

***ACTINOLEMA MACROLEMA* Boiss. (APIACEAE)  
UÇUCU YAĞI ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR**

**Gülden Koltuksuz**

Yüksek Lisans Tezi

***ACTINOLEMA MACROLEMA* Boiss.  
(APIACEAE) UÇUCU YAĞI ÜZERİNDE  
ARAŞTIRMALAR**

**Gülden Koltuksuz**

Yüksek Lisans Tezi

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakognozi Anabilim Dalı

Eskişehir, Ocak 2007

**Tez DanıŐmanı: Doç. Dr. Betül Demirci**

## **ÖZGEÇMİŞ**

### **Bireysel Bilgiler**

Adı soyadı : Gülden Koltuksuz  
Doğum tarihi ve yeri : 10 Ağustos 1981, Almanya  
Uyruđu : Türkiye Cumhuriyeti  
Medeni durumu : Bekar  
İletişim adresleri : Kırım cad., Şen apt., D: 4 Eskişehir  
0 542 48 74 102  
gkoltuksuz@anadolu.edu.tr

### **Eğitim Durumu**

Denizli Gazi İlk Öğretim Okulu  
Türk Eğitim Vakfı Anadolu Lisesi  
Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi  
Yabancı dil : İngilizce

## ÖNSÖZ

Tez çalışmam süresince sabır ve anlayışla, beni maddi ve manevi olarak destekleyen, her adımda yanımda olan danışman hocam, Doç. Dr. Betül DEMİRCİ'ye,

Çalışmalarım sırasında tecrübe ve bilgileriyle bana her zaman yardımcı olan Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. K.Hüsnu Can BAŞER'e ve desteğini her zaman hissettiğim hocam Prof. Dr. Neş'e KIRIMER'e,

Bitkisel materyalin toplanması aşamasındaki yardımlarından dolayı Selçuk Üniversitesi Eğitim Fakültesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ahmet DURAN'a,

Deneysel çalışmalarına katkılarından dolayı Doç. Dr. Fatih DEMİRCİ'ye ve Arş. Gör. Gökalp İŞCAN'a,

Tüm çalışmalarım sırasında her türlü manevi desteği gördüğüm Farmakognozi Anabilim Dalı üyelerine,

Spektroskopik ve fizikokimyasal analiz çalışmalarına katkıda bulunan Anadolu Üniversitesi Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi (BİBAM)'ne,

Son olarak eğitim hayatım süresince maddi ve manevi desteği ile her zaman yanımda olan değerli aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## **ACTINOLEMA MACROLEMA Boiss. (APIACEAE) UÇUCU YAĞI ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR**

### **ÖZET**

Bu çalışmada, ülkemizde doğal olarak yetişen, Konya yöresinden toplanmış *Actinolema macrolema* Boiss. yapraklarından ve dövülmüş meyvelerinden su distilasyonu ile uçucu yağ elde edilmiştir. Meyvelerden su distilasyonu ile ilk üç saatte ve ikinci üç saatte olmak üzere iki ayrı uçucu yağ elde edilmiştir. Yağların eş zamanlı olarak gaz kromatografisi ve gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi sistemi ile analizleri yapılarak bileşimleri ortaya konmuştur. Yaprak uçucu yağı için, yağın % 93'üne karşılık gelen 68 bileşik tanımlanmıştır. Meyvelerden elde edilen ilk fraksiyon için yağın % 94'üne, ikinci fraksiyon için ise yağın % 89'una karşılık gelen 33 bileşik tanımlanmıştır. Bu çalışma ile *Actinolema macrolema* Boiss. yaprak ve meyvelerine ait uçucu yağların bileşimi ilk kez ortaya konmuştur.

Uçucu yağdan bileşiklerin izolasyonunda başta kolon kromatografisi olmak üzere kromatografik teknikler uygulanmış, izole edilen bileşiklerin yapı tayinleri spektroskopik yöntemlerle (MS, <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR) gerçekleştirilmiştir.

Uçucu yağdan kolon kromatografisi ile oksijensiz seskiterpen yapısında bileşikler olan gaya-5,7(11)-dien, selina-3,7(11)-dien ve oksijenli seskiterpen yapısında juniper kamfor izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Gaya-5,7(11)-dien bileşiğinin doğadaki varlığı ilk kez bu çalışma ile bildirilmektedir.

Meyvelerden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesi Gram negatif ve Gram pozitif mikroorganizmalara ve *Candida albicans* fungusuna karşı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak incelenmiştir. İlk üç saatte alınan uçucu yağda *Staphylococcus epidermidis*'e karşı kuvvetli inhibisyon tespit edilmiştir. Her iki yağın da, *Candida albicans* fungusuna karşı standart antifungal madde kadar etki gösterdiği görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** *Actinolema macrolema*, uçucu yağ, izolasyon, gaya-5,7(11)-dien, GC/MS, biyolojik aktivite.

**STUDIES ON THE ESSENTIAL OIL OF *ACTINOLEMA MACROLEMA* Boiss.  
(APIACEAE)**

**ABSTRACT**

This work presents the results of studies on essential oils obtained by hydrodistillation in the first three hours and following three hours from crushed fruits of *Actinolema macrolema* Boiss. collected from its natural habitat in Konya. The essential oils were analysed by gas chromatography and gas chromatography/mass spectrometer, simultaneously. 68 components were characterized representing % 93 of the leaf oil. 33 components were characterized representing % 94 of the first fraction and % 89 of the second fraction. To the best of our knowledge, this is the first report on the essential oil of this species.

Isolation of some of the compounds from the oil was carried out using chromatographic and spectral techniques such as MS, <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR.

The following sesquiterpene hydrocarbons, guaia-5,7(11)-dien, selina-3,7(11)-dien ve juniper camphor were isolated from the oils by column chromatography. The occurrence in nature of the compound guaia-5,7(11)-dien is reported for the first time.

Antimicrobial activities are reported for the essential oils on gram negative, gram positive microorganisms and the microfungus *Candida albicans* using microdilution method. The distillation product of first three hours had a strong inhibition on *Staphylococcus epidermidis*. The two essential oils had the same effect on *Candida albicans* as the standart material.

**Key Words:** *Actinolema macrolema*, essential oil, isolation, guaia-5,7(11)-dien, GC/MS, biological activity.

## İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZGEÇMİŞ	i
ÖNSÖZ	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
GİRİŞ ve AMAÇ	1
KAYNAK BİLGİSİ	2
Botanik Özellikler	2
Apiaceae (Umbelliferae) Familyasının Genel Özellikleri	2
Familyanın Botanik Özellikleri	3
<i>Kök, Gövde ve Yapraklar</i>	3
<i>Çiçekler</i>	4
<i>Tohum veya Meyveler</i>	5
<i>Actinolema</i> Cinsi	5
<i>Sistematikteki Yeri</i>	6
Türkiye’de Yetişen <i>Actinolema</i> Türleri	6
<i>Actinolema eryngioides</i> Fenzl	6
<i>Actinolema macrolema</i> Boiss.	6
<i>Actinolema</i> Cinsi ile Yapılmış Çalışmalar	9
UÇUCU YAĞLAR	9
Uçucu Yağların Yapısı	11
Monoterpenler	12
Terpenoitlerin Biyosentezi	12
Seskiterpenler	13
Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri	17
Distilasyon	17
<i>Su Distilasyonu</i>	17
<i>Buhar Distilasyonu</i>	17
<i>Su-buhar Distilasyonu</i>	17
<i>Kuru Distilasyon</i>	18
<i>Hidrodifüzyon</i>	18
Çözücülerle Yapılan Ekstraksiyon	18
<i>Maserasyon</i>	18
<i>Anfloraj</i>	18
<i>Sıcak Yağ ile Ekstraksiyon</i>	18
<i>Organik Çözücü Ekstraksiyonu</i>	18
<i>Sıvılaştırılmış Gazlarla Ekstraksiyon</i>	19
Mekanik Ekstraksiyon	19
<i>Sıkma Yolu ile Mekanik Ekstraksiyon</i>	19
<i>Soğukta Sıkma</i>	19

Uçucu Yağların Kullanım Alanları	19
<b>GEREÇLER ve YÖNTEMLER</b>	21
<b>Kullanılan Bitkisel Materyal, Kimyasal Maddeler ve Aletler</b>	21
<b>Kullanılan Bitkisel Materyal</b>	21
<b>Kimyasal Maddeler ve Çözücüler</b>	21
<b>Aletler</b>	21
<b>Deneysel Çalışma</b>	21
<b>Distilasyon İşlemleri</b>	22
<b>Materyalin Distilasyon İşlemine Hazırlanması</b>	22
<b>Su Distilasyonu</b>	22
<b>Analitik Çalışmalar</b>	23
<b>Yoğunluk Tayini</b>	23
<b>Kırılma İndisi</b>	23
<b>Optik Çevirme</b>	23
<b>Gaz kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi Sistemi (GC/MS)</b>	23
<i>GC Analiz Koşulları</i>	23
<i>GC/MS Analiz Koşulları</i>	24
<b>Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi (NMR)</b>	24
<i>NMR Ölçüm Koşulları</i>	24
<b>Kolon Kromatografisi</b>	24
<b>Analitik İnce Tabaka Kromatografisi</b>	24
<b>Biyolojik Aktivite Çalışmaları</b>	25
<b>Mikroorganizmalar</b>	25
<b>Aktivite Tayini</b>	25
<b>BULGULAR ve TARTIŞMA</b>	26
<b>Uçucu Yağ Elde Edilmesi</b>	26
<b>Su Distilasyonu Sonucu</b>	26
<b>Yoğunluk Tayini Sonucu</b>	26
<b>Kırılma İndisi Değeri</b>	26
<b>Optik Çevirme Değeri</b>	26
<b>Analitik İnce Tabaka Kromatografisi Sonucu</b>	26
<b>Uçucu Yağdan İzole Edilen Maddeler</b>	34
<i>Gaya-5,7(11)-dien</i>	34
<i>Selina-3,7(11)-dien</i>	34
<i>Juniper kamfor</i>	35
<b>Biyolojik Aktivite Sonuçları</b>	52
<b>Distilasyon, İzolasyon ve Yapı Tayini Çalışmalarının Değerlendirilmesi</b>	53
<b>Antimikrobiyal Aktivite Sonuçlarının Değerlendirilmesi</b>	54
<b>SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	55
<b>KAYNAKLAR</b>	57
<b>EK</b>	62



## ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE NO ve ADI	SAYFA
Çizelge 1 <i>Actinolema macrolema</i> Yapraklarından Su Distilasyonu ile Elde Edilen Uçucu Yağın Bileşimi	28
Çizelge 2 <i>A. macrolema</i> Yapraklarından Su Distilasyonu ile Elde Edilen Uçucu Yağ Bileşiklerinin Gruplandırılması	29
Çizelge 3 <i>A. macrolema</i> Meyvelerinden Su Distilasyonu ile İlk ve İkinci Üç Saat Sonunda Elde Edilen Uçucu Yağların Bileşimleri	32
Çizelge 4 <i>A. macrolema</i> Meyvelerinden Su Distilasyonu ile İlk ve İkinci Üç Saat Sonunda Elde Edilen Uçucu Yağ Bileşiklerinin Gruplandırılması	33
Çizelge 5 Meyve Uçucu Yağlarının Fizikokimyasal Özellikleri	33
Çizelge 6 İzole Edilen Maddelere ve Literatürlerde Geçen Benzer Yapıdaki Bileşiklere Ait Proton NMR Değerleri	37
Çizelge 7 İzole Edilen Maddelere ve Literatürlerde Geçen Benzer Yapıdaki Bileşiklere Ait Karbon NMR Değerleri	44
Çizelge 8 <i>A. macrolema</i> Uçucu Yağlarının Mikrodilüsyon Yöntemine Göre Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	52

## ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL NO ve ADI	SAYFA	
Şekil 1	Apiaceae Familyasına Ait Çiçek Şeması	4
Şekil 2	Apiaceae Familyasına Ait Çiçek Diagramı	5
Şekil 3	<i>Actinolema macrolema</i> Boiss. (Tüm Bitki)	8
Şekil 4	<i>A. macrolema</i> Boiss. (Çiçek)	8
Şekil 5	<i>A. macrolema</i> Boiss. (Meyve)	8
Şekil 6	<i>A. macrolema</i> ve <i>A. eryngioides</i> 'in Türkiye'deki Dağılımı	7
Şekil 7	İzopren Türevleri	11
Şekil 8	Terpenoitlerin Mevalonik Asit Yolu ile Biyosentezi	14
Şekil 9	Terpenoitlerin 1-Deoksiksiloz-5-fosfat Yolu ile Biyosentezi	15
Şekil 10	Seskiterpenlerin Biyosentezi	16
Şekil 11	Clevenger Apareyi	22
Şekil 12	<i>A. macrolema</i> Yaprak Uçucu Yağının GC/MS Kromatogramı	27
Şekil 13	1-Oktadekanol'e Ait Kütle Spektrumu	30
Şekil 14	İlk Üç Saat Sonunda Alınan <i>A. macrolema</i> Uçucu Yağının GC/MS Kromatogramı	31
Şekil 15	İkinci Üç Saat Sonunda Alınan <i>A. macrolema</i> Uçucu Yağının GC/MS Kromatogramı	31
Şekil 16	Gaya-5,7(11)-dien'e Ait Kütle Spektrumu	50
Şekil 17	Gaya-5,7(11)-dien'e Ait <sup>1</sup> H-NMR Spektrumu	51
Şekil 18	Gaya-5,7(11)-dien'e Ait <sup>13</sup> C-NMR Spektrumu	51

## SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

$\mu$ l	: Mikrolitre
$\mu$ m	: Mikrometre
$^{13}$ C-NMR	: Karbon-nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
$^1$ H-NMR	: Proton-nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
a/a	: Ağırlık/ağırlık
ATCC	: American Type Culture Collection
brs	: Geniş tek pik
CoA	: Koenzim A
d	: Çift pik (doublet)
dd	: İki çift pik (Double doublet)
ddd	: Üç çift pik
dddd	: Dört çift pik
DEPT	: CH, CH <sub>2</sub> ve CH <sub>3</sub> gruplarının tespit edildiği NMR tekniği
DMSO	: Dimetil sülfoksit
ESOGÜ	: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
eV	: Elektron volt
FID	: Alev iyonlaşma dedektörü
G(-)	: Gram negatif
G(+)	: Gram pozitif
GC	: Gaz kromatografisi
GC/MS	: Gaz kromatografisi / kütle spektrometrisi
HMG	: 3-Hidroksi-3-metil glutaril
hRf	: Hundredth of retention factor
ICBN	: <u>International Code of Botanical Nomenclature</u>
ITK	: İnce tabaka kromatografisi
m	: Çoklu pik (multiplet)
m/z	: Kütle/yük
M <sup>+</sup>	: Molekül ağırlığı
MHA	: Müller Hinton agar
MHz	: Megahertz
MİK	: Minimum inhibe edici konsantrasyon
MVA	: Mevalonik asit
nm	: Nanometre
NRRL	: Northern Regional Research Lab
POCl <sub>3</sub>	: Fosforoksiklorid
ppm	: Milyonda bir kısım
Rf	: Tutunma faktörü
RRI	: Bağlı tutunma indisi
Rt	: Tutunma zamanı
s	: Tek pik (singlet)
SDA	: Sabouraud dekstroz agar
TMS	: Tetrametilsilan
UV	: Ultra viyole



## GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya üzerinde 350.000 cins çiçekli ya da tohumlu bitkinin olduğu bilinmektedir. Ancak bu sayının 750.000'lere çıkabileceği yönünde tahminler yapılmaktadır (Başer, 1999; Başer, 1995a).

Türkiye coğrafi konumu itibarı ile zengin bir bitki örtüsüne sahiptir. Akdeniz, Asya, Avrupa gibi 3 farklı coğrafik alanda ve önemli iklimsel kuşağın ortasında yer alışı, ülkemizi bitki çeşitliliği ve endemik bitkiler açısından zengin bir ülke haline getirmiştir. Türkiye florasında yaklaşık 9.000 tür kayıtlıdır. Bunların ortalama 1000 kadarı ilaç ve baharat ham maddeleridir ve halk arasında özellikle çay veya çeşni olarak kullanılmaktadır. Türkiye florasına ait türlerin % 30'u aromatik bitkilerdir. Batı ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri uçucu yağ içeren bitkilerce zengindir. 1948 ve 1974 Türk kodekslerinde 140 kadar tıbbi bitki kayıtlıdır ancak günümüzde yaklaşık 500 bitki tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır. Avrupa Farmakopesi'nin 5. baskısında 200 civarında bitkisel monograf mevcuttur (Başer, 1995b; Baytop, 1999; Baytop, 1993; Başer, 2006).

İnsanlar yüzyıllardan beri bitkileri çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanmışlar ve başarılı sonuçlar almışlardır. Günümüzde de dünyanın gelişmiş ülkeleri saf, sentetik veya yarı sentetik hammaddelerle üretilmiş ilaçların istenmeyen yan etkilere sahip olması nedeni ile hastalıkların tedavisinde bitkisel kaynaklara yönelmiş durumdadırlar. Tedavide kullanılan ilaçların önemli bir kısmını doğal kaynaklı ilaçlar oluşturmaktadır. Tedavi amacıyla kullanılan ve bilinen tıbbi bitki miktarı 20000 sayısına ulaştığı tahmin edilmektedir. 1980'lerin başında yapılan Dünya Sağlık Örgütü (WHO) araştırmasında, dünya nüfusunun % 80'ninin temel sağlık gereksinimleri için bitkisel ilaçlardan yararlandıkları ortaya çıkarılmıştır. Dünyada yaşam standardı yükseldikçe tüketim de artmaktadır. Bu artış, tıbbi ve aromatik bitkiler için de geçerlidir. Bu bitkilerin tüketim alanı çok geniştir. En önemli kullanım alanları ise ilaç, parfüm, kozmetik, diş macunu, sabun, şekerleme sanayi olup ayrıca çay ve baharat olarak tüketilmektedirler (http-5; Baytop, 1999).

Yapılan kaynak taramalarında ülkemizin doğal aromatik bitkilerinden biri olan *Actinolema macrolema* Boiss. ile yapılmış herhangi bir uçucu yağ çalışmasına rastlanmamıştır. Bu nedenle Konya yöresinden toplanan *A. macrolema* Boiss. yaprak ve meyvelerinden su distilasyonu ile uçucu yağ elde edilmesi, elde edilen uçucu yağların bileşiminin, fizikokimyasal ve antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## KAYNAK BİLGİSİ

### Botanik Özellikler

Ülkemizde Apiaceae (Umbelliferae) familyasının *Actinolema* cinsinin *Actinolema macrolema* Boiss. ve *Actinolema eryngioides* Fenzl olmak üzere 2 türü yetişmektedir. Bu bölümde Apiaceae familyasının genel özellikleri ve *Actinolema* cinsinin botanik özellikleri özetlenmiştir.

### Apiaceae (Umbelliferae) familyasının genel özellikleri

Apiaceae familyasının 16. yy. sonlarına doğru botanikçiler tarafından tanınan ilk çiçekli bitki ailesi olduğu tahmin edilmektedir (Heywood, 1978). Familya Umbelliferae ismini, tüm üyelerinde tipik olan çiçeklerinin şemsiyeyi andıran görünümünden almaktadır. Son dönemlerde ICBN'e göre familya isimlendirmelerine uygun olması için Apiaceae olarak düzeltilmiştir.

Apiaceae, *Conium maculatum* L. (baldran) gibi çok zehirli ve *Petroselinum sativum* Hoffm. (maydanoz), *Daucus carota* L. (havuç), *Cuminum cyminum* L. (kimyon, keraviye) gibi yiyecek ve baharat olarak kullanılan bitkilerin de dahil olduğu, genellikle aromatik bitkileri kapsayan büyük bir familyadır. 450'den fazla cins ve 3600-3700 arasında değişen türe sahiptir (Erdurak, 2003). Ilıman iklimli yüksek kesimlerde yaygın olması ve tropikal bölgelerde sınırlı yetişmesine rağmen dağılımı geniştir. Karakteristik çiçek durumları, meyveleri ve bazı üyelerinin toksisitesi nedeniyle en çok bilinen familyalardan biridir (Heywood, 1978).

Apiaceae, üç altfamilya (Hydrocotyloideae, Saniculoideae ve Apioideae) ve 12 takım olmak üzere sınıflandırılmıştır (Drude, 1897; Downie ve Katz, 1996). En büyük altfamilya olan Apioideae 250 cinse sahiptir ve her iki yarıkürede de bulunur fakat kuzey yarıkürede daha fazla yetişir. Bu altfamilyanın çiçeklerinde, halka şeklindeki bir disk ovaryumun alt kısmını tamamen kuşatmıştır ve yalnız stilus serbest kalmıştır. Meyve endokarpı yumuşak parenkimatik, bazılarında subepidermal dokulu odunsu bitkilerdir. Sadece bu altfamilya birleşik umbel taşır. Apioideae altfamilyası merikarpların ve vittaelerin şekil ve düzenine göre; Echinophoreae, Scandiceae, Coriandreae, Smyrnieae, Apieae, Peucedaneae, Laserpитеae ve Dauceae olmak üzere sekiz takıma ayrılır (Heywood, 1978; Zeybek ve Zeybek, 1994; Rendle, 1930; Nemeth, 1998; Plunkett ve Downie, 1999; Hickey ve King, 1997).

Saniculoideae altfamilyası yoğun çiçek durumu, dişli veya dikenli yapraklarıyla diğerlerinden ayrı bir özellik taşır. Ovaryumun stilus tabanında halka şeklinde belirgin bir disk görülür. Meyvelerin endokarp kısmı yumuşak parenkimatik yapıdadır. Toplam 9 cinse sahiptir ve güneyde daha fazla olmak üzere her iki yarıkürede de yetişir. Saniculeae ve Lagoecieae olmak üzere iki takıma ayrılır. Saniculeae takımına ait *Astrantia maxima* Pall., *Actinolema macrolema* Boiss., *Actinolema eryngioides* Fenzl Türkiye'nin birçok yerinde yetişen bitkilerdir. *Eryngium creticum* Lam. da Doğu ve İç Anadolu bölgeleri dışındaki bölgelerde çok rastlanan bir türdür (Heywood, 1978; Zeybek ve Zeybek, 1994; Rendle, 1930; Nemeth, 1998; Plunkett ve Downie, 1999; Hickey ve King, 1997).

Hydrocotyloideae altfamilyası ise 34 cinse sahip olmakla beraber baskın şekilde güney yarıkürede bulunur. Yaprakları tam kenarlı ve peltat, meyve endospermi odunlaşmış, karpaforu çatallı olmayan bitkilerdir. Bu altfamilya Hydrocotyleae ve Mulineae olmak üzere 2 takıma ayrılır. Hydrocotyleae takımına ait olan *Hydrocotyle ramiflora* Maxim. yurdumuzda Kuzeydoğu Anadolu'da doğal olarak yetişmektedir (Heywood, 1978; Zeybek ve Zeybek, 1994; Rendle, 1930; Nemeth, 1998; Plunkett ve Downie, 1999; Hickey ve King, 1997).

Türkiye'de Apiaceae familyasının 130'u endemik olmak üzere 430 türü kapsayan 100 cinsi bulunur. Türlerin yoğun olarak bulunduğu bölgeler Akdeniz, Doğu Anadolu Bölgesi ve Güneydoğu Anadolu Bölgesidir. Apiaceae türleri zengin uçucu yağ kaynaklarıdır ve aynı zamanda reçine taşırlar. Meyve, yaprak, kök veya tüm bitki uçucu yağ taşıyabilir. Bazı Apiaceae türleri yemeklerde baharat olarak kullanılmakta ve bu yüzden büyük ölçekte ekimleri yapılmaktadır. Türkiye'de en çok yetiştirilenler *Pimpinella anisum* L. (anason), *Cuminum cyminum* L., *Foeniculum vulgare* Mill. (rezene), *Coriandrum sativum* L. (kişniş)'dir. Kültürü daha az yapılan bitkiler ise *Petroselinum sativum* Hoffm. (maydanoz), *Apium graveolens* L. (kereviz), *Laser trilobum* Borkh. (kefe kimyonu) ve *Anethum graveolens* L. (dereotu)'dur. İhtiyaç fazlası ürün ihraç edilmektedir. Yıllık yaklaşık 16000 ton kimyon, 4000 ton anason, 1700 ton rezene ihracatı yapılmaktadır (http-9; Baytop, 1999; Çağın, 2005).

Apiaceae familyasındaki çoğu bitki biyolojik aktiviteye sahiptir. *Conium maculatum* alkaloidlerinden dolayı çok toksik bir bitki olmakla birlikte, sedatif, antispazmotik ve ağrı giderici etkiye sahiptir. *Amni visnaga* L.'nin (dişotu) taşıdığı kelin maddesi koroner damarlar üzerinde antispazmotik bir etki yaptığından anjina pektorisine karşı kullanılır. *Pimpinella anisum* sinirleri yatıştırır, yorgunluğu giderir, uyku verir. Nefes darlığı ve bronşitte görülen şikayetleri giderir, öksürüğü keser. Meyveleri ayrıca rakı yapımında kullanılır. Anason gibi *Foeniculum vulgare*, *Cuminum cyminum*, *Coriandrum sativum* da iştah artırır, mide ve bağırsak gazlarını söktürür, hazmı kolaylaştırır. Halk arasında, *Daucus carota* gibi östrojenik özellikli olanların doğum kontrolünde kullanıldığı bildirilmiştir. Anason, kimyon, havuç gibi bitkiler aynı zamanda afrodisyak etkilidir. *Daucus carota*, *Apium graveolens* var. *rapaceum* (kereviz), *Petroselinum sativum*, *Anethum graveolens*, *Cuminum cyminum*, *Carum carvi* L. (Frenk kimyonu) bu familyanın sebze ve baharat olarak kullanılan başlıca bitkileridir. Familyadaki bazı türler aynı zamanda reçine kaynağıdır. *Ferula asafoetida* Karst. (şeytanotu) ve *Ferula galbaniflua* Boiss. (kasnı) bunlara örnek olarak verilebilir. (http-1; Baytop, 1996; Tanker ve ark., 2004; Zeybek ve Zeybek, 1994, Heywood, 1978).

## **Familyanın botanik özellikleri**

### ***Kök, gövde ve yapraklar***

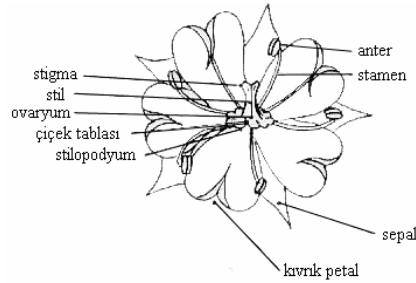
Bitkiler tek yıllık, iki yıllık ya da çok yıllıktır. Genellikle yumuşak gövdeli olmasına rağmen ömürlerine göre kalın gövdeli hatta odunsu gövdeli olabilir. Tropik bölgelerde çalı benzeri türler de görülebilir. Bazı türler dikenlidir. İnternodyumlarının içi boştur, bazen tırmanıcıdır. Yapraklar alternan, genellikle parçalı ya da pennattır ve stipula yoktur. Bazen karşılıklı veya halka şeklinde dizilmiştir. Stipula sadece Hydrocotyloideae altfamilyasında bulunur. Petiol

genellikle büyükçe, tabanda okrealıdır. *Hydrocotyle* ve *Azorella* gibi bazı cinslerde yapraklar tamdır, paralel damarlanma göstermeleri nedeniyle monokotilleri andırabilirler. Bazı türlerde de mavi renkte olabilirler (Heywood, 1978; http-2; Davis, 1972a; Rendle, 1930; Nemeth, 1998).

### Çiçekler

Çiçekler şemsiyeye benzer demetler halinde gelişir. Çiçek durumu genellikle birleşik umbella, *Hydrocotyle* ve *Astrantia* gibi cinslerde nadiren basit umbelladır. Bazen *Hydrocotyle* ve *Azorella*'nın bazı türlerinde olduğu gibi umbella modifiye olmuş ve tek çiçek haline indirgenmiş olabilir. Karakteristik umbella basık tepeli bir çiçek durumudur. Çiçeklerin aynı noktadan çıkan değişik uzunlukta saplara (pedisel) sahip olması nedeniyle yandan bakılınca bitkinin tepesi dümdüz görünür. Brakte ve brakteol var veya yoktur, sayısı ve büyüklüğü değişir. Brakteler umbellerin taban kısmında involukrumu oluşturur. Brakteoller ise pedisellerin tabanında involuseli oluştururlar. Genellikle basit umbellanın tabanında bir involusel ve birleşik umbellanın tabanında bir involukrum bulunur. Çiçekler aktinomorfik, epigin, hermafrodit veya tek eşeyli nadiren dioiktir. Sepaller yoktur ya da çok küçüktür bazen farklı boyutlarda olabilir. Her çiçek tipik olarak 5 petal ve 5 serbest stamen, çoğunlukla indirgenmiş, küçük veya eksik kaliks taşır. Petaller genellikle tepede geriye kıvrık, eşit boyda veya dıştakiler içtekilerden daha uzun, beyaz, sarı, sarımsı yeşil, açık mavi veya pembe renklindedir ve çok nadir kokuludurlar. Bunun yanında bütün bitki böcekleri çekmek amacıyla hafif kokuludur. Bir veya iki karpel, genellikle sarkık ovüller, her gözde birer ovül ve 2 stilus taşır. Stilus tabanları ovaryumun tepesini örten ve stilopodyum adını taşıyan etli birer yastık şeklinde şişkindir. Genellikle renkli, nektar salgılayan, şişkin tabanlı stiluslar familyanın karakteristik özelliğindedir. Bir umbelladaki çiçekler, dıştaki çemberden içeriye doğru sırayla açarlar. Dıştaki çiçekler bazen şekil ve büyüklük bakımından farklı olurlar. *Daucus carota* L., *Turgenia latifolia* Hoffm., *Artedia squamata* L. türlerinde gözlenen bu durum böcekleri kendine çekerek tozlaşmaya yardımcı olur. Ayrıca *Eryngium* ve *Bupleurum* cinslerinde olduğu gibi brakteler genişleyebilir ve renklenebilirler. Umbellaların çoğunda stamenler pistilden önce olgunlaşır ancak *Hydrocotyle* ve *Sanicula* gibi cinslerde pistiller stamenlerden önce olgunlaşır. **Şekil 1**'de Apiaceae familyasına ait çiçek şeması, **Şekil 2**'de ise çiçek diagramı verilmiştir (Heywood, 1978; http-2; Davis, 1972a; Baytop, 1993; Baytop, 1996; Seçmen ve ark., 2004; Rendle, 1930).

Çiçek formülü: a.  $S_5 P_5 A_5 G_{(2)}$  (Zeybek ve Zeybek, 1994; Rendle, 1930)



**Şekil 1. Apiaceae Familyasına Ait Çiçek Şeması (http-6)**





Şekil 2. Apiaceae Familyasına Ait Çiçek Diagramı (http-7)

### ***Tohum veya meyveler***

Apiaceae familyasında tohum meyve ile ayrılmayacak şekilde birleşmiştir. Bu yüzden bu familyanın meyveleri tohum olarak da anılır. Tohumlar cins ve türlere göre çok çeşitli şekillerde ve boyda olabilir. Meyve bir septumla 2'ye ayrılan kuru bir şizokarptır, birer tohum taşıyan ve ikiye çatallanan ortak ince bir sapla (karpofor) bir müddet beraber yetişen ve olgunlukta ayrılan 2 merikarpa sahiptir. Merikarplar birbiri ile dümdüz bir yüzey ile birleşir. Merikarp tüylü veya tüysüz, küçük pulsu kabarcıklı, pürüzlü veya dikenlidir. Dış yüzeyi biri sırtta ikisi yanda ve ikisi birleşme yüzeyinde olmak üzere beş tane çıkıntıya sahiptir (kosta); bunların arasında da dört tane vlekulum adı verilen girinti bulunur. Hepsi meyvenin tabanından stilus ucuna doğru uzunlamasına yer alır. Her kosta içinde bir iletim demeti ve her vlekulum içinde bir veya daha çok sayıda salgı kanalı veya tüm meyve salgı, yağ veya reçine kanalları taşır. Apiaceae familyasında yağ taşıyan kanallara vittae adı verilir. Bazı meyvelerde lateral çıkıntılar kanat halinde uzanmıştır. Distilasyon öncesi bu kanalların dövülmek suretiyle parçalanması yağ verimini artırır. Tohumlarda embriyo küçük olup yağ ve alöron taneleri bulunan endosperm ile sarılmıştır. Perikarpta druz tipinde kalsiyum oksalat kristallerine rastlanabilir. Nişasta yoktur (Heywood, 1978; http-9; http-2; Davis, 1972a; Baytop, 1993; Baytop, 1996; Zeybek ve Zeybek, 1994; Rendle, 1930).

### ***Actinolema cinsi***

Tek yıllık, 2-3 ayrı dallı, basit yapraklı bitkilerdir. Brakteoller bütün eliptik, çiçeklerden uzun ve çiçekleri kapatır, zar gibi ve hatta yarı şeffaf, belirgin retikulum ve kalıcıdır. Umbelin merkez çiçeği hermafrodit, sapsız, 3-6 dış çiçek erkek ve pedisellidir. Sepaller kalıcı ve iğnelidir. Petaller beyazımsıdır bazen yeşil veya pembe olabilir. Meyveler uzunca ve yumurta şeklindedir dış yüzeyi pullu ve kabarcıklıdır. Kabarcıkların içinde vittaeler bulunur (Davis, 1972b).

### **Sistematikteki yeri**

- Alem : Plantae  
Bölüm : Magnoliophyta  
Sınıf : Dicotyledones  
Takım : Apiales  
Familya : Apiaceae  
Altfamilya: Saniculoideae  
Cins : *Actinolema*

### **Türkiye’de yetişen *Actinolema* türleri**

#### ***Actinolema eryngioides* Fenzl**

Tek yıllık, otsu bir bitkidir. Gövde fazla ve yayılmış şekilde dallanmıştır, 10-40 cm uzunluktadır. Yaprakları dökülen, eliptik, petiolla gövdeye bağlı, geniş ve düzensiz dişli, 2-8×0.6-2.5 cm’dir. Petiol yapraktan daha küçüktür. Yapraklar alternan, en üsttekiler üçe bölünmüş, 0.5-1 cm’dir. Brakteoller kenarları dikenli, soluk yeşil, bazen mor, 7-15×3-5 mm’dir. Erkek çiçeklerin sapı 4 mm, sepallerin uzunluğu 1 mm’dir.

Meyveler oval merikarplı, olgun dönemde kahverengi, belirgin damarlı ve 3-4 mm uzunluktadır. Ana damarlar şişkin ve pulludur. Epidermis hücreleri kabarcıklı, kutikula kalınlığı 10-15 µm’dir. Mezokarp 2-3 sıralı parenkima hücrelerinden oluşur. Endokarp tek sıra parenkima hücrelerinden oluşur. Vittaeer küçük ve mezokarpta dağılmıştır.

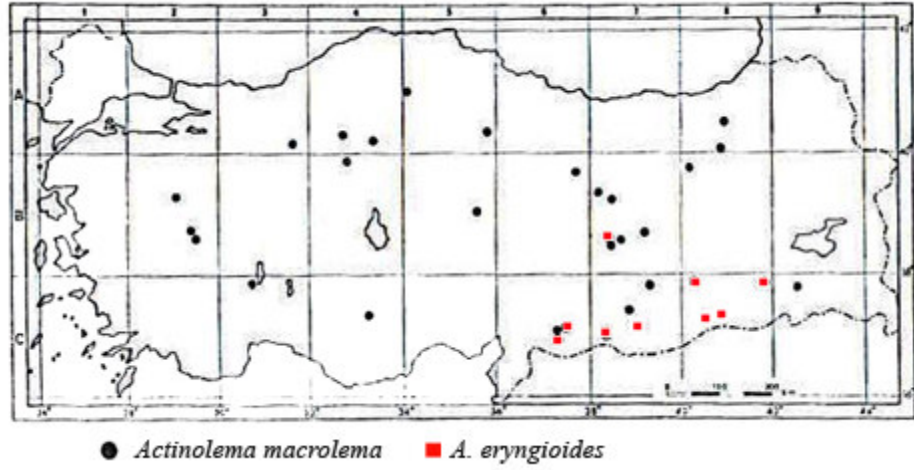
İlk çiçeklenme zamanı Nisan, son çiçeklenme zamanı Haziran’dır. Minimum 500, maksimum 1220 m yükseklikte bulunur. Kuru kayalar, tepe bölgeleri ve tarlalarda yetişir. Türkiye’de Doğu Anadolu Bölgesinde ve Diyarbakır, Gaziantep, Malatya, Şanlıurfa’da yetişmektedir. Ayrıca İran, Kuzey Irak ve Suriye’de yetişmektedir. *A. eryngioides*’in Türkiye’deki dağılımı **Şekil 7**’de verilmiştir (Davis, 1972b; http-3, Drude, 1897; Wörz, 2004).

#### ***Actinolema macrolema* Boiss.**

Tek yıllık, otsu bir bitkidir. 6-20 cm uzunluktaki gövde dallanmıştır. Taban yaprakları dökülen, eliptik, petiolla gövdeye bağlı, geniş ve düzensiz dişli, 2-9×0.6-4 cm’dir. Petiol yapraktan daha küçüktür. Yapraklar alternan, benzer, en üsttekiler helezonik, üçe bölünmüş ya da pennat, dikenli, 1-2.5 cm boyutlarındadır. Brakteoller farklı büyüklükte, kenarları dikenli, yeşil veya beyaz, 12-22×5-8 mm’dir. Erkek çiçeklerin sapı 5-7 mm, sepaller 2-3 mm’dir. Bitkiye ait resimler **Şekil 3** ve **Şekil 4**’te verilmiştir.

Meyveler oval, damarları belirgin, kahverengi, yaklaşık 7 mm uzunlukta 3 mm genişlikte ve 2 mm kalınlıktadır. Merikarp yüzeyi ana damarlarda pullu şişkin görünümündedir. 2-3 sıra parenkima hücrelerinden oluşan mezokarp, tek sıralı parenkima hücrelerinden oluşan endokarp bulunur. Geniş yağ kanalları damarlarla beraber dağılmıştır. Meyve resmi **Şekil 5**’te verilmiştir.

İlk çiçeklenme zamanı Nisan, son çiçeklenme zamanı Haziran'dır. Minimum 600, maksimum 1900 m yükseklikte bulunur. Kireçli tarla ve bağlarda yetişir. Türkiye'de karasal iklimin görüldüğü yerlerde; Ankara, Erzincan, Erzurum, Gaziantep, Isparta, Kastamonu, Kayseri, Konya, Malatya, Sivas, Tokat, Şanlıurfa, Uşak'ta yetişmektedir. Ayrıca Ermenistan, Kuzeybatı İran, Kuzey Irak ve Suriye'de yetişmektedir. *A. macrolema*'nın Türkiye'deki dağılımı Şekil 6'de verilmiştir (Davis, 1972b; http-3, Drude, 1897; Wörz, 2004).



Şekil 6. *A. macrolema* ve *A. eryngioides*'in Türkiye'deki dağılımı (Davis, 1972a)



Şekil 3. *Actinolema macrolema* Boiss. (Tüm Bitki)



Şekil 4. *A. macrolema* Boiss. (Çiçek)



Şekil 5. *A. macrolema* Boiss. (Meyve)

## **Actinolema Cinsi ile Yapılmış Çalışmalar**

Yapılan kaynak taramasında *Actinolema macrolema* ve *A. eryngioides* meyvelerinin sabit yağ bileşimleri ve protein içeriklerinin incelendiği tespit edilmiştir.

Kleiman ve Spencer'in (1982) yaptıkları çalışmada *A. eryngioides* meyvelerinde sabit yağ içeriği % 40.40 a/a olarak belirtilmiştir. GC analizi sonucunda sabit yağların, hekzadekanoik asit (16:0) = palmitik asit % 3.8, oktadekanoik asit (18:0) = stearik asit % 0.6, 6-oktadekanoik asit (18:1Δ6c) = petroselinik asit % 59.6, 9-oktadekanoik asit (18:1Δ9c) = oleik asit % 21.5, oktadekadienoik asit (18:2) % 13.8 oranında olduğu tespit edilmiştir. Bu türe ait meyvelerin protein içeriği ise % 16.8 a/a olarak belirtilmiştir.

Yine aynı çalışmada, *A. macrolema* meyvelerindeki sabit yağ içeriği % 34.6 a/a olarak belirtilmiştir. GC analizi sonucunda sabit yağların, hekzadekanoik asit (16:0) = palmitik asit % 6.6, oktadekanoik asit (18:0) = stearik asit % 1.7, 6-oktadekanoik asit (18:1Δ6c) = petroselinik asit % 43.7, 9-oktadekanoik asit (18:1Δ9c) = oleik asit % 26.9, oktadekadienoik asit (18:2) % 18.9 oranında olduğu tespit edilmiştir. Bu türe ait meyvelerin protein içeriği ise % 17.5 a/a olarak belirtilmiştir (Kleiman ve Spencer, 1982).

Barclay ve Earle (1974) çeşitli familyalar ve türler üzerine yaptıkları çalışmada *A. macrolema* meyveleri için sabit yağ içeriğini % 48.4 a/a olarak bildirmişlerdir.

## **UÇUCU YAĞLAR**

Uçucu yağlar aromatik bitkilerden veya bitkisel droglardan elde edilen uçucu koku bileşiklerinin oluşturduğu homojen karışımlardır. Açıkta bırakıldıklarında oda sıcaklığında bile buharlaşabildiklerinden “uçucu yağ”, “eterik yağ” ya da “esans” gibi isimlerle anılırlar. Oda sıcaklığında sıvıdırlar fakat bazen donabilirler. Sabit yağlardan farklı olarak, bir filtre kağıdına damlatılıp bekletildiklerinde leke bırakmazlar. Kendilerine has koku, tat, renk ve görünümüne sahiptirler (Tanker ve Tanker, 1985; Başer, 2006).

Uçucu yağ taşıyan bitkiler daha çok sıcak iklim kuşaklarında yetişmektedir. Türkiye’yi de içine alan Akdeniz Bölgesi uçucu yağ taşıyan bitkiler açısından en zengin bölgelerden biridir (Tanker ve Tanker, 1985).

Çoğu uçucu yağlar çok sayıda bileşiğin karışımından oluşurlar. Bu yüzden kimyasal bileşimleri oldukça karmaşıktır. Uçucu yağlar genellikle hidrokarbonlar ve hidrokarbonların oksijenli türevlerinden meydana gelirler. Bu türevler arasında alkoller, asitler, esterler, aldehitler, ketonlar, fenol ve fenol eterleri, kinonlar, laktonlar, furan türevleri, oksitler, aminler ve kükürtlü bileşikler de yer alır. Uçucu yağlarda bulunan maddelerin çoğu terpen kökenlidir. Terpenoitler izopren türevleri olup, uçucu yağlarda mono, seski, diterpenler ve bunların oksijenli türevlerine rastlanır. Daha yüksek moleküllü olanlara reçine, lateks vb. formlarda çeşitli bitkilerde rastlanmaktadır. Uçucu yağlar glikozit halinde veya reçinelerle (oleorezin) ve zamkla (oleogummirezin) birlikte bulunabilirler (Başer ve ark., 2005; Başer, 2006; Guenther, 1948).

Uçucu yağlar genellikle suda az, etanol, benzen, eter, petrol eteri gibi organik çözücülerde ve sabit yağlarda çok çözümlenirler. Sulu etanolde çözümlenme uçucu yağları sabit yağlardan ayıran özelliklerden biridir ve belli derecedeki etanolde çözümlenlik oranı da uçucu yağların saflık kontrolünde yararlanılan özelliklerindedir. Yağların hacim olarak ne miktarda sulu etanolde berrak olarak çözümlendiği farmakopelerde belirtilmiştir. Karanfil, tarçın esansları hariç sudan hafiftirler. Suyla karışmadığından suyun yüzeyinde toplanırlar. Ancak bileşimlerdeki oksijenli bileşiklerin bir kısmı suda çözümlenirler. Bu özelliklerine dayanılarak aromatik sular hazırlanabilmektedir (Başer ve ark., 2005; Tanker ve Tanker, 1985).

Uçucu yağların kırılma indisleri yüksek olup çoğunluğu optikçe aktiftir. Spesifik çevirmeleri uçucu yağ tanımayaya yardımcı olur. Kırılma indisinde ve polarize ışığı çevirme derecesinde oluşan değişimler uçucu yağın saflığının bozulduğunu gösterir. (Demirçakmak, 1994; Tanker ve Tanker, 1985).

Bitkilerin uçucu yağ bakımından zengin olan kısımlarının başında çiçekli dallar gelir. Ayrıca yapraklar, meyveler, meyve kabukları, tohumlar, gövde ve dal kabukları, rizomlar, kökler bitkinin en fazla uçucu yağ taşıyan kısımlarıdır. Bitkinin bağlı olduğu familyaya göre salgı tüylerinde, salgı kanallarında, salgı ceplerinde veya salgı hücrelerinde bulunurlar. Bazen Piperaceae familyasında olduğu gibi değişikliğe uğramış parenkima hücrelerinde veya gülde olduğu gibi epiderma ve parenkima hücrelerinde dağılmış halde bulunurlar.

Uçucu yağın bitkide doğrudan doğruya protoplazmada olduğu ya da hücre çeperinin reçinemsî tabakasının dekompozisyonu ile olduğu ileri sürülmektedir. Bazen de glikozitlerin hidrolizi ile oluşurlar (Tanker ve Tanker, 1985; Baytop, 1986; Demirçakmak, 1994).

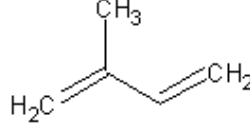
Bitkide herhangi bir biyolojik olaya katılmayan bu salgı maddelerinin hangi amaçla olduğu tam olarak bilinmemektedir. Ancak, bitkinin artık metabolizma ürünlerinin atılmasında rol oynadıkları yani detoksifikasyon ürünü oldukları ileri sürülmektedir. Bitki için gerekli oksijeni sağlarlar. Uçucu yağların yaydıkları koku ile böcekleri cezbederek tozlaşmaya yardımcı olduğu, böcekleri kaçıracı etkide olanların ise bitkinin korunmasında etkili olduğu düşünülebilir. Ayrıca uçucu yağ taşıyan bitkilerin genellikle Akdeniz ve step iklimleri gibi sıcak iklimlerde fazla yetişmesi nedeniyle uçucu yağın bitkinin üzerindeki havayı bağlayarak fazla su kaybını önlediği düşünülmektedir (Tanker ve Tanker, 1985; Baytop, 1986; Demirçakmak, 1994).

Uçucu yağlar parfümeride, aromaterapide, kozmetikte, tütsü olarak, yiyecek ve içeceklerin tatlandırılmasında, tıpta ve ev temizlik ürünlerinde kullanılır. Bu yağlar koku ve tat endüstrileri için değerli bir konuma sahiptir. Eczacılıkta, ilaçların koku ve tatlarını düzeltici olarak kullanılırlar.

Uçucu yağlar genellikle renksizdir nadiren renkli olabilirler. Uzun süre bekletildiklerinde oksitlenebilir, reçineleşebilir ve renkleri koyulaşabilir. Bu nedenle serin ve kuru bir yerde, iyi kapalı renkli şişelerde saklanmalıdırlar (Tanker ve Tanker, 1985).

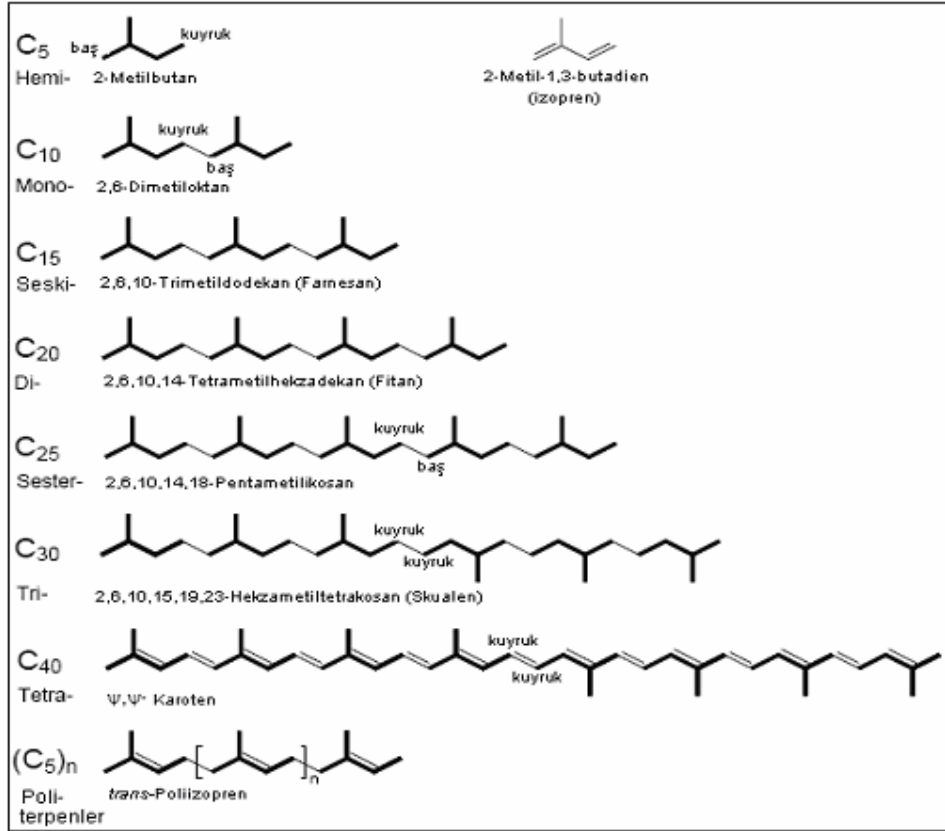
## Uçucu yağların yapısı

Uçucu yağlar genellikle terpenoit kökenli hidrokarbonlar ve bunların oksijenli türevlerinden meydana gelmişlerdir. Terpenler, izopren ( $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$ ) molekülünün kondensasyonu ile meydana gelir.



İzopren

On karbonlu terpenlere monoterpen adı verilir. 15 karbonlu terpenik bileşikler seskiterpen, 20 karbonlular diterpen, 25 karbonlular sesterpen, 30 karbonlular triterpen ve çok sayıda izoprenin kondensasyonu ile meydana gelen terpenler ise politerpen adını almaktadır. İzopren türevlerinin yapıları **Şekil 7**'de verilmiştir. Turunçgil kabuklarında bulunan limonen, çam yapraklarında ve zambındaki  $\alpha$ -pinen monoterpenlerin en çok tanınanlarıdır. Seskiterpenlerden ise kereviz yağının taşıdığı  $\beta$ -selinen, ardıç ve sedir yağındaki kadinen ve vadi zambağından elde edilen farnesol en yaygın bilinenlerdir.  $\beta$ -karoten en çok bilinen diterpendir. (Tyler ve ark., 1988; Heath, 1981; Tanker ve Tanker, 1985; http-8).



Şekil 7. İzopren Türevleri (Breitmaier, 2006)

Terpenler uçucu yağın bileşiminde yüksek oranda yer tutarlar. Ancak uçucu yağın kokusundan ve tadından bu maddeler sorumlu değildir. Kokudan sorumlu olan maddeler daha çok oksijenli bileşiklerdir. Uçucu yağlarda çoğu kez monoterpen yapısında olan maddelerle bazı seskiterpenlere rastlanmaktadır. Bunun nedeni bu yapıların uçucu karakterde olmasıdır. Seskiterpenlerin bir kısmı ile diterpen, triterpen ve politerpenler uçucu olmayan bileşiklerdir. Bunlar bitkideki uçucu yağ içinde erimiş olarak bulunurlar ancak su buharı ile sürüklenemediklerinden elde etme sırasında uçucu yağa geçmezler (Tanker ve Tanker, 1985).

Uçucu yağların soğutulunca çöken kısmına stearopten, sıvı halde kalan kısmına elaopten adı verilir. Çöken kısım daha az uçucu özellikte olan oksijenli türevlerdir. Uçucu yağların birden fazla maddeden oluşması nedeniyle aynı yağ değişik amaçlarla kullanılabilir. Yağın bileşimindeki terpenik ve aromatik etken maddeler ayrılıp ilaç etken maddesi olarak kullanılmaktadır. Etken maddeler uçucu yağın genellikle stearopten kısmında bulunmaktadır (Tanker ve Tanker, 1985).

### **Monoterpenler**

Monoterpenler iki izopren ünitesinden oluşan  $C_{10}H_{16}$  molekül formülüne sahip bileşiklerdir. Bitki aleminde yaygın olarak bulunurlar. Parfümeride ve gıda maddelerinde koku verici olarak kullanılırlar.

Monoterpenler asiklik ya da siklik yapıda olabilirler. Asiklik monoterpenlerde halka yoktur ve üç çifte bağ taşırlar. Monosiklik monoterpenler bir halka ve 2 çifte bağ taşırlar. Bisiklik monoterpenler iki halka bir çifte bağ taşırlar. Trisiklik monoterpenler üç halka taşır ve çifte bağları yoktur (Demirçakmak, 1994; http-1).

### **Terpenoitlerin biyosentezi**

Terpenoitlerin biyosentezi 5 karbonlu izopentenilpirofosfat ve allilik izomeri dimetil allil pirofosfat'ın kondensasyonu ile gerçekleşir. Bu prekürsörler bitkilerde birbirinden farklı ve bağımsız iki biyosentetik yolla meydana gelirler. İzopentenilpirofosfatı oluşturan sitosolik yolak, klasik mevalonik asit aracılığıyla terpenoitlerin oluşumuna yol açar.

Mevalonik asit aracılığıyla terpenoitlerin biyosentezi asetil-CoA ile başlar. İki molekül asetil-CoA birleşerek asetoasetil-CoA'yı oluşturur. Bu yapıya üçüncü molekül asetil-CoA eklendiğinde ise 3-hidroksi-3-metil glutaril-CoA oluşur ve bu molekülden meydana gelen mevalonik asit biyosentezin öncü maddesidir. Lösinden izo-valeril CoA sentezlenmesiyle de mevalonik asit oluşabilir (Demirçakmak, 1994; http-8; Dewick, 2002).

Bir sonraki aşama, enzimatik fosforilasyon tepkimeleri ile MVA-5-fosfat ve MVA-5-pirofosfat oluşumudur. MVA-5-pirofosfat'ın karboksilasyonu ile izopentenil pirofosfat meydana gelir. Bu maddenin dimetilallil pirofosfata denge kontrollü bir reaksiyonla kısmen dönüşmesi sonucu terpenoit biyosentezinin iki ana maddesi sentezlenmiş olur. İki ana bileşiğin birleşme sayısına göre meydana



gelen terpenlerin aralarındaki bağlanma izopentenil pirofosfat izomeraz aracılığı ile yürür (Demirçakmak, 1994; http-8).

Dimetilallil pirofosfatın pirofosfat taşıyan baş kısmı ile izopentenil pirofosfatın kuyruk kısmının birleşmesi ile monoterpenlerin başlangıç maddesi olan geranil pirofosfat oluşur. Bu birleşmeye baş-kuyruk birleşmesi adı verilir.

Monoterpenler geranil pirofosfatın değişik halka yapıları oluşturması veya oksitlenmesi ürünüdürler.

Geranil pirofosfata ikinci bir izopentenil pirofosfatın katılması ile farnesil pirofosfat oluşur. Bu bileşik ise seskiterpenlerin sentezi için başlangıç maddesidir.

Diterpenlerin başlangıç maddesi olan geranil geranil pirofosfat ise farnesil pirofosfata bir izopentenil pirofosfatın katılması ile meydana gelir.

Ayrıca iki farnesil pirofosfatın veya geranil pirofosfatın kuyruk-kuyruk birleşmesi ile triterpen ve tetraterpenler oluşur.

Çok sayıda izoprenoitin kondensasyonu ile de politerpenler meydana gelir. (Demirçakmak, 1994; McGarvey ve Croteau, 1995; Breitmaier, 2006; http-8).

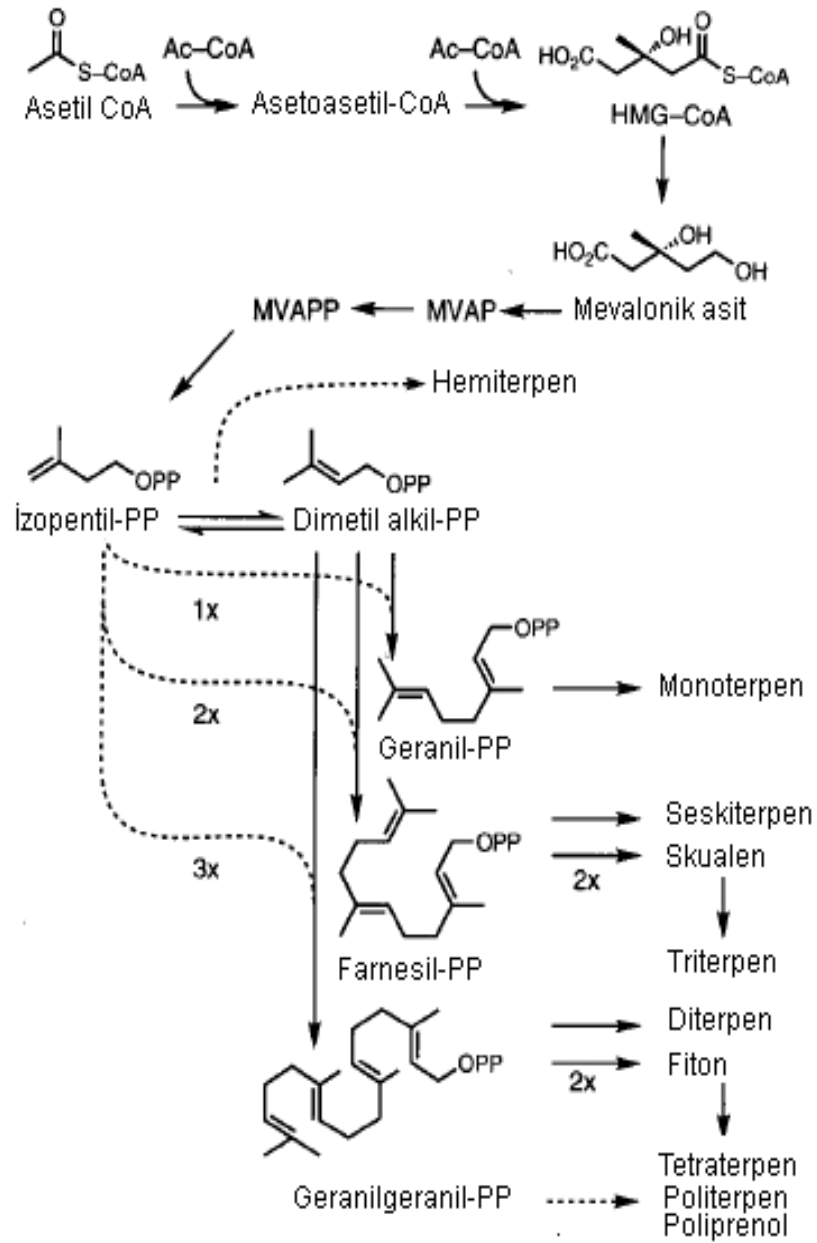
Mevalonik asit aracılığıyla terpenoitlerin biyosentez şeması **Şekil 8**'da verilmiştir.

Birkaç yıl önce keşfedilen plastidik yolak ise, 1-deoksiksüloz-5-fosfat aracılığıyla terpenoitlerin oluşumuna yol açar. Pirüvik asitin gliseraldehit-3-fosfat ile birleşmesiyle 1-deoksi-D-kiloz 5-fosfat oluşur. Deoksiksüloz fosfat bir takım reaksiyonlarla 2-metil-eritritol 4-fosfata dönüşür. Metileritritol fosfatın sitidin trifosfat ile reaksiyonu ve fosforilasyonu sonucu 2-C-metil-D-eritritol 2,4-siklofosfat oluşur. Bu siklofosfat bir takım basamaklar sonucu izopentenil pirofosfata dönüşür. Bu maddenin dimetilallil pirofosfata denge kontrollü bir reaksiyonla kısmen dönüşmesi sonucu terpenoit biyosentezinin iki ana maddesi olan dimetilallil pirofosfat ile izopentenil pirofosfat sentezlenmiş olur (Dewick, 2002; Hoeffler ve ark., 2002; Rohmer, 2003; Rohdich, 2003; Sponsel, 2002).

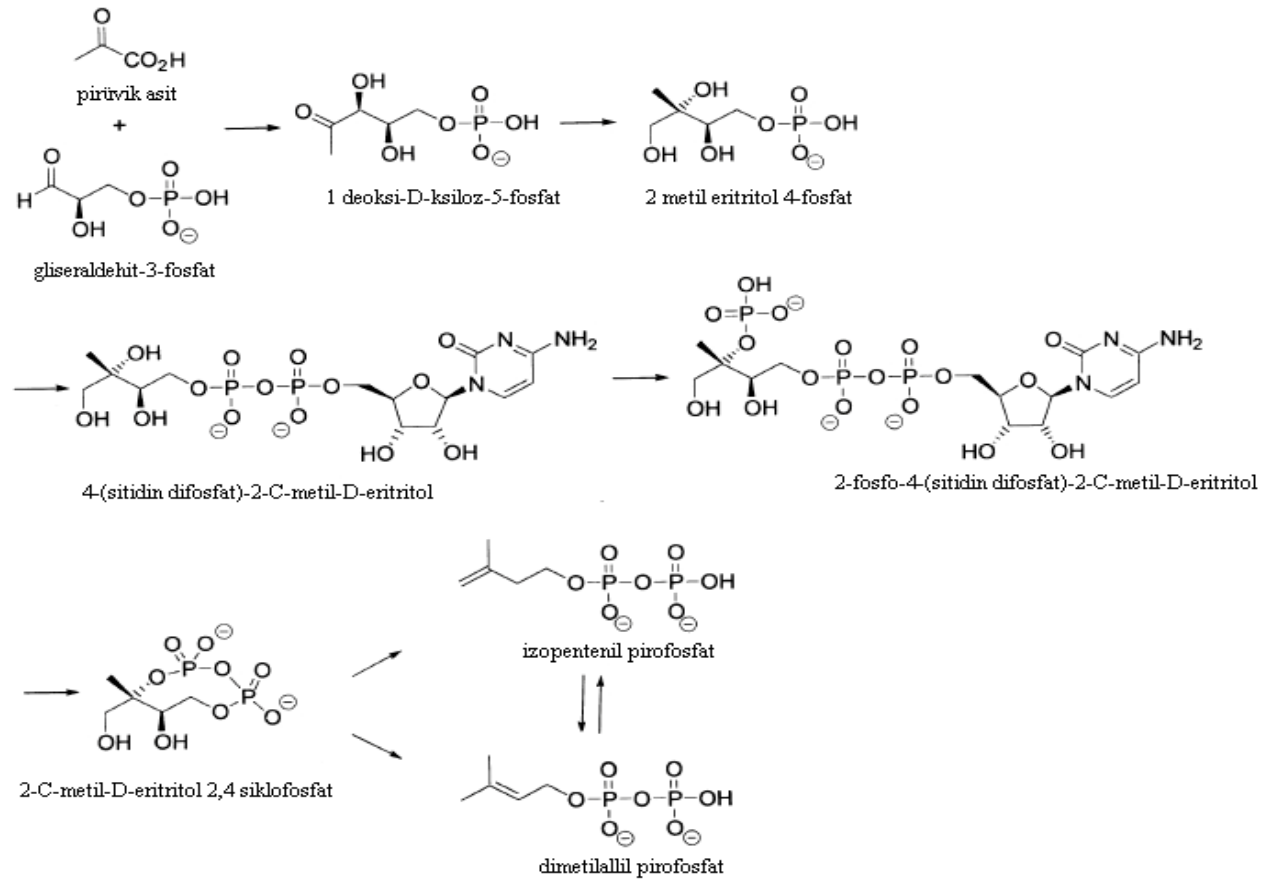
1-Deoksiksüloz-5-fosfat aracılığıyla terpenoitlerin biyosentez şeması **Şekil 9**'da verilmiştir.

### **Seskiterpenler**

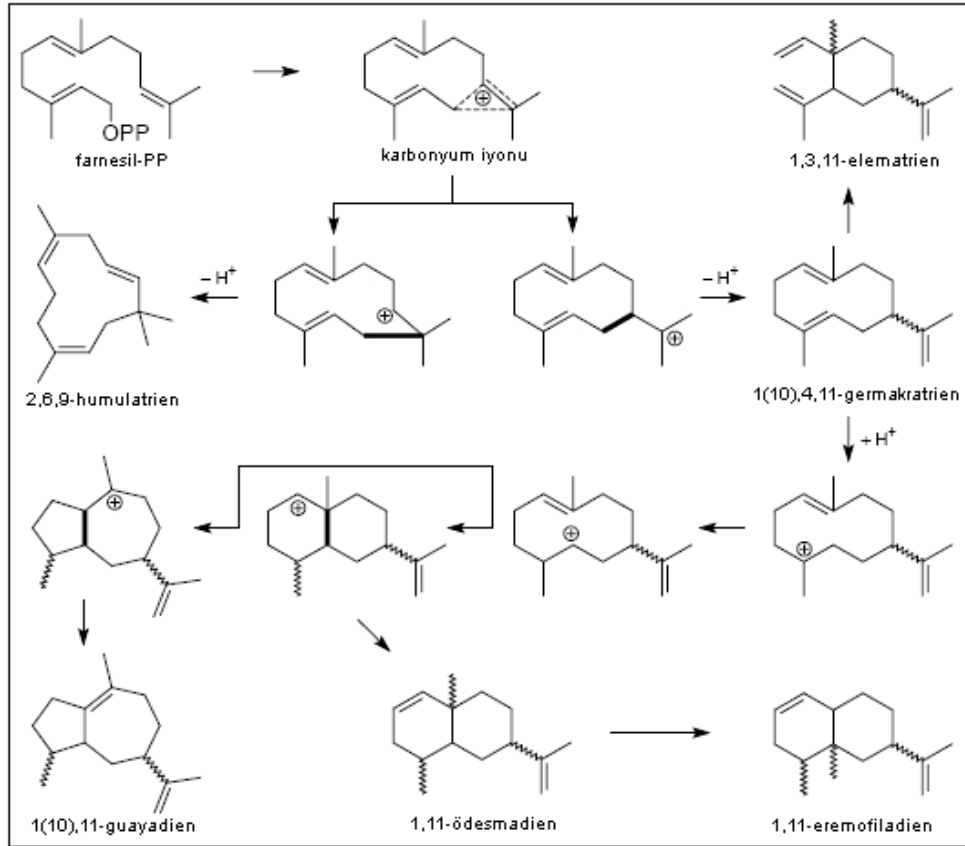
Seskiterpenler üç izopren ünitesinden oluşan  $C_{15}H_{24}$  molekül formülüne sahip bileşiklerdir. Terpenoitlerin en geniş sınıfını oluştururlar. Günümüzde 1000'den fazla seskiterpen bilinmekte ve bunlar 100 farklı karbon iskeleti taşımaktadır. Seskiterpenler özellikle tat ve ilaç bileşeni olarak büyük değeri olan bir gruptur. Bazı seskiterpenlerin farnesil-PP'den biyosentezi **Şekil 10**'da verilmiştir (Demirçakmak, 1994; Connolly ve Hill, 1991; Devon, 1972; Djerassi, 1994a; Djerassi, 1994b; Djerassi, 1994c; Fischer, 1990).



Şekil 8. Terpenoitlerin Mevalonik Asit Yolu ile Biyosentezi (McGarvey ve Croteau, 1995; Dubey ve ark., 2003)



Şekil 9. Terpenoitlerin 1-Deoksiksiloz-5-fosfat Yolu ile Biyosentezi (Hoeffler, 2002; Dewick, 2002)



Şekil 10. Seskiterpenlerin Biyosentezi (Breitmaier, 2006)

## **Uçucu yağ elde etme yöntemleri**

Uçucu yağlar bitkiden ısı ve suya hassasiyetlerine, sudaki çözünürlüklerine ve yoğunluklarına bağlı olarak çeşitli yöntemlerle elde edilebilirler.

Uçucu yağlar genel olarak şu yöntemlerle elde edilir:

### **Distilasyon**

Uçucu yağların elde edilmesinde en çok kullanılan yöntemdir. Isı ile oluşan su buharı ile uçucu yağ sürüklenir. Böylece diğer uçucu olmayan bileşiklerden ayrılır. Su buharı ile sürüklenen yağ soğutucuda yoğunlaşarak toplama kabında yoğunluğuna göre suyun altında veya üstünde birikir.

Distilasyon sonrasında yağın altında biriken suya aromatik su adı verilir. Bu su uçucu yağın yaklaşık % 0.1'ini içinde çözünmüş olarak barındırır. Bitkinin birçok tedavi edici özelliğini taşır, cilt bakımında tonik olarak kullanılır. Dahilen kullanım gibi bazı durumlarda aromatik su saf uçucu yağa tercih edilebilir. Daha seyreltik tedavi gerektiğinde bu aromatik sular kullanılabilir. (Wilson, 1995; Başer, 2006).

### ***Su distilasyonu***

Su distilasyonu kaynatıldığında bozulmayan taze ve kuru bitkisel materyale uygulanabilir. Ester içeren uçucu yağlar için uygun değildir. Taze veya kuru materyal ve su birlikte kaynatılır. Kaynama sırasında su buharı ile sürüklenen uçucu yağ soğutucuda yoğunlaşır toplama kabına geldiği zaman yoğunluk farkından dolayı birbirinden ayrılır. Su distilasyonunda bitkisel materyal her zaman su ile doğrudan temas halindedir (Tanker ve Tanker, 1985; Thapa, 1989; Wijesekera, 1993).

### ***Buhar distilasyonu***

Buhar distilasyonu, distilasyon kazanının dışında bulunan bir buhar jeneratöründe üretilen buharın kazanın içine yerleştirilmiş olan bitkinin içinden geçirilmesiyle uygulanır. Bitkisel materyal buhar girişinin üzerinde yer alan ızgara üzerine yerleştirilir. Kapalı kap içerisinde dışarıdan basınç ile gönderilen su buharı ile uçucu yağ sürüklenip soğutucuda yoğunlaşır. Toplama kabında biriken su ve yağ karışımı yoğunluk farkından dolayı birbirinden ayrılır.

Bu yöntemde buharın hızı ve ısısı kontrol edilebilir. Sıcaklıkla bozulabilen ve kolayca hidrolize olabilen bileşiklere içeren bitkisel materyallere uygulanır. Büyük ölçekte uçucu yağ üretimi için en çok tercih edilen yöntemdir (Thapa, 1989; Wijesekera, 1993; Lawrence, 1995; Boydağ, 2004).

### ***Su-buhar distilasyonu***

Su-buhar distilasyonunda, bitkisel materyal suyun hemen üzerinde bulunan bir ızgara üzerine yerleştirilir. Izgaranın altındaki haznede bulunan su ısıtılarak buhar meydana getirilir. Bu buhar ızgaranın üzerinde bulunan bitkinin içinden geçerek uçucu yağı sürükler. Su distilasyonuna göre daha hızlı ve verimi daha yüksektir (Lawrence, 1995; Boydağ, 2004).

### ***Kuru distilasyon***

Kuru distilasyonda bitkisel materyal doğrudan kuru bir şekilde ısıya maruz bırakılır. Bitki içinde bulunan uçucu maddeler kısmen oldukları gibi, kısmen parçalanarak distile olurlar. Uçucu olmayan maddeler de parçalanarak distile olabilirler. Distilasyon ile ayrılan maddeler soğutucuda yoğunlaştırılır. Bu yöntem ile katran elde edilir (Guenther, 1948).

### ***Hidrodifüzyon***

Bu yöntemde buhar distilasyonundan farklı olarak, buhar kazanın üst kısmından girip bitkisel materyal arasından geçerek aşağı doğru hareket eder. Bitki kazanın içindeki sepete yerleştirilir. Sistemin dışında bulunan buhar jeneratörü sisteme düşük basınçta buhar gönderir. Buharla birlikte sürüklenen yağ kazanın alt kısmındaki soğutucuda yoğunlaşır. Buhar distilasyonuna göre daha yüksek verim elde edilir (Lawrence, 1995; Boydağ, 2004).

### ***Çözücülerle yapılan ekstraksiyon***

#### ***Maserasyon***

Çözücü ile materyalin bir süre temasta bırakılmasıdır. Bitki çözücünün içine küçük parçalar halinde konur. Temas yüzeyi arttıkça verim artar. Ayrıca verimi artırmak için arada karıştırılabilir veya ısı uygulanabilir (dijestiyon). Maserasyon işleminden sonra bitki sıkılarak alınır.

#### ***Anfloraj***

Yasemin, sümbülteper gibi bazı çiçekler az miktarda yağ içerdiklerinden ya da narin yapılarından dolayı uçucu yağları distilasyonla elde edilemez. Bu gibi durumlarda, anfloraj diye adlandırılan zahmetli ve uzun süren işlem uçucu yağ elde edilmesi için kullanılır. Çiçeğin uçucu yağını absorbe edecek olan kokusuz hayvansal yağ cam plakanın yüzeyine sürülür. Çiçekler bu plakanın üzerine yerleştirilir. Yağın mümkün olan en fazla miktarda uçucu yağı absorbe etmesinden sonra, tükenen çiçekler toplanır ve yerine taze olanı konur. Bu işlem hayvansal yağın uçucu yağa doymasına kadar devam eder. Hayvansal yağ sıyrılıp alınır ve etanolle ekstre edilir. Alkolün alçak basınçta uzaklaştırılmasıyla elde edilen ürüne “absolü” adı verilir (Wilson, 1995).

#### ***Sıcak yağ ile ekstraksiyon***

Çiçeklerin fizyolojik aktiviteleri koparma ile durur. Böyle çiçekler 60-70 °C yağa daldırılarak ekstre edilir. Uçucu yağı alınan çiçeklerin yerine yağ doyana kadar tazesini yerleştirilir. Yağ süzülükten sonra elde edilen ürüne pomat adı verilir. Pomatın alkol ile ekstraksiyonu sonucu absolü elde edilir (Guenther, 1948; Boydağ, 2004).

#### ***Organik çözücü ekstraksiyonu***

Isıya hassas veya az miktarda bitkisel materyalde kullanılan bir yöntemdir. Taze bitki saf organik çözücülerle ekstre edilir. Bu işlem için bitki bir kabin içerisinde çözücüyle temas halinde bekletilir. Gerekirse taze çözücü ile işlem tekrarlanır. Bitkinin içindeki uçucu yağ çözücüye geçer. Düşük basınç altında çözücünün uzaklaştırılmasıyla konkret elde edilir. Uçucu yağların diğer uçucu olmayan bileşiklerden ayrılması için sıcak alkol kullanılır. Mumlar ve yağ asitleri

alkolde çözünmediği için ayrılır. Daha sonra ikinci bir distilasyon ile alkol ayrıştırılır ve geriye uçucu yağ kalır. Konkreten sıcak alkolle ekstre edilmesiyle absolü elde edilir.

Çözücü ekstraksiyonu bazı dezavantajlara sahiptir. Çözücünün kalıntıları ürünün içerisinde kalabilir ve yan etkilere neden olabilir. Diğer bir dezavantaj ise çözücünün istenen bileşikler yanında sabit yağları, mum, reçine ve pigmentleri çözmesidir (Wilson, 1995; Thapa, 1989; Wijesekera, 1993).

### ***Sıvılaştırılmış gazlarla ekstraksiyon***

Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu uçucu yağların ekstre edilmesi için gazların aşırı yüksek basınç altında sıvılaştırılmasıyla yapılır. Ucuz, inert olması ve kullanım kolaylığı açısından genellikle karbondioksit kullanılır. Bitkiler paslanmaz çelik bir tank içerisine yerleştirilir ve tankın içerisine karbondioksit enjekte edilerek tank içerisinde basınç yapılır. Yüksek basınç altında, karbondioksit sıvıya dönüşür ve bitkilerden uçucu yağ ekstre etmek üzere bir çözücü gibi davranır. Basınç düşürüldüğünde, karbondioksit geride kalıntı bırakmayacak şekilde tekrar gaz formuna dönüşür.

Karbondioksit ekstraksiyonunda sabit yağlar, mumlar ve pigmentler çözücüde çözünmediklerinden buhar distilasyonuna göre daha temiz yağ elde edilir. Ayrıca ısı uygulanmadığından yağın bozulması söz konusu değildir (Wilson, 1995; Wijesekera, 1993; Lawrence, 1995).

### **Mekanik ekstraksiyon**

#### ***Sıkma yolu ile mekanik ekstraksiyon***

##### ***Soğukta sıkma***

Uçucu yağların elde edilmesinde kullanılan diğer bir yöntem soğukta sıkmadır. Bu yöntem bergamot, greyluft, limon, portakal ve mandalina gibi ısıdan etkilenen narenciye yağlarının elde edilmesi için uygulanır. Narenciye kabuklarından usare ve uçucu yağ üretimi için günümüzde 2 tip ekstraktör kullanılmaktadır. FMC In Line adı verilen ekstraktörde meyvenin alt ve üst kısımları kesilir. Üzerinde delikler olan bir boru meyvenin içine usareyi almak üzere yerleşirken üstten dışa doğru inen bıçaklar kabukları dilimleyerek ayırır. Bu sırada salgı ceplerinin parçalanmasıyla açığa çıkan uçucu yağ etraftan püskürtülen su ile emülsiyon yaparak dış kanaldan sürüklenir. Polisitrus ekstraktörde ise meyveler helezon şeklinde ve rendelerle kaplı ekstraktörün içinde ilerlerken perikarptaki salgı cepleri patlar ve uçucu yağ su ile sürüklenerek toplanır. Her iki yöntemde de elde edilen uçucu yağ-su emülsiyonu santrifüj yardımıyla ayrılır. (http-9).

### **Uçucu yağların kullanım alanları**

Uçucu yağlar çeşitli alanlarda değişik amaçlar için kullanılmaktadır. Uçucu yağ kullanım alanlarına aşağıdaki örnekler verilebilir (http-4; Otte, 1994; Boydağ, 2004; Isman, 2000; Baytop, 1991; Lagouri ve Blekas, 1993; Knobloch ve Strobel, 1993; Tanker ve Tanker, 1985).

Uçucu yağlar insanlarda ve bitkilerde oksijeni hücrelere taşıyıcı bir mekanizma sergilerler. Hücresel düzeyde nutrientlerin asimilasyonuna yardım ederler.

Uçucu yağlar bakterilerle, mantarlarla, parazitlerle, virüslerle savaşır. Kekik yağı fungusit özelliği dolayısıyla bazı mantar hastalıklarında haricen kullanılır.

Uçucu yağlar etkili bir hava saflaştırma sistemi sağlar, havadaki metalik partiküller ve toksinleri arındırır; atmosferik oksijeni artırır; bakteriyel ve diğer mikropların çoğalmasını engelleyen ozon ve negatif iyonları artırır. Uçucu yağlar taze aromatik kokuları ile havaya nüfuz ederken, sigara, küf ve hayvanlar tarafından yaratılmış kokuların yok edilmesine yardım eder

Baharatların içerdiği uçucu yağlar, mide ve bağırsakta sindirim enzimlerinin salınımını artırarak gıdaların sindirimine yardımcı olur. Nane yağı mide salgısını artırır ayrıca anason yağı karminatiftir. Baharatın besinlere verdiği tat ve koku dışında koruyucu bir etkisi daha vardır. Uçucu yağın antiseptik özelliği sayesinde bakterilerin üremesi yavaşlamakta ve besinlerin bozulması gecikmektedir.

Bazı uçucu yağların antiseptik, idrar söktürücü, gaz söktürücü, safra salgısını artırıcı etkileri bilinmektedir. Örneğin ökaliptus yağı solunum antiseptiği olarak kullanılırken, ardıç esansı diüretik ve üriner antiseptiktir. Bir kısmı rubefiyon etkisinden dolayı cilde kan çekicidir.

Kurt düşürücü, yara iyi edici, enflamasyon giderici, adet söktürücü, ağrı kesici, rahatlatıcı, enfeksiyonları önleyici etkilere sahip uçucu yağlar da bulunmaktadır. Kenopod esansı barsak parazitlerinde kullanılır ve papatya esansı antienflamatuar özellik taşır. Sabin yağının ise emenagog etkisi bulunmaktadır. Bazı yağlar böbrek taşlarının düşürülmesinde yardımcıdır.

Uçucu yağların bir kısmı böcekleri uzaklaştırmak için kullanılırlar. Temas veya buharla dezenfeksiyon şeklinde böceklere karşı insektisit etki yaptığı ve bazı önemli bitkisel patojenlere karşı fungusit etkili olduğu gösterilmiştir.

Uçucu yağların taşıdığı fenolik bileşiklerin vücuttaki serbest radikallerin uzaklaştırılmasında rol aldıkları gözlenmiştir. Bu maddelere örnek olarak timol ve karvakrol verilebilir.

Büyük bir kısmı parfümeride koku maddesi olarak kullanılır. Bazı uçucu yağlardan boya hazırlanmasında eritici olarak yararlanılır.

Uçucu yağlardan elde edilen bir çok madde, başka ilaç hammaddesi ya da koku verici maddenin yarı sentez yoluyla elde edilmesinde kullanılır.



## GEREÇLER VE YÖNTEMLER

Bu bölümde, öncelikle çalışmalarımızda kullanılan bitkisel materyal, kimyasal maddeler ve aletler açıklandı ve daha sonra yapılan deneysel çalışmalar hakkında bilgi verildi.

### **Kullanılan Bitkisel Materyal, Kimyasal Maddeler ve Aletler**

#### **Kullanılan bitkisel materyal**

Bu çalışmada kullanılan *Actinolema macrolema* Boiss. bitkisinin çalışılan kısımları 09.07.05 tarihinde Konya – Hadim arası 85. km, 1450 m, nadas bir tarladan toplandı. Bitki örneği Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbariyumu'nda saklanmaktadır (ESSE 14422).

#### **Kimyasal maddeler ve çözücüler**

- *n*-Hekzan (*merck*)
- Dietileter (*merck*)
- Silikajel 60G (*merck* 7734)
- Vanilin sülfürik asit reaktifi
- Anisaldehit sülfürik asit reaktifi
- Etil alkol
- Aseton
- Dötorokloroform
- Dimetilsülfoksit
- Gliserol

#### **Aletler**

- Abbe Refraktometresi, (Shimadzu Bausch & Lomb)
- Polarimetre, (Optical Activity)
- Gaz Kromatografisi, (GC), (Agilent 6890N GC)
- Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi Sistemi, (GC/MS), (Agilent 5975 GC-MSD)
- Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi, (NMR), (Bruker BioSpin GmbH 500 MHz Sıvı NMR Spektrometrisi)
- Drummond Kapileri (Drummond Scientific Co., USA)
- Clevenger Apareyi
- Hazır İTK Plakları (Kiesel gel 60F<sub>254</sub>, Art.5735)
- Ultra Viyole Lambası, (Camag 254-366 nm)

#### **Deneysel Çalışma**

Bu bölümde, *A. macrolema* Boiss. yaprak ve dövülmüş meyvelerinden uçucu yağ elde edilmesi için uygulanan su distilasyonu işlemleri ve elde edilen

yağın özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan analitik çalışmalar ile ayırma kullanılan kromatografik çalışmalar açıklandı.

### Distilasyon işlemleri

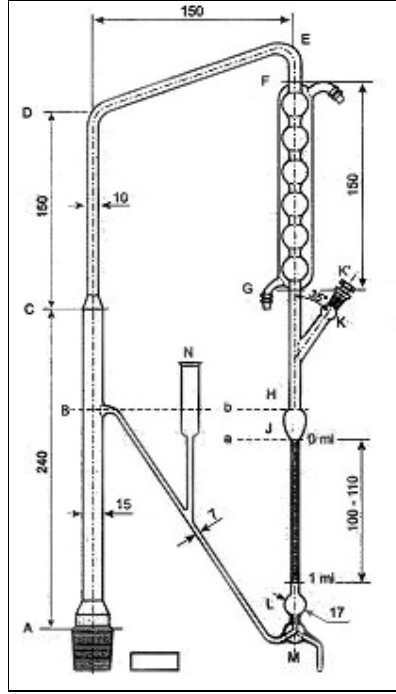
Bitkisel materyalden uçucu yağ elde edilmesi için laboratuvarında Clevenger aparatında su distilasyonu işlemi yapıldı.

### Materyalin distilasyon işlemine hazırlanması

Bitkinin yaprakları küçük parçalara ayrılarak, meyveleri ise tunc havanda dövülerek distilasyon işlemine hazır hale getirildi.

### Su distilasyonu

Laboratuvarında Clevenger aparatında yapılan su distilasyonu işleminde yapraklar için yaklaşık 30 g, meyveler için yaklaşık 70 g materyal 2 litrelik balona doldurulduktan sonra 10 katı kadar distile su ilave edilerek 3 saat süreyle distilasyon işlemi yapıldı. Üç saatin sonunda elde edilen uçucu yağ alınıp distilasyona 3 saat daha devam edildi. Bu süre sonunda alınan yağ ayrı olarak saklandı. Su distilasyonu için kullanılan Clevenger aparatı **Şekil 11**'de gösterilmiştir.



Şekil 11. Clevenger Aparayı (Türk Farmakopesi, 2004)

## **Analitik çalışmalar**

- Yoğunluk Tayini
- Kırılma İndisi
- Optik Çevirme
- Gaz Kromatografisi, (GC)
- Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi Sistemi, (GC/MS)
- Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi, (NMR)

## **Yoğunluk tayini**

Yoğunluk tayini için Drummond kapileri kullanıldı. Kapiler önce boş, sonra distile su ve daha sonra da yağ örneği ile doldurularak tartım alındı. Yağın yoğunluğu **Eşitlik 1**'deki formüle göre hesaplandı.

$$D = (c-a) / (b-a) \quad (\text{Eşitlik 1})$$

**Burada, a: boş kapilerin tartımı (g); b: distile su ile dolu kapilerin tartımı (g); c: yağ örneği ile dolu kapilerin tartımı (g)'dır.**

## **Kırılma indisi**

Uçucu yağın kırılma indisi Abbe Refraktometresi'nden doğrudan okundu.

## **Optik çevirme**

Uçucu yağın optik çevirme açısı **Eşitlik 2**'deki formüle göre hesaplandı.

$$[\alpha]_D^t = \alpha \times 100 / l \times c \quad (\text{Eşitlik 2})$$

**Burada,  $\alpha$ : çevirme açısı; l : örnek tüpünün uzunluğu (dm); c: konsantrasyon (g/100ml); t : sıcaklık; D: polarize ışığın dalga uzunluğudur.**

## **Gaz kromatografisi (GC) ve gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi sistemi (GC/MS)**

Elde edilen uçucu yağların eş zamanlı gaz kromatografisi ve gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi sistemi ile analizleri gerçekleştirildi. GC sisteminde kolonda ayrılan bileşikler FID dedektör ile tespit edilerek bileşiklerin bağıl yüzdeleri belirlendi. GC/MS sistemine ait kolonda ayrılan bileşiklerin kütle spektrometrisi kısmında tek tek kütle spektrumları alındı. Değerlendirme işlemleri "Başer Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi"'nin yanı sıra Wiley GC/MS, Adams ve MassFinder 2.1 Kütüphane Tarama Yazılımları kullanılarak yapıldı (McLafferty ve Stauffer, 1989; Adams, 2001; Joulain ve ark., 2001).

## **GC Analiz Koşulları**

Sistem	: Agilent 6890N GC
Kolon kalınlığı )	: HP-Innowax (60 m x 0.25 mm Ø, 0.25 µm film kalınlığı )
Taşıyıcı Gaz	: Helyum (0.8 mL/dak)
Sıcaklıklar	
Enjeksiyon	: 250 °C

Kolon : 60 °C'de 10 dak., 4 °C /dak. Artışla 220 °C'ye, 220 °C'de 10 dak., 1 °C /dak. artışla 240 °C'ye

Detektör : 300 °C, FID (Alev iyonlaşma dedektörü)

Bağıl tutunma indislerinin (RRI) hesaplanmasında *n*-alkanlar referans olarak kullanıldı.

### **GC/MS Analiz Koşulları**

Sistem : Agilent 5975 GC-MSD

Kolon : HP-Innowax (60 m x 0.25 mm Ø, 0.25 µm film kalınlığı)

Taşıyıcı Gaz : Helyum (0.8 mL/dak)

Sıcaklıklar

Enjeksiyon : 250 °C

Kolon : 60 °C'de 10 dak., 4 °C/dak. artışla 220 °C'ye, 220 °C'de 10 dak., 1 °C/dak. artışla 240 °C'ye

Split Oranı : 40:1

Elektron Enerjisi : 70 eV

Kütle Aralığı : 35-450 *m/z*

### **Nükleer magnetik rezonans spektroskopisi (NMR)**

Yapılan çalışmalarda kolon kromatografisi ile ayrılmış saf maddelerin CDCl<sub>3</sub> 'deki çözeltisinin <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR spektrumları alındı.

### **NMR Ölçüm Koşulları**

Çözücü : CDCl<sub>3</sub>

Referans Pik : TMS

<sup>1</sup>H-Ölçümü : 500 MHz

<sup>13</sup>C-Ölçümü : 125 MHz

### **Kolon kromatografisi**

Kolon Kromatografisi için değişik ebatlarda (48cm×1.2cm, 10cm×1cm) musluklu cam bütetler kullanıldı. Kolon dolgu maddesi olarak silikajel 60G (Art 7734, 0.063-0.200 mm, 70-230 mesh, ASTM) kullanıldı. *n*-Hekzan ile homojen süspansiyon haline getirilen adsorban madde hava boşlukları olmayacak şekilde kolona dolduruldu. Daha sonra yağ numunesi ayrılan bir miktar silikajele iyice emdirilip kolona ilave edildi ve uygun çözücü ile elüsyona başlandı.

### **Analitik ince tabaka kromatografisi**

Alınan fraksiyonları kontrol etmek amacıyla hazır alüminyum İTK plakları kullanıldı. Numune spotlar halinde uygulanıp uygun çözücü içinde developpe edildi. Sürüklenme işlemi bittikten sonra tanktan çıkarılan plaklar oda sıcaklığında kurutuldu. Plak üzerinde oluşan lekeler önce UV lamba altında 254 nm dalga boyunda incelendi. UV absorpsiyonu olmayan maddelerin belirlenmesinde renk reaktifi olarak vanilin sülfürük asit kullanıldı. Reaktif püskürtülen plaklar 100-110

°C lik etüvde ısıtılarak lekelerin renkli hale gelmesi sağlandı. Plak üzerinde belirlenen major bileşiğe ait lekenin Rf değeri ölçüldü. hRf değeri **Eşitlik 3**'e göre hesaplandı.

$$hRf = 100 \times Rf$$

**Eşitlik 3**

**Burada, Rf: maddenin yürüdüğü mesafenin çözücünün yürüdüğü mesafeye (front) oranıdır.**

### **Biyolojik Aktivite Çalışmaları**

Biyolojik aktivite çalışmaları kapsamında elde edilen iki fraksiyona ait yağların farklı mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri test edildi.

### **Mikroorganizmalar**

Değişik kültür koleksiyonlarından (ATCC, NRRL) elde edilen mikroorganizmalar % 10'luk gliserol içinde Eppendorf tüplerinde stok olarak

-85°C'de muhafaza edildi. Deneylemeden önce canlandırmak ve saflık kontrolü için *Candida albicans* petriyelerdeki Sabouraud dekstroz agar (SDA), diğer Gram pozitif (G+) ve Gram negatif (G-) mikroorganizmalar ise Müller Hinton agar (MHA) katı besiyerlerine 37°C'de 24 saat inoküle edildi. Daha sonra bütün mikroorganizmalar çift kuvvet Müller Hinton Broth (MHA) sıvı besiyerlerine aktarılıp tekrar 37°C'de 24 saat daha inkübasyona bırakıldı.

### **Aktivite tayini**

Antimikrobiyal aktivite, *in vitro* mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak yapıldı (Koneman ve ark., 1997; İşcan ve ark., 2002). Uçucu yağ, 2000 µg/ml olacak şekilde dimetil sülfoksit (DMSO)'de çözüldü. Daha sonra numuneler 2 ml'lik Eppendorf mikrotüpler içinde 1.95 µg/ml'ye kadar distile su ile seri olarak seyreltildi ve 100 µl olmak üzere mikropiplara aktarıldı. 96 kuyucuklu mikropipların son sırası mikroorganizma gelişimini görmek üzere sadece distile su ile dolduruldu ve değerlendirme aşamasında pozitif kontrol olarak kullanıldı. Sıvı besi ortamında çoğaltılmış mikroorganizmalar 10<sup>8</sup> koloni oluşturucu ünite/ml olacak şekilde yine çift kuvvet sıvı besi yerinde MacFarland No: 0.5 standardı ile karşılaştırılıp steril ortamda seyreltildi. Mikroorganizmalar 100 µl olmak üzere tüm kuyucuklara ilave edilip 24 saat 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Bulanıklığın çok az olduğu ve üremenin olmadığı ilk kuyucuktaki konsantrasyon, minimum inhibe edici konsantrasyon (MİK) olarak µg/ml cinsinden belirlendi.

## BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu bölümde *Actinolema macrolema* Boiss. yaprak ve iki fraksiyon halinde alınan dövülmüş meyve uçucu yağlarının bileşimlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmaların sonuçları verilmiştir.

### Uçucu Yağ Elde Edilmesi

#### Su distilasyonu sonucu

Clevenger apareyi kullanılarak yapılan su distilasyonu çalışmalarında yapraklardan elde edilen uçucu yağ miktarı çok az olması nedeniyle *n*-hekzanla alındı. Dövülmüş meyvelerden ise su distilasyonu ile ilk 3 saatte % 2 verimle uçucu yağ elde edildi. Distilasyona devam edilmesi sonucu 6. saat sonunda % 0.3 verimle ayrı bir fraksiyon halinde yağ alındı. Elde edilen uçucu yağların üç tekrarlı olarak eş zamanlı GC ve GC/MS kromatogramları ile yaprak uçucu yağının ana bileşiğine ait kütle spektrumu **Şekil 12**, **Şekil 13**, **Şekil 14** ve **Şekil 15**'de verilmiştir. Yaprak uçucu yağı bileşimi **Çizelge 1**'de verilmiştir. Meyvelerden ilk ve ikinci üç saat sonunda elde edilen uçucu yağların üç enjeksiyonu sonucunda tespit edilen bileşiklerin bağıl yüzdeleri ortalama değer şeklinde **Çizelge 3**'de verilmiştir. Aynı zamanda bu değerlere ait standart sapmalar da hesaplanmıştır. Uçucu yağlarda tespit edilen bileşikler **Çizelge 2** ve **Çizelge 4**'de olduğu gibi gruplandırılmıştır.

#### Yoğunluk tayini sonucu

Her iki fraksiyona ait uçucu yağlar için alınan tartımların **Eşitlik 1**'deki formülde yerine konmasıyla elde edilen sonuçlar **Çizelge 5**'de verilmiştir.

#### Kırılma indisi değeri

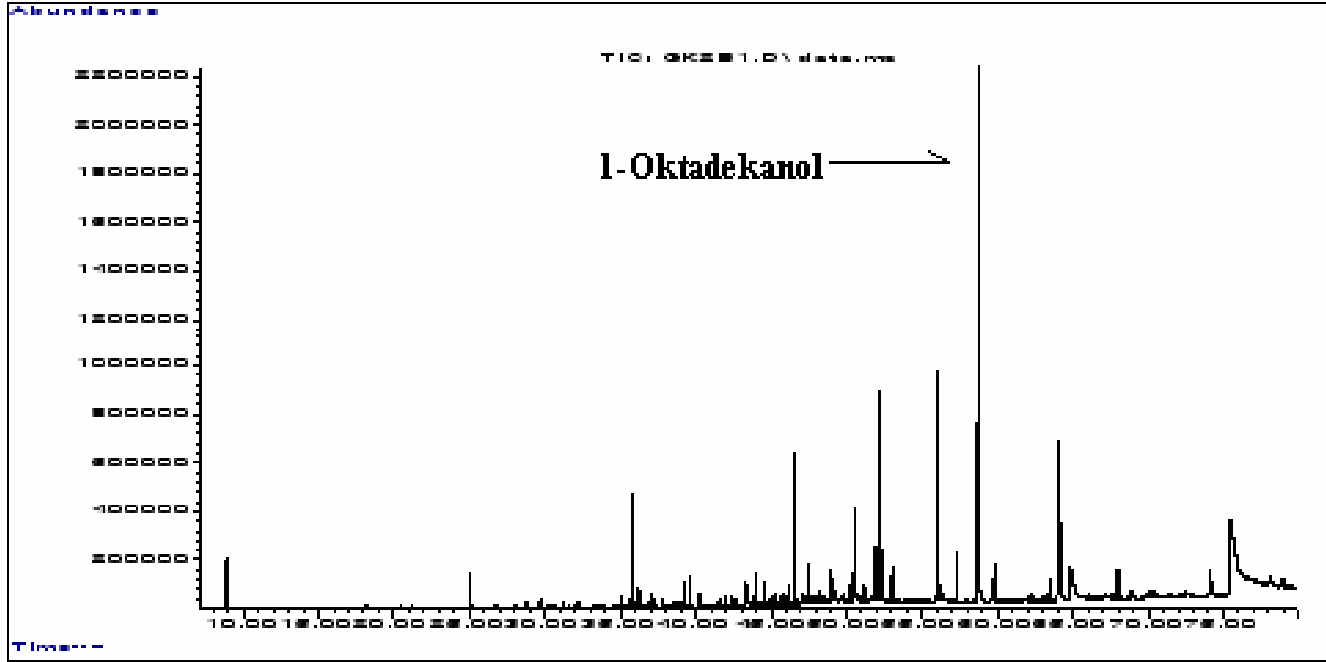
İlk ve ikinci üç saat sonunda alınan uçucu yağların Abbe Refraktometresi'nden okunan kırılma indisi değerleri **Çizelge 5**'de verilmiştir.

#### Optik çevirme değeri

Her iki fraksiyona ait uçucu yağların *n*-hekzan ile hazırlanan % 10'luk çözeltilerinin polarimetrede optik çevirme açıları ölçüldü. Okunan çevirme açısı değerlerinin formülde yerine konmasıyla hesaplanan spesifik çevirme açıları **Çizelge 5**'de verilmiştir.

#### Analitik ince tabaka kromatografisi sonucu

*n*-Hekzanla developpe edilen plaklara vanilin sülfürik asit reaktifi püskürtülüp 100-110 °C'lik etüvde 1-2 dakika ısıtıldı. Gaya-5,7(11)-dien (**1**)'in mor leke verdiği görüldü. Bu bileşik için *R<sub>f</sub>* değeri **Eşitlik 3**'e göre 70 olarak hesaplandı.



Şekil 12. *Actinolema macrolema* Yaprak Uçucu Yağının GC/MS Kromatogramı

**Çizelge 1. *Actinolema macrolema* Yapraklarından Su Distilasyonu ile Elde Edilen Uçucu Yağın Bileşimi**

<b>RRI</b>	<b>Bileşik adı</b>	<b>%</b>
1032	$\alpha$ -Pinen	1.8
1244	2-Pentil furan	0.1
1280	<i>p</i> -Simen	e
1294	1,2,4-Trimetil benzen	0.1
1296	Oktanal	e
1300	Tridekan	0.1
1355	1,2,3-Trimetil benzen	e
1400	Nonanal	1.4
1497	$\alpha$ -Kopaen	0.1
1499	$\alpha$ -Kamfolen aldehit	e
1506	Dekanal	0.1
1528	$\alpha$ -Burbonen	e
1535	$\beta$ -Burbonen	0.2
1549	1-Pentadeken	0.1
1562	Oktanol	0.1
1589	$\beta$ -Yılanen	0.1
1597	$\beta$ -Kopaen	0.1
1612	$\beta$ -Karyofilen	0.1
1655	( <i>E</i> )-2-Dekenal	0.1
1683	<i>trans</i> -Verbenol	0.1
1704	$\gamma$ -Muurolen	0.3
1726	Germakren-D	2.8
1740	Valensen	e
1740	$\alpha$ -Muurolen	0.1
1747	Gaya-5,7(11)-dien	0.5
1755	Bisiklogermakren	e
1763	Naftalen	e
1766	1-Dekanol	0.1
1773	$\delta$ -Kadinen	0.2
1776	$\gamma$ - Kadinen	0.2
1796	Selina-3,7(11)-dien	0.2
1827	( <i>E,E</i> )-2,4-Dekadienal	0.1
1854	Germakren-B	0.7
1868	( <i>E</i> )-Geranil aseton	0.9
1900	Nonadekan	0.2
1941	$\alpha$ -Kalakoren	0.2
1945	1,5-Epoksisalvial-4(14)-en	0.2
1958	( <i>E</i> )- $\beta$ -İyonon	0.2
1973	1-Dodekanol	0.2
2019	2,3,6-Trimetil benzaldehit	1.0
2037	Salvial-4(14)en-1-on	0.7
2053	Germakren-D-1,10-epoksit	0.5
2077	1-Tridekanol	0.1
2100	Heneikosan	0.2



**Çizelge 1. (Devam) *Actinolema macrolema* Yapraklarından Su Distilasyonu ile Elde Edilen Uçucu Yağın Bileşimi**

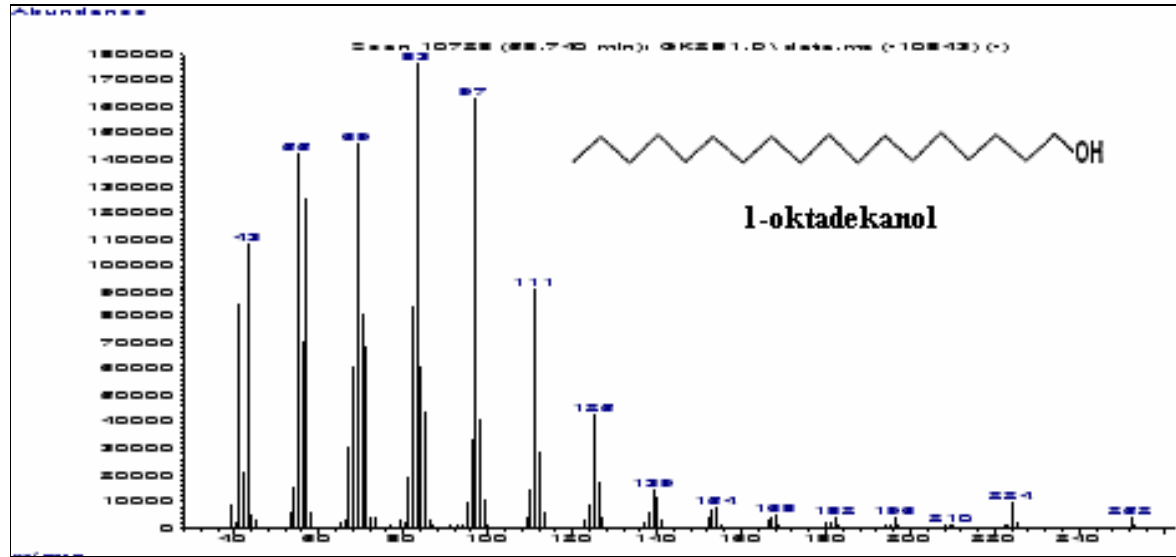
<b>RRI</b>	<b>Bileşik adı</b>	<b>%</b>
2130	Salviadienol	0.5
2131	Hekzahidrofarnesil aseton	3.2
2179	3,4-Dimetil-5-pentiliden-2(5H)-furanon	0.2
2179	1-Tetradekanol	1.0
2200	Dokosan	0.1
2240	1-Metiletil hegzadekanat	0.4
2174	Pentadekanol	0.2
2300	Trikosan	1.9
2369	Ödesma-4(15),7-dien-1β-ol	1.3
2380	Hekzilsinnamik aldehit	0.5
2384	1-Hekzadekanol	5.0
2384	Farnesil aseton	1.2
2400	Tetrakosan	1.4
2500	Pentakosan	8.0
2503	Dodekanoik asit	e
2600	Hekzakosan	0.5
2607	1-Oktadekanol	23.6
2622	Fitol	1.7
2670	Tetradekanoik asit	1.0
2700	Heptakosan	5.8
2794	Eikosanol	1.3
2800	Oktakosan	e
2900	Nonakosan	1.1
2931	Hekzadekanoik asit	19.0
	<b>Toplam</b>	<b>93.1</b>

e : Eser

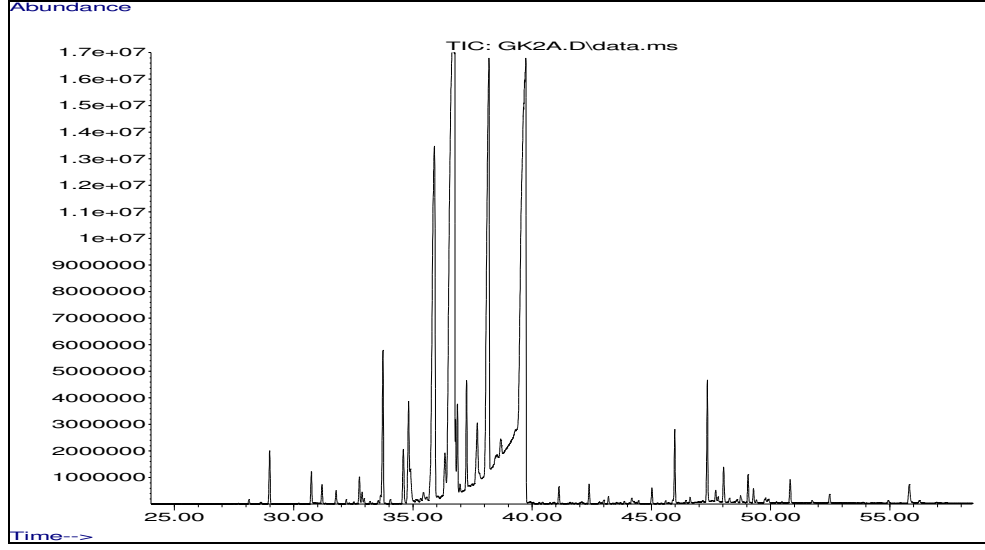
RRI: Bağlı tutunma indisi

**Çizelge 2. *A. macrolema* Yapraklarından Su Distilasyonu ile Elde Edilen Uçucu Yağ Bileşiklerinin Gruplandırılması**

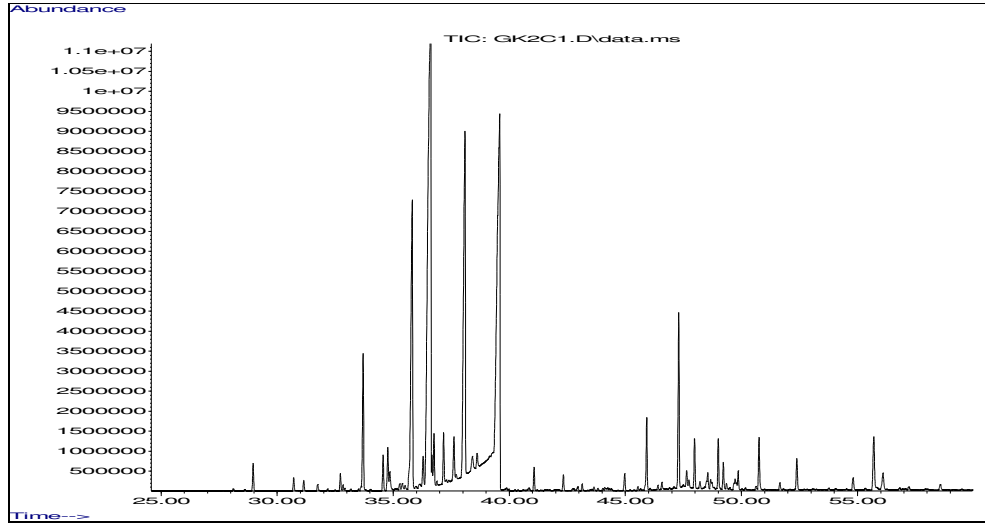
<b>Bileşik Grubu</b>	<b>%</b>
Monoterpen Hidrokarbonlar	1.8
Oksijenli Monoterpen Hidrokarbonlar	0.1
Seskiterpen Hidrokarbonlar	5.8
Oksijenli Seskiterpen Hidrokarbonlar	3.2
Diterpenler	1.7
Alkan ve Alkenler	19.6
Yağ Asitleri ve Esterleri	20.4
Alkoller	31.6
Diğer	5.9



Şekil 13. 1-Oktadekanol'e Ait Kütle Spektrumu



Şekil 14. İlk Üç Saat Sonunda Alınan *A. macrolema* Uçucu yağının GC/MS Kromatogramı



Şekil 15. İkinci Üç Saat Sonunda Alınan *A. macrolema* Uçucu Yağının GC/MS Kromatogramı

**Çizelge 3. *A. macrolema* Meyvelerinden Su Distilasyonu ile İlk ve İkinci Üç Saat Sonunda Elde Edilen Uçucu Yağların Bileşimleri**

<b>RRI</b>	<b>Bileşik adı</b>	<b>A (Od±Std)</b>	<b>B (Od±Std)</b>
1032	α-Pinen	e	e
1093	Hekzanal	e	e
1282	Hekzil asetat	e	e
1327	(Z)-3-Hekzenil asetat	e	e
1400	Nonanal	e	e
1452	1-Okten-3-ol	e	e
1466	α-Kubeben	e	e
1479	δ-Elementen	0.1±0	0.06±0.1
1493	α-Yılanen	e	e
1568	cis-Ödesma-6,11-dien	0.2±0	0.2±0.1
1586	Kaskarilladien	0.1±0	0.1±0
1597	β-Kopaen	e	e
1600	β-Elementen	0.07±0.06	e
1612	β-Karyofilen	e	e
1650	γ-Elementen	5.13±1.5	6.77±0.68
1677	Sibiren	1±0	1±0
1707	δ-Selinen	0.1±0	0.1±0
1718	4,6-Gayadien	10.33±0.58	8.17±0.76
1742	β-Selinen	1±0	1±0
1747	Gaya-5,7(11)-dien (1)	36.6±0.72	30.3±0.53
1751	izo Eremofilen	1±0	1±0
1796	Selina-3,7(11)-dien (2)	11.5±0.5	11.67±0.58
1854	Germakren-B	24.67±1.53	20.67±0.58
2096	Elemol	e	0.1±0
2100	Guayil asetat	1±0	1.2±0.2
2144	Rosifoliol	e	0.1±0
2185	γ-Ödesmol	e	0.1±0
2187	T-Kadinol	1±0	3.33±0.58
2202	1(10),5-Germakradien-4-α-ol	0.37±0.06	1±0
2200	α-Guaiol	0.07±0.06	0.17±0.06
2250	α-Ödesmol	0.23±0.05	1±0
2257	β-Ödesmol	0.1±0	0.63±0.32
2320	Juniper kamfor (3)	0.27±0.06	1.06±0.11
<b>Toplam</b>		94.84	89.73

RRI: Bağlı tutunma indisi

A : İlk üç saatin üç enjeksiyonuna ait ortalama değer ve standart sapma değeri (Od±Std)

B : İkinci üç saatin üç enjeksiyonuna ait ortalama değer ve standart sapma değeri (Od±Std)

e : Eser

**Çizelge 4. *A. macrolema* Meyvelerinden Su Distilasyonu ile İlk ve İkinci Üç Saat Sonunda Elde Edilen Uçucu Yağ Bileşiklerinin Gruplandırılması**

<b>Bileşik Grubu</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
Monoterpen Hidrokarbonlar	e	e
Oksijenli Monoterpen Hidrokarbonlar	e	e
Seskiterpen Hidrokarbonlar	91.8	81.04
Oksijenli Seskiterpen Hidrokarbonlar	3.04	8.69
Diğer	e	e

A: İlk üç saatin sonunda alınan uçucu yağ

B: İlk üç saatin sonunda alınan uçucu yağ

e : Eser

**Çizelge 5. Meyve Uçucu Yağlarının Fizikokimyasal Özellikleri**

<b>Fizikokimyasal Özellikler</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
$d^{25}$	0.8932	0.9108
$[\alpha]_D^{25}$	-20	-10
$[n]_D^{25}$	1.515	1.515

A : *A. macrolema* meyvelerinden su distilasyonu ile ilk üç saat sonunda elde edilen uçucu yağ

B : *A. macrolema* meyvelerinden su distilasyonu ile ikinci üç saat sonunda elde edilen uçucu yağ

d : Yoğunluk

$[\alpha]_D^{25}$ : Spesifik çevirme açısı

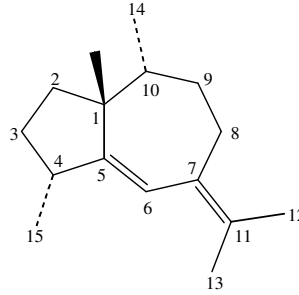
$[n]_D^{25}$ : Kırılma indisi

D : Sodyumun D çizgisi ışığı (589.3 nm)

## Uçucu Yağdan İzole Edilen Maddeler

### *Gaya-5,7(11)-dien (1)*

346 mg uçucu yağın kolon kromatografisinde 48cm×1.2cm boyutlarında büret kullanılarak *n*-hekzan (% 100) çözücü sistemi ile elüe edilmesi ile ayrılan fraksiyonlar hazır plaklara uygulanıp, *n*-hekzan (% 100) çözücü sisteminde develope edildi. UV lamba altında 254 nm'de tek leke ve vanilin sülfürik asit reaktifi ile mor leke veren fraksiyonlar birleştirilip GC/MS analizi yapıldı. Analiz sonunda fraksiyonda, Rt 36.75'de 204 molekül ağırlığına sahip oksijensiz seskiterpen yapısında majör bir bileşik tespit edildi. Bu bileşiği saf olarak elde etmek için bu maddece zengin fraksiyon ikinci bir kolon kromatografisine tabi tutuldu. Bu amaçla musluklu cam büret (10cm×1cm) 3.5 g silikajel 60G (Merck 7734)'in *n*-hekzanla hazırlanan homojen karışımı ile dolduruldu ve 148 mg uçucu yağ fraksiyonu az miktarda silikajele emdirilerek kolon üzerine ilave edildi. *n*-Hekzan ile elüsyona başlanarak yaklaşık 2 ml'lik fraksiyonlar alındı. Alınan fraksiyonlar hazır İTK plaklarına uygulanıp *n*-hekzan (% 100) çözücü sisteminde develope edildi. UV ışık altında 254 nm'de mor leke ve % 5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + % 1 vanilin reaktifi püskürtüldükten sonra ısıtıldığında mor renk veren fraksiyonlar birleştirildi. 2.4 mg saf maddenin proton ve karbon NMR spektrumları alınarak yapı *gaya-5,7(11)-dien* olarak tanımlandı. NMR ölçüm değerleri **Çizelge 6** ve **Çizelge 7**'de verildi. Ayrıca bileşiğin kütle, <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR spektrumları **Şekil 16**, **Şekil 17** ve **Şekil 18**'de verildi.



**Gaya-5,7(11)-dien (1)**

EIMS *m/z*: 204 (M<sup>+</sup>, % 87), 189 (54), 175 (10), **161 (100)**, 149 (30), 133 (36), 119 (12), 105 (15), 91 (11), 79 (22), 63 (13), 55 (15), 41 (20);

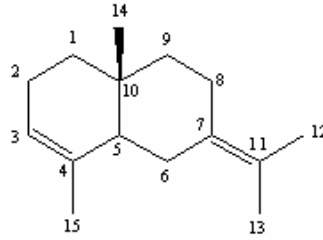
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 6.17 (1H, s, H-6), 2.51 (1H, m, H-4), 1.89 (2H, m, H-8), 1.75 (6H, s, 2×CH<sub>3</sub>, H-12 ve H-13), 1.12 (3H, d, J=7.92 Hz, H-14), 0.93 (3H, d, J=6.66 Hz, H-15);

<sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 151.99 (C-5), 131.35 (C-7), 125.71 (C-11), 49.02 (C-1), 40.27 (C-4), 37.44 (C-3), 36.79 (C-9), 34.19 (C-10), 32.00 (C-2), 29.06 (C-8), 20.80 (C-15), 20.66 (C-14), 20.23 (C-12 ve C-13).

### *Selina-3,7(11)-dien [3,7(11)-Eudesmadiene] (2)*

513 mg uçucu yağın kolon kromatografisinde 48cm×1.2cm boyutlarında büret kullanılarak *n*-hekzan (% 100) çözücü sistemi ile elüe edilmesi ile ayrılan fraksiyonlar hazır plaklara uygulanıp, *n*-hekzan (% 100) çözücü sisteminde develope edildi. UV lamba altında 254 nm'de tek leke ve vanilin sülfürik asit reaktifi ile mor leke veren fraksiyonlar birleştirilip GC/MS analizi yapıldı. Analiz

sonunda fraksiyonda, Rt 38.18'de 204 molekül ağırlığına sahip oksijensiz seskiterpen yapısında bir bileşik tespit edildi. Bu bileşiği saf olarak elde etmek için bu maddece zengin fraksiyon ikinci bir kolon kromatografisine tabi tutuldu. Bu amaçla musluklu cam büret (10cm×1cm) 13 g silikajel 60G (Merck 7734)'in *n*-hekzanla hazırlanan homojen karışımı ile dolduruldu ve 63 mg uçucu yağ fraksiyonu az miktarda silikajele emdirilerek kolon üzerine ilave edildi. *n*-Hekzan ile elüsyona başlanarak yaklaşık 2 ml'lik fraksiyonlar alındı. Alınan fraksiyonlar hazır İTK plaklarına uygulanıp *n*-hekzan (% 100) çözücü sisteminde develope edildi. UV ışık altında 254 nm'de mor leke ve % 5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + % 1 vanilin reaktifi püskürtüldükten sonra ısıtıldığında mor renk veren fraksiyonlar birleştirildi. Saf halde elde edilen 6.4 mg maddenin proton ve karbon NMR ölçümleri yapıldı. MS ve NMR değerlerinin literatür ile karşılaştırılması sonucunda maddenin selina-3,7(11)-dien olduğu belirlendi. NMR ölçüm değerleri **Çizelge 6** ve **Çizelge 7**'de verildi.



**Selina- 3,7 (11)-dien (2)**

EIMS *m/z*: 204 (M<sup>+</sup>, % 64), 189 (27), 175 (5), **161 (100)**, 147 (12), 133 (29), 122 (40), 107 (43), 91 (34), 79 (21), 67 (17), 55 (13), 41 (16);

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.36 (1H, brs, H-3), 1.68 (3H, brs, H-15), 1.59 (6H, s, 2×CH<sub>3</sub>, H-12 ve H-13), 1.28 (2H, t, H-9), 0.90 (3H, s, H-14);

<sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 135.20 (C-4), 131.55 (C- 7), 121.23 (C-11), 119.65 (C-3), 47.09 (C-5), 40.74 (C-1), 37.80 (C-9), 32.34 (C-10), 27.47 (C-8), 25.28 (C-6), 23.03 (C-2), 21.08 (C-14), 20.21 (C-12), 20.10 (C-13), 15.16 (C-15).

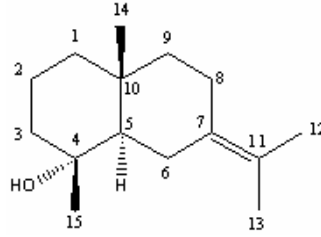
**Juniper kamfor** [7(11)-Eudesmen-4-ol], [7(11)-Selinen-4-ol], (3)

346 mg uçucu yağın kolon kromatografisinde 48cm×1.2cm boyutlarında büret kullanılarak *n*-hekzan-dietil eter (80:20) çözücü sistemi ile elüe edilmesi ile ayrılan fraksiyonlar hazır plaklara uygulanıp, *n*-hekzan -dietil eter (80:20) çözücü sisteminde develope edildi. UV lamba altında 254 nm'de tek leke, vanilin sülfürik asit reaktifi ile mor leke veren ve çözücüsü uçuktan sonra kristal görülen fraksiyonlar birleştirilip GC/MS analizi yapıldı. Analiz sonunda fraksiyonda, Rt 50.81'de 222 molekül ağırlığına sahip oksijenli seskiterpen yapısında bir bileşik tespit edildi. Bu bileşiği saf olarak elde etmek için bu maddece zengin fraksiyon ikinci bir kolon kromatografisine tabi tutuldu. Bu amaçla musluklu cam büret (10cm×1cm) 6.5 g silikajel 60G (Merck 7734)'in *n*-hekzanla hazırlanan homojen karışımı ile dolduruldu ve 60 mg uçucu yağ fraksiyonu az miktarda silikajele emdirilerek kolon üzerine ilave edildi. *n*-Hekzan ile elüsyona başlanarak yağ örneğindeki oksijensiz hidrokarbonlar alındıktan sonra, çözücü polaritesi dietil eterle artırılarak hazırlanan çözücü karışımları ile elüsyona devam edildi.

Elüsyonda kullanılan çözücü sistemleri ve miktarları şu şekildedir.

<u>Çözücü Sistemi</u>	<u>Miktar (ml)</u>
<i>n</i> -Hekzan	10
<i>n</i> -Hekzan : dietil eter, (98:2)	5
<i>n</i> -Hekzan : dietil eter, (95:5)	5
<i>n</i> -Hekzan : dietil eter, (90:10)	5
<i>n</i> -Hekzan : dietil eter, (87:13)	5
<i>n</i> -Hekzan : dietil eter, (85:15)	5
<i>n</i> -Hekzan : dietil eter, (82:18)	10
<i>n</i> -Hekzan : dietil eter, (80:20)	15

Alınan fraksiyonlar hazır İTK plaklarına uygulanıp polaritelerine göre uygun çözücü sistemlerinde develope edildi. UV ışık altında 254 nm’de açık mor-açık gri leke ve % 5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + % 1 vanilin reaktifi püskürtüldükten sonra ısıtıldığında açık gri renk veren fraksiyonlar birleştirildi. MS ve NMR değerlerinin literatür ile karşılaştırılması sonucunda maddenin juniper kamfor olduğu belirlendi. NMR ölçüm değerleri **Çizelge 6** ve **Çizelge 7**’de verildi.



**Juniper kamfor (3)**

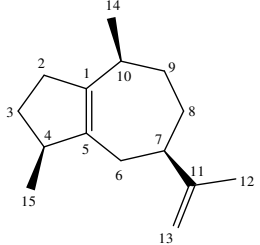
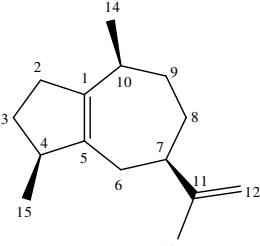
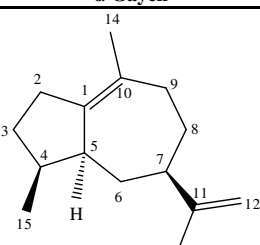
EIMS *m/z*: 222 (M<sup>+</sup>, % 51), 204 (50), **189 (100)**, 161 (49), 148 (17), 135 (44), 121 (35), 105 (32), 93 (40), 81 (56), 67 (29), 55 (30), 43 (62);

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.82 (1H, dd, H-6), 2.50 (1H, dd, H-8), 1.84 (1H, brs, H-8), 1.67 (1H, H-2), 1.58 (6H, s, 2×CH<sub>3</sub>, H-12 ve H-13), 1.41 (1H, m, H-9), 1.35 (1H, m, H-1), 1.27 (1H, d, H-5), 1.16 (3H, s, H-15), 1.07 (1H, d, H-9), 1.03 (1H, m, H-1), 0.98 (3H, s, H-14);

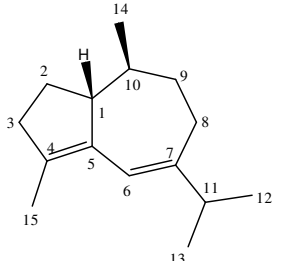
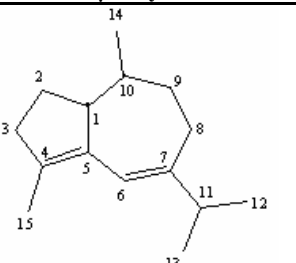
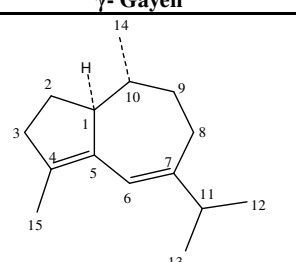
<sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 131.41 (C-7), 120.98 (C-11), 72.32 (C-4), 55.77 (C-5), 45.26 (C-9), 43.59 (C-3), 41.00 (C-1), 34.83 (C-10), 25.46 (C-8), 24.64 (C-6), 22.06 (C-15), 20.21 (C-2), 20.08 (C-12), 20.08 (C-13), 18.09 (C-14).



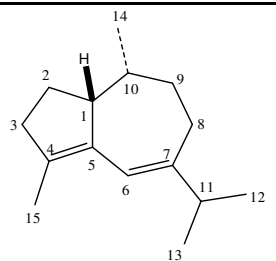
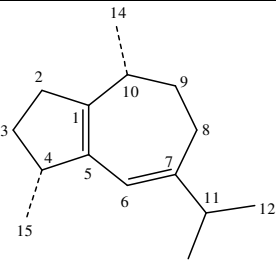
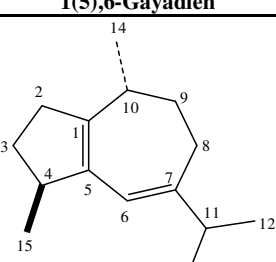
**Çizelge 6. İzole Edilen Maddelere ve Literatürlerde Geçen Benzer Yapıdaki Bileşiklere Ait Proton NMR Değerleri**

Formül	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	H-7	H-8	H-9	H-10	H-12	H-13	H-14	H-15	Lit.
 <p><b><math>\alpha</math>-Gayen</b></p>	2.42 1H, m  2.21 1H, m	1.71 2H, m	2.57 1H, m		2.16 1H, m  2.00 1H, m	2.13 1H, m	1.63 1H, m  1.68 1H, m	1.98 1H, m  1.29 1H, m	2.33 1H, m	1.72 3H, s	4.69 1H, s  4.62 1H, s	0.94 3H, d	1.02 3H, d	Joulain ve König, 1998a
 <p><b><math>\alpha</math>-Gayen</b></p>	2.42  2.21	1.98  1.29	2.57		2.16  2.00	2.13	1.71  1.63	1.68  1.63	2.33	4.69  4.62	1.72	1.02	0.94	Rakotonirainy ve ark., 1997
 <p><b><math>\alpha</math>-Bulnesen</b></p>	2.31  2.20	1.67  1.35	2.11	2.47	1.62  1.03	2.10	1.71  1.26	2.20  2.02		4.64	1.70	1.66	0.90	Rakotonirainy ve ark., 1997

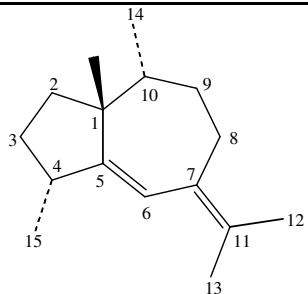
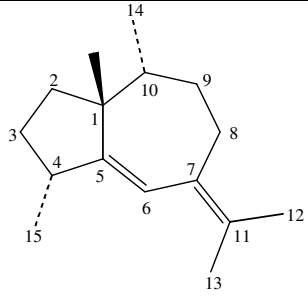
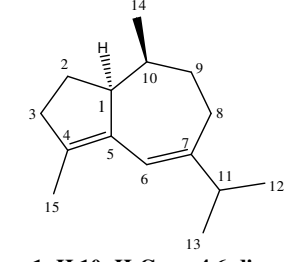
**Çizelge 6. (Devam) İzole Edilen Maddelere ve Literatürlerde Geçen Benzer Yapıdaki Bileşiklere Ait Proton NMR Değerleri**

Formül	H-1	H-3	H-6	H-8	H-9	H-10	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15	Lit.
 <p><b>γ-Gayen</b></p>	2.29 3H, m	2.09 1H, m  2.00 1H, m	6.22 1H, s	1.92 1H, m  1.80 1H, m	1.44 2H, m  1.30 2H, m	1.50 1H, m	2.46 1H, m	1.05 3H, d	1.03 3H, d	0.94 3H, d	1.70 3H, s	Joulain ve König, 1998a
 <p><b>γ-Gayen</b></p>		2.30 m	6.14 brs					1.03 d	1.02 d	0.95 d	1.73 brs	Bohlmann ve Knoll, 1979
 <p><b>4,6-Gayadien</b></p>	3.05 m		6.20 s					1.02 d	1.04 d	0.86 d	1.70 dd	Friedel ve Matusch, 1987

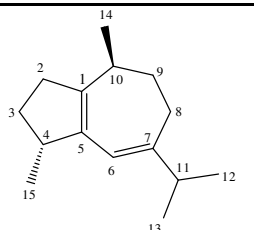
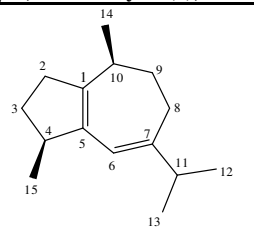
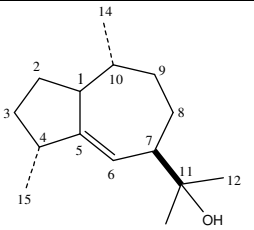
**Çizelge 6. (Devam) İzole Edilen Maddelere ve Literatürlerde Geçen Benzer Yapıdaki Bileşiklere Ait Proton NMR Değerleri**

Formül	H-1	H-2	H-3	H-4	H-6	H-8	H-9	H-10	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15	Lit.
 <p><b>4,6-Gayadien</b></p>	2.44 m				6.18 s					1.03 d	1.04 d	0.94 d	1.69 s	Friedel ve Matusch, 1987
 <p><b>1(5),6-Gayadien</b></p>		2.64 ddd 2.18 m	2.01 dddd 1.39 dddd	2.72 m	5.70 s	2.09 ddd 2.18 ddd	1.75 dddd 1.60 m	2.40 m	2.29 m	1.02 d	1.02 d	1.02 d	1.11 d	Friedel ve Matusch, 1987
 <p><b>1(5),6-Gayadien</b></p>		2.49 ddd 2.32- 2.24 m	2.01 dddd 1.37 dddd	2.73 m	5.72 s	2.13 ddd 2.17 ddd	1.80 dddd 1.58 dddd	2.41 m	2.32- 2.24 m	1.02 d	1.02 d	1.01 d	1.13 d	Friedel ve Matusch, 1987

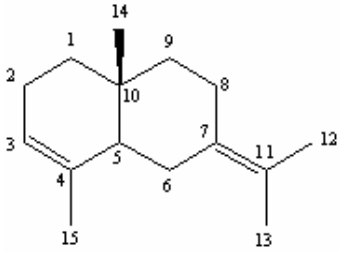
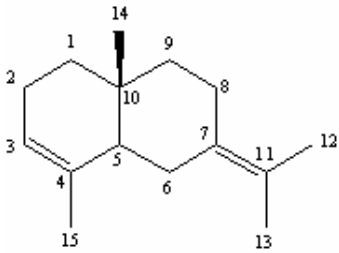
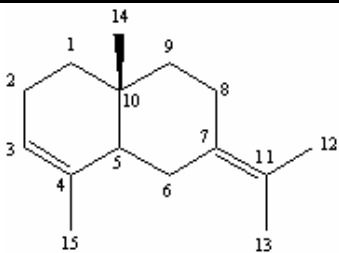
**Çizelge 6. (Devam) İzole Edilen Maddelere ve Literatürlerde Geçen Benzer Yapıdaki Bileşiklere Ait Proton NMR Değerleri**

Formül	H-1	H-2	H-3	H-4	H-6	H-8	H-9	H-10	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15	Lit.
 <p><b>Gaya-5,7(11)-dien</b></p>				2.51 1H, m	6.17 1H, s	1.89 2H, m				1.75 6H, s	1.75 6H, s	0.93 3H, d, J=6.66 Hz	1.12 3H, d, J=7.92 Hz	<b>1*</b>
 <p><b>Gaya-5,7(11)-dien</b></p>				2.90 t	6.13 s	2.29 m				1.69 s	1.73 s	0.80 d, J=7.0 Hz	1.08 d, J=7.04 Hz	Rücker ve Hefendehl, 1978
 <p><b>1αH,10αH-Gaya-4,6-dien</b></p>	2.28 3H, m	1.73 1H, m  1.84 1H, m	2.06 1H, ddd		6.03 1H, s	1.84 2H, m  1.97 2H, m	1.49 2H, m  1.63 2H, m	2.27 1H, m	3.04 1H, m	1.02 3H, d	1.00 3H, d	0.77 3H, d	1.72 3H, s	Joulain ve König, 1998a

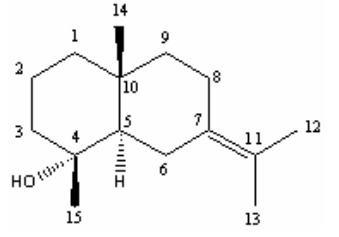
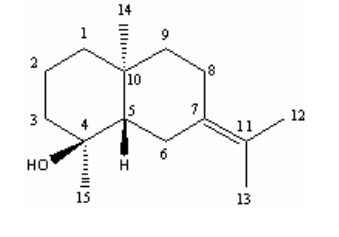
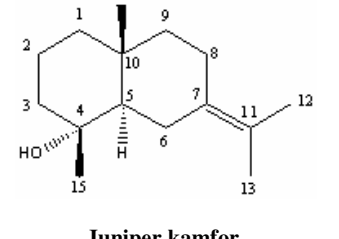
Çizelge 6. (Devam) İzole Edilen Maddelere ve Literatürlerde Geçen Benzer Yapıdaki Bileşiklere Ait Proton NMR Değerleri

Formül	H-2	H-3	H-4	H-6	H-7	H-8	H-9	H-10	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15	Lit.
 <p><b>4βH,10αH-Gaya-1(5),6-dien</b></p>	2.24 2H, m	2.01 1H, m	2.49 1H, ddd	5.74 1H, s		2.17 1H, m	1.58 1H, m	2.41 1H, m	2.73 1H, ddq	1.02 3H, d	1.02 3H, d	1.01 3H, d	1.13 3H, d	Joulain ve König, 1998a
 <p><b>4αH,10αH-Gaya-1(5),6-dien</b></p>	2.29 2H, m	1.75 1H, m	2.64 1H, ddd	5.73 1H, s		2.09 1H, m	1.39 1H, m	2.40 1H, ddq	2.72 1H, m	1.02 3H, d	1.02 3H, d	1.02 3H, d	1.11 3H, d	Joulain ve König, 1998a
 <p><b>Gayen-(5)-ol-(11)</b></p>				5.37 m	3.00 m					1.14 s	1.16 s	0.77 d	1.02 d	Rücker ve Hefendehl, 1978

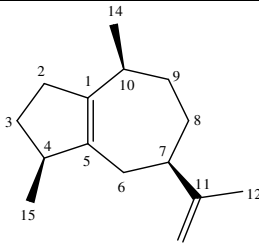
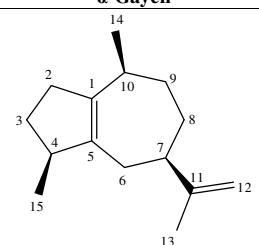
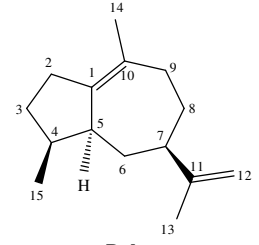
Çizelge 6. (Devam) İzole Edilen Maddelere ve Literatürlerde Geçen Benzer Yapıdaki Bileşiklere Ait Proton NMR Değerleri

Formül	H-1	H-2	H-3	H-5	H-6	H-7	H-8	H-9	H-12	H-13	H-14	H-15	Lit.
 <p>Selina-3,7(11)-dien</p>			5.33 1H, brs						1.68 6H, br s	1.68 6H, brs	0.86 3H, s	1.65 3H, brs	Beek ve ark., 1989
 <p>Selina-3,7(11)-dien</p>			5.33 m						1.67 brs	1.67 brs	0.87 s	1.67 brs	Joulain ve König, 1998b
 <p>Selina-3,7(11)-dien</p>			5.36 1H, brs					1.28 2H, t	1.59 3H, s	1.59 3H, s	0.90 3H, s	1.68 3H, brs	2*

**Çizelge 6. (Devam) İzole Edilen Maddelere ve Literatürlerde Geçen Benzer Yapıdaki Bileşiklere Ait Proton NMR Değerleri**

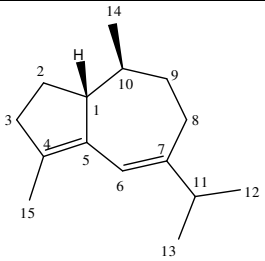
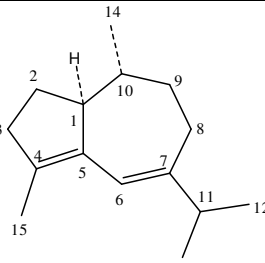
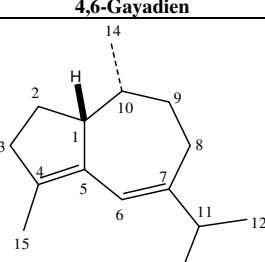
Formül	H-1	H-2	H-3	H-5	H-6	H-8	H-9	H-12	H-13	H-14	H-15	Lit.
 <p><b>Juniper kamfor</b></p>	1.05 1H, m  1.39 1H, m	1.55 2H, m	1.31 1H, m  1.80 1H, dddd	1.14 1H, dd	1.64 1H, m  2.81 1H, ddd	1.89 1H, dd  2.49 1H, dddd	1.10 1H, dd  1.42 1H, m	1.66 3H, q	1.69 3H, q	0.96 3H, s	1.13 3H, d	Bakhtiar ve ark., 2004
 <p><b>Juniper kamfor</b></p>	1.32 m  1.05 m	1.38 m  1.52 m	1.39 m  1.69 m	1.15 dd	1.57 br dd  2.92 ddd	1.88 t  2.48 dddd	1.01 ddd  1.55 ddd	1.62 q	1.64 q	0.96 d	1.07 d	Zhao ve ark., 1997
 <p><b>Juniper kamfor</b></p>	1.03 1H, m  1.35 1H, m			1.27 1H, d	1.67 1H  2.82 1H, dd	1.84 1H, brs  2.50 1H, dd	1.07 1H, d  1.41 1H, m	1.58 6H, s	1.58 6H, s	0.98 3H, s	1.16 3H, s	3*

**Cizelge 7. İzole Edilen Maddelere ve Literatürlerde Geçen Benzer Yapıdaki Bileşiklere Ait Karbon NMR Değerleri**

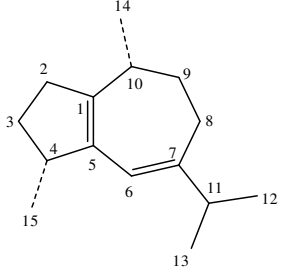
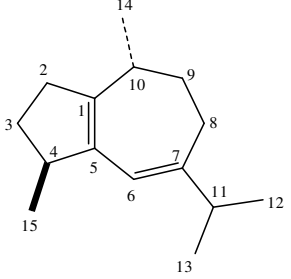
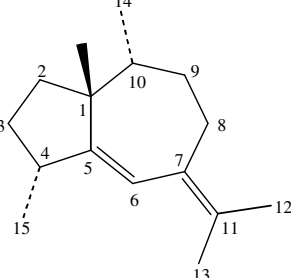
Formül	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Lit.
 <p><b><math>\alpha</math>-Gayen</b></p>	138.67	31.24	31.30	46.64	140.61	36.30	46.69	33.41	33.91	33.95	152.15	20.42	108.04	19.78	18.65	Joulain ve König, 1998a
 <p><b><math>\alpha</math>-Gayen</b></p>	140.6	36.3	31.3	46.6	138.7	33.4	46.7	31.2	34.0	33.9	152.1	108.0	20.4	18.6	19.8	Rakotonirainy ve ark., 1997
 <p><b><math>\alpha</math>-Bulnesen</b></p>	142.0	30.4	33.2	38.9	46.3	32.9	50.9	32.0	33.8	128.8	152.2	108.1	20.9	22.2	15.4	Rakotonirainy ve ark., 1997



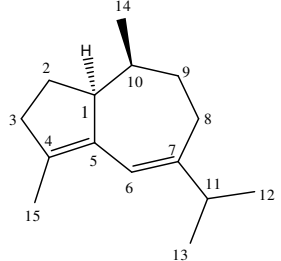
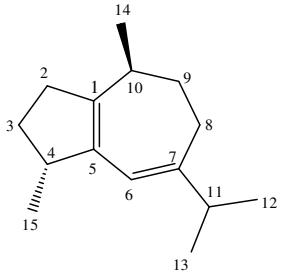
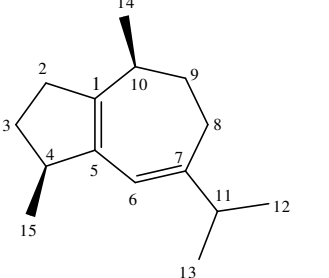
**Çizelge 7. (Devam) İzole Edilen Maddelere ve Literatürlerde Geçen Benzer Yapıdaki Bileşiklere Ait Karbon NMR Değerleri**

Formül	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Lit.
 <p><b>γ-Gayen</b></p>	54.76	28.52	36.85		135.47	118.96	147.74	30.22	36.33	39.74	38.52	21.72	21.72	21.86	74.66	Joulain ve König, 1998a
 <p><b>4,6-Gaydien</b></p>	52.71	27.41	34.18	135.88	135.23	119.09	147.42	27.41	35.75	35.27	38.90	21.99	21.99	13.97	14.46	Friedel ve Matusch, 1987
 <p><b>4,6-Gaydien</b></p>	54.83	30.28	36.95	135.39	137.23	118.98	147.64	28.66	36.46	39.82	38.57	21.83	21.94	14.73	14.73	Friedel ve Matusch, 1987

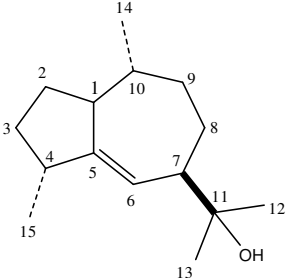
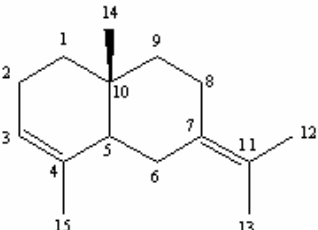
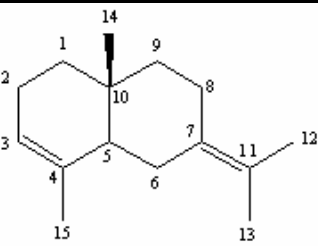
**Çizelge 7. (Devam) İzole Edilen Maddelere ve Literatürlerde Geçen Benzer Yapıdaki Bileşiklere Ait Karbon NMR Değerleri**

Formül	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Lit.
 <p><b>1(5),6-Gayadien</b></p>	141.95	36.03	31.42	45.34	136.37	117.73	150.89	27.79	33.91	36.68	37.98	21.50	21.61	20.69	20.42	Friedel ve Matusch, 1987; Rahman ve Ahmad, 1992a
 <p><b>1(5),6-Gayadien</b></p>	142.27	36.13	31.85	45.13	136.04	117.57	150.77	27.90	34.02	36.84	38.14	21.67	21.88	20.69	20.69	Friedel ve Matusch, 1987; Rahman ve Ahmad, 1992b
 <p><b>Gaya-5,7(11)-dien</b></p>	49.02	32.00	37.44	40.27	151.99	122.18	131.35	29.06	36.79	34.19	125.71	20.23	20.23	20.66	20.80	1*

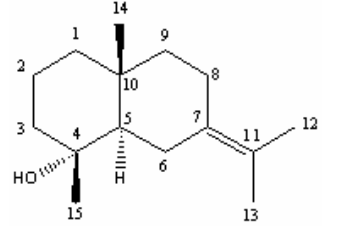
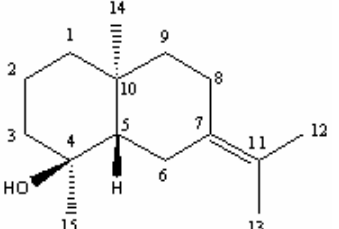
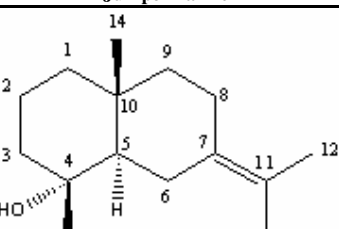
**Cizelge 7. (Devam) İzole Edilen Maddelere ve Literatürlerde Geçen Benzer Yapıdaki Bileşiklere Ait Karbon NMR Değerleri**

Formül	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Lit.
 <p><b>1αH,10αH-Gaya-4,6-dien</b></p>	51.70	26.52	34.89	147.39	134.14	117.56	135.63	26.59	37.31	38.02	34.18	21.27	21.22	13.92	13.20	Joulain ve König, 1998a
 <p><b>4βH,10αH-Gaya-1(5),6-dien</b></p>	150.77	27.90	31.85	45.13	136.04	117.57	142.27	34.02	36.13	38.14	36.84	20.69	20.69	21.88	21.67	Joulain ve König, 1998a
 <p><b>4αH,10αH-Gaya-1(5),6-dien</b></p>	150.89	27.79	31.42	45.34	136.37	117.73	141.95	33.91	36.03	37.98	36.68	21.61	21.50	20.69	20.42	Joulain ve König, 1998a

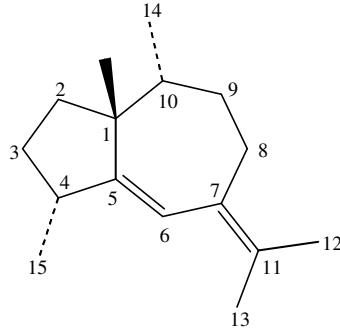
Çizelge 7. (Devam) İzole Edilen Maddelere ve Literatürlerde Geçen Benzer Yapıdaki Bileşiklere Ait Karbon NMR Değerleri

Formül	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Lit.
 <p>Gayen(5)-ol-(11)</p>	43			41	150	119	52				74					Rücker ve Hefendehl, 1978
 <p>Selina-3,7(11)-dien</p>	40.8	23.1	121.3	135.2	47.1	25.3	131.6	27.6	37.9	32.4	121.4	20.1	20.2	21.0	15.2	Beek ve ark., 1989; Joulain ve König, 1998b
 <p>Selina-3,7(11)-dien</p>	40.74	23.03	119.65	135.20	47.09	25.28	131.55	27.47	37.80	32.34	121.23	20.07	20.07	21.08	15.16	2*

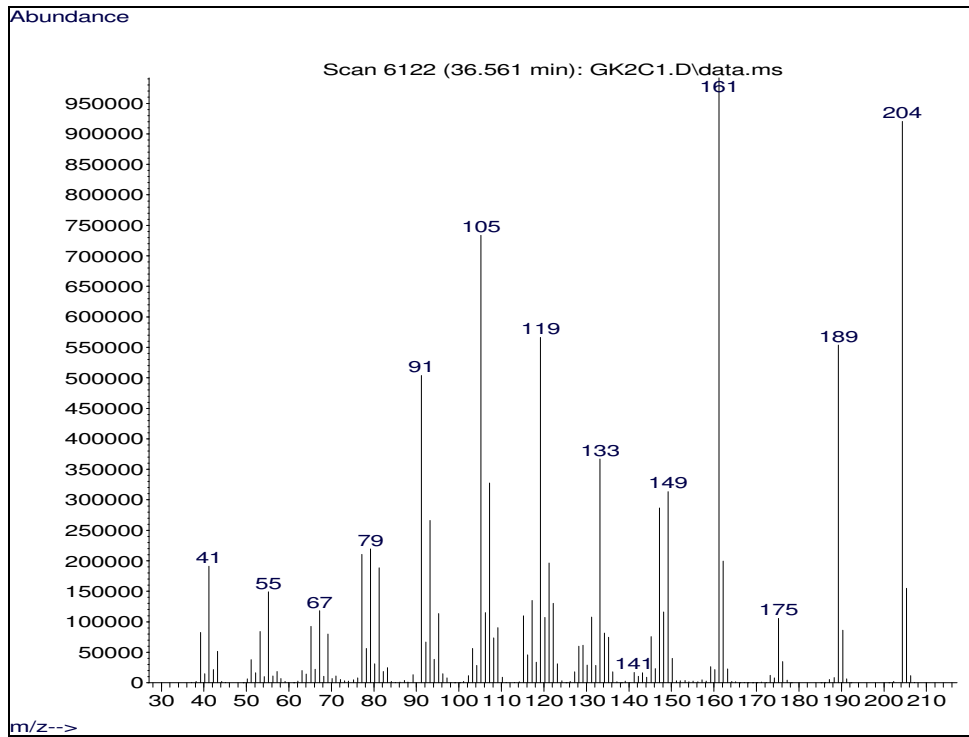
**Çizelge 7. (Devam) İzole Edilen Maddelere ve Literatürlerde Geçen Benzer Yapıdaki Bileşiklere Ait Karbon NMR Değerleri**

Formül	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Lit.
 <p><b>Juniper kamfor</b></p>	40.97	20.19	43.56	72.31	55.73	24.61	131.89	25.44	45.23	34.81	120.96	20.02	20.07	18.07	22.04	Bakhtiar ve ark., 2004
 <p><b>Juniper kamfor</b></p>	42.0	20.8	44.1	71.5	56.2	26.2	132.9	25.3	56.2	35.3	120.5	20.1	20.1	18.5	22.6	Zhao ve ark., 1997
 <p><b>Juniper kamfor</b></p>	41.0	20.21	43.59	72.32	55.77	24.64	131.41	25.46	45.26	34.83	120.98	20.08	20.08	18.09	22.06	3*

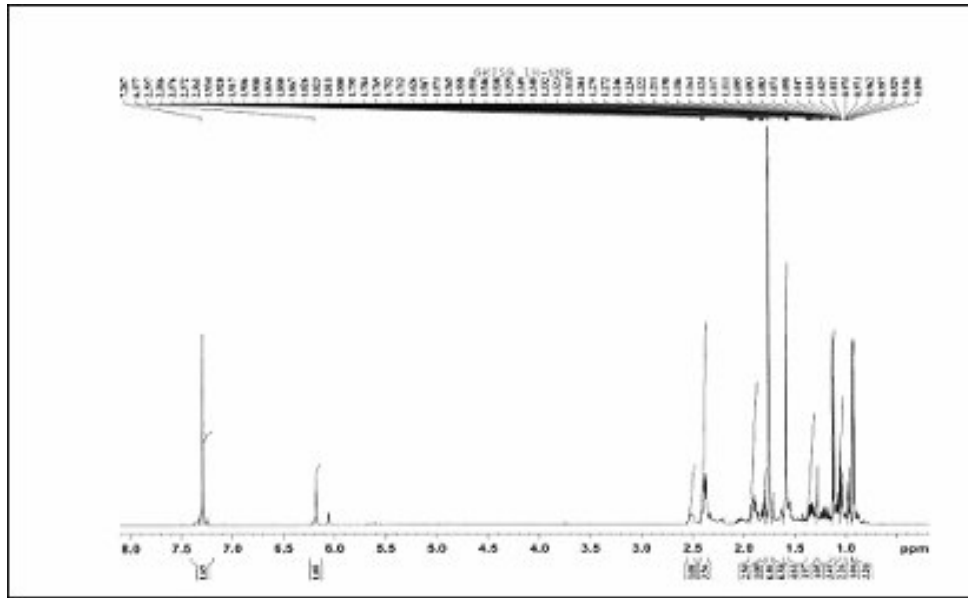
\*:Bu çalışmada izole edilen bileşikler



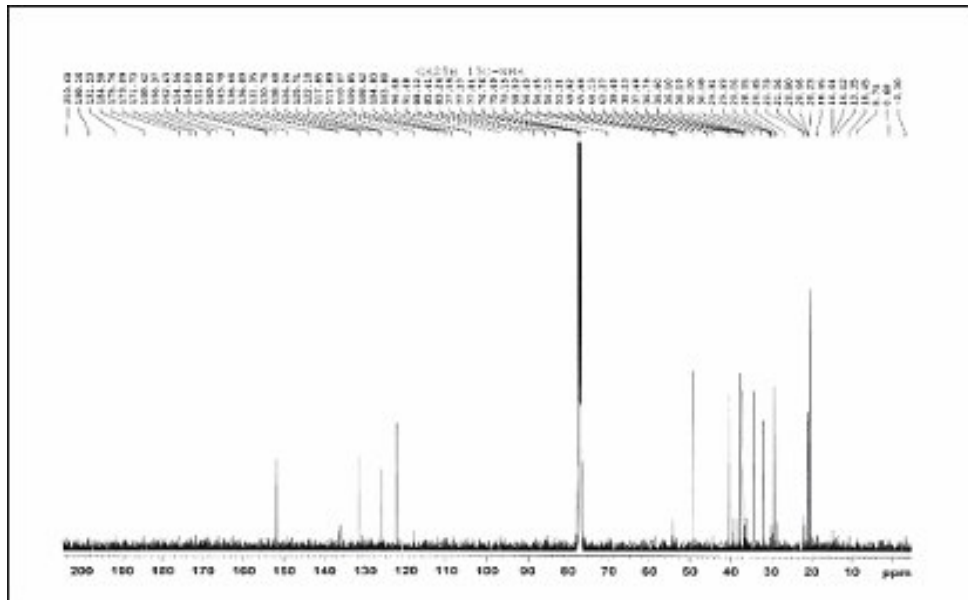
**Gaya-5,7(11)-dien**



**Şekil 16. Gaya-5,7(11)-dien'e Ait Kütle Spektrumu**



Şekil 17. Gaya-5,7(11)-dien'e Ait <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu



Şekil 18. Gaya-5,7(11)-dien'e Ait <sup>13</sup>C-NMR Spektrumu

## Biyolojik Aktivite Sonuçları

*Actinolema macrolema* Boiss. dövülmüş meyvelerinden su distilasyonu ile ilk ve ikinci üç saat sonunda alınan uçucu yağların antimikrobiyal etkisi Gram negatif [Gr (-)] ve Gram pozitif [Gr (+)] mikroorganizmalara ve *Candida albicans* fungusuna karşı mikrodilüsyon yöntemine göre test edildi. Dört kez tekrarlanan sonuçlara ait ortalama değerler **Çizelge 8'**de verildi.

**Çizelge 8. *A. macrolema* Uçucu Yağlarının Mikrodilüsyon Yöntemine Göre Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları**

Mikroorganizmalar	Suş	A	B	St1	St2
<i>Bacillus cereus</i> , Gr (+)	NRRL B-3711	500	500	125	-
<i>Enterobacter aerogenes</i> , Gr (-)	NRRL 3567	500	500	31.25	-
<i>Escherichia coli</i> , Gr (-)	NRRL B-3008	500	500	31.25	-
<i>Proteus vulgaris</i> , Gr (-)	NRRL B-123	250	250	15.62	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , Gr (-)	ATCC 27853	500	500	125	-
<i>Salmonella typhimurium</i> , Gr (-)	ATCC 13311	500	1000	15.62	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA), Gr (+)	ESOGÜ-klinik izolat	250	500	31.25	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> , Gr (+)	ATCC 12228	62.5	250	15.62	-
<i>Candida albicans</i> (Fungus)	ESOGÜ- klinik izolat	125	125	-	125

A : İlk üç saat sonunda alınan uçucu yağ

B : İlk üç saat sonunda alınan uçucu yağ

St1 : Kloramfenikol

St2 : Ketokonazol

ATCC : American Type Culture Collection

NRRL : Northern Regional Research Lab. Agricultural Res. Service C.C.

ESOGÜ: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi



## Distilasyon, İzolasyon ve Yapı Tayini Çalışmalarının Değerlendirilmesi

*Actinolema macrolema* Boiss. yapraklarından Clevenger apareyinde su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ, miktarı çok az olması nedeniyle *n*-hekzanla alındı.

*A. macrolema* meyvelerinden Clevenger apareyinde üç saat süreyle su distilasyonu yöntemi ile % 2 verimle uçucu yağ elde edildi. Distilasyona üç saat daha devam edilerek % 0.3 verimle ikinci bir fraksiyon halinde uçucu yağ alındı. Her iki distilasyon süresi sonunda alınan yağların eş zamanlı olarak GC ve GC/MS sistemleri ile analizleri gerçekleştirildi. İlk üç saatte alınan fraksiyonun analizi sonucunda yağda ana bileşik olarak (% 36.6) oksijensiz seskiterpen (M<sup>+</sup> 204) yapısında bir bileşik tespit edildi ancak kütle spektrumu karşılaştırılması ile tanımlanamadı. Bu nedenle tanımlanamayan bu bileşiğin uçucu yağdan kolon kromatografisi yöntemi ile izolasyonu gerçekleştirildi. İzolasyon çalışmaları sırasında saf halde elde edilen bileşiğin yapısının, izolasyonu takip eden kısa bir süre içerisinde bozunduğu tespit edildi. Aynı durumla Melching ve König (1999) yaptıkları çalışmada karşılaşmışlardır. Brasila-1(6),5(10)-dien'in karışım halinde stabil olurken, izole edilmiş halinde buzdolabında bir haftadan kısa bir sürede dekompoze olduğunu tespit etmişlerdir.

İlk üç saatte alınan fraksiyona ait uçucu yağdan saf halde izole edilen bileşiğin karbon NMR spektrumunda 15 adet karbon piki tespit edildi. Alınan DEPT 45, DEPT 90 ve DEPT 135 NMR ölçümlerinde 4 adet metin, 4 adet metilen, 4 adet metil ve 3 adet kuarterner karbon atomu belirlendi. Bileşiğin yapısındaki metil grupları 1.75 ppm'de tek pik (12. ve 13. karbon atomuna ait tersiyer protonlar), 1.12 ve 0.93 ppm'de iki ayrı çift pik (14. ve 15. karbon atomuna ait tersiyer protonlar) olarak tespit edildi. <sup>13</sup>C-NMR spektrumunda kuarterner karbonlar olan 5., 7. ve 11. karbonlara ait sinyaller sırasıyla 151.99 ppm, 131.35 ppm ve 125.71 ppm'de gözlemlendi. Olefinik çifte bağın bağlı bulunduğu karbon atomuna ait pikin 122.18 ppm'de proton sinyalinin ise 6.17 ppm'de olduğu gözlemlendi. Ölçülen NMR değerlerinin literatürde yer alan değerlerle (**Çizelge 6** ve **Çizelge 7**) karşılaştırılması sonucunda meyve uçucu yağından izole edilen bileşiğin gayen-(5)-ol-(11) bileşiğinin dehidratasyonu ile elde edilen gaya-5,7(11)-dien ile benzer olduğu tespit edildi. Rucker ve Hefendehl (1978) yaptıkları çalışmada Sumatra gurjun (*Dipterocarpus* sp. C.F.Gaertn.-Dipterocarpaceae) balsamından fraksiyonlu su buharı distilasyonu, kolon kromatografisi ve gaz kromatografisi tekniklerini kullanarak, oksijenli seskiterpen olan gayen-(5)-ol-(11)'i elde etmişlerdir. Bileşiğin yapısını aydınlatmak amacıyla gayen-(5)-ol-(11), absolu piridin içinde POCl<sub>3</sub> ile beraber oda ısısında karıştırılıp, su ile seyreltilerek diklorometanla ekstre edilmiştir. Diklorometanlı kısmı yoğunlaştırdıklarında preparatif GC'de 50. dakikada gelen renksiz yağimsı yapıda gaya-5,7(11)-dien olarak isimlendirilen maddeyi elde etmişlerdir. Reaksiyon sonucunda elde edilen bu bileşiğin doğadaki varlığı ilk kez *A. macrolema* meyve uçucu yağında bulunuşu ile gösterilmektedir (Ferreira ve ark., 2004).

Beek ve ark. (1989)'nın yaptığı çalışmada *Amyris balsamifera* L. uçucu yağından elde ettikleri 7-epi- $\alpha$ -ödesmol'ü metanolik hidroklorik asit ile muamele ettiklerinde selina-3,7(11)-dien'e dönüştürmüşlerdir. Bu çalışmada meyve uçucu yağlarında % 11.5 ve % 11.6 oranında bulunan ve kolon kromatografisi ile izole edilen bileşik karbon, proton NMR değerleri ve kütle spektrumu benzerliğinden

dolayı selina-3,7(11)-dien olarak tespit edildi (Beek ve ark., 1989; Joulain ve König, 1998b).

Bakhtiar ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada *Dipterocarpus cornutus* Dyer çiçeklerinden buhar distilasyonu ile aldıkları yağı etanolla kristallendirip juniper kamfor elde etmişlerdir. Bu çalışmada meyve uçucu yağlarında % 0.27 ve % 1.06 oranında bulunan ve kolon kromatografisi ile izole edilen bileşik karbon, proton NMR değerleri ve kütle spektrumu benzerliğinden dolayı juniper kamfor olarak tespit edildi (Bakhtiar ve ark., 2004; Zhao ve ark., 1997).

### **Antimikrobiyal Aktivite Sonuçlarının Değerlendirilmesi**

Su distilasyonu işleminde iki ayrı fraksiyon halinde alınan uçucu yağların antimikrobiyal etkisi Gram negatif [Gr (-)] ve Gram pozitif [Gr (+)] mikroorganizmlara ve *Candida albicans* fungusuna karşı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak incelendi (Koneman ve ark., 1997; İşcan ve ark., 2002). Sonuçlar toplu olarak ve standart antimikrobiyal maddeler ile karşılaştırmalı olarak **Çizelge 8**'de verildi. Uçucu yağların antibakteriyel aktiviteleri 62.5–1000 µg/ml konsantrasyonları arasında değişik patojenlere karşı etki gösterdi. En kuvvetli inhibisyon *Staphylococcus epidermidis*'e karşı ilk üç saatte elde edilen uçucu yağda 62.5 µg/ml'lik konsantrasyonda görüldü. Son üç saatte alınan yağ ise aynı bakteriyi ancak 250 µg/ml'lik konsantrasyonda inhibe edebildi. Her iki yağ da, *Candida albicans* fungusuna karşı kullanılan standart antifungal madde (ketokonazol) kadar etki göstermiş olup bu etki kayda değerdir. *Proteus vulgaris*'e karşı da iyi bir inhibisyon gözlemlendi. Son zamanlarda büyük tehlike oluşturan MRSA'a (*Staphylococcus aureus*) karşı etki görülürken diğer Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere karşı zayıf etki görüldü.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma kapsamında *Actinolema macrolema* Boiss. yaprak ve dövülmüş meyvelerinden Clevenger apareyinde su distilasyonu yöntemi ile uçucu yağlar elde edildi. Meyvelerden uçucu yağ elde edilmesi işlemi ilk ve ikinci üç saat sonunda ayrı fraksiyonlar alınarak gerçekleştirildi.

Yaprak ve meyve uçucu yağlarının GC ve GC/MS analizleri sonucunda, yaprak uçucu yağında, yağın % 93.1'ine karşılık gelen 68 bileşik tanımlandı. Tanımlanan bileşikler arasında 1-oktadekanol (% 23.6), hegzadekanolik asit (% 19) ve pentakosan (% 8) ana bileşikler olarak tespit edildi. Yağın bileşiminde alkol yapısındaki maddelerin yoğun olduğu (% 31.6), yağ asitleri ve esterleri yapısındaki bileşiklerin % 20.4, alkan ve alken grubu maddelerin ise % 19.6 oranında olduğu tespit edildi. Yaprak uçucu yağında monotermen ve seskiterpen türevi maddeler ile bunların oksijenli türevlerinin düşük olduğu belirlendi (% 10.9).

Yaprak uçucu yağının veriminin düşük olması nedeni ile *n*-hekzanla alınan numunenin fizikokimyasal özellikleri ve antimikrobiyal aktivitesi test edilemedi.

Her iki fraksiyona ait dövülmüş meyve uçucu yağlarının GC ve GC/MS analizi sonucunda ilk üç saat sonunda elde edilen yağda, yağın % 94.84'üne karşılık gelen 33 bileşik tanımlandı ve ana bileşik olarak *gaya-5,7(11)-dien* (% 36.6) tespit edildi. Bu maddenin kolon kromatografisi ile yağdan izolasyonu gerçekleştirilip yapı tayini yapıldı. *Gaya-5,7(11)-dien*'in doğadaki varlığı ilk kez bu çalışmada gösterildi.

Yağdan ayrıca oksijensiz seskiterpen yapısında *selina-3,7(11)-dien* (% 11.5) ve oksijenli seskiterpen yapısında *juniper kamfor* (% 0.27) isimli bileşikler de saf halde elde edildi ve yapıları literatür ile karşılaştırılarak ortaya kondu. İlk üç saatlik fraksiyona ait diğer majör bileşikler olarak *germakren B* (% 24.67) ve *4,6-gayadien* (% 10.33) belirlendi. Yağın bileşiminde seskiterpen yapısındaki maddelerin yoğun olduğu (% 91.8), oksijenli seskiterpenlerin ise % 3.04 oranında olduğu tespit edildi. Yağda monotermen yapısındaki maddeler ve bunların oksijenli türevleri eser olarak tespit edildi.

İkinci üç saat sonunda alınan uçucu yağda ise, yağın % 89.73'üne karşılık gelen 33 bileşik tanımlandı. Ana bileşikler olarak *gaya-5,7(11)-dien* (% 30.3), *germakren B* (% 20.67), *selina-3,7(11)-dien* (% 11.67) ve *4,6-gayadien* (% 8.17) tespit edildi. İlk üç saatlik yağın kompozisyonunda oksijensiz seskiterpenlerin yüzdesi 91.8 ve oksijenli seskiterpenlerin yüzdesi 3.04 iken, son üç saatlik distilasyon ürünüde oksijensiz seskiterpenlerin oranının % 81.04'e düşmüş ve oksijenli seskiterpenlerin oranının % 8.69'a çıkmış olduğu görüldü.

Meyve uçucu yağlarının üzerinde yoğunluk tayini, kırılma indisi ve çevirme açısı analizleri yapıldı.

Ayrıca bu yağlara ait Gram negatif, Gram pozitif mikroorganizmalar ve *Candida albicans* fungusuna karşı antimikrobiyal etkiler tespit edildi. İlk üç saatte alınan ve oksijensiz seskiterpen miktarı yoğun olan uçucu yağın yumuşak doku enfeksiyonlarına yol açan *Staphylococcus epidermidis*'e karşı 62.5 µg/ml'lik konsantrasyonda inhibisyonu görüldü. Her iki fraksiyona ait uçucu yağ kandidoza yol açan *Candida albicans* fungusuna karşı standart antifungal madde

(ketonazol) kadar etki gösterdi. Bu çalışmada, Türkiye’de doğal olarak yetişen *Actinolema macrolema* Boiss. uçucu yağlarına ait antimikrobiyal etki ilk kez bildirilmektedir.

Ülkemiz florasında, Apiaceae familyasına ait *Actinolema* cinsi iki tür ile temsil edilmektedir. Yapılan kaynak taramasında *A. eryngioides* türü ile yapılmış herhangi bir uçucu yağ çalışmasına rastlanmamıştır. *A. eryngioides*’e ait başta meyve olmak üzere farklı kısımların toplanarak uçucu yağları yönünden incelenmesi ve *A. macrolema* türü ile karşılaştırılması uçucu yağ çalışmalarına katkıda bulunacaktır.

## KAYNAKLAR

- Adams, R.P., Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy, Allured Publishing, USA, 2001.
- Barclay, A.S. Earle, F.R., Chemical analyses of seeds 3, oil and protein content of 1253 species, Economic Botany, 28, 178-236 (1974).
- Başer, K.H.C., Aromatic plants as a source of botanicals, Acta Horticulturae, 720, 27-33 (2006).
- Başer, K.H.C., Essential oils from aromatic plants which are used as herbal tea in Turkey, Proceedings of the 13st International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils. In: K.H.C. Başer (Eds.), 15-19 Ekim, 67-69 (1995a).
- Başer, K.H.C., Industrial utilization of medicinal and aromatic plants, Acta Horticulturae, 503, 177-192 (1999).
- Başer, K.H.C., Kırimer, N., Koşar, M., Tunalıer, Z., Bitkisel drogların kimyasal incelenmesi, Farmakognozi III Uygulamaları El Kitabı, Eskişehir, 13-15 (2005).
- Başer, K.H.C., Recent advances on the umbelliferae essential oils of Turkey, Proceedings of the 8th International Symposium on Natural Product Chemistry, 18-22 January, Karachi, Pakistan, 271-289 (1995b).
- Baytop, A., Umbelliferae, Farmasötik Botanik Ders Kitabı, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, 220-222, 1996.
- Baytop, A., Umbelliferae, Farmasötik Botanik Uygulamaları, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, 198-199, 1993.
- Baytop, A., Türkiye'de kullanılan yabancı ve yetiştirilmiş aromatik bitkiler, Doğa-Tr.J. Pharmacy, 1, 76-78 (1991).
- Baytop, T., Uçucu yağlar, Farmakognozi Cilt 2, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul 146-151, 1986.
- Baytop, T., Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 4-10, 1999.
- Baytop, T., Türkiye'nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri, İsmail Akgün Matbaası, İstanbul, 344-346, 1993.
- Beek, T.A.V., Kleis, R., Posthumus, M.A., Veldhuizen, A.V., Essential oil of *Amyris balsamifera*, Phytochemistry, 28, (7), 1909-1911 (1989).
- Bohlmann, F., Knoll, K., H., Neuartige sesquiterpenlactone und neue acetylenverbindungen aus *Athanasia*-Arten, Phytochemistry, 18, 995-1001 (1979).
- Boydağ, I., *Origanum Onites* L. (Kekik) Yağ Altı Suyunun Uçucu Bileşikleri, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye (2004).
- Breitmaier, E., Terpenes: Flavors, Fragrances, Pharmaca, Pheromones, John Wiley & Sons Publishing, Weinheim, 1-9, 2006.

- Connolly, J., D., Hill, R., A., Dictionary of Terpenoids, Mono and Sesquiterpenoids, London, 1, 333-337, 1991.
- Çağın, H.K., Bitkilerin Gizli Dünyası 4: Apiaceae (Maydanozgiller), Bulut Yayınları, İstanbul, 4-10, 2005.
- Bakhtiar, A., Sargent, M.V., Skelton, B.W., White, A.H., Rac-Eusdesm-7(11)-en-4-ol, Acta Crystallographica, C60, 503-504 (2004).
- Davis, P.H., *Actinolema* Fenzl In: Flora of Turkey and East Aegean Islands, P.H. Davis (Eds.), University Press, Edinburgh, 4, 291-295, 1972a.
- Davis, P.H., Umbelliferae In: Flora of Turkey and East Aegean Islands, P.H. Davis (Eds.), University Press, Edinburgh, 4, 265-288, 1972b.
- Demirçakmak, B., *Cedrus Libani* Uçucu Yağının Bileşimi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye (1994).
- Devon, T., K., Scott, A., I., Handbook of Naturally Occurring Compounds, Terpenes, New York, 2, 87-138, 1972.
- Dewick, P.M., Medicinal Natural Products, John Wiley & Sons Ltd, England, 167-172 (2002).
- Djerassi, C., Dictionary of Natural Products, Type of Compound Index-Species Index, Chapman & Hall Chemical Database, London, Vol. 2, 2301 (1994c).
- Djerassi, C., Dictionary of Natural Products, Type of Compound Index-Species Index, Chapman & Hall Chemical Database, London, Vol. 3, 2632-2635 (1994b).
- Djerassi, C., Dictionary of Natural Products, Type of Compound Index-Species Index, Chapman & Hall Chemical Database, London, Vol. 7 (1994a).
- Downie, S.R., Katz, D.S., A molecular phylogeny of apiaceae subfamily apoideae: evidence from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences, American Journal of Botany, 83 (2), 234-251 (1996).
- Drude, O., Umbelliferae In Die Natürlichen Pflanzenfamilien, A., Engler, K., Prantl (Eds.), 83, 63-250 (1897).
- Dubey, V.S., Bhalla, R., Luthra, R., An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants, J. Biosci., 28, 637-646 (2003).
- Erdurak, C.S., *Frulago isaurica* peşmen ve *F. Syriaca* Boiss. (Umbelliferae) Türleri Üzerinde Araştırmalar, Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, Ankara (2003).
- Ferreira, M.J.P., Oliveira, F.C., Rodrigues, G.V., Emerenciano, V.P., <sup>13</sup>C NMR pattern recognition of guaiane sesquiterpenes, Internet Electronic Journal of Molecular Design, 3, 11, 737-749 (2004).
- Fischer, N.H., Jeffrey, D.W., James, L.R., Leovigildo, Q., Marias, A.M., Stimulation of witchweed germination by sesquiterpene lactones: a structure-activity study, Phytochemistry, 29, 8, 2479-2483 (1990).
- Friedel, H.D., Matusch, R., Isolierung und strukturaufklärung epimerer 1(5), 6-guaiadiene aus tolubalsam, Helvetica Chimica Acta, 70, 1616-1622 (1987).

Guenther, E., *The Essential Oils*, Vol. 1-6, Robert E. Krieger Publishing Co., Inc., Malabar, Florida (1948).

Heath, H.B., *Source Book of Flavors*, The Avi Publishing Company Inc., Connecticut, 84-95 (1981).

Heywood, V.H., *Flowering Plants of the World*, Oxford University Press, Oxford, UK, 219-221 (1978).

Hickey, M., King, C., *Common Families of Flowering Plants*, Cambridge University Press, New York, 107 (1997).

Hoeffler, J., F., Tritsch, D., Billiard, C.G., Rohmer, M., Isoprenoid biosynthesis via the methylerythritol phosphate pathway, *Eur. J. Biochem.* 269, 4446-4457 (2002).

http-1 <http://en.wikipedia.org> (10.01.2007).

http-2 <http://theseedsite.co.uk/apiaceae.html> (10.01.2007).

http-3 <http://www.tubitak.gov.tr/tubives> (10.01.2007).

http-4 <http://www.3sistersapothecary.com> (10.01.2007).

http-5 <http://www.ordutarim.gov.tr/turetim/aromatik.htm> (10.01.2007).

http-6 [http://www.spookspring.com/Umbels/Umbel\\_morph.html](http://www.spookspring.com/Umbels/Umbel_morph.html) (10.01.2007).

http-7 <http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/e51/51n.htm> (10.01.2007).

http-8 <http://science.ankara.edu.tr/~duygu/KEMOTAXONZmb.htm> (10.01.2007).

http-9 <http://www.eczders.anadolu.edu.tr> (10.01.2007).

Isman, M.B., *Plant Essential Oils for Pest and Disease Management*, *Crop Prot.*, 19, 603-608 (2000).

İşcan, G., Kırimer, N., Kürkçüoğlu, M., Başer, K.H.C., Demirci, F., Antimicrobial screening: *Mentha piperita* essential oil, *J. Agric. Food Chem.*, 50, 3943-3946 (2002).

Joulain, D., König, W.A., Hochmuth, D.H., *Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils*, Library of Massfinder 2.1, Hamburg, Germany (2001).

Joulain, D., König, W.A., Selina-3, 7(11)-dien In: *The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons*, Hamburg, 557 (1998b).

Joulain, D., König, W.A., *The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons*, Hamburg, 359-370 (1998a).

Kleiman, R., Spencer, G.F., Search for new industrial oils: XVI. Umbelliflorae-seed oils rich in petroselinic acid, *Journal of American Oil Chemists' Society*, 59, 29 (1982).

Knobloch, K., Strobel, H., Effective concentrations of essential oil components to scavenge oxygen radicals and inhibit lipoxygenase turnover rates, *Planta Med.*, (59), Supplement Issue, A699 (1993).

- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Winn, W.C., Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Lippincott-Raven Publ., Philadelphia, 785-856 (1997).
- Lagouri, V., Blekas, G., Composition and antioxidant activity of essential oils from Oregano plants grown wild in Greece, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 197, 20-23 (1993).
- Lawrence, B.M., The Isolation of Aromatic Materials from Natural Plant Products In: A Manual on the Essential Oils and Aroma Chemicals Industries, K. Tuley de Silva (Eds.), UNIDO, Vienna (1995).
- McGarvey, D., J., Croteau, R., Terpenoid metabolism, *American Society of Plant Physiologists*, 7, 1015-1026 (1995).
- McLafferty, F.W., Stauffer, D.B., *The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data*, J. Wiley and Sons, New York (1989).
- Melching, S., König, W., A., Sesquiterpenes from the essential oil of the liverwort *Conocephalum conicum*, *Phytochemistry*, 51, 517-523 (1999).
- Nemeth, E., Caraway, The Genus *Carum*, Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 9-15, 1998.
- Otte, S., Essential Oils-Rediscovered Remedies, *Dragoco Report*, 3, 91-110 (1994).
- Plunkett, G., M., Downie, S., R., Major lineages within apiaceae subfamily apoioideae: A comparison of chloroplast restriction site and DNA sequence data, *American Journal of Botany*, 86, 7, 1014-1026 (1999).
- Rahman, A., Ahmad, V.U., *<sup>13</sup>C-NMR of Natural products, Monoterpenes and Sesquiterpenes*, 1, New York, 331-333, 1992a.
- Rahman, A., Ahmad, V.U., *<sup>13</sup>C-NMR of Natural products, Monoterpenes and Sesquiterpenes*, 1, New York, 606, 1992b.
- Rakotonirainy, O., Gaydou, E.M., Faure, R., Bombarda, I., Sesquiterpenes from Patchouli (*Pogostemon cablin*) essential oil, assignment of the proton and carbon-13 NMR spectra, *Journal of Essential Oil Research*, 9, 321-327 (1997).
- Rendle, A.B., *The classification of the flowering plants, Dicotyledons*, Chambridge University Press, London, Vol. 2, 411-419, 1930.
- Rohdich, F., Hecht, S., Bacher, A., Eisenreich, W., Deoxyxylulose phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis, *Pure Appl. Chem.*, Vol. 75, 393-405 (2003).
- Rohmer, M., Mevalonate-independent methylerythritol phosphate pathway for isoprenoid biosynthesis, *Pure Appl. Chem.*, Vol. 75, 375-387 (2003).
- Rücker, G., Hefendehl, F.W., Guaian-(5)-ol-(11), ein neuer guaian-alkohol aus gurjun-balsam, *Phytochemistry*, 17, 809-810 (1978).
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., Leblebici, E., *Apiaceae, Tohumlu Bitkiler Sistematiği*, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 262-264, 2004.
- Sponsel, V., M., The deoxyxylulose phosphate pathway for the biosynthesis of plastidic isoprenoids, *Journal of Plant Growth Regulation*, 20, 332-345 (2002).



- Tanker, M., Tanker, N., Uçucu yağlar, Farmakognozi Cilt 2, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 269-297, 1985.
- Tanker, N., Koyuncu, M., Coşkun, M., Apiaceae, Farmasötik Botanik, Ankara Üniversitesi Basımevi, İstanbul, 277-283, 2004.
- Thapa, B.B., Extraction of essential oil, National Workshop on Chemical Investigation and Processing of Aromatic Plants, Nepal, 71-81 (1989).
- Türk Farmakopesi I, Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu, Ankara, 118 (2004).
- Tyler, V.E., Broady, L.R., Robbers, J.E., Pharmacognosy 9nd Ed., Lea and Febiger, Philadelphia, 103-110 (1988).
- Wijesekera, R.O.B., Practical manual on the essential oils industry, agrotechnology, Processing, Quality Assesment, UNIDO, 100-121 (1993).
- Wilson, R., The extraction of essential oils In: A Complete Guide to Understanding and Using Aromatherapy for Vibrant Health and Beauty (1995).
- Wörz, A., On the distribution and relationships of the south-west asian species of *Eryngium* L. (Apiaceae-Saniculoideae), Turkish Journal of Botany, 28, 85-92 (2004).
- Zeybek, N., Zeybek, U., Apiaceae, Kapalı Tohumlu Bitkiler (Angiospermae) Sistematığı ve Önemli Maddeleri, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 269-279, 1994.
- Zhao, Y., Yue, J., Lin, Z., Ding, J., Sun, H., Eudesmane sesquiterpenes from *Laggera pterodonta*, Phytochemistry, 44, (3), 459-464 (1997).

**EK**

( <i>E</i> )-2-Dekenal	: ( <i>E</i> )-2-Decenal
( <i>E</i> )-Geranil aseton	: ( <i>E</i> )-Geranyl acetone
( <i>E</i> )- $\beta$ -Iyonon	: ( <i>E</i> )- $\beta$ -Ionone
( <i>E,E</i> )-2,4-Dekadienal	: ( <i>E,E</i> )-2,4-Decadienal
( <i>Z</i> )-3-Hekzenil asetat	: ( <i>Z</i> )-3-Hexenyl acetate
1(10),5-Germakradien-4 $\alpha$ -ol	: 1(10),5-Germacradien-4 $\alpha$ -ol
1(5),6-Gayadien	: 1(5),6-Guaiadiene
1,2,3-Trimetil benzen	: 1,2,3-Trimethyl benzene
1,2,4-Trimetil benzen	: 1,2,4-Trimethyl benzene
1,5-Epoksialvial-4(14)-en	: 1,5-Epoxysalvial-4(14)-ene
1-Dekanol	: 1-Decanol
1-Dodekanol	: 1-Dodecanol
1-Hekzadekanol	: 1-Hexadecanol
1-Metiletil heksadekanoat	: 1-Methylethyl hexadecanoate
1-Oktadekanol	: 1-Octadecanol
1-Okten-3-ol	: 1-Octen-3-ol
1-Pentadeken	: 1-Pentadecene
1-Tetradekanol	: 1-Tetradecanol
1-Tridekanol	: 1-Tridecanol
1 $\alpha$ H,10 $\alpha$ H-Gaya-4,6-diene	: 1 $\alpha$ H,10 $\alpha$ H-Guaia-4,6-diene
2,3,6-Trimetil benzaldehit	: 2,3,6-Trimethyl benzaldehyde
2-Pentil furan	: 2-Pentyl furan
3,4-Dimetil-5-pentiliden-2(5H)-furanon	: 3,4-Dimethyl-5-pentiliden-2(5H)-furanon
4,6-Gayadien	: 4,6-Guaiadiene
4,6-Gayadien	: 4,6-Guaiadien
4 $\beta$ H,10 $\alpha$ H-Gaya-1(5),6-diene	: 4 $\beta$ H,10 $\alpha$ H-Guaia-1(5),6-diene
Bisiklogermakren	: Bicyclogermacrene
<i>cis</i> -Ödesma-6,11-dien	: <i>cis</i> -Eudesma-6,11-diene
Dekanal	: Decanal
Dodekanoik asit	: Dodecanoic acid
Dokosan	: Docosane
Eikosanol	: Eicosanol
Elemol	: Elemol
Farnesil aseton	: Farnesyl acetone
Fitol	: Phytol
Gaya-5,7(11)-dien	: Guaia-5,7(11)-diene
Gayen-(5)-ol-(11)	: Guaien-(5)-ol-(11)
Germakren-B	: Germacrene-B
Germakren-D	: Germacrene-D
Germakren-D-1,10-epoksit	: Germacrene-D-1,10-epoxide
Guayil asetat	: Guaiyl acetate
Hekzadekanoik asit	: Hexadecanoic acid
Hekzahidrofarnesil aseton	: Hexahydrofarnesyl acetone
Hekzakosan	: Hexacosane
Hekzanal	: Hexanal
Hekzil asetat	: Hexyl acetate

Hekzilsinnamik aldehit	: Hexylcinnamic aldehyde
Heneikosan	: Heneicosane
Heptakosan	: Heptacosane
İzo-eremofilen	: Iso-eremophylene
Juniper kamfor	: Juniper camphor
Kaskarilladien	: Cascarylladiene
Naftalen	: Napthalene
Nonadekan	: Nonadecane
Nonakosan	: Nonacosane
Nonanal	: Nonanal
Oktakosan	: Octacosane
Oktanal	: Octanal
Oktanol	: Octanol
Ödesma-4(15),7-dien-1 $\beta$ -ol	: Eudesma-4(15),7-dien-1 $\beta$ -ol
Pentadekanol	: Pentadecanol
Pentakosan	: Pentacosane
<i>p</i> -Simen	: <i>p</i> -Cymene
Rosifoliol	: Rosifoliol
Salviadienol	: Salviadienol
Salvial-4(14)en-1-on	: Salvial-4(14)en-1-one
Selina-3,7(11)-dien	: Selina-3,7(11)-diene
Sibiren	: Sibirene
Tetradekanoik asit	: Tetradecanoic acid
Tetrakosan	: Tetracosane
T-Kadinol	: T-Cadinol
<i>trans</i> -Verbenol	: <i>trans</i> -Verbenol
Tridekan	: Tridecane
Trikosan	: Tricosane
Valensen	: Valencene
$\alpha$ -Bulnesen	: $\alpha$ -Bulnesene
$\alpha$ -Burbonen	: $\alpha$ -Bourbonene
$\alpha$ -Gayen	: $\alpha$ -Guaiene
$\alpha$ -Gayol	: $\alpha$ -Guaiol
$\alpha$ -Kalakoren	: $\alpha$ -Calacorene
$\alpha$ -Kamfolen aldehit	: $\alpha$ -Campholene aldehyde
$\alpha$ -Kopaen	: $\alpha$ -Copaen
$\alpha$ -Kubeben	: $\alpha$ -Cubebene
$\alpha$ -Muurolen	: $\alpha$ -Muurolene
$\alpha$ -Ödesmol	: $\alpha$ -Eudesmol
$\alpha$ -Pinen	: $\alpha$ -Pinene
$\alpha$ -Ylangen	: $\alpha$ -Ylangene
$\beta$ -Burbonen	: $\beta$ - Bourbonene
$\beta$ -Elemen	: $\beta$ -Elemene
$\beta$ -Karyofilen	: $\beta$ -Caryophyllene
$\beta$ -Kopaen	: $\beta$ -Copaene
$\beta$ -Ödesmol	: $\beta$ - Eudesmol
$\beta$ -Selinen	: $\beta$ -Selinene
$\beta$ -Ylangen	: $\beta$ -Ylangene

$\gamma$ - Gayen	: $\gamma$ - Guaiene
$\gamma$ - Kadinen	: $\gamma$ -Cadinene
$\gamma$ -Elemen	: $\gamma$ -Elemene
$\gamma$ -Muurolen	: $\gamma$ -Muurolene
$\gamma$ -Ödesmol	: $\gamma$ -Eudesmol
$\delta$ -Elemen	: $\delta$ -Elemene
$\delta$ -Kadinen	: $\delta$ -Cadinene
$\delta$ -Selinen	: $\delta$ -Selinene