

138140

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

Campanula lactiflora (Campanulaceae) BİTKİSİNDEN DOĞAL MADDELERİN
İZOLASYONU VE YAPILARININ AYDINLATILMASI

Kimyager Asu USTA

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
“Yüksek Lisans (Kimya)”
Ünvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 06.01.2003
Tezin Savunma Tarihi : 24.01.2003

138140

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Nurettin YAYLI
Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİRBAŞ
Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Hasan GENÇ

[Handwritten signatures]

Enstitü Müdürü : Prof. Dr. Yusuf AYVAZ

[Handwritten signature]

Trabzon 2003

T.C. YÜKSEK LİSANS ENSTİTÜSÜ
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması, K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Bitki Kimyası Yüksek Lisans Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Yüksek Lisans tezi danışmanlığımı üstlenen, çalışmalarımın yürütülmesinde, tezimin yazılmasında ve düzenlenmesinde değerli zamanlarını ayıran, hiçbir emeğini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Nurettin YAYLI'ya minnet ve şükranlarımla teşekkür ederim.

Yüksek Lisans eğitimimde emeği geçen Kimya Bölümü'nün değerli Öğretim Üyelerine, laboratuvar çalışmalarım boyunca tecrübeleriyle yardımcı olan Araştırma Görevlileri'ne teşekkür ederim.

Yüksek Lisans çalışmalarım boyunca, çalışmalarımı daha iyi yürütebilmem için gerekli tüm esnekliği sağlayan Rize Fen-Edebiyat Fakültesi Dekanı, Sayın Prof. Dr. Nazmi Turan OKUMUŞOĞLU'na teşekkür ederim.

Tez süresince manevi desteklerini esirgemeyen sevgili anne ve babama, maddi ve manevi her türlü desteğinden dolayı eşim Arş. Gör. Cem USTA'ya çok teşekkür ederim.

Trabzon, Ocak 2003

Asu USTA

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET.....	V
SUMMARY.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
SEMBOLLER DİZİNİ.....	X
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Terpenler.....	1
1.3. Kromatografi.....	7
1.3.1. Kolon Kromatografisi.....	7
1.3.2. Hava Basıncılı Kolon Kromatografisi.....	8
1.3.3. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK, TLC).....	9
1.4. Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi (NMR).....	10
1.5. Kütle Spektroskopisi.....	11
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	13
2.1. Çözücülerin Saflaştırılması.....	13
2.2. Entrümentasyon.....	13
2.3. İzolasyon.....	13
3. BULGULAR.....	17
4. TARTIŞMA.....	19
4.1. 1 No'lu Maddenin Spektroskopik Olarak Aydınlatılması.....	19
4.2. 2 No'lu Maddenin Spektroskopik Olarak Aydınlatılması.....	22
4.3. 3 No'lu Maddenin Spektroskopik Olarak Aydınlatılması.....	25
4.4. 4 No'lu Maddenin Spektroskopik Olarak Aydınlatılması.....	27
5. SONUÇLAR.....	30
6. ÖNERİLER.....	31

7.	KAYNAKLAR.....	32
8.	EKLER.....	39
	ÖZGEÇMİŞ.....	90



ÖZET

Bu çalışmada, *Campanula lactiflora* (Campanulaceae) bitkisinin kloroform ve metanol ekstrelerinden 4 adet doğal bileşik; 3 β -asetoksi-lup-20(29)-en-30-al, 1, 3 β -asetoksi-ptilopoksit, 2, 3 β -asetoksi-20(29)-en, 3, 3 β -asetoksi-germanikol, 4 çeşitli kromatografik yöntemler uygulanarak ilk defa izole edilip, yapıları modern NMR teknikleri ve kütle spektrometresi kullanılarak aydınlatıldı.

Yapılan literatür araştırması sonucu 1 ve 2 nolu maddelerin yeni bir madde ve diğer 3 ve 4 nolu maddelerin ise bilinen doğal maddeler oldukları bulundu. Fakat, *Campanula lactiflora* bitkisi ilk defa bu çalışmada çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Campanula lactiflora* (Campanulaceae), NMR, EI-MS.

SUMMARY

Isolation and Structure Elucidation of Natural Compounds from *Campanula lactiflora* (Campanulaceae) Plant

In this study, four natural compounds; 3 β -asetoksi-lup-20(29)-en-30-al, 1, 3 β -asetoksi-ptilopoksit, 2, 3 β -asetoksi-20(29)-en, 3, 3 β -asetoksi-germanikol, 4, were isolated for the first time using various chromatographic techniques from the chloroform and methanol extracts of *Campanula lactiflora* (Campanulaceae) and their structures were identified by modern NMR techniques and EI mass spectra.

As a result of the literature review, it was determined that compound 1 and compound 2 were new compounds and the rest were found to be known natural compounds. However, *Campanula lactiflora* (Campanulaceae) plant has been investigated for the first time in this work.

Keywords: *Campanula lactiflora* (Campanulaceae), NMR, EI-MS.

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Ek Şekil 1. 1 nolu maddenin ^1H NMR spektrumu.....	40
Ek Şekil 2. 1 nolu maddenin ^{13}C NMR spektrumu.....	41
Ek Şekil 3. 1 nolu maddenin ^{13}C NMR spektrumu.....	42
Ek Şekil 4. 1 nolu maddenin DEPT spektrumu.....	43
Ek Şekil 5. 1 nolu maddenin DEPT spektrumu.....	44
Ek Şekil 6. 1 nolu maddenin COSY spektrumu.....	45
Ek Şekil 7. 1 nolu maddenin COSY spektrumu.....	46
Ek Şekil 8. 1 nolu maddenin COSY spektrumu.....	47
Ek Şekil 9. 1 nolu maddenin TOCSY spektrumu.....	48
Ek Şekil 10. 1 nolu maddenin HMQC spektrumu.....	49
Ek Şekil 11. 1 nolu maddenin HMQC spektrumu.....	50
Ek Şekil 12. 1 nolu maddenin HMQC spektrumu.....	51
Ek Şekil 13. 1 nolu maddenin HMQC spektrumu.....	52
Ek Şekil 14. 1 nolu maddenin HMBC spektrumu.....	53
Ek Şekil 15. 1 nolu maddenin HMBC spektrumu.....	54
Ek Şekil 16. 1 nolu maddenin NOESY spektrumu.....	55
Ek Şekil 17. 1 nolu maddenin NOESY spektrumu.....	56
Ek Şekil 18. 1 nolu maddenin NOESY spektrumu.....	57
Ek Şekil 19. 1 nolu maddenin EI-MS spektrumu.....	58
Ek Şekil 20. 2 nolu maddenin ^1H NMR spektrumu.....	59
Ek Şekil 21. 2 nolu maddenin ^{13}C NMR spektrumu.....	60
Ek Şekil 22. 2 nolu maddenin ^{13}C NMR spektrumu.....	61
Ek Şekil 23. 2 nolu maddenin DEPT spektrumu.....	62
Ek Şekil 24. 2 nolu maddenin COSY spektrumu.....	63
Ek Şekil 25. 2 nolu maddenin COSY spektrumu.....	64
Ek Şekil 26. 2 nolu maddenin HMQC spektrumu.....	65
Ek Şekil 27. 2 nolu maddenin HMQC spektrumu.....	66

Ek Şekil 28.	2 nolu maddenin NOESY spektrumu.....	67
Ek Şekil 29.	2 nolu maddenin NOESY spektrumu.....	68
Ek Şekil 30.	2 nolu maddenin EI-MS spektrumu.....	69
Ek Şekil 31.	3 nolu maddenin ^1H NMR spektrumu.....	70
Ek Şekil 32.	3 nolu maddenin ^{13}C NMR spektrumu.....	71
Ek Şekil 33.	3 nolu maddenin ^{13}C NMR spektrumu.....	72
Ek Şekil 34.	3 nolu maddenin DEPT spektrumu.....	73
Ek Şekil 35.	3 nolu maddenin DEPT spektrumu.....	74
Ek Şekil 36.	3 nolu maddenin COSY spektrumu.....	75
Ek Şekil 37.	3 nolu maddenin COSY spektrumu.....	76
Ek Şekil 38.	3 nolu maddenin HMQC spektrumu.....	77
Ek Şekil 39.	3 nolu maddenin HMQC spektrumu.....	78
Ek Şekil 40.	3 nolu maddenin EI-MS spektrumu.....	79
Ek Şekil 41.	4 nolu maddenin ^1H NMR spektrumu.....	80
Ek Şekil 42.	4 nolu maddenin ^{13}C NMR spektrumu.....	81
Ek Şekil 43.	4 nolu maddenin ^{13}C NMR spektrumu.....	82
Ek Şekil 44.	4 nolu maddenin DEPT spektrumu.....	83
Ek Şekil 45.	4 nolu maddenin DEPT spektrumu.....	84
Ek Şekil 46.	4 nolu maddenin COSY spektrumu.....	85
Ek Şekil 47.	4 nolu maddenin COSY spektrumu.....	86
Ek Şekil 48.	4 nolu maddenin NOESY spektrumu.....	87
Ek Şekil 49.	4 nolu maddenin NOESY spektrumu.....	88
Ek Şekil 50.	4 nolu maddenin EI-MS spektrumu.....	89

TABLULAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1.	1 nolu maddenin ^1H ve ^{13}C NMR değerleri (CDCl_3).....	21
Tablo 2.	1 nolu maddenin EI kütle spektrum değerleri.....	22
Tablo 3.	2 nolu maddenin ^1H ve ^{13}C NMR değerleri (CDCl_3).....	23
Tablo 4.	2 nolu maddenin EI kütle spektrum değerleri.....	24
Tablo 5.	3 nolu maddenin ^1H ve ^{13}C NMR değerleri (CDCl_3).....	25
Tablo 6.	3 nolu maddenin EI kütle spektrum değerleri.....	27
Tablo 7.	4 nolu maddenin ^1H ve ^{13}C NMR değerleri (CDCl_3).....	28
Tablo 8.	4 nolu maddenin EI kütle spektrum değerleri.....	29

SEMBOLLER DİZİNİ

APT	: Karbon türünü söyleyen spektrum
CC	: Kolon kromatografisi
CI-MS	: Kimyasal yolla iyonlaştırma kütle sabiti
¹³ C NMR	: Karbon sayısını veren spektrum
COSY	: Proton korelasyon spektrumu
2D COSY	: İki boyutlu korelasyon spektrumu
dd	: Dubletin dubleti
DEPT	: Karbon türünü söyleyen spektrum
1D NMR	: Bir boyutlu NMR spektrumu
2D NMR	: İki boyutlu NMR spektrumu
EI-MS	: Elektron demetiyle kütle spektrumu
FAB-MS	: Hızlı atomik bombardıman kütle spektrumu
GC-MS	: Gaz kromatografisi kütle spektrumu
HMBC	: Heteronükleer iki ve üç bağ mesafesinde H/C korelasyonu
HMQC	: Heteronükleer H/C korelasyonu
¹ H NMR	: Bir boyutlu nükleer manyetik rezonans spektrumu
Hz	: Hertz
IR	: İnfrared spektrumu
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
J	: Etkileşme sabiti
m/z (%) [M]	: Moleküler iyonun ağırlık kütlesi
MHz	: Mega hertz
NMR	: Nükleer manyetik rezonans
NOESY	: İki boyutlu protonların uzaysal etkileşmesi
ppm	: Milyonda bir kısım
PTLC	: Preparatif ince tabaka kromatografisi
R _f	: Maddenin yürümesinin çözücünün yürümesine oranı
TLC	: İnce tabaka kromatografisi
TMS	: Tetra metil silan

TOCSY : Toplam korelasyon spektrumu
UV : Ultraviyole Spektrumu
Vis : Görünür bölge spektrumu
 δ : Kimyasal kayma değeri



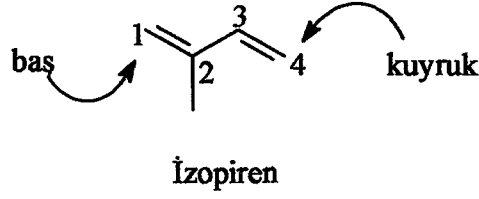
1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

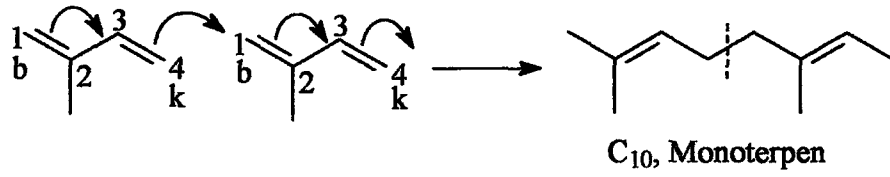
Campanula L. türü Campanulaceae ailesine ait bir bitki türüdür [1]. Çok sayıda türleri olup, flavonoid, antosiyanin, triterpenoidler, kumarin, inositol gibi doğal ürünler izole edilip yapıları aydınlatılmıştır [2-61]. *Campanula L.* ailesine ait türlerden biride *Campanula lactiflora* olup Doğu Karadeniz Bölgesi'nin yüksek kesimlerinde yetişen bir bitkidir [1]. Yapılan araştırmalarda, bu türün kimyasal bileşenleri üzerinde sadece flavonoidlerin aydınlatıldığı ve başka çalışma olmadığı tespit edildi. Ayrıca biyolojik bazı çalışmalara rastlandı [62-63]. *C. lactiflora* bitkisinin kloroform ve metanol ekstraktlarının karışımlarından 4 adet doğal madde; 3 β -asetoksi-lup-20(29)-en-30-al, 1; 3 β -asetoksi-ptiloepoksit, 2; bilinen 3 β -asetoksi-lup-20(29)-en, 3 ve 3 β -asetoksi-germanikol, 4 çeşitli kromatografik yöntemler uygulanarak izole edilip, yapıları bir boyutlu (1D) ve iki boyutlu (2D) NMR teknikleri ve EI-kütle spektrometresi kullanılarak aydınlatıldı. Yapıları aydınlatılan maddelerin pentasiklik triterpenoid türünde maddeler olduğu bulundu. Yapılan literatür araştırması sonucu 1 ve 2 no'lu maddelerin yeni ve diğer 3 ve 4 no'lu maddelerin ise bilinen doğal maddeler [2-76] olduğu tespit edildi. Fakat, *C. lactiflora* bitkisinden ilk defa bu araştırmada bu doğal maddelerin yapıları aydınlatıldı.

1.2. Terpenler

Terpenler, doğada, özellikle de bitkilerde yaygın olarak bulunan bileşiklerdendir. Oluşumları genellikle izopren kuralı olarak bilinen bir kurala göre gerçekleştirilir. Bu kurala göre; izopren moleküllerinden birinin başı, diğerinin sonuna gelecek şekilde bağlanma gerçekleşir.



Baş-kuyruk birleşmesinde izopiren kuralı;



Terpenler, içerdikleri izopren molekülü sayısına göre aşağıdaki gibi sınıflandırılırlar:

- Monoterpenler, C₁₀H₁₆
- Seskiterpenler, C₁₅H₂₄
- Diterpenler, C₂₀H₃₂
- Triterpenler, C₃₀H₄₈
- Tetraterpenler, C₄₀H₆₄
- Politerpenler, (C₅H₈)_n

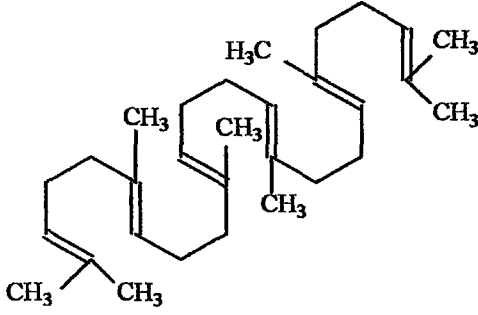
Terpenler, doymuş veya doymamış, düz zincirli veya halkalı hidrokarbonlar olabilecekleri gibi; alkol veya keton grupları da içerebilirler. C ve H'den başka diğer atomları içeren bileşiklere terpenoidler denir. Terpenoidlerin ana kaynakları uçucu yağlardır. Bunlar terpenlerin, seskiterpenlerin, alkollerin, aldehytlerin, ketonların, asitlerin ve esterlerin kompleks bir karışımını içerirler. Uçucu yağların ekstraksiyonu için buhar destilasyonu, uçucu bir çözücü ile ekstraksiyon gibi çeşitli yöntemler kullanılır. Bileşenlerin saf bir şekilde ayrılması vakum destilasyonu ve kromatografik yöntemlerle sağlanır [64-76].

Terpenlerin en önemli sınıfını triterpenler oluşturur. Triterpenler, esterler veya glikosidler gibi bitki aleminde oldukça fazla bulunan, beş veya altı izopren molekülünden oluşan, otuz karbonlu bileşiklerdir.

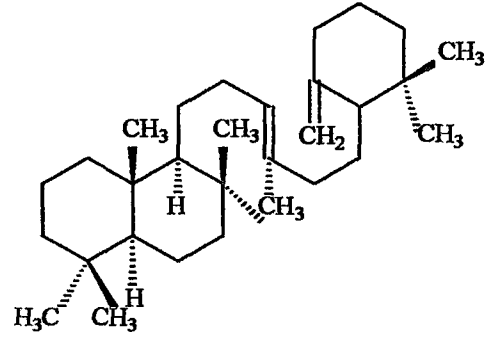
Triterpenler, terpenlerin bir sınıfı olmasının yanında kendi içinde de üç alt sınıfa ayrılır.

- Asiklik triterpenler
- Tetrasiklik triterpenler
- Pentasiklik triterpenler

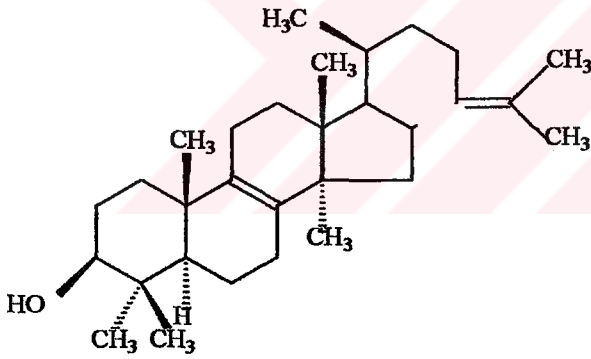
Asiklik triterpenlere, aşağıda yapıları gösterilmiş olan skualen ve ambrein; tetrasiklik triterpenlere lanosterol ve agnosterol örnek olarak verilmiştir.



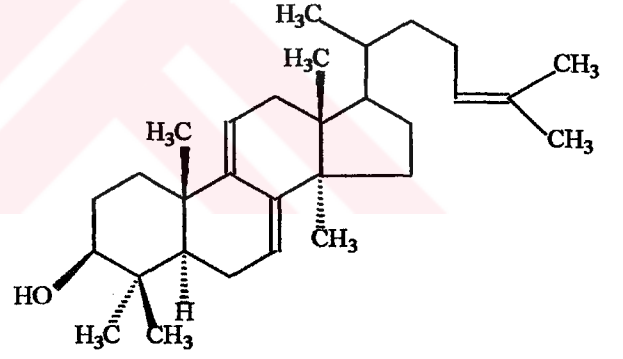
Skualen



Ambrein

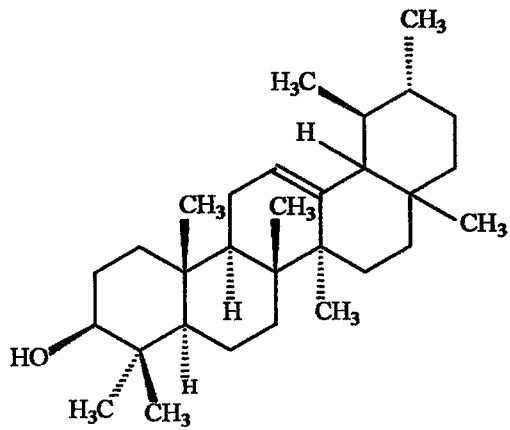
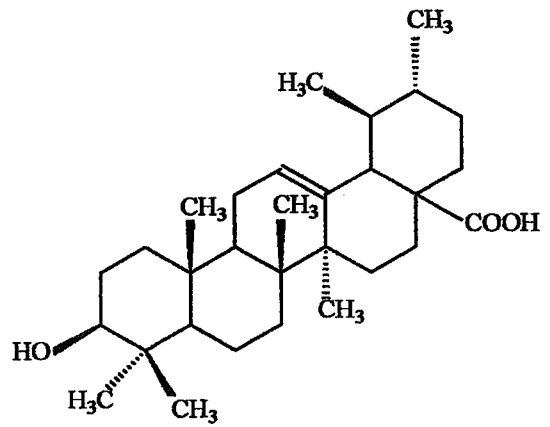


Lanosterol

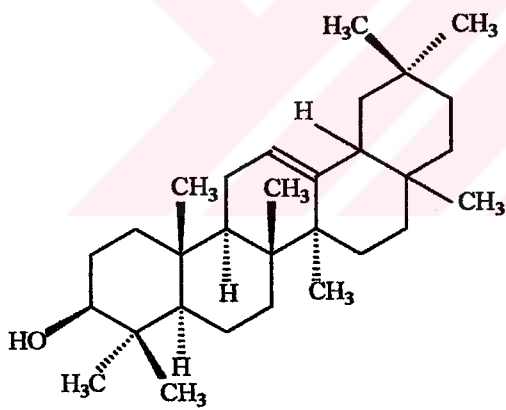
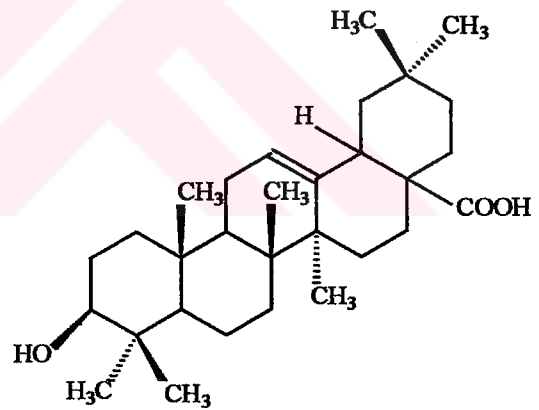


Agnosterol

Pentasiklik triterpenler; α -amirin, β -amirin ve lupeol ile ilişkilendirilerek kendi içlerinde üç gruba ayrılırlar. Aşağıda bu gruplara dahil olan maddelere birkaç örnek verilmiştir.

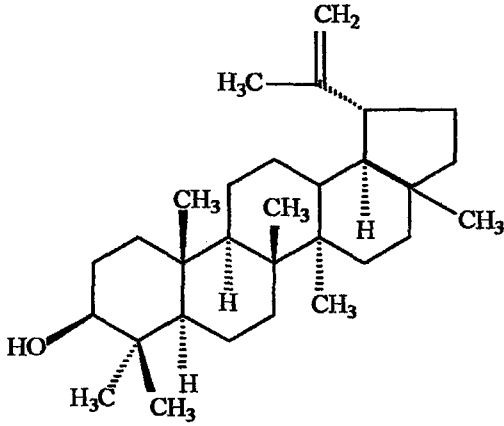
α -Amirin grubu; α -Amirin

Ursolik asit

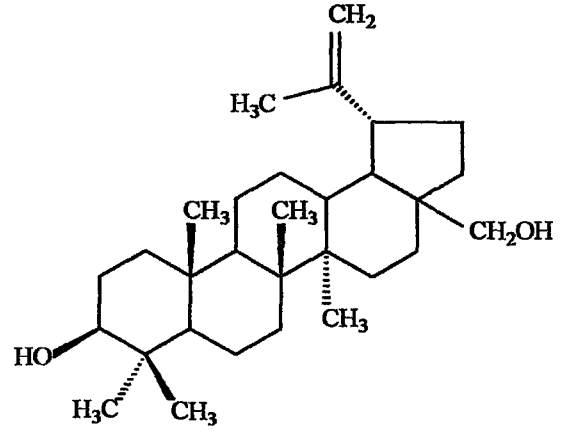
 β -Amirin grubu; β -Amirin

Oleonolik asit

Lupeol grubu;

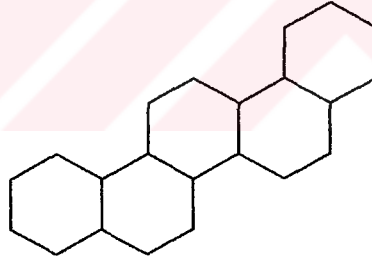


Lupeol

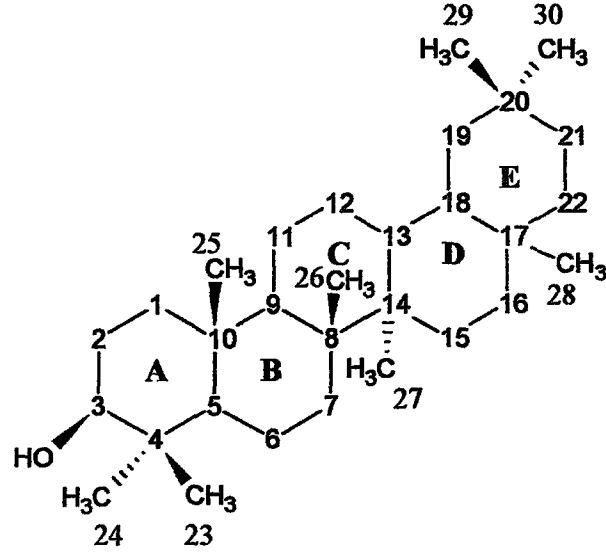


Betulin

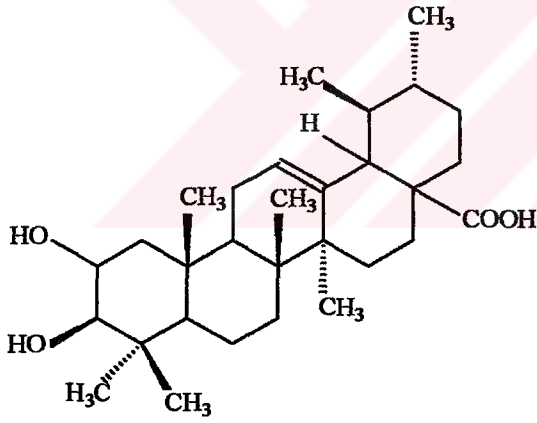
Pentasiklik triterpenler beş sikloheksan halkasından meydana gelir. Çok nadir durumlarda bu halkanın modifikasyonu söz konusudur.



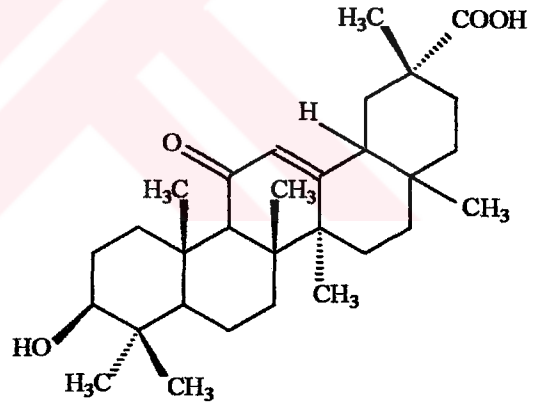
Halkalar A, B, C, D ve E olarak işaretlenir ve karbon atomları A'dan E'ye doğru numaralandırılır. Halkalardaki karbonlardan sonra metil gruplarının ve sonra da varsa yan zincirin numaralandırılması yapılır. Bu adlandırma aşağıdaki örnekte açıkça görülebilir.



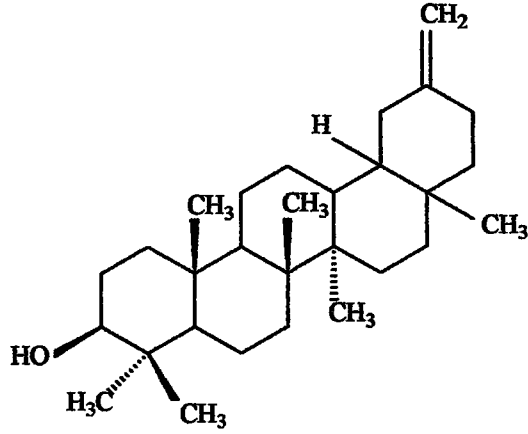
Pentasiklik triterpenler sınıfını oluşturan bileşikler de diğer terpen türü bileşiklerde olduğu gibi bir çok fonksiyonel grup içerebilirler. Aşağıda bu gruplardan bazılarını içeren doğal pentasiklik triterpenlere birkaç örnek verilmiştir.



Asiatik asit



Glisiretik asit



Taraksterol

1.3. Kromatografi

Bileşiklerin ayrılma, saflaştırma ve tanınmaları için en çok kullanılan işlemlerden biri de kromatografidir. Kimyasal ve fiziksel özellikleri birbirine çok yakın olan bileşiklerden oluşan karışımları kromatografik yöntemlerle tümüyle, kolayca ve kısa sürede ayırma olanağı vardır. Kromatografi, bir karışımın poröz bir ortamda, hareketli bir çözücünün etkisiyle, karışımı oluşturan bileşiklerin farklı hareketleri ve sabit faz tarafından farklı hızlarda adsorbe edilmeleri sonucu bileşenlerine ayrılması olarak tanımlanabilir. Bu yöntem, ilk kez renkli ve renkli olmayan bileşiklerin ayrılmasında uygulandığı için “Kromatografi” adı verilmiştir. Bu teknik hem sentetik hem de doğal maddelerin izolasyonlarında oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [77].

Kromatografik ayırmalarda partiyon, adsorbsiyon, jel-filtrasyon, iyon değişirme gibi ve de hareketli faz olarak saf çözücü veya çeşitli polarite derecesine sahip çözücü karışımları kullanılır [77].

1.3.1. Kolon Kromatografisi

Bilinen ve kullanılan en eski kromatografi yöntemi olup, ilk kez bir Rus botanikçisi olan M. Tswett’in bitkiler üzerinde yaptığı çalışmalarda kullanılmıştır. Fazla miktardaki karışımların ayrılmasında etkili bir ayırma tekniğidir. Günümüzde karışımların

ayrılmasında ve saflaştırılmasında gerek organik kimyada gerekse bitki kimyasında ve biyokimyada oldukça fazla kullanılmaktadır.

Kolon kromatografisinde en basitinden en gelişmişine kadar sabit faz olarak selüloz, silikajel, kiselgur aliminyum oksit, magnezyum oksit, kalsiyum oksit, aktif kömür gibi adsorbanlar kullanılır. Bunlardan en çok tercih edilenleri ise alümina, silikajel ve sellüloz'dur. Hareketli faz olarakta genellikle, polarite artışlarına göre sırasıyla, hekzan, siklohekzan, benzen, kloroform, dietiler, etil asetat, aseton, etanol ve su kullanılır.

Bu yöntemde sabit faz, ucu cam pamuğuyla kapatılmış bir cam kolona, kuru veya uygun bir çözücüyle birlikte ıslatılmış olarak doldurulur. Kendi halinde çökeliş kolona yerleşmesi beklenir. Kolona verilecek örnek uygun bir çözücüde derişik bir çözelti verecek şekilde çözülür, bir pipet veya cam baget yardımıyla kolonun üstünden yavaşça ilave edilir. Bu sırada adsorbanın üst düzeyinin bozulmamasına özen gösterilmelidir. Ayrılma, sabit faz ile çözücü arasında, ayrılması istenen maddelerin polarlıklarına ve çözünürlüklerine bağılı olarak dağılması prensibine dayanır. Kolona ilave edilen çözelti yer çekimi etkisiyle adsorban üzerinde aşağıya doğru akarken, çözeltideki maddeler, adsorban tarafından tek tek ve ayrı ayrı birer adsorbsiyon bandı oluşturarak tutulur. Bu maddelerin ayrı ayrı toplanabilmesi için, kolondaki maddeleri aşırı miktarda bir çözücü ile yıkamak ve alt kısımdan akan çözeltiyi ayrı ayrı ve küçük fraksiyonlar halinde toplamak yolu izlenir [77].

1.3.2. Hava Basınçlı Kolon Kromatografisi

İlk defa 1978 yılında Stil, Kohn ve Mitra tarafından hava basınçlı kolon kromatografisi ortaya atılmış bir teknik olup, kromatografik ayırmaların daha kısa sürede yapılabilmesinden dolayı, günümüzde çokça kullanılan bir ayırma yöntemidir. Hava basınçlı kolon kromatografisi tekniğinin uygulanması çok basit ve ucuzdur. Bunun için mümkün derecede ucuz olan, değışen uzunlukta ve 10-50 mm çapındaki cam kolonlar kullanılır. Kolonun ucundaki adaptörler tercihe bağılı olup, hava veya nitrojen basınç kaynağının uygun hortum yardımıyla kolona bağlanmasını sağlarlar. Burada uygulanan basınç kontrollü olmalıdır. Bunun için basınç ölçecek saatler mevcuttur. Uygulanacak basınç şiddeti kolonun büyüklüğüne ve ayrılması istenen maddelerin R_f değerlerine bağılıdır. Bu teknik ile 0.01 – 10 g kadar ham karışımlar kolon büyüklüğüne bağılı olarak kısa sürede (5-30 dk) ayrılabilir. Genelde, ayrılması istenen madde miktarı kullanılan kolonun çapı ile orantılıdır. Kolondan toplanan fraksiyon belirli miktarlarda ya kontrollü

ya da kolektör vasıtası ile toplanır. Daha sonra bu fraksiyonlar ince tabaka kromatografisi (TLC) tekniği ile kontrol edilip aynı fraksiyonlar tekrar karıştırılır. Hava basınçlı kolon kromatografisinde kolon çapı ile madde miktarı arasındaki ilişki aşağıda gösterilmiştir. (Kolon içindeki adsorblayıcının boyu yaklaşık 15-20 cm'dir [77-78].)

Kolon Çapı (mm)	Yüklenen Madde (mg)	
	$\Delta R_f > 0.2$	$\Delta R_f > 0.1$
10	100	40
20	200	160
30	900	360
40	1600	600
50	2500	1000

1.3.3. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK,TLC)

İnce tabaka kromatografisi, cam veya inert bir tabaka üzerine sürülmüş 0.25 mm kalınlığındaki bir adsorban üzerinde hareketli çözücü yardımıyla madde karışımını ayırma ve tanıma tekniği olarak tanımlanabilir.

Kromatografi tabakaları, kullanılacak adsorbanın genellikle saf suyla hazırlanmış koyu bir süspansiyonunun cam levhalar üzerine yayılmasıyla hazırlanır. Ayrılması istenen karışım uygun bir çözücüde çözüldükten sonra tabakanın alt kenarından 1-1.5 cm yüksekte bir yere işaretlenir. İşaretleme için ince bir kapilerden yararlanılır. İşaretleme bittikten sonra tabaka uygun çözücü ya da çözücü karışımının bulunduğu bir tanka konur ve çözücünün kapiler etki ile adsorban üzerinde yükselmesi sağlanır. Bir süre sonra levha üzerinde farklı hızlarda yükselerek ayrılan maddeler tanımlanır.

İTK'da çözücü sistemi hazırlanırken polarlık dikkate alınmalıdır. Örneğin; polar bir bileşik polar bir çözücü sistemi ile yürütülürse daha büyük bir R_f değeri elde edilir ve madde iyi ayrılır. Bunun için çözücü sistemi, ayrılacak bileşiklere uygun seçilmelidir.

Eğer ayrılan komponentler renkli ise hiçbir işleme gerek kalmadan lekeler görülür. Ancak ayrılması istenen karışımdaki komponentler renksiz ise bu taktirde lekelerin yerini belirlemek için ya UV ışığı kullanılır ya da tanınacak madde tipleri ile reaksiyon verecek

reaktifler adsorban üzerine püskürtülerek renklenme sağlanır. Bazı bileşikler için levha ısıtılarak bileşikleri içeren lekelerin kömürleşmesi sağlanır. Kömürleşme seyreltik sülfürik asit püskürtülerek yapılabileceği gibi çok sayıda belirteç reaktiflerle de yapılabilir [77].

1.4. Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR)

Doğal maddelerin yapılarının aydınlatılmasında infrared (IR), ultraviyole (UV), kütle (EI-MS, GC-MS, FAB-MS) ve nükleer manyetik rezonans (NMR) gibi spektroskopik teknikler kullanılmaktadır.

Bazen bu tekniklerden sadece bir tanesi, bazen de bu teknikler kombine bir şekilde kullanılmaktadır. Bu tekniklerden, IR molekülde bulunan fonksiyonel gruplar hakkında, EI-MS, CI-MS, FAB-MS gibi teknikler moleküler iyon piki ve diğer fragmentler hakkında, UV moleküldeki çifte bağların konjugasyonu hakkında ve çağın aleti olarak nitelendirilen NMR maddenin C-H iskeleti hakkında bilgi vermektedir. Yapı tayinlerinde tek başına yeterli olmamakla birlikte, NMR ile diğer analitik cihazlarda elde edilen bilgiler kıyaslanınca, en detaylı ve en sağlıklı bilgilerin NMR spektrumlarından elde edildiği gerçeği ortaya çıkmaktadır. Burada NMR'ın magnet gücü önemli rol oynar. Mümkün olduğu kadar magnet gücü fazla olan cihazlar tercih edilir.

NMR spektroskopisi diğer spektroskopi dalları (IR, UV) gibi maddede, iki seviye arasındaki enerji farkını ölçmek için geliştirilmiştir. Ancak NMR'ın çekirdekle ilgili olması ve kuvvetli manyetik alana ihtiyaç göstermesi farklılık olarak ortaya çıkmıştır.

NMR spektrumlarının kaydedilmesinde numune hazırlanması önemlidir. NMR numunesi hazırlanırken, 1-50 mg kadar numune uygun bir çözücüde çözülür. Çözelti hazırlandıktan sonra özel cam krozeden süzülmesi tavsiye edilir. Aksi halde, ortamda bulunabilecek herhangi bir yabancı madde, özellikle de çıplak gözle zor görülen çok küçük parçacıklar, manyetik alanın homojenliğini bozar ve pikleri genişletir. Tüm bu aşamalardan sonra hazırlanan numune çözeltisinden 0.5 mL alınarak; çapı 5 mm, uzunluğu 18 cm olan NMR tüplerine konur. Az miktarda TMS ilave edilir. Günümüzde genellikle ^1H NMR'ı kullanıldığı için kullanılan çözücünün proton içermemesi (CCl_4 v.b) ya da çözülebiliyorsa CDCl_3 gibi apolar çözücülerde, çözünmesi güçse D_2O gibi protonları döteryum ile değiştirilen çözücüler olması gerekir. Döteryumlu çözücülerden ise en ucuzu tercih edilmelidir. Seyreltik çözeltilerde, konsantrasyonun kimyasal kaymaya herhangi bir etkisi

gözlenmez. Ancak aromatik bileşiklerde konsantrasyon artınca, kimyasal kayma değerlerinde değişiklikler gözlenir.

^{13}C NMR ile ^1H NMR ölçümleri, organik bileşiklerin yapı tayininde birbirlerini en iyi şekilde tamamlayan yöntemlerdir. Örneğin; ^1H NMR spektrumlarında, protonun doğrudan bağlı olmadığı karbon atomları (kuaterner karbon atomları gibi) gözlenemezken, ^{13}C NMR spektroskopisi ile çok kolay gözlenebilmekte ve karakteristik pikler vermektedir. O halde, ^{13}C NMR ile ^1H NMR spektroskopisini birbirinden ayırmak veya bunları ayrı ayrı düşünmek mümkün değildir.

^{13}C rezonansının tam kimyasal kayma değerleri TMS'den aşağı bölgede 0-200 ppm arasındadır. Bu, ^{13}C spektrumlarında pik örtüşmesi olasılığının daha az olması demektir. Bir karbonun kimyasal kayma değerindeki farklılık, bağın karakterine göre atomların elektronegativiteleri ile değişmektedir. ^{13}C NMR spektrumunda rezonans olan karbon atomlarının farklı türden hibritize (sp^3 , sp^2 , sp) olmaları nedeniyle durulma zamanları farklı olup, pik yükseklikleri de ona paralel olarak farklıdır.

NMR spektroskopisinin bir boyutlu (1D) ve iki boyutlu (2D) çeşitli teknikleri vardır. 1D spektrumlarda ^1H NMR spektrumu maddedeki proton piklerini, DEPT ve APT maddedeki karbon türlerini, 1D-NOE maddedeki komşu protonların korelasyonlarını, gösterir. 2D NMR spektrumlarından, COSY maddedeki komşu protonların iki boyutlu korelasyonları, HMQC bir bağ mesafesinde bağlı karbon ile proton atomları arasındaki korelasyonu, daha açık bir ifadeyle hangi protonun hangi karbona ait olduğu, HMBC maddedeki iki veya üç bağ mesafesinde H-C korelasyonları, NOESY maddedeki uzaysal protonların korelasyonları, TOCSY maddedeki komşu protonların toplam korelasyonları hakkında bilgi vermektedir [79-80].

1.5. Kütle Spektroskopisi

Kütle spektrometri, maddelerin elementel bileşimlerinin belirlenmesinde; inorganik, organik ve biyolojik moleküllerin yapılarının aydınlatılmasında; karmaşık karışımların kalitatif ve kantitatif analizlerinde; katı yüzeylerinin yapılarının ve bileşimlerinin aydınlatılmasında; bir numunedeki atomların izotopik oranlarının bulunmasında oldukça yararlı bir yöntemdir. Bu yöntem, özel bir düzenek kullanılarak (+) yüklü parçacıklar

meydana getirilmesi; bu parçacıkların m/z oranlarına göre ayrılmaları ve bunlardan yararlanarak numunenin ağırlığının tespit edilmesi prensibine dayalıdır.

Kütle spektroskopisinde, (+) yüklü tanecikler bir molekül iyonu ve metal iyonu olabileceği gibi molekülün parçalanmasıyla oluşan bir parçacık da olabilir. Elektron çarpması sonucu elde edilen bu (+) yüklü tanecikler spektrumda m/z değerine göre birer pik verirler. Her spektrumda en büyük olan pik temel pik olarak adlandırılır ve bu pik 100 değerine karşılık olarak kabul edilir. Geri kalan piklerin yükseklikleri bu temel pike oranlanarak, temel pikin yüzdesi cinsinden uygun yükseklikte verilir. Kütle spektrumlarında, elektron akışı ile bombardımanı sonucunda bir elektron kaybetmesiyle oluşan ve M^+ olarak sembolize edilen bir diğer önemli pik moleküler iyon pikidir. Bu pikin m/z oranı, sadece bir elektron kaybederek iyon haline geçen orijinal molekülün, molekül ağırlığını vermesi açısından önemlidir. Yapı aydınlatılmasında en son işlem olarak kütle spektrumunun alınması, maddenin yapısının ispat edilmesi açısından uygundur. Tabii ki kütle spektrumunda da EI-MS, CI-MS, FD-MS ve FAB-MS gibi değişik teknikler olup, maddelerin polarlık derecelerine veya fonksiyonel grupların özelliklerine göre değişik teknikleri uygulanabilir [81-82].

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Çözücülerin Saflaştırılması

Bütün teknik çözücüler metanol, aseton, kloroform, etil asetat ve n-hekzan kullanılmadan önce fraksiyonlu destilasyon sistemiyle saflaştırıldı.

2.2. Enstrümantasyon

Spektrumlar Bruker 400 MHz (^1H frekansı) (100 MHz ^{13}C frekansı) ve Varian Mercury 200 MHz NMR (25 MHz ^{13}C frekansı) aletinde New Brunswick Üniversitesi, Kimya Bölümü, Kanada ve Karadeniz Teknik Üniversitesi, Kimya Bölümü, NMR laboratuvarında alındı. El kütle spektrumları, New Brunswick Üniversitesi, Kimya Bölümü, Kanada da alındı. İki boyutlu spektrumların bazılarında spektrumlar yazdırılırken kimyasal değerlerinde kaymalar vardır.

2.3. İzolasyon

Campanula lactiflora bitkisi Ağustos-1996 tarihinde Trabzon Arpalı mevkiinden (rakım ~2000) toplandı [1]. Bitkinin yaprakları koparılarak laboratuvar ortamında kurutuldu (0.388 kg). Destile kloroform ile (3 kez, 350 ml her biri, 24 saat) ve daha sonra destile metanol ile (3 kez, 300 ml her biri, 24 saat) bir erlen içerisinde ekstrakte edildi. Ekstraktların 35°C'de evaporatörde çözücülerini uçuruldu. Kloroform ekstraktından 4.2 g ve metanol ekstraktından 11.6 g ham kuru ekstreler elde edildi. Ham ekstrelerin İTK analizleri sonucu benzer bileşenli maddeler oldukları bulundu ve karıştırıldı. Bu ham karışım CL olarak kodlandı. Bu ham karışımdan 10.2 g alınıp doğal maddeleri saflaştırmak için hava basınçlı normal faz silikajel kolon kromatografisi (Silikajel (230-400 mesh), 300 g, 75x5 cm çaplı kolon) ile fraksiyonlandırıldı. Kolon n-hekzan (50 ml), çözücü karışımının artan polarite derecesine göre; n-hekzan- CH_2Cl_2 (2:1, 150 ml; 1:1, 150 ml), CHCl_3 (200 ml), CHCl_3 -MeOH (10:1, 300 ml; 8:2, 300 ml, 7:3, 300 ml, 1:1, 300 ml), MeOH (200 ml), CHCl_3 -MeOH- H_2O (7:3:1, 300 ml; 5:5:2, 300 ml) ve son olarak H_2O (50 ml) çözücü ve

çözücü karışımıyla elue edilip, 37 fraksiyon (~ 50-60 ml) toplandı. İnce tabaka kromatografisi (İTK) analizleri sonucu fraksiyonlar aşağıda belirtildiği gibi karıştırılıp kodlandı.

No	Karıştırılan fraksiyonlar		R _f
Fraksiyon 1 (CL1)	1-3	(174 mg)	R _f = 0.98, Karışım (CHCl ₃ - MeOH, 2:0.1)
Fraksiyon 2 (CL2)	4	(230 mg)	R _f = 0.95, 0.80, Karışım (CHCl ₃ -MeOH, 2:0.1)
Fraksiyon 3 (CL3)	5	(322 mg)	R _f = 0.80, Karışım (CHCl ₃ -MeOH, 2:0.1)
Fraksiyon 4 (CL4)	6-13	(156 mg)	R _f = 0.5-0.15, Karışım (CHCl ₃ -MeOH, 2:0.1)
Fraksiyon 5 (CL5)	14-18	(135 mg)	R _f = 0.3-0.1, Karışım (CHCl ₃ -MeOH, 2:0.1)
Fraksiyon 6 (CL6)	19-22	(235 mg)	R _f = 0.1-0.0, Karışım (CHCl ₃ -MeOH, 2:0.1)
Fraksiyon 7 (CL7)	23-37	(750 mg)	R _f = 0.8-0.2, Karışım (CHCl ₃ -MeOH, 1:1)

Fraksiyon 1' in İTK ve ¹H NMR spektroskopik verileri sonucu yağ ve apolar hidrokarbon türü maddelerin karışımı olduğu tespit edildi.

Fraksiyon 2, CL2 (230 mg)' in İTK analizi (normal silikajel, 230-400 mesh) (CH₂Cl₂, R_f = 0.40-0.20) sonucu saf olmadığı anlaşılmış olup tekrar normal faz silikajel kolon Kromatografisi (CC) (Silikajel 60, 230-400 mesh, 30 g, 75 x 2 cm) ile saflaştırıldı. Kolon n-hekzan (50 ml), n-hekzan- CHCl₃ (2.5:0.5, 200ml; 1:1, 50 ml) ve son olarak CHCl₃ (50 ml) çözücü ve çözücü karışımıyla elue edilip, 36 fraksiyon (~5-10 ml) toplandı. İTK analizleri sonucu 13 no'lu fraksiyon 3 no'lu (19 mg) maddeyi verdi (n-hekzan- CH₂Cl₂, 1:2 R_f = 0.40). Diğer fraksiyonların karışım oldukları bulundu. 3 no'lu maddenin spektroskopik analizleri (¹H, ¹³C, DEPT, COSY NMR ve EI-MS) yapıldı. Analiz sonucu 3 no'lu madde 3β-asetoksi-ptiloepoksid olarak aydınlatıldı.

Fraksiyon 3, CL3 (322 mg)' ün İTK analizi sonucu saf olmadığı anlaşılmış olup tekrar normal faz silikajel kolon kromatografisi (Silikajel 60, 230-400 mesh, 70 g, 60 x 3 cm) ile saflaştırıldı. Kolon n-hekzan-CH₂Cl₂ (2:1, 150 ml) çözücüsü ile elue edildi. İlk 100 ml eluatta hiç madde gelmedi. Fakat son 50 ml' lik eluatlar ~ 2-5 ml olacak şekilde 35 fraksiyon toplandı. İTK analizleri sonucu 2-3 no'lu fraksiyonlar karıştırılıp bir başka çözücü sisteminde tekrar karışım olduğu görüldü ve PTLC ile (20x20 cm, 0.25 mm, 3

plaka) aseton-metanol (3:1) çözücüsü kullanılarak saflaştırıldı. PTLC sonucu 2 ayrı bant (CL32A, 4 mg, $R_f = 0.65$, aydınlatılmamış terpen; CL32B, 27 mg, $R_f = 0.52$) elde edildi. İkinci bant (CL32B) metanol-aseton çözücü sisteminde kristallendirilip süzüldü ve 4 no'lu maddeyi verdi. 4 no'lu maddenin spektroskopik analizleri (1H , ^{13}C , DEPT, COSY NMR ve EI-MS) yapıldı. Analiz sonucu 4 no'lu madde 3 β -asetoksi-germanikol olarak aydınlatıldı.

Fraksiyon 4, CL4 (74 mg)'ün İTK analizi (normal silikajel, 230-400 mesh) (CH_2Cl_2 , $R_f = 0.40-0.20$) sonucu saf olmadığı anlaşılmış olup preparatif (PTLC) normal faz silikajel kromatografisi (20x20 cm, 0.5 mm, 2 plaka) ile n-hekzan-EtOAc (2.5:0.5) çözücü karışımı ile saflaştırıldı (CL4A, 28 mg, $R_f = 0.72$; CL4B, 135 mg, $R_f = 0.48$ terpen karışımı). İlk bantın (CL4A) metilenklorür çözücüsü içinde İTK analizi sonucu karışım olduğu bulundu. Tekrar preparatif PTLC (20x20 cm, 0.5mm) analizi sonucu ikinci bant 2 no'lu maddeyi (CL4AB, 13 mg, CH_2Cl_2 , $R_f = 0.47$) verdi. Diğer bantların karışım olduğu tespit edildi. 2 no'lu maddenin spektroskopik analizleri (1H , ^{13}C , DEPT, COSY NMR ve EI-MS) yapıldı. Analiz sonucu 2 no'lu madde 3 β -asetoksi-lup-20(29)-en olarak aydınlatıldı.

Fraksiyon 5, CL5 (135 mg)' in İTK analizi sonucu saf olmadığı anlaşılmış olup tekrar normal faz silikajel kolon kromatografisi (Silikajel 60, 230-400 mesh, 35 g, 40x2 cm) ile saflaştırıldı. Kolon n-hekzan (50 ml), n-hekzan- CH_2Cl_2 (3:0.5, 100 ml; 3:1, 100 ml; 1:1, 100 ml; 3:1, 100 ml) ve son olarak n-hekzan- CH_2Cl_2 - $CHCl_3$ (1:1:0.5, 100 ml) çözücü ve çözücü karışımıyla elue edilip, 23 fraksiyon (1-4 no'lu fraksiyonlar ~ 50 ml ve 5-23 no'lu fraksiyonlar ~ 5-10 ml her biri) toplandı. İTK analizleri sonucu 5-7 no'lu fraksiyonlar karıştırılıp bir başka çözücü sisteminde tekrar karışım olduğu görüldü ve PTLC ile (20x20 cm, 0.25 mm, 2 plaka) n-hekzan-EtOAc (3:1) çözücüsü kullanılarak saflaştırıldı. PTLC sonucu 5 ayrı bant (CL5A, 3 mg, $R_f = 0.85$, yağ; CL5B, 2 mg, $R_f = 0.80$, yağ; CL5C, 2 mg, $R_f = 0.75$, aydınlatılmamış terpen; CL5D, 9 mg, $R_f = 0.70$; CL5E, 5 mg, $R_f = 0.63$, aydınlatılmamış terpen) elde edildi. Dördüncü bant (CL5D) 1 no'lu maddeyi verdi. 1 no'lu maddenin spektroskopik analizleri (1H , ^{13}C , DEPT, COSY NMR ve EI-MS) yapıldı. Analiz sonucu 1 no'lu madde 3 β -asetoksi-lup-20(29)-en-30-al olarak aydınlatıldı.

6 ve 7 no'lu fraksiyonların polar şeker, flavon türü polar maddeler içerdikleri tespit edildi.

3 β -asetoksi-lup-20(29)-en-30-al, (1) : Yağımsı, $[\alpha]_D^{26} +26^\circ$ (CHCl₃; c 5x10⁻⁴); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) ve ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ (ppm) Tablo 2' ye bakınız; EI-MS m/z Tablo 3' e bakınız.

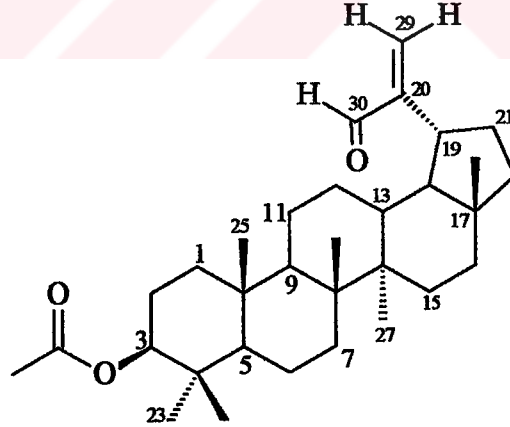
3 β -asetoksi-ptilopoksit, (2): Beyaz amorf kristaller, e.n. 242-246⁰ (dec); $[\alpha]_D^{80} +80^\circ$ (CHCl₃; c 2x10⁻⁴); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) ve ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ (ppm) Tablo 4' e bakınız; EI-MS m/z Tablo 5' e bakınız.

3 β -asetoksi-lup-20(29)-en, (3): ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ (ppm) ve ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ (ppm) Tablo 6'ya bakınız; EI-MS m/z Tablo 7' ye bakınız.

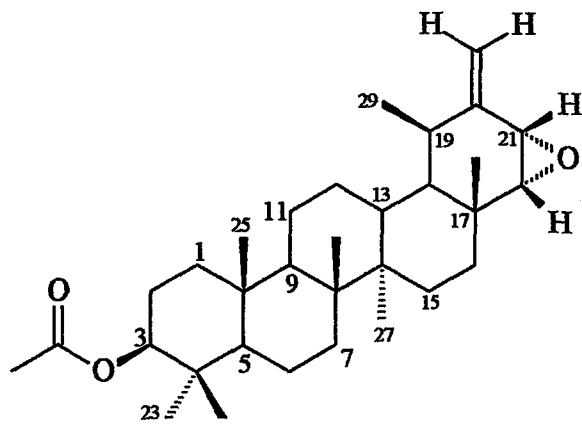
3 β -asetoksi-germanikol: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ (ppm) ve ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ (ppm) Tablo 8' e bakınız; EI-MS m/z Tablo 9' a bakınız.

3. BULGULAR

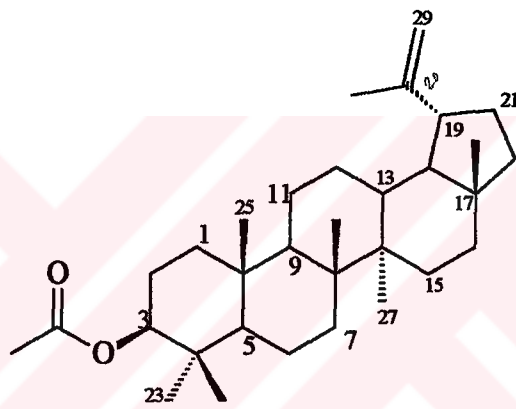
Bu çalışmada *Campanula lactiflora* bitkisinden 4 adet doğal madde; 3 β -asetoksi-lup-20(29)-en-30-al, 1; 3 β -asetoksi-ptiloepoksit, 2; 3 β -asetoksi-lup-20(29)-en, 3 ve 3 β -asetoksi-germanikol, 4; saf olarak izole edildi. İzole edilen bu maddelerin spektroskopik analizleri sonucu aşağıda gösterilen formül yapılarında oldukları ispatlandı. Bu çalışmada 400 ve 200 MHz' lik NMR cihazı kullanılarak sırasıyla ¹H, ¹³C, DEPT, 2D-COSY, HMQC, HMBC ve NOESY gibi NMR teknikleri kullanıldı. Molekül ağırlıklarının tespiti için EI-MS spektrumları alındı. Bu bileşiklerden aşağıda formülleri yazılı 3 ve 4 no'lu maddeler daha önce başka kaynaklardan izole edilip yapıları aydınlatılmıştır [64-76]. 1 ve 2 no'lu maddeler ise bitkilerde çok yaygın olarak bulunan pentasiklik triterpen türü maddelerdir. Bu çalışmada 1 ve 2 no'lu madde ilk defa bu çalışmada *C. lactiflora* bitkisinden izole edilip yapısı spektroskopik olarak aydınlatılmıştır [64-76]. Aşağıda bu çalışma sonucu izole edilip yapıları aydınlatılan 4 adet doğal maddenin formülleri görülmektedir.



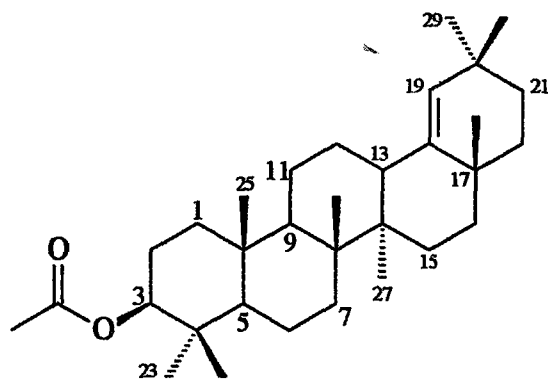
3 β -asetoksi-lup-20(29)-en-30-al, 1



3β-asetoksi-ptiloepoksit , 2



3β-asetoksi-lup-20(29)-en, 3



3β-asetoksi-germanikol, 4

4. TARTIŞMA

4.1. 1 No'lu Maddenin Spektroskopik Olarak Aydınlatılması

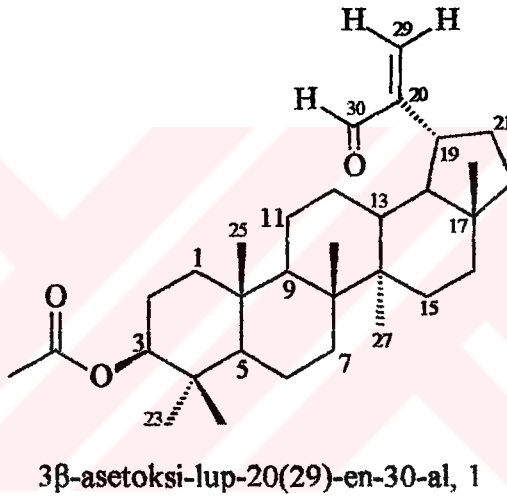
Son yıllarda spektroskopik alanlardaki gelişmeler sayesinde, doğal maddelerin yapıları daha kolay bir şekilde aydınlatılabilmektedir. Spektroskopik teknikler tek başlarına kullanılabildikleri gibi kombine bir şekilde de kullanılabilmektedir. Doğal maddelerin yapılarının aydınlatılmasında en fazla kullanılan spektroskopi **Nükleer Manyetik Rezonans (NMR)** cihazıdır [79, 80]. NMR'da geliştirilen 2D teknikleri sayesinde bilinmeyen kompleks doğal maddelerin yapıları çok rahatlıkla aydınlatılabilmektedir [79-82]. Bu spektroskopik teknikler sayesinde *Campanula lactiflora* bitkisinden saf olarak izole edilen 1-4 no'lu (3β -asetoksi-lup-20(29)-en-30-al, 1; 3β -asetoksi-ptilopoksit, 2; bilinen 3β -asetoksi-lup-20(29)-en, 3; 3β -asetoksi-germanikol, 4 maddelerin yapıları aydınlatıldı. *Campanula lactiflora* kimyasal bileşenleri açısından ilk defa bu araştırmada çalışılmıştır.

C. lactiflora bitkisinden elde edilen kloroform ve metanol ekstratlarının karışımı kolon Kromatografisi (CC) ve preparatif ince tabaka kromatografisi (PTLC) teknikleri kullanılarak 1-4 no'lu apolar karakterdeki maddeler izole edildi.

1 no'lu maddenin 400 MHz ^1H NMR Ek Şekil 1, ^{13}C NMR Ek Şekil 2-3, DEPT Ek Şekil 4-5, 2D-COSY Ek Şekil 6-8, TOCSY Ek Şekil 9, HMQC Ek Şekil 10-13, HMBC Ek Şekil 14-15, NOESY Ek Şekil 16-18 ve EI-MS Ek Şekil 19'da görüldüğü gibi alındı.

1 no'lu maddenin EI kütle spektrumunda moleküler iyon piki $[\text{M}]^+$ m/z 482 (%9) olarak görüldü. 1 no'lu bileşiğin EI-MS analiz sonucu $[\text{M}]^+$ değeri bileşiğin $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{O}_3$ moleküler formülüne sahip olduğunu gösterdi. 1 no'lu maddenin alınan ^{13}C NMR spektrumunda 32 adet karbon rezonansının (HMBC ve HMQC spektrumlarından ^{13}C NMR'daki iki tane pikin çakıştıkları tespit edildi) görülmüş olması kütle sonucu ile çok tutarlı olduğunu gösterdi. 1 no'lu maddenin ^{13}C NMR spektrumunda C-20 no'lu karbon pikinin çok zayıf olduğu tespit edildi (Ek Şekil 2-3) ve HMBC spektrumunda C-20 no'lu karbondan H-30 ve H-29 no'lu protonlara iki bağ mesafede ($^2\text{J}_{\text{H-C}}$) korelasyonlar görüldü (Ek Şekil 14-15).

1 no'lu maddenin 400 MHz NMR spektrumunda yedi adet metil (δ_H 0.86 (9H, s), 0.83, 0.93, 1.03, 2.05 (her biri 3H, s)), bir aldehit (δ_H 9.52, 1H, bs, H-30), iki olefinik proton H-29 için δ 6.31 (1H, bs), ve H-29' içinde δ 5.93 (1H, bs) ppm'de pikleri görüldü [64-76]. 1 no'lu madde UV aktif bir maddedir. Aldehit grubunun vinilik karbona substituye olması nedeniyle konjugasyon söz konusu olup UV ışık altında görünmektedir. Bileşiğin EI kütle spektrumunda 55 iyon pikinin görülmesi, bileşikte yan zincir olarak oksijenli izopropenil grubunun varlığını gösterdi. 1 no'lu bileşiğin diğer EI kütle spektrumu değerleri Tablo 2'de görülmektedir. Bu tür yan zincirler skimmial gibi başka doğal maddelerde de görülmüştür [83].



1 no'lu bileşiğin 1H NMR spektrumunda, triterpenler için karakteristik olan H-3 no'lu proton piki δ 4.46 (1H, m) ppm'de görüldü. Bu kimyasal kayma değerinin bu pozisyonda substituye olduğunu göstermektedir. Bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunda C-3 no'lu pikin δ 80.93 ppm'de olması bu pozisyonda substitusyonun olduğunu bir kez daha göstermektedir [64-76].

1 no'lu maddenin 1H NMR spektrumunda asetoksi grubunun metil piki δ 2.05 (3H, s) ppm'de ve ^{13}C NMR spektrumunda da δ 171.03 (ester C=O) ve 21.31 (asetil $-CH_3$) ppm'de görülen piklerin asetil grubunun varlığını gösterdi. Bu asetil grubunun C-3 no'lu karbonu substituye olduğu HMBC ve NOESY korelasyonlarından tespit edildi. Bazı HMBC ve NOESY korelasyonları, sırasıyla, Ek Şekil 14-15 ve Ek Şekil 16-18'de görülmektedir.

1 no'lu maddenin spektroskopik verilerinden bazı kimyasal kayma değerlerindeki farklılıkla lupeol [64, 76-83] türevi madde olduğu bulundu. Bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunda α , β -doymamış karbonil zincirin C-20 ve C-29 no'lu karbonlarının kimyasal kayma değerlerinde lupenil asetat ve lupenol'e göre sırasıyla 7 ve 22 ppm daha aşağı alanda (HMBC) bulunmaları aldehit grubunun varlığını göstermektedir [64, 76-83]. Aynı zamanda C-12 pikinin 2.55 ppm daha aşağı alana kaymış olması C-19'a substituye yan zincirdeki C-30 no'lu karbonil oksijenindeki ortaklanmamış elektron çiftinin uzaysal olarak yakın bir pozisyonda olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde etki nedeniyle, bileşiğin ^1H NMR spektrumunda, H-12 no'lu proton için δ 2.76 ppm'de görülen pik beklenenden daha aşağı alana kaymış olduğu tespit edildi (Ek Şekil 1).

1 no'lu madde için alınan bir boyutlu (1D; ^1H , ^{13}C ve DEPT) ve iki boyutlu (2D; COSY, TOCSY, NOESY, HMQC ve HMBC) NMR spektrumlarının yorumlanması ve literatür değerlerinin [64-76, 79-83] karşılaştırılması sonucu 1 no'lu bileşik 3 β -asetoksilup-20(29)-en-30-al olarak bulundu ve yeni bir bileşik olduğu ilk defa bu çalışmada tespit edildi. ^1H ve ^{13}C NMR değerleri Tablo 1'de ve EI kütle spektrumu değerleri Tablo 2'de görülmektedir.

Tablo 1. 1 no'lu maddenin ^1H ve ^{13}C NMR değerleri (CDCl_3)

1 ^{a,b}			
C No	^1H , δ (ppm)	DEPT	^{13}C , δ (ppm)
1	1.43, 1.26, m	CH ₂	38.36
2	1.62, 0.94, m	CH ₂	23.67
3	4.46, m	CH	80.93
4	-	C	37.38
5	0.82, m	CH	55.35
6	1.72, 1.53, m	CH ₂	18.17
7	1.54, 1.38, m	CH ₂	34.19
8	-	C	40.77
9	1.28, m	CH	50.13
10	-	C	37.03
11	2.16, 1.43, m	CH ₂	20.93
12	2.76, 1.22, m	CH ₂	27.63
13	1.40, m	CH	37.68
14	-	CH ₂	42.66
15	1.46, 1.38, m	CH ₂	27.30
16	1.68, 1.42, m	C	35.36

Tablo 1'in devamı

17	-	CH	43.26
18	1.41, m	CH	47.80
19	1.23, m	C	37.68
20	-	CH ₂	157.40
21	1.41, 1.39, m	CH ₂	27.63
22	1.47, 1.39, m	CH ₂	39.92
23	0.86, s	CH ₃	27.93
24	0.86, s	CH ₃	16.48
25	0.86, s	CH ₃	16.12
26	1.03, s	CH ₃	15.92
27	0.83, s	CH ₃	14.35
28	0.93, s	CH ₃	17.77
29	6.31, bs, 5.93, bs	CH ₂	132.17
30	9.52, bs	C	195.11
31	-	C	171.03
32	2.05, s	CH ₃	21.31

^a Kimyasal kayma değerleri TMS' ye göredir.

^b Kimyasal kayma değerleri ¹H, ¹³C, DEPT, 2D-COSY, TOCSY, HMQC, HMBC, NOESY spektrumları kullanılarak ve ACD NMR programı yardımıyla yapılmıştır.

Tablo 2. 1 no'lu maddenin EI kütle spektrum değerleri

m/z	%
[M] ⁺	482(9)
	468(39), 451(2), 438(2), 422(18), 407(18), 394(4), 381(16), 297(14), 215(22), 189(85), 135(72), 107(80), 96(74), 83(76), 60(78), 55(82), 43(100), 28(448).

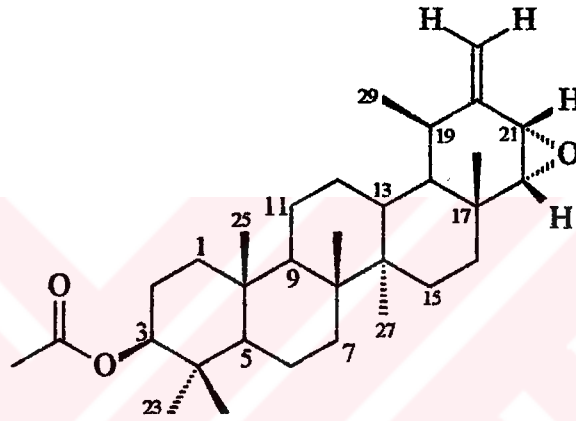
4.2. 2 No'lu Maddenin Spektroskopik Olarak Aydınlatılması

2 no'lu maddenin 400 MHz ¹H NMR Ek Şekil 20, ¹³C NMR Ek Şekil 21-22, DEPT Ek Şekil 23, 2D-COSY Ek Şekil 24-25, HMQC Ek Şekil 26-27, NOESY Ek Şekil 28-29 ve EI-MS Ek Şekil 30'da görüldüğü gibi alındı.

2 no'lu maddenin EI kütle spektrumunda moleküler iyon piki [M]⁺ m/z 482 (%6) olarak görüldü. 2 no'lu bileşiğin EI-MS analiz sonucu [M]⁺ değeri bileşiğin C₃₂H₅₀O₃ moleküler formülüne sahip olduğunu gösterdi. Kütle ve karbon sayısında 1 no'lu bileşiğin bir izomeri olduğu bulundu. Fakat NMR spektroskopik verilerinden farklı bir bileşik

olduğu tespit edildi. 2 no'lu maddenin alınan ^{13}C NMR spektrumunda 32 adet karbon rezonansının görülmüş olması kütle sonucu ile çok tutarlı olduğunu gösterdi [64, 76].

2 no'lu bileşik için alınan bir boyutlu (1D; ^1H , ^{13}C ve DEPT) ve iki boyutlu (2D; COSY, TOCSY, NOESY, HMQC ve HMBC) NMR spektrumlarının yorumlanması ve literatür değerlerinin [64, 76] karşılaştırılması sonucu 2 no'lu bileşik 3β -asetoksi-ptiloepoksit olarak bulundu. Ptiloepoksit bileşiği doğal bir pentasiklik triterpen bileşiği olup literatürde belirtilmiştir. Bu bileşiğin asetik anhidrit ile asetillenmesinden 3β -asetoksi-ptiloepoksit sentez edilmiştir [76].



3β -asetoksi-ptiloepoksit , 2

Fakat doğal bir madde olarak ilk defa bu çalışmada izole edilip yapısı aydınlatıldı. 2 no'lu maddenin ^1H ve ^{13}C NMR değerleri Tablo 3'de ve EI kütle spektrumu değerleri Tablo 5'de görülmektedir.

Tablo 3. 2 no'lu maddenin ^1H ve ^{13}C NMR değerleri (CDCl_3)

$2^{a,b}$			
C No	^1H , δ (ppm)	DEPT	^{13}C , δ (ppm)
1	1.76, 1.70, m	CH_2	38.39
2	1.63, 1.60, m	CH_2	23.66
3	4.50, dd, J= 5.6, 5.6 Hz	CH	80.92
4	-	C	37.78
5	1.38, m	CH	55.34
6	1.58, 1.42, m	CH_2	18.15
7	1.41, 1.27, m	CH_2	34.02

Tablo 3'ün devamı

8	-	C	40.99
9	1.35, m	CH	50.27
10	-	C	37.01
11	1.59, 1.24, m	CH ₂	21.42
12	1.66, 1.28, m	CH ₂	26.15
13	1.65, m	CH	37.90
14	-	C	42.23
15	1.80, 1.29, m	CH ₂	26.51
16	1.79, 1.42, m	CH ₂	33.62
17	-	C	36.28
18	1.45, m	CH	42.13
19	2.02, p, J = 6.8 Hz	CH	36.15
20	-	C	151.38
21	3.47, d, J = 4.4 Hz	CH	56.05
22	2.93, d, J = 4.4 Hz	CH	63.98
23	0.87, s	CH ₃	27.94
24	0.86, s	CH ₃	16.50
25	0.89, s	CH ₃	16.31
26	1.04, s	CH ₃	15.96
27	0.97, s	CH ₃	14.73
28	0.83, s	CH ₃	15.12
29	1.06, d, J = 6.4 Hz	CH ₃	27.23
30	5.07, br s, 4.88, br s	CH ₂	111.96
31	-	C	171.00
32	2.06, s	CH ₃	21.32

^aKimyasal kayma değerleri TMS' ye göre dir.

^bKimyasal kayma değerleri ¹H, ¹³C, DEPT, 2D-COSY, HMQC, NOESY spektrumları kullanılarak ve ACD NMR programı yardımıyla yapılmıştır.

Tablo 4. 2 no'lu maddenin EI kütle spektrum değerleri

m/z	%
[M] ⁺	482(6)
	466(7), 422(13), 407(15), 380(10), 339(9), 289(5), 249(12), 203(28), 189(100), 175(320), 135(63), 122(61), 108(58), 96(54), 83(48), 68(51), 55(42), 43(75).

4.3. 3 No'lu Maddenin Spektroskopik Olarak Aydınlatılması

3 no'lu maddenin 400 MHz ^1H NMR Ek Şekil 31 , ^{13}C NMR Ek Şekil 32-33 , DEPT Ek Şekil 34-35, 2D-COSY Ek Şekil 36-37 , HMQC Ek Şekil 38-39, EI-MS Ek Şekil 40'da görüldüğü gibi alındı.

3 no'lu maddenin EI kütle spektrumunda moleküler iyon piki $[\text{M}]^+$ m/z 468 (%5) olarak görüldü. 3 no'lu bileşiğin EI-MS analiz sonucu $[\text{M}]^+$ değeri bileşiğin $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_2$ moleküler formülüne sahip olduğunu gösterdi. 3 no'lu maddenin alınan ^{13}C NMR spektrumunda 32 adet karbon rezonansının görülmüş olması kütle sonucu ile çok tutarlı olduğunu gösterdi. Ayrıca 3 no'lu maddenin ^{13}C NMR spektrumunda δ 150.95 ve 109.34 ppm'de görülen piklerin olefinik karbona ait olukları ve Δ^{20} pozisyonunda olduğu literatür bilgisiyle ispatlanmıştır [64, 66, 74].

3 no'lu maddenin ^1H NMR spektrumunda aşağı alanda 4.70 (H-29, 1H, d, $J=2.4$ Hz), 4.58 (H-29', 1H, dk, $J=1.2$ ve 2.4 Hz) ve 4.49 (H-3, m), ppm ve yukarı alanda δ 1.70, 1.05, 0.96, 0.87, 0.86, 0.85, 0.80 ppm'de yedi adet tekli metil pikleri görüldü. Bulunan proton kimyasal kayma değerleri lupenol türü triterpen için karakteristik değerlerdir [64, 66, 74]. Ayrıca bileşiğin ^1H NMR spektrumunda δ 2.06 ppm'de asetil metil piki görülmesi, asetil grubunun C-3 no'lu pozisyonundan substituye olduğunu gösterdi.

3 no'lu maddenin ^{13}C NMR spektrumunda triterpen halkası için 30 karbon rezonansı bulundu (Tablo 5). ^{13}C NMR spektrumunda Ek Şekil 32'de görüldüğü gibi en aşağı alanda 3 adet sp^2 hibritize karbon pikleri (^{13}C : δ 177.00, 150.95, 109.34) görüldü. 3 no'lu maddenin DEPT spektrumunda, ^{13}C NMR spektrumunda gözlenen 30 adet karbon rezonanslarında; altı tane metin, on bir tane metilen ve 7 tane metil karbon atomu piki olduğu bulundu. 3 no'lu maddenin NMR değerleri Tablo 5'de görülmektedir.

Tablo 5. 3 no'lu maddenin ^1H ve ^{13}C NMR değerleri (CDCl_3)

$3^{a,b}$			
C No	^{13}C , δ (ppm)	DEPT	^1H , δ (ppm)
1	38.37	CH_2	
2	23.70	CH_2	
3	80.96	CH	4.49 (1H, m),
4	37.78	C	-
5	55.36	CH	

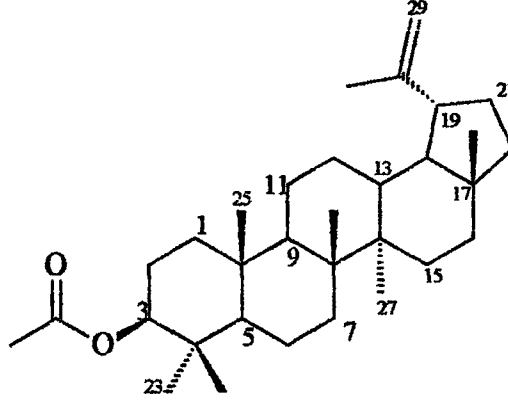
Tablo 5'in devamı

6	18.19	CH ₂	
7	34.20	CH ₂	
8	40.83	C	-
9	50.32	CH	
10	37.07	C	-
11	20.93	CH ₂	
12	25.08	CH ₂	
13	38.03	CH	
14	42.48	C	-
15	27.42	CH ₂	
16	35.55	CH ₂	
17	42.99	C	-
18	48.27	CH	
19	47.99	CH	
20	150.95	C	-
21	29.82	CH ₂	
22	39.88	CH ₂	
23	27.94	CH ₃	1.05, s
24	16.49	CH ₃	0.96, s
25	16.17	CH ₃	0.80, s
26	15.96	CH ₃	0.87, s
27	14.49	CH ₃	0.86, s
28	17.99	CH ₃	0.85, s
29	109.34	CH ₂	4.70 (1H, d, J= 2.4 Hz), 4.58 (1H, dk, J=1.2 ve 2.4 Hz)
30	19.27	CH ₃	1.70
31	171.00	C	-
32	21.32	CH ₃	2.06

^aKimyasal kayma değerleri TMS' ye göredir.

^bKimyasal kayma değerleri ¹H, ¹³C, DEPT, 2D-COSY, HMQC, NOESY spektrumları kullanılarak ve ACD NMR programı yardımıyla yapılmıştır.

3 no'lu bileşik için alınan bir boyutlu (1D; ¹H, ¹³C ve DEPT) ve iki boyutlu (2D; COSY ve HMQC) NMR spektrumlarının yorumlanması ve literatür değerlerinin [64-76, 79-83] karşılaştırılması sonucu 3 no'lu bileşiğin triterpen yapısında bilinen lupenil asetat maddesi olduğu bulundu [64, 66]. Fakat, 3β-asetoksi-lup-20(29)-en maddesi *C. Lactiflora* bitkisinden ilk defa bu çalışmada izole edilip yapısı aydınlatıldı. 3 no'lu maddenin ¹H ve ¹³C NMR değerleri Tablo 5'de ve EI kütle spektrumu değerleri Tablo 6'da görülmektedir.



3β-asetoksi-lup-20(29)-en, 3

Tablo 6. 3 no'lu maddenin EI kütle spektrum değerleri

m/z	%
[M] ⁺	468(5)
	453(4) 408(6), 365(4), 356(3), 296(6), 256(3), 249(5), 189(55), 175(18), 147(22), 121(36), 107(33), 69(28), 43(39), 41(13), 32(31).

4.4. 4 No'lu Maddenin Spektroskopik Olarak Aydınlatılması

4 no'lu maddenin 400 MHz ¹H NMR Ek Şekil 41 , ¹³C NMR Ek Şekil 42-43, DEPT Ek Şekil 44-45, 2D-COSY Ek Şekil 46-47, NOESY Ek Şekil 48-49 ve EI-MS Ek Şekil 50'de görüldüğü gibi alındı.

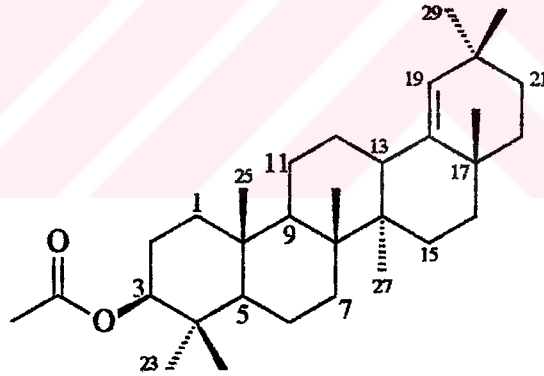
4 no'lu maddenin EI kütle spektrumunda moleküler iyon piki [M]⁺ m/z 468 (%5) olarak görüldü. 4 no'lu bileşiğin EI-MS analiz sonucu [M]⁺ değeri bileşiğin C₃₂H₅₂O₂ moleküler formülüne sahip olduğunu gösterdi. 4 no'lu maddenin alınan ¹³C NMR spektrumunda 32 adet karbon rezonansının görülmüş olması kütle sonucu ile çok tutarlı olduğunu gösterdi. Ayrıca 4 no'lu maddenin ¹³C NMR spektrumunda δ 142.68 ve 129.77 ppm'de görülen piklerin olefinik karbona ait olukları ve Δ¹⁸ pozisyonunda olduğu literatür bilgisiyle ispatlanmıştır [64-76].

4 no'lu maddenin ¹H NMR spektrumunda aşağı alanda δ 4.88 (1H, s), δ 4.50 (1H, m) ppm ve yukarı alanda δ 1.09, 1.03, 0.98, 0.96, 0.92, 0.87, 0.86, 0.75 ppm'de sekiz adet tekli metil pikleri görüldü. Bulunan proton kimyasal kayma değerleri germanikol türü triterpen için karakteristik değerleridir [64-76]. Ayrıca bileşiğin ¹H NMR spektrumunda δ

2.06 ppm'de asetil metil piki görülmesi, asetil grubunun C-3 no'lu pozisyonundan substituye olduğunu gösterdi.

4 no'lu maddenin ^{13}C NMR spektrumun da triterpen halkası için 30 karbon rezonansı bulundu (Tablo 7). ^{13}C NMR spektrumunda Ek Şekil 42'de görüldüğü gibi en aşağı alanda 3 adet sp^2 hibritize karbon pikleri (^{13}C : δ 171.03, 142.68, 129.77) görüldü. 4 no'lu maddenin DEPT spektrumun da, ^{13}C NMR spektrumunda gözlenen 30 adet karbon rezonanslarında; beş tane metin, on tane metilen, 8 tane metil ve 1 adet sp^2 hibritize karbon atomu piki [δ 129.77 (CH)] olduğu bulundu. 4 no'lu maddenin NMR değerleri Tablo 7'de görülmektedir.

4 no'lu bileşik için alınan bir boyutlu (1D; ^1H , ^{13}C ve DEPT) ve iki boyutlu (2D; COSY, NOESY) NMR spektrumlarının yorumlanması ve literatür değerlerinin [64-76] karşılaştırılması sonucu 4 no'lu bileşiğin triterpen yapısında bilinen germanikol asetat maddesi olduğu bulundu [64-76]. Fakat, 3β -asetoksi-germanikol maddesi *C. Lactiflora* bitkisinden ilk defa bu çalışmada izole edilip yapısı aydınlatıldı. 4 no'lu maddenin ^1H ve ^{13}C NMR değerleri Tablo 7'de ve EI kütle spektrumu değerleri Tablo 8'de görülmektedir.



3 β -asetoksi-germanikol, 4

Tablo 7. 4 no'lu maddenin ^1H ve ^{13}C NMR değerleri (CDCl_3)

4 ^{a,b}			
C No	^{13}C , δ (ppm)	DEPT	^1H , δ (ppm)
1	38.62	CH_2	
2	23.70	CH_2	
3	80.96	CH	4.50, m
4	37.15	C	-

Tablo7' nin devamı

5	55.58	CH	
6	18.15	CH ₂	
7	34.52	CH ₂	
8	40.76	C	-
9	51.13	CH	
10	37.83	C	-
11	21.13	CH ₂	
12	26.19	CH ₂	
13	38.40	CH	
14	43.33	C	-
15	27.52	CH ₂	
16	37.71	CH ₂	
17	34.35	C	-
18	142.68	C	-
19	129.77	CH	4.88, s
20	32.37	C	-
21	33.34	CH ₂	
22	37.37	CH ₂	
23	27.92	CH ₃	1.03, s
24	16.09	CH ₃	0.98, s
25	16.53	CH ₃	0.86, s
26	16.78	CH ₃	1.09, s
27	14.57	CH ₃	0.75, s
28	25.27	CH ₃	0.96, s
29	31.36	CH ₃	0.92, s
30	29.19	CH ₃	0.87, s
31	171.03	C	-
32	21.34	CH ₃	2.06, s

^aKimyasal kayma değerleri TMS' ye göredir.

^bKimyasal kayma değerleri ¹H, ¹³C, DEPT, 2D-COSY, NOESY spektrumları kullanılarak ve ACD NMR programı yardımıyla yapılmıştır.

Tablo 8. 4 no'lu maddenin EI kütle spektrum değerleri

m/z	%
[M] ⁺	468(4)
	453(4) 408(5), 393(4), 365(4), 356(3), 339((2), 325(1), 296(5), 256(3), 249(9), 189(60), 175(16), 147(20), 121(37), 107(34), 69(30), 43(40), 41(13), 32(32).

5. SONUÇLAR

Campamula lactiflora bitkisinin kloroform ve metanol ekstraktından çeşitli kromatografik yöntemlerle 4 adet doğal madde izole edildi. İzole edilen 1-4 no'lu maddelerin yapıları spektroskopik olarak modern 200 ve 400 MHz' lik NMR aleti ve EI kütle spektroskopisi kullanılarak aydınlatıldı. Bu bitkideki, yapıları aydınlatılan maddelerden iki tanesinin (3-4) daha önce literatürde başka doğal kaynaklardan izole edilmiş olduğu ve iki tanesinin de (1-2) *Campamula lactiflora* bitkisinden, ilk defa bu çalışmada doğal bir bileşik olarak bulunduğu tespit edildi.

Bu maddelerden; yeni, 1 no'lu madde; 3 β -asetoksi-lup-20(29)-en-30-al, ve 2 no'lu madde; 3 β -asetoksi-ptiloepoksit ve bilinen maddeler; 3 no'lu madde; 3 β -asetoksi-lup-20(29)-en, 4 no'lu madde; 3 β -asetoksi-germanikol olarak adlandırıldı.

6. ÖNERİLER

Bilindiği gibi bitkilerde çok sayıda alkaloid, saponin, flavonoid, karbohidrat, terpenoid gibi aktif doğal organik maddeler bulunmaktadır. *Campanula lactiflora* bitkisinin kloroform ve metanol ekstraktından çeşitli kromatografik yöntemlerle izole edilen 4 adet doğal madde triterpen türünde maddelerdir. Bu maddelerden bazılarının da biyoaktif özellik gösterdikleri bilinmektedir. İzole edilen 1-4 nolu maddelerin yapıları spektroskopik olarak modern 200 ve 400 MHz' lik NMR aleti ve EI kütle spektroskopisi kullanılarak aydınlatıldı.

1-4 Nolu maddeler *Campanula lactiflora* bitkisinden izole edilip yapıları aydınlatılan maddelerden birkaçı olup, daha ileri araştırmalarla mümkün olabilecek başka doğal maddeler saflaştırılıp yapıları aydınlatılabilir. Bu bitkinin özellikle polar fraksiyonları çalışılabilir. Doğal biyoaktif maddeler dizisine yenileri eklenip biyolojik yönden yararları araştırılabilir. Unutmayalım ki kullanılan ilaçların bir kısmı bitkisel kaynaklıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Davis, P. H., Flora of Turkey and The East Aegean Islands, University Press, Edinburgh, Vol. 6 (1977) 2-64.
2. Dzhumyrko, S. F., Flavanoids of Plants of The Genus *Campanula*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 2 (1973) 273-274.
3. Dzhumyrko, S. F., Oganesyanyan, E. T., Shinkarenko, A. L., Luteolin 7-Glucoside from *Campanula lactiflora*, Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 5, 5 (1969) 440-441.
4. Dzhumyrko, S. F., Coumarins from Species of the Genus *Campanula*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 5 (1984) 652.
5. Dzhumyrko, S. F., Flavanoids from Species of The Genus *Campanula*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 4 (1985) 565.
6. Dzhumyrko, S. F., Rutin from *Campanula oblongifolia*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 5 (1970) 635.
7. Dzhumyrko, S. F., Shinkarenko, A. L., L-Inositol from *Campanula oblongifolia*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 5 (1971) 661.
8. Dzhumyrko, S. F., Oganesyanyan, E. T., Chemical Study of Some Species of *Campanula*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 6 (1973) 799-800.
9. Teslov, L. S., Flavonol Biosides of *Campanula patula*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 3 (1976) 390-391.
10. Teslov, L. S., Flavonoids of *Campanula patula*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 1 (1977) 117-118.
11. Teslov, L. S., Triterpene Compounds of *Campanula patula*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 4 (1979) 582-583.
12. Teslov, L. S., Flavonoids and Other Compounds from *Campanula persicifolia*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 4 (1988) 593-594.
13. Teslov, L. S., Blinova, K. F., Flavonol Glycosides of *Campanula cephalotes*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 9, 3 (1973) 435.

14. Teslov, L. S., Blinova, K. F., Phenolic Compounds of *Campanula glomerata*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 3 (1974) 395.
15. Teslov, L. S., Podushkin, V. Y., Flavonoids of *Campanula maleevii*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 2 (1988) 298.
16. Terahara, N., Toki, K., Saito, N., Honda, T., Isono, T., Frumoto, H., Kontani, Y., Structure of Campanin and Rubrocampanin, Two Novel Acylated Anthocyanins with p-Hydroxybenzoic Acid from The Flowers of Bellflower, *Campanula medium* L., J. Chem. Soc. Perkin Trans., (1990) 3327-3332.
17. Teslov, L. S., Triterpenoids from *Campanula patula*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 5 (1984) 665-666.
18. Teslov, L. S., Flavone Glycosides from *Campanula persicifolia*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 6 (1986) 784-785.
19. Teslov, L. S., Flavonoid Glycosides of *Campanula persicifolia*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 2 (1990) 271-272.
20. Teslov, L. S., Zapesochnaya, G. G., Blinova, K. F., Structure of Patuloside, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 6 (1976) 816-817.
21. Teslov, L. S., Zapesochnaya, G. G., Diosmin from *Campanula patula*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 2 (1978) 267-268.
22. Teslov, L. S., Koretskaya, L. N., Flavonoids of *Campanula persicifolia*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 6 (1983) 786.
23. Teslov, L. S., Koretskaya, L. N., Tsareva, G. I., Phenolic Compounds of *Campanula rotundifolia* and *C. Persicifolia*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 3 (1983) 387.
24. Brandt, K., Ishimaru, K., *Campanula* (bellflower) species: in vitro culture, micropropagation, and the production of anthocyanins, polyacetylenes, and other secondary metabolites, Biotechnol. Agric. For., 41 (1998) 45-46.
25. Justesen, H., Andersen, A. S., Brandt, K., Accumulation of Anthocyanins and Flavones During Bud and Flower Development in *Campanula Isophylla* Moretti, Ann. Bot., 79, 4 (1997) 355-360.

26. Tanaka, N., Yamada, Y., Shimomura, K., Ishimaru, K., Polyacetylenes in Tissue Cultures of *Campanula glomerata*, Shokubutsu Soshiki Baiyo, 13, 2 (1996) 215-217.
27. Teslov, L. S., Merkulova, I. V., Kuznetsov, P. V., Affinity-type Polymeric Adsorbent in Studies on Physiologically Active Substances. VIII. Chromatographic Separation of Total Polyphenolic Compounds of *Campanula rapunculoides*, Khim. Prir. Soedin., 6 (1995) 811-813.
28. Teslov, L. S., Comparative Study of Flavonoid Composition in Species of The Genus *Campanula* L.: Series *Glomeratae* Charadze (Section *Campanula*), Rastit. Resur., 31, 1 (1995) 44-52.
29. Serek, M., Does Salicylic Acid Affect the Postharvest Characteristics of *Campanula carpatica*, Gartenbauwissenschaften, 57, 3 (1992) 112-114.
30. Subarnas, A., Oshima, Y., Sidik, Ohizumi, Y., An Antidepressant Principle of *Lobelia inflata* L. (*Campanulaceae*), J. Pharm. Sci., 81, 7 (1992) 620-621.
31. Terahara, N., Toki, K., Saito, N., Honda, T., Isono, T., Furumoto, H., Kontani, Y., Structures of Campanin and Rubrocampanin, Two Novel Acylated Anthocyanins with p-Hydroxybenzoic Acid from The Flowers of Bellflower, *Campanula medium* L., J. Chem. Soc., 12 (1990) 3327-3332.
32. Teslov, L. S., Blinova, K. F., Flavonolic Biosides of *Campanula glomerata* from The Altai Mountains, Rastit. Resur., 10, 3 (1974) 371-375.
33. Stanic, G., Petricic, J., Sugar, I., Todoric, A., Blazevic, N., Triterpenic Acid and Sterols from *Campanula istriaca* Feer., Acta Pharm. Jugosl., 39, 1 (1989) 81-83.
34. Teslov, L. S., Flavonoids and Other Natural Compounds from *Campanula persicifolia*, Khim. Prir. Soedin., 4 (1988) 593-594.
35. Aynehchi, Y., Salehi, S., Amin, G., Khoshkhow, M., Shabani, A., Survey of Iranian Plants for Saponins, Alkaloids, Flavonoids and Tannins, Int. J. Crude Drug Res., 23, 1 (1985) 33-41.
36. Yoshitama, K., Ishii, K., Yasude, H., A Chromatographic Survey of Anthocyanins in The Flora of Japan, J. Fac. Sci., 15, 1 (1980) 19-26.
37. Teslov, L. S., Geras'kina, S. S., Phytochemical and Pharmacological Study of Preparations from *Campanula cephalotes* and *Campanula glomerata*, Mater. Mezhvuz. Nauchn. Konf. 1974, (1975) 33-34.

38. Buchanan, R. A., Otey, F. H., Russell, C. R., Cull, I. M., Whole-Plant Oils, Potential New Industrial Raw Materials, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 55, 9 (1978), 657-662.
39. Asen, S., Stewart, R. N., Norris, K. H., Pelargonidin 3-bis(p-Hydroxybenzoyl) Rutinoside-7-Glucoside from Flowers of *Campanula*, *Phytochemistry*, 18, 7 (1979) 1251-1252.
40. Teslov, L. S., Flavonoids of *Campanula rotundifolia*, *Khim. Prir. Soedin.*, 3 (1980) 414-415.
41. Teslov, L. S., Phenolic Compounds of *Campanula patula*, *Khim. Prir. Soedin.*, 5 (1980) 719-720.
42. Atalykova, F. M., Kukenov, M. K., Flavonoid-Containing Plants of The Tarbagatai Natural Flora, *Ser. Biol.*, (1981) 4-8.
43. Teslov, L. S., *Campanula rotundiflora* Flavonoids, *Khim. Prir. Soedin.*, 4 (1981) 520-521.
44. Whitehead, D. C., Dibb, H., Hartley, R. D., Phenolic Compounds Soil As Influenced By The Growth of Different Plant Species, *J. Appl. Ecol.*, 19, 2 (1982) 579-588.
45. Teslov, L. S., Blinova, K. F., Phenolic Compounds of *Campanula glomerata*, *Khim. Prir. Soedin.*, 3 (1974) 395.
46. Dzhumyrko, S. F., Kaempferol Glycosides from *Campanula hypopolia*, *Khim. Prir. Soedin.*, 10, 2 (1974) 251-252.
47. Dzhumyrko, S. F., Shinkarenko, A. L., Chemical Study of *Campanula oblongifolia*, *Aktual. Vopr. Farm.*, 2 (1974) 86-87.
48. Teslov, L. S., Zapesochnaya, G. G., Acetylcynaroside, A New Acylated Flavonoid from *Campanula patula*, *Khim. Prir. Soedin.*, 2 (1976) 256-257.
49. Lam, J., Kaufmann, F., Acetylenic Constituents of The Plant Family Campanulaceae, *Chem. Ind.*, 40 (1969) 1430.
50. Plouvier, V., Coumarin Glycosides (Fraxoside and Isofraxoside) and Flavone Glycosides in Some Campanulaceae and Caprifoliaceae, *C. R. Acad. Sci., Ser. D*, 270, 11 (1970) 1526-1528.

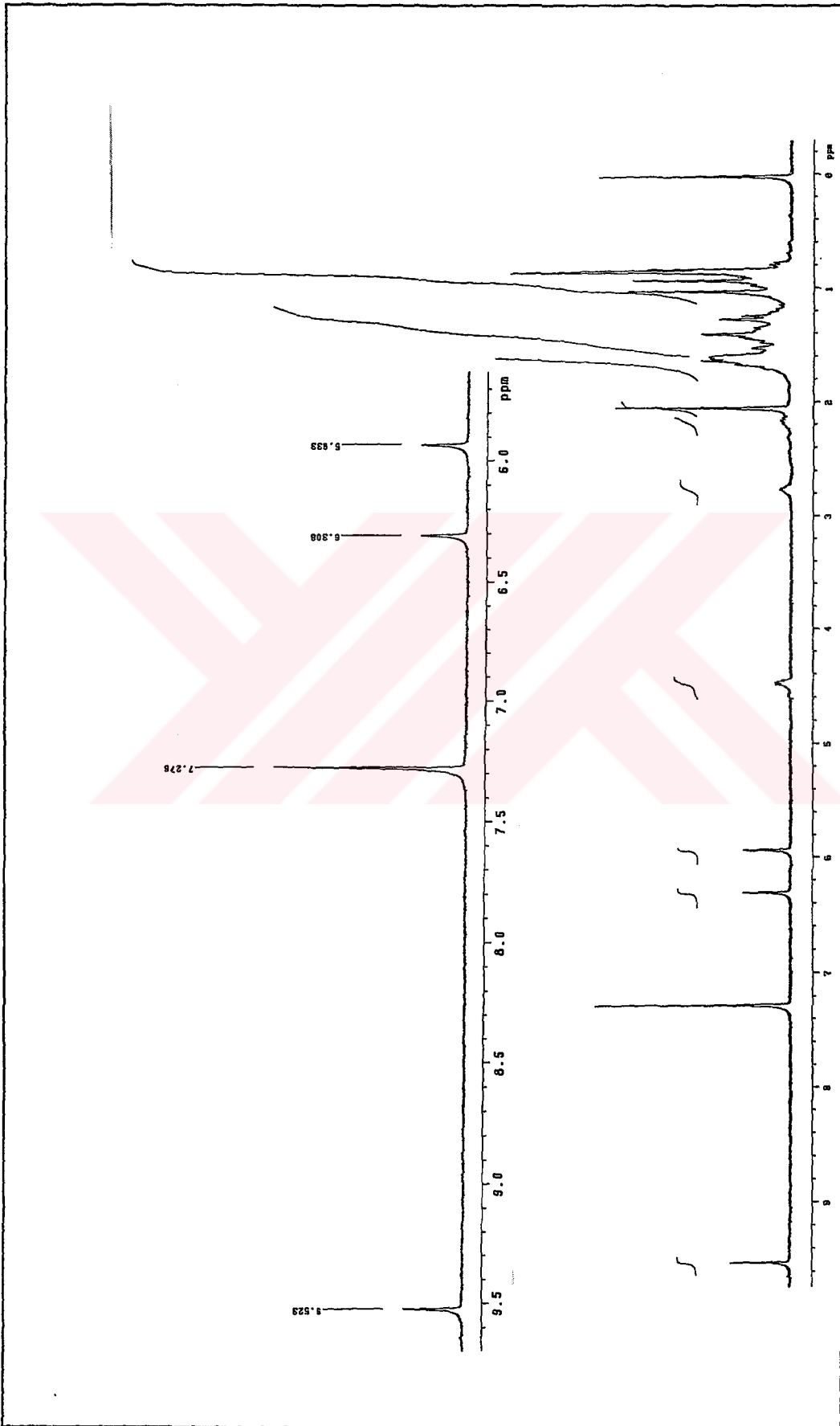
51. Doepke, W., Fritsch, G., Alkaloid Content of *Campanula medium*, Pharmazie, 25, 2 (1970) 128.
52. Gorovoi, P. G., Ponomarchuk, G. I., Strigina, L. I., Chemotaxonomic Study on Ussian Far-Eastern Campanulaceae, Phytochemistry, 10, 10 (1971) 2419-2423.
53. Teslov, L. S., Teslov, S. V., Cynaroside and Luteolin from *Campanula Persicifolia* and *Campanula rotundifolia*, Khim. Prir. Soedin., 8, 1 (1972) 120.
54. Dzhumyrko, S. F., Shinkarenko, A. L., Mesoinositol from Some Species of The *Campanula* Genus, Khim. Prir. Soedin., 3 (1972) 384-385.
55. Chollet, M. M., Fructosans of The Campanulaceae, Bull. Soc. Chim. Biol., 29 (1947) 824-825.
56. Murakami, S., Carbohydrates of The Campanulaceae, Acta Phytochim., 14 (1944) 101-108.
57. Gertig, H., Basic Alkaloid Compounds in The Family Campanulaceae, Dissertationes Pharm., 14 (1962) 527-534.
58. Dzhumyrko, S. F., Flavonoids of *Campanula* Plants, Khim. Prir. Soedin., 2 (1973) 273-274.
59. Teslov, L. S., Bilinova, K. F., Cyclitols from *Campanula cephalotes*, Khim. Prir. Soedin., 5 (1972) 662-663.
60. Teslov, L. S., Bilinova, K. F., Flavonoids from *Campanula cephalotes*, Khim. Prir. Soedin., 3 (1972) 392.
61. Dzhumyrko, S. F., Shinkarenko, A. L., Hyperoside from *Campanula biebersteiniana*, Translated from Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 1 (1972) 120-121.
62. Lin, T., Ando, M., Lin, F., Ishimaru, K., Polyacetylenes in hairy root cultures of *Campanula lactiflora*, Chinese Pharmaceutical Journal, 54, 1 (2002) 53-56.
63. Ishimaru, K., Ando, M., Yamakawa, T., Touno, K., Shimomura, K., Polyacetylene Production in Transformed Root Cultures of *Campanula lactiflora*, Natural Medicines, 52, 5 (1998) 448-451.

64. Mahato, S. B., Kundu, A. P., ^{13}C NMR Spectra of Pentacyclic Triterpenoids-A Compilation and Some Salient Features, Phytochemistry, 37, 6 (1994) 1517-1575.
65. Bates, R. B., Jacobsen, N. E., Setzer, W. N., Stessman, C. C., NMR Assignments and Conformation of Taraxerenes, Mgn. Reson. Chem., 36 (1998) 339-341.
66. Wenkert, E., Baddeley, G. V., Burfitt, I. R., Moreno, L. N., Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Naturally-occurring Substances, Org. Mgn. Reson., 11 (1978) 337-343.
67. Chen, B., Duan, H., Takaishi, Y., Triterpene Caffeoyle Esters and Diterpenes from *Celasturus stephanotifolius*, Phytochemistry, 51 (1999) 683-687.
68. Yang, S., Shen, Y., Chen, C., Steroids and Triterpenoids of *Antrodia cinnamomea*-A Fungus Parasitic on *Cinnamomum micranthum*, Phytochemistry, 41 (1996) 1389-1392.
69. Kuo, Y., Chang, C., Kuo, Y., Triterpenes from *Diospyros maritima*, Phytochemistry, 46 (1997) 1135-1137.
70. Bhutani, K. K., Gupta, D. K., Kapil, R. S., Occurrence of D/E trans Stereochemistry Isomeric to Ursane (cis) Series in a New Pentacyclic Triterpene from *Calotropis procera*, Tetrahedron Letters, 33 (1992) 7593-7596.
71. Syamasundar, K. V., Mallavarapu, G. R., Two Triterpenoid Lactones from The Resin of *Bursera Delpechiana*, Phytochemistry, 40 (1995) 337-339.
72. Ikuta, A., Morikawa, A., Triterpenes from *Stauntonia hexaphylla* Callus Tissues, Journal of Natural Products, 55 (1992) 1230-1233.
73. Ramchandra, P., Basheermiya, M., Krupadanam, G. L. D., Srimannarayana, G., Wrightial, A New Terpene from *Wrightia tinctoria*, Journal of Natural Products, 56 (1993) 1881-1812.
74. Reynolds, W. F., McLean, S., Poplawski, J., Total Assignment of ^{13}C and ^1H Spectra of Three Isomeric Triterpenol Derivatives by 2D NMR: An Investigation of The Potential Utility of ^1H Chemical Shifts in Structural Investigations of Complex Natural Products, Tetrahedron, 42 (1986) 3419-3428.
75. Dizes, C., Gerald, F., Lavaud, C., Elias, R., Faure, R., Massiot, G., Balansard, G., Harpuloside A Triterpenoid Saponin from *Harpullia ramiflora*, Phytochemistry, 48 (1998) 1229-1232.

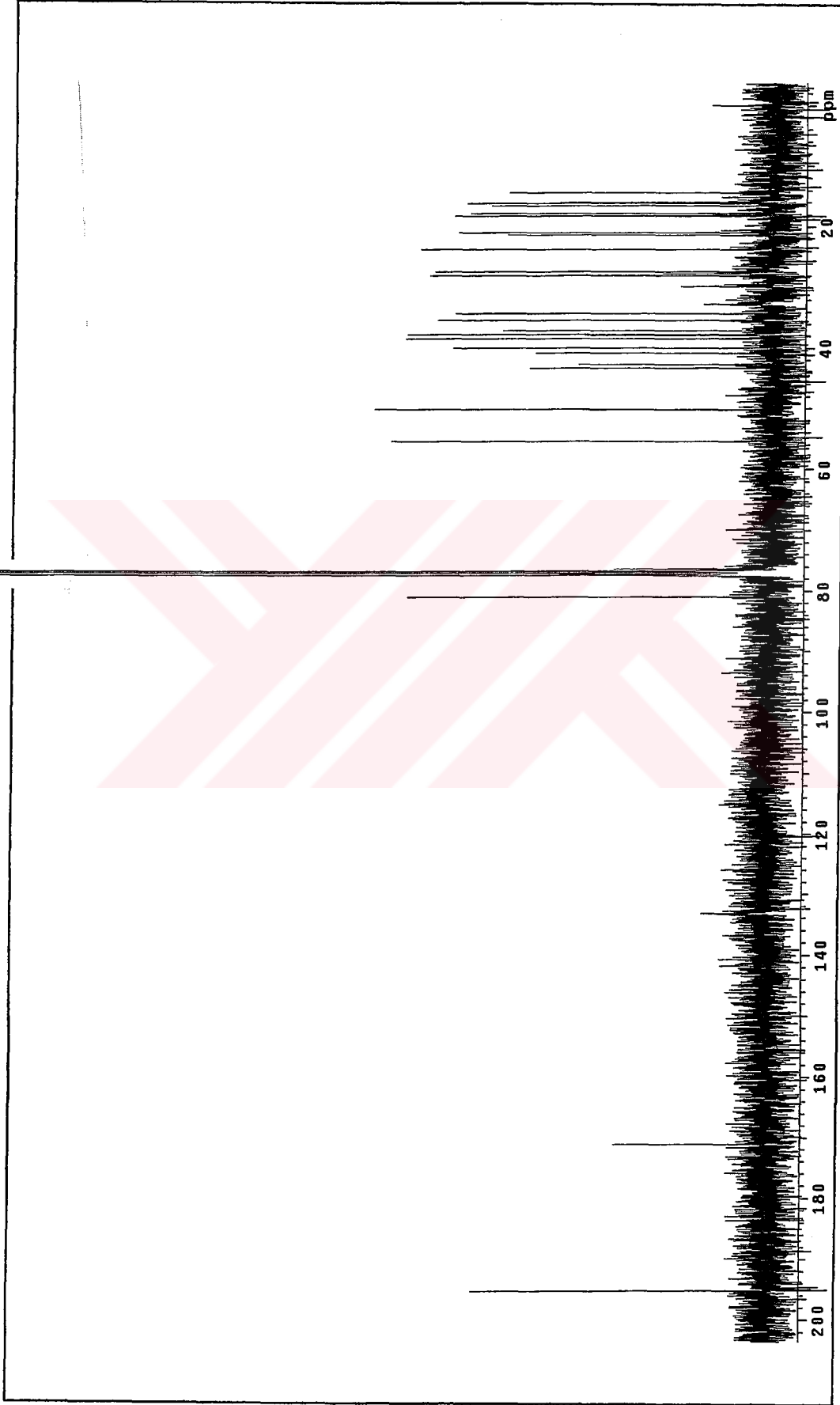
76. Menichini, F., Benedetto, R. D., Monache, F. D., A Triterpene Epoxide and A Guaianolide from *Ptilostemmon gnaphaloides*, Phytochemistry, 41 (1996) 1377-1379.
77. Stahl, E., Thin Layer Chromatography a Laboratory Handbook, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1969).
78. Marston, A., Hostettmann, K., Modern Separation Methods, Natural Product Reports, (1991) 391-413.
79. Breitmaier, E., Voelter, W., Carbon-13 NMR Spectroscopy, Third Edition, VCH Publishers, New York, (1990).
80. Breitmaier, E., Structure Elucidation By NMR in Organic Chemistry, Wiley Publishers, New York, (1993).
81. Silverstein, R. M., Bassler, G. C., Morrill, T. C., Spectrometric Identification of Organic Compounds, Fifth Edition, Wiley Publishers, New York, (1991).
82. Williams, D. H., Fleming, I., Spectroscopic Methods in Organic Chemistry, Fourth Edition, McGraw-Hill Book Company, London, (1989).
83. Razdan, T. K., Harkar, S., Qadri, B., Qurishi, M. A., Khuroo, M. A., Lupene Derivatives from *Skimmia laureola*, Phytochemistry, 27 (1988) 1890-1892.
84. Wenkert, E., Baddeley, G. V., Burfitt, I. R., Monero, L. N., Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Naturally-Occuring Substances, Org. Mag. Reson., 11 (1978) 337-343.

8. EKLER

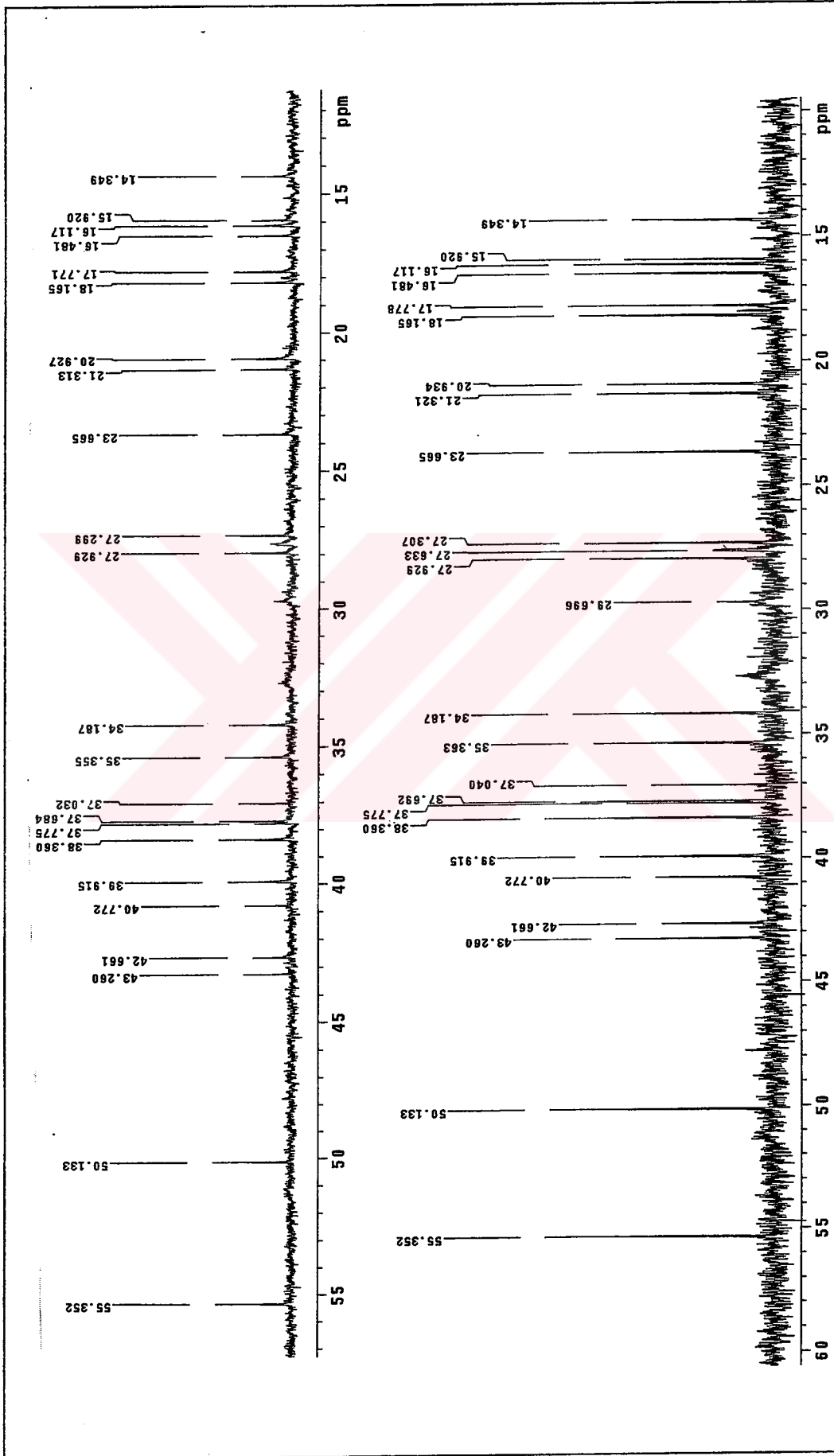




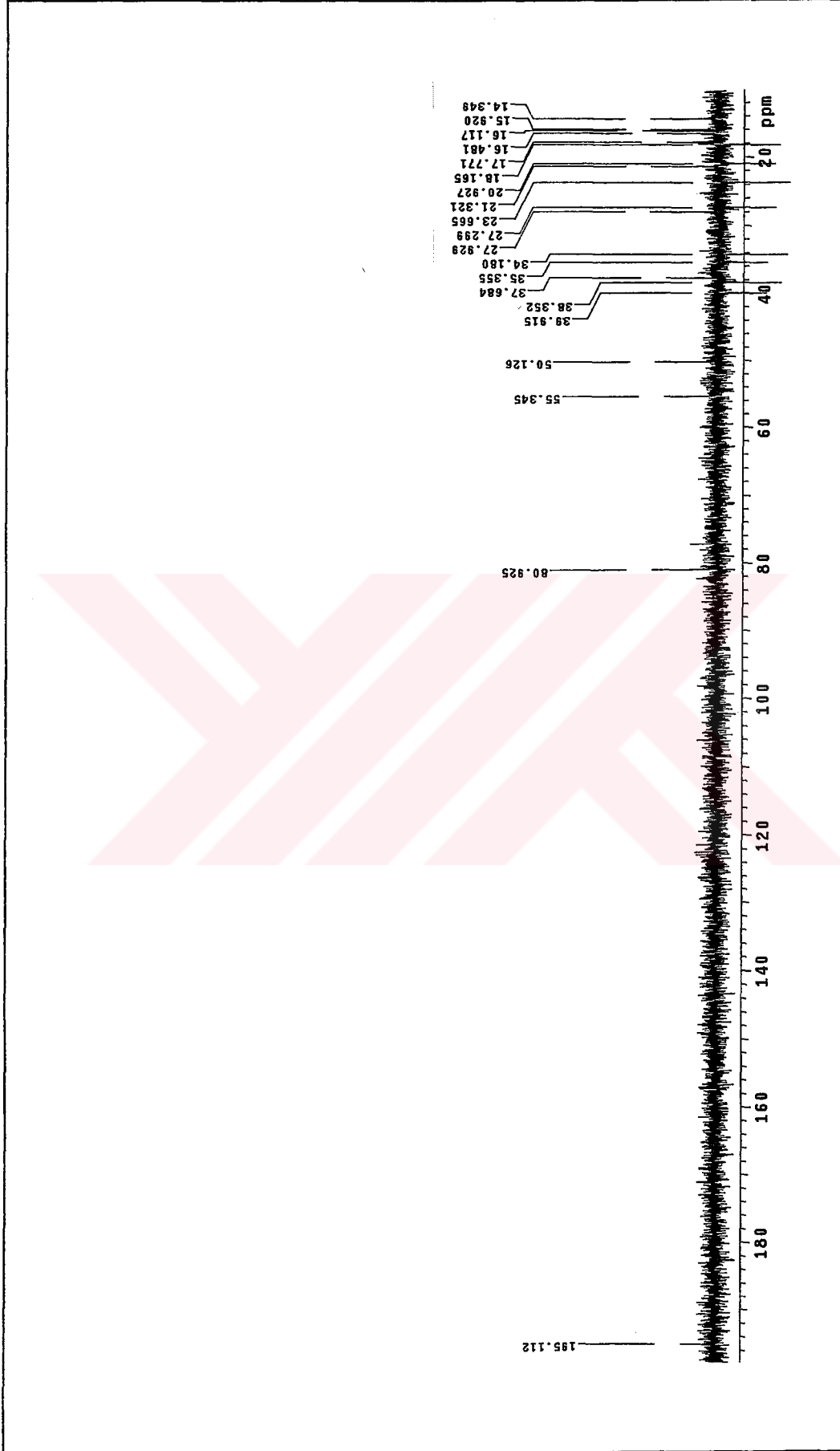
Ek Şekil 1. 1 nolu maddenin ^1H NMR spektrumu



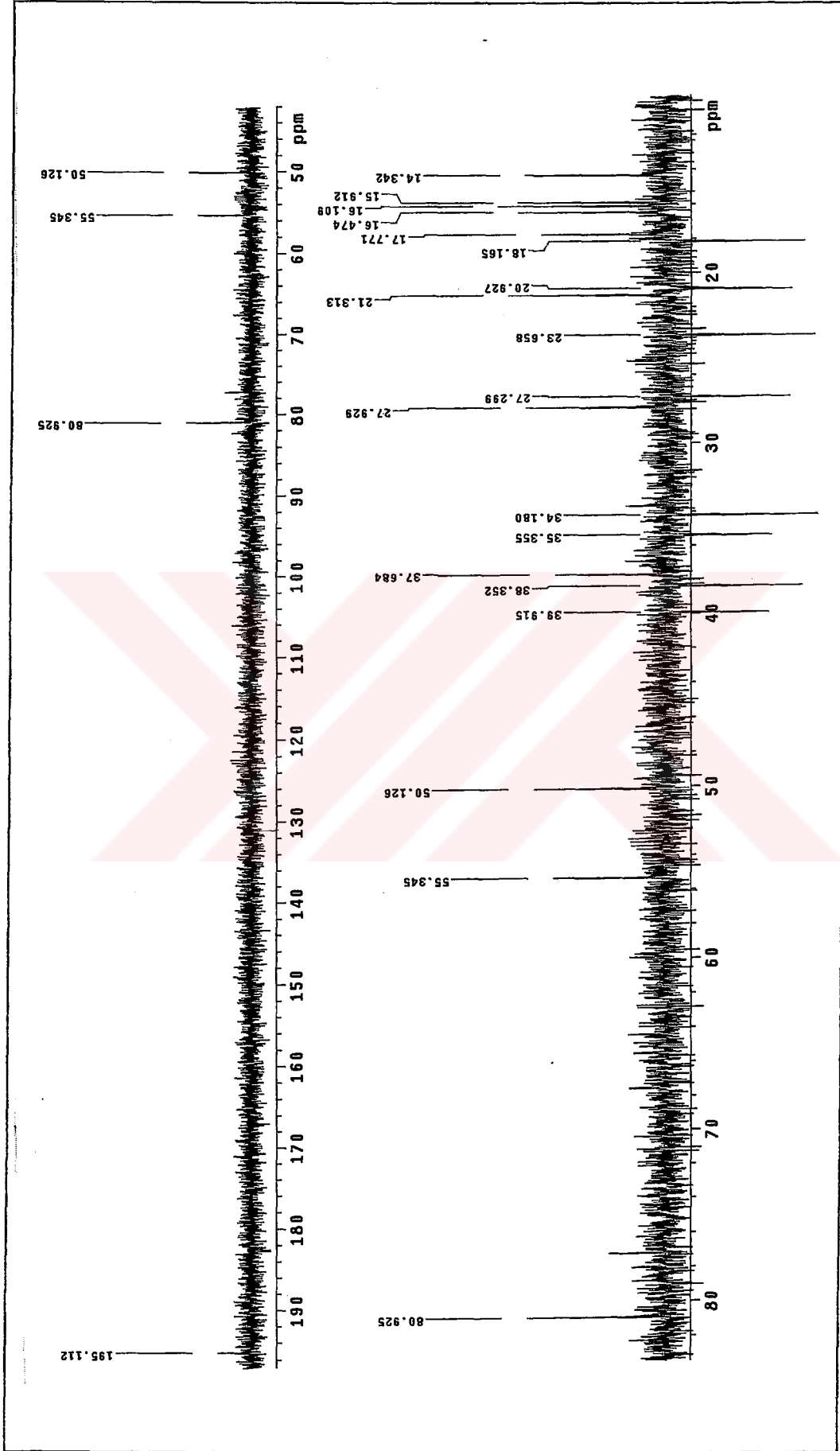
Ek Şekil 2. 1 nolu maddenin ^{13}C NMR spektrumu



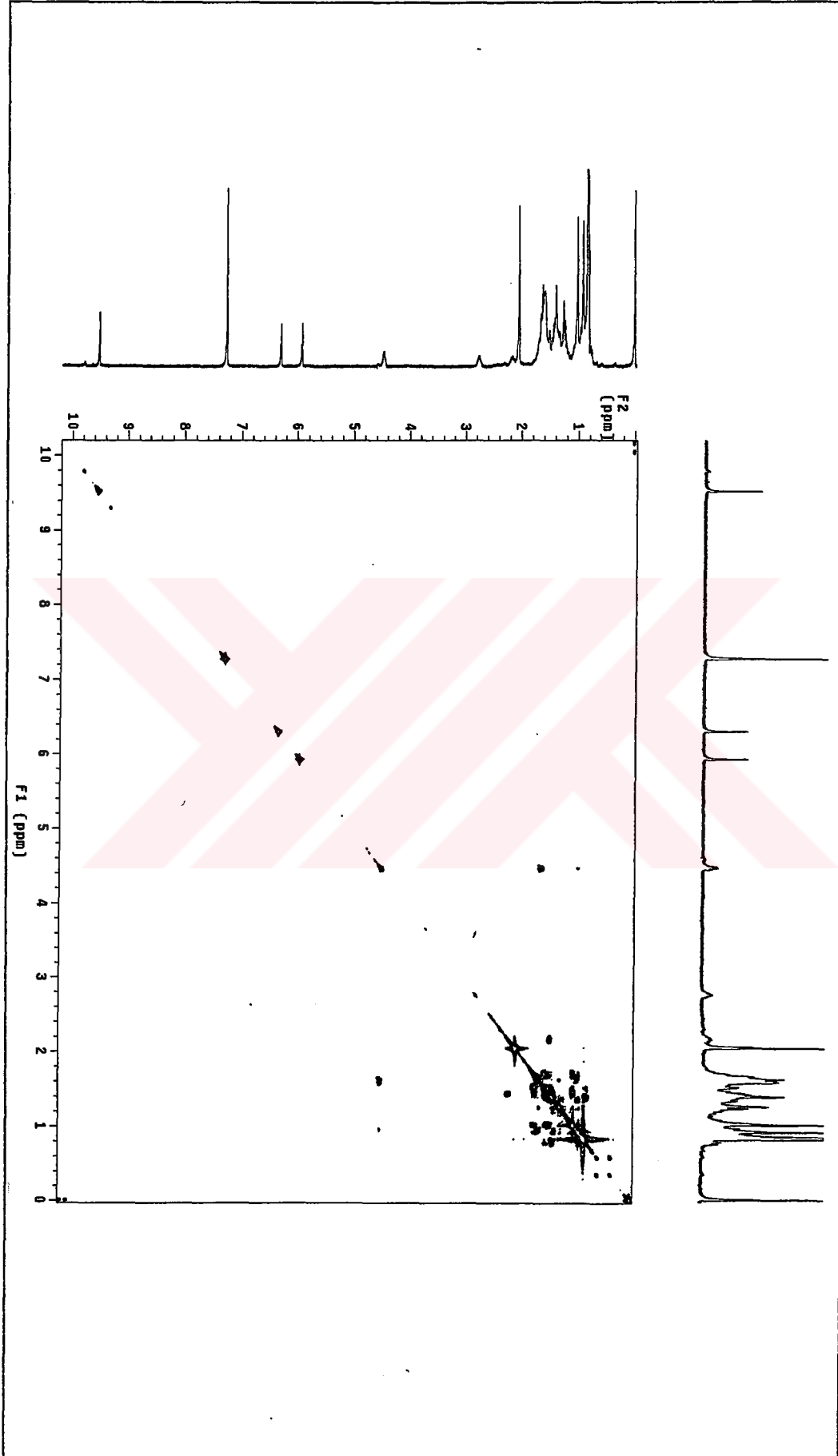
Ek Şekil 3. 1 nolu maddenin ^{13}C NMR spektrumu



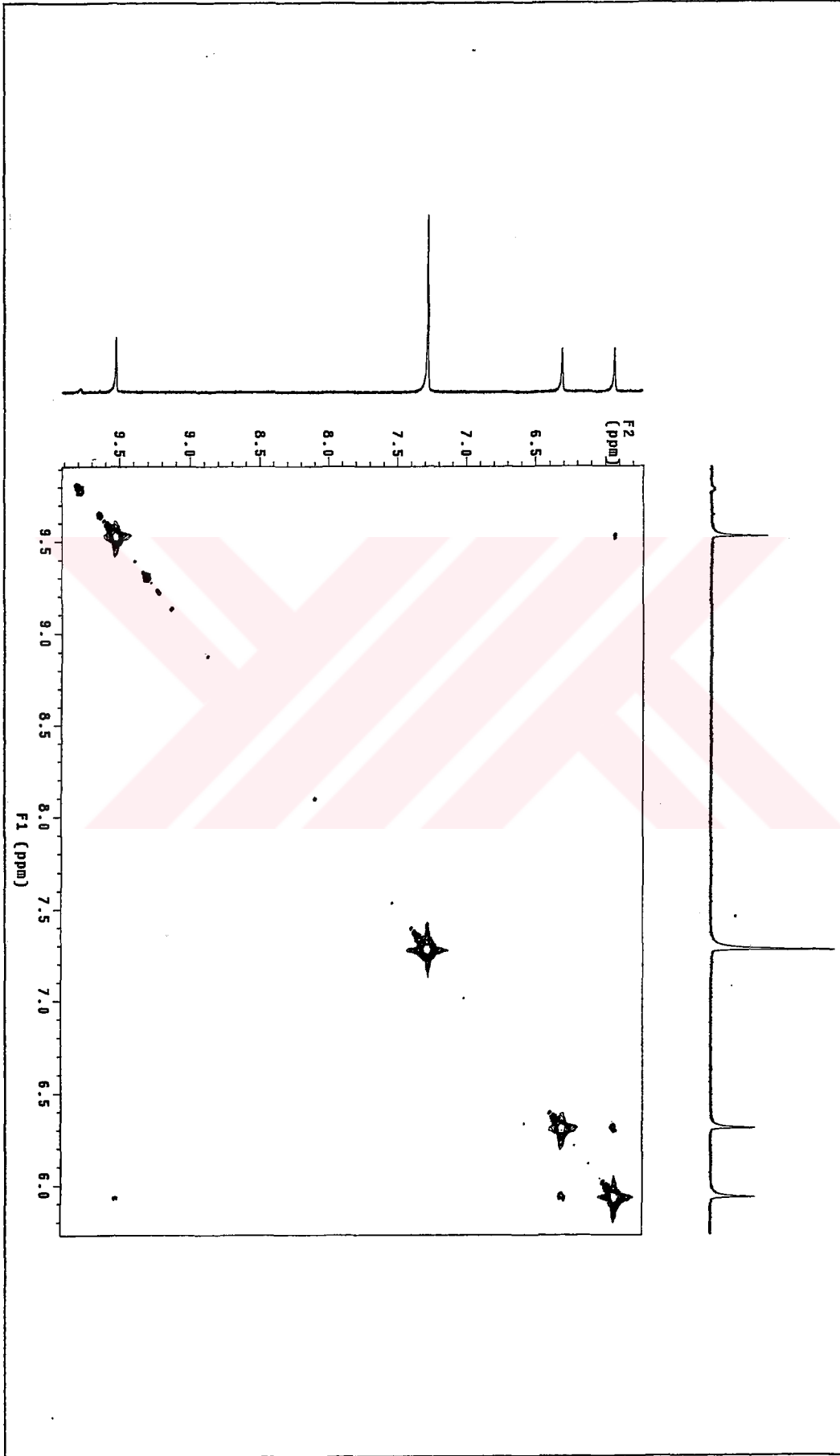
Ek Şekil 4. 1 nolu maddenin DEPT spektrumu



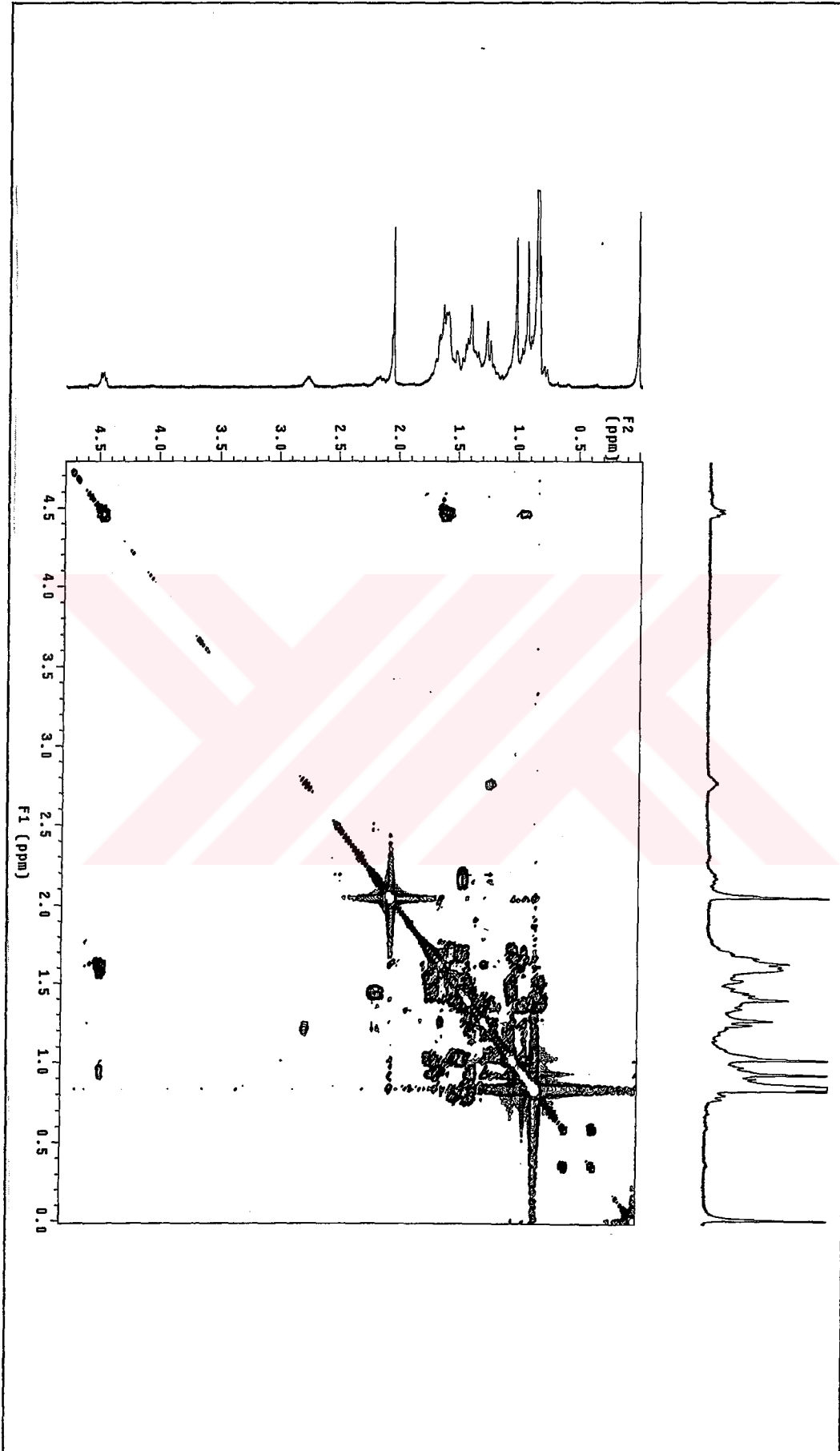
Ek Şekil 5. 1 nolu maddenin DEPT spektrumu



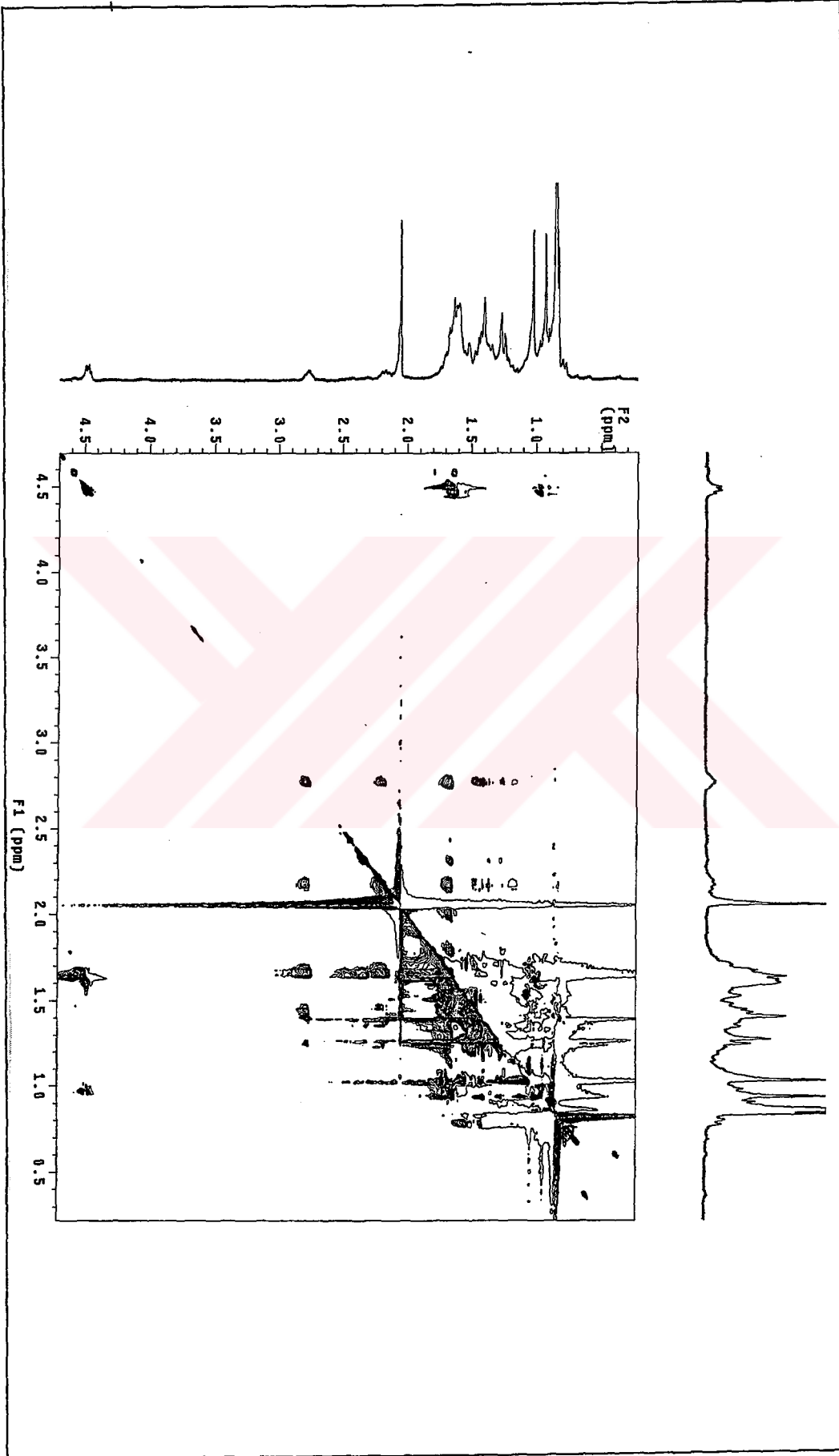
Ek Şekil 6. 1 nolu maddenin COSY spektrumu



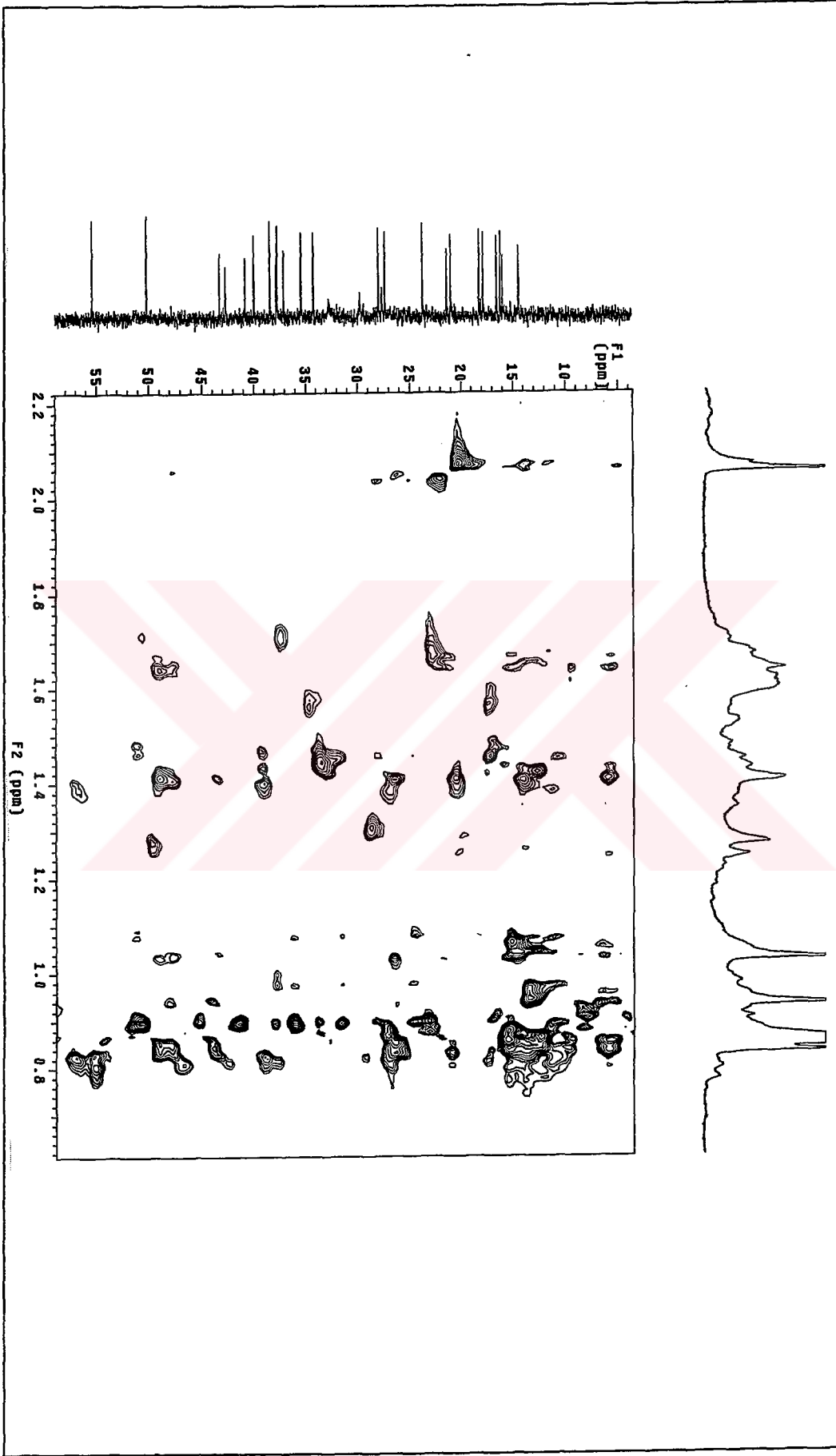
Ek Şekil 7. 1 nolu maddenin COSY spektrumu



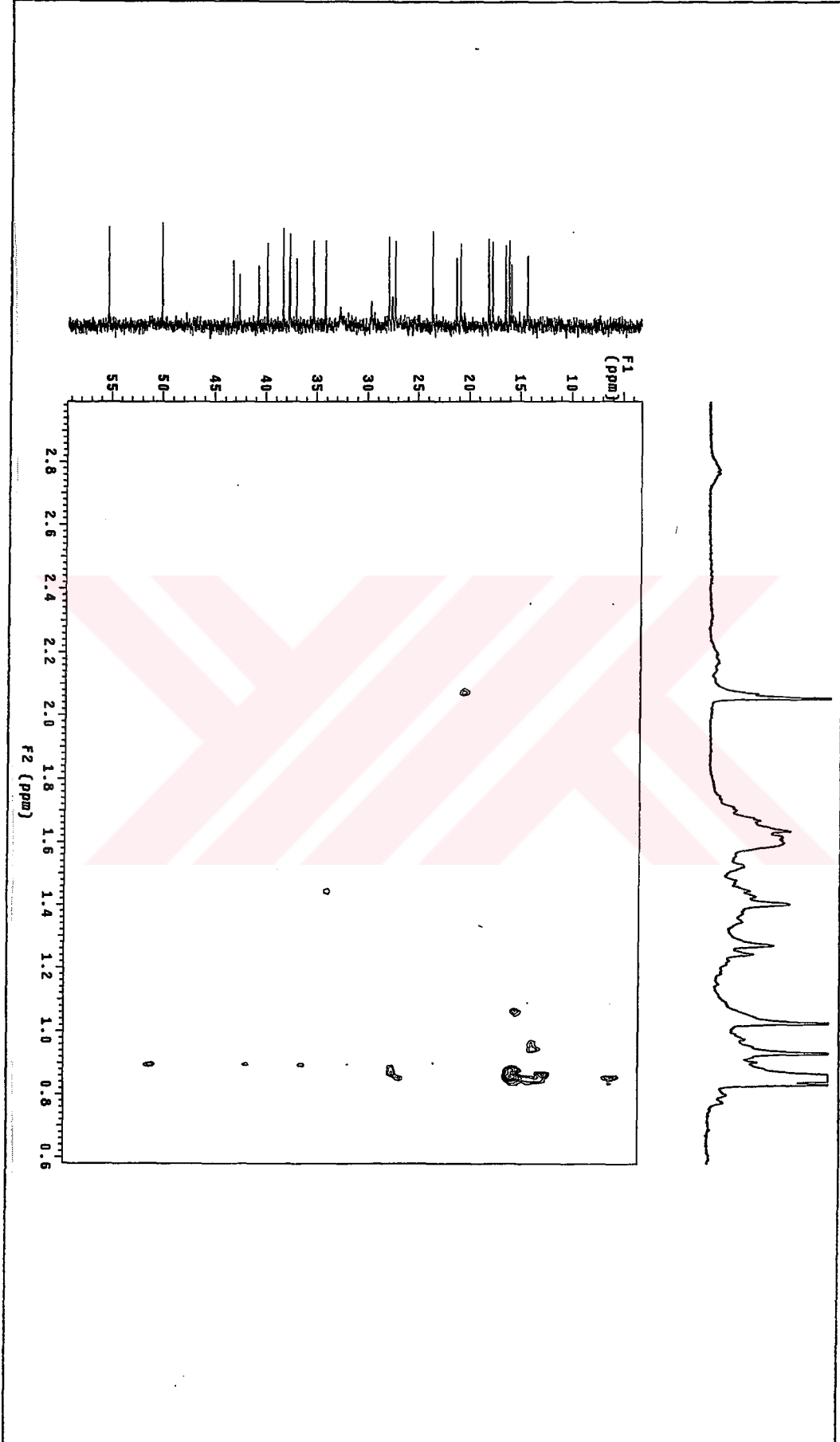
Ek Şekil 8. 1 nolu maddenin COSY spektrumu



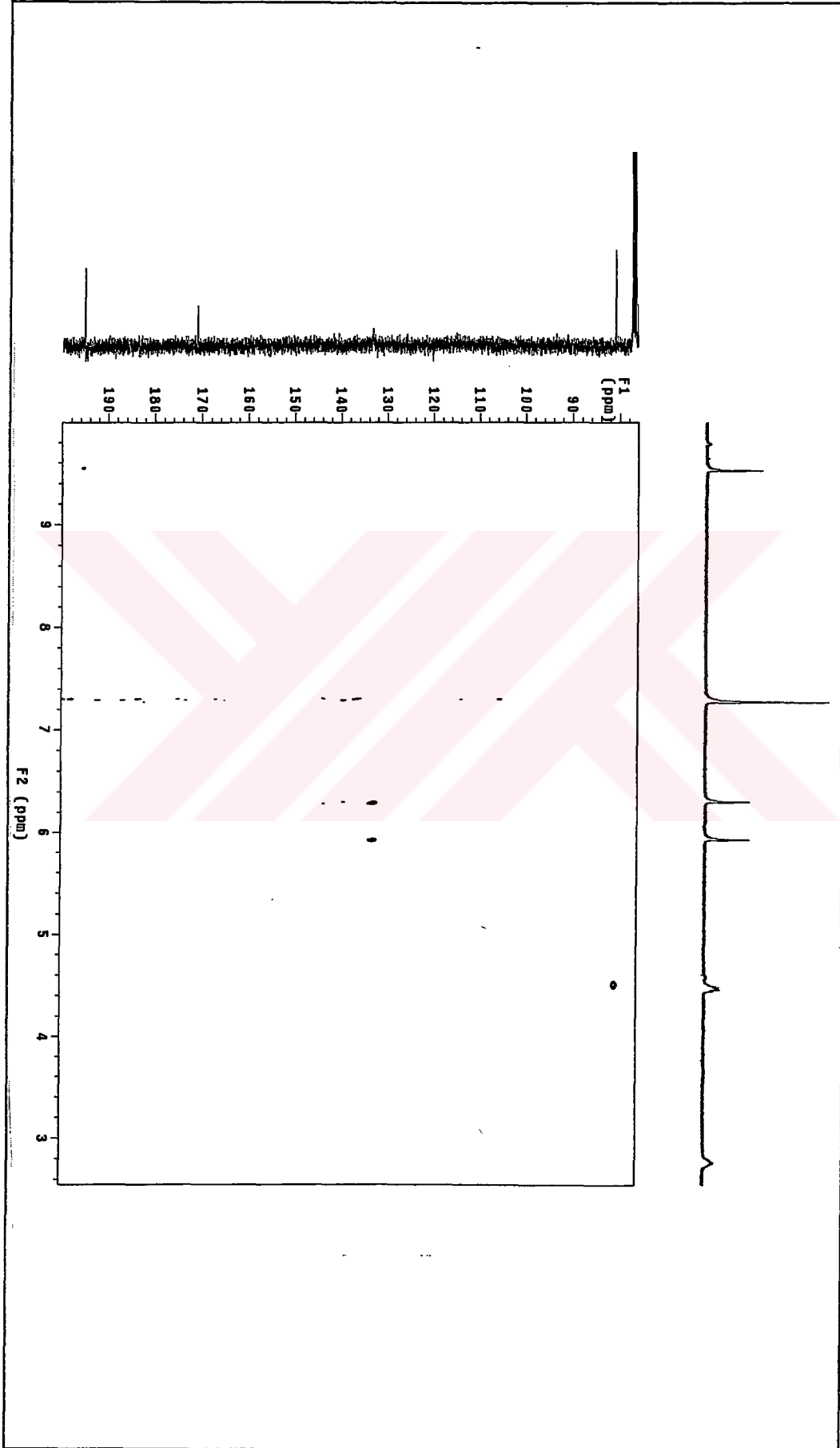
Ek Şekil 9. 1 nolu maddenin TOCSY spektrumu



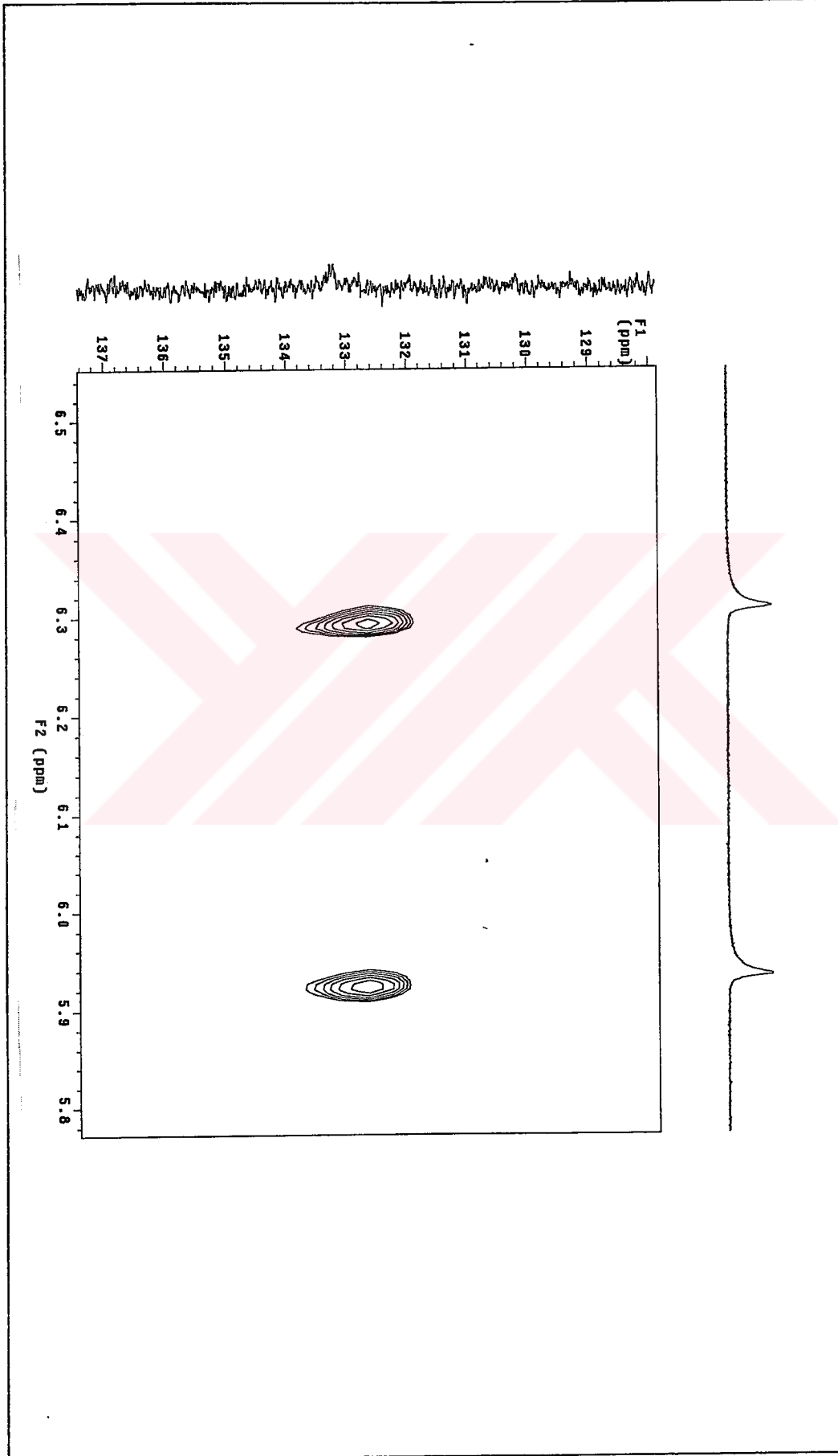
Ek Şekil 10. 1 nolu maddenin HMQC spektrumu



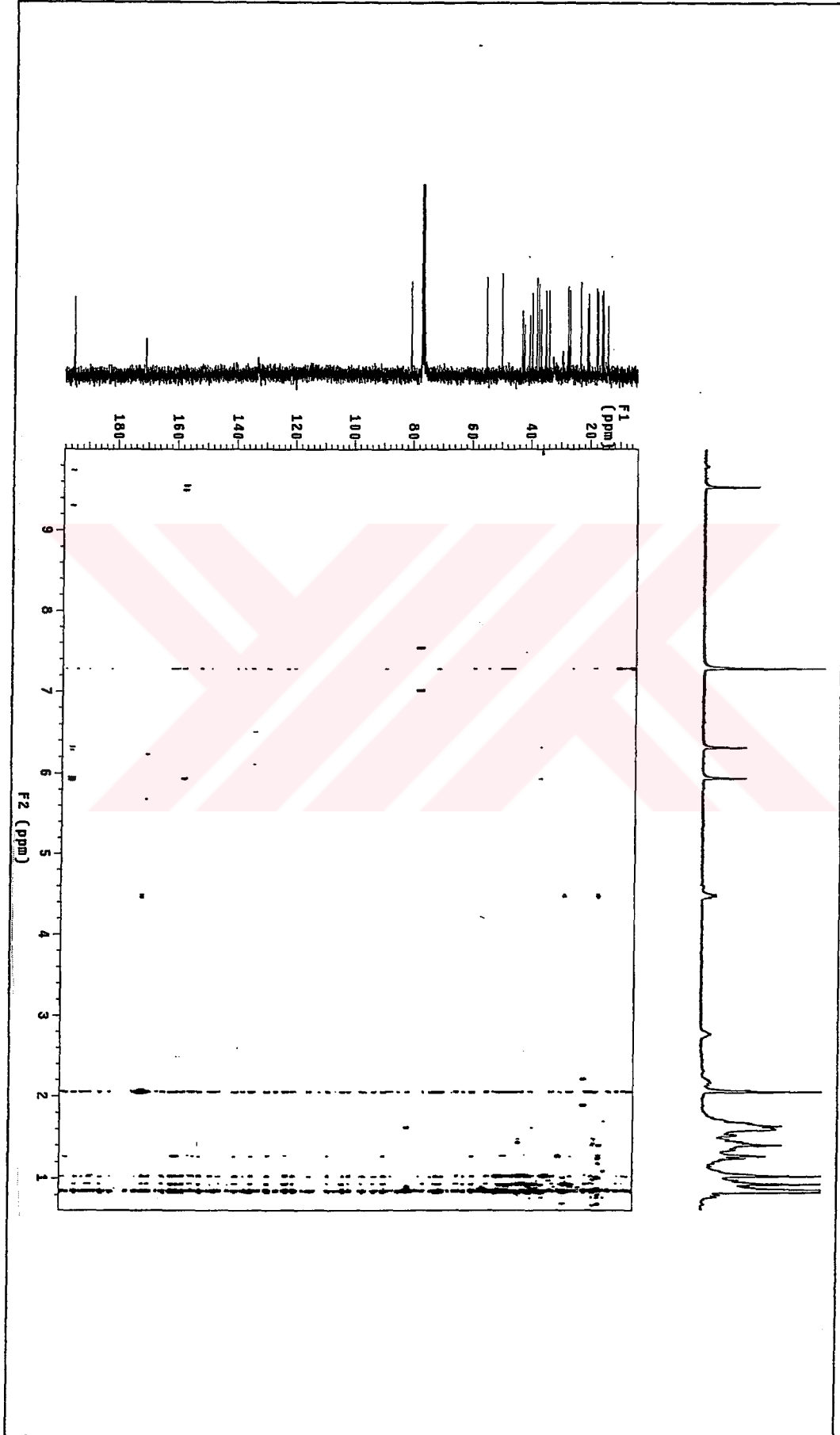
Ek Şekil 11. 1 nolu maddenin HMQC spektrumu



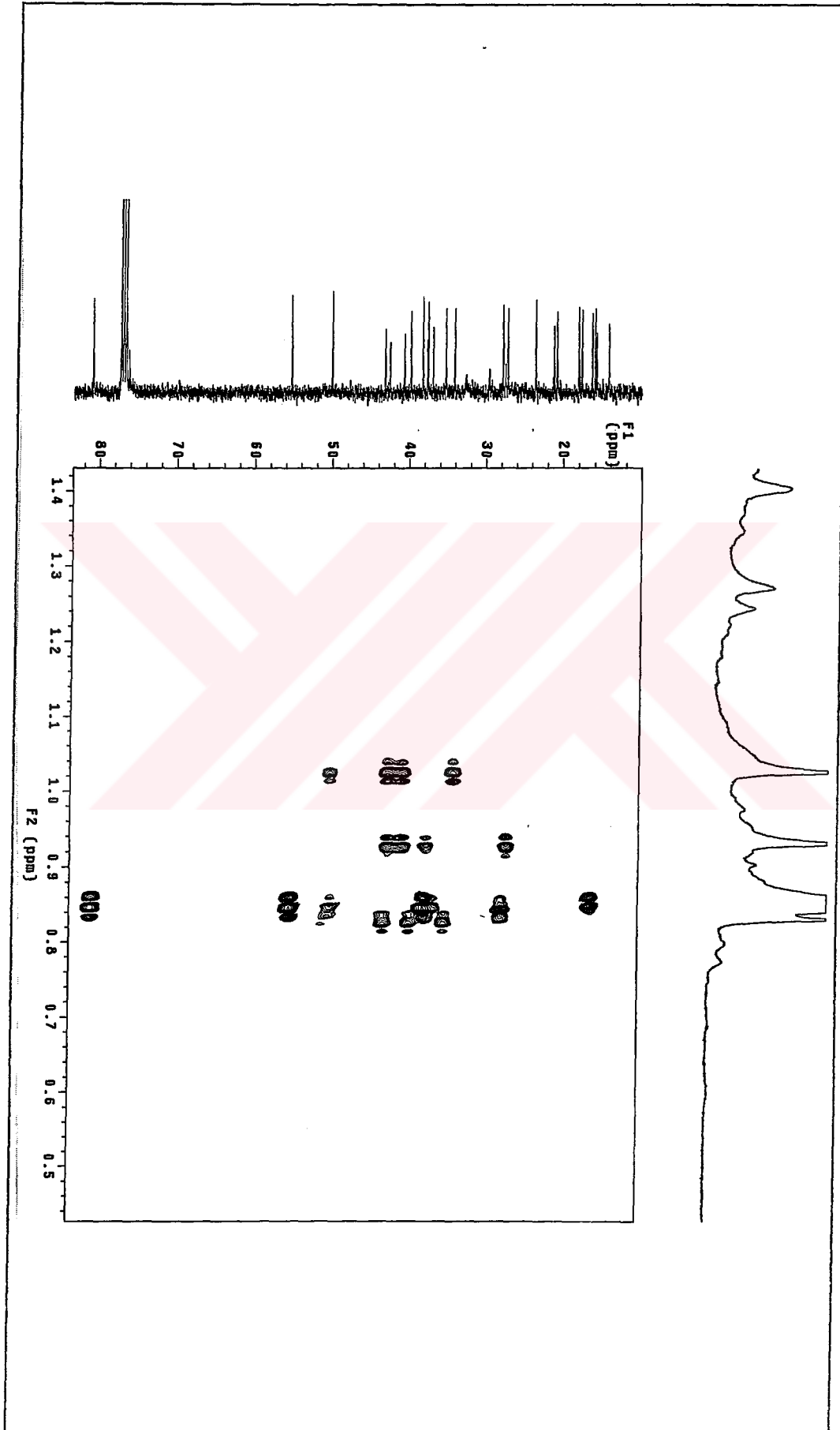
Ek Şekil 12. 1 nolu maddenin HMQC spektrumu



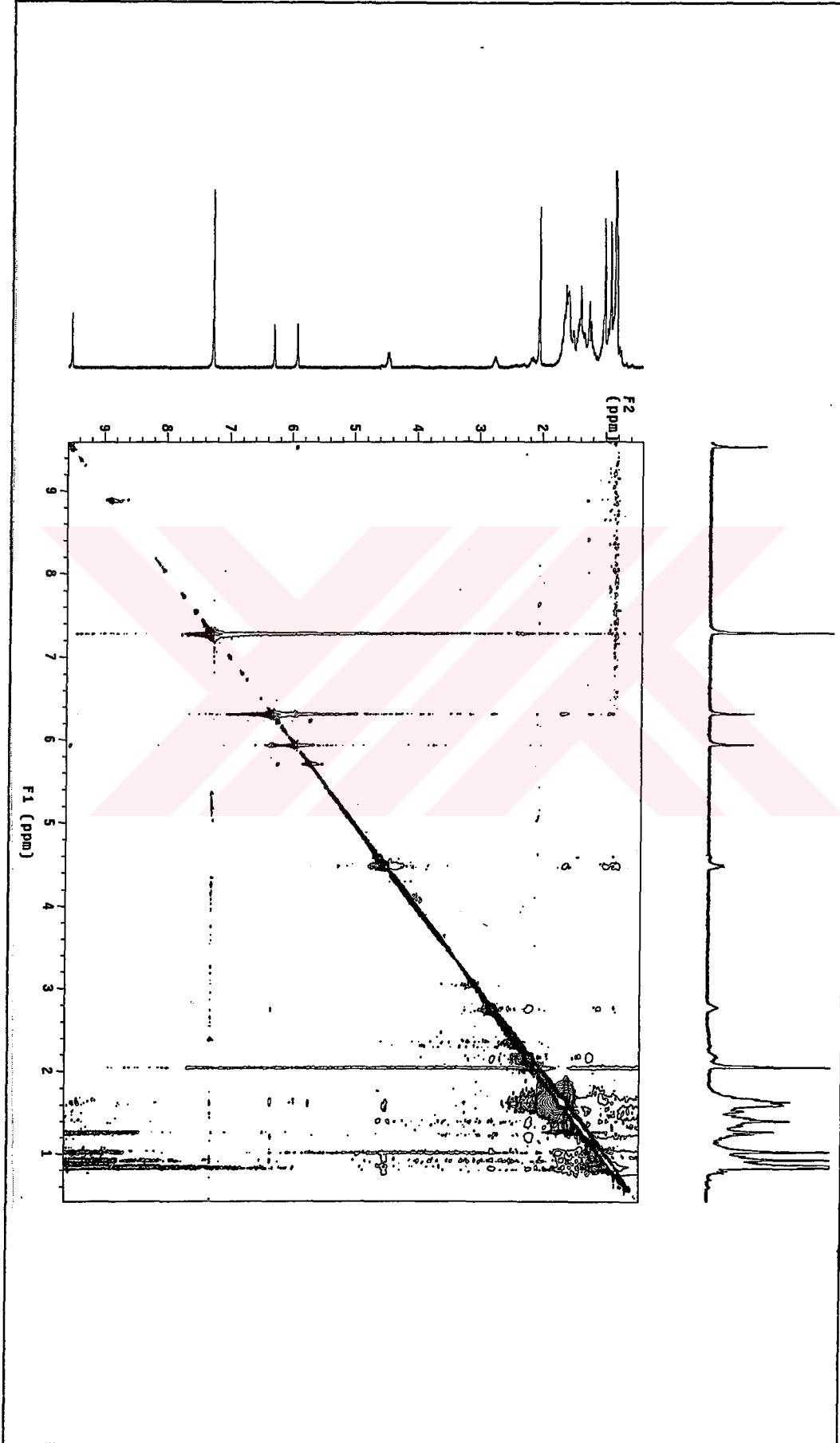
Ek Şekil 13. 1 nolu maddenin HMQC spektrumu



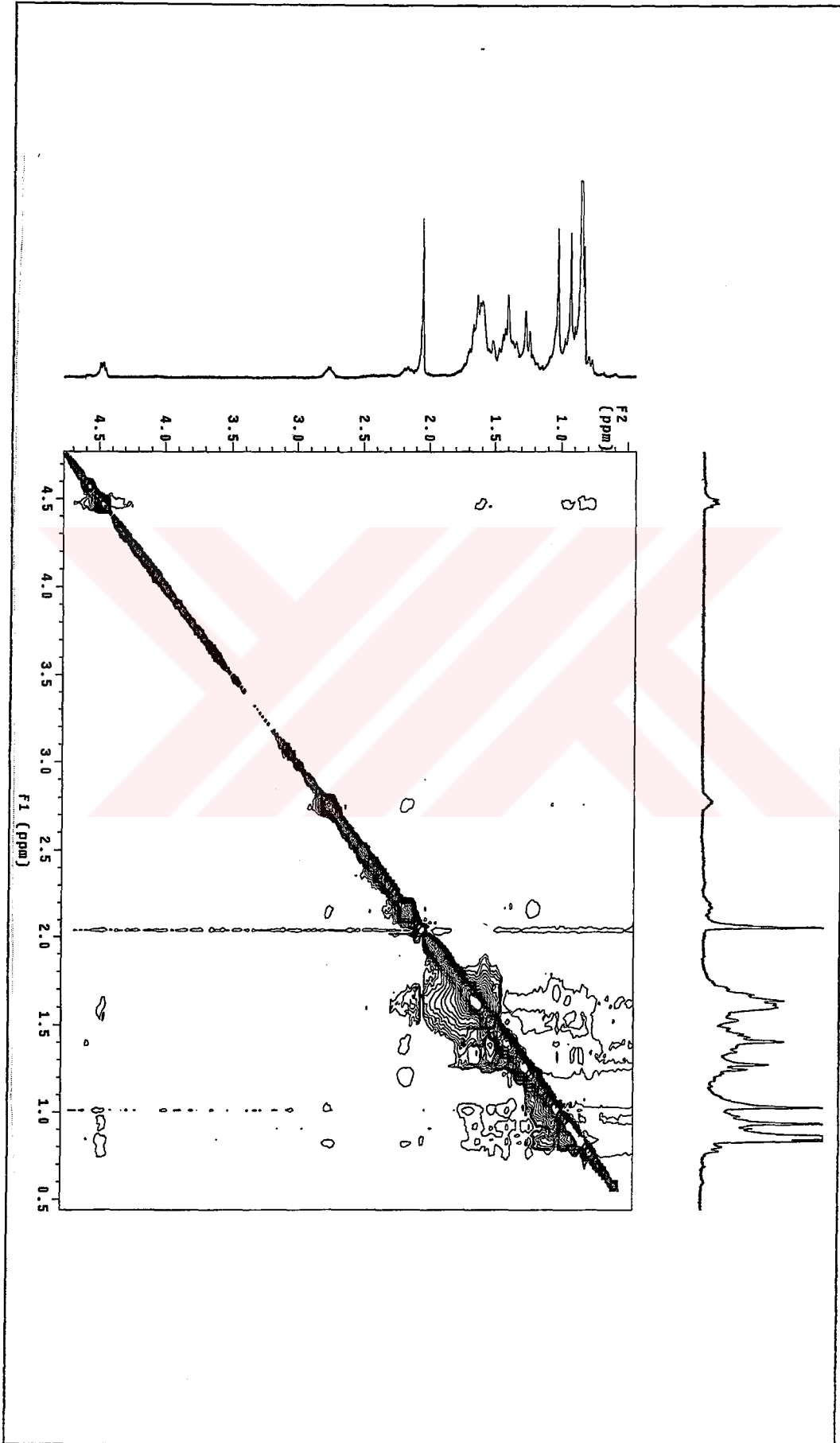
Ek Şekil 14. 1 nolu maddenin HMBC spektrumu



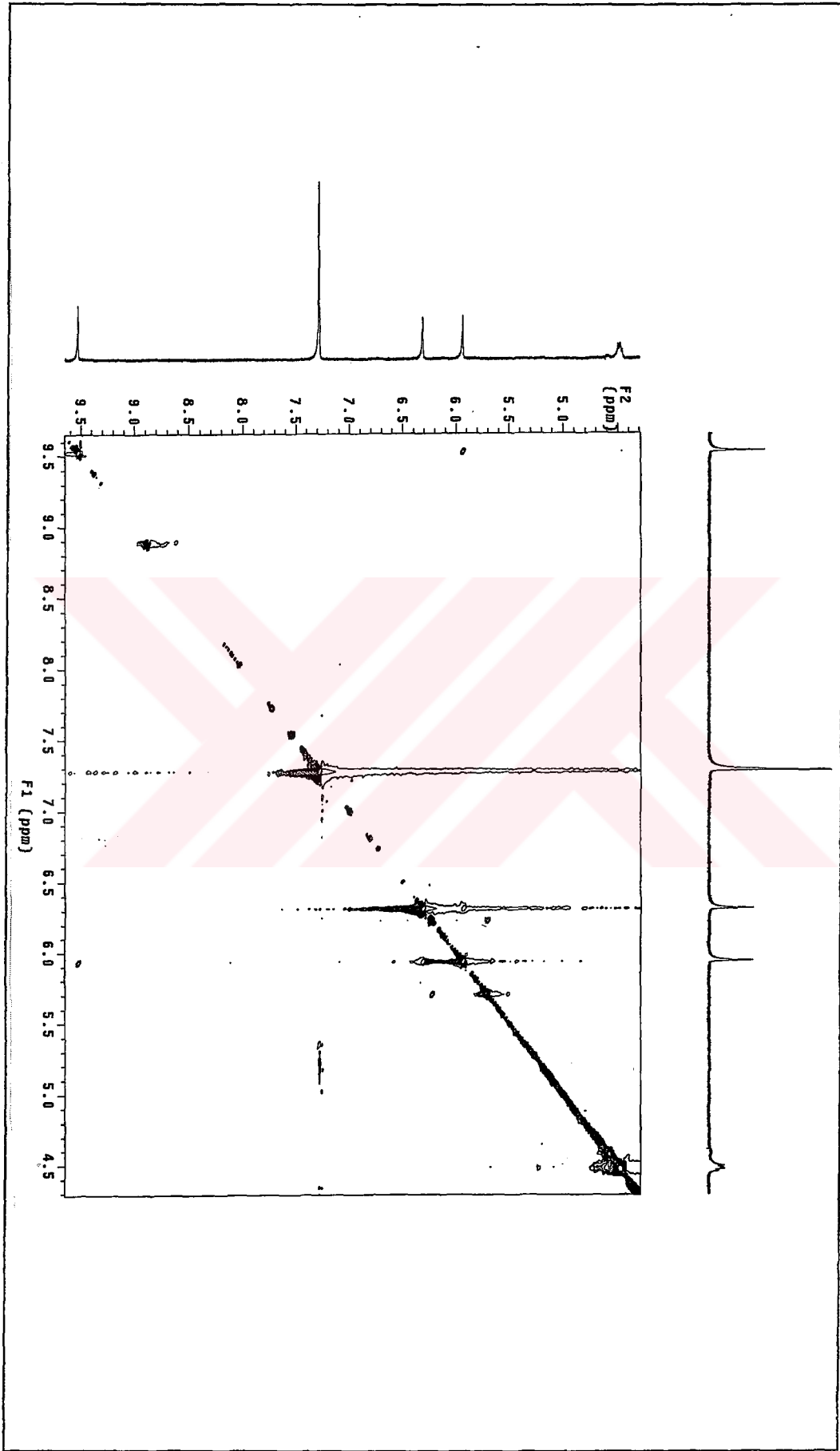
Ek Şekil 15. 1 nolu maddenin HMBC spektrumu



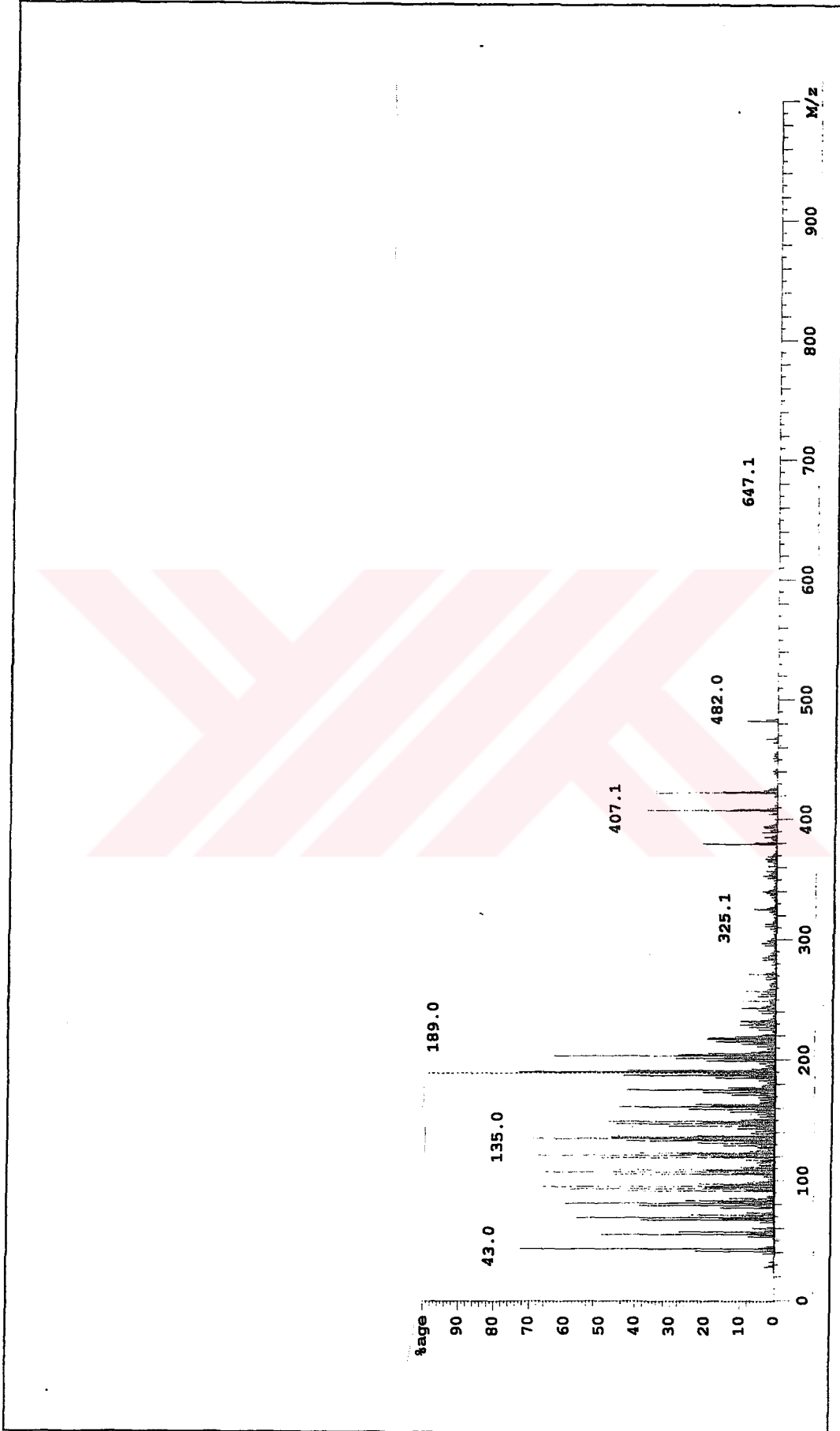
Ek Şekil 16. 1 nolu maddenin NOESY spektrumu



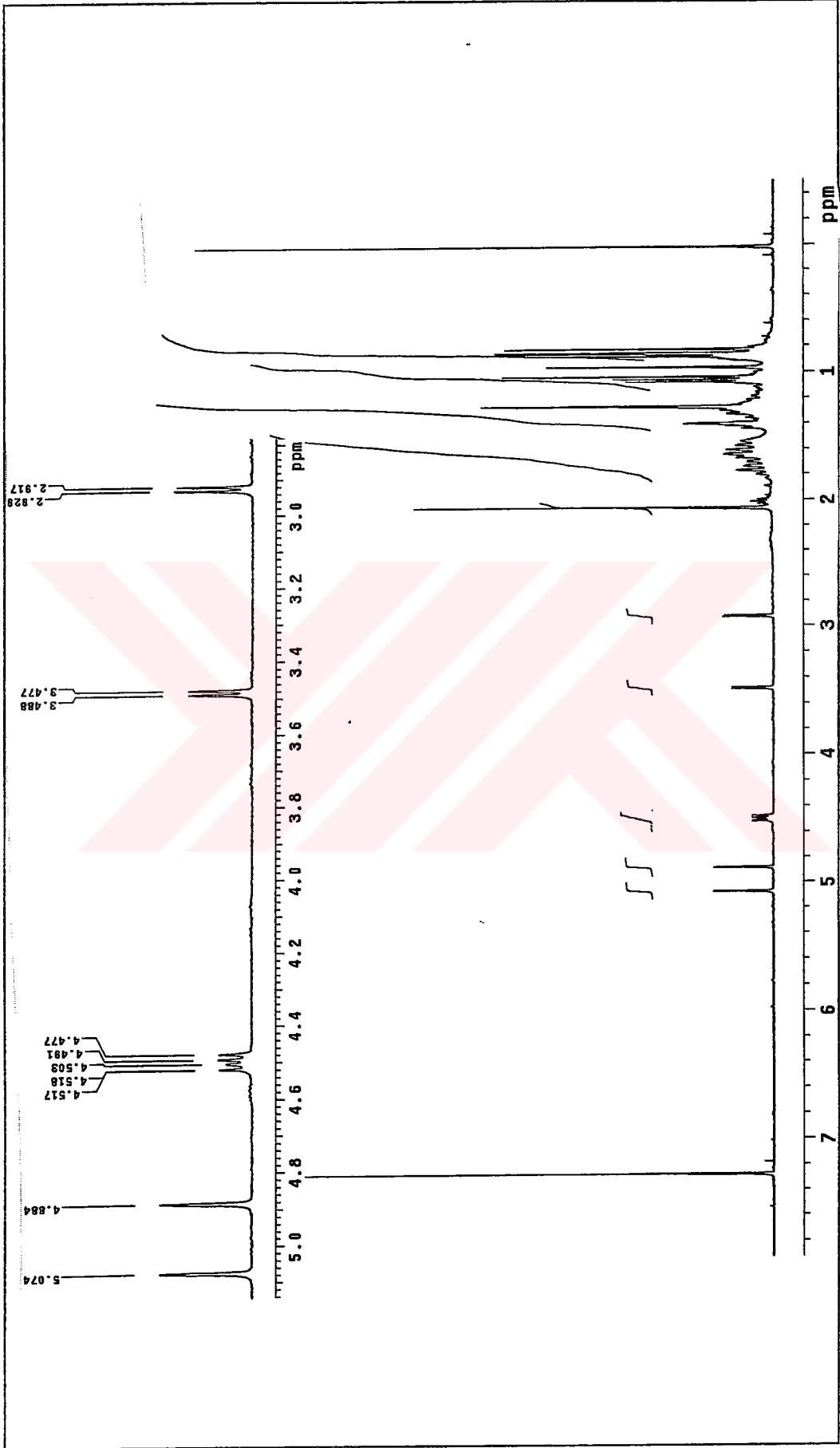
Ek Şekil 17. 1 nolu maddenin NOESY spektrumu



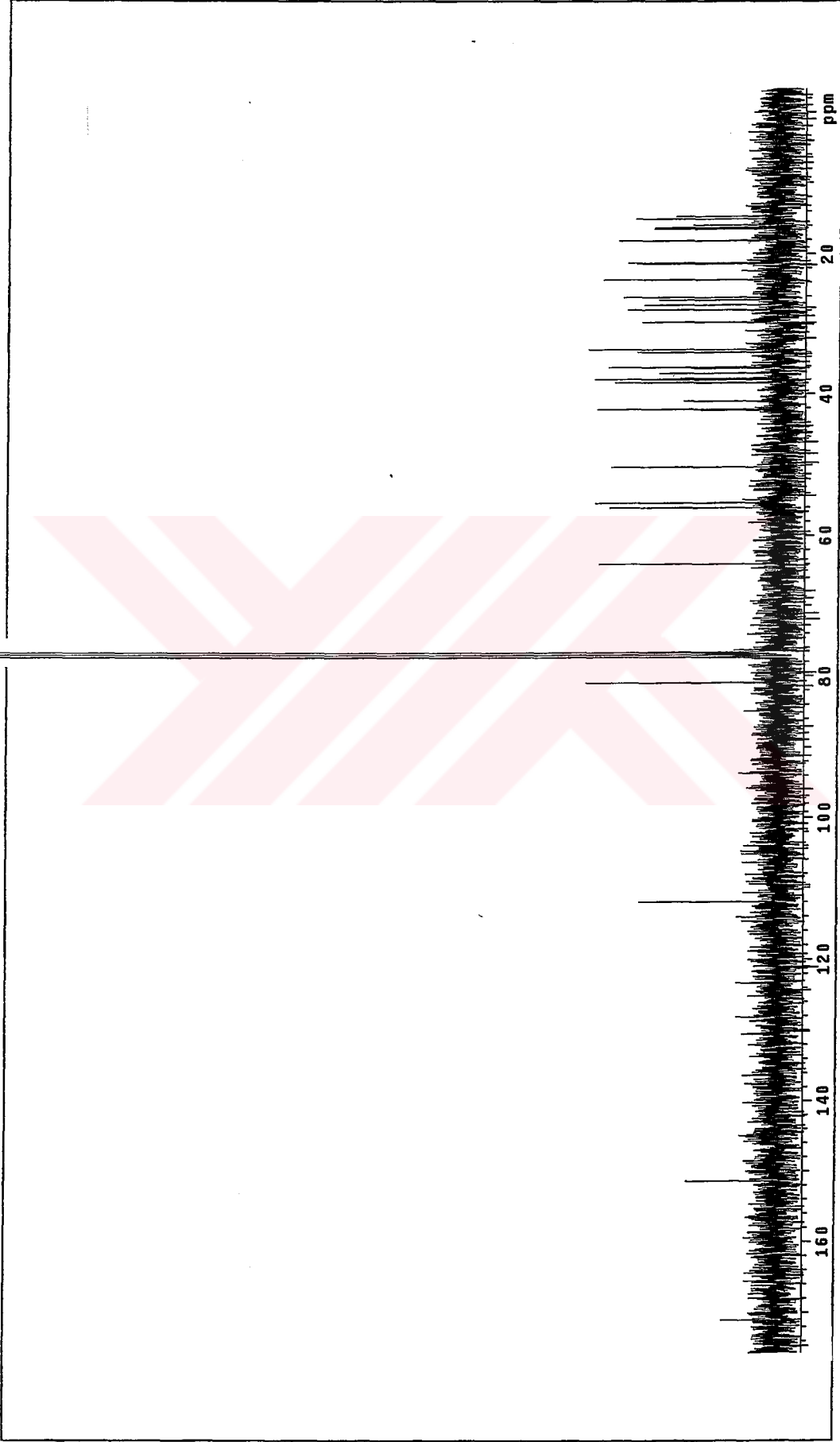
Ek Şekil 18. 1 nolu maddenin NOESY spektrumu



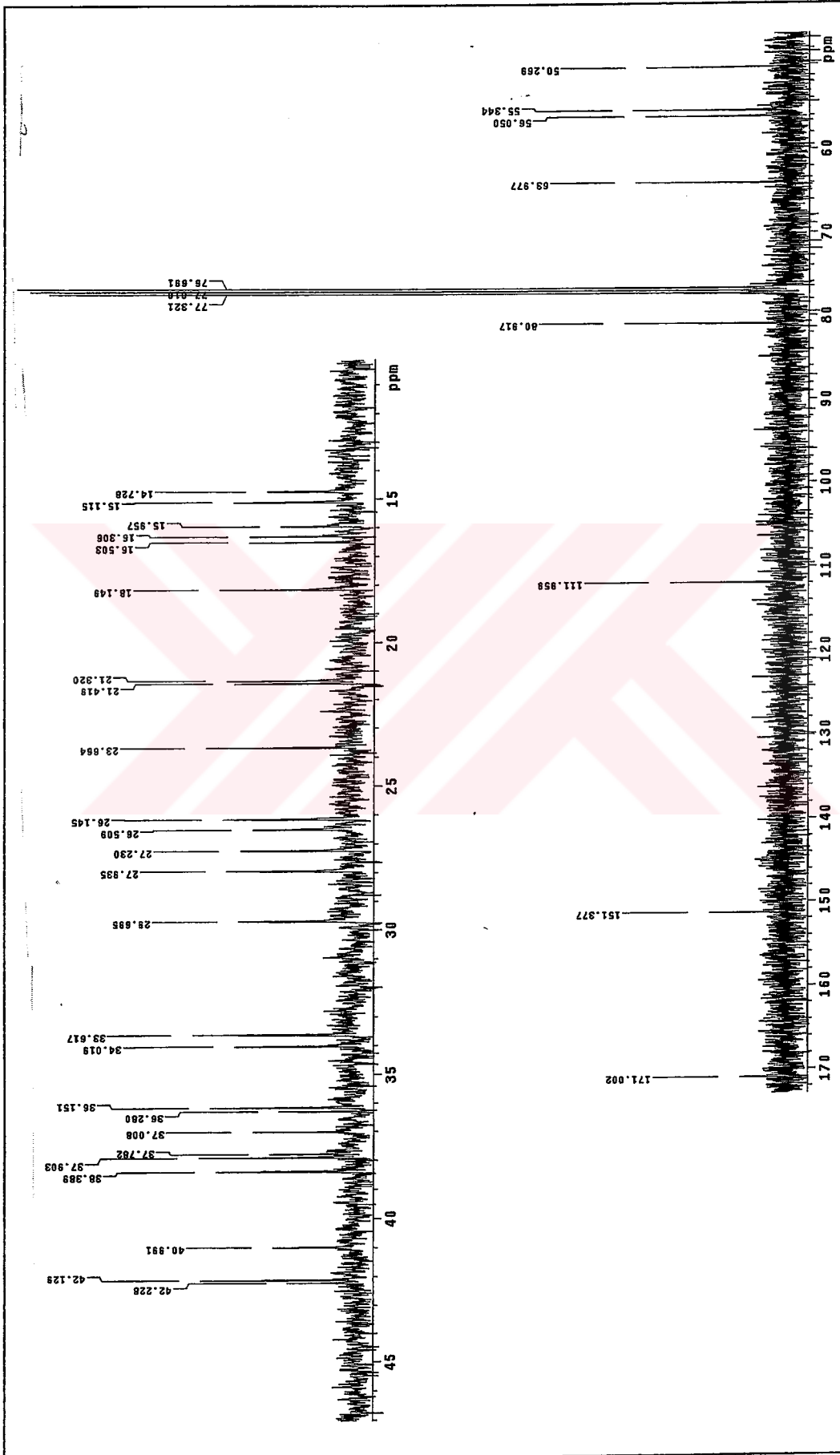
Ek Şekil 19. 1 nolu maddenin EI-MS spektrumu



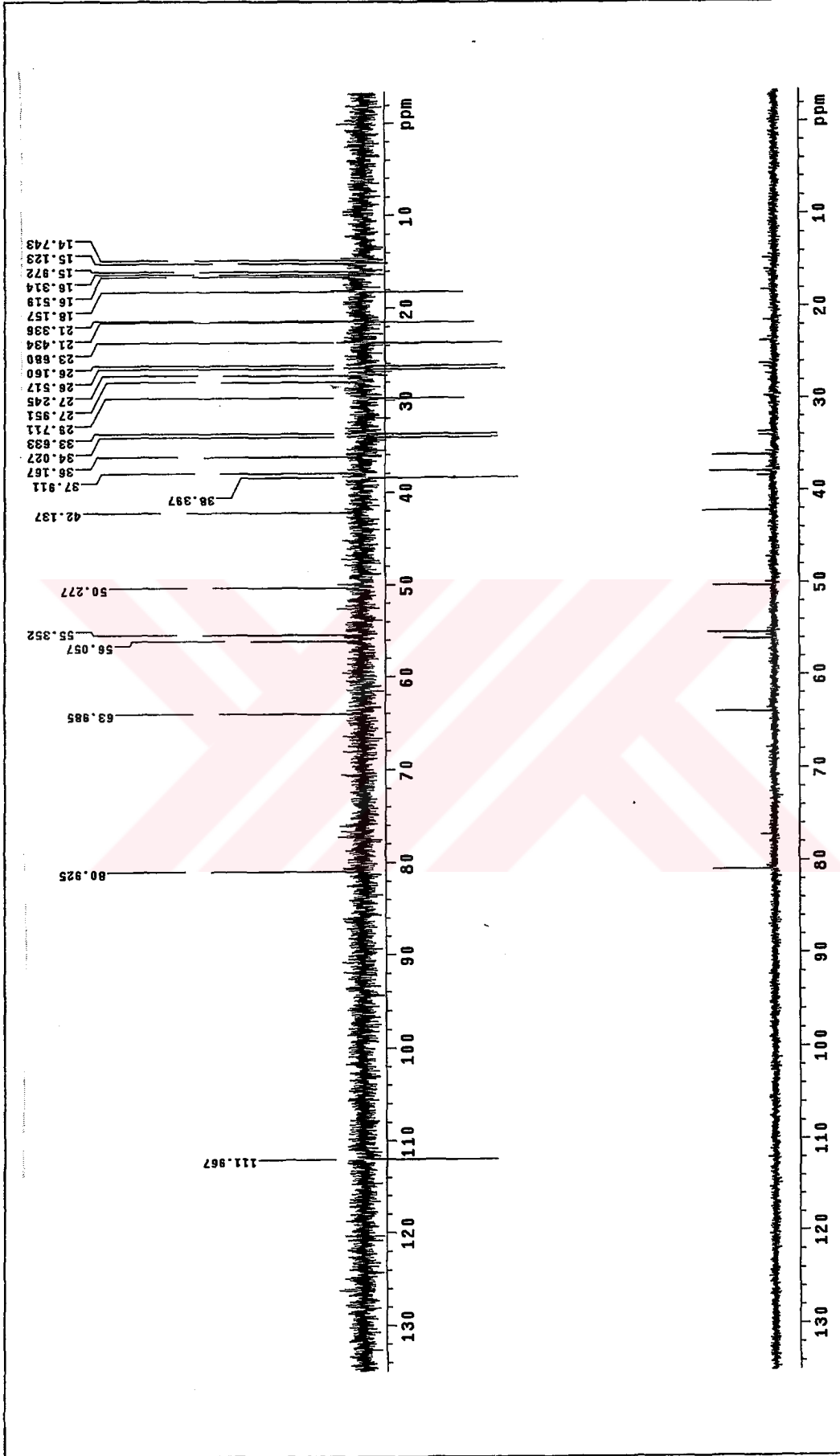
Ek Şekil 20. 2 nolu maddenin ^1H NMR spektrumu



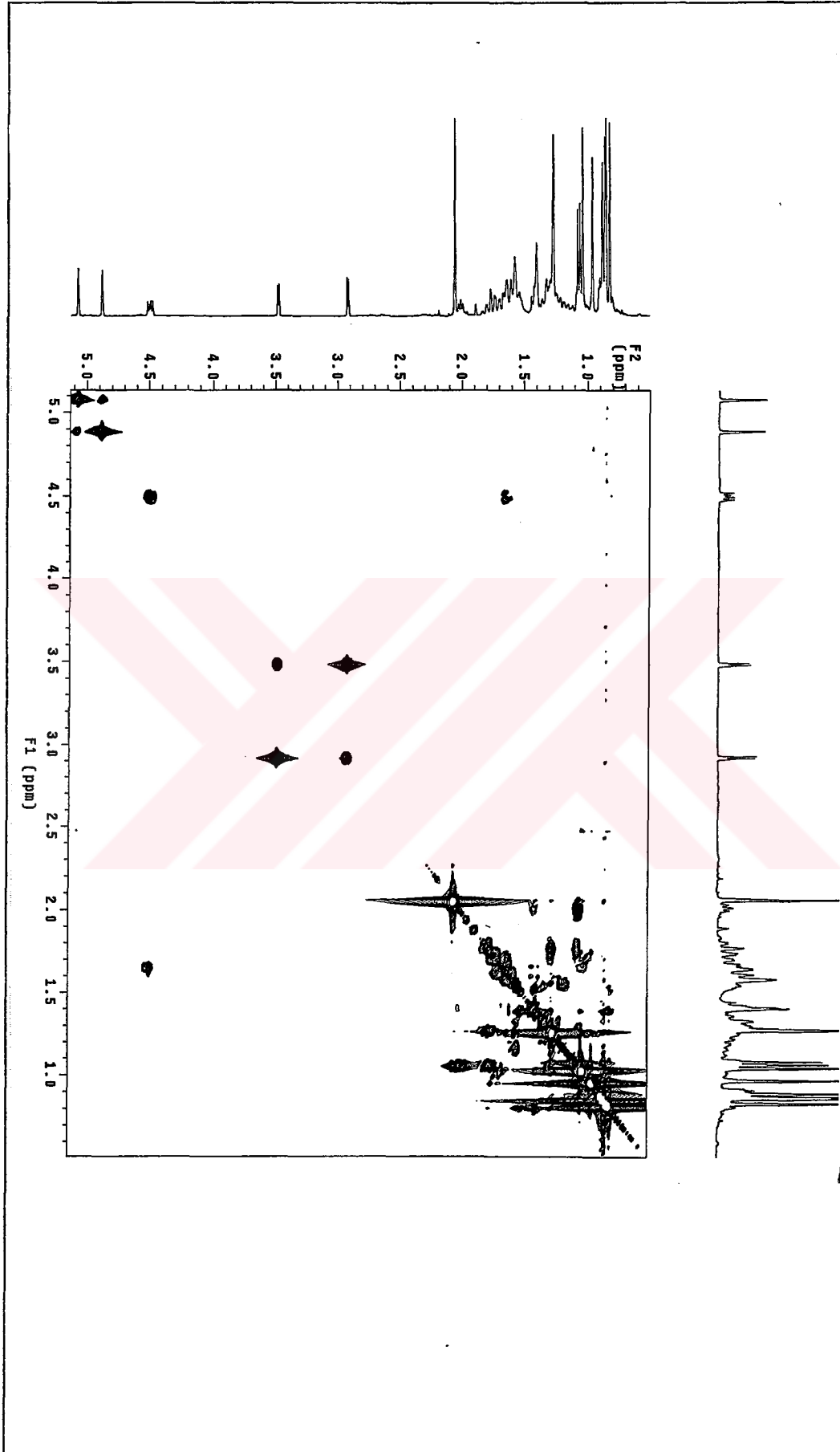
Ek Şekil 21. 2 nolu maddenin ^{13}C NMR spektrumu



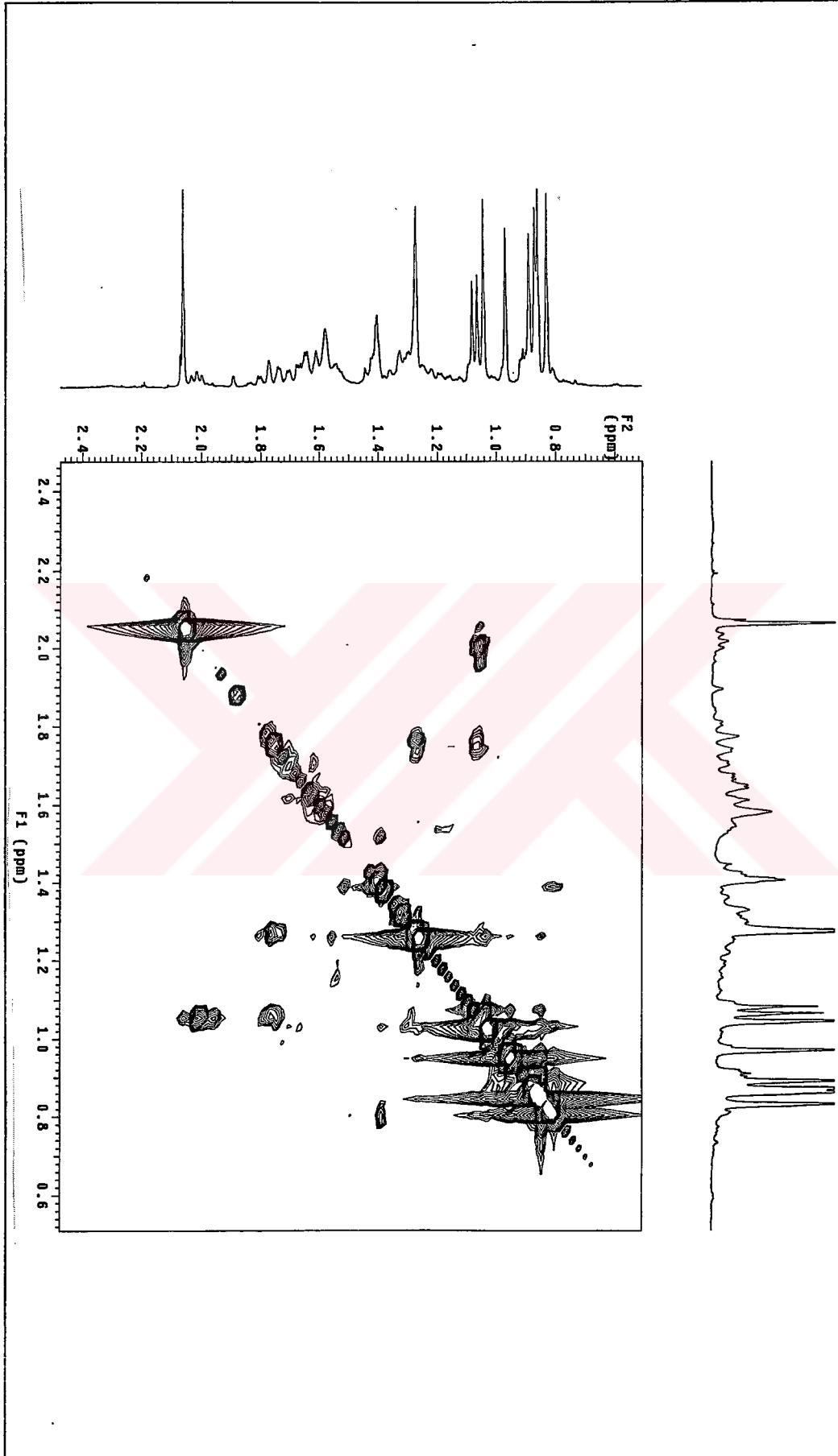
Ek Şekli 22. 2 nolu maddenin ^{13}C NMR spektrumu



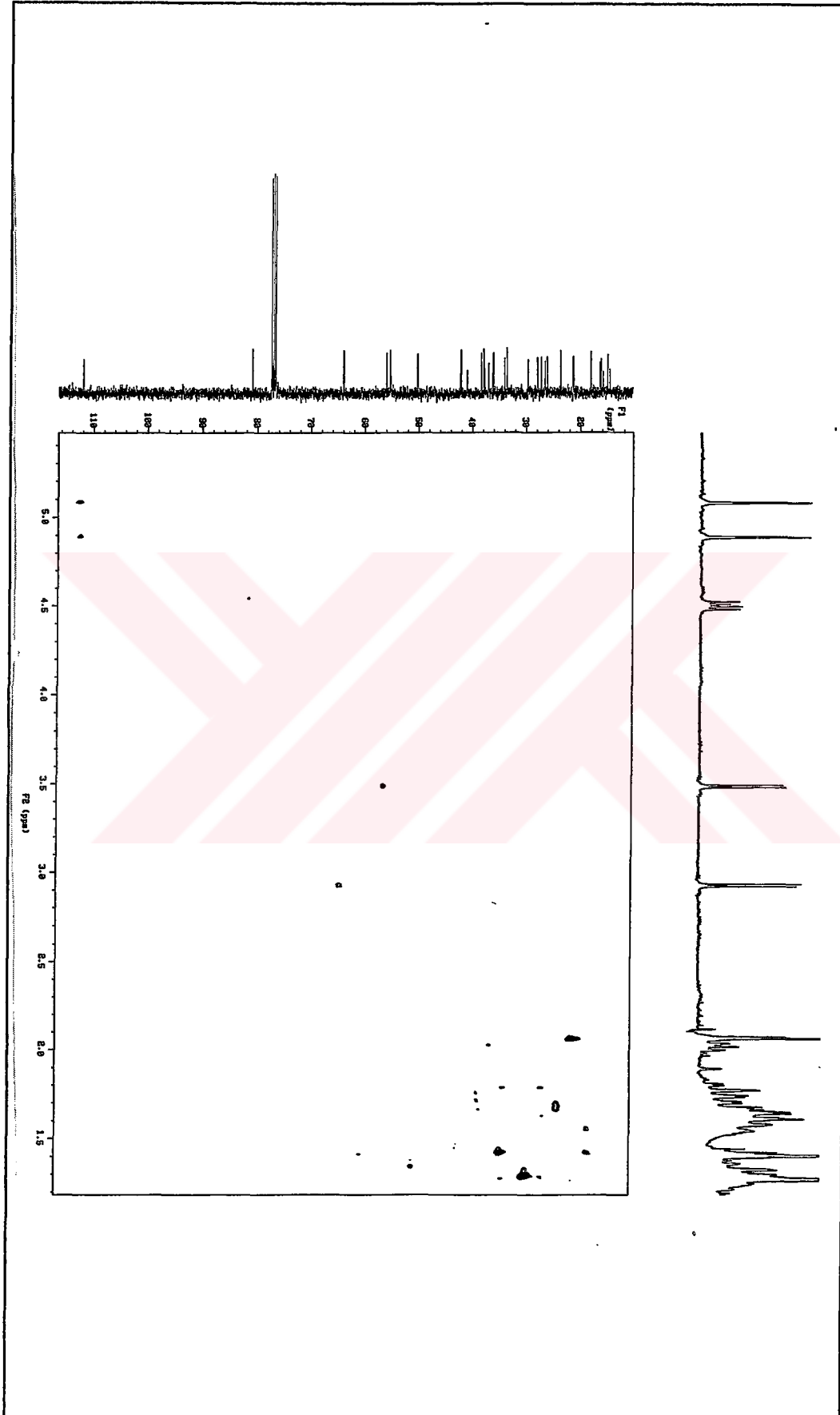
Ek Şekil 23. 2 nolu maddenin DEPT spektrumu



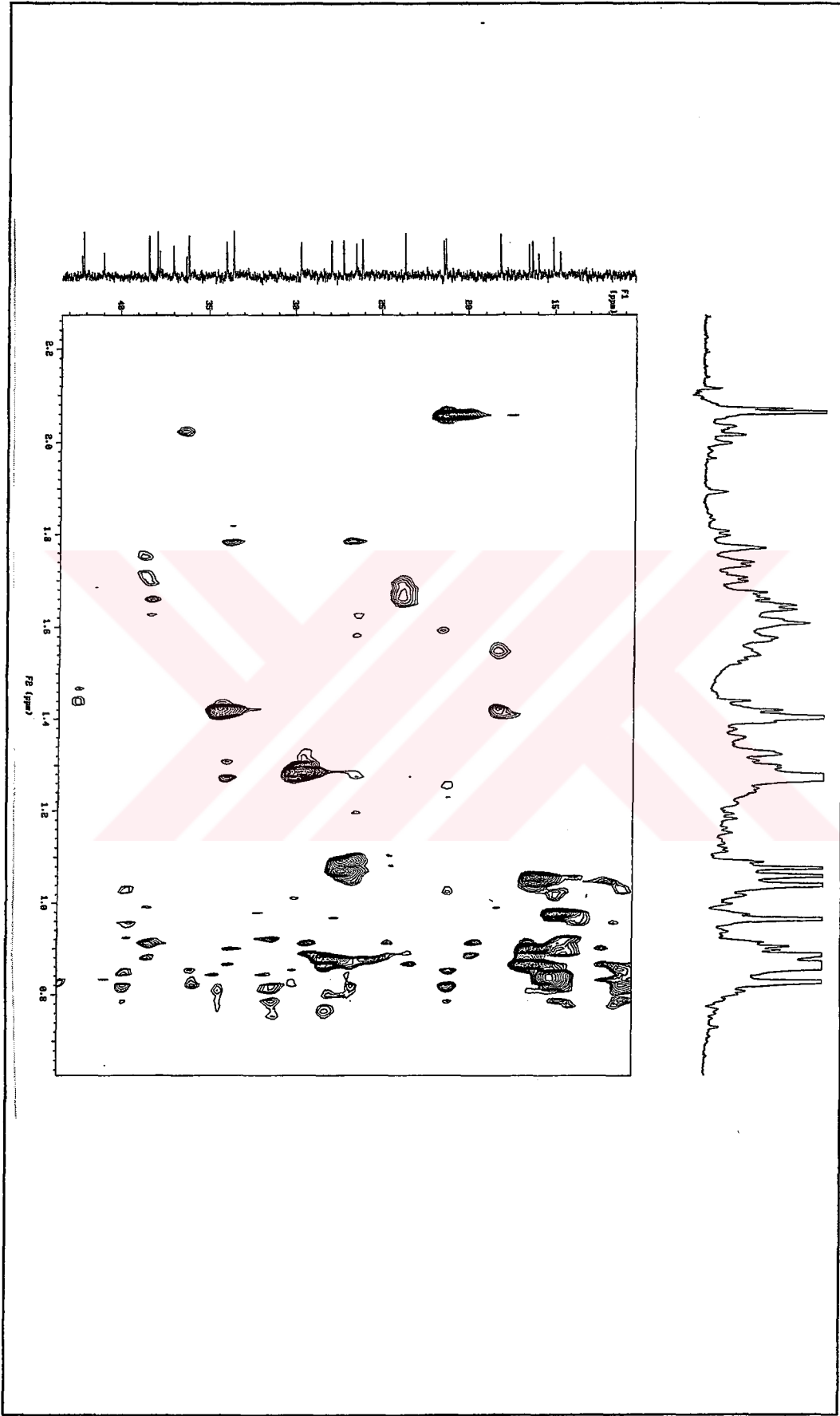
Ek Şekil 24. 2 nolu maddenin COSY spektrumu



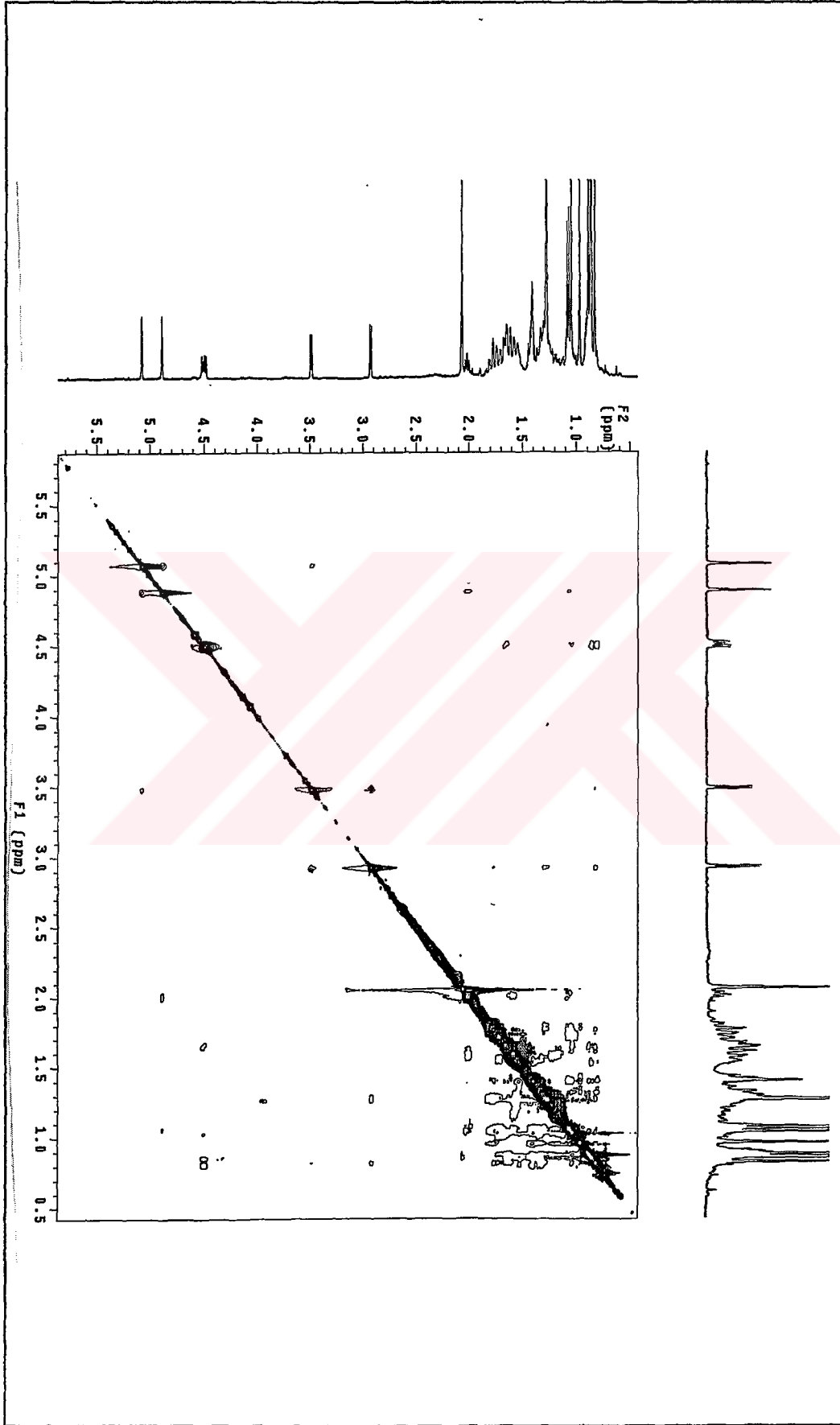
Ek Şekil 25. 2 nolu maddenin COSY spektrumu



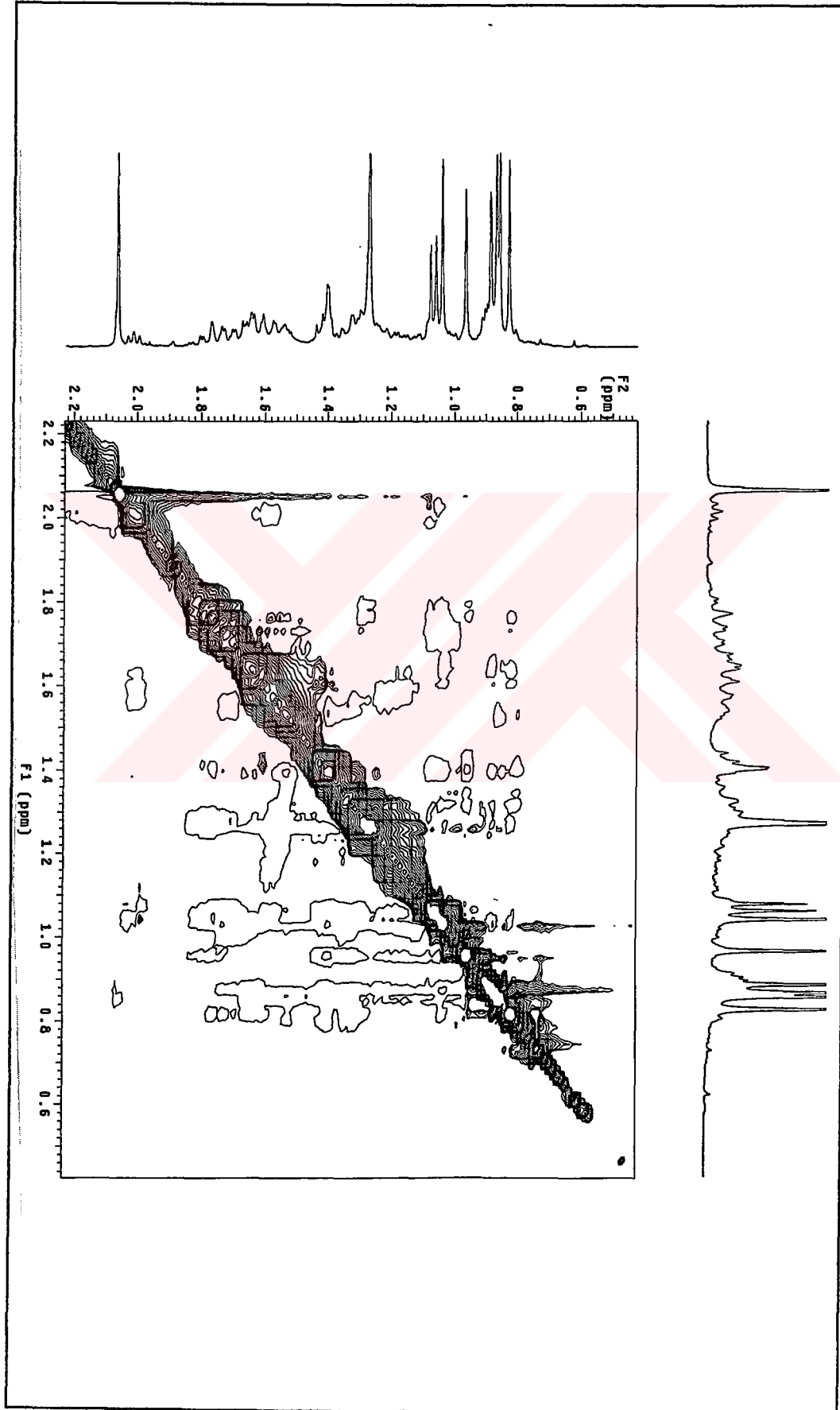
Ek Şekil 26. 2 nolu maddenin HMQC spektrumu



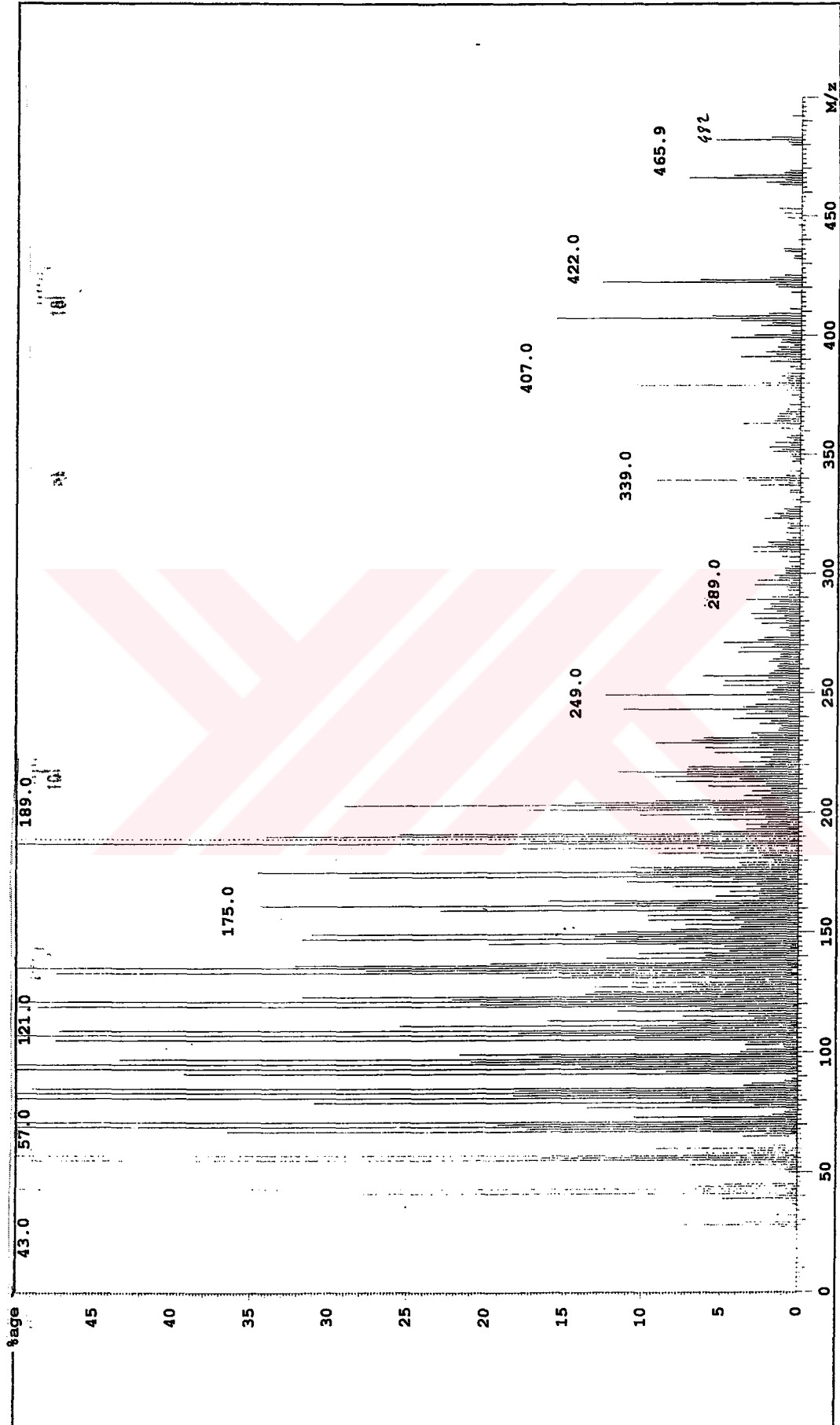
Ek Şekil 27. 2 nolu maddenin HMQC spektrumu



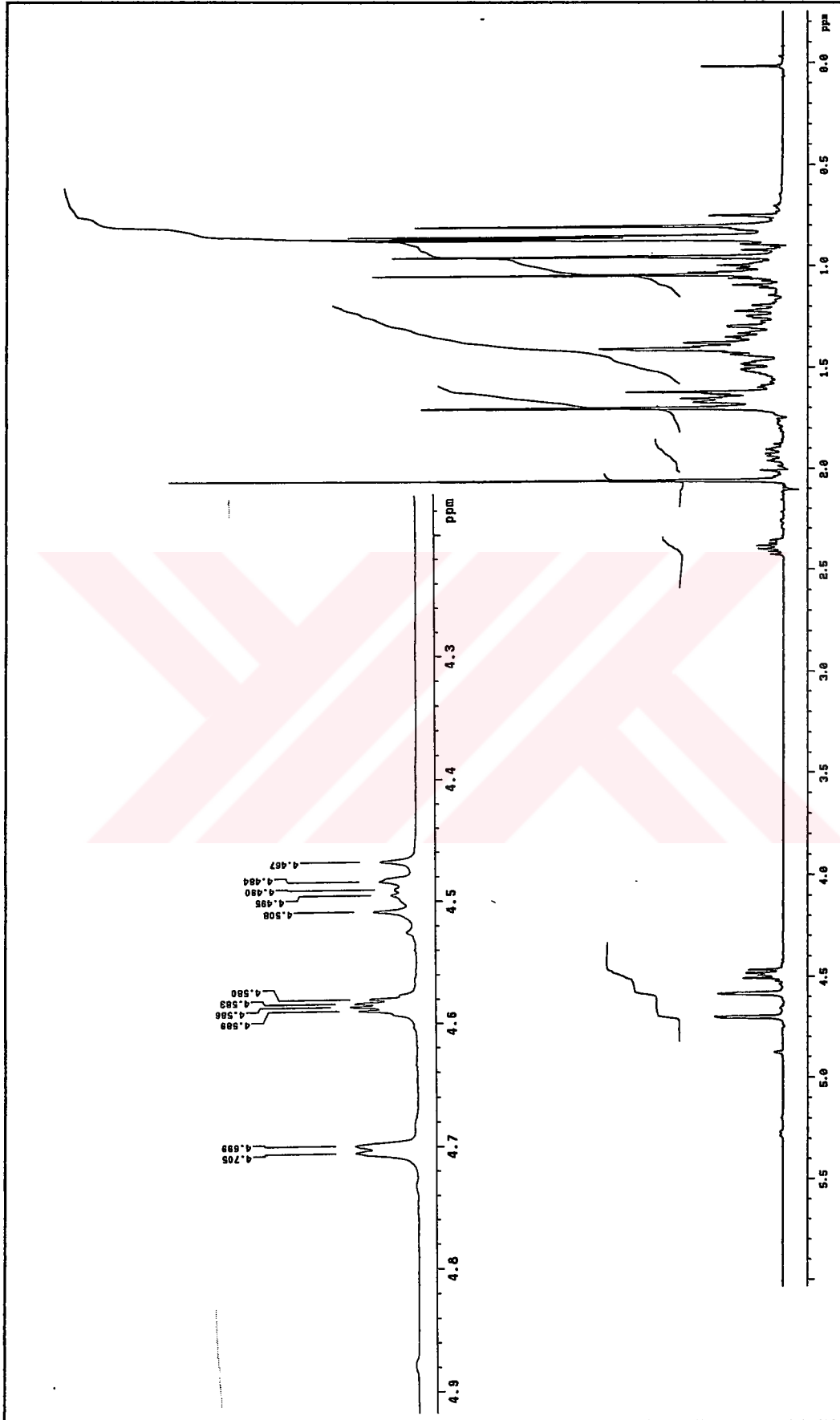
Ek Şekil 28. 2 nolu maddenin NOESY spektrumu



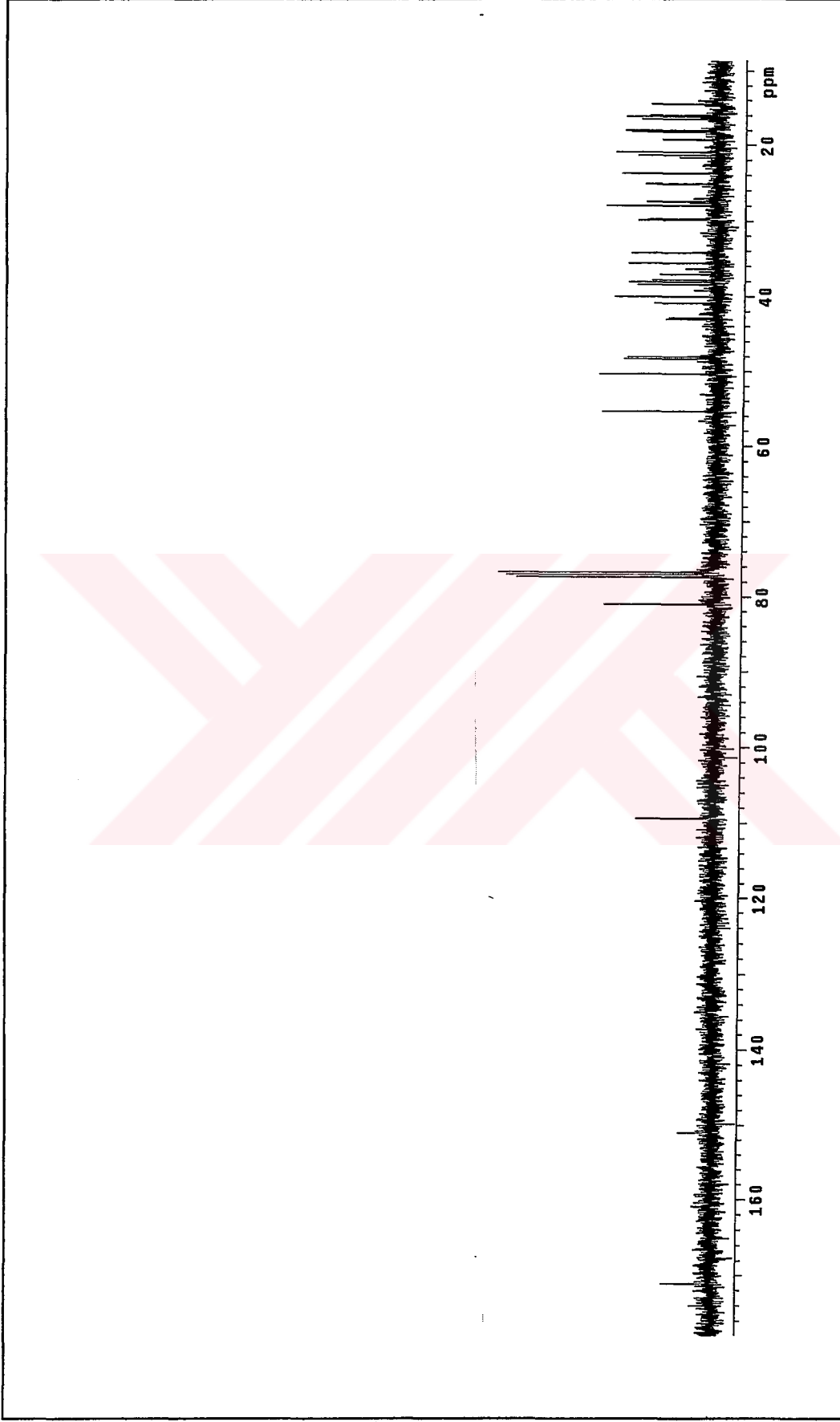
Ek Şekil 29. 2 nolu maddenin NOESY spektrumu



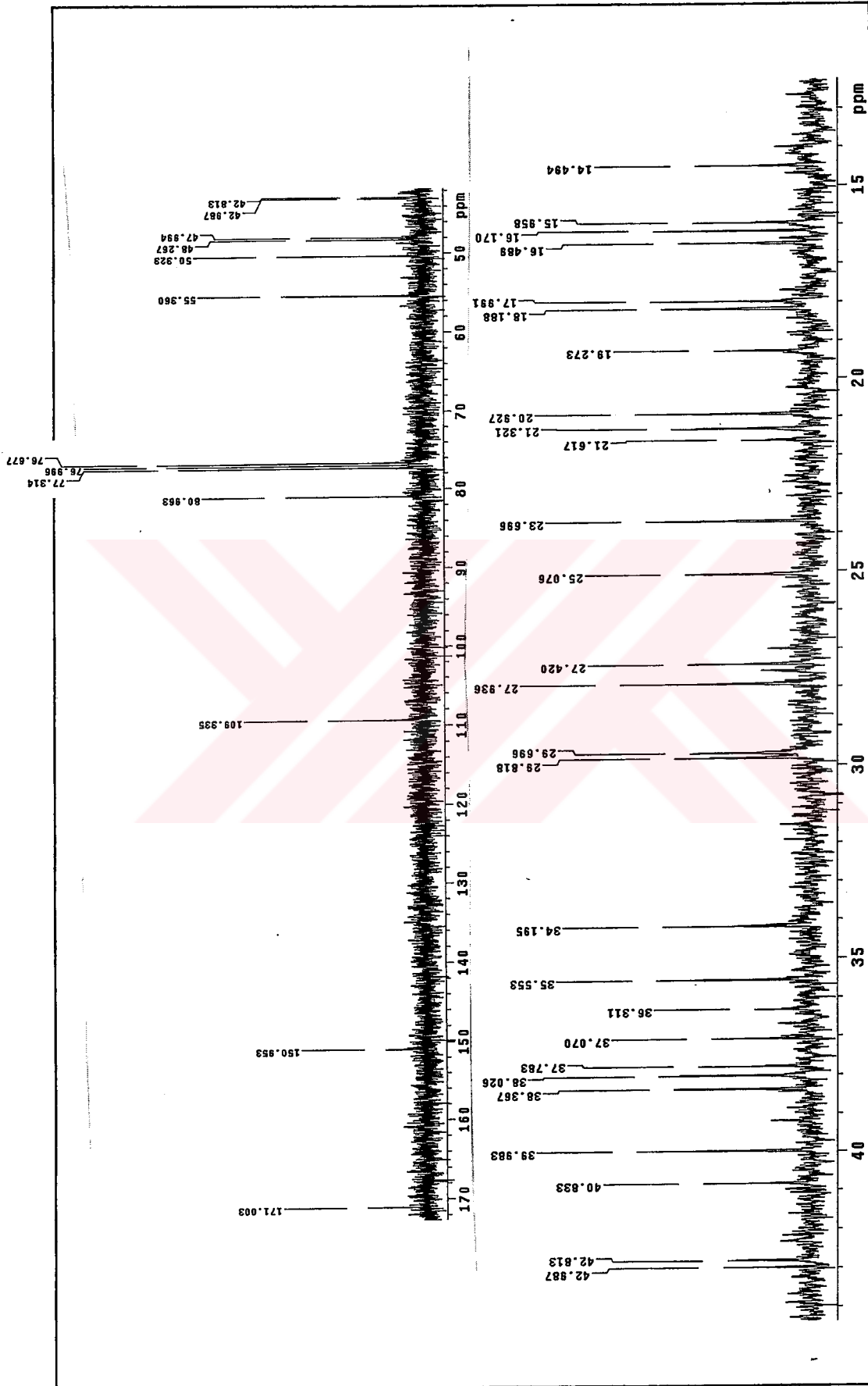
Ek Şekil 30. 2 nolu maddenin EI-MS spektrumu



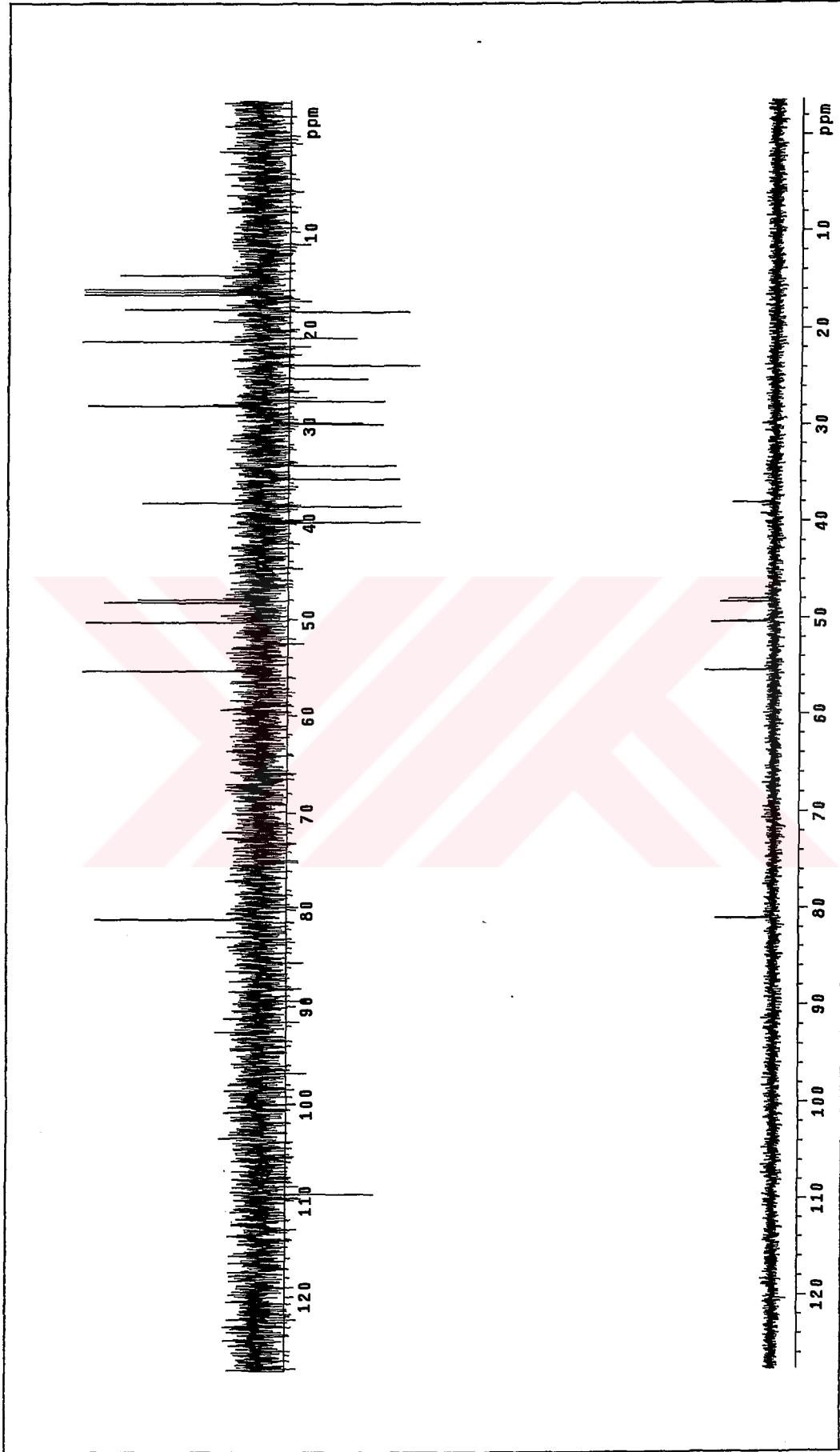
Ek Şekil 31. 3 nolu maddenin ^1H NMR spektrumu



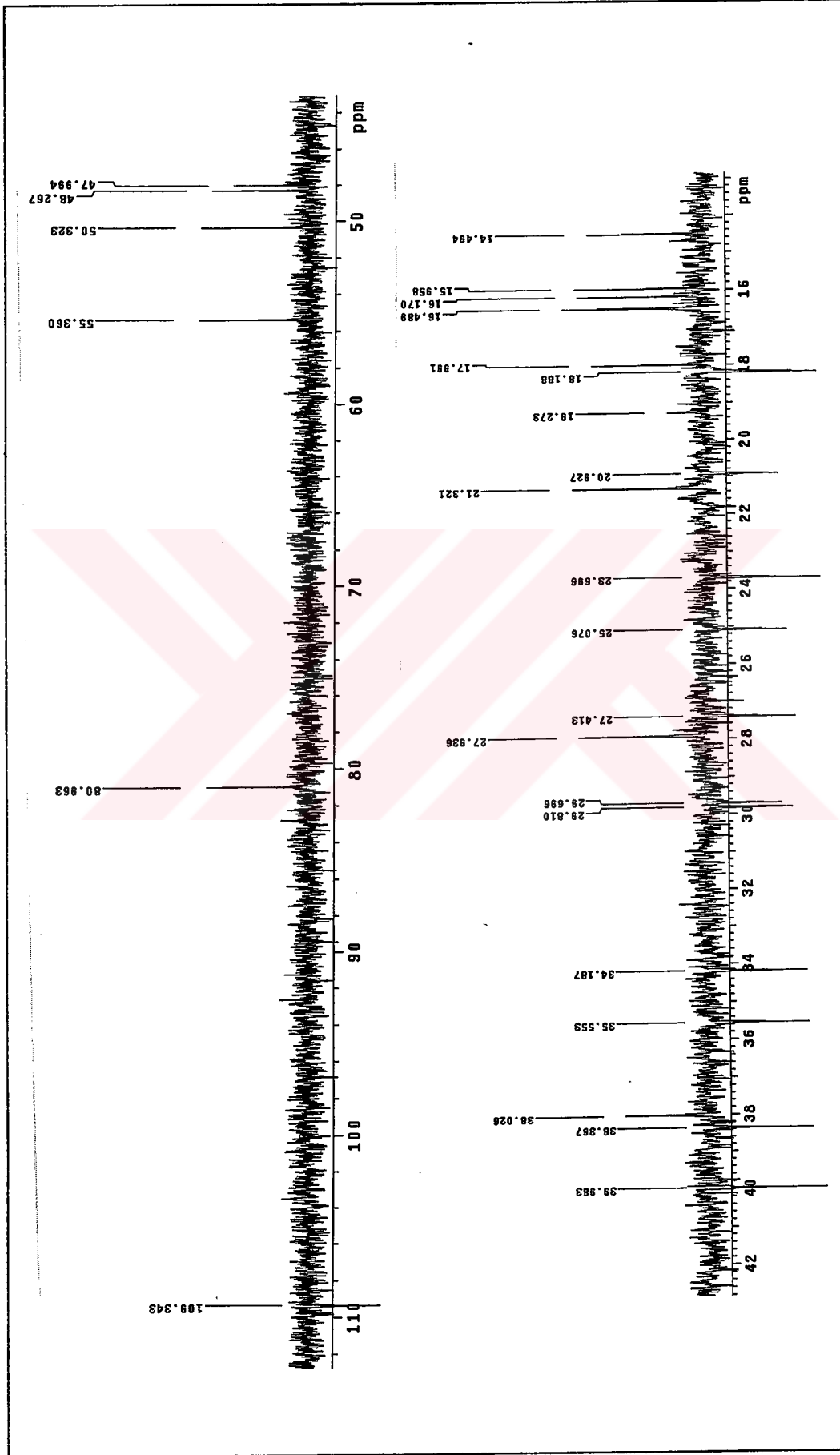
Ek Şekil 32. 3 nolu maddenin ^{13}C NMR spektrumu



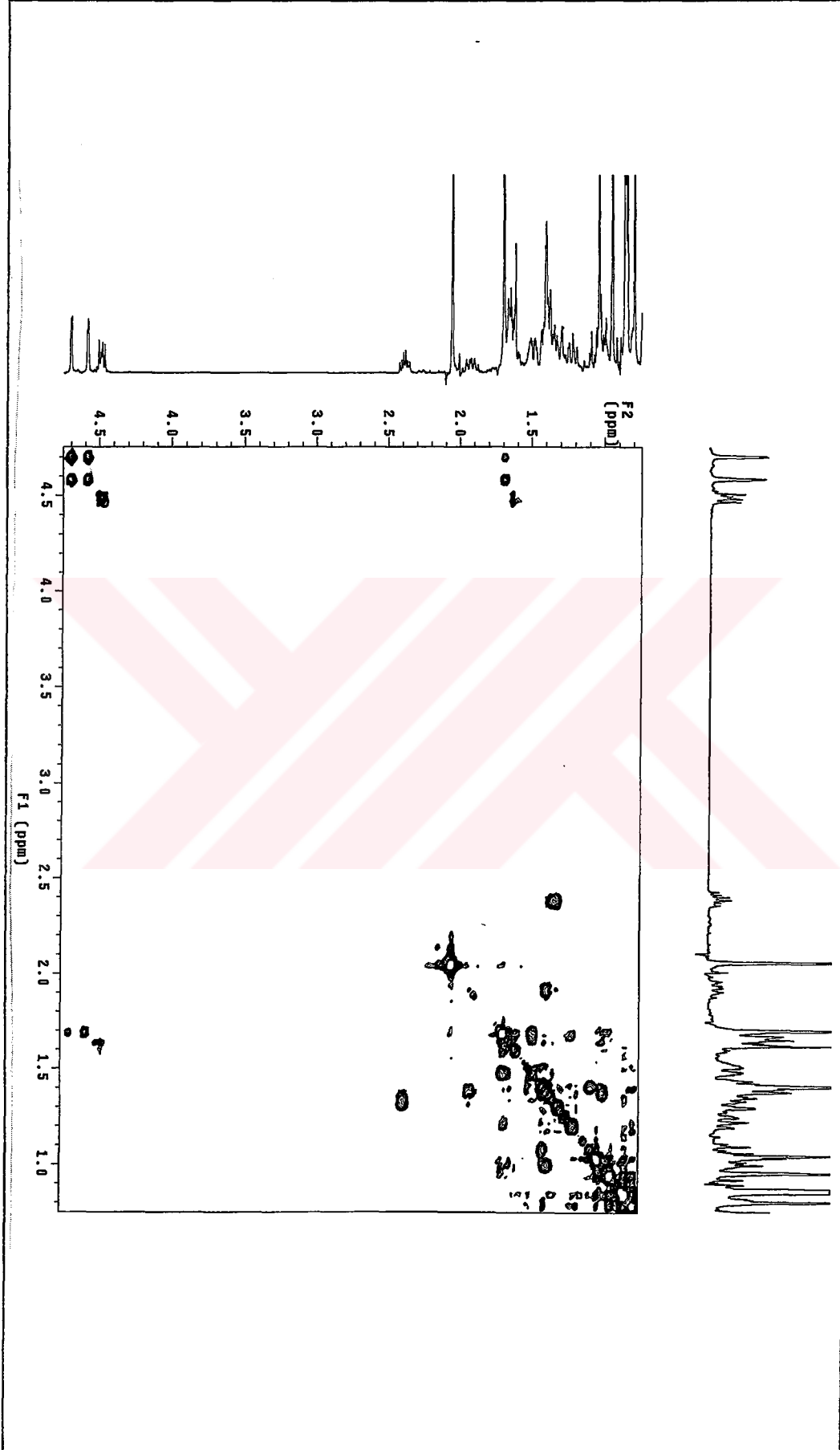
Ek Şekil 33. 3 nolu maddenin ^{13}C NMR spektrumu



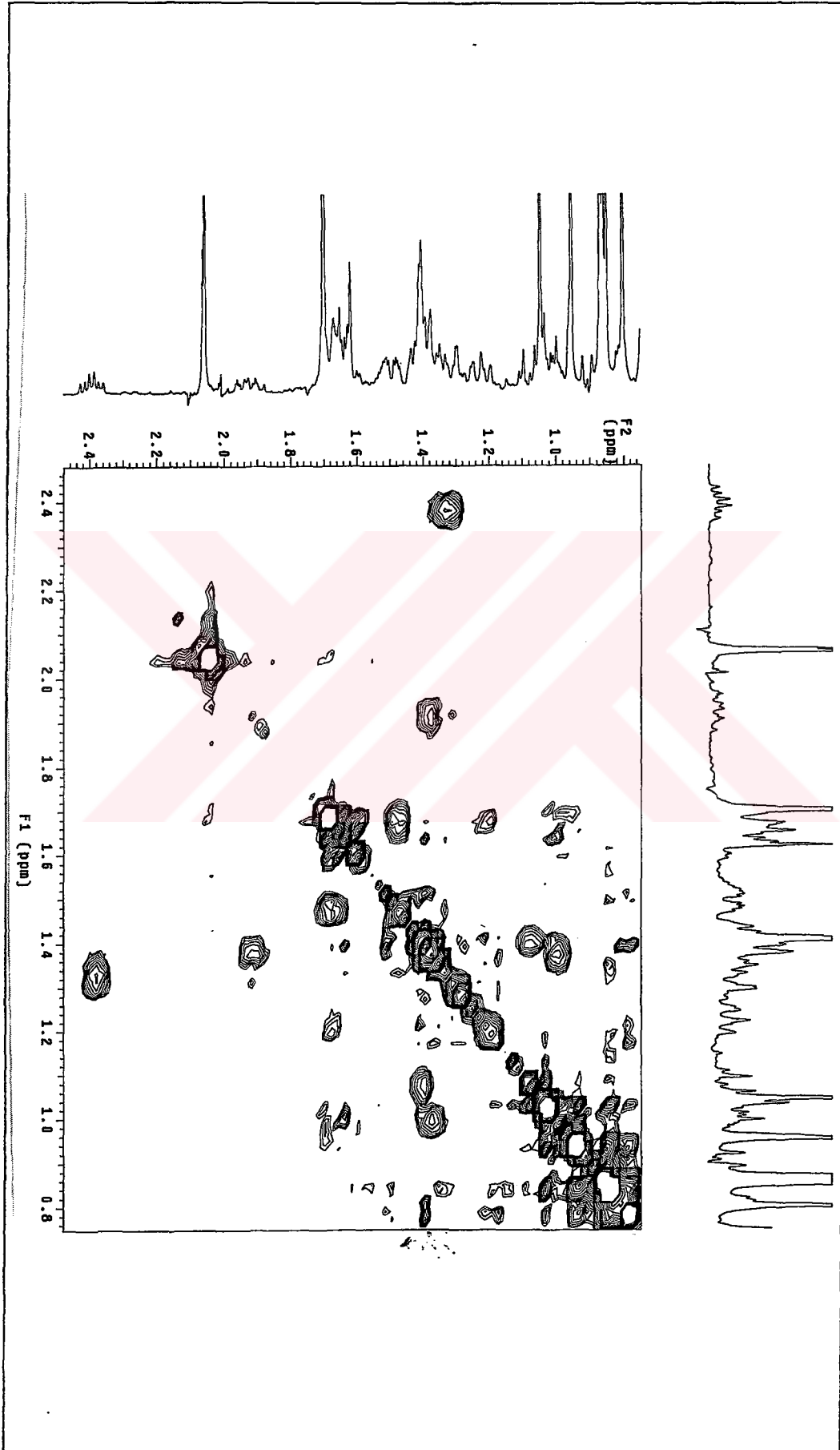
Ek Şekil 34. 3 nolu maddenin DEPT spektrumu



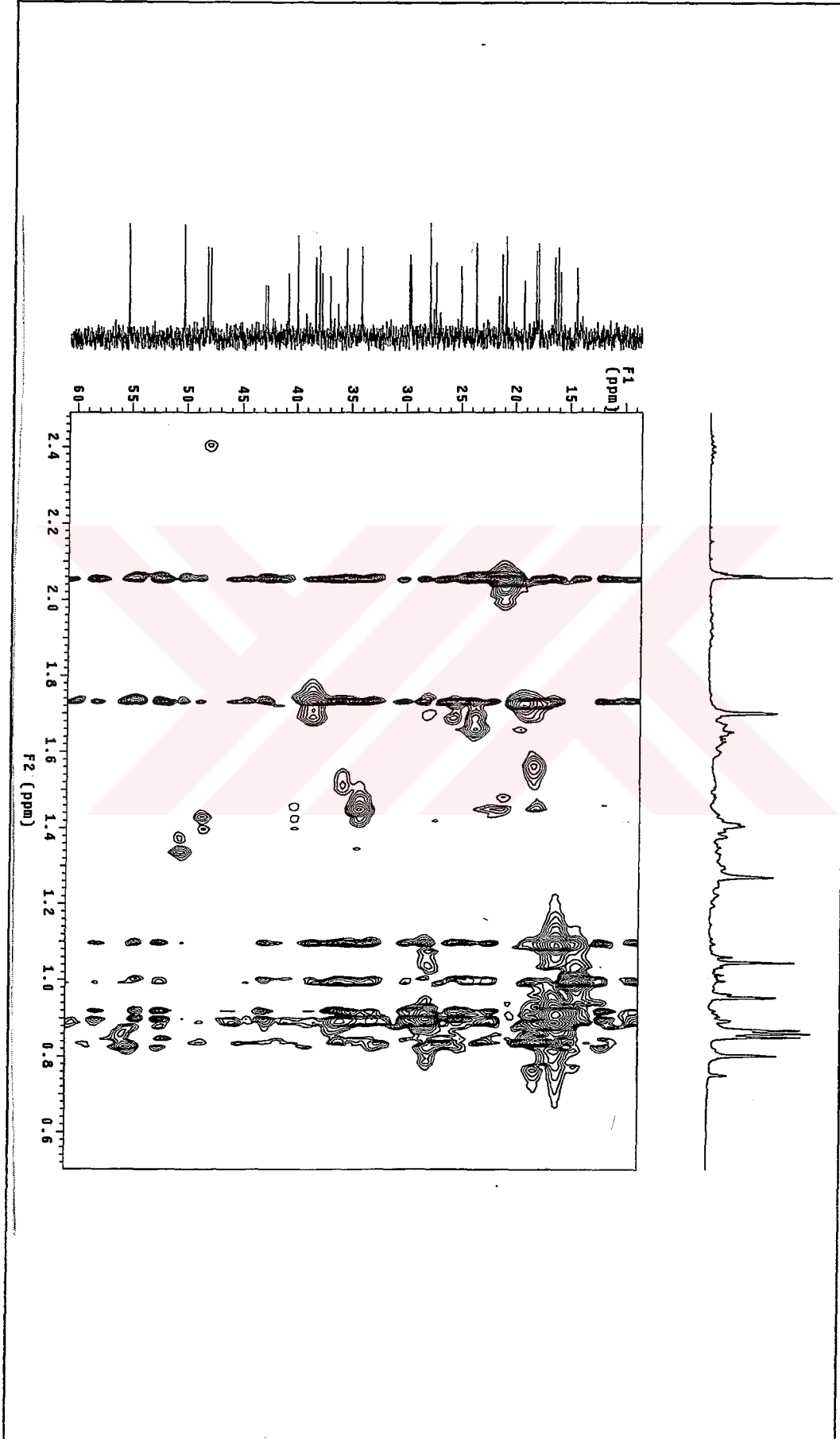
Ek Şekil 35. 3 nolu maddenin DEPT spektrumu



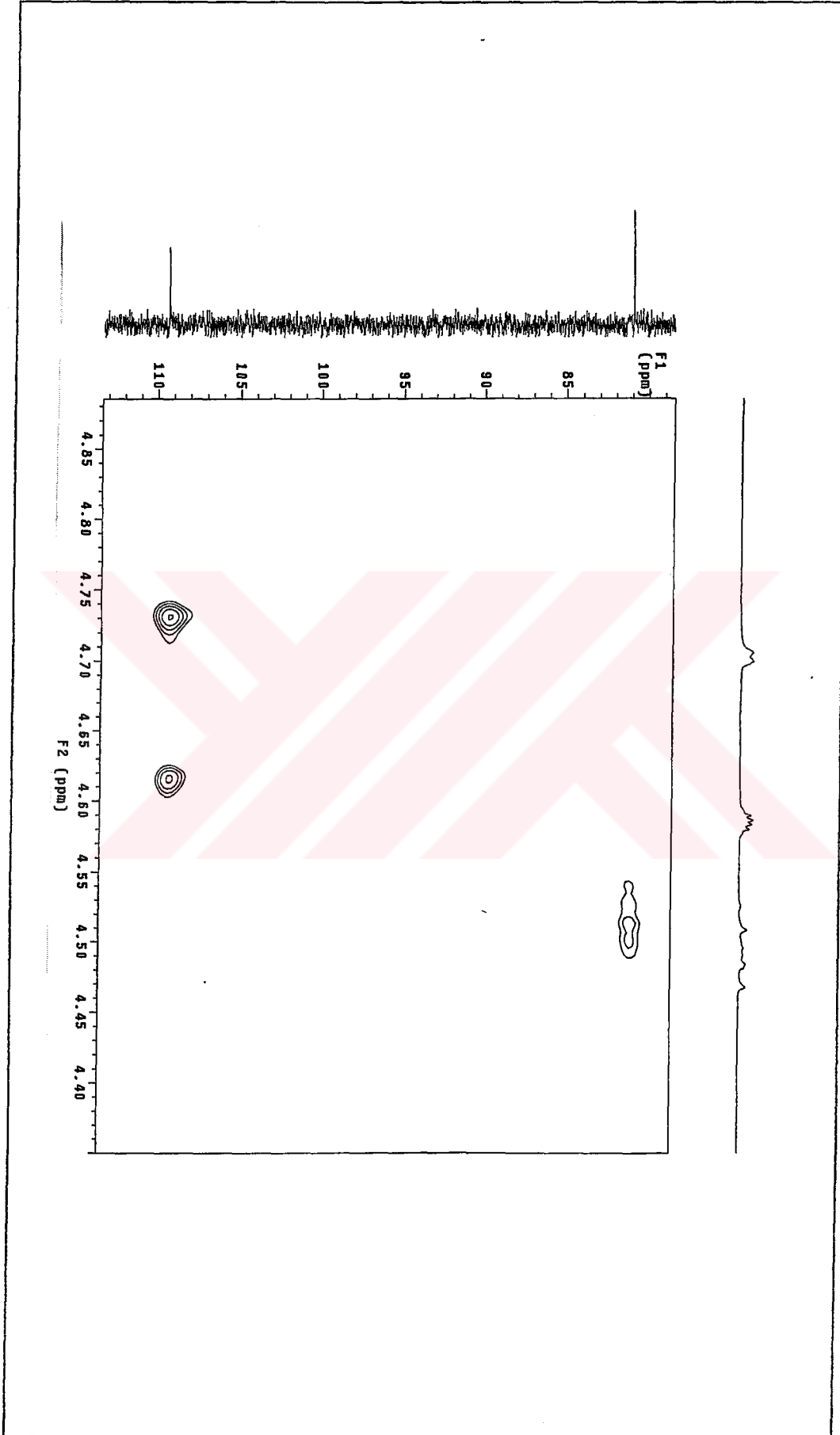
Ek Şekil 36. 3 nolu maddenin COSY spektrumu



Ek Şekil 37. 3 nolu maddenin COSY spektrumu



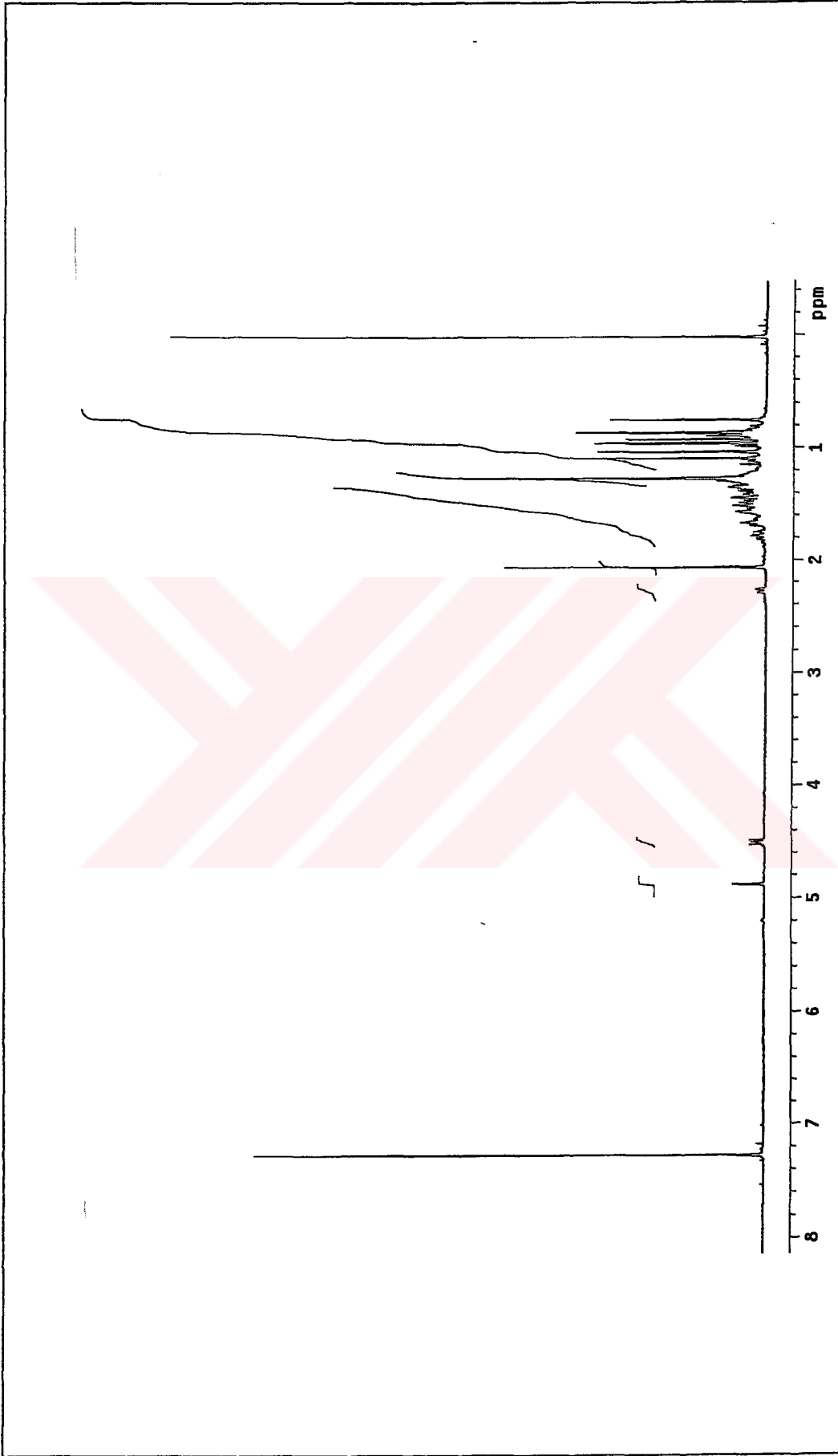
Ek Şekil 38. 3 nolu maddenin HMQC spektrumu



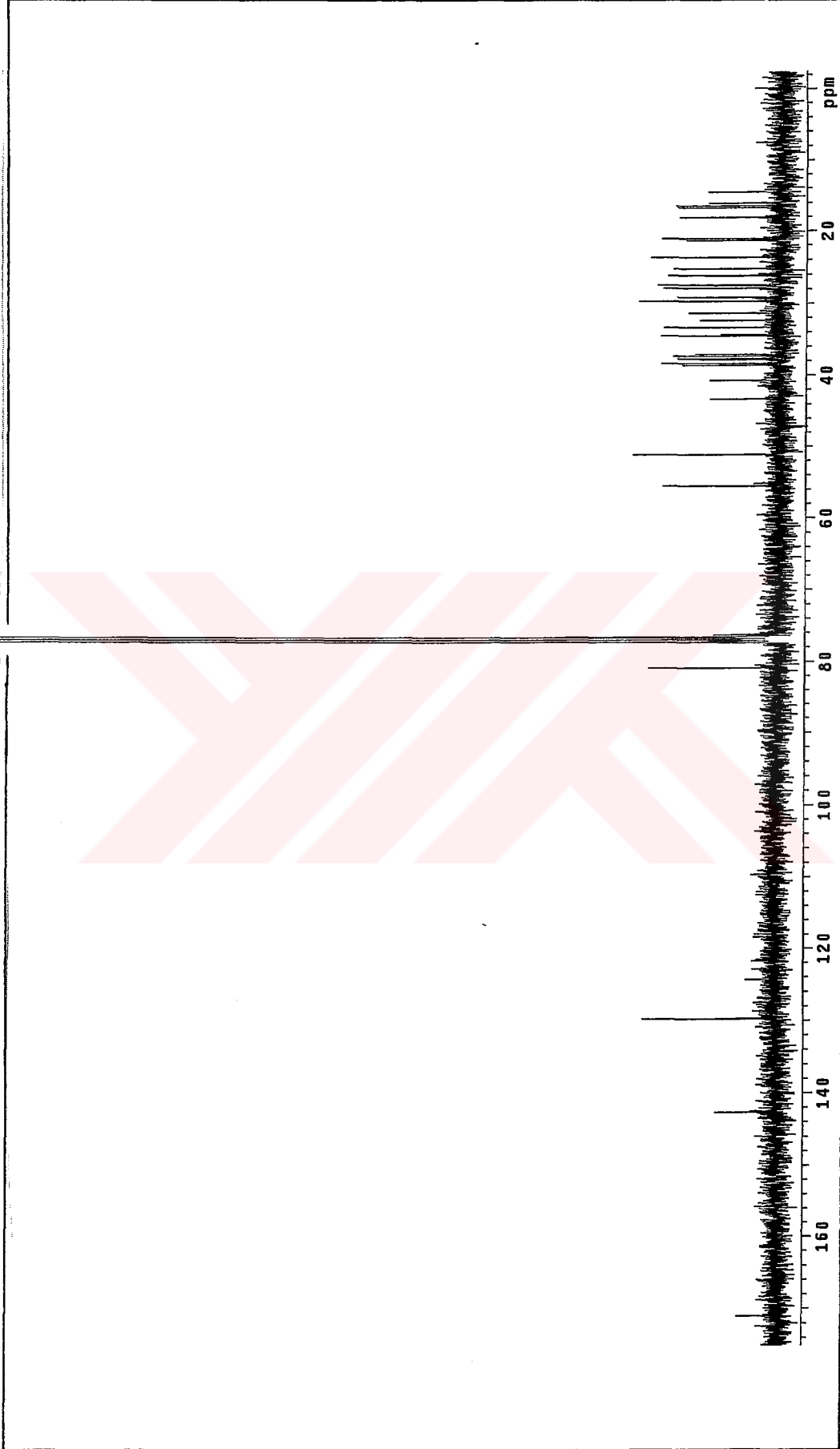
Ek Şekil 39. 3 nolu maddenin HMQC spektrumu



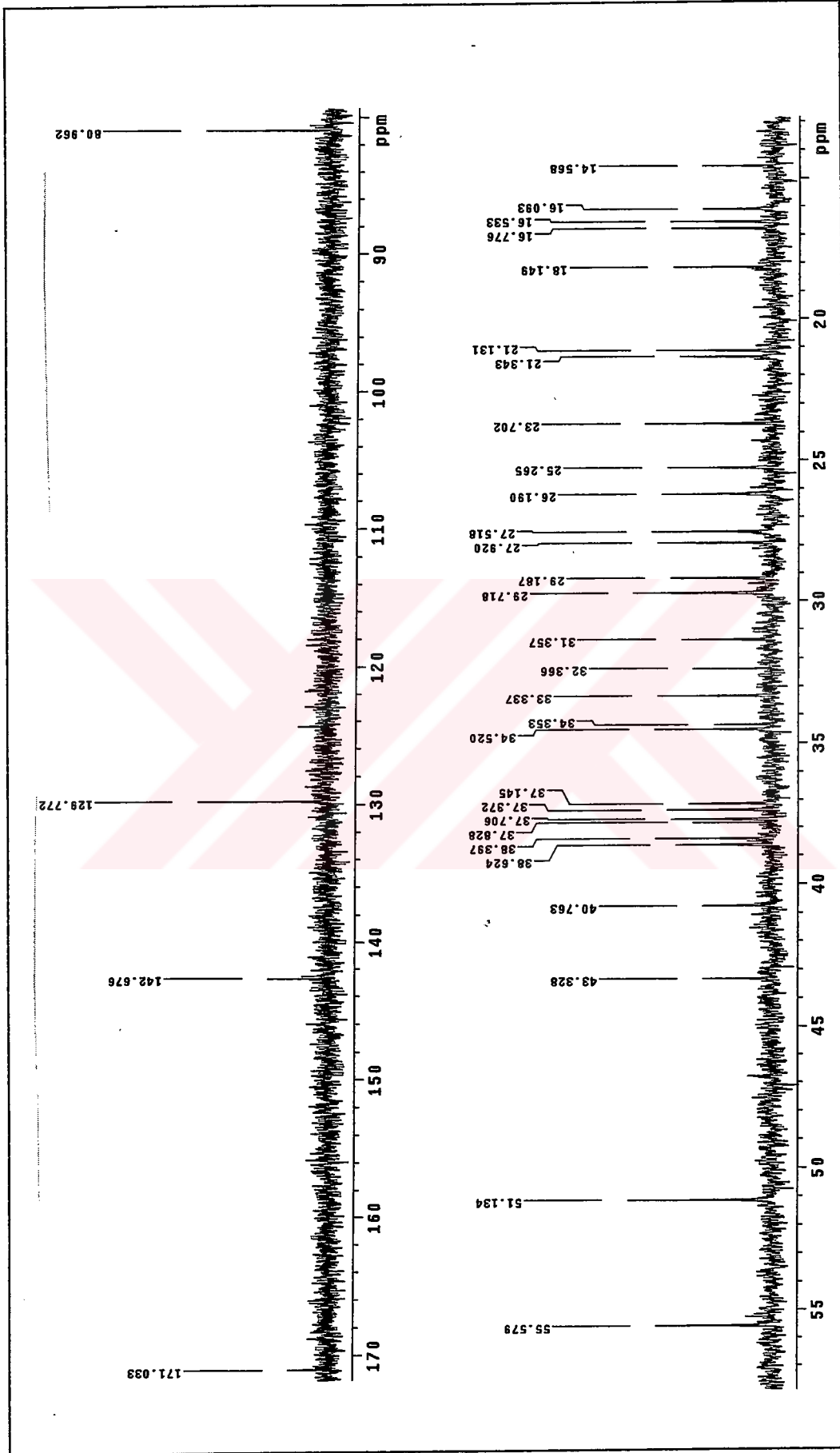
Ek Şekil 40. 3 nolu maddenin EI-MS spektrumu



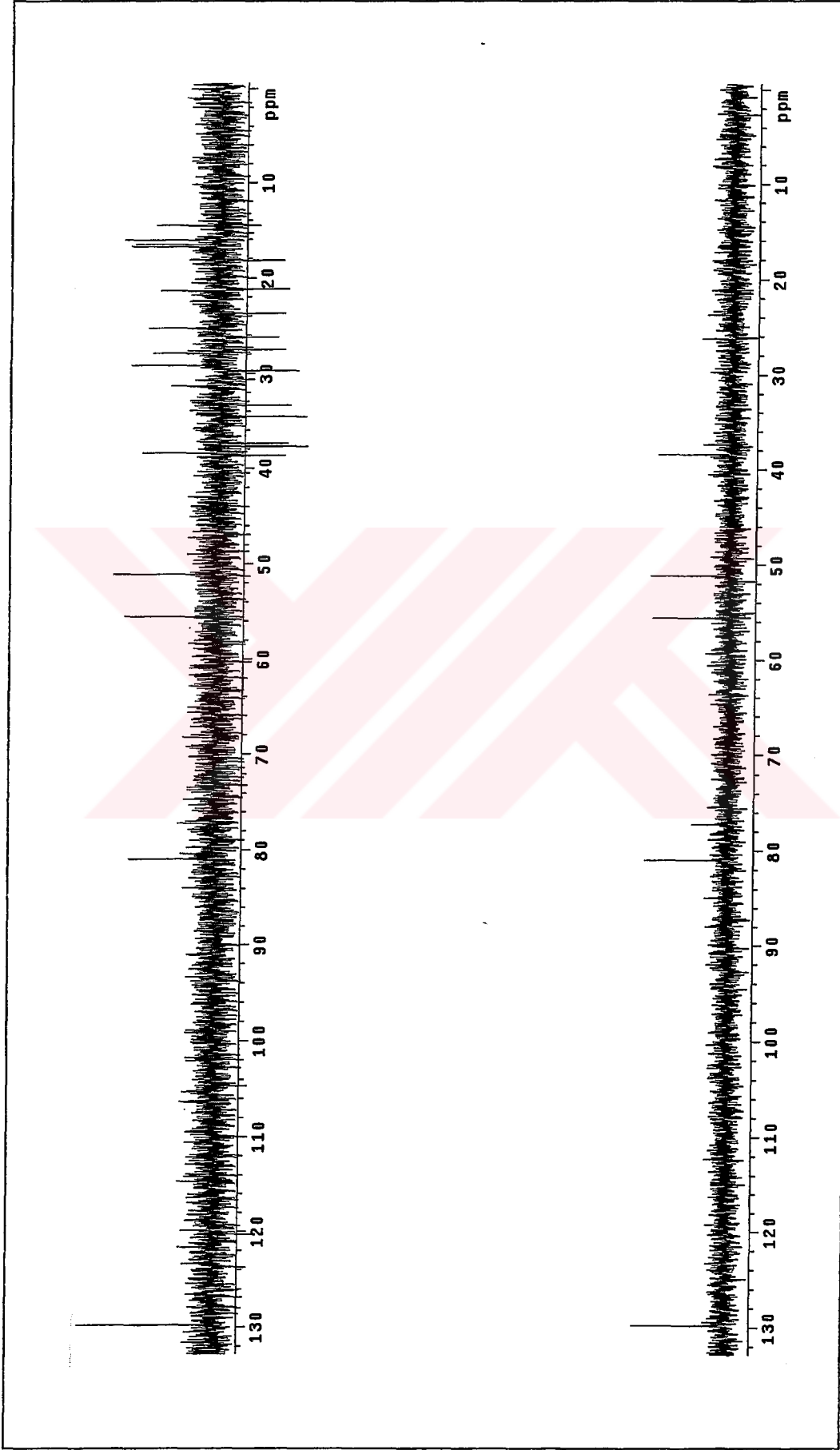
Ek Şekil 41. 4 nolu maddenin ^1H NMR spektrumu



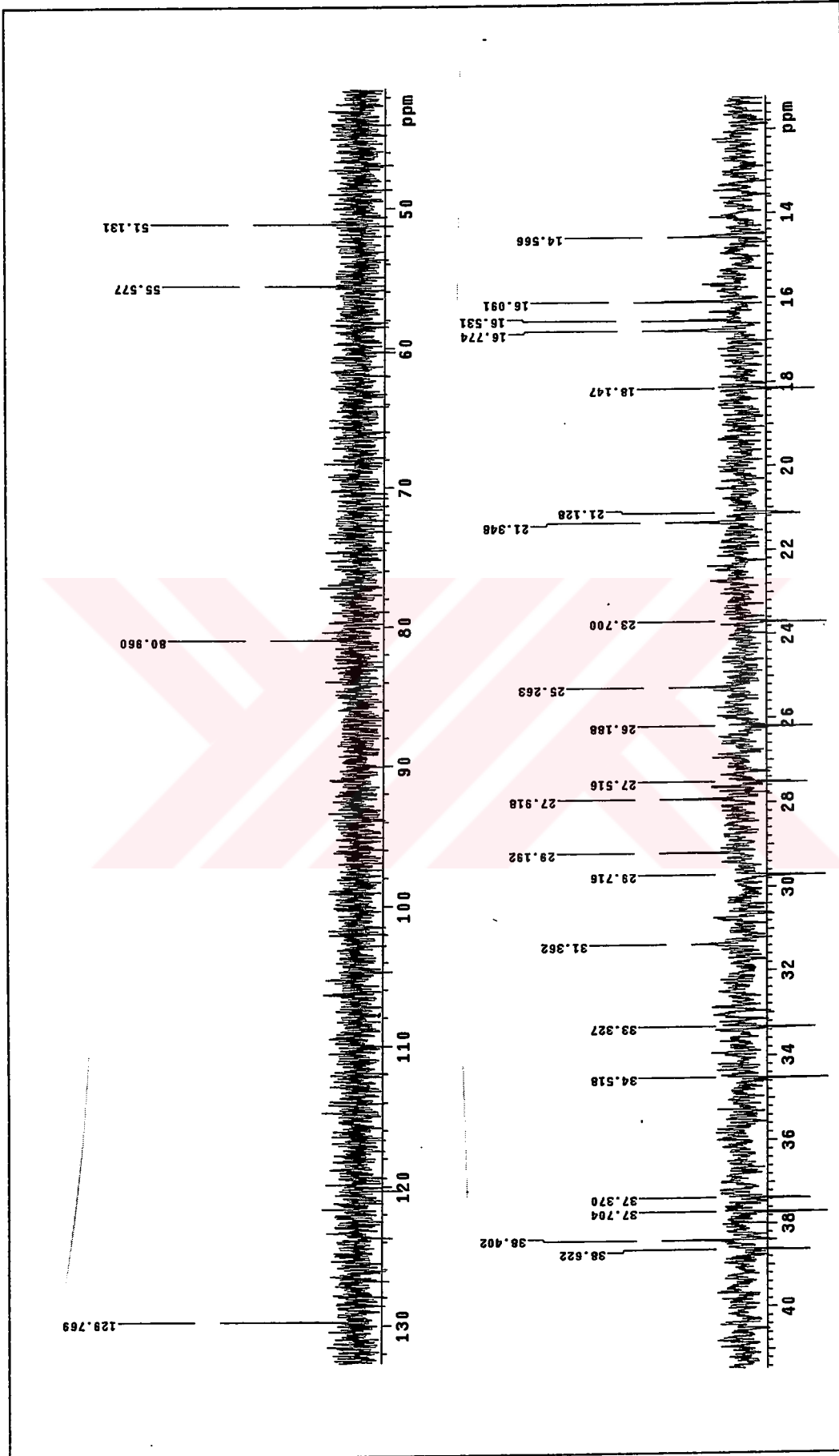
Ek Şekil 42. 4 nolu maddenin ^{13}C NMR spektrumu



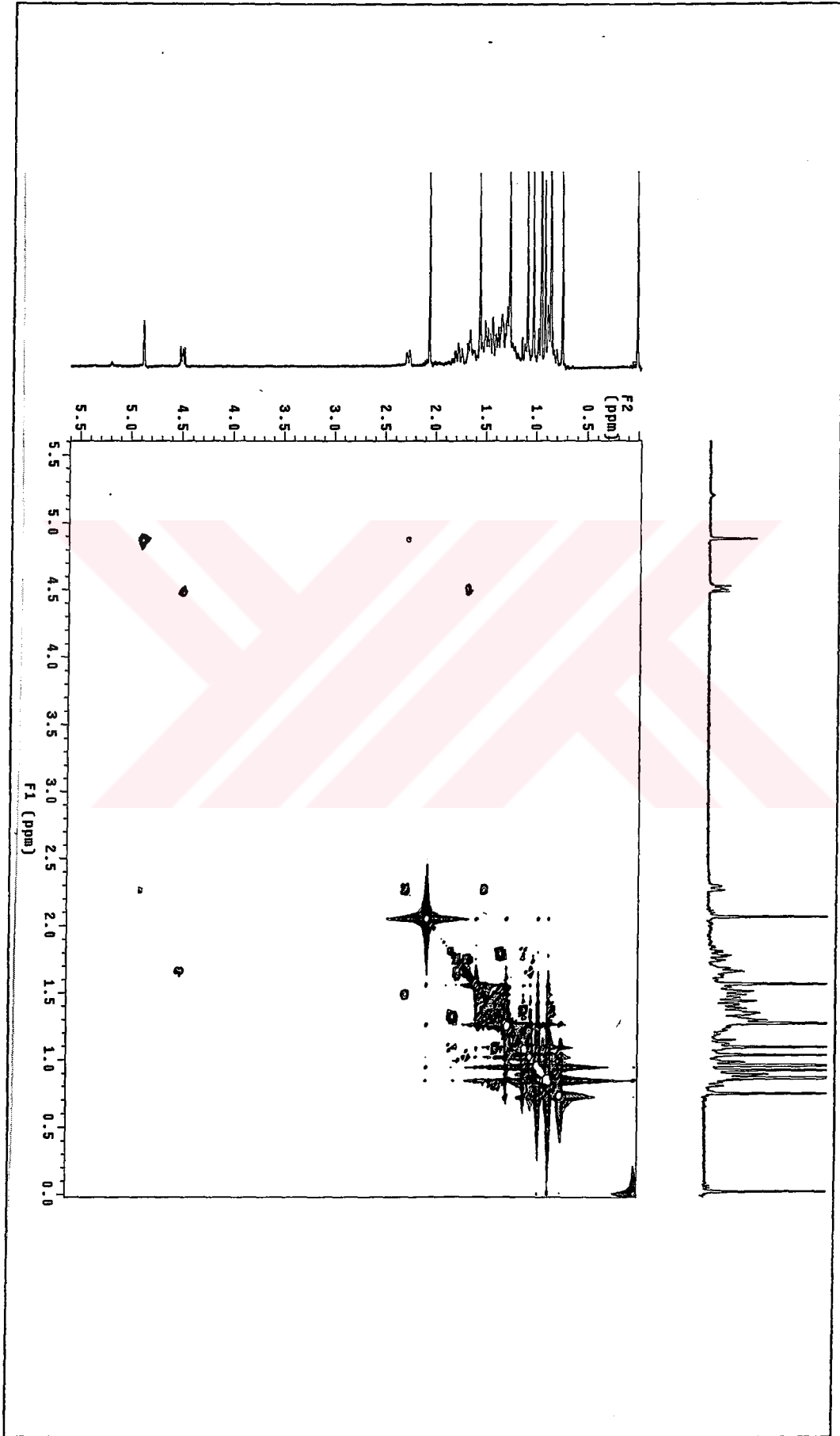
Ek Şekil 43. 4 nolu maddenin ^{13}C NMR spektrumu



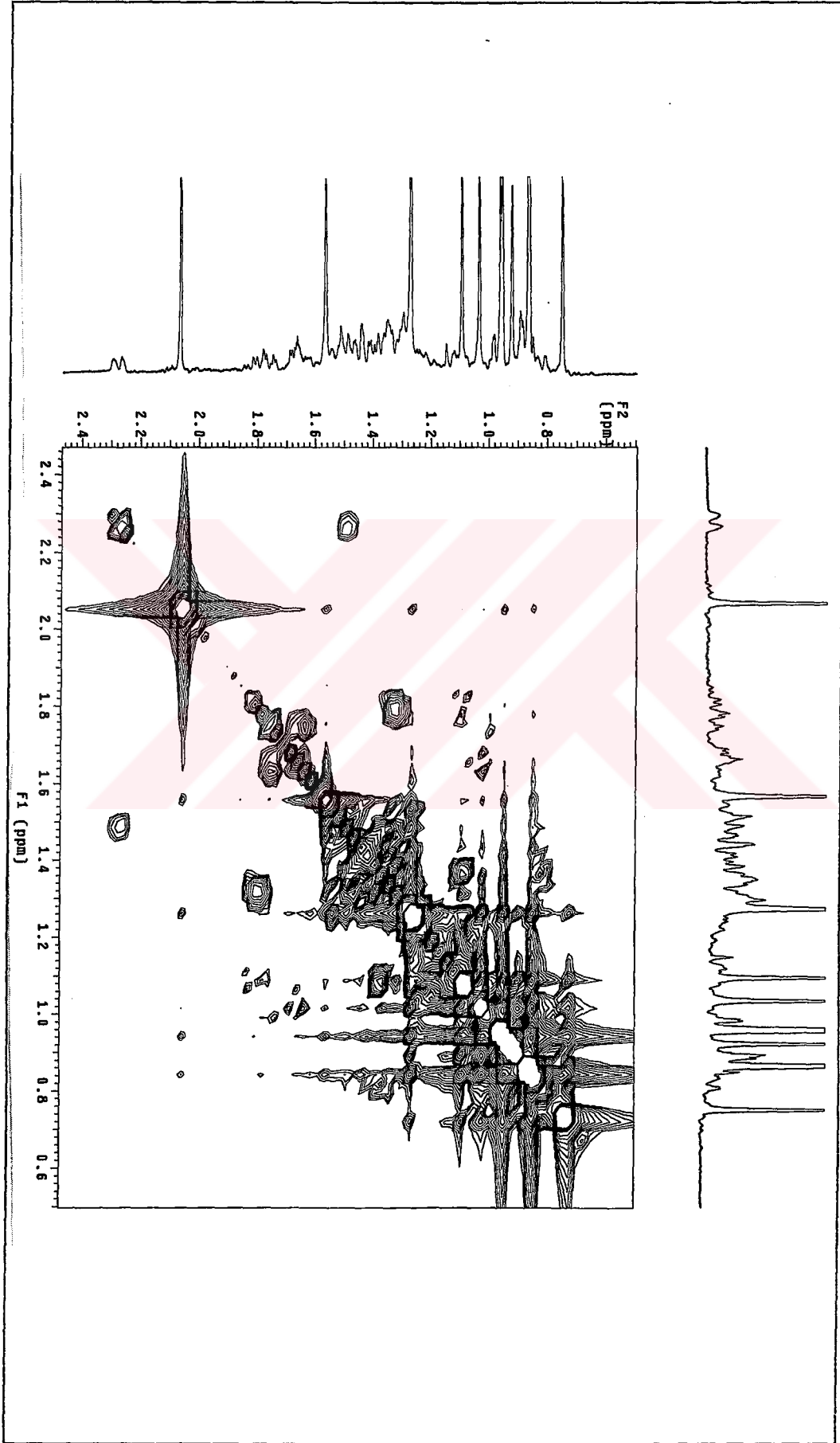
Ek Şekil 44. 4 nolu maddenin DEPT spektrumu



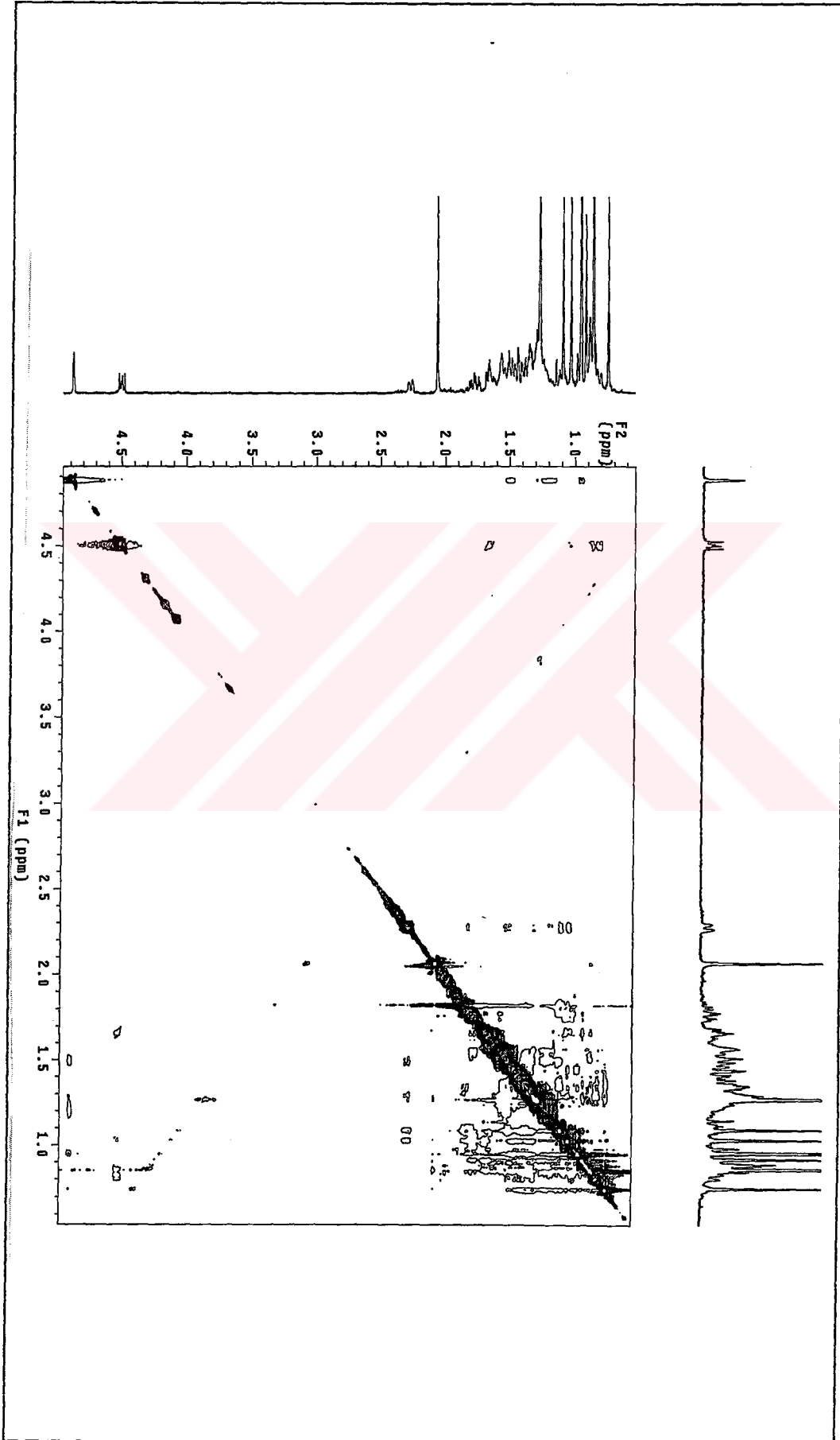
Ek Şekil 45. 4 nolu maddenin DEPT spektrumu



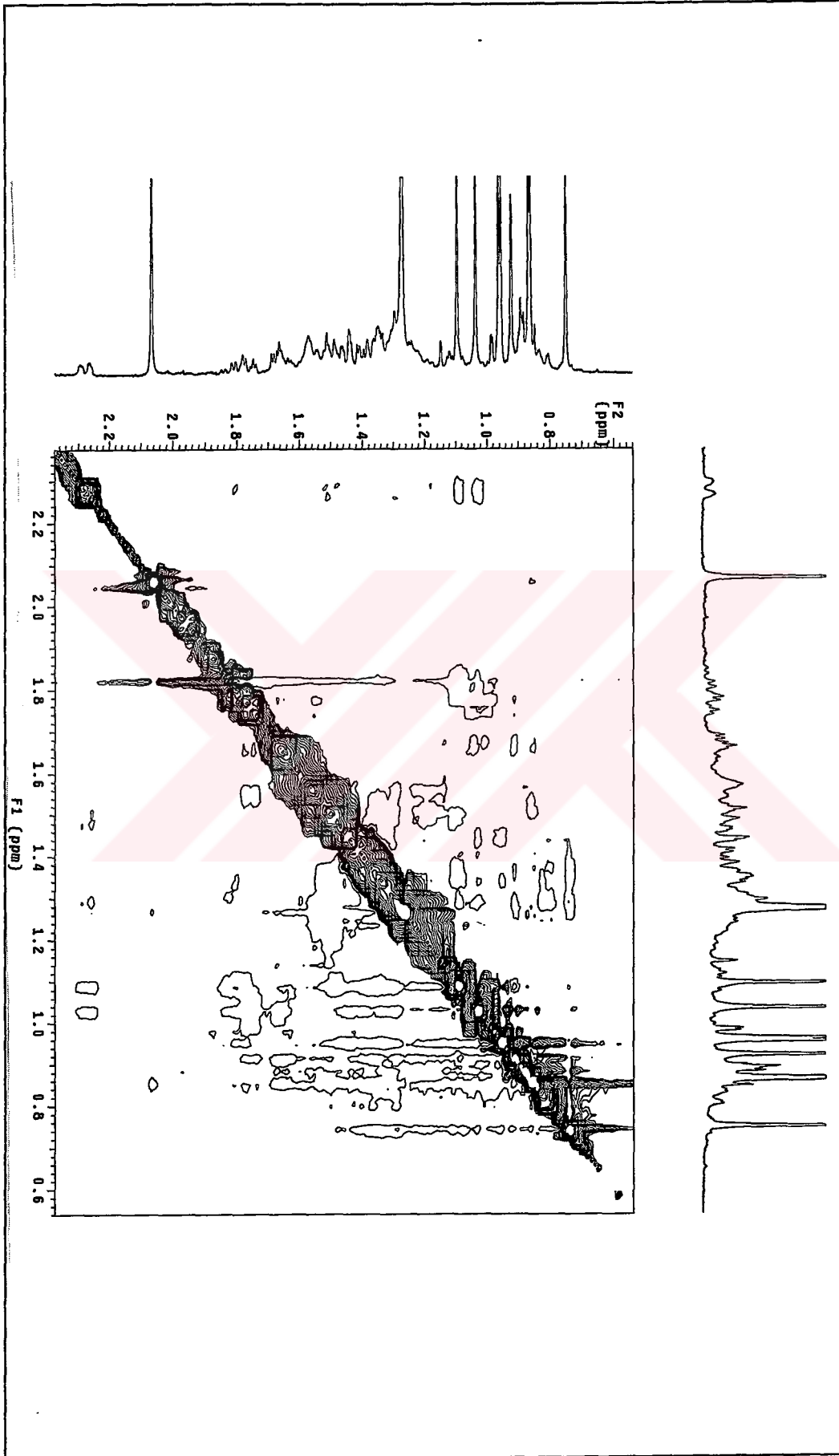
Ek Şekil 46. 4 nolu maddenin COSY spektrumu



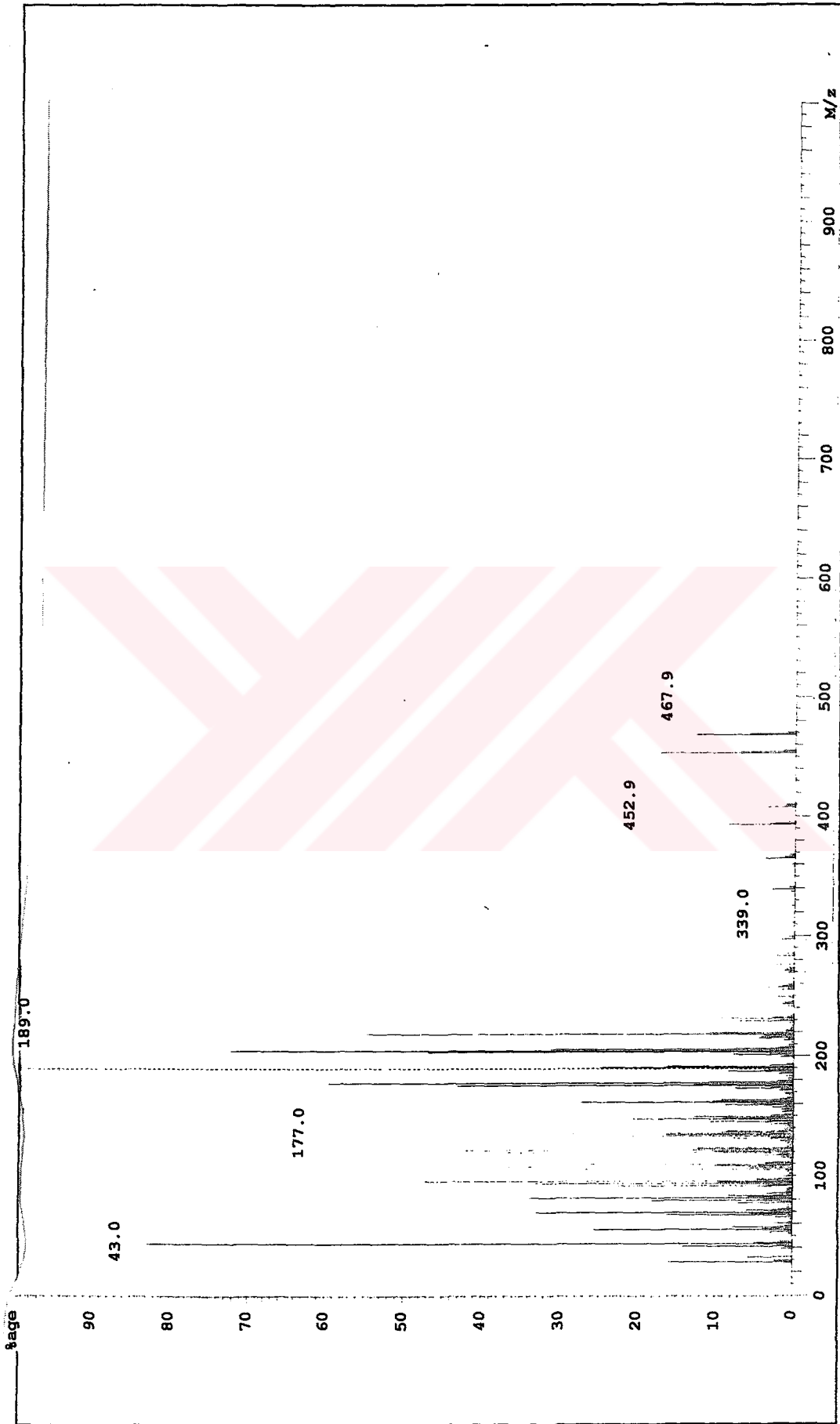
Ek Şekil 47. 4 nolu maddenin COSY spektrumu



Ek Şekil 48. 4 nolu maddenin NOESY spektrumu



Ek Şekil 49. 4 nolu maddenin NOESY spektrumu



Ek Şekil 50. 4 nolu maddenin EI-MS spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Rize’de doğdu. İlk öğrenimini Kurtuluş İlkokulu, orta öğrenimini Zihni Derin Ortaokulu, lise öğrenimini Rize Lisesi’nde tamamladı. 1994 yılında mezun olarak aynı yıl Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Kimya Bölümü’ne girdi. Bir yıl aradan sonra devam ettiği aynı üniversiteden 1999 yılında kimyager ünvanıyla mezun oldu. Aynı yıl K.T.Ü. Rize Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü’ne Araştırma Görevlisi olarak atandı ve K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda yüksek lisansa başladı. Halen K.T.Ü. Rize Fen-Edebiyat Fakültesi’ndeki görevine devam etmektedir. Evlidir.

