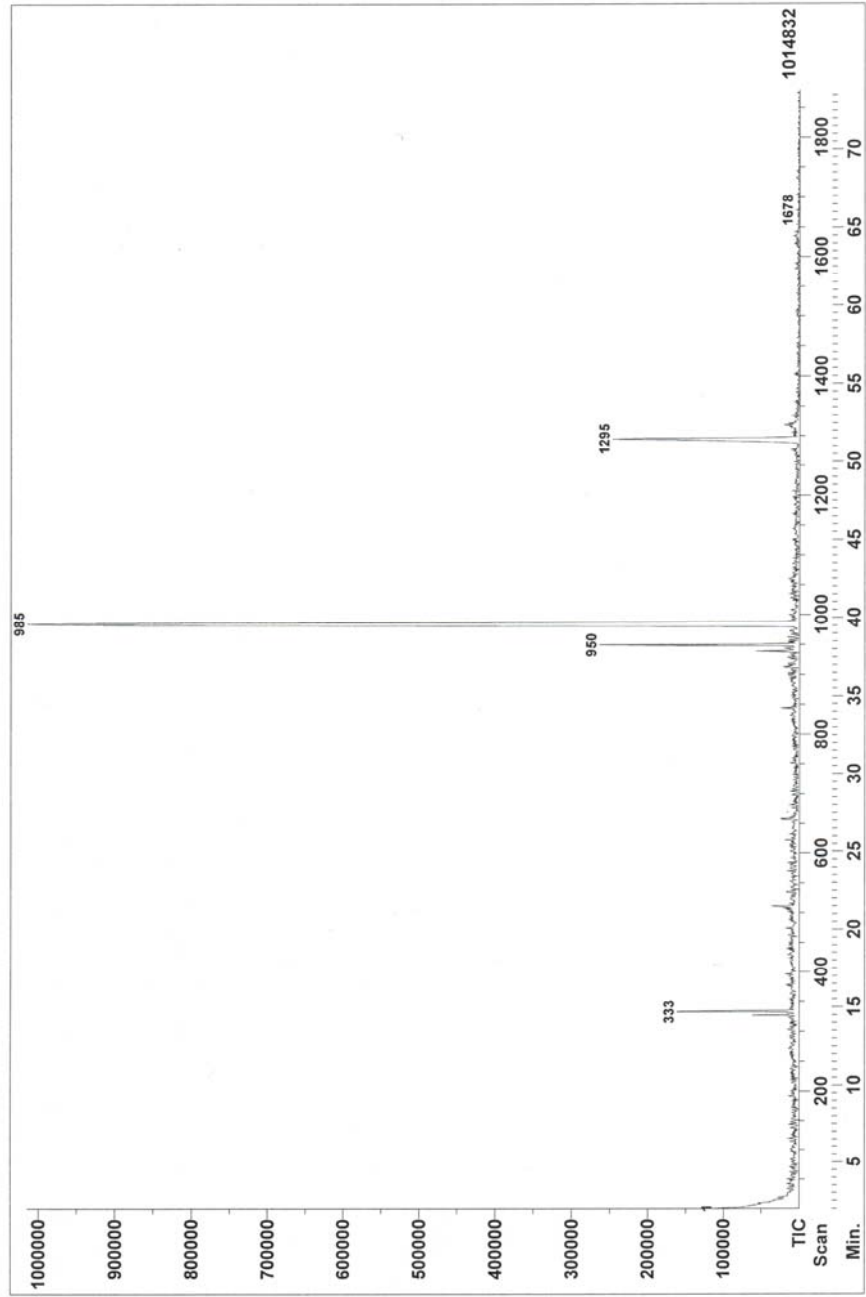
4.2.1.7. Üçüncü Aktif Fraksiyonun (MCA 11) GC ve GC/MS Analizi

Bölüm 3.7.3.1 ve bölüm 3.7.3.2’de belirtilen şartlarda MCA 11’in GC ve GC/MS analizleri yapıldı. MCA 11’in kromatogramında her bir bileşenin integrasyonu CLASS-GC10 gaz kromatografisi bilgisayar programı ile yapıldı ve her bir fraksiyonun kendi içinde yüzdeleri aynı programla hesaplandı.

Bileşenlerin yapılarının belirlenmesinde Nist 2005 kütüphane verileri ve “Eight Peak Index of Mass Spectra”, “Monoterpenes” ve “Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy” adlı spektroskopi atlasları kullanıldı¹⁴². Ayrıca bileşiklerin alıkonulma süreleri göz önüne alınarak ve kovatz indeks değerleri hesaplanarak yapı tayini desteklendi. Buna ilave olarak aynı şartlarda standart maddeler kolonda yürütüldü ve alıkonulma zamanları ile bileşikler karşılaştırıldı.

GC ve GC/MS analizi sonucunda MCA 11’den elde edilen 5 bileşikten 4 tanesi kesin olarak teşhis edildi. MCA 11’e ait GC kromatogramı Şekil 4.54’de; aydınlatılan bileşiklere ait formüller Şekil 4.55’de verildi. MCA 11’den elde edilen bileşiklerin formül numaraları, molekül ağırlıkları, alıkonma zamanları (dakika), kovatz indeksleri, bağıl konsantrasyonları (%) ve yapı aydınlatılmasında kullanılan teşhis Tablo 4.6’de verildi. Teşhisi yapılırken kütle spektrumlarından yararlanılan bileşiklerin kütle spektrumları alıkonma zamanlarına göre sırası ile Şekil 4.56, Şekil 4.57, Şekil 4.58 ve Şekil 4.59’de verildi.

File: MGA-11 Date Run: 05-07-2007 (Time Run: 09:44:38)
Sample: MEHMET OZTURK / DR.M.IQBAL H.E.J UNIVERSITY OF KARACHI
Instrument: JEOL_MSRoute
Inlet: GC Ionization mode: EI+

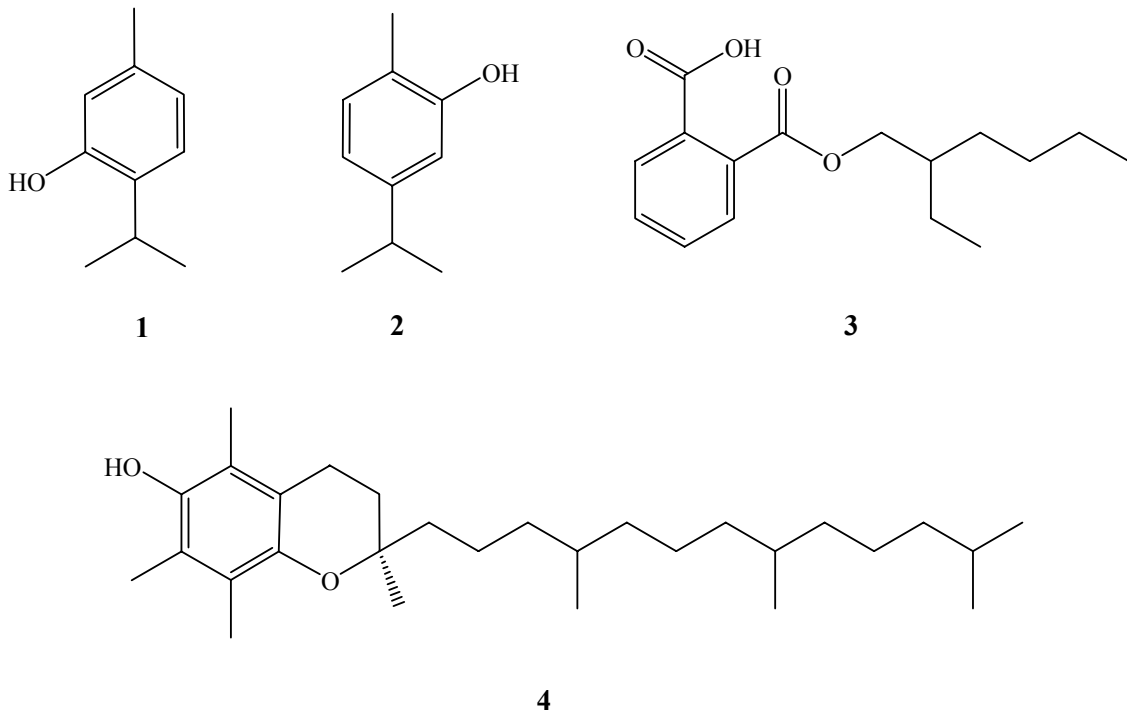


Şekil 4-54: MCA 11'in GC Kromatogramı

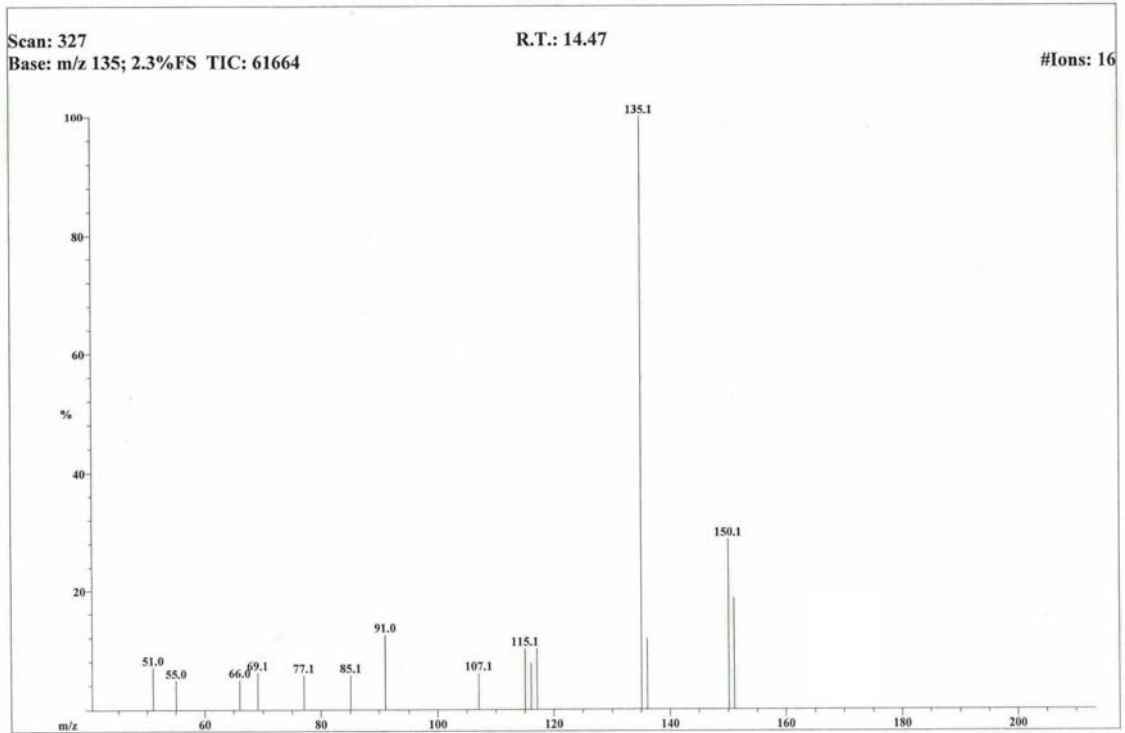
Tablo 4-6: MCA 11'den Elde Edilen Bileşikler

Bileşikler	Formül No	Molekül Ağırlığı (g/mol)	Rt (Dakika)	RI	Miktar %	Teşhis Yöntemi
1 Timol	1	150,10	14,47	1290	3,20	a,b,c
2 Karvakrol	2	150,10	14,68	1310	9,20	a,b,c
3 Aydınlatılmadı		–	38,27	–	14,10	b
4 Monoetilhekzilfitalat	3	278,15	39,60	2162	58,40	b,c
5 Vitamin E	4	430,38	51,45	3144	14,20	a,b,c
TOPLAM:						99,10

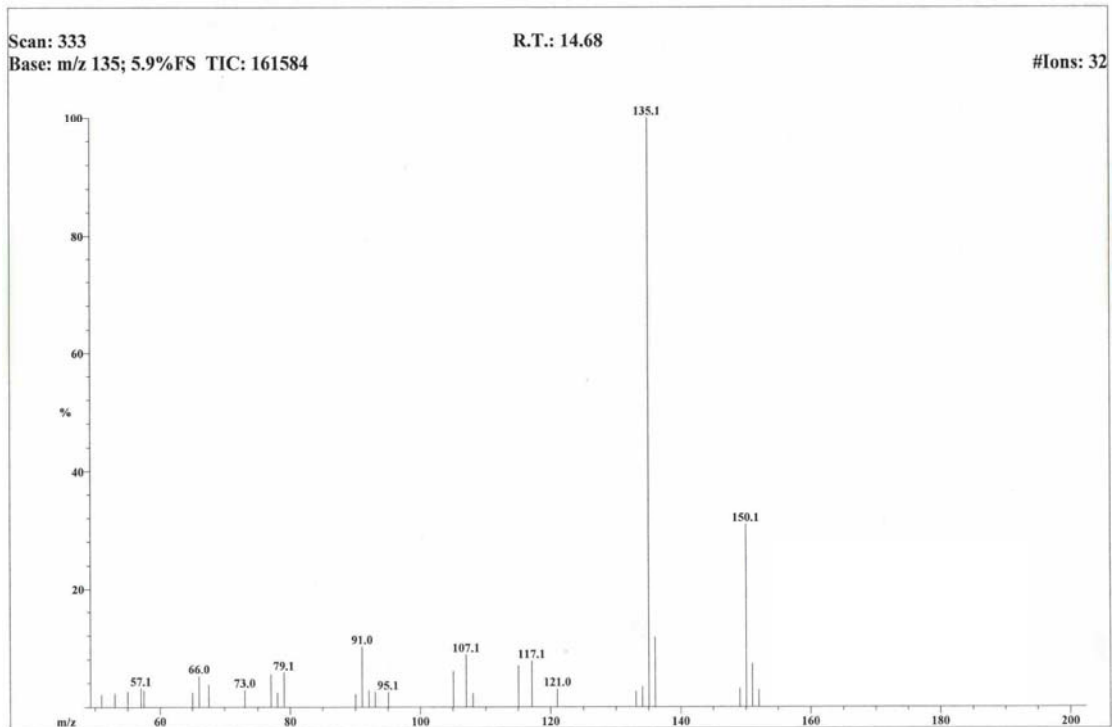
a: Gaz Kromatografisi şahit madde kontrolü; **b:** Kütle Spektrumu; **c:** Literatür karşılaştırması; **Rt:** Alıkonma zamanı; **RI:** Kovatz indeksi



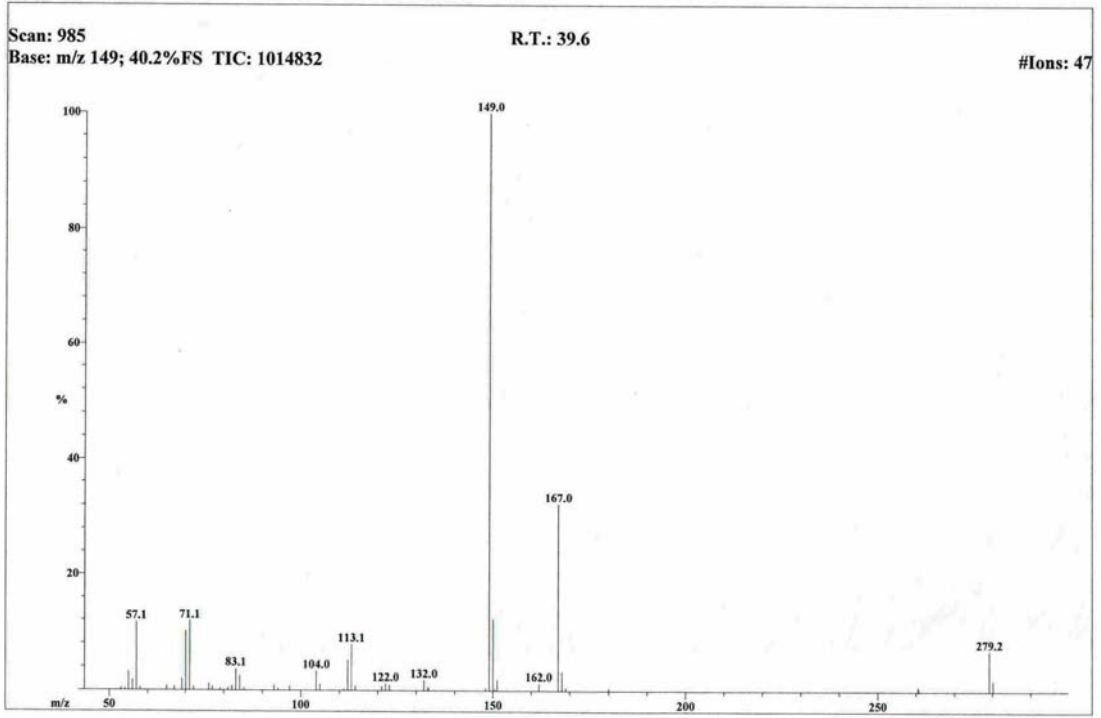
Şekil 4-55: MCA 11 Fraksiyonundan Elde Edilen Bileşiklerin Formülleri



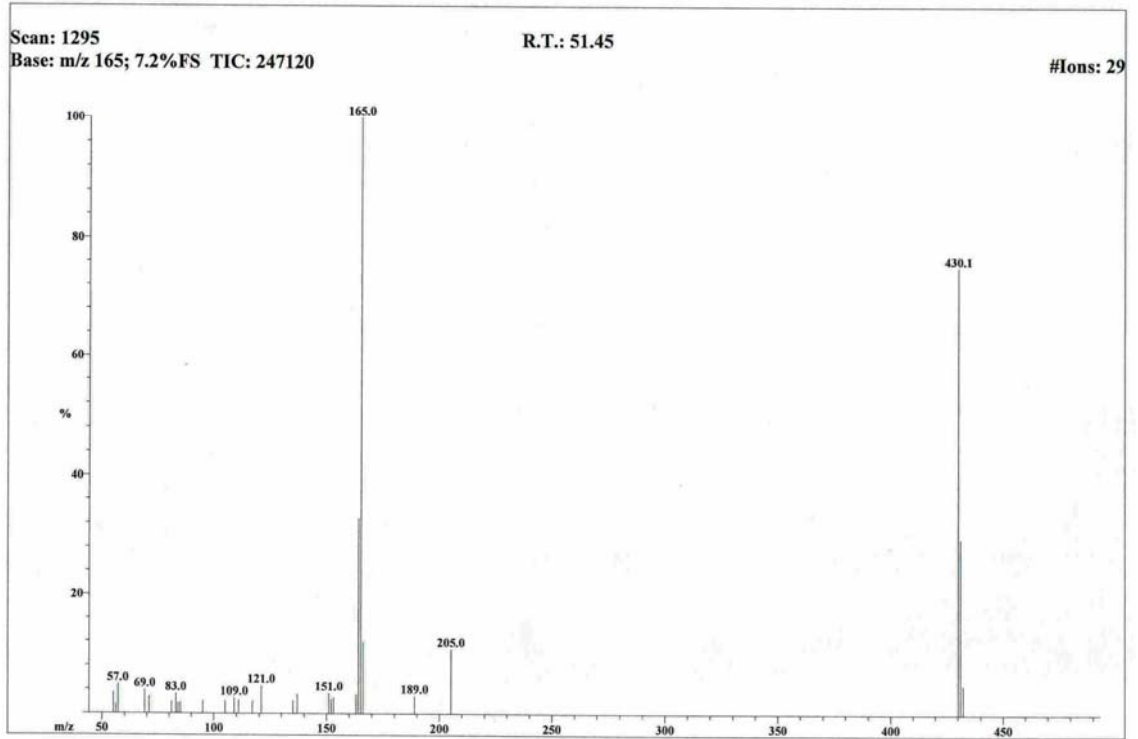
Şekil 4-56: Timol'ün Kütle Spektrumu



Şekil 4-57: Karvakrol'ün Kütle Spektrumu



Şekil 4-58: Monoetilhekzilfitalat'ın Kütle Spektrumu



Şekil 4-59: Vitamin-E'nin Kütle Spektrumu

4.3. *M. juliana*'dan Elde Edilen Sonuçlar

M. juliana'nın petrol eteri ekstresi ile aseton ekstresinin β -karoten renk açılım yönteminde yüksek, metanol ekstresinin ise daha düşük aktivite gösterdiği belirlendi. DPPH serbest radikali giderim aktivitesinin metanol ekstresinde yüksek, aseton ekstresinde orta derecede, petrol eteri ekstresinde ise çok düşük olduğu saptandı. Aseton ekstresinin süperoksit anyon radikali giderim aktivitesi kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı olduğu görüldü. Petrol eteri ekstresinin ise süperoksit radikalini gideremediği belirlendi. Toplam fenolik miktarının metanol ekstresinde, toplam flavonoit miktarının aseton ekstresinde en yüksek olduğu tespit edildi. Petrol eteri ekstresi hem fenolik hem de flavonoit miktarları açısından diğer iki ekstreye göre daha fakir bulundu.

4.3.1. *M. juliana* Petrol Eteri Ekstresi (MJP)

4.3.1.1. *M. juliana*'nın Petrol Eteri Ekstresinin Fraksiyonlandırılması

Petrol eteri ekstresinin β -karoten renk açılım yönteminde lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği ancak DPPH serbest radikalini ve süperoksit anyon radikalini gidermediği, toplam fenolik ve flavonoit miktarları açısından aseton ve metanol ekstrlerinden daha düşük olduğu saptandı. MJP silikajel kolonda % 100 petrol eterinden başlanarak fraksiyonlandırıldı, klorofom % 5 arttırıldı ve % 100 kloroforma ulaşılınca elüsyon tamamlandı. İnce tabaka kromatografisi yapılarak benzer fraksiyonlar birleştirildi. *M. juliana*'nın petrol eteri ekstresinden elde edilen 16 fraksiyonun adları, miktarları ve % verimleri Tablo 4.7'de verildi.

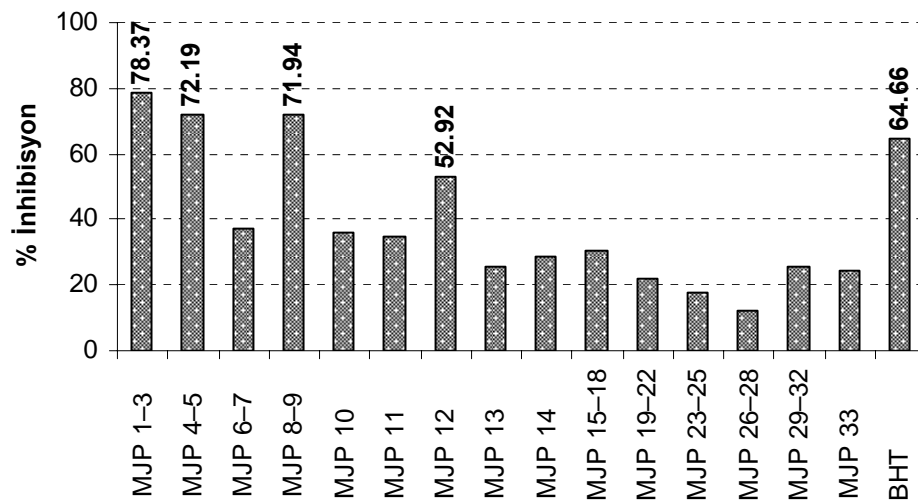
Bu 16 fraksiyonun antioksidan aktivitesi, β -karoten renk açılım yöntemi ile belirlendi. Aktivitesi yüksek çıkan fraksiyonların GC ve GC/MS analizleri yapıldı.

Tablo 4-7: MJP'den Elde Edilen Fraksiyonların Adları, Miktarları ve % Verimleri

	Fraksiyon Adı	Miktarı (mg)	% Verim		Fraksiyon Adı	Miktarı (mg)	% Verim
1	MJP 1-2	31,90	0,82	9	MJP 13	275,60	7,10
2	MJP 3	1,30	0,03	10	MJP 14	866,30	22,33
3	MJP 4-5	2,60	0,07	11	MJP 15-18	987,60	25,45
4	MJP 6-7	5,00	0,13	12	MJP 19-22	152,80	3,94
5	MJP 8-9	3,00	0,08	13	MJP 23-25	144,30	3,72
6	MJP 10	20,20	0,52	14	MJP 26-28	220,90	5,69
7	MJP 11	143,70	3,70	15	MJP 29-32	144,40	3,72
8	MJP 12	142,30	3,67	16	MJP 33	87,60	2,26

4.3.1.2. MJP Fraksiyonlarının Antioksidan Aktivite Sonuçları

MJP, β -karoten renk açılım yönteminde en yüksek aktiviteyi gösterdiği için fraksiyonların da aktivitesi bu test sistemine göre belirlendi. MJP fraksiyonlarının, β -karoten renk açılım yöntemine göre tek bir konsantrasyonda (25 μ g/mL) aktiviteleri belirlendi. (Şekil 4.60). Standart olarak kullanılan BHT'den yüksek ve yakın aktivite gösteren MJP 1-3, MJP 4-5, MJP 8-9 ve MJP 12 kodlu 4 fraksiyon GC/MS cihazında analiz edildi.



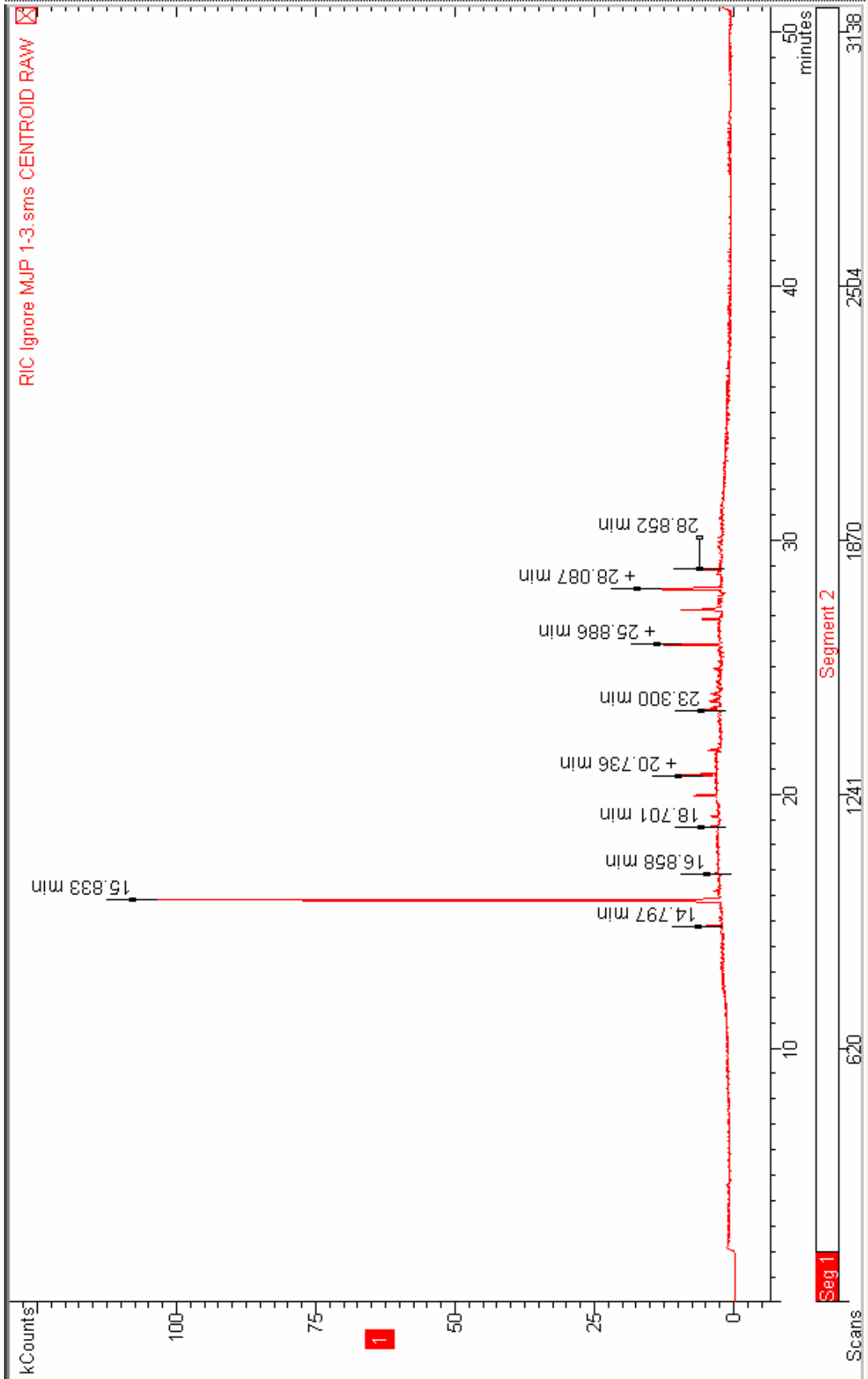
Şekil 4-60: MJP Fraksiyonlarının β -Karoten Renk Açılım Yöntemine Göre Antioksidan Aktivitesi

4.3.1.3. MJP 1–3, MJP 4–5, MJP 8–9 ve MJP 12'nin GC ve GC/MS Analizi

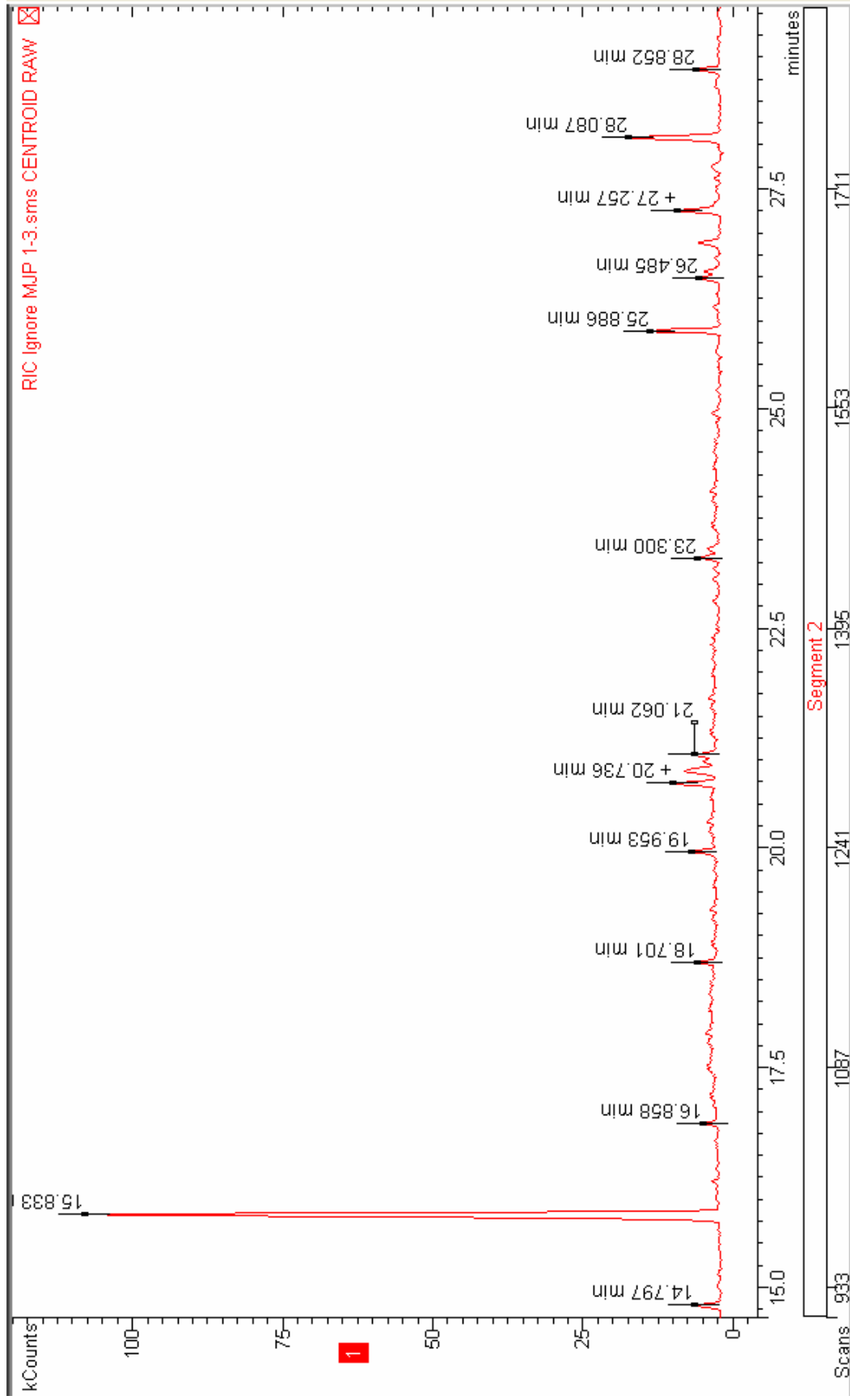
M. juliana'nın petrol eteri ekstresinden elde edilen ve antioksidan aktivitesi yüksek çıkan MJP 1–3, MJP 4–5, MJP 8–9 ve MJP 12'nin gaz kromatogramları sırası ile Şekil 4.61-4.62, Şekil 4.73, Şekil 4.77 ve Şekil 4.83'de verildi. Kromatogramlarda integrasyon, CLASS-GC10 gaz kromatografisi bilgisayar programı ile yapıldı ve her bir fraksiyonun kendi içinde yüzdeleri aynı programla hesaplandı.

Bileşiklerin yapılarının belirlenmesinde Nist 2005 kütüphane verileri ve “Eight Peak Index of Mass Spectra”, “Monoterpenes” ve “Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy” adlı spektroskopi atlasları kullanıldı¹⁴². Bileşiklerin alıkonma süreleri ve kovatz indeks değerleri hesaplanarak yapıların doğruluğu desteklendi. Buna ilave olarak aynı şartlarda standart maddeler kolonda yürütüldü ve alıkonulma zamanları elde edilen bileşiklerin alıkonma zamanları ile karşılaştırıldı.

GC ve GC/MS ile yapılan analizler sonucunda MJP 1–3, MJP 4–5, MJP 8–9 ve MJP 12 kodlu fraksiyonlardan toplam olarak 37 bileşik elde edildi. Bunlardan 21 tanesinin yapısı belirlendi. Bu fraksiyonlara ait GC kromatogramları sırası ile Şekil 4.61-4.62, Şekil 4.73, Şekil 4.77 ve Şekil 4.83'de; aydınlatılan bileşiklerin formülleri sırası ile Şekil 4.63, Şekil 4.74, Şekil 4.78 ve Şekil 4.84'de verildi. MJP 1–3, MJP 4–5, MJP 8–9 ve MJP 12 kodlu fraksiyonlardan elde edilen bileşiklerin formül numaraları, molekül ağırlıkları, alıkonma zamanları (dakika), kovatz indeksleri, bağlı konsantrasyonları (%) ve yapı aydınlatılmasında kullanılan teşhis metotları sırası ile Tablo 4.8, Tablo 4.9, Tablo 4.10 ve Tablo 4.11'de verildi. Teşhisi yapılırken kütle spektrumlarından yararlanılan bileşenlerin kütle spektrumları fraksiyon sırasına göre Şekil 4.64-Şekil 4.72, Şekil 4.75-Şekil 4.76, Şekil 4.79-Şekil 4.82 ve Şekil 4.85-Şekil 4.90'da verildi.



Şekil 4-61: MJP 1-3'ün GC Kromatogramı

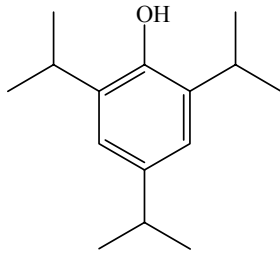


Şekil 4-62: MJP 1-3'ün GC Kromatogramı (14 ile 30 dakika arası)

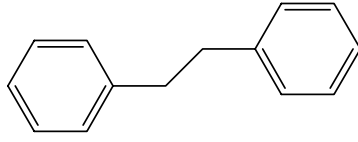
Tablo 4-8: MJP 1–3’den Elde Edilen Bileşikler

Bileşik	Formül No	Molekül Ağırlığı (g/mol)	Rt (Dakika)	RI	Miktar %	Teşhis Yöntemi
1 Aydınlatılmadı		220	14,80	–	2,51	b
2 2,4,6-triizopropilfenol	5	220	15,83	1633	58,37	b,c
3 Aydınlatılmadı		210	16,86	–	1,08	b
4 2,3-difenilbütan	6	210	18,70	1625	1,19	b,c
5 2,6-diizopropilnaftalin	7	212	19,95	1715	2,44	b,c
6 Aydınlatılmadı		212	20,74	–	3,65	b
7 Aydınlatılmadı		212	20,88	–	3,38	b
8 Aydınlatılmadı		212	21,06	–	1,32	b
9 1,3,3-trimetil-1-fenilindan	8	236	23,30	1877	1,77	b,c
10 Aydınlatılmadı		272	25,89	–	6,10	b
11 Biformen=Labda-8(20),12,14-trien	9	272	26,49	1897	1,15	a,b,c
12 Aydınlatılmadı		270	26,89	–	1,76	b
13 18-Demetil abieta-8,11,13-trien	10	256	27,26	1919	4,66	b,c
14 Abieta-8,11,13-trien	11	270	28,09	2060	8,65	a,b,c
15 Abieta-8,11,13-trien-18-al	12	284	28,85	2181	1,94	a,b,c
TOPLAM:					99,97	

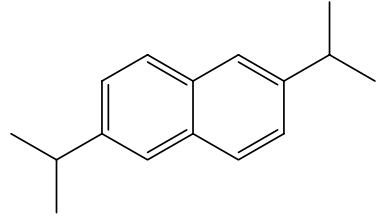
a: Gaz Kromatografisi şahit madde kontrolü; **b:** Kütle Spektrumu; **c:** Literatür karşılaştırması; **Rt:** Alınma zamanı; **RI:** Kovatz indeksi



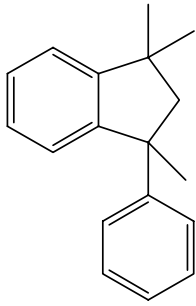
5



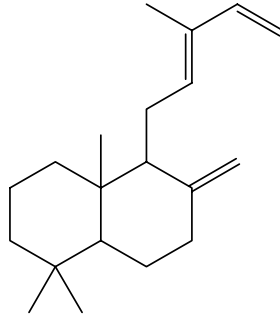
6



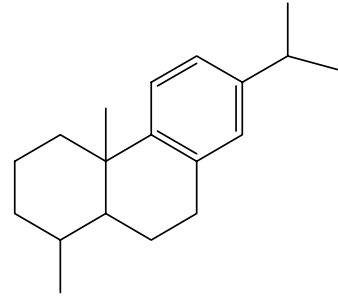
7



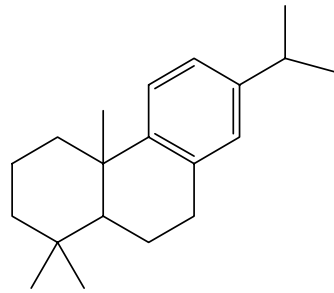
8



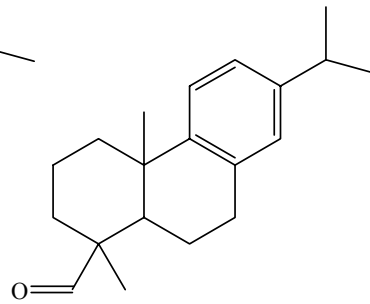
9



10

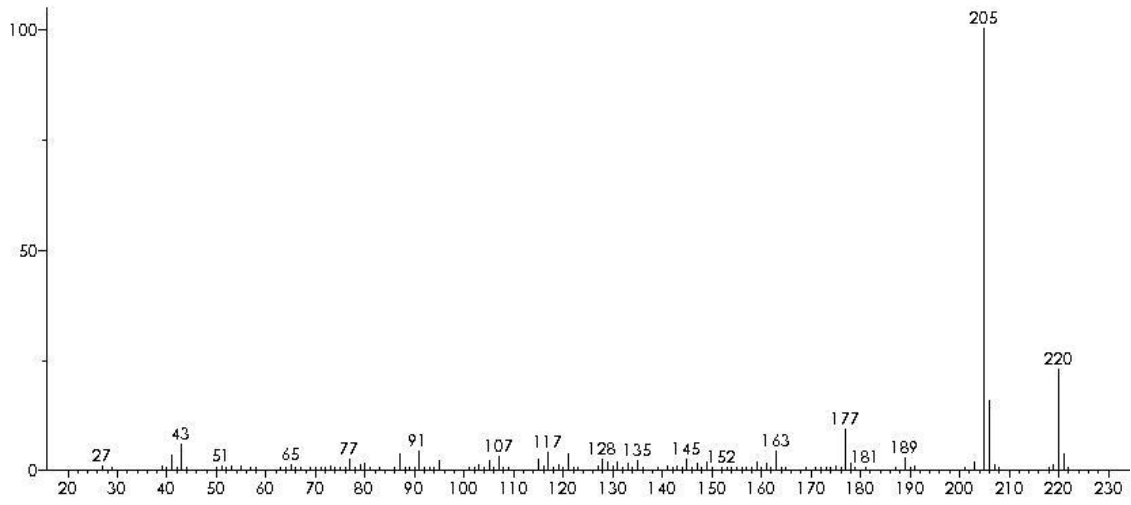


11

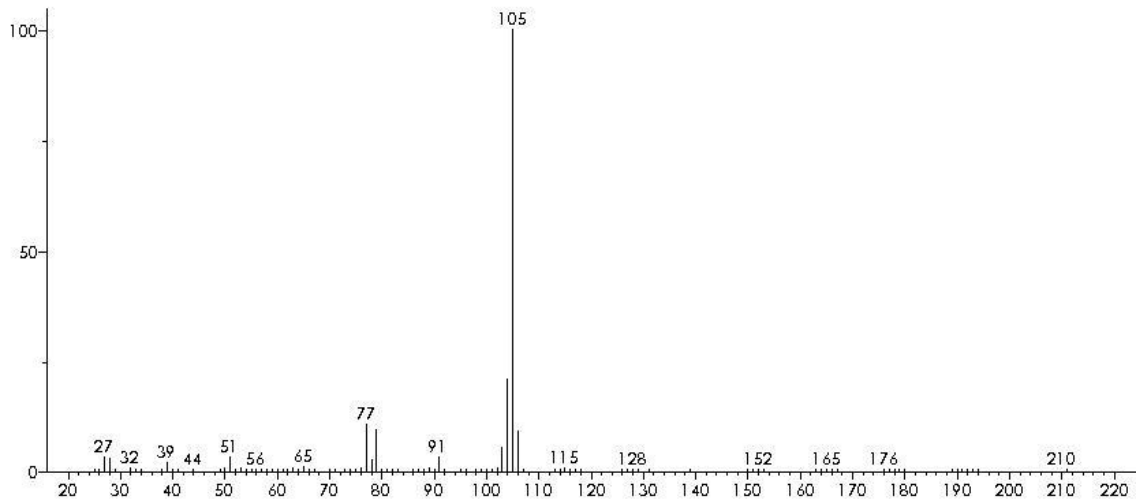


12

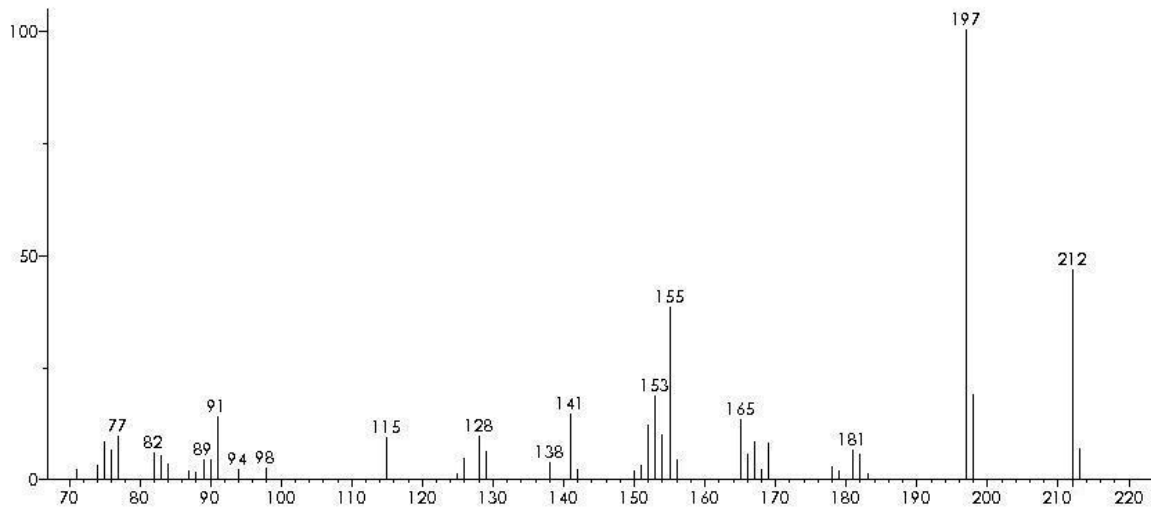
Şekil 4-63: MJP 1–3'den GC ve GC/MS Analizi Sonucu Elde Edilen Bileşiklerin Formülleri



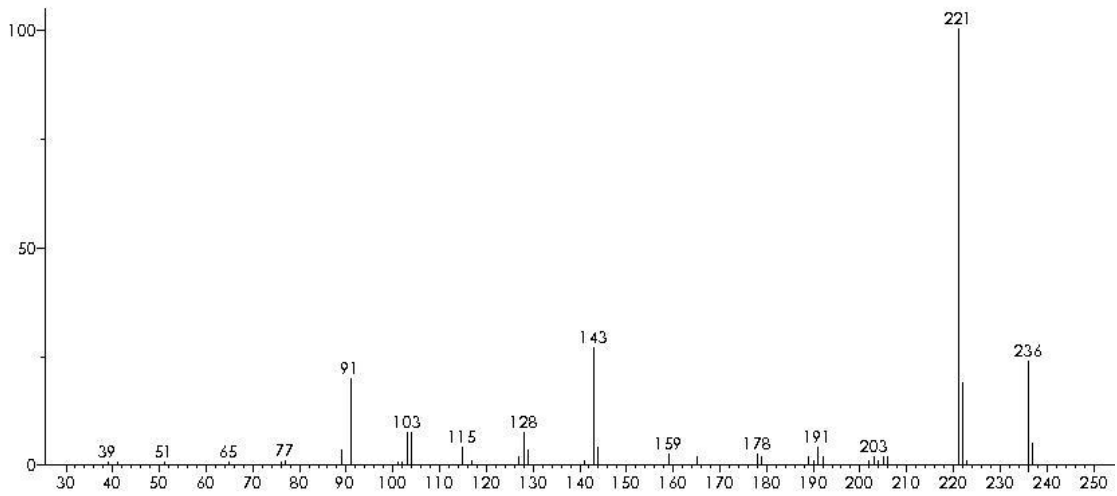
Şekil 4-64: 2,4,6-Triizopropilfenol'ün Kütle Spektrumu



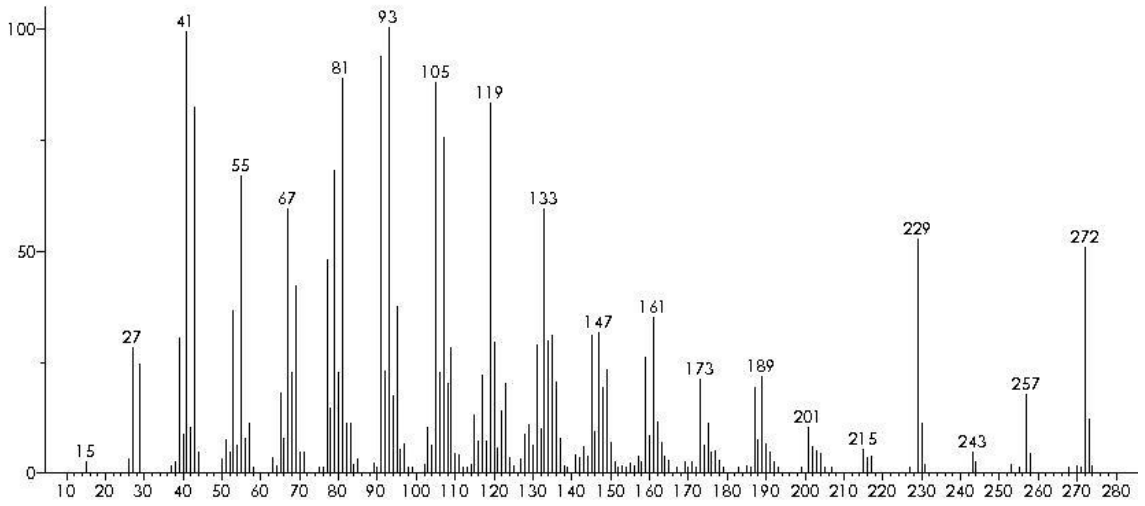
Şekil 4-65: 2,3-Difenilbütan'ın Kütle Spektrumu



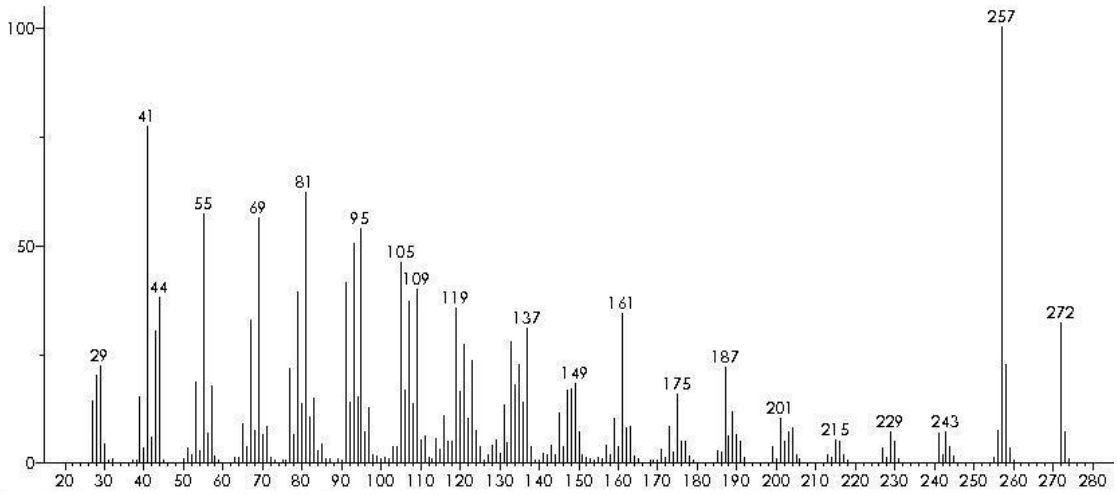
Şekil 4-66: 2,6-Diizopropilnaftalin'in Kütle Spektrumu



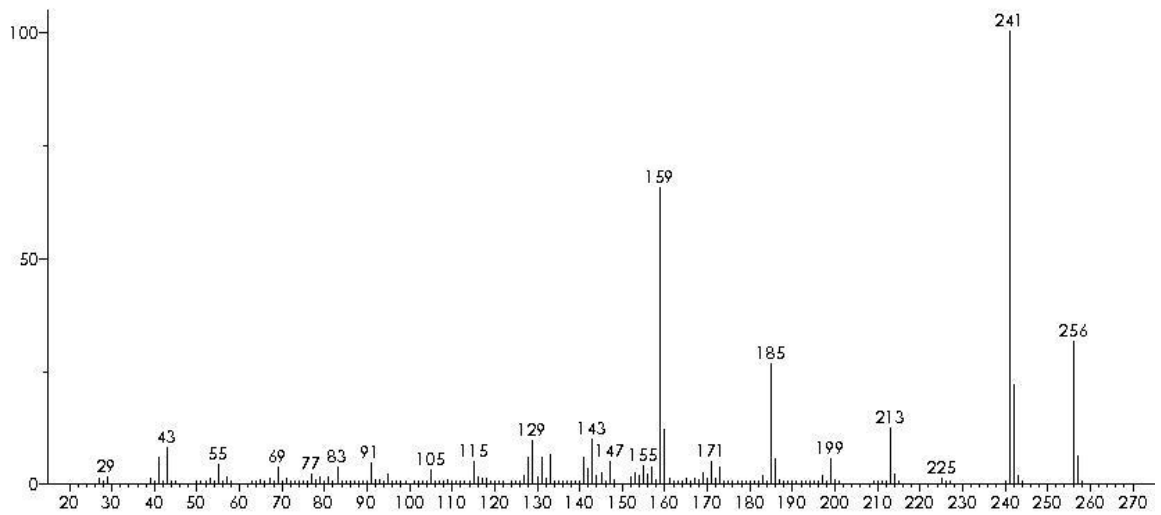
Şekil 4-67: 1,3,3-Trimetil-1-fenilindan'ın Kütle Spektrumu



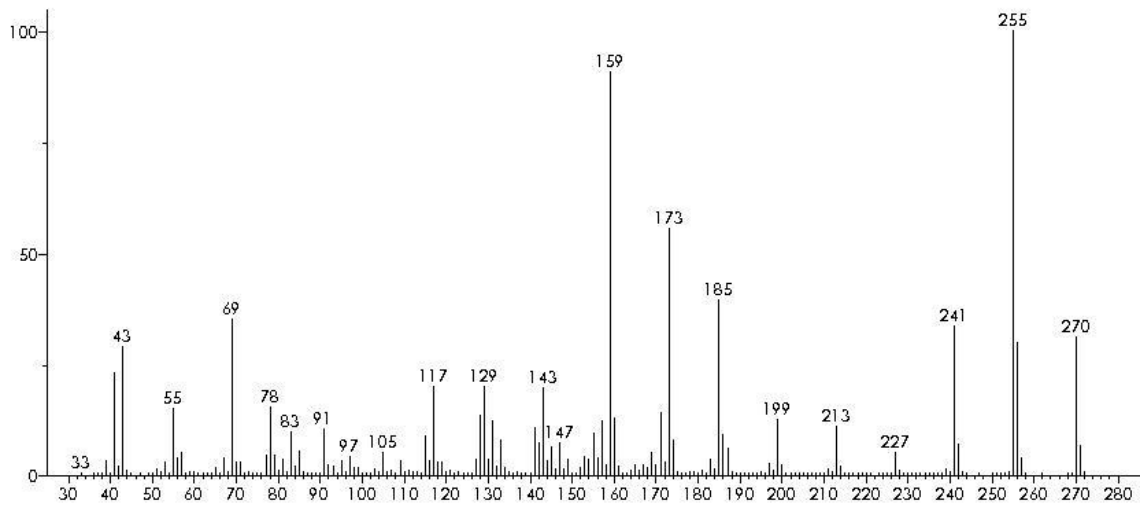
Şekil 4-68: Cembren'in Kütle Spektrumu



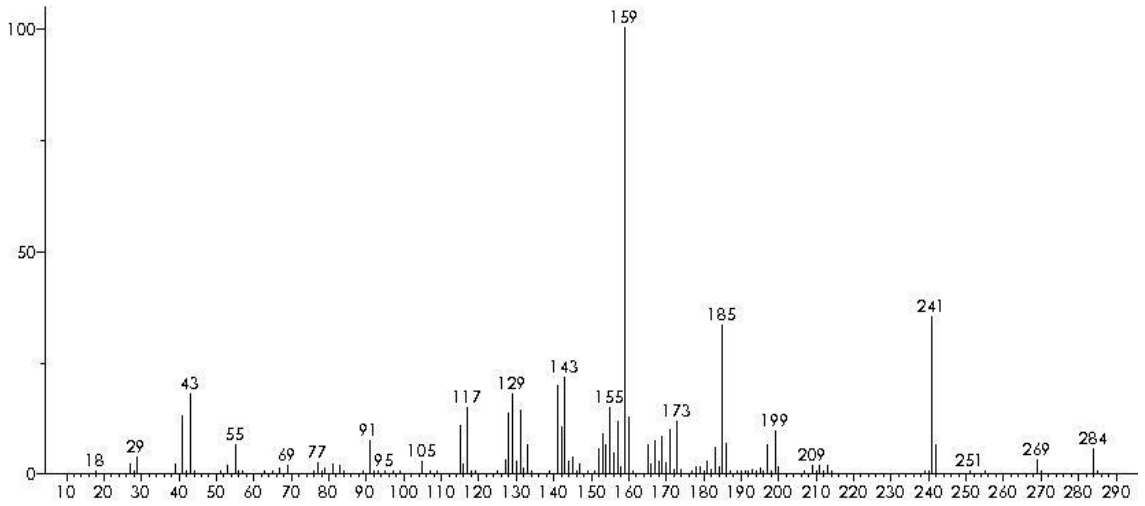
Şekil 4-69: Biformen'in Kütle Spektrumu



Şekil 4-70: 18-Demetil abieta-8,11,13-trien'in Kütle Spektrumu

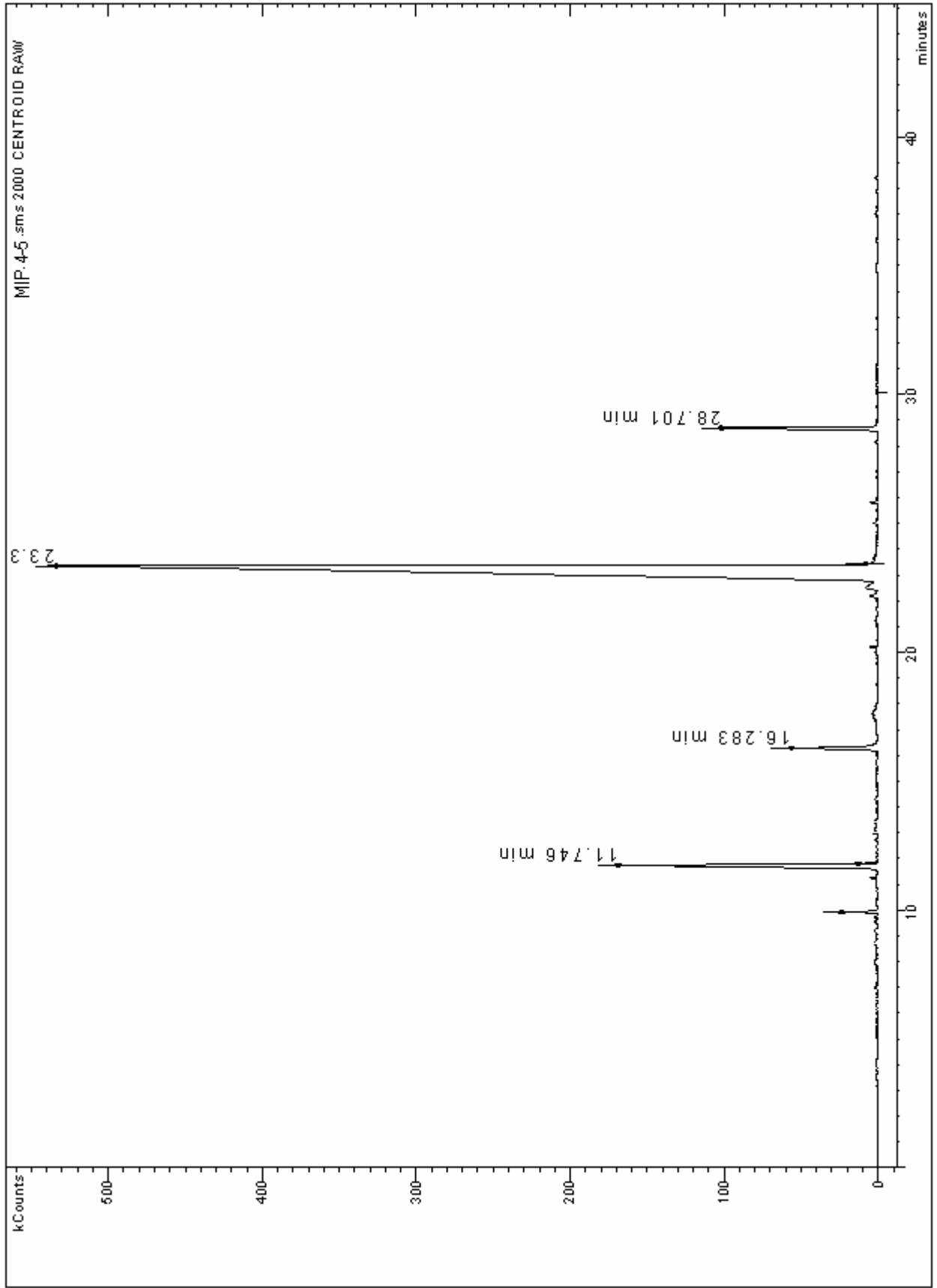


Şekil 4-71: Abieta-8,11,13-trien'in Kütle Spektrumu



Şekil 4-72: Abieta-8,11,13-trien-18-al'm Kütle Spektrumu

MS_Data_Review_Active_Chromatogram_Plot - 10.04.2008 11:58

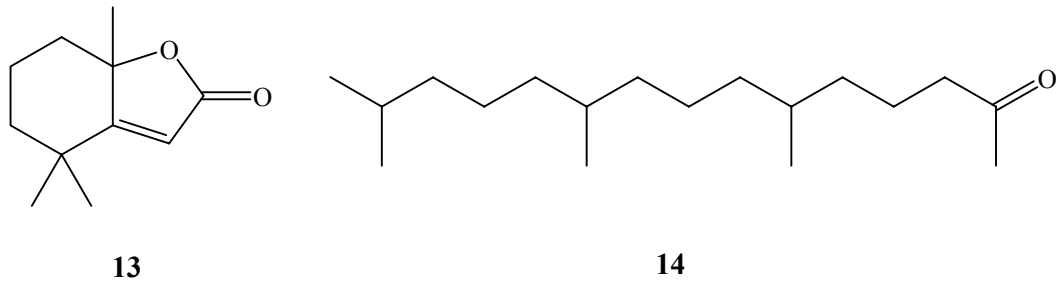


Şekil 4-73: MJP 4-5'in GC Kromatogramı

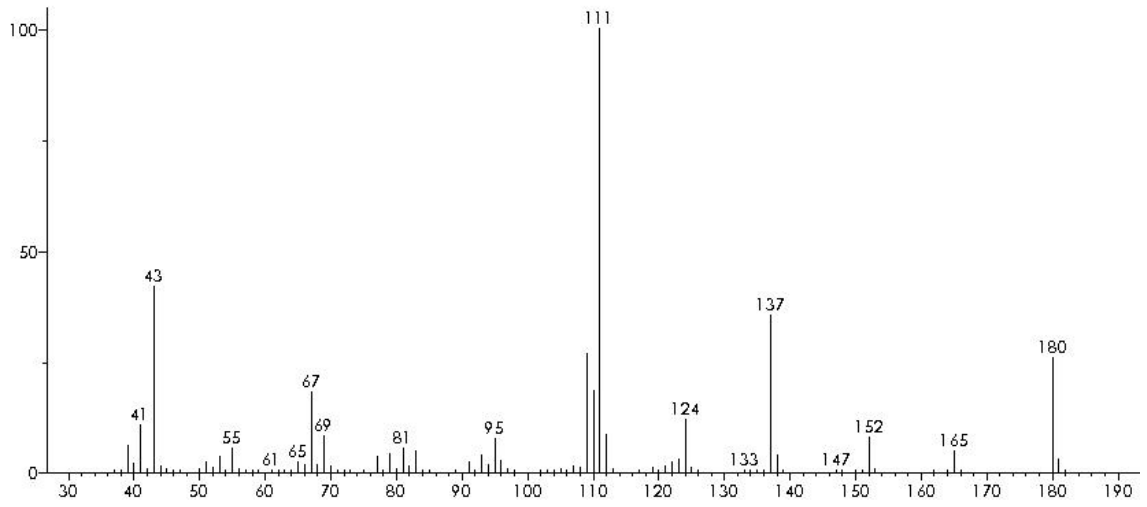
Tablo 4-9: MJP 4–5’den Elde Edilen Bileşikler

Bileşik	Formül No	Molekül Ağırlığı (g/mol)	Rt (Dakika)	RI	Miktar %	Teşhis Yöntemi	
1	Aydınlatılmadı		11,75	–	19,31	b	
2	Dihidroaktinidiolit	13	180	16,28	1471	7,73	b,c
3	Hekzahidrofarnesil aseton	14	268	23,33	1820	60,09	b,c
4	Aydınlatılmadı		28,701	–	12,02	b	
TOPLAM:					99,14		

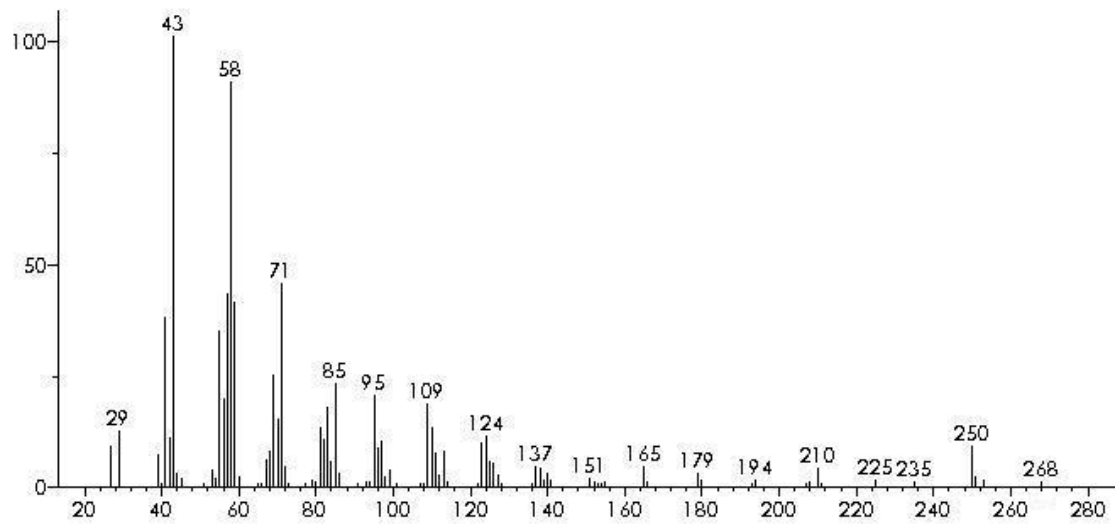
a: Gaz Kromatografisi şahit madde kontrolü; **b:** Kütle Spektrumu; **c:** Literatür karşılaştırması; **Rt:** Alıkonma zamanı; **RI:** Kovatz indeksi



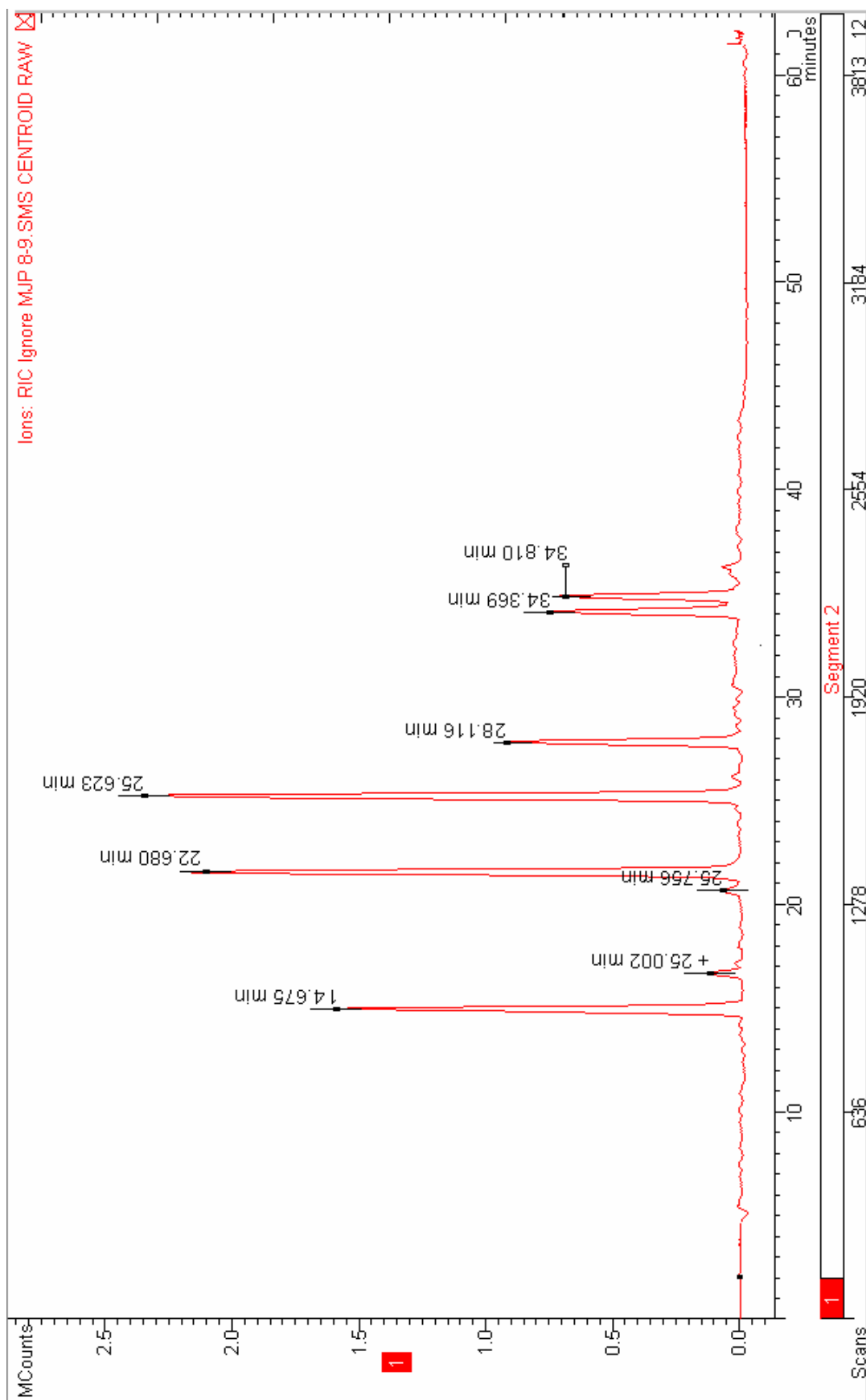
Şekil 4-74: MJP 4–5’den GC ve GC/MS Analizi Sonucu Elde Edilen Bileşiklerin Formülleri



Şekil 4-75: Dihydroactinidiolit'in Kütle Spektrumu



Şekil 4-76: Hekzahidrofarneşil aseton'un Kütle Spektrumu

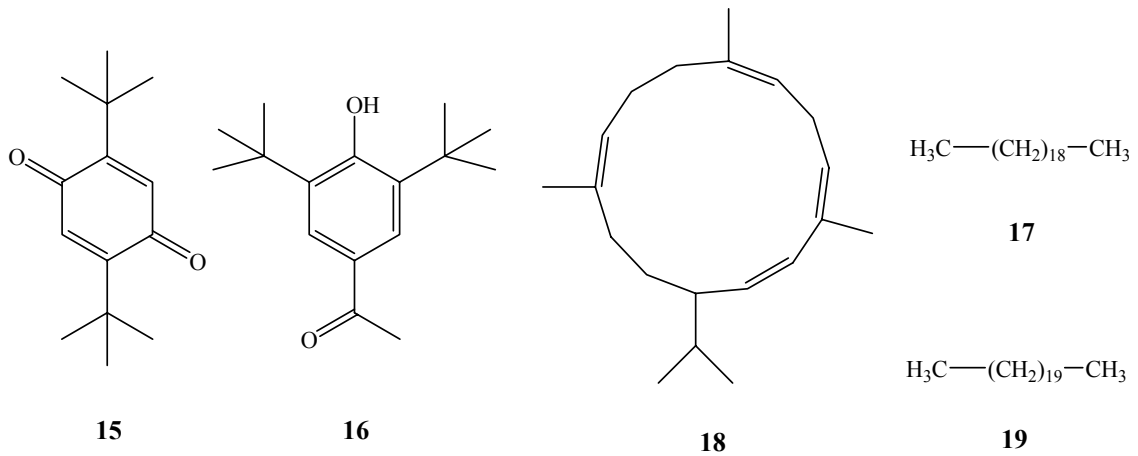


Şekil 4-77: MJP 8-9'un GC Kromatogramı

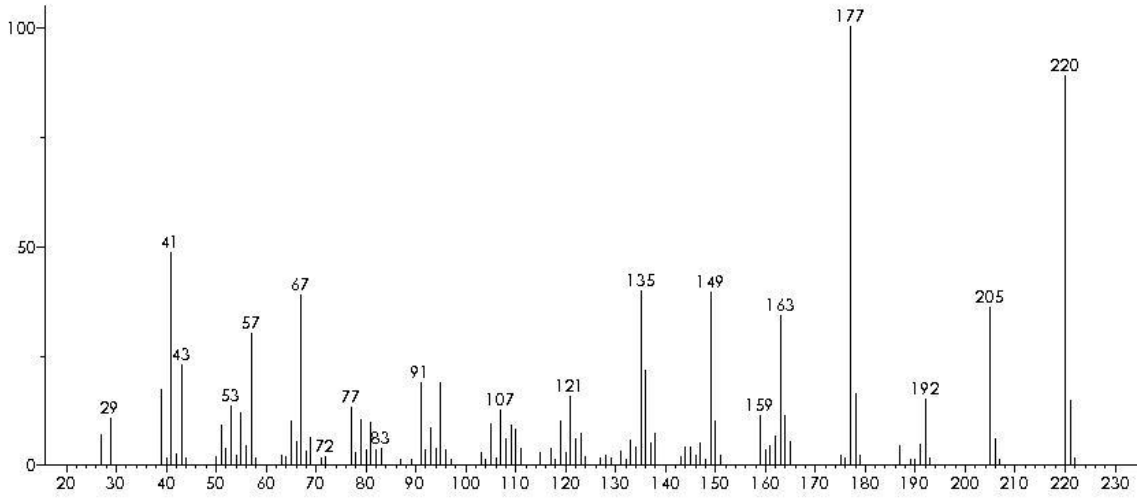
Tablo 4-10: MJP 8–9'dan Elde Edilen Bileşikler

Bileşik	Formül No	Molekül Ağırlığı (g/mol)	Rt (Dakika)	RI	Miktar %	Teşhis Yöntemi
1 2,6-Ditersiyeerbütüilkinon	15	220	14,52	1450	18,93	b,c
2 3,5-Di- <i>tert</i> -butil-4-hidroksifenil metil keton	16	248	22,81	1890	1,78	b,c
3 Eikosan (C ₂₀ H ₄₂)	17	282	23,29	1988	23,96	a,b,c
4 Tunbergen=Cembren	18	272	25,87	2060	27,22	b
5 Heneikosan (C ₂₁ H ₄₄)	19	296	27,50	2106	10,95	a,b,c
6 Aydınlatılmadı			34,47	–	8,88	b
7 Aydınlatılmadı			35,67	–	7,99	b
TOPLAM:						99,70

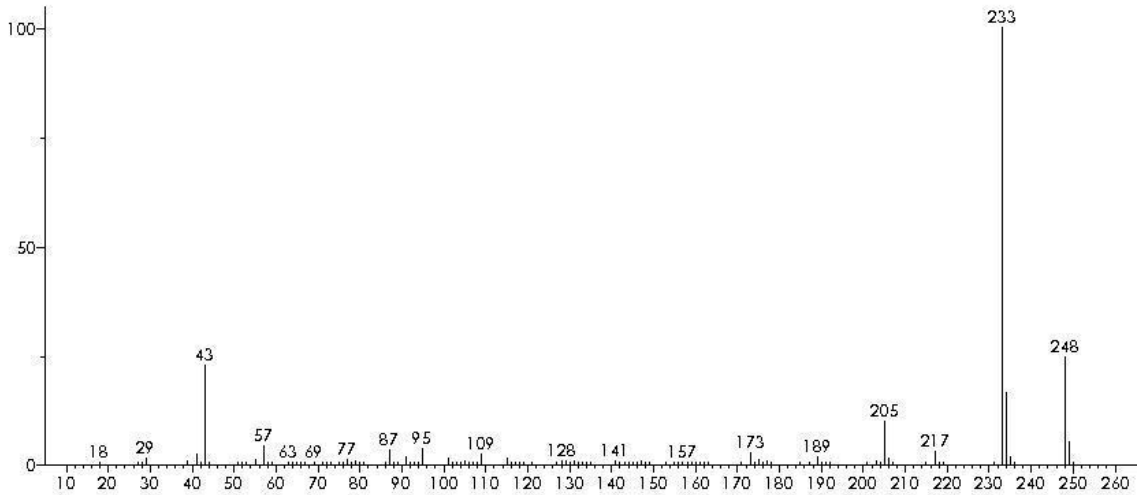
a: Gaz Kromatografisi şahit madde kontrolü; **b:** Kütle Spektrumu; **c:** Literatür karşılaştırması; **Rt:** Alıkonma zamanı; **RI:** Kovatz indeksi



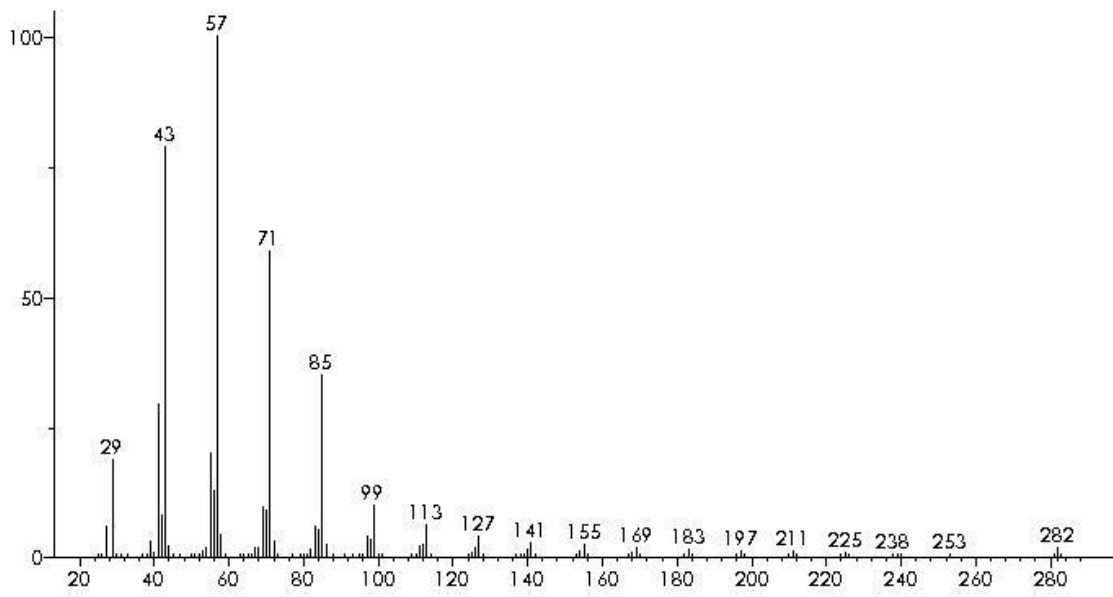
Şekil 4-78: MJP 8–9'dan GC ve GC/MS Analizi Sonucu Elde Edilen Bileşiklerin Formülleri



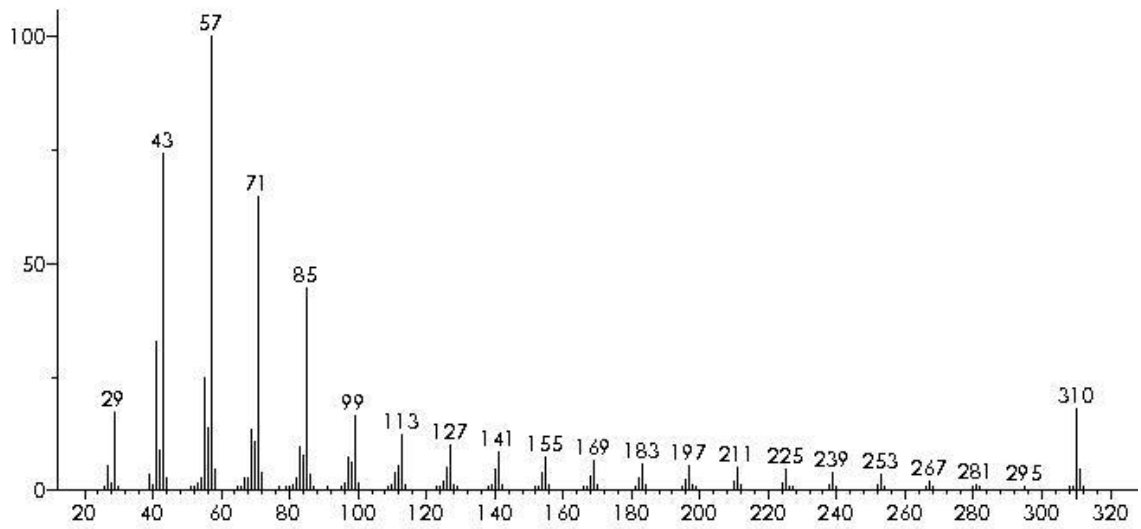
Şekil 4-79: 2,6-Ditersiyebutilkinon'un Kütle Spektrumu



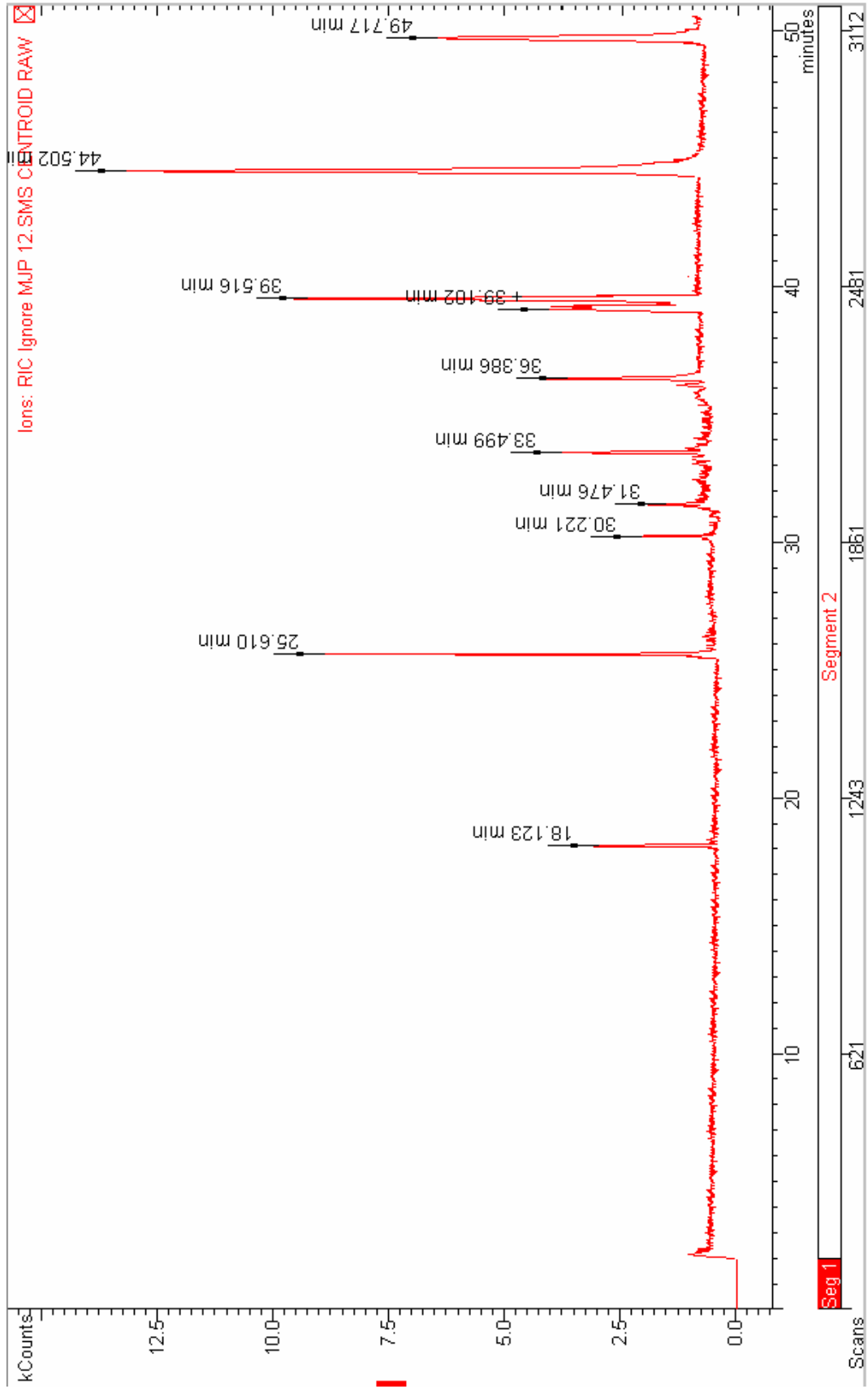
Şekil 4-80: 3,5-Di-tert-butil-4-hidroksifenil metil keton'un Kütle Spektrumu



Şekil 4-81: Eikosan'ın Kütle Spektrumu



Şekil 4-82: Heneikosan'ın Kütle Spektrumu

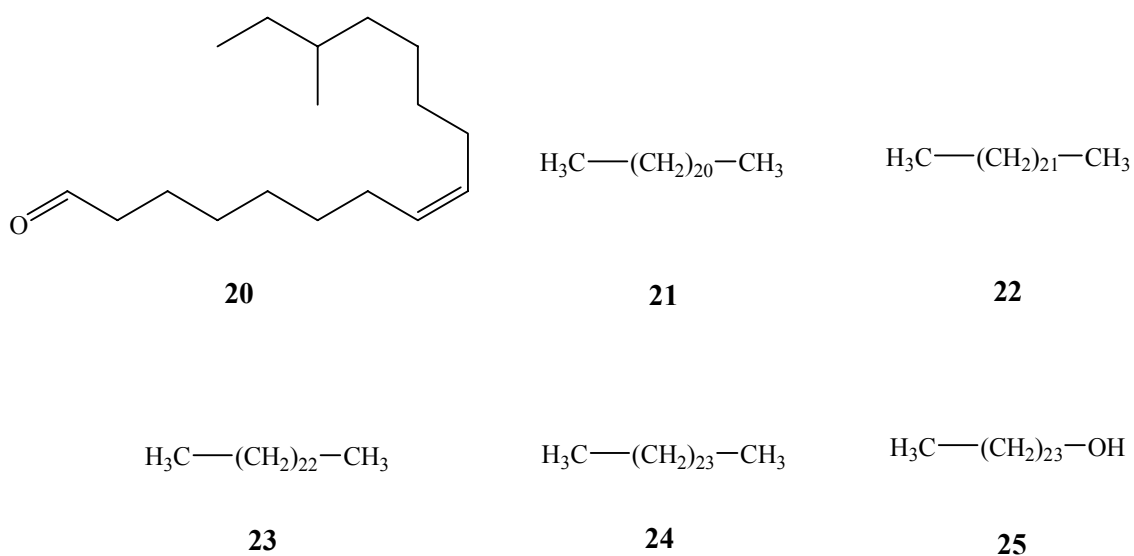


Şekil 4-83: MJP 12'nin GC Kromatogramı

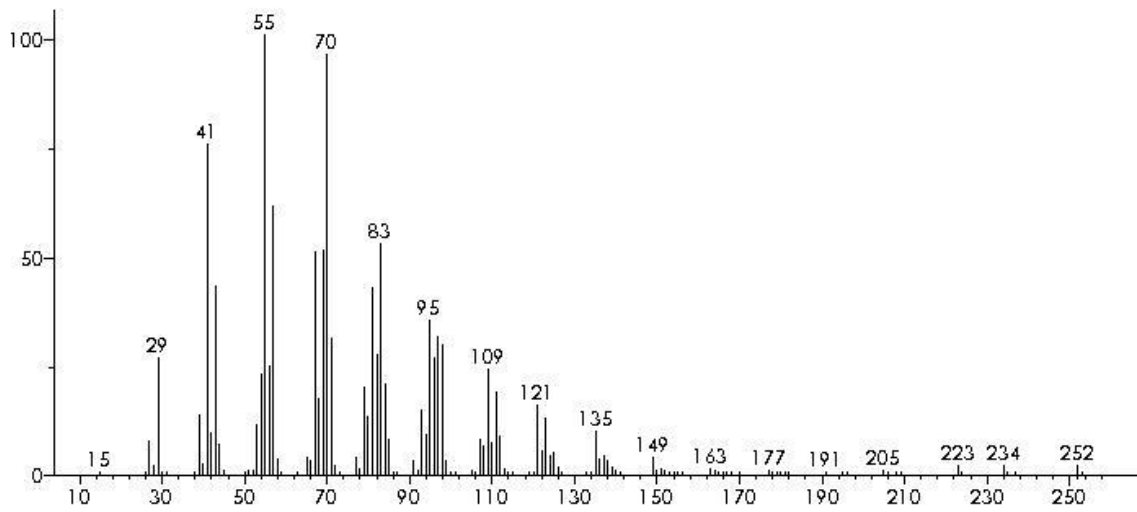
Tablo 4-11: MJP 12'den Elde Edilen Bileşikler

Bileşik	Formül No	Molekül Ağırlığı (g/mol)	Rt (Dakika)	RI	Miktar %	Teşhis Yöntemi	
1	Aydınlatılmadı		18,12	–	3,10		
2	14-Metil-8-hekzadekenal	20	252	25,61	1833	7,09	b,c
3	Dokosan (C ₂₂ H ₄₆)	21	310	30,22	2190	1,71	a,b,c
4	Aydınlatılmadı		31,48	–	1,19		
5	Trikosan (C ₂₃ H ₄₈)	22	324	33,50	2295	3,42	a,b,c
6	Tetrakosan (C ₂₄ H ₅₀)	23	338	36,39	2395	5,56	a,b,c
7	Aydınlatılmadı		39,10	–	2,38		
8	Aydınlatılmadı		39,22	–	3,36		
9	Aydınlatılmadı		39,52	–	15,41		
10	Pentakosan (C ₂₅ H ₅₂)	24	352	44,50	2490	28,27	a,b,c
11	Pentakosanol (C ₂₄ H ₅₀ O)	25	354	49,72	2638	17,99	a,b,c
TOPLAM:					89,48		

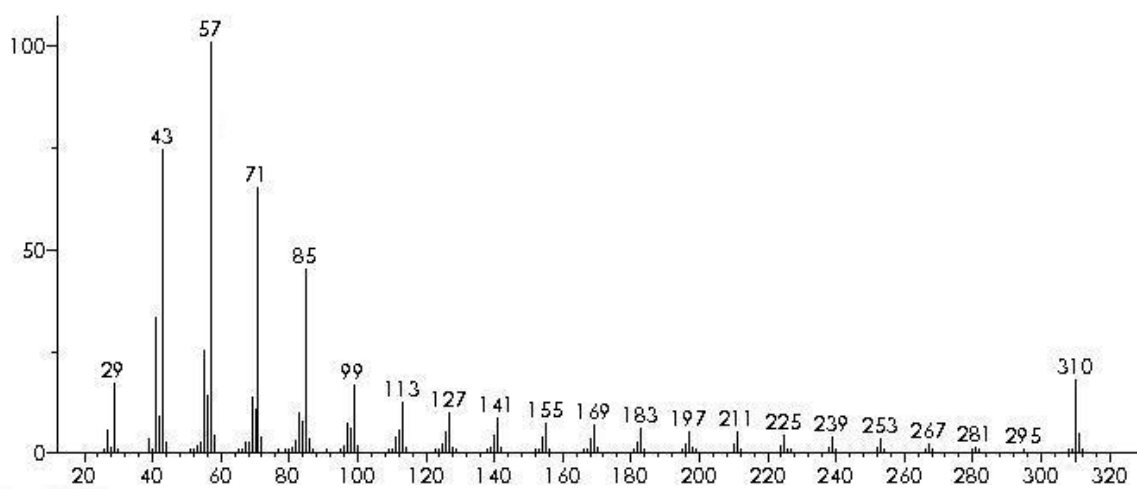
a: Gaz Kromatografisi şahit madde kontrolü; **b:** Kütle Spektrumu; **c:** Literatür karşılaştırması; **Rt:** Alınma zamanı; **RI:** Kovatz indeksi



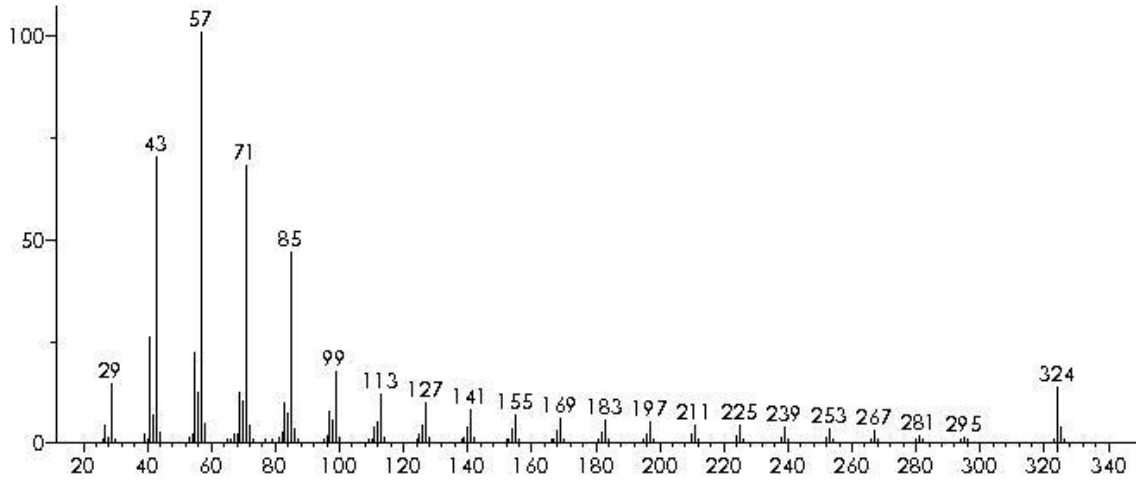
Şekil 4-84: MJP 12'den GC ve GC/MS Analizi Sonucu Elde Edilen Bileşiklerin Formülleri



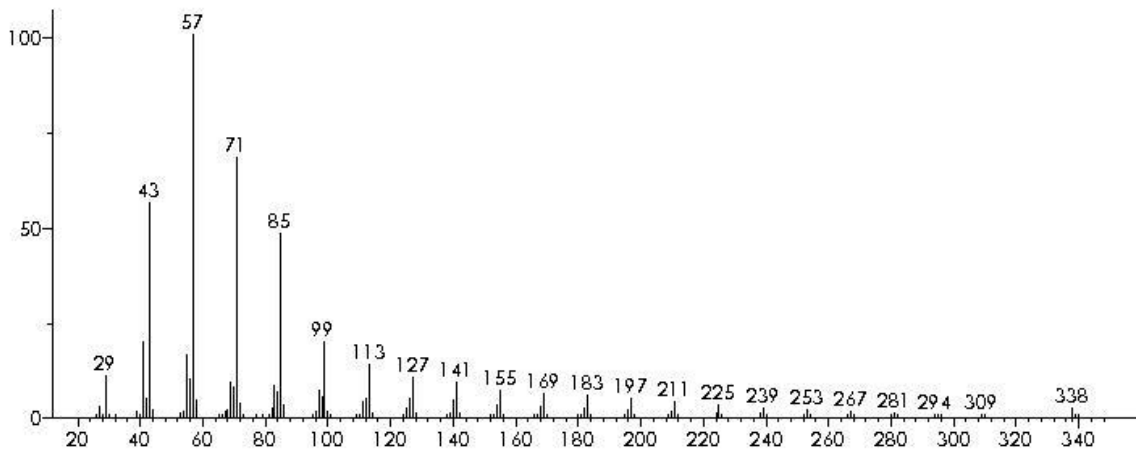
Şekil 4-85: 14-Metil-8-hekzadekanal'ın Kütle Spektrumu



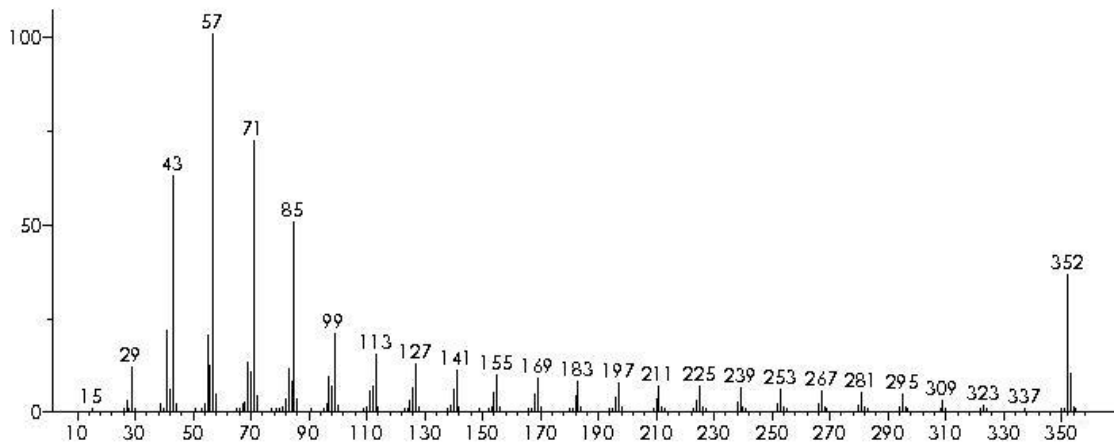
Şekil 4-86: Dokosan'ın Kütle Spektrumu



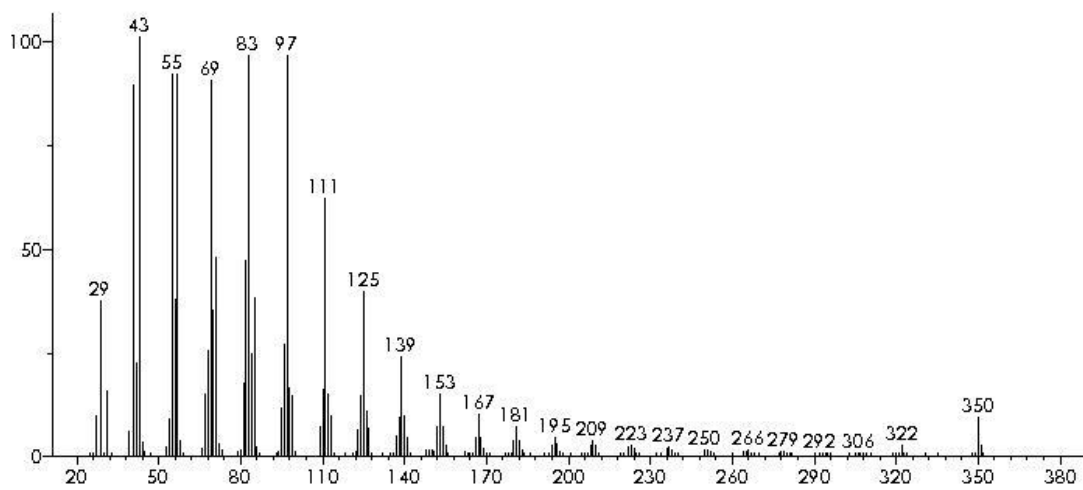
Şekil 4-87: Trikonan'ın Kütle Spektrumu



Şekil 4-88: Tetrakosan'ın Kütle Spektrumu



Şekil 4-89: Pentakosan'ın Kütle Spektrumu



Şekil 4-90: Pentakosanol'ün Kütle Spektrumu

4.3.2. *M. juliana*'nın Aseton Ekstresi (MJA)

4.3.2.1. *M. juliana*'nın Aseton Ekstresinin Fraksiyonlandırılması

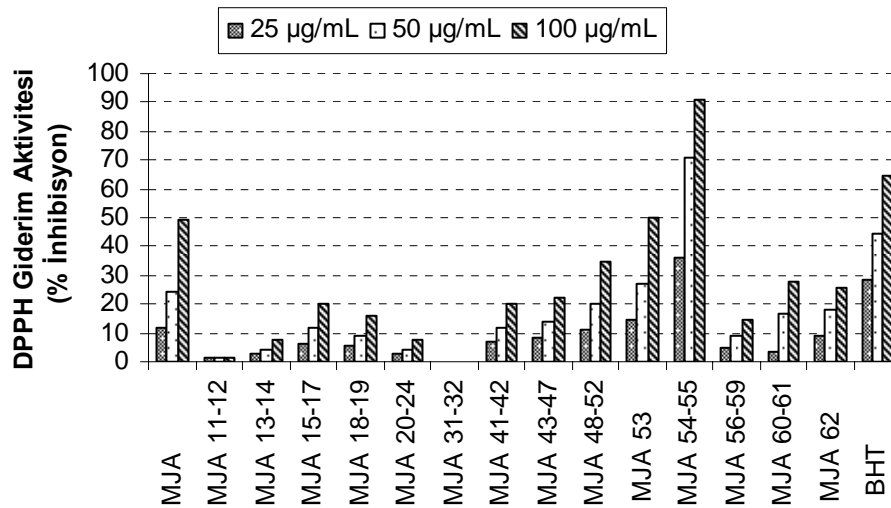
M. juliana'nın asetone ekstresinin β -karoten renk açılım yönteminde yüksek düzeyde lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği, DPPH serbest radikalini orta düzeyde ve süperoksit anyon radikalini çok az giderdiği belirlendi. Toplam flavonoid miktarı yönünden zengin olan asetone ekstresi (MJA) silika jel kolonda fraksiyonlandırıldı. Elüsyona % 100 petrol eteri ile başlandı ve sırasıyla kloroform, asetone ve metanol ile devam edildi, % 100 metanole ulaşıncaya elüsyon tamamlandı. İnce tabaka kromatografisi ile benzer fraksiyonlar birleştirildi. *M. juliana*'nın asetone ekstresinden elde edilen 19 fraksiyonun adları, miktarları ve % verimleri Tablo 4.12'de verildi.

Tablo 4-12: MJA'dan Elde Edilen Fraksiyonların Adları, Miktarları ve %Verimleri

	Fraksiyon	Miktarı	%		Fraksiyon	Miktarı	%
	Adı	(mg)	Verim		Adı	(mg)	Verim
1	MJA 1-8	5,90	0,03	11	MJA 37-40	1113,30	5,13
2	MJA 9-10	503,10	2,32	12	MJA 41-42	245,10	1,13
3	MJA 11-12	307,90	1,42	13	MJA 43-47	440,80	2,03
4	MJA 13-14	268,40	1,24	14	MJA 48-52	464,70	2,14
5	MJA 15-17	143,20	0,66	15	MJA 53	835,10	3,85
6	MJA 18-19	107,00	0,49	16	MJA 54-55	1273,20	5,87
7	MJA 20-24	4357,50	20,09	17	MJA 56-59	1684,40	7,77
8	MJA 25-30	4738,00	21,84	18	MJA 60-61	207,70	0,96
9	MJA 31-32	663,50	3,06	19	MJA 62	80,10	0,37
10	MJA 33-36	2413,70	11,13				

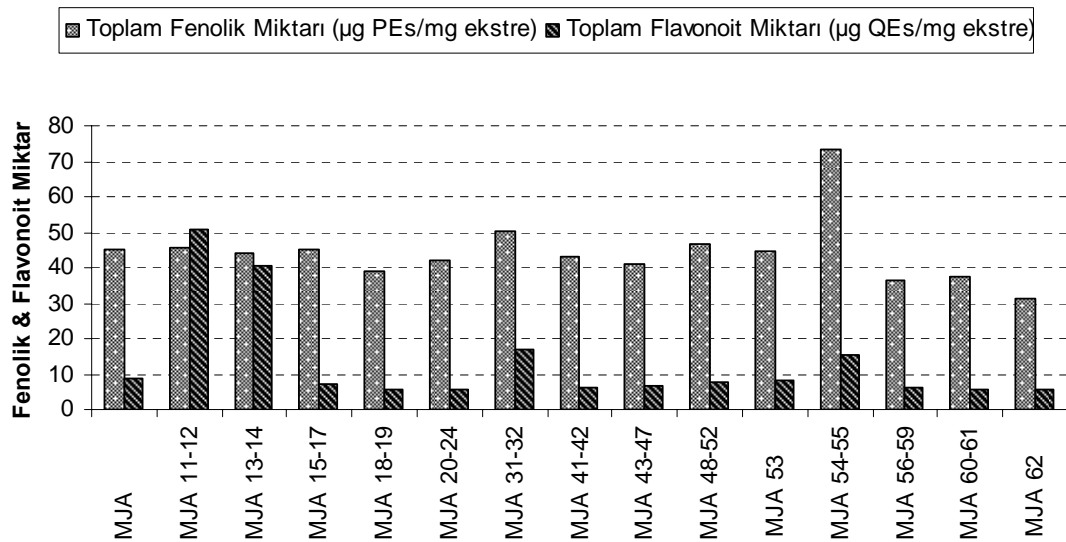
4.3.2.2. MJA Fraksiyonlarının Antioksidan Aktivite Sonuçları

MJA fraksiyonlarının antioksidan aktivitelerini belirlemede DPPH serbest radikali giderim yöntemi kullanıldı (Şekil 4.91). Bu yöntemde standart olarak BHT kullanıldı. En aktif fraksiyonun MJA 54-55 olduğu belirlendi.



Şekil 4-91: MJA Fraksiyonlarının DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi

Ayrıca tüm fraksiyonların toplam fenolik ve toplam flavonoit miktarları da incelendi. Şekil 4.92’de MJA fraksiyonlarının pirokatekole eşdeğer toplam fenolik ve kersetine eşdeğer toplam flavonoit miktarları verildi. Fraksiyonların DPPH serbest radikali giderme potansiyelleri toplam fenolik miktarı ile doğrudan ilişkilidir. DPPH serbest radikalini gidermede en aktif fraksiyon olan MJA 54–55’in toplam fenolik miktarı açısından da en zengin fraksiyon olduğu belirlendi.

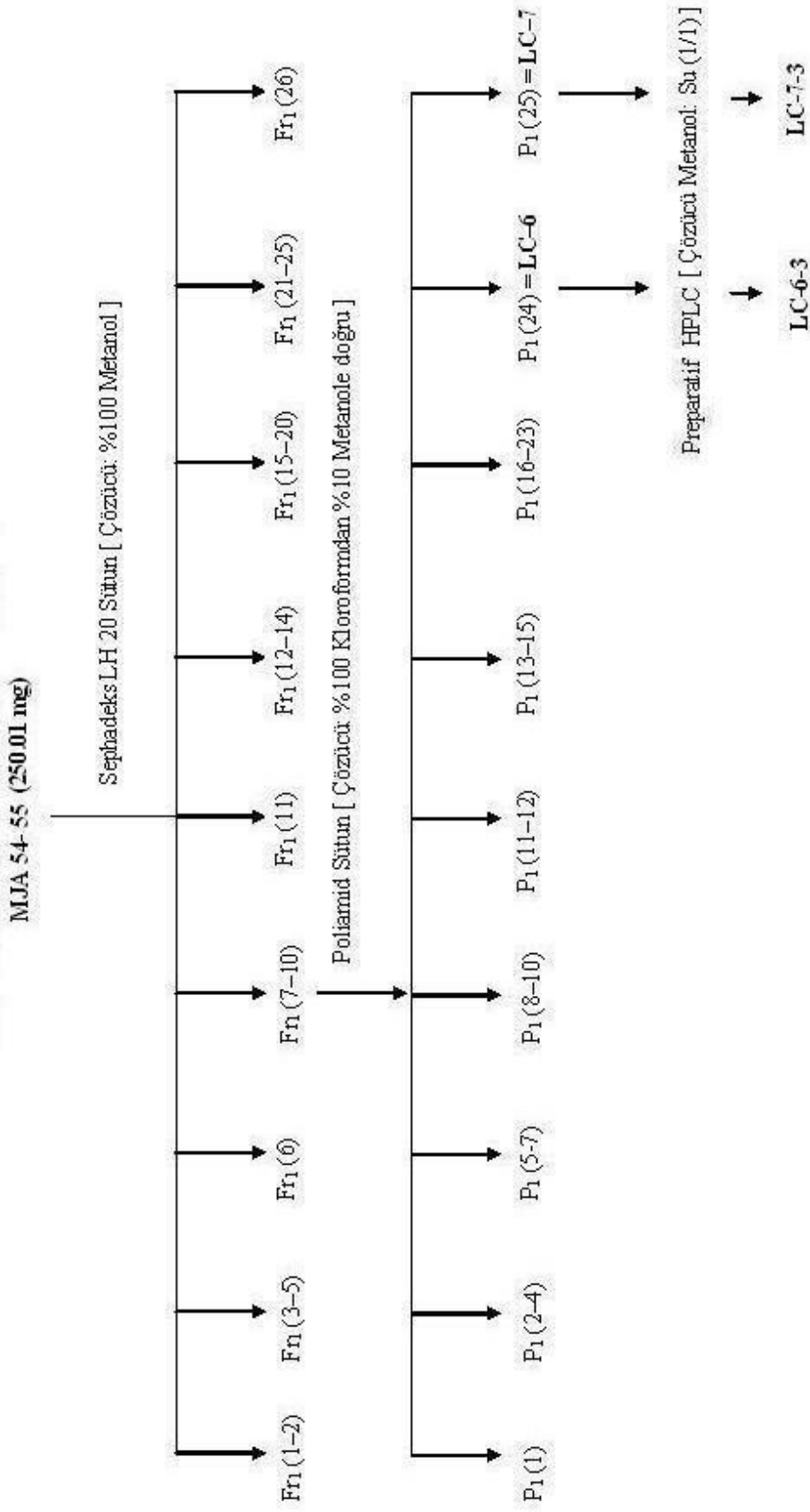


Şekil 4-92: MJA Fraksiyonlarının Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarları

4.3.2.3. MJA 54-55'in Preparatif HPLC ile Analizi

Hem antioksidan hem de fenolik miktarı bakımından en zengin fraksiyon olan MJA 54-55'den saf madde elde etmek amacıyla preparatif HPLC kullanıldı. Bu amaçla MJA 54-55 (250,01 mg) metanolde çözüldü ve metanol ile hazırlanmış Sephadex LH-20 kolona tatbik edildi. Elüsyonda sadece metanol kullanıldı. İTK ile benzer fraksiyonlar birleştirildikten sonra toplam 9 fraksiyon elde edildi. Fr₁(7-10) kodlu fraksiyon (98,05 mg) poliamite emdirildikten sonra poliamit kolona katı olarak koyuldu. Elüsyona % 100 kloroform ile başlandı ve metanol ile polarite % 1 arttırıldı. % 10 metanole ulaşılnca elüsyon tamamlandı. İTK ile benzer olanların birleştirilmesinden sonra toplam 9 fraksiyon elde edildi. P₁(24)'den LC-6 ve P₁(25)'den LC-7 elde edildi (Şekil 4.93). MJA'dan elde edilen LC-6 ve LC-7 kodlu örnekler preparatif HPLC ile bölüm 3.8.5'de verilen şartlarda analiz edildi.

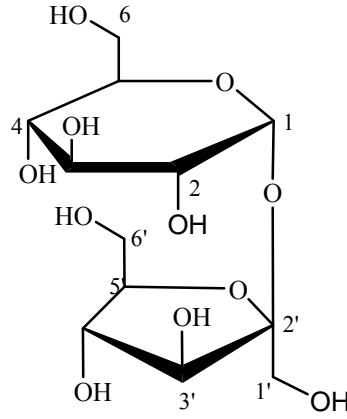
LC-6 örneğinden LC-6-3, LC-7 örneğinden LC-7-3 kodu verilen saf maddeler elde edildi. (Şekil 4.93). Spektral çalışmalar sonucu LC-6-3'ün LC-7-3 ile aynı madde olduğu tespit edildi.



Şekil 4-93: MJA 54-55 Fraksiyonundan Saf Maddelerin Elde Edilme Şeması

4.3.2.4. MJA 54-55'den Elde Edilen Saf Maddenin Yapı Tayini

❖ LC-7-3 = Sakkaroz (α -D-glukopiranosil-(1→2)- β -D-fruktofuranozit)



Şekil 4-94: Sakkaroz

LC-7-3 bileşiği amorf halde elde edildi. İnce tabaka plağına tatbik edilen ve kloroform:metanol (9:1) çözücü sisteminde yürütülüp UV lamba (254 nm) altında incelendiğinde görünmeyen madde, seryum (IV) sülfat belirteci püskürtülüp 105°C'de yakıldığında yeşilimsi-siyah bir renk aldığında şeker olduğu anlaşıldı.

FAB[⊕]MS (Şekil 4.98) ve EI-MS spektrumları (Şekil 4.97) LC-7-3 bileşiğinin molekül ağırlığınının 342 olduğunu ve C₁₂H₂₂O₁₁ kapalı formülüne sahip olduğunu gösterdi.

¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) ve DEPT 135 (Şekil 4.96) spektrumları birlikte değerlendirildiğinde LC-7-3 bileşiğinin 3 metilen, 8 metin ve 1 katerner olmak üzere toplam 12 karbona sahip olduğu tespit edildi. ¹³C-NMR ve DEPT 135 spektrumlarında üç hidroksimetilen grubunun varlığınının 62.3, 64.1 ve 63.4 ppm'de açıkca izlenmesi ve iki anomerik karbon sinyalinin ise 93.6 ve 105.4 ppm'de izlenmesi bu şekerin bir disakkarit olduğuna ve muhtemelen sakkaroz olabileceğine işaret etti. Nitekim tek bir anomerik protonun δ 5.38'de 3.7 Hz'lik bir duplet olarak izlenmesi bunu doğruladı. Kapalı formülü ve kütle spektrumundan da bir disakkarit olduğu anlaşılan bu şekerdeki bağın α olduğu ¹H NMR'daki (Şekil 4-95) etkileşme sabitinden ($J = 3.7$ Hz) anlaşıldı.

LC-7-3'ün spektral değerleri literatürdeki değerlerle karşılaştırıldığında¹⁴³ bu bileşiğin sakkaroz (α -D-glukopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fruktofuranozit) (11,0 mg) (Şekil 4.94) olduğu ve *Micromeria* türlerinden ilk defa elde edildiği tespit edildi¹⁴⁴.

Tablo 4-13: LC-7-3'ün NMR Değerleri

Pozisyon	¹ H NMR	¹³ C NMR
Glu-1	5,38 <i>d</i> (3,7)	93,6
2	3,41 <i>dd</i> (3,8; 9,7)	73,3
3	3,68 <i>dd</i> (8,2, 9,7)	74,7
4	3,34 <i>t</i> (9,5)	71,4
5	3,70 <i>m</i>	74,4
6	3,80 <i>m</i>	62,3
Fru-1'	3,58 ve 3,63 <i>d</i> (12)	64,1
2'	-	105,4
3'	4,08 <i>d</i> (8,2)	79,4
4'	4,02 <i>t</i> (7,4)	75,8
5'	3,68-3,80 <i>m</i>	83,8
6'	3,68-3,80 <i>m</i>	63,4

Mehmet/Dr, Iqbal/MJA-54-55 (LC-7-3)
Cd3od/

AVANCE
LAB. NO.

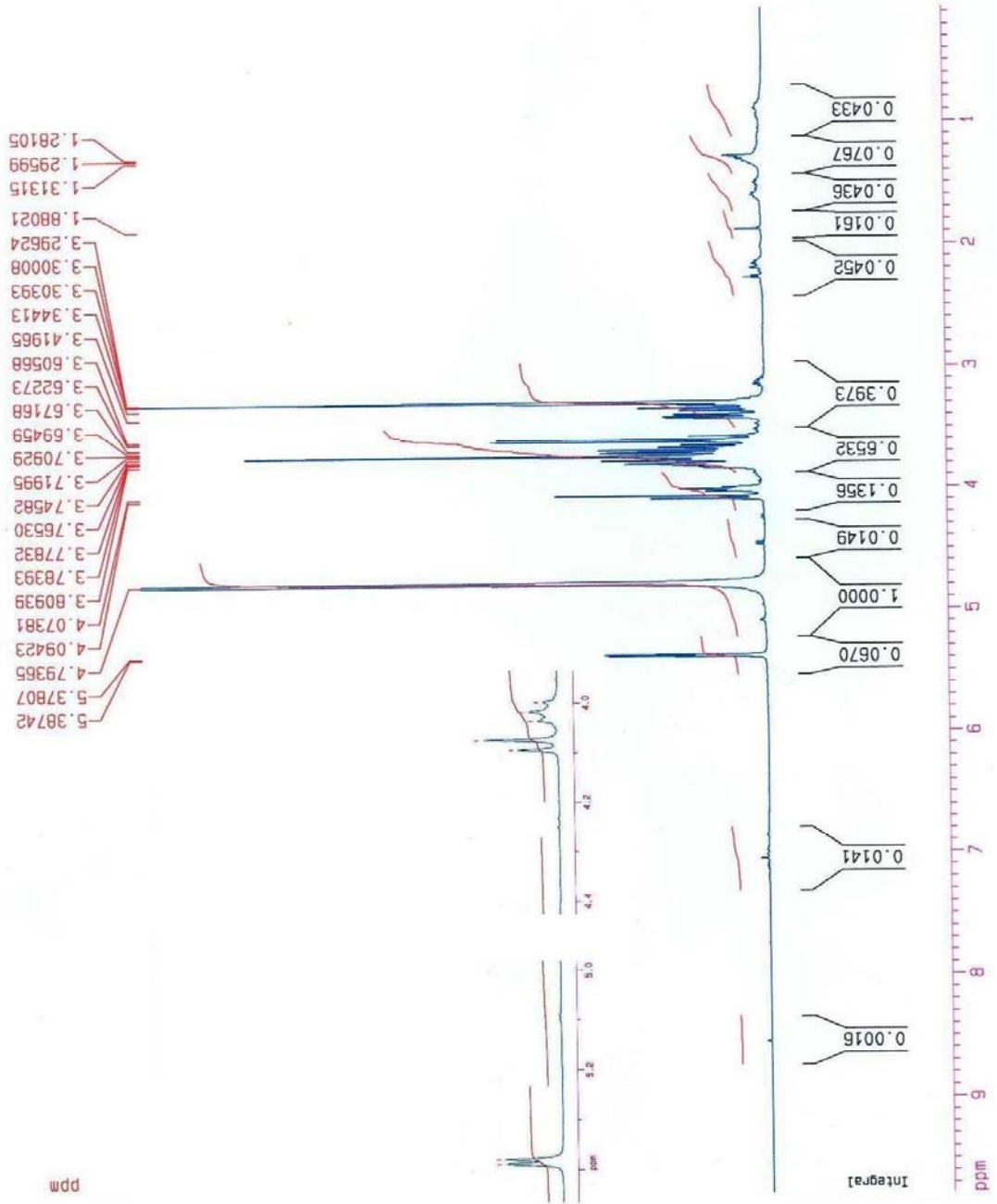
Current Data Parameters
 NAME apr21
 EXPNO 4
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20070421
 Time 11.04
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm SEI 13C-1
 PULPROG zg
 TD 32768
 SOLVENT MeOD
 NS 128
 DS 0
 SWH 7022.472 Hz
 FIDRES 0.214309 Hz
 AQ 2.3331316 sec
 RG 362
 DM 71.200 usec
 DE 7.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 0.50000000 sec

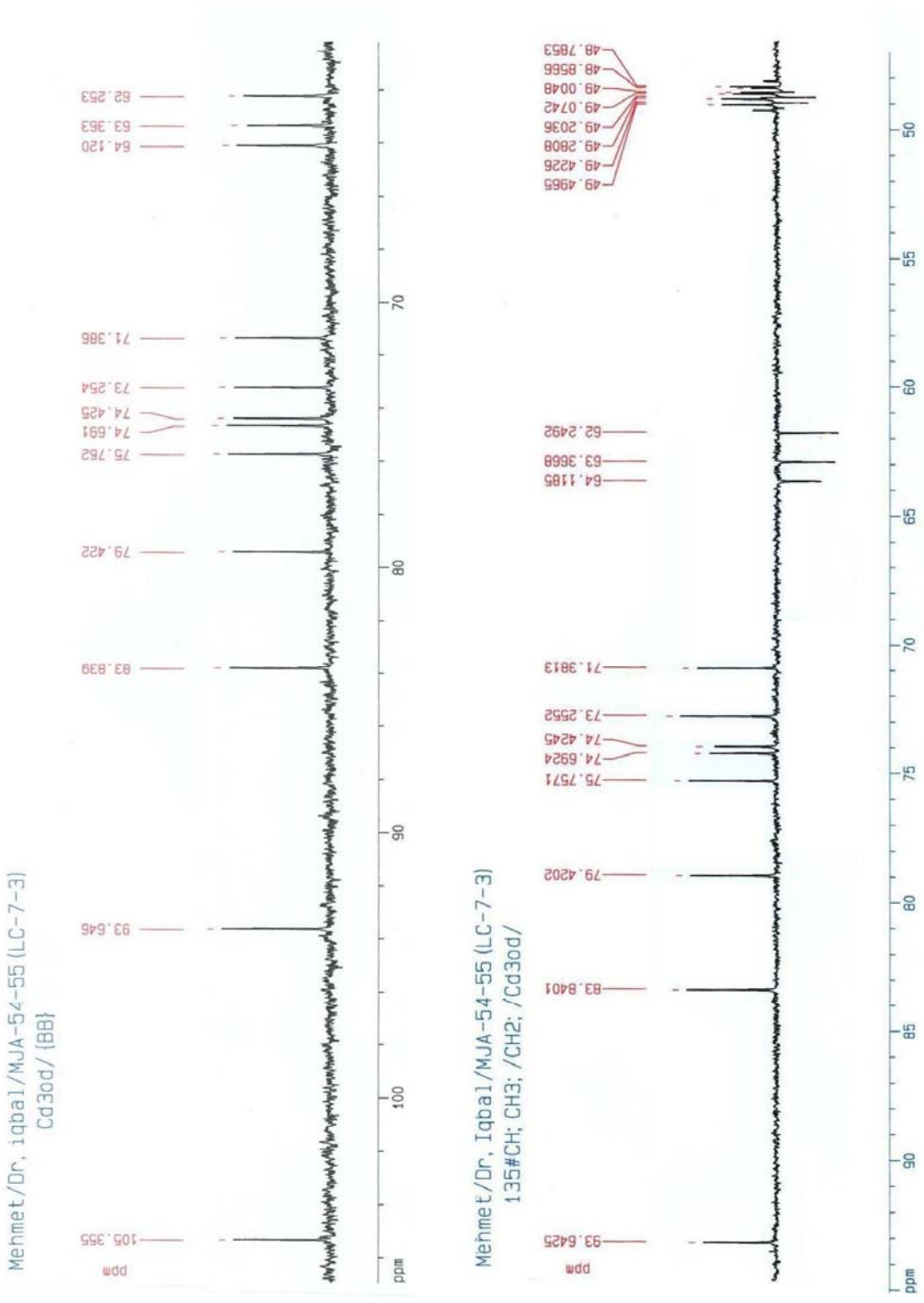
***** CHANNEL f1 *****
 NUC1 1H
 P1 9.70 usec
 PL1 0.00 dB
 SFO1 400.3330802 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 15384
 SF 400.3300099 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.00

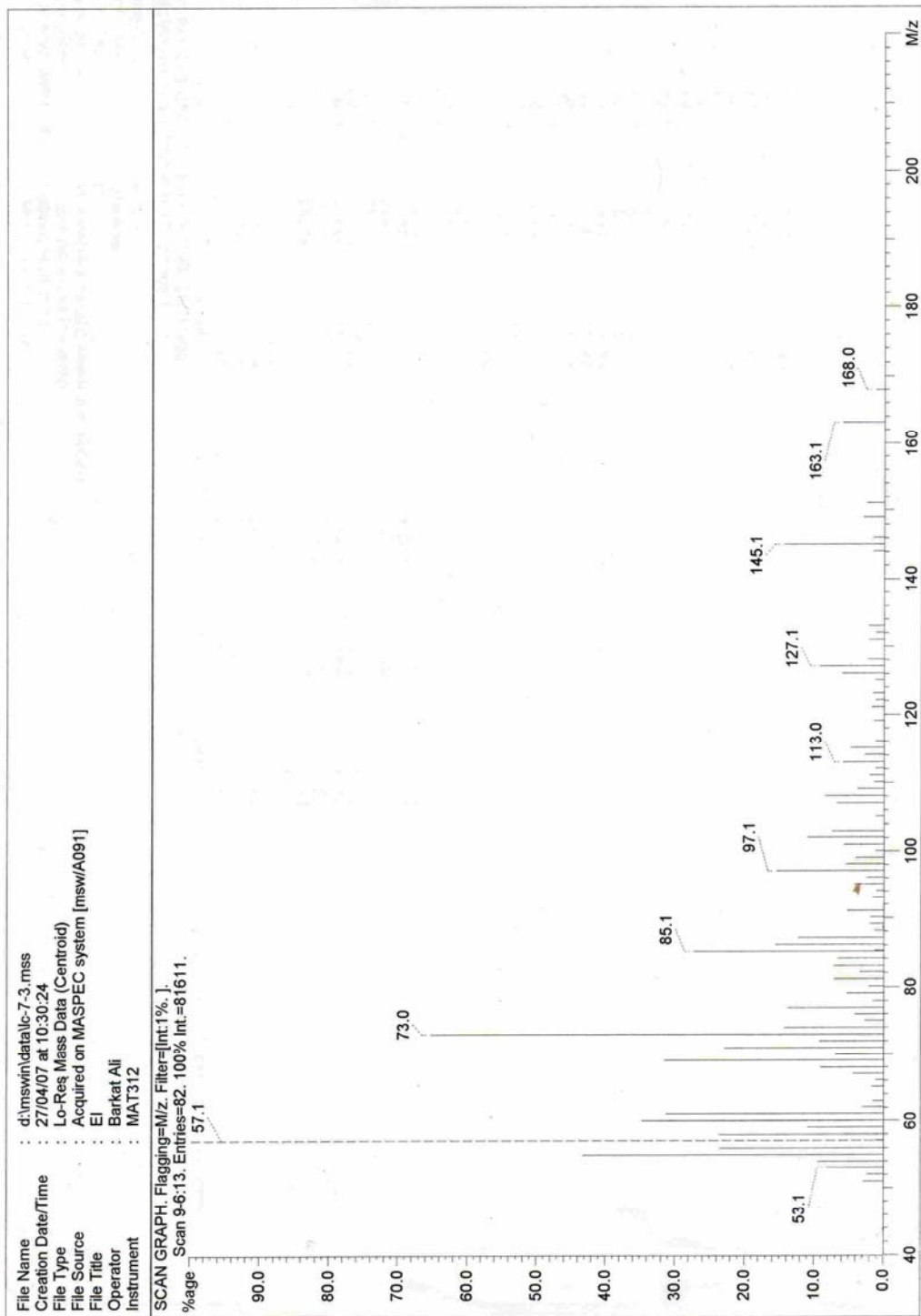
1D NMR plot parameters
 CX 20.00 cm
 CY 0.00 cm
 F1P 9.785 ppm
 F1 3917.08 Hz
 F2P 0.057 ppm
 F2 22.89 Hz
 PPMCH 0.48637 ppm/cm
 HZCM 194.70912 Hz/cm



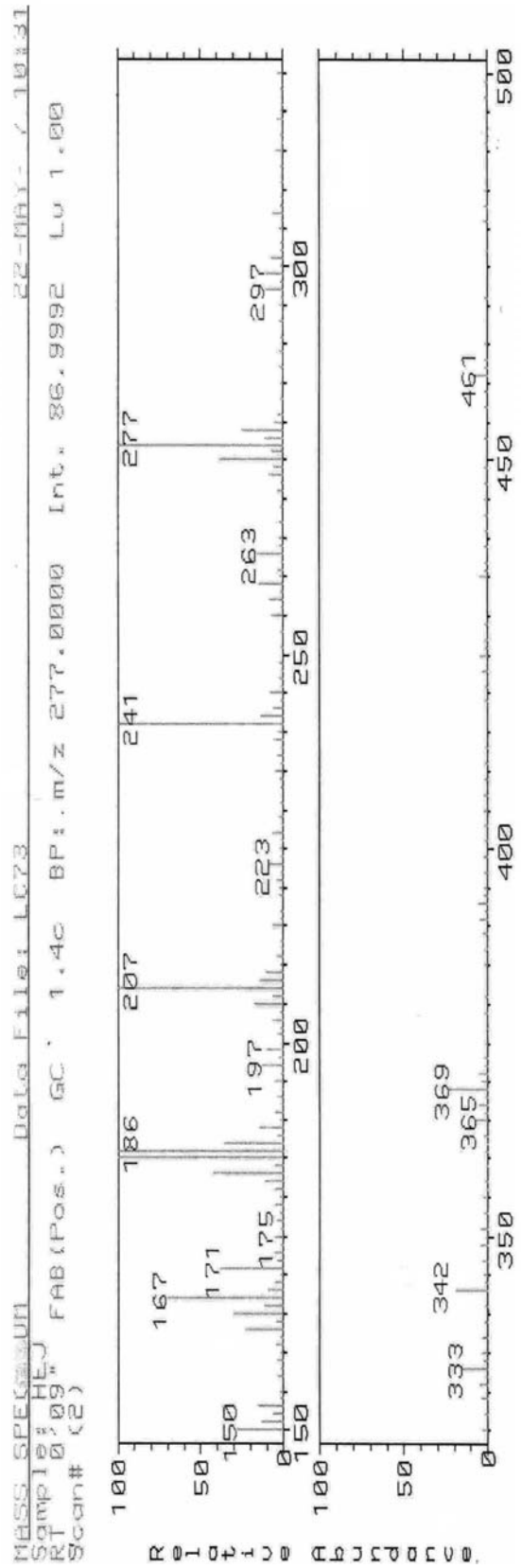
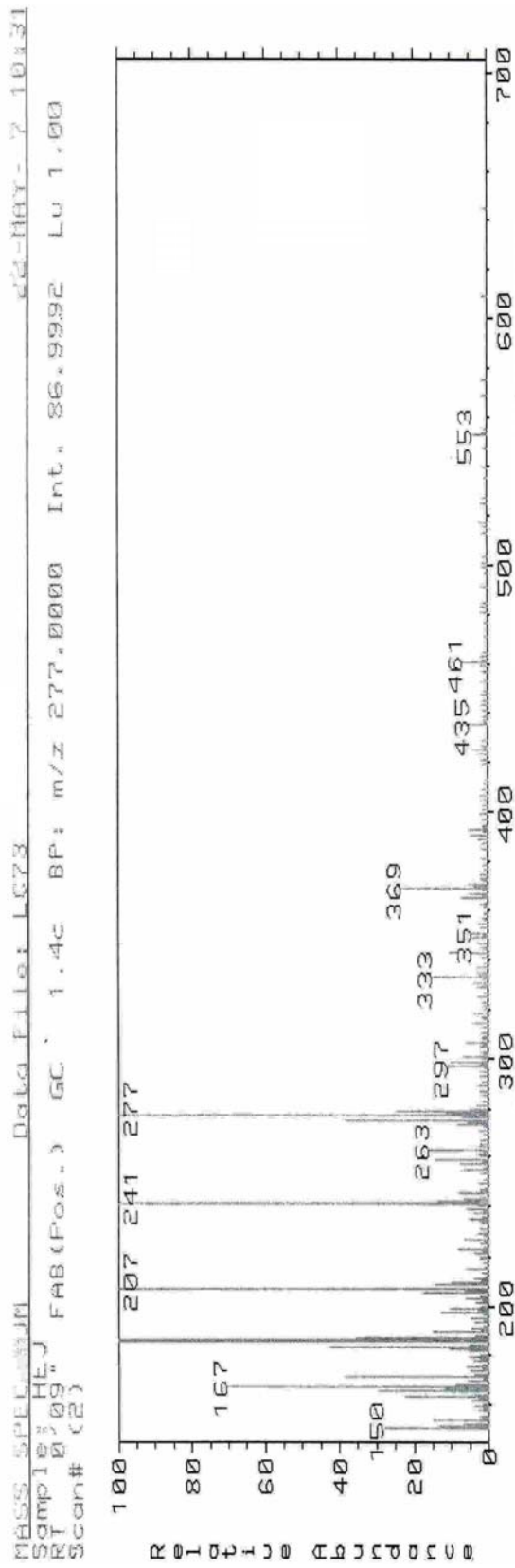
Şekil 4-95: Sakkaroz'in ¹H-NMR Spektrumu (CD₃OD, 400 MHz)



Şekil 4-96: Sakkaroz'un ^{13}C -NMR ve DEPT 135 Spektrumları (CD_3OD , 100 MHz)



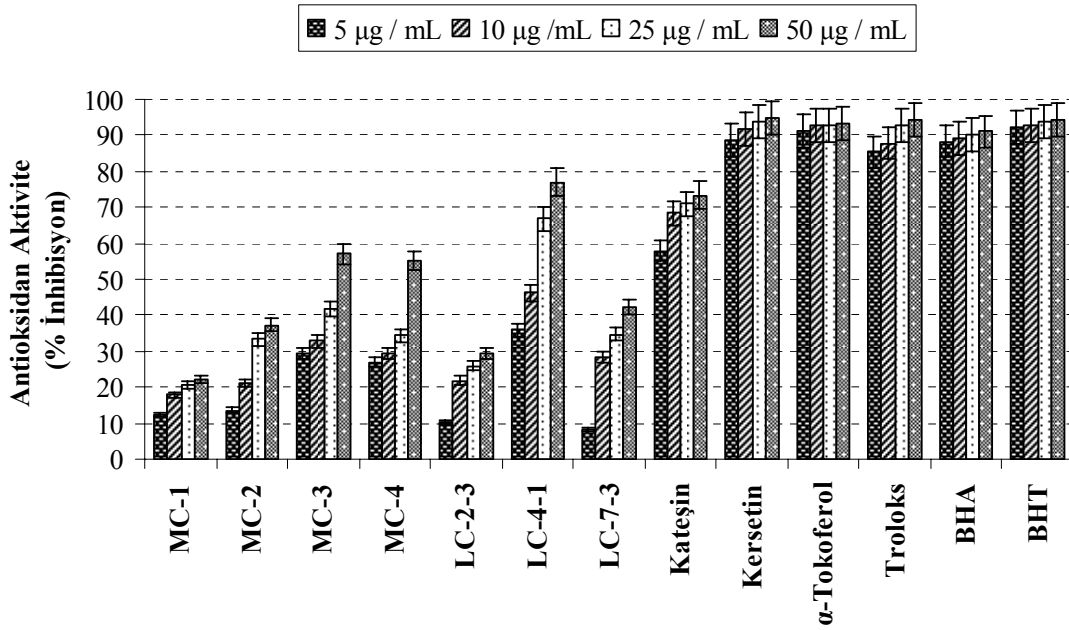
Şekil 4-97: Sakkaroz'un Kütle Spektrumu


 Şekil 4-98: Sakkaroz'un FAB⁺MS Spektrumu

4.4. *Micromeria cilicica* ve *M. juliana*'dan Elde Edilen Saf Maddelerin Antioksidan Aktivite Test Sonuçları

Bu çalışmada, ursolik asit^{145,146} ve rutin^{147,148} hariç diğer saf maddelerin antioksidan aktivite tayinleri ilk kez yapıldı.

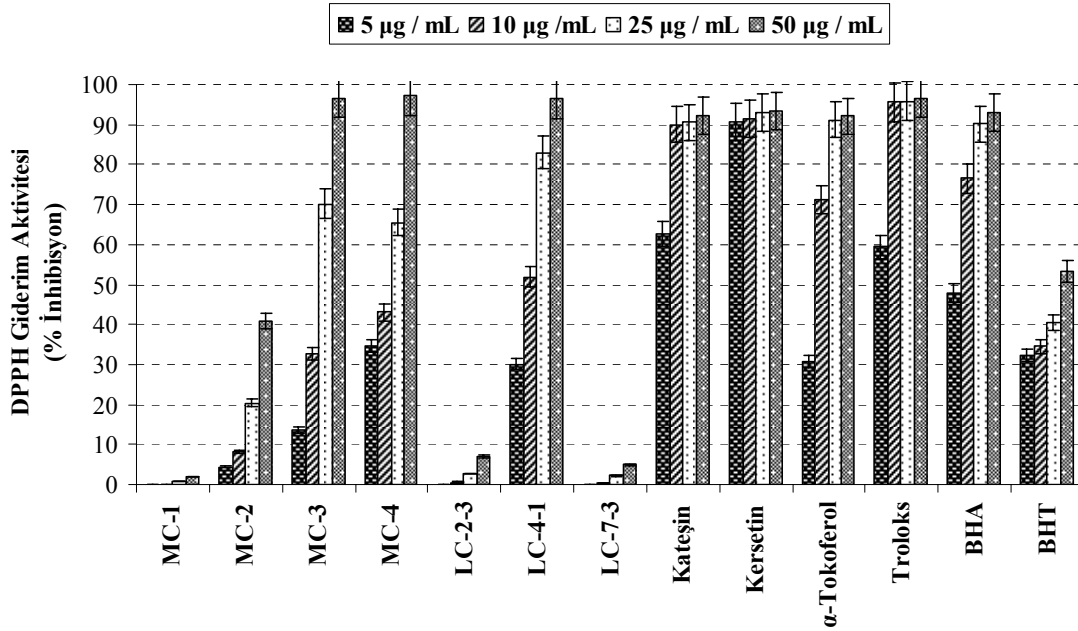
β -Karoten renk açılım yönteminde LC-4-1 (rutin) bileşiği test edilen maddeler arasında en yüksek aktiviteyi gösterdiği, MC-3 (sudachitin) ve MC-4'ün (izomukronulatol) birbirlerine benzer etkiye sahip oldukları belirlendi. LC-4-1 50 μ g/mL konsantrasyonda standart olarak kullanılan kateşinden daha yüksek aktivite gösterdi. Saf maddeler standart olarak kullanılan kateşin, kersetin, α -tokoferol, troloks, BHA ve BHT'den daha düşük aktivite gösterdiler (Şekil 4.99).



Şekil 4-99: Saf Maddelerin β -Karoten Renk Açılım Yöntemiyle Antioksidan Aktiviteleri (Antioksidan aktivite sonuçları 3 paralel testin ortalamasıdır. Sonuçlar Student-*t* testine göre % 95 güven sınırları içinde bulundu).

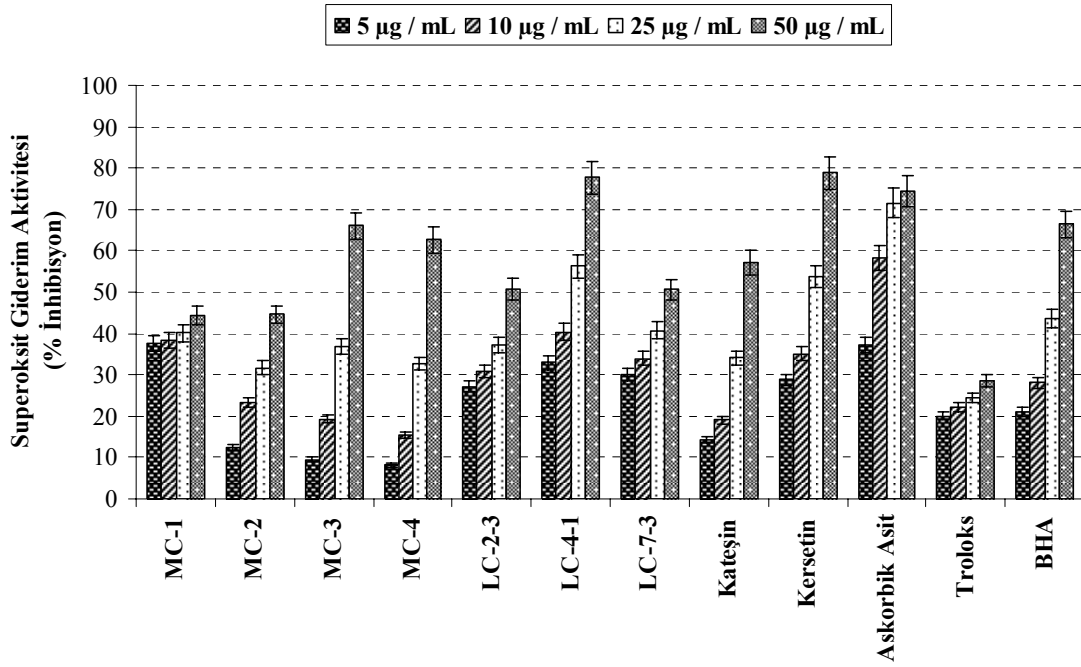
Şekil 4.100'de görüldüğü gibi LC-4-1 bileşiği tüm konsantrasyonlarda test edilen maddeler arasında DPPH serbest radikalini en iyi gideren maddedir. MC-3, MC-4 ve LC-4-1'in 50 μ g/mL konsantrasyonda troloks ile aynı, diğer standartlardan ise daha yüksek aktivite gösterdikleri belirlendi. MC-1 (ursolik asit), LC-2-3 (piperiton 7-*O*- β -D-

glikozit) ve LC-7-3'ün (sakkaroz) DPPH serbest radikalini hiç gideremedikleri tespit edildi.



Şekil 4-100: Saf Maddelerin DPPH Serbest Radikali Giderim Aktiviteleri (Antioksidan aktivite sonuçları 3 paralel testin ortalamasıdır. Sonuçlar Student-*t* testine göre % 95 güven sınırları içinde bulundu).

Süperoksit anyon radikali giderim aktivitesinde (Şekil 4.101) tüm maddelerden daha iyi aktiviteye sahip olan LC-4-1 bileşiğinin tüm konsantrasyonlarda standart olarak kullanılan katesin, troloks ve BHA'dan daha yüksek etki gösterdiği, kersetin ile benzer etkiye sahip olduğu belirlendi. 50 µg/mL konsantrasyonda ise askorbik asitten daha iyi bir etkiye sahip olduğu saptandı. MC-3 ve MC-4 bileşiklerinin, 25 ve 50 µg/mL konsantrasyonlarda troloksdan daha yüksek, tüm konsantrasyonlarda ise birbirlerine benzer etki gösterdikleri tespit edildi. MC-1 bileşiğinin 5 ve 10 µg/mL konsantrasyonlarda katesin, kersetin, troloks ve BHA'dan daha yüksek aktivite gösterdiği belirlendi.



Şekil 4-101: Saf Maddelerin Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktiviteleri (Antioksidan aktivite sonuçları 3 paralel testin ortalamasıdır. Sonuçlar Student-*t* testine göre % 95 güven sınırları içinde bulundu).

Tablo 4-14'de saf maddelerin antioksidan tayin yöntemlerinde bulunan IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) değerleri verildi.

Tablo 4-14: Saf Maddelerin Antioksidan Aktivite Yöntemlerinde Bulunan IC₅₀ (µg/mL) Değerleri ^a.

Saf Maddeler	β -Karoten Renk Açılım Aktivitesi		DPPH Radikali Giderim Aktivitesi		Süperosit Radikali Giderim Aktivitesi	
	IC ₅₀ (µg/mL)	r ²	IC ₅₀ (µg/mL)	r ²	IC ₅₀ (µg/mL)	r ²
MC-1	277,91±2,25	0,9853	770,62±3,33	0,9966	94,43±1,11	0,9939
MC-2	79,10±1,56	0,9295	61,40±2,01	1,0000	56,77±1,13	0,9985
MC-3	38,43±0,95	1,0000	17,20±1,11	0,9917	36,43±1,18	0,9956
MC-4	44,04±0,45	0,9628	15,19±1,23	0,9994	39,38±1,09	0,9995
LC-2-3	164,20±0,59	0,9670	332,15±1,33	0,9979	48,98±1,00	0,9972
LC-4-1	13,52±0,70	0,9909	9,87±1,35	0,9978	20,63±1,05	0,9921
LC-7-3	72,25±0,56	0,9891	461,24±4,55	0,9997	47,65±1,32	0,9915
Kateşin ^b	<2,5	-	4,32±0,15	0,9970	42,33±1,78	0,9997
Kersetin ^b	4,39±0,89	1,0000	2,07±0,10	0,9933	23,52±1,03	0,9962
α -Tokoferol ^b	<2,5	-	7,31±0,17	0,9974	TE	-
Troloks ^b	<2,5	-	4,58±0,10	0,9973	167,16±6,43	0,9807
Askorbik Asit ^b	TE	-	TE	-	8,21±0,93	0,9998
BHA ^b	<2,5	-	5,88±0,16	0,9932	32,78±0,74	0,9960
BHT ^b	<2,5	-	45,37±0,47	0,9997	TE	-

^a Sonuçlar 3 paralel ölçümün ortalamasından hesaplanmıştır.

^b Standart antioksidan maddeler.

TE: test edilmedi

5. TARTIŞMA

Bu doktora tez çalışmasında, Lamiaceae familyasının üyesi olan *Micromeria cilicica* (endemik) ve *M. juliana*'nın topraküstü kısımları sırasıyla petrol eteri, aseton ve metanol ile ekstre edildi. Daha sonra bu ekstrelerin toplam fenolik miktarları pirokatekole, toplam flavonoit miktarları kersetine eşdeğer olarak tayin edildi. Her bir ekstrenin β -karoten renk açılım, DPPH serbest radikali giderim ve süperoksit anyon radikali giderim yöntemleri kullanılarak antioksidan aktivitesi belirlendi. Aktivitesi yüksek çıkan ekstreler fraksiyonlandırıldı ve antioksidan aktivite gösteren fraksiyonlardan kromatografik yöntemler kullanılarak saflaştırılan maddelerin yapı tayinleri spektroskopik yöntemlerle yapıldı.

M. cilicica'nın aseton ve *M. juliana*'nın petrol eteri ekstrelerinden elde edilen ve % 50'nin üzerinde antioksidan etki gösteren fraksiyonların GC ve GC/MS analizleri yapıldı. Bu analizler sonucunda her iki bitkiden elde edilen bileşiklerden yirmi beşinin yapısı belirlendi.

M. cilicica'nın aseton ekstresinden antioksidan etkiye sahip olan^{79,149} ve aktif fraksiyonun (MCA 11) % 26,60'ını oluşturan timol^{39,41}, karvakrol^{43,51} ve Vitamin E (% 14,20) elde edildi. DPPH radikalini çok iyi gideren MCA 11'in antioksidan aktivitesi timol, karvakrol ve Vitamin E'den kaynaklanmaktadır.

M. juliana'nın petrol eteri ekstresinin fraksiyonları arasında en iyi aktiviteyi gösteren MJP 1-3'ün GC ve GC/MS analizi sonucunda fenolik bir bileşik olan 2,4,6-triizopropilfenol'ü (% 58,37) en yüksek miktarda içerdiği bulundu. Bu fraksiyonun içeriğinde bulunan tüm maddeler halkalı ve doymamış bir yapıya sahip olduklarından β -karoten renk açılım yönteminde ortamdaki singlet oksijeni uzaklaştırarak antioksidan aktiviteye katkıda buldukları düşünülmektedir^{79,95}.

GC ve GC/MS analizi sonucunda MJP 4-5'de heksahidrofarnesil aseton'un (% 60,09), MJP 8-9'da cembren'in (% 27,22) ve MJP 12'de pentakosan'ın (% 28,27) ana bileşenler oldukları belirlendi.

M. cilicica aseton ekstresinin en yüksek antioksidan aktivite gösteren fraksiyonu (MCA 37-40) LC-NMR cihazında analiz edilerek antioksidan aktivite gösteren maddeler belirlendi. Benzer bir çalışma LC-MS cihazında ABTS⁺ kullanılarak yapılmıştır¹⁵⁰. Bu tez çalışması ile ilk defa, DPPH kullanılarak antioksidan aktivite gösteren maddelerin varlığı (izotimonin 4'-metil eter, sudachitin, izomukronulatol) kromatogramda izlendi.

M. cilicica'nın aseton ekstresinden ikisi yeni (izotimonin 4'-metil eter, piperiton 7-O- β -D-glikozit), dördü bilinen (ursolik asit, sudachitin, izomukronulatol, rutin) ve *M. juliana*'nın aseton ekstresinden bilinen bir madde (sakkaroz) olmak üzere toplam yedi madde elde edildi. Bu saf maddelerin β -karoten renk açılım, DPPH serbest radikali giderim ve süperoksit anyon radikali giderim yöntemleri ile antioksidan aktiviteleri incelendi.

Bu tez çalışması ile *M. cilicica*'dan hazırlanan tüm ekstrelerin ve *M. juliana*'nın petrol eteri ile aseton ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri ilk kez incelendi. Ursolik asit hariç diğer saf maddelerin *Micromeria* türlerinden ilk kez elde edildiği tespit edildi. Ursolik asit ve rutin dışındaki diğer saf maddelerin antioksidan aktiviteleri yine ilk kez bu tez çalışmasında belirlendi. Rutin'in, β -karoten renk açılım, DPPH serbest radikali giderim ve süperoksit anyon radikali giderim yöntemlerinin hepsinde en yüksek aktiviteyi gösterdiği saptandı.

Sonuç olarak bu çalışmada, *Micromeria cilicica* ve *M. juliana*'nın zengin antioksidan kaynakları oldukları belirlendi. Diğer *Micromeria* türleri potansiyel antioksidan kaynakları olabilecekleri için hem kimyasal hem de aktivite bakımından incelenmeleri bilim dünyasına önemli katkılar sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Hsu TY, Sheu SC, Liaw ET, Wang TC, Lin CC. Antioxidant activity and effect of *Pinus morrisonicola* on the survival of leukemia cell line U937, *Phytomedicine* 2005; **12**: 663–669.
2. Salvatore S, Pellegrini N., Brenna O.V., Del Rio D., Frasca G., Brighenti F., Tumino R. Antioxidant characterization of some Sicilian edible wild greens, *J Agric Food Chem* 2005; **53**: 9465–9471.
3. Ito N, Fukushima S, Hasegawa A, Shibata M, Ogiso T. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *J Natl Cancer I* 1983; **70**: 343–347.
4. Namiki M. Antioxidants/antimutagens in food. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1990; **29**: 273–300.
5. Pokorny J. Natural antioxidant for food use. *Trends in Food Sci Technol* 1991; **9**: 223–227.
6. Baytop A. *Farmasötik Botanik Ders Kitabı*, 4. Baskı. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları, Yayın No: 3637; 1996.
7. Davis PH. *Micromeria* Benth. İçinde Davis PH, editor *Flora of Turkey and the East Eagen Islands*. Vol.7, Edinburg: Edinburgh University Pres; 1982. pp.335-346.
8. Başer KHC, Kırimer N. Essential Oils of Lamiacea Plants of Turkey. *Acta Horticulturae* 2006; **723**: 163–171.
9. Baytop T. *Dünden Bugüne Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*, 2. baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1999. pp.304–305.
10. Formisano C, Mignola E, Rigano D, Senatore F, Bellone G, Bruno M, Rosseli S. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from aerial parts of *Micromeria fruticulosa* (Bertol.) Grande (Lamiaceae) growing wild in Southern Italy. *Flavour Fragrance J* 2007; **22**: 289–292.
11. Vladimir-Knezevic S, Kalodera Z, Blazevic N. Composition of the essential oil of *Micromeria thymifolia* (Scop.) Fritsch and its chemical variation. *Pharmazie* 2000a; **55**: 156–157.
12. Güllüce M, Sökmen M, Şahin F, Sökmen A, Adıgüzel A, Özer H. Biological activities of the essential oil and methanolic extract of *Micromeria fruticulosa* (L)

- Druce spp. *serpilifolia* (Bieb) PH Davis plants from the eastern Anatolia region of Turkey. *J Sci Food Agr* 2004; **84**: 735–741.
13. Aslan İ, Çalmaşur Ö, Şahin F, Çağlar Ö. Insecticidal effects of essential plant oils against *Ephestia kuehniella* (Zell.), *Lasioderma serricorne* (F.) and *Sitophilus granarius* (L.). *J Plant Dis Prot* 2005; **112**: 257–267.
 14. Duru ME, Öztürk M, Uğur A, Ceylan Ö. The constituents of essential oil and in vitro antimicrobial activity of *Micromeria cilicica* from Turkey. *J Ethnopharmacol* 2004; **94**: 43–48.
 15. Başer KHC, Honda G, Miki W. Herb Drugs and Herbalists in Turkey, *Studia Culturae Islamicae* 27, Institute for the Study of Language and Cultures of Asia and Africa, Tokyo; 1986.
 16. Carmona MD, Llorach R, Obon C, Rivera D. “Zahraa”, a Unani multicomponent herbal tea widely consumed in Syria: Components of drug mixtures and alleged medicinal properties. *J Ethnopharmacol* 2005; **102**: 344–350.
 17. Karaman S, Kocabaş YZ. Traditional medicinal plants of K. Maras (Turkey). *The Sciences* 2001; **1**: 125–128.
 18. Dudai N, Larkov O, Ravid U, Putievsky E, Lewinsohn E. Developmental control of monoterpene content and composition in *Micromeria fruticosa* (L.) Druce. *Ann Bot-London* 2001; **88**: 349–354.
 19. Svendsen AB. *Micromeria*. İçinde Scheffer JJC, editor. *Essential Oils and Aromatic Plants*, Pordrech: Martinus Nijhoff and Dr. W. Junk Publishers; 1985. pp.:55.
 20. Marinkovic B, Marin PD, Knezevic-Vukcevic J, Sokovic MD, Brkic D. Activity of essential oils of three *Micromeria* species (Lamiaceae) against micromycetes and bacteria. *Phytother Res* 2002; **16**: 336–339.
 21. Ali-Shtayeh MS, Yaghmour RMR, Faidi YR, Salem K, Al-Nuri MA. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *J Ethnopharmacol* 1998; **60**: 265–271.
 22. Guarrera PM, Salerno G, Caneva G. Folk phytotherapeutical plants from Maratea area (Basilicata, Italy). *J Ethnopharmacol* 2005; **99**: 367–378.

23. Puri HS, Jain SP. *Micromeria capitellata* Benth. A new source of pulegone. *Parfuem Cosmet* 1988; **69**: 163, CA 109:43302m.
24. Başer KHC. Aromatic biodiversity among the flowering plant taxa of Turkey. *Pure Appl Chem* 2002; **74**: 527–545.
25. Marin PD, Grayer RJ, Veitch NC, Kite GC, Harborne JB. Acacetin glycosides as taxonomic markers in *Calamintha* and *Micromeria*. *Phytochemistry* 2001; **58**: 943–947.
26. Kalogjera Z, Blazevic N, Vladimir S, Romic Z. Triterpenic acids from *Micromeria thymifolia* (Scop.) Fritsch. *Acta Pharmaceutica* 1994; **44**: 193–196.
27. Tomas-Barberan FA, Gil MI, Marin PD, Tomas-Lorente F. Flavonoids from some Yugoslavian *Micromeria* species: Chemotaxonomical aspects. *Biochem Syst Ecol* 1991; **19**: 697–698.
28. Tomas-Barberan FA, Grayer-Barkmeijer RJ, Gil MI, Harborne JB. Distribution of 6-hydroxy-, 6-methoxy- and 8-hydroxyflavone glycosides in the Labiatae, the Scrophulariaceae and related families. *Phytochemistry* 1988a; **27**: 2631–2645.
29. Tomas-Barberan FA, Husain SZ, Gil MI. The Distribution of methylated Flavones in the Lamiaceae. *Biochem Syst Ecol* 1988b; **16**: 43–46.
30. Tomas-Barberan FA, Wollenweber E. Flavonoid aglycones from the leaf surfaces of some *Labiatae* species. *Pl Syst Evol* 1990; **173**: 109–118.
31. Bermejo J, Breton JL, Fuente GM, Gonzales AG. Terpenoids of *Micromeris*.-I. Two new triterpenic acids isolated from *Micromeria benthami* Webb Et Berth. *Tetrahedron Lett* 1967; **47**: 4649–4655.
32. Breton JL, Fraga BM, Jaraiz I, Gonzales AG. *Micromeria* triterpenes III. Triterpene alcohols of *Micromeria benthami*. *Anales de Quimica* 1969; **65**: 305–306.
33. Arteaga JM, Breton JL, Fraga BM, Gonzales AG. Labiatae components. VII. *Micromeria* acid triterpenes. *Anales de Quimica* 1970; **66**: 181–184.
34. Power FB, Salway AH. Chemical examination of *Micromeria chamissonis*. (Yerba Buena.). *J Am Chem Soc* 1908; **30**: 251–265.
35. Ristic N, Palic R, Kitic D, Stojanovic G. The fatty acids from some plants of *Micromeria* genus. University of Nis. The scientific journal of Facta Universitatis *Physics, Chemistry and Technology* 1997; **1**: 53–56.

36. Dudai N, Poljakoff-mayber A, Mayer AM, Putievsky E, Lerner HR. Essential oils as allelochemicals and their potential use as bioherbicides. *J Chem Ecol* 1999; **25**: 1079–1089.
37. Al-Rehaily AJ. Composition of the essential oil of *Micromeria biflora* spp. *arabica* K. Walth. *Pakistan J Biol Sci* 2006; **9**: 2726–2728.
38. Çalmaşur Ö, Aslan İ, Şahin F. Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. *Ind Crop Prod* 2006; **23**: 140–146.
39. Stojanovic G, Palic I, Ursic-Jankovic J. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Micromeria cristata* and *Micromeria juliana*. *Flavour Fragrance J* 2006; **21**: 77–79.
40. Özcan M. Antifungal effects of *Micromeria myrtifolia* Boiss & Hohen in Boiss. and *Prangos uechtritzii* (Boiss.) Hawsskn decoctions. *Acta Alimentaria* 1999; **28**: 355–360.
41. Sefidkon F, Kalvandi R. Chemical composition of the essential oil of *Micromeria persica* Boiss. from Iran. *Flavour Fragrance J* 2005; **20**: 539–541.
42. Mastelic J, Jerkovic I, Kustrac D. Aromatic compounds of *Micromeria juliana* (L.) Benth. ex Reichenb. from Croatia(a). *J Essent Oil Res* 2005; **17**: 516–518.
43. Slavkowska V, Couladis M, Bojovic S, Tzakou O, Pavlovic M, Lakusic B, Jancic R. Essential oil and its systematic significance in species of *Micromeria Benth.* from Serbia & Montenegro. *Pl Syst Evol* 2005; **255**: 1–15.
44. Diab Y, Auezova L, Chebib H. Chemical composition of the essential oil of *Micromeria libanotica* Boiss., an endemic species of Lebanon. *J Essent Oil Res* 2005; **17**: 449–450.
45. Couladis M, Tzakou O, Verykokidou E, Harvala C. Screening of some Greek aromatic plants for antioksidant activity. *Phytoter Res* 2003; **17**: 194–195.
46. Kırimer N, Tümen G, Özek T, Başer KHC. The essential oil of *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *barbata* (Boiss & Kotschy) P.H.Davis of Turkish Origin. *J Essent Oil Res* 1993; **5**: 79–80.
47. Başer KHC, Kırimer N, Özek T., Tümen G, Karaer F. Essential oil composition of three Labiatae endemic to Turkey (*Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp.

- giresunica* P.H.Davis, *Sideritis lycia* Boiss. et Heldr. and *S. arguta* Boiss. et Heldr.). *J Essent Oil Res* 1996; **8**: 699–701.
48. Harmandar M. Analysis of Essential Oil from Leaves of *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *serpillifolia* (Bieb.) P.H. Davis. *Turk J Chem* 1988; **12**: 188–194.
 49. Kırimer N, Özek T, Başer KHC. Composition of the essential oil of *Micromeria congesta*. *J Ess Oil Res* 1991; **3**: 387–393.
 50. Tabanca N, Kırimer N, Demirci B, Demirci F, Başer KHC. Composition and antimicrobial activity of essential oils of *Micromeria cristata* subsp. *phrygia* and enantiomeric distribution of borneol. *J Agric Food Chem* 2001; **49**: 4300–4303.
 51. Özek T, Kırimer N, Başer KHC. Composition of the essential oils of *Micromeria myrtifolia* Boiss. et Hohen. *J Ess Oil Res* 1992; **4**: 79–80.
 52. Tzakou O, Couladis M. The essential oil of *Micromeria graeca* (L.) Bentham et Reichenb. growing in Greece. *Flavour Fragrance J* 2001; **16**: 107–109.
 53. Stojanovic G, Palic I, Ursic-Jankovic J, Vajs V, Dokovic D. Chemical composition of the essential oil of *Micromeria albanica* (Griseb. ex K. Maly) Silic. *J Essent Oil Res* 1999; **11**: 785–787.
 54. Ali-Shtayeh MS, Al-Nuri MA, Yaghmour RMR, Faidi YR. Antimicrobial activity of *Micromeria nervosa* from the Palestinian area. *J Ethnopharmacol* 1997; **58**: 143–147.
 55. Başer KHC, Demirçakmak B, Duman H. Composition of the essential oil of *Micromeria cremnophila* Boiss. et Heldr. subsp. *amana* (Rech.fil) P.H.Davis. *J Essent Oil Res* 1997; **9**: 725–726.
 56. Başer KHC, Kırimer N, Özek T., Tümen G. Essential oil of *Micromeria carminea* P.H.Davis. *J Essent Oil Res* 1995; **7**: 457–458.
 57. Perez-Alonso MJ, Velesco-Neguerella A, Gil-Pinilla M, De-Paz PLP, Vallejo CG, Esteban JL. The Volatiles of Five *Micromeria* Species Endemic to the Canary Islands. *Biochem Syst Ecol* 1996; **24**: 571–575.
 58. Kalodera Z, Pepeljnjak S, Vladimir S, Blazevicacute N. Antimicrobial activity of essential oil from *Micromeria thymifolia* (Scop.) Fritsch. *Die Pharmazie* 1994; **49**: 376–377.

59. Shimoni M, Putievsky E, Ravid U, Reuveni R. Antifungal activity of volatile fractions of essential oils from four aromatic wild plants in Israel. *J Chem Ecol* 1993; **19**: 1129–1133.
60. El-Hawary SS, Al-Yahya MA, Al-Meshal IA, Mossa JS, Hifnawy MS. Aromatic plants of Saudi Arabia, Part 13. Essential oil of *Micromeria sinaica*. *Int J Pharmacog* 1991; **29**: 193–196.
61. Papas AM. Determinants of antioxidant status in humans. *Lipids* 1996; **31**: 77–82.
62. Aruoma OI, Cuppett SL. Antioxidant Methodology in vivo and in vitro Concept. Champaign, Illinois, AOCS Press; 1997. pp.: 241.
63. Fridovich I. Superoxide Dismutases. *Meth. Enzymol* 1986; **58**: 61–97.
64. Halliwell, B. Free Radicals and Antioxidants: A Personal View. *Nutr Rev* 1994; **52**: 253–265.
65. Von-Sonntag C. The Chemical Basis of Radiation Biology, London, Taylor & Francis, 1987; pp.:15-49.
66. Moncada S, Palmer R, Higgs E. Nitric Oxide Physiology, Pathophysiology and Pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; **43**: 109–142.
67. Babior BM, Woodman RC. Chronic granulomatous disease. *Sem Hematol* 1990; **27**: 247–259.
68. Anggård E. Nitric oxide: Mediator, murderer and medicine. *Lancet* 1994; **343**: 1199–1206.
69. Aruoma OI, Halliwell B, Dizdaroğlu M. Iron ion-dependent modification of bases in DNA by the superoxide radical-generating system hypoxanthine/xanthine oxidase. *J Biol Chem* 1989; **264**: 13024–13028.
70. Takeuchi T, Nakajima M, Morimoto K. Establishment of a human system that generates $O_2^{\bullet-}$ and induces 8-hydroxydeoxyguanosine, typical of oxidative DNA damage, by a tumor promoter. *Cancer Res* 1994; **54**: 5837–5840.
71. Floyd RA, Watson JJ, Harris J, West M, Wong PK. Formation of 8-hydroxydeoxyguanosine, hydroxyl free radical adduct of DNA in granulocytes exposed to tumor promoter, tetradecanoylphorbolacetate. *Biochem Biophys Res Commun* 1986; **137**: 841–846.

72. Floyd RA, West MS, Eneff KL, Hogsett WE, Tingey DT. Hydroxyl free radical mediated formation of 8-hydroxyguanine in isolated DNA. *Arch Biochem Biophys* 1988; **262**: 266–272.
73. Yermilov V, Rubio J, Ohshima H. Formation of 8-nitroguanine in DNA treated with peroxyxynitrite in vitro and its rapid removal from DNA by depurination. *FEBS Lett* 1995; **376**: 207–210.
74. Szabo C, Ohshima H. DNA damage induced by peroxyxynitrite: subsequent biological effects. *Nitric Oxide* 1997; **1**: 373–385.
75. Guyton KZ, Kensler TW. Oxidative mechanism in carcinogenesis. *Br Med Bull* 1993; **49**: 523–544.
76. Cook NC, Samman S. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Nutr Biochem* 1996; **7**: 66–76.
77. Packer L, Cadenas E. Oxidative Stres and Disease. İçinde Cadenas E, Packer L, editor. *Handbook of Antioxidants*. 2nd Edn., New York, Basel, USA, Marcel Dekker, 2002; pp: 5-8.
78. Larson RA. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry* 1988; **27**: 969–978.
79. Hudson BJB. Food Antioxidants. Elsevier Applied Science, London and New York; 1990; pp.: 1-316.
80. Taylor MJ, Richardson T. Antioxidant activity of cysteine and protein sulfhydryls in a linoleate emulsion oxidized by hemoglobin. *J Food Sci* 1980; **30**: 1223–1227.
81. Buchanan BB, Schurmann P, Decottignies PT, Lozano RM. Perspectives in biochemistry and biophysics: thioredoxin: a multifunctional regulatory protein with a bright future in tecnology and medicine. *Arch Biochem Biophys* 1994; **314**: 257–260.
82. Hertog, MGL, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and the risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study. *Lancet* 1993; **342**: 1007–1011.

83. Stampfer MJ, Hennekens CH, Manson JE, Colditz GA, Rosner B, Willet WC. Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women. *New Engl J Med* 1993; **328**: 1444–1449.
84. Amarowicz R, Shahidi F. A rapid chromatographic method for separation of individual catechins for green tea. *Food Res Int* 1996; **29**: 71–76.
85. Ho C.-T, Chen C-W, Wanasundara UN, Shahidi F. Natural antioxidants from tea. İçinde Shahidi F, editör, *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects and Applications*. Champaign IL, AOCS Press; 1997. pp.: 213–223.
86. Henry JP, Stephens-Larson P. Reduction of chronic psychosocial hypertension in mice by decaffeinated tea. *Hypertension* 1984; **6**: 437–444.
87. Ho CT, Chen Q, Shi-Zhang KQ, Rosen RT. Antioxidative effect of polyphenol extract prepared from various Chinese teas. *Prev Med* 1992; **21**: 520–525.
88. Luo M, Kannar K, Wahlqvist ML, O'Brien RC. Inhibition of LDL oxidation by green tea extract. *Lancet* 1997; **349**: 360–361.
89. Shi ST, Wang ZY, Smith TJ, Hong JY, Chen WF, Ho CT, Yang CS. Effects of green tea and black tea on 4-(methylnitrosamine)-1-(3-pyridyl)-1-butanone bioactivation, DNA methylation and lung tumorigenesis in A/J mice. *Cancer Res* 1994; **54**: 4641–4647.
90. Wang ZY, Huang MT, Lou YR, Xie JG, Reuhl KR, Newmark HL, Ho CT, Yang CS, Conney AH. Inhibitory effects of black tea, green tea, decaffeinated black tea and decaffeinated green tea on ultraviolet B light-induced skin carcinogenesis in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-initiated SKH-1 mice. *Cancer Res* 1994; **54**: 3428–3435.
91. Husain SR, Cillard J, Cillard P. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry* 1987; **26**: 2489–2491.
92. Chen Y, Zheng R, Zhongjian J, Yong J. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radicals Biol Med* 1990; **9**: 19–21.
93. Yamazaki E, Inagaki M, Kurita O, Inoue T. Antioxidant Activity of Japanese Pepper (*Zanthoxylum piperitum*) Fruit. *Food Chem* 2007; **100**: 171–177.

94. Tepe B, Eminagaoglu O, Akpulat HA, Aydin E. Antioxidant Potentials and Rosmarinic Acid Levels of The Methanolic Extracts of *Salvia verticillata* (L.) subsp. *verticillata* and *S. verticillata* (L.) subsp. *amasiaca* (Freyn & Bornm.) Bornm. *Food Chem* 2007; **100**: 985–989.
95. Reische DW, Lillard DA, Eitenmiller RR. Oxidation. İçinde. Akoh CC, Min DB. editör. *Food Lipids Chemistry, Nutrition and Biotechnology*, New York: Marcel Dekker Inc; 2002. pp.: 335-542.
96. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. (2nd ed.) Oxford, Clarendon Press; 1989. pp.: 543.
97. Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods. *Am J Enol Viticult* 1977; **28**: 49–55.
98. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM, Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Method Enzimol* 1999; **299**: 152–178.
99. Miller, H.M. (1971). A simplified method for the evaluation of antioxidants. *J Am Oil Chem Soc* **48**, 91.
100. Huang D, Ou B, Prior RL. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *J Agric Food Chem* 2005; **53**: 1841–1856.
101. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 1958; **181**: 1199–1200.
102. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorisation assay. *Free Radical Bio Med* 1999; **26**: 1231-1237.
103. Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *J Agric Food Chem* 2004; **52**: 7970–7981.
104. Benzie IFF, Strain JJ. Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”; the FRAP assay. *Anal Biochem* 1996; **239**: 70-76.
105. Liu F, Ooi VEC, Chang ST. Free radical scavenging activity of mushroom polysaccharide extracts. *Life Sci* 1997; **60**: 763–771.

106. Oyaizu, M. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr* 1986; **44**: 307-315.
107. Wayner DDM, Burton GW, Ingold K, Locke US. Qualitative measurement of the total peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. *FEBS Lett* 1985; **187**: 33-37.
108. Wayner DDM, Burton GW, Ingold K, Locke US. The antioxidant efficiency of vitamin C is concentration dependent. *Biochimica et Biophysica Acta* 1986; **884**: 119-123.
109. Alho H, Leinonen J. Total antioxidant activity measured by chemiluminescence methods. *Methods in Enzymol* 1999; **299**: 3-14.
110. Whitehead TP, Thorpe GHG, Maxwell SRJ. Enhanced chemiluminescent assay for antioxidant capacity in biological fluids. *Analytica Chimica Acta* 1992; **266**: 265-277.
111. Valkonen M, Kuusi T. Spektrophotometric assay for total radical trapping antioxidant potential in human serum. *J Lipid Res* 1997; **38**: 823-833.
112. Cao G, Alessio HM, Cutler RG. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Bio Med* 1993; **14**: 303-311.
113. Cao G, Prior RL. In Vivo antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Bio Med* 1999; **27**: 1173-1181.
114. Kohen R, Yannai E, Berry EM, Tirosh O. Overall low molecular weight antioxidant activity of biological fluids and tissue by cyclic voltammetry. *Method Enzymol* 1999; **300**: 285-296.
115. Sönmez U. *Salvia napifolia* Jacq. Bitkisinden Elde Edilen Yeni Diterpenoit Bileşiklerinin Yapı Araştırması. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul-1995.
116. Tedder JM Nechvatal A, Murray AW, Carnduff J. *Basic Organic Chemistry*, Belfast: Universities Press; 1972. pp.: 219.
117. Geissman TA, Crout DHG. *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism*. California: Freeman, Cooper and Company; 1969. pp.: 4, 217, 241, 291, 293, 300,305, 309.
118. Boiteau P, Pasich B, Ratsimamanga AR. Les Triterpenoids. Paris: Gauthier-Villards; 1964. pp.: 3, 32, 184, 469.

119. Devon TK, Scott AI. Terpenes. In: Handbook of Naturally Occurring Compounds. Volume II, Academic Press New York and London, 1972, pp.: 5-200.
120. Kabouche A, Kabouche Z, Öztürk M, Kolak U, Topçu G. Antioxidant abietane diterpenoids from *Salvia barrelieri*. *Food Chem* 2007; **102**: 1281–1287.
121. Kolak U, Öztürk M, Özgökçe F, Ulubelen A. Norditerpene Alkaloids from *Delphinium linearilobum* and Antioxidant Activity. *Phytochemistry* 2006; **67**: 2170–2175.
122. Harborne JB, Mabry TJ, Mabry H. *The Flavonoids*. London-New York: Chapman and Hall; 1975. pp.:35-37, 865-867.
123. Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. *The systematic Identification of Flavonoids*. Berlin-Heidelberg-New York: Springer-Verlag; 1970. pp. 41-273.
124. Geissman TA. *The Chemistry of Flavonoid Compounds*. New York: The Macmillan Company; 1962. pp.: 72.
125. Mabry TJ, Ulubelen A. Chemistry and utilization of phenylpropanoids including flavonoids, coumarins, and lignans. *J Agric Food Chem* 1980; **28**: 188–196.
126. Markham KR, Chari NM. ¹³C-NMR Spectroscopy of Flavonoids. İçinde, Harborne JB, Mabry TJ, editör. *The Flavonoids: Advances in Research*. Chapter II. London-New York: Chapman and Hall; 1982. pp.:19-135.
127. Mears JA, Mabry TJ. A procedure for the UV detection of hydroxyl and methoxyl groups at C₆ in flavones and 3-O-substituted flavonols. *Phytochemistry* 1972; **11**: 411–412.
128. Serin S. *Centaurea ptosimopappoides* Wagenitz Bitkisinin Fitokimyasal İncelenmesi. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul-1995.
129. Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol* 2000; **71**: 109–114.
130. Murti VVS, Seshadri TR. Nuclear oxidation in the flavone series. Part XI. A new synthesis of nobiletin. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences, Section A* 1948; **27**: 217–222.

131. Chu H-W, Wu H-T, Lee Y-J. Regioselective hydroxylation of 2-hydroxychalcones by dimethyldioxirane towards polymethoxylated flavonoids. *Tetrahedron* 2004; **60**: 2647–2655.
132. Horie T, Tsukayama M, Yamada T, Miura I, Nakayama M. Three flavone glycosides from *Citrus sudachi*. *Phytochemistry* 1986; **11**: 2621-2624.
133. Al-Ani HAM, Dewick PM. Biosynthesis of the isoflavan isomucronulatol: origin of the 2',3',4'-oxygenation pattern. *Phytochemistry* 1985; **24**: 55-61.
134. Manners GD, Jurd L. Additional flavanoids in *Gliricidia sepium*. *Phytochemistry* 1979; **18**: 1037-1042.
135. Swigar AA, Silverstein RM. Monoterpenes: Infrared, Mass, ¹H NMR and ¹³C NMR Spectra, and Kovats Indices, Aldrich Chemical Company, Inc., Wisconsin., 1981. pp.: 94.
136. Yamamura S, Ozawa K, Ohtani K, Kasai R, Yamasaki K. Antihistaminic flavones and Aliphatic glycosides from *Mentha spicata*. *Phytochemistry* 1998; **48**: 131-136.
137. Jahan N, Ahmed W, Malik A. New Steroidal glycosides from *Mimusops elengi*. *J Nat Prod* 1995; **58**: 1244-1247.
138. Wu B, Takahashi T, Kashiwagi T, Tebayashi S, Kim C-S. New Flavonoid Glycosides from the Leaves of *Solidago altissima*. *Chem Pharm Bull* 2007; **55**: 815-816.
139. Markham KR, Ternai B. ¹³C-NMR of Flavonoids-II. Flavonoids other than Flavone and Flavonol Aglycones. *Tetrahedron* 1976; **32**: 2607-2612.
140. Bisio A, Romussi G, Ciarallo G, Tommasi ND. Flavonoide und Triterpenoide aus *Salvia blepharophylla* Brandegees ex Epling. *Pharmazie* 1997; **52**: 330-331.
141. Güvenalp Z, Özbek H, Ünsalar T, Kazaz C, Demirezer Ö. Iridoid, Flavonoid and Phenylethanoid Glycosides from *Wiedemannia orientalis*. *Turk J Chem* 2006; **30**: 391–400.
142. NIST 05 MS Spectra Revision D.05.01, Willey Registry 7th Edition *Eight Peak Index of Mass Spectra, Monoterpenes ve Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy*, spektroskopi atlasları, Nist-2006.

143. Dini I, Tenore GC, Trimarco E, Dini A. Seven New Aminoacyl Sugars in *Ipomoea batatas*. *J Agric Food Chem* 2006; **54**: 6089–6093.
144. *Biological Magnetic Resonance Data Bank A Repository for Data from NMR Spectroscopy on Proteins, Peptides, Nucleic Acids, and other Biomolecules*
http://www.bmrb.wisc.edu/metabolomics/gen_metab_summary_5.php?molName=sucrose&Choose=Update+Data+Display&spectrum%5B0%5D=bmse000119U1H&peak_list%5B0%5D=bmse000119U1H&spectrum%5B2%5D=bmse000119U13C&peak_list%5B2%5D=bmse000119U13C
145. Ali MS, Ibrahim SA, Jalil S, Choudhary MI. Ursolic Acid: Apotent Inhibitor of Superoxides Produced in the Cellular System. *Phytother Res* 2007; **21**: 558-561.
146. Yin MC, Chan KC. Nonenzymatic Antioxidative and Antiglycative Effects of Oleanolic Acid and Ursolic Acid. *J Agric Food Chem* 2007; **55**: 7177-7181.
147. Yang J, Guo J, Yuan J. In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT-Food Sci Technol* 2008; **41**: 1060-1066.
148. Abraham LCN, Masakuni T, Isao H, Hajime T. Antioxidant flavonoid glycosides from the leaves of *Ficus pumila* L. *Food Chem* 2008; **109**: 415-420.
149. Lagouri V, Blekas G, Tsimidou M, Kokkini S, Boskou D. Composition and antioxidant activity of essential oils from *Oregano* plants grown wild in Greece. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A* Volume 1993; **197**: 20-23.
150. Shui G, Peng LL. An iproved method for the analysis of majpr antioxidants of *Hibiscus esculentus* Linn. *J Chromatography A* 2004; **1048**: 17-24.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Mehmet	Soyadı	Öztürk
Doğ.Yeri	Denizli / Çivril	Doğ.Tar.	16.03.1976
Uyruğu	Türkiye Cumhuriyeti	TC Kim No	4118061882
Email	omehmet@mu.edu.tr	Tel	+905053466097

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Yük.Lis.	Muğla Üniversitesi	2002
Lisans	Akdeniz Üniversitesi	1998
Lise	Muğla Turgut Reis Lisesi	1994

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Araştırma Görevlisi	İstanbul Üniversitesi	2003–2008
2.	Araştırma Görevlisi	Muğla Üniversitesi	1999–2003
3.	Öğretmen	M.E.B.	1998–1999

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	İyi	63,75	
Almanca	Orta	Orta	Orta	-	

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	55,026	52,106	49,186
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office (Tüm Programlarını)	Çok İyi
ChemOffice	Çok İyi
ACD_Labs	Çok İyi

Yayımları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

A. SCI'ye giren Dergilerde Yayımlanan Makaleler

1. Mehmet Emin Duru, **Mehmet Öztürk**, Aysel Ugur, Özgür Ceylan (2004). The Constituents of Essential Oil and In Vitro Antimicrobial Activity of *Micromeria cilicica* from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology* 94(1), 43–48.
2. Ufuk Kolak, **Mehmet Öztürk**, Fevzi Özgökçe, Ayhan Ulubelen (2006). Norditerpene Alkaloids from *Delphinium linearilobum* and Antioxidant Activity. *Phytochemistry* 67(19), 2170-2175.
3. Ayhan Ulubelen and **Mehmet Öztürk** (2006). Alkaloids and Coumarins from *Ruta* Species. *Natural Product Communications* 1(10), 851–857.
4. Gülaçtı Topçu, Abdülislam Ertaş, Ufuk Kolak, **Mehmet Öztürk** and Ayhan Ulubelen (2007). Antioxidant activity tests on novel triterpenoids from *Salvia macrochlamys*. *ARKIVOC* vii, 195–208.
5. Ahmed Kabouche, Zahia Kabouche, **Mehmet Öztürk**, Ufuk Kolak and Gülaçtı Topçu (2007). Antioxidant abietane diterpenoids from *Salvia barrelieri*. *Food Chemistry*, 102(4) 1281-1287.
6. **Mehmet Öztürk**, Fatma Aydoğmuş-Öztürk, Mehmet Emin Duru, Gülaçtı Topçu (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chemistry*, 103(2) 623-630.

7. Gülaçtı Topçu, Mehmet Ay, Ali Bilici, Cengiz Sarıkürkcü, **Mehmet Öztürk** and Ayhan Ulubelen (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry* 103(3), 816-822.
8. Aslı Barla, **Mehmet Öztürk**, Şükran Kültür and Sevil Öksüz (2007). Screening of antioxidant activity of three *Euphorbia* species from Turkey. *Fitoterapia* 78(6), 423-425.
9. Mehmet Ay, Fatemeh Bahadori, **Mehmet Öztürk**, Ufuk Kolak, Gülaçtı Topçu (2007). Antioxidant activity of *Erica arborea*. *Fitoterapia* 78(7-8), 571-573.
10. Volkan Yeşilyurt, Belkıs Halfon, **Mehmet Öztürk** and Gülaçtı Topçu (2008). Antioxidant potential and phenolic constituents of *Salvia cedronella*. *Food Chemistry*, 108(1), 31-39.

B. Yabancı Dilde Kitap İçinde Bölüm Yazarlığı

1. Sevil Öksüz, Aslı Barla, **Mehmet Öztürk** “Biologically active diterpenes from genus *Euphorbia*” Essays On Science, felicitation Volume in honour of Prof. Wolfgang Voelter, Editör; Sadia Rashid, Hamdard Foundation Pakistan, Nazimabad, Karachi–74600, Pakistan, 2006; pp.31–58.

C. Uluslar Arası Kongreler (Proceedings)

1. **Mehmet Öztürk**, Fadim Akay, Mehmet Emin Duru, Gökhan Bilsel, Mansur Harmandar. (2002). “THE VOLATILE OIL CONSTITUENTS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF AERIAL PART OF *INULA HETEROLEPIS* BOISS.” *1st International Congress on the Natural Products* (ICNP 2002) Proceedings of ICNP-2002 – Trabzon/TÜRKİYE, 16-19 October 2002, pp. 298-303.

2. Mehmet Emin Duru, **Mehmet Öztürk**, Mine Bilsel, Deniz KARSLI, Cengiz SARIKÜRKCÜ. (2002). "THE VOLATILE OIL CONSTITUENTS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF AERIAL PART OF *CHENOPODIUM BOTRYS* L." 1st International Congress on the Natural Products (ICNP 2002) Proceedings of ICNP-2002 – Trabzon/TÜRKİYE, 16-19 October 2002, pp. 293-297.
3. Deniz KARSLI, Cengiz SARIKÜRKCÜ, **Mehmet ÖZTÜRK**, Mehmet Emin Duru, Mansur HARMANDAR. (2003). "ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *MARRIBIUM VULGARE* L." 7th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS 7) 24-27 June 2003 Ankara/Turkey. Poster number: P-71, pp: 204.
4. Özlem Usluer, Mehmet Emin Duru, İbrahim Kivrak, **Mehmet Öztürk** and Mansur Harmandar (2004). "THE VOLATILE OIL CONTITUENTS AND ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF AERIAL PARTS OF *SIDERITIS LEPTOCLADA* AND STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS" The 15th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships & Molecular Modelling (Euro-QSAR) 2004, 5-9 September 2004 Istanbul/Turkey. Poster number: B-127, pp: 359.
5. İbrahim KIVRAK, **Mehmet ÖZTÜRK**, Mehmet Emin DURU and Mansur HARMANDAR (2006). "ANTIOXIDANT ACTIVITY OF TWO EDIBLE *OPUNTIA* FRUITS (*Opuntia ficus-indica* and *O. macrocentra*)". 8th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS 8) 13-16 June 2006 Ankara/Turkey. Poster number: P-48, pp: 164.
6. İbrahim KIVRAK, **Mehmet ÖZTÜRK**, Mehmet Emin DURU and Aziz TÜRKOĞLU (2006). "SCREENING OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THREE EDIBLE COMMERCIAL MUSHROOMS (*Morchella conica* var. *conica*, *Lepista nuda* and *Lactarius deliciosus*).". 8th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS 8) 13-16 June 2006 Ankara/Turkey. Poster number: P-47, pp: 163.
7. **Mehmet Öztürk**, Fatma Aydoğmuş Öztürk, Mehmet Emin Duru, Gülaçtı Topçu (2006). "THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF STEAMS AND ROOTS OF RHUBARB: *RHEUM RIBES* L. (IŞKİN): AN EDIBLE PLANT." 8th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS 8) 13-16 June 2006 Ankara/Turkey. Poster number: P-46, pp: 162.

8. Aslı Barla, **Mehmet Öztürk**, Mehmet Boğa, Şükran Kültür and Sevil Öksüz (2006). "THE ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF *EUPHORBIA ACANTHOTHAMNOS*, *E. MACROCLADA*, *E. RIGIDA* FROM TURKEY." 8th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS 8) 13-16 June 2006 Ankara/Turkey. Poster number: P-35, pp: 151.

D. Ulusal Kongreler

1. M. Emin DURU, **Mehmet ÖZTÜRK**, Mansur HARMANDAR, Ahmet ÇAKIR "Micromeria cilicica Hausskn. Ex P.H. Davis Bitkisinin Kimyasal Bileşimleri" XV. Ulusal Kimya Kongresi Boğaziçi Üniversitesi 4-7 Eylül 2001 İstanbul.

2. Melda MAHLIÇLI, M.Emin DURU, **Mehmet ÖZTÜRK**, Deniz KARSLI ve Mansur HARMANDAR "Stachys cretica L. Bitkisinin Uçucu Bileşenleri" XVI. Ulusal Kimya Kongresi Selçuk Üniversitesi 13-16 Eylül 2002 Konya. Sözlü sunum.

3. C. Sarıkürkçü, D. Karşlı, **M. Öztürk**, M. Sökmen, M. E. Duru, M. Harmandar. "Chenopodium botrys L. BİTKİSİNİN TOHUM VE YAPRAKLARININ ANTİOKSİDANT AKTİVİTELERİNİN KİYASLANMASI" XVII. Ulusal Kimya Kongresi İstanbul Üniversitesi 8-11 Eylül 2003 İstanbul. Poster.

4. D. Karşlı, C. Sarıkürkçü, **M. Öztürk**, M. E. Duru, M. Harmandar "Echinophora tenuifolia L. subsp. sibthorpiana (Guss.) Tutin BİTKİSİNİN TOPRAK ÜSTÜ KISIMLARINDAN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARININ VE UÇUCU YAĞININ ANTİOKSİDANT AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ" XVII. Ulusal Kimya Kongresi İstanbul Üniversitesi 8-11 Eylül 2003 İstanbul. Poster.

5. **M. Öztürk**, C. Sarıkürkçü, D. Karşlı, M. E. Duru, M. Harmandar "Inula heterolepis BOISS. BİTKİSİNİN ÇEŞİTLİ ÇÖZÜCÜ EKSTRAKTLARININ ANTİOKSİDANT KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ" XVII. Ulusal Kimya Kongresi İstanbul Üniversitesi 8-11 Eylül 2003 İstanbul. Poster.

6. Ö. Usluer, M. Emin Duru, İ. Kıvrak, **M. Öztürk**, E. Kaya, M. Harmandar “*Salvia potentillifolia* BİTKİSİNİN UÇUCU BİLEŞENLERİNİN KARAKTERİZASYONU ve ANTİOKSİDATİF KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ” XVIII. Ulusal Kimya Kongresi Kafkas Üniversitesi 5–9 Temmuz **2004** Kars, Poster.
7. Ö. Usluer, M. E. Duru, **M. Öztürk**, İ. Kıvrak, M. Harmandar “*Thymus cilicicus* Boiss & Bal. BİTKİSİNİN UÇUCU BİLEŞENLERİNİN KARAKTERİZASYONU VE ANTİOKSİDATİF AKTİVİTESİ” XVIII. Ulusal Kimya Kongresi Kafkas Üniversitesi 5–9 Temmuz **2004** Kars, Poster.
8. Özlem Usluer, M. Emin Duru, **Mehmet Öztürk** “*Sideritis albiflora* Hub.-Mor. BİTKİSİNİN KİMYASAL BİLEŞİMLERİ VE BAZI EKSTRAKTLARININ ANTİOKSİDANT AKTİVİTELERİ” XIX. Ulusal Kimya Kongresi Ege Üniversitesi 30 Eylül - 3 Ekim **2005** Kuşadası. Poster.
9. İbrahim Kıvrak, M. Emin Duru, **Mehmet Öztürk** ve Mansur Harmandar “*Thymus cariensis* Hub.-Mor. & Jalas BİTKİSİNİN DEĞİŞİK ÇÖZÜCÜ EKSTRAKTLARININ ANTİOKSİDANT AKTİVİTELERİ ve UÇUCU BİLEŞENLERİNİN ANALİZLERİ” XIX. Ulusal Kimya Kongresi Ege Üniversitesi 30 Eylül - 3 Ekim **2005** Kuşadası. Poster.
10. Mehmet AY, Fatemeh BAHADORİ, **Mehmet ÖZTÜRK**, Ufuk KOLAK, Gülaçtı TOPÇU. “*ERICA ARBOREA* (FUNDA) ÖZÜTLERİNİN SEKONDER METABOLİTLERİ ve ANTİOKSİDAN ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ” XX. Ulusal Kimya Kongresi Erciyes Üniversitesi 4–8 Eylül **2006** Kayseri. Poster.
11. Temine Şabudak, Ahmet C. Gören, **Mehmet Öztürk**, Ufuk Kolak. "ÜÇ TRİFOLİUM TÜRÜNÜN YAĞ ASİDİ VE BAZI LİPİD BİLEŞİKLERİNİN GC/MS ANALİZİ" XXI. Ulusal Kimya Kongresi Malatya Üniversitesi 23-27 Ağustos **2007** Malatya. Poster.
12. **Mehmet Öztürk**, Mehmet Boğa, Fatma Aydoğmuş-Öztürk ve Ufuk KOLAK. "ADAMOTU (*Mandragora autumnalis*) KÖKÜNÜN ANTİOKSİDAN VE ANTİKOLİNESTERAZ AKTİVİTELERİ AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ" XXI. Ulusal Kimya Kongresi Malatya Üniversitesi 23–27 Ağustos **2007** Malatya. Poster.

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

Balık tutmak

Müzik

Gelişen teknoloji

Kır gezisi yapmak