

***Veratrum album* BİTKİSİNİN RİZOMLARINDAN
İNSEKTİSİT AKTİVİTE GÖSTEREBİLECEK SEKONDER
METABOLİTLERİN İZOLASYONU VE KİMYASAL
YAPILARININ BELİRLENMESİ**

Tuba AYDIN

**Doktora tezi
Kimya Anabilim Dalı
Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR
Prof. Dr. Cavit KAZAZ
2012
Her Hakkı Saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

Veratrum album BİTKİSİNİN RİZOMLARINDAN İNSEKTİSİT
AKTİVİTE GÖSTEREBİLECEK SEKONDER METABOLİTLERİN
İZOLASYONU VE KİMYASAL YAPILARININ BELİRLENMESİ

Tuba AYDIN

KİMYA ANABİLİM DALI

ERZURUM

2012

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

***Veratrum album* BİTKİSİNİN RİZOMLARINDAN İNSEKTİSİT AKTİVİTE GÖSTEREBİLECEK SEKONDER METABOLİTLERİN İZOLASYONU VE KİMYASAL YAPILARININ BELİRLENMESİ**

Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR danışmanlığında, Tuba AYDIN tarafından hazırlanan bu çalışma 19/04/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak oybirliği/oy çokluğu (.../...) ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Yavuz TAŞKESENLİGİL

İmza :

Üye : Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR

İmza :

Üye : Prof. Dr. Cavit KAZAZ

İmza :

Üye : Doç. Dr. M. Emin DURU

İmza :

Üye : Doç. Dr. Emine SALAMCI

İmza :

Üye : Doç. Dr. Serdar GÜLTEKİN

İmza :

Üye : Doç. Dr. Ahmet MAVİ

İmza :

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum

Prof. Dr. İhsan EFEYOĞLU
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.

Proje No: 2010/191

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Doktora Tezi

Veratrum album BİTKİSİNİN RİZOMLARINDAN İNSEKTİSİT AKTİVİTE GÖSTEREBİLECEK SEKONDER METABOLİTLERİN İZOLASYONU VE KİMYASAL YAPILARININ BELİRLENMESİ

Tuba AYDIN

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR
Ortak Danışman: Prof. Dr. Cavit KAZAZ

Veratrum album'un rizomlarından elde edilen ekstre ve bazı metabolitlerin, önemli bir tarım zararlısı olan, patates böceğine (*Leptinotarsa decemlineata*) karşı toksik etkilerini test etmek amacıyla, bitkinin gölgede kurutulmuş rizomları ayrı ayrı aseton, NH₄OH-benzen, kloroform ve etanol ile ekstrakte edildi. Elde edilen ekstratlerden kolon kromatografisi ve ince tabaka kromatografisi yöntemleri kullanılarak değişik miktarlarda 15 bileşik izole edildi. UV, IR, MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve 2D-NMR spektroskopisi yöntemleriyle, izole edilen bileşiklerden 14 tanesinin kimyasal yapıları; *n*-oktakosanol (VA-1), β-sitosterol (VA-2), stearik asit (VA-3), diosgenin (VA-4), resveratrol (VA-5), moracin J (VA-6), oksiresveratrol (VA-7), β-sitosterol 3-*O*-β-D-glikopiranozit (VA-8), diosgenin 3-*O*-α-L-ramnopiranozil (1→2)-β-D-glikopiranozit (VA-9), oksiresveratrol 3-*O*-β-D-glikopiranozit (VA-10), jervin (VA-11), pseudojervin (VA-13), 1-hidroksi 5,6-dihydrojervin (VA-14) ve sakkaroz (VA-15) olarak aydınlatıldı. Yapısı aydınlatılan bileşiklerden diosgenin (VA-4), moracin J (VA-6), diosgenin 3-*O*-α-L-ramnopiranozil (1→2)-β-D-glikopiranozit (VA-9) ve oksiresveratrol 3-*O*-β-D-glikopiranozit (VA-10) *V. album* rizomlarından ilk defa, bu çalışmada izole edildi. Diğer taraftan, VA-12 kodlu oligosakkaritin kimyasal yapısı aydınlatılmadı. Ekstre ve bazı saf metabolitlerin patates böceğine karşı toksik etkileri test edildi ve alkaloid bakımından zengin NH₄OH-benzen, aseton ve kloroform ekstratları ile saf metabolitlerden β-sitosterol-3-*O*-β-D-glikopiranozit, oksiresveratrol, ve nispeten jervinin güçlü böcek öldürücü etkisinin olduğu belirlendi. Yapılan bu çalışma ile ilk defa, *V. album* bitkisinin rizomlarından elde edilen ekstre ve bazı metabolitlerin, "Patates böceği" adıyla bilinen *L. decemlineata* 'ya (Colorado potato beetle) karşı güçlü toksik etki gösterdikleri ve doğal insektisit olarak kullanılacakları ortaya konuldu.

2012, 222 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Veratrum album*, *Leptinotarsa decemlineata*, steroidal alkaloid, izolasyon, insektisit.

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

ISOLATION OF INSECTICIDAL SECONDARY METABOLITES FROM RHIZOMES OF *Veratrum album* AND IDENTIFICATION OF THEIR CHEMICAL STRUCTURES

Tuba AYDIN

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR
Co-Supervisor: Prof. Dr. Cavit KAZAZ

The dried rhizomes of *Veratrum album* were individually extracted with acetone, NH₄OH-benzene, chloroform and ethanol to test the toxic effects against Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* which is an important agricultural pest. Fifteen compounds in various amounts were isolated from the extracts using column and thin layer chromatographic methods. From these compounds, chemical structures of fourteen compounds were characterized as *n*-octacosanol (VA-1), β -sitosterol (VA-2), stearic acid (VA-3), diosgenin (VA-4), resveratrol (VA-5), moracin J (VA-6), oxyresveratrol (VA-7), β -sitosterol 3-*O*- β -D-glucopyranoside (VA-8), diosgenin 3-*O*- α -L-rhamnopyranoside (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside (VA-9), oxyresveratrol 3-*O*- β -D-glucopyranoside (VA-10), jervine (VA-11), pseudojervine (VA-13), 1-hydroxy-5,6-dihydrojervine (VA-14) and saccharose (VA-15) using UV, IR, MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve 2D-NMR spectroscopic methods. Diosgenin (VA-4), moracin J (VA-6), diosgenin 3-*O*- α -L-rhamnopyranoside (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside (VA-9) and oxyresveratrol 3-*O*- β -D-glucopyranoside (VA-10) were isolated from *V. album* rhizomes for the first time in the current study. On the other hand, chemical structure of VA-12 was not characterized. Toxic effects of the extracts and some compounds isolated were tested against Colorado potato beetle and were evaluated potent toxic effects of NH₄OH-benzene, rich in alkaloids, acetone and chloroform extracts and the compounds, β -sitosterol-3-*O*- β -D-glucopyranoside, oxyresveratrol as well as jervine. In this study, for the first time, it has been documented that the extracts and some metabolites isolated from the rhizomes of *V. album* have potent toxic effects against *L. decemlineata* known as Colorado potato beetle, and they can be used as natural insecticides.

2012, 222 pages

Keywords: *Veratrum album*, *Leptinotarsa decemlineata*, steroidal alkaloids, isolation, insecticidal effect

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi BAP birimi tarafından desteklenen 2010/191 numaralı proje kapsamında gerçekleştirilmiştir. Desteklerinden dolayı Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi'ne, Kimya Eğitimi Anabilim Dalı'na teşekkür ederim.

Doktora eğitimim süresince ilminin yanında insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, her zaman güvenle kapısını çaldığım, bilgi, görgü ve birikimini aktararak eğitimime çok şey katan, birlikte çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca her aşamada anlayış, hoşgörü ve sabır gösteren değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR'a sonsuz teşekkür ederim.

Laboratuvar imkanlarını cömertçe kullandıran Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi OFMAE Bölümü Kimya Eğitimi Anabilim Dalı Başkanlığı'na ve tüm çalışanlarına sonsuz teşekkür ederim. İzole ettiğim bileşiklerin NMR spektrumlarını alan ve yardımını esirgemeyen değerli ortak danışman hocam Sayın Prof. Dr. Cavit KAZAZ'a; çalışmalarımnda her türlü desteği gösteren değerli hocam Sayın Prof. Dr. Yavuz TAŞKESENLİGİL'e; laboratuvar imkanlarından ve tecrübelerinden faydalandığım değerli hocam Sayın Doç. Dr. Ufuk ÖZGEN'e; tez çalışmalarım boyunca her türlü imkanı ve kolaylığı sağlayan, yardım ve alakasını hiç eksik etmeyen değerli hocam Sayın Doç. Dr. Ahmet MAVİ'ye; çalışmalarımnda destek gösteren, Sayın Yrd. Doç. Dr. Yasin BAYIR'a; Sayın Yrd. Doç. Dr. Neslihan BAYRAK'a, Sayın Fadime ATALAY'a; izole ettiğim bileşiklerin spektral ölçümlerini yapan Sayın Uzman Barış ANIL'a; Sayın Uzman Ufuk ATMACA'ya; Sayın Uzman Murat ACAR'a; Sayın Arş. Gör. Fatma BAYRAKÇEKEN'e; Sayın Ali YEŞİLDAĞ'a; Sayın Arş. Gör. Evrim BARAN'a; Sayın Arş. Gör. Mecit ÖZDEMİR'e teşekkür ederim. Tez jürimde yer alarak bizleri onurlandıran Muğla Üniversitesi Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. M. Emin DURU'ya; çalışmalarım boyunca desteğini esirgemeyen kadim dostum Sayın Arş. Gör. Sara TAŞKESENLİOĞLU'na; doktora eğitimime dair her konuda gerekli kolaylığı sağlayan, personeli olduğum Erzurum Valiliği yöneticileri ve mesai arkadaşlarıma; ismini saymadığım tüm yakınlarıma ve ayrıca her zaman ve her konuda tükenmeyen desteklerini gösteren aileme sonsuz teşekkür ederim.

Tuba AYDIN

Mart 2012

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
2.1. <i>Liliaceae</i> (Zambakgiller) Familyası ve <i>Veratrum</i> Cinsi.....	4
2.1.1. <i>Veratrum album</i> (beyaz çöpleme).....	5
2.2. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> Say (Coleoptera: Chrysomelidae).....	10
2.3. Alkaloitler.....	14
2.4. Çalışmanın Amacı.....	23
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	24
3.1. Materyal.....	24
3.1.1. Bitki materyali.....	24
3.1.2. Böcek materyali.....	24
3.1.3. Kimyasal maddeler.....	25
3.1.4. İzolasyon ve analiz çalışmalarında kullanılan aletler.....	25
3.1.5. Kromatografik çalışmalarda kullanılan adsorbanlar.....	25
3.1.6. Kullanılan revelatörler.....	26
3.2. Yöntem.....	26
3.2.1. Aseton ile ekstraksiyon ve kromatografik çalışmalar.....	26
3.2.1.a. Ekstraksiyon.....	26
3.2.1.b. Aseton ekstresi üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar.....	26
3.2.2. NH ₄ OH-benzen ile ekstraksiyon ve kromatografik çalışmalar.....	38
3.2.2.a. Ekstraksiyon.....	38
3.2.2.b. NH ₄ OH-benzen ekstresi üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar.....	38
3.2.3. Kloroform ile ekstraksiyon ve üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar.....	40

3.2.3.a. Ekstraksiyon	40
3.2.3.b. Kloroform ekstresi üzerinde kromatografik çalışmalar.....	40
3.2.4. Etanol ile ekstraksiyon ve kromatografik çalışmalar	42
3.2.4.a. Ekstraksiyon ve izolasyon	42
3.2.5. İnsektisidal etkinin belirlenmesi.....	43
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	45
4.1. Saflaştırılan Sekonder Metabolitlere Ait Deneysel Bulgular	45
4.1.1. İnce tabaka kromatografisi sonuçları	45
4.2. Saflaştırılan Sekonder Metabolitlere Ait Spektral Bulgular.....	46
4.2.1. VA-1 kodlu bileşik	47
4.2.2. VA-2 kodlu bileşik	54
4.2.3. VA-3 kodlu bileşik	61
4.2.4. VA-4 kodlu bileşik	67
4.2.5. VA-5 kodlu bileşik	77
4.2.6. VA-6 kodlu bileşik	85
4.2.7. VA-7 kodlu bileşik	91
4.2.8. VA-8 kodlu bileşik	100
4.2.9. VA-9 kodlu bileşik	108
4.2.10. V-10 kodlu bileşik	119
4.2.11. VA-11 kodlu bileşik	130
4.2.12. VA-12 kodlu bileşik	140
4.2.13. VA-13 kodlu bileşik	146
4.2.14. VA-14 kodlu bileşik	157
4.2.15. VA-15 kodlu bileşik	168
4.3. İnsektisidal Etki Sonuçları.....	177
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	194
KAYNAKLAR	205
ÖZGEÇMİŞ	223

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

2-D	2 boyutlu
CMC	Karboksimetil selüloz
¹³ C-NMR	Karbon-13 Nükleer Manyetik Rezonans
COSY	Two Dimensional ¹ H-Correlation Spectroscopy
<i>d</i>	Dublet
<i>dd</i>	Dubletin dubleti
DMSO	Dimetilsülfoksit
DMSO-d ₆	Dötero dimetilsülfoksit
g	Gram
H	Hidrojen
HETCOR	Heteronuclear Correlation Spectroscopy
¹ H-NMR	Proton Nükleer Manyetik Rezonans
Hz	Hertz
IR	Infrared
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
<i>J</i>	Etkileşme sabiti
KK	Kolon Kromatografisi
M ⁺	Moleküler İyon
<i>m</i>	Multiplet
MA	Molekül Kütlesi
mg	Miligram
MHz	Mega Hertz
ml	Mililitre
MS	Kütle Spektrometresi
m/z	Kütle/İyon
nm	Nanometre
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
<i>o</i> -	Orto
<i>p</i> -	Para

ppm	Milyonda bir (NMR spektrumlarında ölçü)
<i>s</i>	Singlet
s.	Sayfa
<i>sec-</i>	Sekonder
SKK	Silika jel Kolon Kromatografisi
subsp.	Alt tür
<i>t</i>	Triplet
UV	Ultraviole

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Veratrum album</i> 'un toprak üstü kısımları.....	6
Şekil 2.2. <i>Veratrum album</i> 'un toprak altı kısımları	6
Şekil 2.3. <i>L. decemlineata</i> Say (Colorado Potato Beetle) (Patates Böceği)	11
Şekil 3.1. VB fraksiyonundan maddelerin izolasyonu ve saflaştırılması	28
Şekil 3.2. VC fraksiyonundan maddelerin izolasyonu ve saflaştırılması	30
Şekil 3.3. VC fraksiyonundan MeOH ile çöken kısmın İTK'da yürütülmesi	30
Şekil 3.4. VE fraksiyonundan maddelerin izolasyonu ve saflaştırılması.....	32
Şekil 3.5. VH fraksiyonundan maddelerin izolasyonu ve saflaştırılması	34
Şekil 3.6. VI fraksiyonundan maddelerin izolasyonu ve saflaştırılması.....	36
Şekil 3.7. VJ fraksiyonundan maddelerin izolasyonu ve saflaştırılması	37
Şekil 3.8. NH ₄ OH-benzen ekstresinden maddelerin izolasyonu ve saflaştırılması.....	39
Şekil 3.9. Kloroform ekstresindeki maddelerin izolasyonu ve saflaştırılması.....	42
Şekil 4.1. VA-1'in (<i>n</i> -oktakosanol) IR Spektrumu	48
Şekil 4.2. VA-1'in (<i>n</i> -oktakosanol) kütle spektrumu.....	48
Şekil 4.3. VA-1'in (<i>n</i> -oktakosanol) ¹ H NMR (CDCl ₃ , 400 MHz) spektrumu.....	50
Şekil 4.4. VA-1'in (<i>n</i> -oktakosanol) ¹³ C NMR (CDCl ₃ , 400 MHz) spektrumu	51
Şekil 4.5. VA-1'in (<i>n</i> -oktakosanol) ¹³ C NMR (CDCl ₃ , 400 MHz) spektrumu....	52
Şekil 4.6. VA-1'in (<i>n</i> -oktakosanol) ¹ H- ¹ H COSY ve ¹³ C- ¹ H HETCOR (CDCl ₃ , 400 MHz) spektrumu	53
Şekil 4.7. VA-2'nin (β-sitosterol) IR Spektrumu	55
Şekil 4.8. VA-2'nin (β-sitosterol) ¹ H NMR (CDCl ₃ , 400 MHz) spektrumu	57
Şekil 4.9. VA-2'nin (β-sitosterol) ¹³ C NMR (CDCl ₃ , 400 MHz) spektrumu	58
Şekil 4.10. VA-2'nin (β-sitosterol) DEPT (CDCl ₃ , 400 MHz) spektrumu.....	59
Şekil 4.11. VA-2'nin (β-sitosterol) ¹ H- ¹ H COSY ve ¹³ C- ¹ H HETCOR (CDCl ₃ , 400 MHz) spektrumu.....	60
Şekil 4.12. VA-3'ün (stearik asit) IR spektrumu	61
Şekil 4.13. VA-3'ün (stearik asit) ¹ H NMR (CDCl ₃ , 400 MHz) spektrumu	63
Şekil 4.14. VA-3'ün (stearik asit) ¹³ C NMR (CDCl ₃ , 400 MHz) spektrumu	64

Şekil 4.15. VA-3'ün (stearik asit) DEPT (CDCl ₃ , 400 MHz) spektrumu	65
Şekil 4.16. VA-3'ün (stearik asit) ¹ H- ¹ H COSY ve ¹³ C- ¹ H HETCOR (CDCl ₃ , 400 MHz) spektrumu	66
Şekil 4.17. VA-4'ün (diosgenin) IR Spektrumu	68
Şekil 4.18. VA-4'ün (diosgenin) ¹ H NMR (CDCl ₃ , 400 MHz) spektrumu.....	70
Şekil 4.19. VA-4'ün (diosgenin) ¹³ C NMR (CDCl ₃ , 400 MHz) spektrumu.....	71
Şekil 4.20. VA-4'ün (diosgenin) DEPT (CDCl ₃ , 400 MHz) spektrumu	72
Şekil 4.21. VA-4'ün (diosgenin) DEPT (CDCl ₃ , 400 MHz) spektrumu (0-80 ppm arası genişletilmiş spektrum).....	73
Şekil 4.22. VA-4'ün (diosgenin) ¹ H- ¹ H COSY (CDCl ₃ , 400 MHz) Spektrumu .	74
Şekil 4.23. VA-4'ün (diosgenin) ¹³ C- ¹ H HMQC (CDCl ₃ , 400 MHz) spektrumu	75
Şekil 4.24. VA-4'ün (diosgenin) ¹³ C- ¹ H HMBC (CDCl ₃ , 400 MHz) spektrumu	76
Şekil 4.25. VA-5'in (resveratrol) IR spektrumu	78
Şekil 4.26. VA-5'in (resveratrol) kütle spektrumu	78
Şekil 4.27. VA-5'in (resveratrol) ¹ H-NMR (DMSO-d ₆ , 400 MHz) spektrumu ...	80
Şekil 4.28. VA-5'in (resveratrol) ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆ , 400 MHz) spektrumu ..	81
Şekil 4.29. VA-5'in (resveratrol) DEPT (DMSO-d ₆ , 400 MHz) spektrumu	82
Şekil 4.30. VA-5'in (resveratrol) ¹ H- ¹ H COSY (DMSO-d ₆ , 400 MHz) spektrumu	83
Şekil 4.31. VA-5'in (resveratrol) ¹³ C- ¹ H HETCOR (DMSO-d ₆ , 400 MHz) spektrumu	84
Şekil 4.32. VA-6'nın (moracin J) IR spektrumu.....	86
Şekil 4.33. VA-6'nın (moracin J) ¹ H-NMR (aseton-d ₆ , 400 MHz) spektrumu	88
Şekil 4.34. VA-6'nın (moracin J) ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆ , 400 MHz) spektrumu..	89
Şekil 4.35. VA-6'nın (moracin J) DEPT (DMSO-d ₆ , 400 MHz) spektrumu	90
Şekil 4.36. VA-7'nin (oksiresveratrol) IR spektrumu	92
Şekil 4.37. VA-7'nin (oksiresveratrol) ¹ H-NMR (DMSO-d ₆ , 400 MHz) spektrumu	94
Şekil 4.38. VA-7'nin (oksiresveratrol) ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆ , 400 MHz) spektrumu	95
Şekil 4.39. VA-7'nin (oksiresveratrol) DEPT (DMSO-d ₆ , 400 MHz) spektrumu	96

Şekil 4.40. VA-7'nin (oksiresveratrol) ^1H - ^1H COSY (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu	97
Şekil 4.41. VA-7'nin (oksiresveratrol) ^{13}C - ^1H HMQC (DMSO-d_6 , 400 MHz) spektrumu	98
Şekil 4.42. VA-7'nin (oksiresveratrol) ^{13}C - ^1H HMBC (DMSO-d_6 , 400 MHz) spektrumu	99
Şekil 4.43. VA-8'in (β -Sitosterol 3- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit) IR spektrumu	101
Şekil 4.44. VA-8'in (β -Sitosterol 3- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit) ^1H -NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu	103
Şekil 4.45. VA-8'in (β -Sitosterol 3- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit) ^{13}C -NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu	104
Şekil 4.46. VA-8'in (β -Sitosterol 3- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit) DEPT ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu	105
Şekil 4.47. VA-8'in (β -Sitosterol 3- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit) ^1H - ^1H COSY ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu	106
Şekil 4.48. VA-8'in (β -Sitosterol 3- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit) ^{13}C - ^1H HMQC ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu	107
Şekil 4.49. VA-9'un (diosgenin 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit) IR spektrumu	109
Şekil 4.50. VA-9'un (diosgenin 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit) ^1H -NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu.....	112
Şekil 4.51. VA-9'un (diosgenin 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit) ^{13}C -NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu	113
Şekil 4.52. VA-9'un (diosgenin 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit) DEPT-90 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu.....	114
Şekil 4.53. VA-9'un (diosgenin 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit) DEPT-135 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu.....	115
Şekil 4.54. VA-9'un (diosgenin 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit) ^1H - ^1H COSY ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu.....	116
Şekil 4.55. VA-9'un (diosgenin 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit) ^{13}C - ^1H HMQC ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu	117

Şekil 4.56. VA-9'un (diosgenin 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit) ^{13}C - ^1H HMBC ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu.....	118
Şekil 4.57. VA-10'un (oksiresveratrol 3- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit) IR Spektrumu	120
Şekil 4.58. VA-10'un (oksiresveratrol 3- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit) ^1H -NMR (CD_3OD , 400 MHz) spektrumu	123
Şekil 4.59. VA-10'un (oksiresveratrol 3- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit) ^1H -NMR (DMSO-d_6 , 400 MHz) spektrumu	124
Şekil 4.60. VA-10'un (oksiresveratrol 3- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit) ^{13}C -NMR (CD_3OD , 400 MHz) spektrumu	125
Şekil 4.61. VA-10'un (oksiresveratrol 3- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit) DEPT (CD_3OD , 400 MHz) spektrumu	126
Şekil 4.62. VA-10'un (oksiresveratrol 3- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit) ^1H - ^1H COSY (CD_3OD , 400 MHz) spektrumu	127
Şekil 4.63. VA-10'un (oksiresveratrol 3- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit) ^{13}C - ^1H HMQC (CD_3OD , 400 MHz) spektrumu.....	128
Şekil 4.64. VA-10'un (oksiresveratrol 3- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit) ^{13}C - ^1H HMBC (CD_3OD , 400 MHz) spektrumu.....	129
Şekil 4.65. VA-11'in (Jervin) IR spektrumu	131
Şekil 4.66. VA-11'in (Jervin) ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu	133
Şekil 4.67. VA-11'in (Jervin) ^{13}C NMR (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu	134
Şekil 4.68. VA-11'in (Jervin) DEPT (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu.....	135
Şekil 4.69. VA-11'in (Jervin) DEPT (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu (0-80 ppm arası genişletilmiş spektrum).....	136
Şekil 4.70. VA-11'in (Jervin) ^1H - ^1H COSY (CDCl_3 , 400 MHz) Spektrumu	137
Şekil 4.71. VA-11'in (Jervin) ^{13}C - ^1H HETCOR (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu	138
Şekil 4.72. VA-11'in (Jervin) ^{13}C - ^1H HMBC (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu ..	139
Şekil 4.73. VA-12 bileşiğinin IR spektrumu	140
Şekil 4.74. VA-12 bileşiğinin ^1H -NMR (DMSO-d_6 , 400 MHz) spektrumu.....	142
Şekil 4.75. VA-12 bileşiğinin ^{13}C -NMR (DMSO-d_6 , 400 MHz) spektrumu	143
Şekil 4.76. VA-12 bileşiğinin DEPT-90 (DMSO-d_6 , 400 MHz) spektrumu	144
Şekil 4.77. VA-12 bileşiğinin DEPT-135 (DMSO-d_6 , 400 MHz) spektrumu	145

Şekil 4.78. VA-13'ün (pseudojervin) IR spektrumu.....	147
Şekil 4.79. VA-13'ün (Pseudojervin) ^1H -NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu	150
Şekil 4.80. VA-13'ün (Pseudojervin) ^{13}C -NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu	151
Şekil 4.81. VA-13'ün (pseudojervin) DEPT ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu.....	152
Şekil 4.82. VA-13 ün (pseudojervin) ^1H - ^1H COSY ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu	153
Şekil 4.83. VA-13'ün (pseudojervin) ^{13}C - ^1H HMQC ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu	154
Şekil 4.84. VA-13'ün (pseudojervin) ^{13}C - ^1H HMQC ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu (genişletilmiş spektrumlar).....	155
Şekil 4.85. VA-13'ün (pseudojervin) ^{13}C - ^1H HMBC ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu	156
Şekil 4.86. VA-14'ün (1-hidroksi-5,6-dihidrojoervin) IR spektrumu	158
Şekil 4.87. VA-14'ün (1-hidroksi-5,6-dihidrojoervin) ^1H -NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu	161
Şekil 4.88. VA-14'ün (1-hidroksi-5,6-dihidrojoervin) ^{13}C -NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu	162
Şekil 4.89. VA-14'ün (1-hidroksi-5,6-dihidrojoervin) DEPT ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu	163
Şekil 4.90. VA-14'ün (1-hidroksi-5,6-dihidrojoervin) ^1H - ^1H COSY ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu	164
Şekil 4.91. VA-14'ün (1-hidroksi-5,6-dihidrojoervin) ^1H - ^{13}C HMQC ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu	165
Şekil 4.92. VA-14'ün (1-hidroksi-5,6-dihidrojoervin) ^1H - ^{13}C HMQC ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu (genişletilmiş spektrumlar).....	166
Şekil 4.93. VA-14'ün (1-hidroksi-5,6-dihidrojoervin) 2D ^1H - ^{13}C HMBC ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu	167
Şekil 4.94. VA-15'in (sakkaroz) IR spektrumu	169
Şekil 4.95. VA-15'in (sakkaroz) ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) spektrumu ..	171
Şekil 4.96. VA-15'in (sakkaroz) ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) spektrumu .	172

Şekil 4.97. VA-15'in (sakkaroz) DEPT (DMSO-d ₆ , 400 MHz) spektrumu.....	173
Şekil 4.98. VA-15'in (sakkaroz) ¹ H- ¹ H COSY (DMSO-d ₆ , 400 MHz) spektrumu	174
Şekil 4.99. VA-15'in (sakkaroz) ¹³ C- ¹ H HMQC (DMSO-d ₆ , 400 MHz) spektrumu	175
Şekil 4.100. VA-15'in (sakkaroz) ¹³ C- ¹ H HMBC (DMSO-d ₆ , 400 MHz) spektrumu	176
Şekil 4.101. Kontrol grubundaki patates böceklerinin ölüm oranları.....	188
Şekil 4.102. Lambda cyhalothrin ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları	188
Şekil 4.103. Aseton ekstresi ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları	189
Şekil 4.104. Kloroform ekstresi ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları	189
Şekil 4.105. NH ₄ OH-benzen ekstresi ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları	190
Şekil 4.106. β-sitosterol ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları	190
Şekil 4.107. β-sitosterol-diosgenin karışımı ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları	191
Şekil 4.108. Resveratrol ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları	191
Şekil 4.109. Oksiresveratrol ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları	192
Şekil 4.110. β-Sitosterol 3- <i>O</i> -β-D-glikopiranozit ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları	192
Şekil 4.111. Jervin ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları	193

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Farklı türlerden elde edilen bitkisel insektisitler ve bitki kaynakları	3
Çizelge 2.1. <i>L. decemlineata</i> 'nın direnç geliştirdiği insektisitler	13
Çizelge 2.2. <i>Veratrum</i> türlerinden izole edilen steroidal alkaloidlerin isimleri.....	17
Çizelge 4.1. İzole edilen bileşiklerin farklı çözücü sistemlerindeki R _f değerleri	45
Çizelge 4.2. Maddelerin LD ₅₀ değerleri.....	177
Çizelge 4.3. <i>Veratrum album</i> ekstre ve saf metabolitlerinin 12. saatte patates böceğine karşı toksik etkileri	180
Çizelge 4.4. <i>Veratrum album</i> ekstre ve saf metabolitlerinin 24. saatte patates böceğine karşı toksik etkileri	181
Çizelge 4.5. <i>Veratrum album</i> ekstre ve saf metabolitlerinin 36. saatte patates böceğine karşı toksik etkileri	182
Çizelge 4.6. <i>Veratrum album</i> ekstre ve saf metabolitlerinin 48. saatte patates böceğine karşı toksik etkileri	183
Çizelge 4.7. <i>Veratrum album</i> ekstre ve saf metabolitlerinin 60. saatte patates böceğine karşı toksik etkileri	184
Çizelge 4.8. <i>Veratrum album</i> ekstre ve saf metabolitlerinin 72. saatte patates böceğine karşı toksik etkileri	185
Çizelge 4.9. <i>Veratrum album</i> ekstre ve saf metabolitlerinin 84. saatte patates böceğine karşı toksik etkileri	186
Çizelge 4.10. <i>Veratrum album</i> ekstre ve saf metabolitlerinin 96. saatte patates böceğine karşı toksik etkileri	187

1. GİRİŞ

Bitkiler alemi, zengin bir kimyasal madde üretme hazinesidir. Eskiden beri ağrı ve acıların azaltılmasında bitkiler etkili olmuştur. Böcek, bakteri, mantar ve virüslere karşı mücadelede kullanılmalarının yanı sıra, dünyanın birçok yerinde kaynatılarak elde edilen ekstraktlar, çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır (Jacobson 1983). Örneğin eski dönemlerde Mısırlılar furanokumarin içeren *Ammi majus* (diş otu) bitkisini deride oluşan lekelerin tedavisinde; Kızılderililer *Podophyllum peltatum* (ördek otu) bitkisini siğillilerin, *Veratrum* cinsine ait türlerin köklerini ise yaraların tedavisinde kullanmıştır. Bitkilerden elde edilen kimyasalları geleneksel yöntemlerle tedavilerde kullanmak batı tıbbında da yaygın olarak kabul görmüştür. Günümüzde ise doğal bitkilerle alternatif tedavi yöntemi her geçen gün ilgi görmektedir. Çeşitli kimyasal içerikleri ile bitkiler, farklı farmakolojik aktiviteler göstermekte ve günümüzde hala şifa kaynağı olarak kullanılmaktadır (McFerren 2006).

Değişik biyolojik aktiviteye sahip olan bitkilerden, geçmişte doğal insektisit olarak da yararlanılmıştır (Sener *et al.* 1998). Örneğin Romanyalılar *Veratrum album* ve *Veratrum nigrum* bitkilerini fareler üzerinde tıbbi olarak kullanmalarının yanında insektisit olarak da kullanmıştır. Romanyalılar ilk zamanlarından 20. yüzyıla kadar tütün, piretrum ve helleboru insektisit olarak kullanmıştır (Jacobson 1983).

Türkiye olağanüstü zengin bir bitki örtüsüne sahip olup, ülkemizin değişik bölgelerinde farklı tıbbi bitkiler bulunmaktadır (Sener *et al.* 1998). Ülkemiz aynı zamanda geniş bir tarım arazisine sahiptir. Tarımsal üretim bir yandan artırılmaya çalışılırken, diğer yandan ekinlerdeki tarım zararlıları üretimi sınırlandırmaktadır. Bu yüzden tarım alanlarını zararlılardan ve patojenlerden korumak, bilim adamlarının ilgisini çeken bir konu olmuştur. Geçtiğimiz yıllarda çok sayıda sentetik böcek ilaçları geliştirilmiş ve bu ilaçlar tarım zararlıları ile mücadelede kullanılmıştır (Fetoui *et al.* 2010; Cordeiro *et al.* 2010). Ancak bu sentetik insektisitlerin kullanılması insanlar ve çevre için son derece olumsuz sonuçlar doğurmuştur. Sentetik insektisitlerin tekrar tekrar uygulanması aynı zamanda böceklerin insektisitlere karşı dirençlerini artırmıştır. Böceklerin bu ilaçlara

karşı dirençlerini artırması ve de faydalı organizmaların bu ilaçlardan zarar görmesi çevre için telafisi uzun bir süreç gerektiren kirlilik problemini de beraberinde getirmiştir (Gündüz 1998; Girard 2005). Tarım zararlısı olan böceklerle mücadelede sentetik insektisitlerin yerine doğal insektisitlerin keşfedilmesi ve kullanılması çevreyi daha az kirletecektir (Singh and Saratchandra 2005). Çevre sorunlarını azaltmak üzere yaygın insektisit olarak kullanılan bazı sentetik organofosfat ve karbamatlar, ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından yasaklanmıştır (Klein and Dunkel 2003). Ayrıca böceklerle mücadelede alternatif yöntemler geliştirilmektedir. Bunlardan bazıları meyve ağaçlarını korumak için kilden yapılmış koruyucu filmler; kekik, keklik otu, karanfil ve insektisit sabun gibi biyopestisitlerdir (Hardman *et al.* 1995; Isman 2000; Lapointe 2000; Garcia 2001; Hummelbrunner and Isman 2001; Klein and Dunkel 2003).

Bitkisel insektisitler ham bitki materyali, ekstre ya da reçine olarak hazırlanır ve kullanılır. Bu amaçla bitkilerin kök, yumru, tohum, çiçek, meyve ya da yaprakları kullanılmaktadır. İnsektisit olarak kullanılan bitki türleri, genellikle böcek öldürücü etkilerinden ziyade böcek uzaklaştırıcı etkiye sahiptir. Bitkisel insektisitler iştah kesici ve tiksindirici etkileri ile böceklerin normal gelişimini kısıtlar. Ayrıca doğal insektisitler sentetik ilaçlara göre çevrede daha kolay bozunmakta ve hayvan dokularında fazla depolanmamaktadır. Bununla beraber bitkisel insektisitlerin etkileri sentetik insektisitlerin etkileri kadar kalıcı değildir (Singh and Saratchandra 2005).

İnsektisidal özellik gösteren bitkilerin birçoğu insan ve diğer canlılar için toksik özelliğe sahip olabilir. Bu yüzden bitkiler insektisit olarak kullanılmadan önce çevre ve insan sağlığı açısından zararları bilimsel olarak tespit edilmeli ve kullanılmalıdır. Ayrıca birçok bitki türünün ekosistemlerde nesli tükenmekte olup insektisidal olarak kullanılacak bitkilerin uzun ömürlü, geniş bir alana dağılmış ve doğada yaygınlığının fazla olmasına dikkat edilmelidir (Singh and Saratchandra 2005). Bu konuya olan ilginin artmasından dolayı literatürde dünya florasında yayılış gösteren birçok bitkinin ve ekstrelerin insektisidal özelliği keşfedilmekte ve rapor edilmektedir (Moreau *et al.* 2006; Pavela 2010; Pavela *et al.* 2010; Dan *et al.* 2012). Hindistan'da neredeyse 2400

bitki türünün insektisidal özelliğe sahip olduğu tahmin edilmektedir (Baskaran and Narayanswamy 1995).

Doğal insektisitler üzerine yapılan bilimsel çalışmalara olan ilgi ülkemizde de her geçen gün artmaktadır. Bu bağlamda ülkemizde yayılış gösteren birçok bitki türünden elde edilen ekstre ve sekonder metabolitlerin değişik böcek türlerine karşı insektisidal etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir (Cetin *et al.* 2011). Örneğin ülkemizde yetişen *Inula viscosa* L., *Pimpinella anisum* L., *Ononisnatrix* L., *Melissa officinalis* L., *Origanum onites* L. ve *Teucrium divaricatum* Sieber bitki türlerinin mantar sineğine karşı toksik özellikleri rapor edilmiştir (Erler *et al.* 2009). Yapılan literatür taramasına göre zehirli *Veratrum* türlerinin insektisidal özellikleriyle ilgili birkaç literatüre rastlanmıştır. Ülkemizde *Veratrum* türlerinden doğal olarak *Veratrum album* yetişmektedir (Jacobson 1958; Yılmaz and Kansu 1987).

Çizelge 1.1. de doğal insektisit maddeler ve bunların bitkisel kaynakları gösterilmiştir (Singh and Saratchandra 2005).

Çizelge 1.1. Farklı türlerden elde edilen bitkisel insektisitler ve bitki kaynakları

Madde ismi	Kimyasal Grup	Bitki Kaynağı
Azadirachtin	Alkaloit	<i>Azadirachta indica</i>
Nicotine	Alkaloit	<i>Nicotiana tabacum</i> , <i>N. Rustica</i>
Anabasine	Alkaloit	<i>Anabasis aphylla</i>
Piperine	Alkaloit	<i>Piper nigrum</i>
Veratine	Alkaloit	<i>Schoenocaulon officinale</i> , <i>Veratrum album</i> , <i>Veratrum viride</i>
Ryanodine	Alkaloit	<i>Ryania speciosa</i>
Wilfordine	Alkaloit	<i>Tripteryglum wilfordii</i>
Quassin, Neoquassin,	Diterpen	<i>Quassia amara</i> , <i>Lactones excelsa</i>
Picrasmin	Diterpen	<i>Quassia amara</i> , <i>Lactones excelsa</i>
Sesamin	Lignan	<i>Sesamum indicum</i>
Rotenone (ellipton)	Rotenoid	<i>Deguella elliptica</i>
Pyrethrin I	Piretrin	<i>Chrysanthemum cinerari</i>
Pyrethrin II	Piretrin	<i>C. roseum</i> , <i>C. carreum</i>

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. *Liliaceae* (Zambakgiller) Familyası ve *Veratrum* Cinsi

Liliaceae (Zambakgiller), *Liliales* bitki takımına ait bir bitki familyasıdır. Bu familyada özellikle rizom, yumru ve soğan gibi toprakaltı kısımlarıyla çok yıl yaşayan otsu bitkiler bulunur (Baytop 1989). Dünya florasında bu familya 250 cins ve 3500 kadar türle temsil edilmektedir. Ülkemiz florasında 44 cins ve 430 türün yayılış gösterdiği bilinmektedir (Satıl ve Akan 2006). Bu familyaya ait bitkiler fitokimyasal ve farmakolojik yönden birçok bilimsel araştırmanın konusu olmuştur (Tanaka *et al.*, 2011; Ivanova *et al.* 2011; Zhu *et al.* 2011) ve bu bitkilerin farmakolojik özelliklerinin sentezledikleri kompleks yapılu steroidal alkaloidlerden ileri geldiği düşünülmektedir (Li *et al.* 2006).

Veratrum, Zambakgiller familyasına ait önemli bir bitki cinsidir. Dünya florasında, kuzey yarım kürenin ılıman bölgelerinde 45 civarında *Veratrum* türü yetişmektedir. Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika'da yayılış gösteren *Veratrum* türlerinin 20 kadarına Çin'de rastlanmaktadır. Bu bitki türü Çin'de çok iyi tanınmakta ve geleneksel tıpta yaygın bir kullanıma sahiptir. *Veratrum* türlerinin kuru kök ve rizomlarından hazırlanan ilaçlar Çin kaynaklarında "Lilu" ismiyle bilinmektedir. Eski Çin tıp kaynaklarında Lilu'dan yüksek tansiyon, iltihaplanma, pıhtılaşma ve spazm gibi rahatsızlıkları tedavi edici bitki olarak bahsedilmektedir (Hollman 2003; Wen *et al.* 2005; Tang *et al.* 2010). Kızılderililer ve sanayileşme öncesinde Avrupalılarda; öksürük, boğaz ağrısı, bademcik iltihaplanması, ruh hastalıkları, sara hastalığı, sarılık, uyuz, bakteriyel enfeksiyonlar, yılan sokması, zührevi hastalıklar ve yaralanmalar gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde *Veratrum* türleri kullanılmıştır (Li *et al.* 2006; Li *et al.* 2007; Tanaka *et al.* 2011). *Veratrum* türleri, "hellebore", "Amerikan çöplemesi", "yalancı çöpleme" ve "beyaz çöpleme" gibi yerel isimlerle bilinmektedir (Li *et al.* 2007).

Veratrum türlerinin 300 yılı aşkın bir süredir farmakolojik aktiviteleri dikkat çekmiştir. *Veratrum* türlerinden elde edilen ekstraterler 1950’li yıllara kadar bazı zararlı böcek türlerine karşı insektisit olarak kullanılmıştır (Jacobson 1958). Bu nedenle 1930’lu yıllardan itibaren *Veratrum* türleri üzerinde fitokimyasal çalışmalar yapılmış ve 100’ün üzerinde değişik farmakolojik özelliklere sahip alkaloit tipli metabolit tespit edilmiştir (Gaffield *et al.* 1986; Rahman *et al.* 1991, 1992, 1996).

Veratrum bitkilerinde alkaloitlerin yanı sıra flavonoit ve stilbenoit sınıfına dahil maddelerin olduğu da rapor edilmiştir (Hanawa *et al.* 1992; Zhou *et al.* 1999, 2001; Tang *et al.* 2007; Huang *et al.* 2008; Dai *et al.* 2009). Bunlar arasında en fazla biyolojik aktivite gösteren metabolitlerin steroidal alkaloitler olduğu tespit edilmiştir. (Rahman *et al.* 1992; Sener and Rahman 1996; Zhou *et al.* 1999; Zhu *et al.* 2011; Ivanova *et al.* 2011). Son yıllarda kimyasal maddelerin yapı belirlenmesinde spektroskopik yöntem ve tekniklerin gelişmesi (özellikle de 2D-NMR yöntemleri) ile *Veratrum* türlerinde birçok metabolitin kimyasal yapısı aydınlatılmıştır (Hanawa *et al.* 1992; Zhou *et al.* 1999, 2001; Tang *et al.* 2007; Huang *et al.* 2008; Dai *et al.* 2009). Aynı zamanda alkaloitlerin yapı karakterizasyonu ve biyolojik aktiviteleri üzerine yapılan bilimsel çalışmalar artmıştır (Wen *et al.* 2005).

2.1.1. *Veratrum album* (beyaz çöpleme)

Veratrum album, ülkemizde de yayılış gösteren, içeriğinde zehirli steroidal alkaloit ve glikozit bulunduran bir bitki türüdür (Baytop 1989, 1999). Avrupa ve kuzey Asya’da yüksek rakımlı dağlarda ve ormanlık alanlarda yayılış gösterir. Ülkemizde Zigana Dağları ile Toros Dağları’nda orman açıklıklarındaki çayırlarda yayılış göstermekte ve halk arasında “çöpleme”, “ak çöpleme”, “beyaz çöpleme”, “kökenfiye” ve “çemah” isimleriyle bilinmektedir (Harvey 1976; Baytop 1989, 1999; Anonim 2006). Yetiştığı yerler kış boyunca karla kaplıdır ve azotça zengin içeriğe sahip alanlardır. *Veratrum album*, bulunduğu yerdeki bitkilere kıyasla daha erken büyümeye başlar (Jaeger and Monson 1992; Lipson *et al.* 1999; Kleijn *et al.* 2005).



Şekil 2.1. *Veratrum album*'un toprak üstü kısımları (Anonim 2006)



Şekil 2.2. *Veratrum album*'un toprak altı kısımları

Veratrum album, 1,5 metreye kadar yükselebilen, sapsız, dayanıklı, uzun ömürlü ve otsu bir bitkidir. Yaprakları geniş, oval ve paralel damarlıdır. Çiçekleri beyaz ve yeşildir. Tohumları tek kapsüllüdür. Bitki yalnızca bir rizoma sahiptir. Rizomu ortalama 8 cm uzunluğunda, 2-3 cm kalınlığında ve koyu kahverengidir. Rizomun bütün yüzeyinde 3-4 mm çapında ve ortalama 30 cm uzunlukta, açıktan koyuya doğru kahverengi olan, silindirik kökler vardır. Bitkinin kök ve rizomları %1-2 oranında steroidal alkaloit içerir (Baytop 1989; Bruneton 1999). Buna ilaveten rizom bitkide karbohidrat ve azot deposu görevi görmektedir (Schaffner *et al.* 1995). Toksik özelliğinden dolayı otçullar tarafından tüketilmez (Kleijn *et al.* 2005).

Veratrum album, halk hekimliğinde, tedavi amaçlı, yaygın olarak kullanılmış ve oldukça zehirli bir bitkidir. Tadı acı ve tozları çok aksırtıcıdır. İshal ve alerji yapıcı etkiye sahiptir. Bitki çok tahriş edici olduğu için halk hekimliğinde dahilen kullanılmamaktadır. İnfüsyonu (%0,5) bazı deri hastalıklarına ve vücut parazitlerine (uyuz) karşı haricen kullanılmaktadır. Rizomları nezle ve sinüzit sonucu meydana gelen tıkanıklıklarda burnu açmak amacıyla kullanılmaktadır. Bu amaçla rizomlardan elde edilen tozun çok az bir kısmı buruna çekilmek suretiyle kullanılır (Baytop 1999).

Veratrum preparatları, kan dolaşımı bozuklukları tedavisinin yanı sıra zararlı böcekler ile mücadelede de yıllarca kullanılmıştır. Son zamanlarda tıpta sentetik ilaçların, ziraatte ise sentetik böcek ilaçlarının yerini almaya başlamıştır (Ujvary *et al.* 1991). Çok eski dönemlerden beri böcek kaçırmacı veya böcek öldürücü etkisi ile bilinen *Veratrum album*'un alkaloitleri, özellikle insanlar ve soğukkanlı hayvanlar için son derece zehirlidir. Toksik etkileri uyarılabilir hücrelerin membranlarında dayanıklı sodyum kanallarının geçirgenliğinin bir sonucu olarak tespit edilmiştir (Wang and Wang 2003; Lipinski *et al.* 2008).

Cilt kanserine karşı ümit verici antikanser özellik gösteren cyclopamine maddesi ilk kez 1964'te ABD'de yayılış gösteren *Veratrum californicum* türünden izole edilmiş ve karakterize edilmiştir (Keeler 1969; James 1999). *Cyclopamine* maddesinin kanserli hücrelerin çoğalmasında önemli olan Hedgehog sinyal yolunun güçlü bir antagonisti

olduğu rapor edilmiştir (Altaba *et al.* 2002; di Magliona and Hebrok 2003; McMahon *et al.* 2003; Sanchez *et al.* 2005; McFerren 2006; Lee *et al.* 2007; Lipinski *et al.* 2007, 2008; Tremblay *et al.* 2008; Oatis *et al.* 2008; Zhang *et al.* 2008; Tang *et al.* 2010). Cyclopaminin bu özelliği bu maddenin prostat, akciğer, cilt, meme, yumurtalık, pankreas gibi kanser türlerinin yanı sıra sedef hastalığı gibi genetik hastalıkları da başarılı bir şekilde tedavi ettiği tespit edilmiştir (Vachalkova *et al.* 1998; Tas and Avcı 2004a,b; Lipinski *et al.* 2007, 2008; Tang *et al.* 2008; Tremblay *et al.* 2008; Zhang *et al.* 2008; Growdon *et al.* 2009; Zunich *et al.* 2009; Jimeno *et al.* 2009). Cyclopamine maddesine son zamanlarda yapılan bir çalışma ile *Veratrum dahuricum* türünde de rastlanmıştır (Tang *et al.* 2008). Veratramine ve germine alkaloitlerinin de cyclopamine kadar olmasa da antitümör etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Bu açıdan günümüzde ve de gelecekte *Veratrum* türleri ve bu türlerin içerdiği bazı alkaloitlerin kanser tedavisinde önemli bir yer tutacağı görölmektedir. Bununla beraber, ölkemizde yetişen *V. album* türünde cyclopamine maddesinin olup olmadığı üzerine herhangi bir kayda rastlanmamıştır. Cyclopamine maddesinin yanı sıra bu maddeden sentezlenen bazı cyclopamine türevlerinin de antikanser özellikleri rapor edilmiştir (Zhang *et al.* 2008).

Veratrum türlerinden izole edilen O-acetyljervine, jervinone, protoveratrine A, protoveratrine B, germitetrine, neogermitrine, germidine, germerine ve jervin maddelerinin kan basıncını düşürücü etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Gilani *et al.* 1995). *Veratrum viride*'den izole edilen cryptenamine alkaloidinin de tansiyon düşürücü etkisi olduğu rapor edilmiştir (Kupchan and Gruenfeld 1959).

Protoveratrine A, dolaşım sistemindeki etkilerinin yanında, son yıllarda güçlü bir insektisit olarak da umut vermektedir (Li *et al.* 2009). Canlı deneylerinde rizom ve köklerinin etanol ekstraktı kullanılan *Veratrum taliense*'den 13 steroidal alkaloit elde edilmiştir. *Veratrum nigrum*'un rizom ve köklerinden 3 melanojenez inhibitörü belirlenmiştir (Li *et al.* 2006). *Veratrum dahuricum* bitkisinden izole edilen çeşitli steroidal alkaloitlerin antitümör aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Tang *et al.* 2008). Aynı bitkinin başka bir çalışmada kanın pıhtılaşmasını önleyici etkiye sahip olduğu

anlaşılmıştır (Tang *et al.* 2010). Neoverataline A, neoverataline B ve jervine metabolitlerinin *Veratrum taliense*'den izole edildiği bir çalışmada ise bu steroidal alkaloidlerin güçlü antifungal etki gösterdiği belirlenmiştir (Zhou *et al.* 2003). *Veratrum dahuricum* türünden izole edilen bir stilben glikozitin kan pıhtılaşmasını azaltıcı etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada izole edilen resveratrol maddesinin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (Dai *et al.* 2009).

Literatürde *Veratrum* alkaloidlerinin, böceklere karşı insektisit aktiviteye sahip olduğunu gösteren birçok araştırma mevcuttur. 73 *Veratrum* alkaloidinin insektisidal aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada 44 bileşiğin sivrisinek ya da böceklere karşı insektisit etki gösterdiği belirlenmiştir. *Veratrum* alkaloidleri, birçok farklı taksondaki böcek grubuna oldukça toksik etki göstermiştir (Ujvary *et al.* 1991; Gfeller *et al.* 1995). *Veratrum* alkaloidleri ve bunları içeren türevlerinin insektisit etkileri, bu alkaloidlerin yetişkin sivrisinekler ve ipekböceklerine karşı uygulamaları sonucunda ortaya çıkmıştır. Bu maddelerin ve bu maddeleri içeren ekstrelerin böceklerin Na⁺ kanallarında değişmelere neden olmaları sonucu insektisidal etki gösterdikleri bilinmektedir (Bergmann *et al.* 1958; Wen *et al.* 2005). *Veratrum album* ekstrelerinin, sivrisinek ve böceklere karşı insektisidal aktivitesini gösteren çalışmalar da mevcuttur (Sener *et al.* 1998). Jacobson (1958)'un raporuna göre *Veratrum* türlerinden *V. album*, *V. californicum*, *V. dahuricum*, *V. eschscholtzii*, *V. grandiflorum*, *V. japonicum*, *V. maximoviczii*, *V. nigrum*, *V. stamineum*, *V. viride* ve *Veratrum sp.* çeşitli böcek türlerine karşı toksik etkiye sahiptir. Aynı çalışmada *Veratrum* türlerinden izole edilen veratrine maddesinin 49 farklı böcek türüne karşı oldukça toksik etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır (Jacobson 1958). İncir bahçelerinde sirke sineği olarak tanınan *Drosophila melanogaster* Meig.'e karşı *Veratrum album* bitkisinin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, *Veratrum album*'un toprak altı kısımlarından elde edilen aseton ekstresinin sirke sineğine karşı insektisit özelliğinin olduğu belirlenmiştir (Yılmaz ve Kansu 1987).

2.2. *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae)

L. decemlineata (Colorado potato beetle), ülkemizde “patates böceği” adıyla bilinen ve patates yapraklarına önemli ölçüde zarar veren bir böcek türüdür. Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya’da 16 milyon km² civarında bir alana yayılmıştır ve yayılmaya devam etmektedir. *L. decemlineata* tüm dönemlerinde patates yapraklarıyla beslendiği ve patateste uzun süre kaldığı için, bu böcek türüne karşı hiçbir kontrol tekniği geliştirilememiştir. Böcek patates bitkisinin gelişimini yavaşlatıp üretimin azalmasına neden olmaktadır. Bu özelliğinden dolayı kimyasal mücadeleyi de zorunlu kılmaktadır (Casagrande 1987; Ünal ve Uğurlu 2000; Alyokhin *et al.* 2008a). Hızlı üreyen, farklı fiziksel koşullarda yaşayabilen ve insektisitlere karşı dayanıklılık geliştiren bir zararlı olup, patates üretiminde önemli bir tehdit olmaya devam etmektedir (Alyokhin *et al.* 2008a). *L. decemlineata*’nın anavatanı Güneybatı Amerika ve Meksika’dır. İlk defa 1811’de Thomas Nuttall tarafından toplanmış ve sonra 1814 yılında Thomas Say tarafından tanımlanmıştır. *L. decemlineata* major olarak ilk kez Amerika’da Kızılderililerin yaşadığı bir yer olan Nebraska’nın batısında 1859 yılında ortaya çıkmaya başlamıştır (Jacques 1988; Alyokhin *et al.* 2008a). Böcek hem uçma hem de yürüme yeteneğine sahip olduğu için diğer alanlara kolayca yayılabilmektedir. *L. decemlineata* ülkemizde ilk defa 1963 yılında Edirne’nin Yunanistan ile sınır olan köylerinde görülmüştür. Bu tarihten itibaren zararlı ile mücadele yöntemleri geliştirilmiş, ancak çok fazla başarılı olunamamıştır (Ünal ve Uğurlu 2000).

L. decemlineata’nın erginleri kış boyunca toprak altında yaşar, topraktan çıktıktan sonra patates, domates ya da patlıcan yapraklarını bulmak için araştırmaya başlar, başlangıçta yürüyerek yiyecek araştırır. Eğer yiyecek bulamazlarsa daha uzak alanlarda araştırma yapmak üzere uçar (Ferro *et al.* 1999). Dişi böcekler uygun iklim ve yiyecek ortamı bulduktan hemen sonra yumurtlar. Yalnızca bir dişi böcek yaklaşık 600 civarında yumurta verebilir. Yumurtalar her yaprak altında ortalama 20-60 arasında bırakılır ve kısa sürede larvaya dönüşür. Hem ergin hem de larvalar sürekli patates yaprakları ile beslenirler (Lefevere and De Kort 1989; Ferro *et al.* 1991; Weber and Ferro 1994; Weber 2003; Alyokhin *et al.* 2008a).



Şekil 2.3. *L. decemlineata* Say (Colorado Potato Beetle) (Patates Böceği) (Weber 2003)

L. decemlineata'ya karşı biyolojik mücadele amacıyla bazı böcek türleri kullanılmıştır. Ancak, biyolojik mücadele ile sayısı azaltılan *L. decemlineata*'nın yoğunluğu ticari tehlikeyi giderecek düzeyde olmamıştır. Bilinen biyolojik kontrol ajanlarından hiçbiri yeterince *L. decemlineata*'yı uzaklaştıramamıştır (Ferro 1994; Alyokhin 2009). *L. decemlineata* ile mücadelede ilk kullanılan kimyasallardan biri 1939 yılında DDT (dikloro difenol trikloreten) olmuştur (Hitchner 1952; Gauthier *et al.* 1981). Böceğin sentetik pestisitlere direnç gösterme eğiliminin ilk örneği 1952 yılında DDT'ye karşı olduğu rapor edilmiştir (Quinton 1955; Alyokhin 2009).

L. decemlineata ile mücadelede sentetik böcek ilaçlarının kullanımı oldukça yaygındır. Ancak mevcut böcek ilaçlarının hasat sonrası ürünlerde kalıntı madde olarak kalması ve böceklerin bu ilaçlara karşı direnç geliştirmeleri bu kimyasalların kullanımında önemli

bir sorun oluşturmaktadır (Scott *et al.* 2003; Gokce *et al.* 2006; Kordali *et al.* 2007; Alyokhin *et al.* 2008a). Bu durum, yeni böcek ilaçlarının geliştirilmesini kaçınılmaz kılmaktadır. Ayrıca sentetik veya yarı sentetik tarım ilaçlarının doğada biyolojik bozunmaları doğal maddelere nazaran daha yavaştır. Bu durum da çevre kirliliğine neden olmakta ve bu maddelerin gıda ürünlerine geçmesi de insanlar için sorun olmaktadır. Son zamanlarda tüketiciler tarafından yaygın olarak tercih edilmeye başlanan organik ürünler ve organik tarım önemli hale gelmiştir. Bu nedenle organik tarımda yeni, doğal ve daha güvenilir böcek ilaçlarının geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Scott *et al.* 2003; Gokce *et al.* 2006; Kordali *et al.* 2007; Alyokhin *et al.* 2008a).

L. decemlineata birçok insektiside karşı direnç geliştirebilen zararlı bir türdür. Son 60 yılda *L. decemlineata* önemli insektisit sayılan 52 farklı bileşiğe karşı direnç geliştirmiştir. Bu nedenle, *L. decemlineata* modern böcek ilacı endüstrisinin oluşmasında oldukça önemli yer kaplamıştır. 1864'ten beri yüzlerce bileşik bu böceğe karşı denenmiş ve zararlarını azaltmak üzere çeşitli ilaçlar geliştirilmiştir. Seçilen ilk ilaçlar kurşun arsenat gibi arsenik içeren kimyasallar ve bazı bitki köklerinden elde edilen ilaçlar olmuştur (Brown 1951; Gauthier *et al.* 1981; Alyokhin *et al.* 2008a,b).

L. decemlineata'ya karşı kullanılan böcek ilaçlarında aktif olan kimyasalların karbamat, organofosfat, siklodien organoklorin, piretroid, piretrin, neonikotinoit, spinosad, avermektin, kriyolit, *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* bakterisinden elde edilen endotoksinler, benzoilüre, azadirachtin, indoxacarb ve bifenazat olduğu rapor edilmiştir (Alyokhin *et al.* 2008a). *L. decemlineata*'nın tarlada veya laboratuvar ortamında direnç geliştirdiği insektisitler Çizelge 2.1'de gösterilmiştir (Whalon *et al.* 2008).

Çizelge 2.1. *L. decemlineata* 'nın direnç geliştirdiği insektisitler

Kimyasal Grup	Yaygın İsim
Karbamatlar	Aldicarb, carbaryl, carbofuran, cloethocarb, dioxacarb, oxamyl, propoxur
Organofosfatlar	Azamethiphos, azinphosethyl, azinphosmethyl, chlorfenvinphos, malathion, methamidophos, methidathion, monocrotophos, parathion, parathion-methyl, phorate, phosmet, phoxim, quinalphos, tetrachlorvinphos, trichlorfon
Organoklorinler	DDT, methoxychlor
Siklodien Organoklorinler	Aldrin, chlordane, dieldrin, endosulfan, endrin, HCH-gamma, toxaphene
Organotinler	Azocyclotin
İnorganikler	HCN
Piretroidler, Piretrinler	Cypermethrin, deltamethrin, esfenvalerate, fenvalerate, permethrin
İzoflavonlar	Rotenone
Neonikotinoidler	dinotefuran, acetamiprid, clothianidin, thiacloprid N-desmethylthiamethoxam, imidacloprid, N- thiamethoxam, methylimidaclopridnitenpyram,
Makrosiklik laktonlar (avermektin)	Abamectin
Nereistoksin analogları	Cartap
Spinosad	Spinosad
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp.	<i>tenebrionis</i> endotoxins Bt

Bitkisel insektisitlerin *L. decemlineata* 'ya karşı iştah kesici, uzaklaştırıcı veya toksik etki göstermenin yanında, *L. decemlineata* tarafından bitkiye verilen zararı azaltıcı etkisinin olduğu da tespit edilmiştir. Aynı zamanda böcek kontrolünde kullanılan bitkiler, gelişmekte olan ülkelerde yetiştirilmesi ya da satın alınması yönünden avantajlıdır (Dev and Koul 1997; Perry 1998; Murray *et al.* 1999; Gokce *et al.* 2006).

Bazı bitki türlerinden değişik organik çözücülerle elde edilen ekstratların yanı sıra bitkilerden izole edilen bazı pirolizidin alkaloidlerinin, cardiopetaminlerin, terpenoidlerin, cucurbitacinlerin, silpheninlerin ve limonoidlerin *L. decemlineata* 'ya karşı toksik özellik gösterdiği belirlenmiştir (Bentley *et al.* 1990 ; Mendel *et al.* 1991; Gonzalez-Coloma *et al.* 1995; Murray *et al.* 1999; Scott *et al.* 2003; Gokce *et al.* 2006). Kitin sentezi inhibitörü olan *Novaluron*, *L. decemlineata* 'nın yumurta üretmesini azaltıcı etki gösterdiği belirlenmiştir (Alyokhin *et al.* 2008a). *L. decemlineata* 'nın larva

ve yetişkinlerine karşı 30 monoterpenin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada bazı monoterpenlerin *L. decemlineata*'ya karşı güçlü toksik etkilerinin olduğu belirlenmiştir (Kordali *et al.* 2007). *Piper* türü bitkilerden elde edilen piperamitler de *L. decemlineata*'ya karşı toksik özellik göstermiştir (Scott *et al.* 2003).

Veratrum türlerinin ekstre ve metabolitlerinin *L. decemlineata*'ya karşı insektisit etkileri konusunda literatürde herhangi bir kayda rastlanmamıştır.

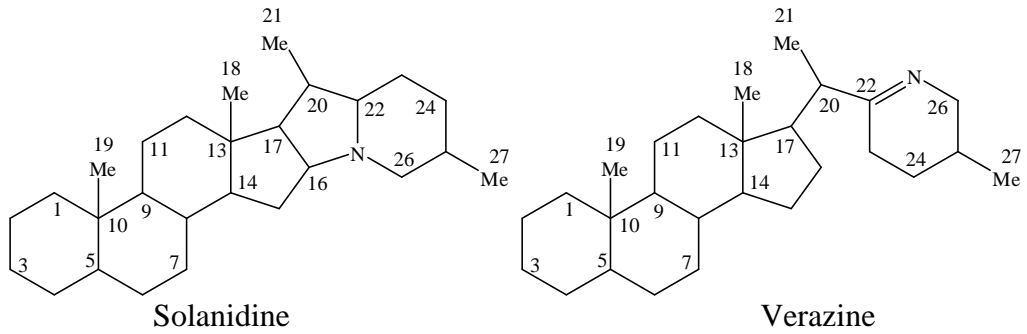
2.3. Alkaloitler

Alkaloitler, alkali özellik gösterdikleri için “baz gibi” anlamına gelen “alkaloit” adını almışlardır. Bitkilerden elde edilen, kuvvetli fizyolojik ve farmakolojik aktivite gösteren, halka içinde bir veya birden fazla azot atomu taşıyan bazik karakterli maddelerdir. Hemen hemen tüm bitkilerde az veya çok miktarlarda sentezlenirler. Özellikle azotlu ve sıcak bölgelerde, gübrece zengin topraklarda yetişen türler alkaloitlerce zengindirler. Alkaloitler bitkilerde hücre öz suyunda çözünmüş olarak bulunmakla birlikte serbest ya da tuzları halinde de bulunabilirler (Tanker ve Tanker 1990).

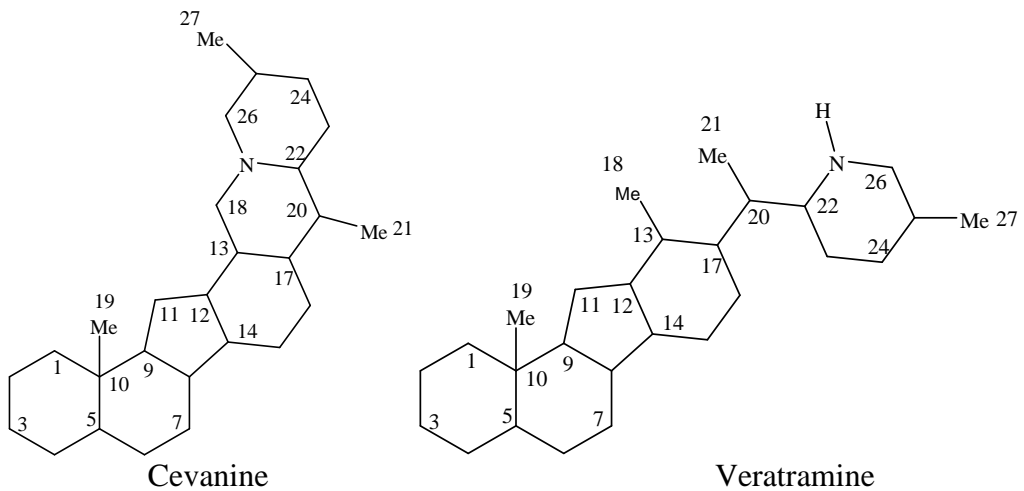
Alkaloitler oldukça geniş bir sınıfı temsil eden metabolitlerdir. Basit yapıda olabildikleri gibi karmaşık yapıda da olabilirler. Yapı bakımından en basit alkaloitlerden biri nikotindir. İlk defa saf olarak izole edilen alkaloit 1805 yılında haşhaş bitkisinin sakız ve tohumlarından elde edilen morfindir (Fessenden and Fessenden 2001). Kimyasal yapılarına göre pirolidin, piperidin, piridin, tropan, pirolizin, kinolizin, kinolein, izokinolein, imidazol, indol, purin, steroidal ve terpenik alkaloitler olarak sınıflandırılırlar (Tanker ve Tanker 1990; Bruneton 1999).

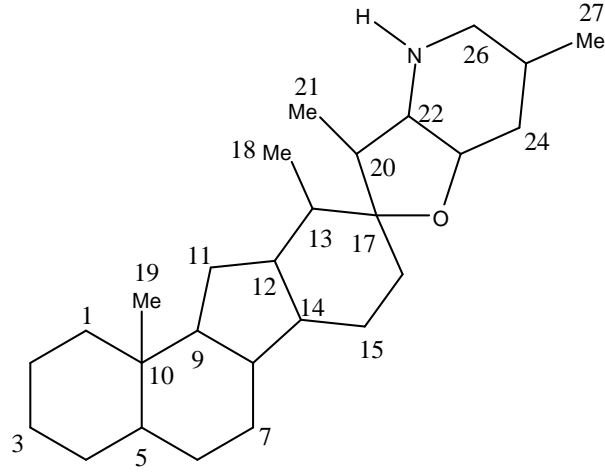
Molekül yapısında steroid iskeleti taşıyan alkaloitler “steroidal alkaloitler” olarak adlandırılır. Steroidal alkaloitler içerdikleri karbon atomu sayısına göre basitçe 21, 24 ve 27 karbonlu iskelet yapılı olarak gruplandırılır (Bruneton 1999).

Zambakgiller familyasındaki steroidal alkaloidler 27 karbonludur. Bu grup 27 karbonlu kolestan iskeletinin beş veya altı karbosiklik ya da heterosiklik halka ile birleşmesiyle oluşan steroid yapısıdır. 27 karbonlu steroidal alkaloidler karbon iskelet yapısına göre steroidal alkaloidler ve izosteroidal alkaloidler olarak iki grupta incelenebilir. Birinci gruptakiler genellikle *Solanum* steroidal alkaloidleri olarak bilinirler ve Solanidine ve Verazine gruplarını içerirler.



İkinci gruptaki izosteroidal alkaloidler ise, steroid iskeletindeki C halkasının bir karbon atomu kaybedip, D halkasının bir karbon atomu kazanması şeklindeki halka düzenlenmesi ile yapının C-nor-D-homo formuna dönüştüğü yapılarıdır. Bu tür maddelere Abnormal Steroidal Alkaloid adı da verilmektedir. Bu tür steroidal alkaloidler Cevanine, Veratramine ve Jervine gruplarını içerirler. *Veratrum* türlerinde izosteroidal alkaloid yapıdaki bileşikler yaygındır (Tanker ve Tanker 1990; Bruneton 1999; Wen *et al.* 2005; Li *et al.* 2006; Li *et al.* 2007).





Jervine

Veratrum türlerinden bugüne kadar yapılan fitokimyasal çalışmalarda 100 civarında steroidal alkaloid saflaştırılmıştır (Tang *et al.* 2008). Daha çok toprak altı kısımları alkaloidlerce zengin olan bu türde *Veratrum album*'un yapraklarından *O*-acetyljervine ve metiljervine-N-3' propanoat steroidal alkaloidleri izole edilmiştir (Rahman *et al.* 1991). *Veratrum album* rizomlarının etanol ekstresinden ise jervinone ile verabenzoamine maddeleri izole edilmiştir (Rahman *et al.* 1992). Yapılan farklı bir çalışmada *Veratrum dahuricum*'un rizomlarının n-bütanol ekstresinden stilben glikozitler izole edilmiştir (Dai *et al.* 2009).

Veratrum türlerinden 1980-2005 yılları arasında izole edilen steroidal alkaloidler Çizelge 1.3'te gösterilmiştir (Li *et al.* 2006).

Çizelge 2.2. *Veratrum* türlerinden izole edilen steroidal alkaloidlerin isimleri

<i>Vertarum</i> Cinsinin İsmi	İçerdiği Steroidal Alkaloidler	Kaynak	
<i>V. album</i>	Neojerminalanine	Rahman <i>et al.</i> 1996	
	Verussurine	Rahman <i>et al.</i> 1992	
	Veramanine	Rahman <i>et al.</i> 1996	
	<i>O</i> -Acetyljervine	Rahman <i>et al.</i> 1991 Gilani <i>et al.</i> 1995	
	Methyljervine- <i>N</i> -3-propanoate	Rahman <i>et al.</i> 1991	
	Jervinone	Rahman <i>et al.</i> 1992 Rahman <i>et al.</i> 1993	
	1-Hydroxy-5,6-dihydrojervine	Rahman <i>et al.</i> 1993	
	Jervine	Rahman <i>et al.</i> 1991	
	Pseudojervine	Rahman <i>et al.</i> 1996	
	<i>V. album</i> ssp. <i>lobelianum</i>	3-Acetyl-15-veratroylgermine	Tomko and Vassova 1981
		15-Veratroylgermine	Tomko and Vassova 1981
		Veramarine	Tomko and Vassova 1981
		Verarine	Tomko and Vassova 1981
		Veralobine	Tomko and Vassova 1981
Rhamnoveracintine		Grancai <i>et al.</i> 1986	
Verazine		Tomko and Vassova 1981	
Veralkamine		Tomko and Vassova 1981	
Veramine		Tomko and Vassova 1981	
Veralinine		Tomko and Vassova 1981	
<i>V. dahuricum</i>		Veratroylzygadenine	Bondarenko 1984a
	Veramarine	Bondarenko 1984a	
	Veratrosine	Nakhatov <i>et al.</i> 1980 Quan <i>et al.</i> 2003	
	Veratramine	Nakhatov <i>et al.</i> 1980	
	Jervine	Nakhatov <i>et al.</i> 1980 Bondarenko 1984a Quan <i>et al.</i> 2003	
	Pseudojervine	Nakhatov <i>et al.</i> 1980	
	Verdine	Nakhatov <i>et al.</i> 1980	
	Rubijervine	Bondarenko 1984a	
	Isorubijervine	Bondarenko 1984a	
	Verazine	Bondarenko 1984a	
	Veramine	Bondarenko 1984a	
	<i>V. formosanum</i>	Angeloylzygadenine	Chung <i>et al.</i> 1992
		<i>V. lobelianum</i>	Germinaline 1
	Germitetrine 2		Shakirov and Yunusov 1983
Germinine	Shakirov 1997		
3,15- <i>O</i> , <i>O</i> '-(2-Methylbutyroyl)germine	Shakirov <i>et al.</i> 1995		
Veralodine	Kitajima <i>et al.</i> 1981 Kaneko <i>et al.</i> 1985 Xu <i>et al.</i> 1990		
Veratrine	Foldesiova <i>et al.</i> 1995		
Gerbudine	Nakhatov <i>et al.</i> 1984		
Veratroylzygadenine	Taskhanova and Shakirov 1981 Jia <i>et al.</i> 1983 Nakhatov <i>et al.</i> 1984		
Germerine	Jia <i>et al.</i> 1983		
15- <i>O</i> -(2-Methylbutyroyl)germine	Nakhatov <i>et al.</i> 1983		
Isojervine	Foldesiova <i>et al.</i> 1995		
Verdine	Nakhatov <i>et al.</i> 1984		

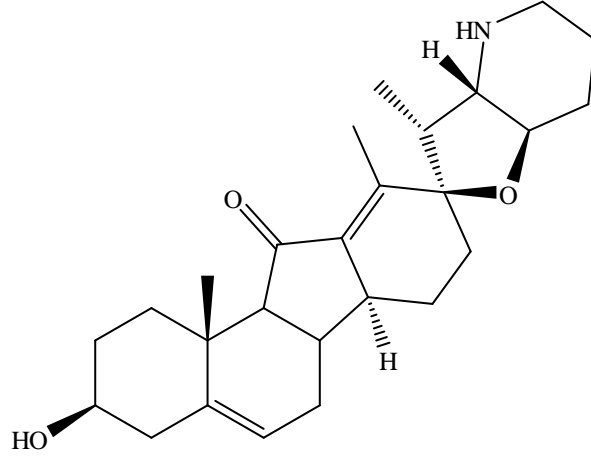
Çizelge 2.2. (devam)

	Jervine	Nakhatov <i>et al.</i> 1984
	Pseudojervine	Foldesiova <i>et al.</i> 1995
	<i>O</i> -Acetyljervine	Foldesiova <i>et al.</i> 1995
	Rubijervine	Suladze and Vachnadze 2002
		Nakhatov <i>et al.</i> 1984
		Shakirov <i>et al.</i> 1995
	Isorubijervine	Taskhanova and Shakirov 1981
	Isorubijervosine	Shakirov 1997
	Verdinine	Shakirov <i>et al.</i> 1995
	Diacetylveralkamine	Foldesiova <i>et al.</i> 1995
	Tetrahydroveralkamine	Foldesiova <i>et al.</i> 1995
	Veralosine	Taskhanova and Shakirov 1981
		Nakhatov <i>et al.</i> 1984
	Veralomidine	Nakhatov <i>et al.</i> 1984
		Shakirov <i>et al.</i> 1995
	Verazine	Jia <i>et al.</i> 1983
	Veralomine	Nakhatov <i>et al.</i> 1984
	Veracintine	Foldesiova <i>et al.</i> 1995
<i>V. maackii</i>	Maackinine	Zhao <i>et al.</i> 1989
	Zygadenine	To <i>et al.</i> 1988
		Zhao <i>et al.</i> 1989
	Germanitrine	Zhao <i>et al.</i> 1989
	Angeloylzygadenine	Zhao <i>et al.</i> 1986
		Zhao <i>et al.</i> 1989
	Verazine	To <i>et al.</i> 1988
		Zhao <i>et al.</i> 1989
		Han and Ruegger 1992
	<i>Epi</i> -verazine	Han and Ruegger 1992
	Verazinine	Zhao <i>et al.</i> 1989
<i>V. mentzeanum</i>	3-Angeloylgermine	Yang <i>et al.</i> 1987
	3,15-Diangeloylgermine	Yang <i>et al.</i> 1987
	Veratramine	Yang <i>et al.</i> 1987
	Veratramine <i>N</i> -oxide	Yang <i>et al.</i> 1987
	Solanidine	Yang <i>et al.</i> 1987
	Veramiline	Yang <i>et al.</i> 1987
<i>V. nigrum</i>	Neogermbudine	Zhao <i>et al.</i> 1987
	Veratroylzygadenine	Bondarenko 1979
	Veratramine	Jin <i>et al.</i> 2002
	Jervine	Bondarenko 1979
		Zhao <i>et al.</i> 1987
	Rubijervine	Bondarenko 1979
	Isorubijervine	Bondarenko 1979
	Verazine	Zhao <i>et al.</i> 1987
		Jin <i>et al.</i> 2002
	Veramine	Bondarenko 1979
<i>V. nigrum</i> var. <i>ussuriense</i>	Verussurinine	Zhao <i>et al.</i> 1991
	Verussurine	Tezuka <i>et al.</i> 1998a
	Verabenzoamine	Tezuka <i>et al.</i> 1998a
	15- <i>O</i> -(2-Methylbutyryl)germine	Zhao <i>et al.</i> 1991
	Neogermbudine	Zhao <i>et al.</i> 1991
	Germidine	Zhao <i>et al.</i> 1991
	Germerine	Zhao <i>et al.</i> 1991
	Jervine	Zhao <i>et al.</i> 1991
	Verazine	Zhao <i>et al.</i> 1991
<i>V. oblongum</i>	Veratroylzygadenine	Kadota <i>et al.</i> 1995
	Angeloylzygadenine	Kadota <i>et al.</i> 1995

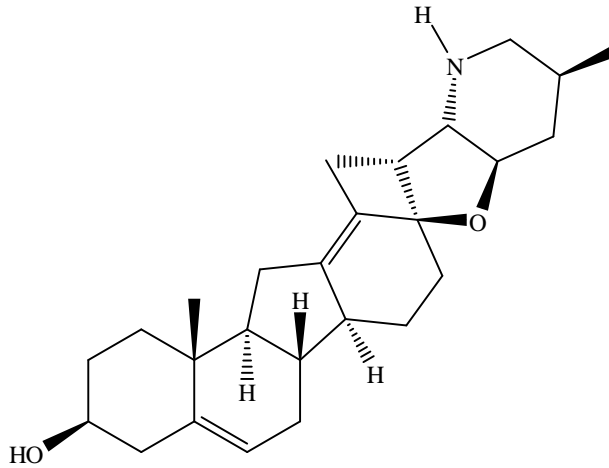
Çizelge 2.2. (devam)

	Cevadine	Kadota <i>et al.</i> 1995
	Shinonomenine	Kadota <i>et al.</i> 1995
	Vanilloylzygadenine	Kadota <i>et al.</i> 1995
<i>V. oxyssepalum</i>	Oblonginine	Kadota <i>et al.</i> 1995
	Veratroylzygadenine	Bondarenko 1982
	Germerine	Bondarenko 1982
	Veramarine	Bondarenko 1984b
	Rubijervine	Bondarenko 1982
	Verazine	Bondarenko 1984b
<i>V. patulum</i>	Veramine	Bondarenko 1984b
	20-Isoveratramine	Tezuka <i>et al.</i> 1998b
	23-O-b-D-Glucopyranosyl-20- isoveratramine	Irsch <i>et al.</i> 1993
	(22 <i>S</i> ,23 <i>R</i> ,25 <i>S</i>)23-O-b-D-Glucopyranosyl- 5,11,13-veratratrienine-3b,23-diol	Irsch <i>et al.</i> 1993
	Veratrosine	Irsch <i>et al.</i> 1993
	Veratramine	Tezuka <i>et al.</i> 1998b
	Verapatuline	Tezuka <i>et al.</i> 1998b
<i>V. stenophyllum</i>	Jervine	Tezuka <i>et al.</i> 1998b
	Stenophylline	Liang and Sun 1984a
	Veratroylzygadenine	Liang and Sun 1984b
	Zygadenine	Liang and Sun 1984b
	Angeloylzygadenine	Liang and Sun 1984b
	Jervine	Liang and Sun 1984b
	Stenophylline	Liang and Sun 1984b
<i>V. taliense</i>	Neoverataline A	Zhou <i>et al.</i> 2003
	Neoverataline B	Zhou <i>et al.</i> 2003
	Germine	Zhou <i>et al.</i> 1999
	Veratroylzygadenine	Zhou <i>et al.</i> 2003
	Angeloylzygadenine	Zhou <i>et al.</i> 2003
	Angeloylzygadenine b-N-oxide	Zhou <i>et al.</i> 2003
	15-Angeloylgermine	Zhou <i>et al.</i> 1999
	15-(2-Methylbutyroyl)germine	Zhou <i>et al.</i> 2003
	Jervine	Min <i>et al.</i> 1988
	Jervine 3-O-b-D-glucopyranoside	Zhou <i>et al.</i> 1999
	Solanidine	Zhou <i>et al.</i> 2003
	Stenophylline	Min <i>et al.</i> 1988
	Vertaline	Zhou <i>et al.</i> 2003
	Veramiline 3-O-b-D-glucopyranoside	Min <i>et al.</i> 1988
	Stenophylline B 3-O-b-D-glucopyranoside	M izuno <i>et al.</i> 1990
<i>V. viride</i>	Veramitaline	Zhou <i>et al.</i> 1999
	Rubivirine	Zhou <i>et al.</i> 2003
	Veramivirine	Zhou <i>et al.</i> 2003
		El Sayed <i>et al.</i> 1995
		El Sayed <i>et al.</i> 1995

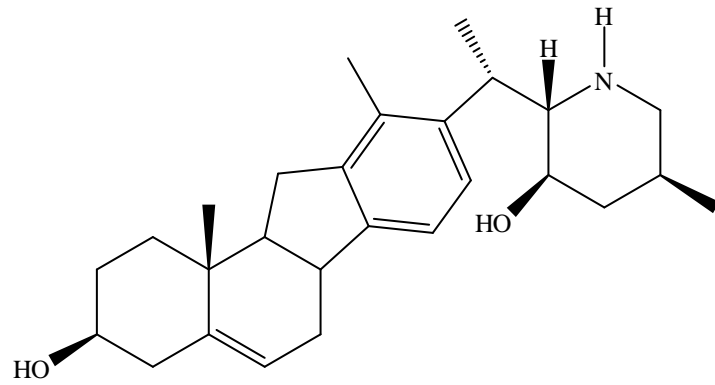
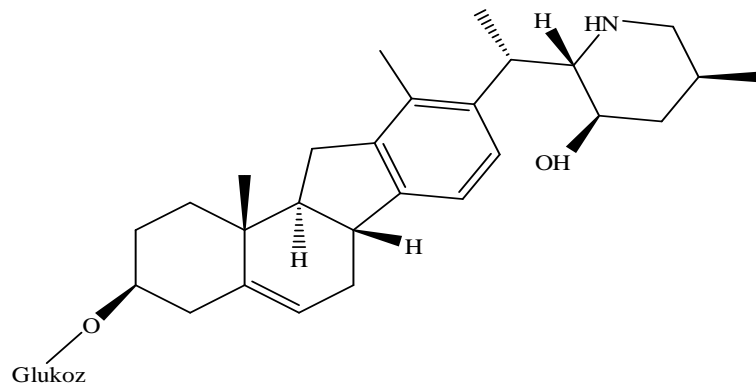
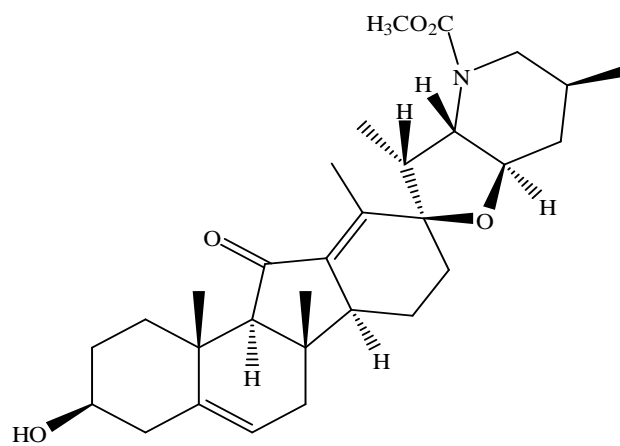
Veratrum maackii var. *japonicum* bitkisinin toprak üstü kısımlarından *Cevanine* tipi alkaloidler olan Veramadines A ile Veramadines B izole edilmiştir (Tanaka *et al.* 2011). Günümüze kadar *Veratrum album* ve diğer *Veratrum* türlerinden izole edilen bazı steroidal alkaloidlerin kimyasal yapısı aşağıda verilmiştir.



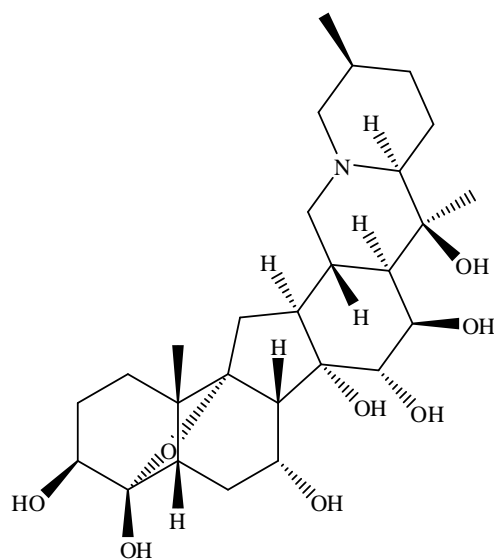
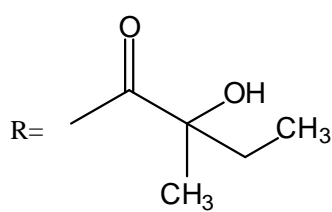
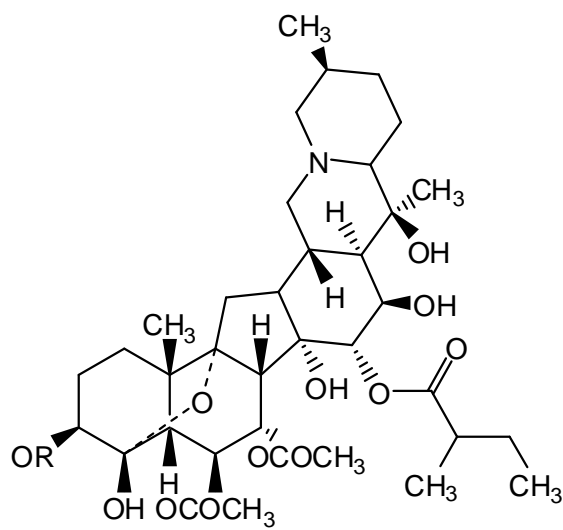
Jervine (Heretsch *et al.* 2010)



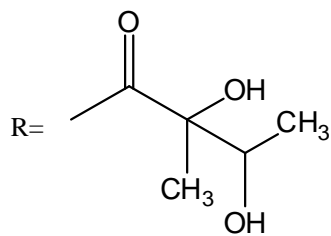
Cyclopamine (Heretsch *et al.* 2010)

Veratramine (Heretsch *et al.* 2010)Vertatrosine (Tang *et al.* 2010)

Verapatuline (Tezuka 1998b)

Germine (Tang *et al.* 2010)

Protoveratrin A



Protoveratrin B

(Ujvary *et al.* 1991)

2.4. Çalışmanın Amacı

Veratrum türleri içerdikleri steroidal alkaloidlerden dolayı kuvvetli farmakolojik etkiye sahip önemli bitkilerdir. Çok eski dönemlerden bu yana geleneksel tıpta kullanılan bu türler özellikle Çin’de birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Dünya florasında 45 civarında cinsi bulunan *Veratrum* türlerinden ülkemizde *Veratrum album* türüne daha yaygın rastlanmaktadır. *Veratrum album* çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmasının yanı sıra geçmiş dönemlerde böcek ilacı olarak da kullanılmıştır. Literatürde yaptığımız araştırmalarda *Veratrum album*’un ekstre ve saf metabolitlerinin *Leptinotarsa decemlineata*’ya (patates böceği) karşı insektisidal etkisini belirlemeye yönelik bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmadaki amacımız; ülkemizde yetişen *Veratrum album* bitkisinin değişik organik çözücülerle elde edilecek ekstrelerindeki sekonder metabolitleri izole etmek, metabolitlerin kimyasal yapılarını spektroskopik yöntemlerle belirlemek ve bazı kültür bitkileri için zararlı olan *Leptinotarsa decemlineata*’ya (patates böceği) karşı insektisidal aktivitelerini belirlemektir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu bölümde çalışmamızda kullanılan bitkisel materyal, canlı materyal, kimyasal maddeler ve aletler ile kullanılan teknikler verilmiştir.

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyali

Çalışmalarda kullandığımız *Veratrum album* bitkisinin rizomları ve toprak üstü kısımları, 2009 yılı Temmuz ve Ağustos aylarında Zigana Dağları'nın kuzey eteklerinde yer alan Hamsiköy yakınlarındaki ormanlık alanlardan toplandı. Bitkinin tür teşhisi Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Meryem ŞENGÜL tarafından yapıldı. Bitki örneği Atatürk Üniversitesi, Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi herbaryumunda muhafaza edilmektedir.

3.1.2. Böcek materyali

Çalışmada kullanılan *Leptinotarsa decemlineata*'nın (patates böceği) erginleri Erzurum İli Aziziye İlçesine bağlı Söğütlü Köyünden 2011 yılı Ağustos ayında, ilaçlama yapılmamış tarlalardaki patates bitkisinin, yaprak ve sürgünleri üzerinden toplandı. Tür teşhisi Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Göksel TOZLU tarafından yapıldı. Toplanan erginler, hava alabilecek bir biçimde düzenlenmiş plastik kaplara konularak laboratuvara getirildi. Böcekler laboratuvara getirilirken beslenmesi için kap içerisine ilaçlama yapılmamış tarlalardan alınan patates yaprakları konuldu. Böcekler bekletilmeden deney ortamında uygulamaya alındı.

3.1.3. Kimyasal maddeler

Bu çalışmada katı kimyasal madde olarak vanilin (Merck) ve potasyum bromür (Merck) kullanılmıştır. Sıvı kimyasal madde olarak metanol, etanol, aseton, kloroform, döttere-kloroform, döttere-metanol, döttere-piridin, DMSO-d₆, etil asetat, hekzan, metilen klorür, benzen, amonyak (Merck), ve sülfürik asit (%98, Merck) kullanıldı.

3.1.4. İzolasyon ve analiz çalışmalarında kullanılan aletler

NMR Spektrometre	: Bruker 400 MHz
Ultraviyole Spektrofotometre	: Lambda 35 UV/VIS Spectrometer
Kütle Spektrometre	: Hewlett Packart MS 597117
Infrared Spektrofotometre	: Perkin-Elmer
Döner Buharlaştırıcı (Rotary Evaporatör)	: Heidolph 94200
UV Lambası	: Camag UV Bethrachter
Erime Noktası Tayin Cihazı	: Thermo Scientific 9200
Polarimetre	: Bellingham Stanley Ltd. ADP 220

3.1.5. Kromatografik çalışmalarda kullanılan adsorbanlar

Kolon Kromatografisi: Silika jel (Kiesel gel 60, 70-230 mesh, Merck; Kiesel gel 60, 230-400 mesh, Merck)

İnce Tabaka Kromatografisi: Silika jel (Hazır plak, Kiesel gel 60 F₂₅₄, 0,2 mm, Merck, 5554)

Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi: Silika jel (Hazır plak, Kiesel gel 60 F₂₅₄, 0,5 mm, Merck 5557)

3.1.6. Kullanılan revelatörler

Vanilin/Sülfürik asit: Vanilinin %1'lik derişik H₂SO₄ (%98) içindeki çözeltisi (püskürtmeden sonra kromatogram 105°C'de birkaç dakika ısıtılır).

UV Lambası: UV₂₅₄ nm ve UV₃₆₆ nm

3.2. Yöntem

3.2.1. Aseton ile ekstraksiyon ve kromatografik çalışmalar

3.2.1.a. Ekstraksiyon

Veratrum album'un toprak altı kısımları doğrudan güneşe maruz bırakılmadan gölgede kurutulduktan sonra blenderde öğütölüp elendi. Öğütölümüş bitkiden 4000 g alındıktan sonra aseton ile (5x4L) oda sıcaklığında, 48 saat bekletilerek ekstrakte edildi. Asetonlu ekstre, adi süzgeç kağıdında süzölüdü. Süzölüntüler birleştirildikten sonra, 50°C sıcaklıkta ve düşük basınçta döner buharlaştırıcı ile yoğunlaştırıldı. Ekstraksiyon sonucunda 76 g ham aseton ekstresi elde edildi.

3.2.1.b. Aseton ekstresi üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar

Aseton ekstresi önce metanolde çözölüdü, değişik çözölücü sistemlerinde İTK yöntemi ile kontrol edildi. İTK'da oluşun renkler yardımıyla SKK ile fraksiyonlama yapmak için uygun çözölücü sistemleri belirlendi. Ekstredeki bileşikleri SKK ayırmak üzere, 385 g silika jel 60 (70-230 mesh) kloroform ile süspansiyon haline getirildi ve kolona (4x66 cm ebatlarında) tatbik edildi. Ekstre (36 g) 30 g silika jele iyice emdirildikten sonra kuru tatbikle kolona yüklendi. Elüsyona 1000 ml kloroform ile başlandı. Etil asetatın artan oranlarında kloroform-etil asetat (90:10, 80:20,, 0:100) karışımı ve metanolün artan oranlarında etil asetat-metanol (90:10, 80:20, 60:40, 40:60) elüent sistemleri ile devam edildi. Fraksiyonlar 50 ml hacimler halinde toplandı.

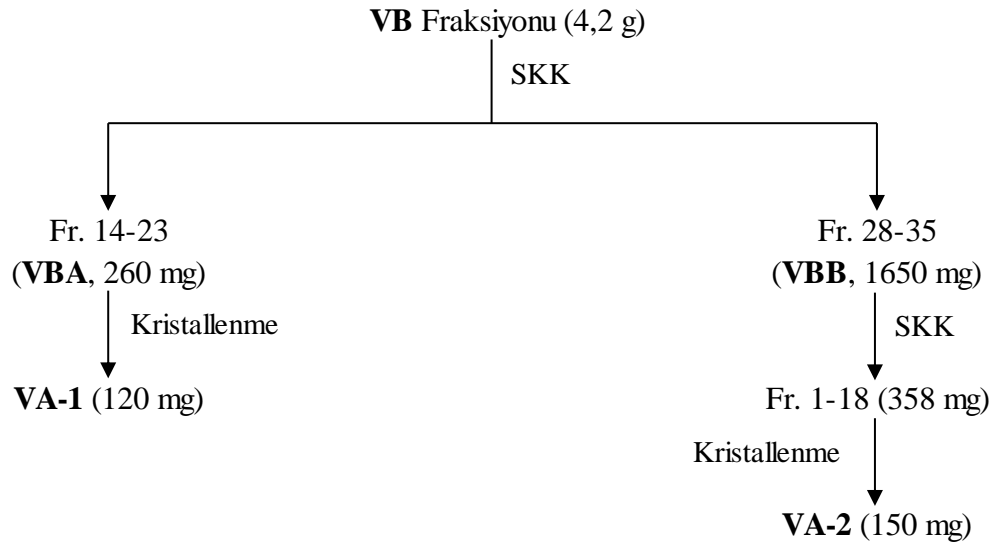
Yoğunlaştırılan fraksiyonlar, İTK'da değişik çözücü sistemleri ile kontrol edilerek aynı R_f değerli bileşikleri taşıyan fraksiyonlar birleştirildi. Aynı işlemler, 40 g aseton ekstresi için de tekrarlandı. Bu amaçla, 400 g silika jel 60 (70-230 mesh) kloroform ile süspansiyon haline getirildi ve 3,6x84 cm boyutlarındaki kolona tatbik edildi. Ekstre (40 g) 40 g silika jele iyice emdirildikten sonra kuru tatbikle kolona yüklendi. Elüsyona önceki kolondaki gibi devam edildi. İki ekstrenin fraksiyonları İTK ile kontrol edildi ve aynı seviyedeki lekeleri içeren fraksiyonlar birleştirildi. Fraksiyonlama işleminin sonucunda aseton ham ekstresi **VA** (4,459 g), **VB** (4,2 g), **VC** (4,34 g), **VD** (2,2 g), **VE** (3,95 g), **VF** (4,15 g), **VG** (6,45 g), **VH** (2,54 g), **VI** (11,5 g) ve **VJ** (22 g) olmak üzere toplam 10 fraksiyona ayrıldı. Bu fraksiyonlardan **VA** fraksiyonu, düşük polaritedeki maddeler içerdiği ve daha yüksek polaritedeki maddelerin izole edilmesi amaçlandığından dolayı bu fraksiyon üzerinde herhangi bir çalışma yapılmadı.

VB fraksiyonu üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar: 100 g silika jel (230-400 mesh), kloroform-hekzan (70:30) sisteminde süspansiyon haline getirildikten sonra kolona (2,8x36 cm) dolduruldu. **VB** fraksiyonu (4,2 g) kloroform-hekzan (70:30) çözücü sisteminde çözülerek kolona tatbik edildi. Elüsyona kloroform-hekzan (70:30) sistemi ile başlandı ve aynı çözücü sistemiyle devam edildi. Fraksiyonlar 25 ml hacimler halinde toplandı ve toplanan fraksiyonlar İTK ile değişik çözücü sistemlerinde kontrol edildi. Aynı R_f değerli lekeleri içeren 14-23. fraksiyonlar (260 mg) **VBA**, 28-35. fraksiyonlar (1650 mg) **VBB** olarak kodlandı (Şekil 3.1).

VBA'nın İTK ile yapılan kontrolünde vanilin/ H_2SO_4 reaktifi ile pembe renk veren majör bir maddeyi ihtiva ettiği belirlendi. Bu fraksiyonlar oda şartlarında bekletilme esnasında majör maddenin kendiliğinden kristallendiği gözlemlendi. Kristaller ayrıldı, metanol ile iyice yıkandı ve İTK ile yapılan kontrolde saf olduğu gözlemlendikten sonra **VA-1** (120 mg) olarak kodlandı (Şekil 3.1).

VBB fraksiyonundaki maddeleri SKK ile saflaştırılmak amacıyla 65 g silika jel (230-400 mesh), kloroform-hekzan (80:20) sistemi ile süspansiyon haline getirilerek (2,4x36) kolona dolduruldu. Aynı çözücü sisteminde çözülen **VBB** kolona tatbik edildi ve

kloroform-hekzan (80:20) yürütücü faz ile elüe edildi. Fraksiyonlar 10 ml hacimler halinde toplandı ve İTK ile kontrol edildi. İTK ile yapılan kontrolde 1-18. fraksiyonların vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile mor renk veren bir madde ihtiva ettiği belirlendi. Madde (358 mg) kloroform-hekzan (80:20) üzerinden kristallendirildi. Saflaştırılan madde **VA-2** (150 mg) olarak kodlandı (Şekil 3.1).

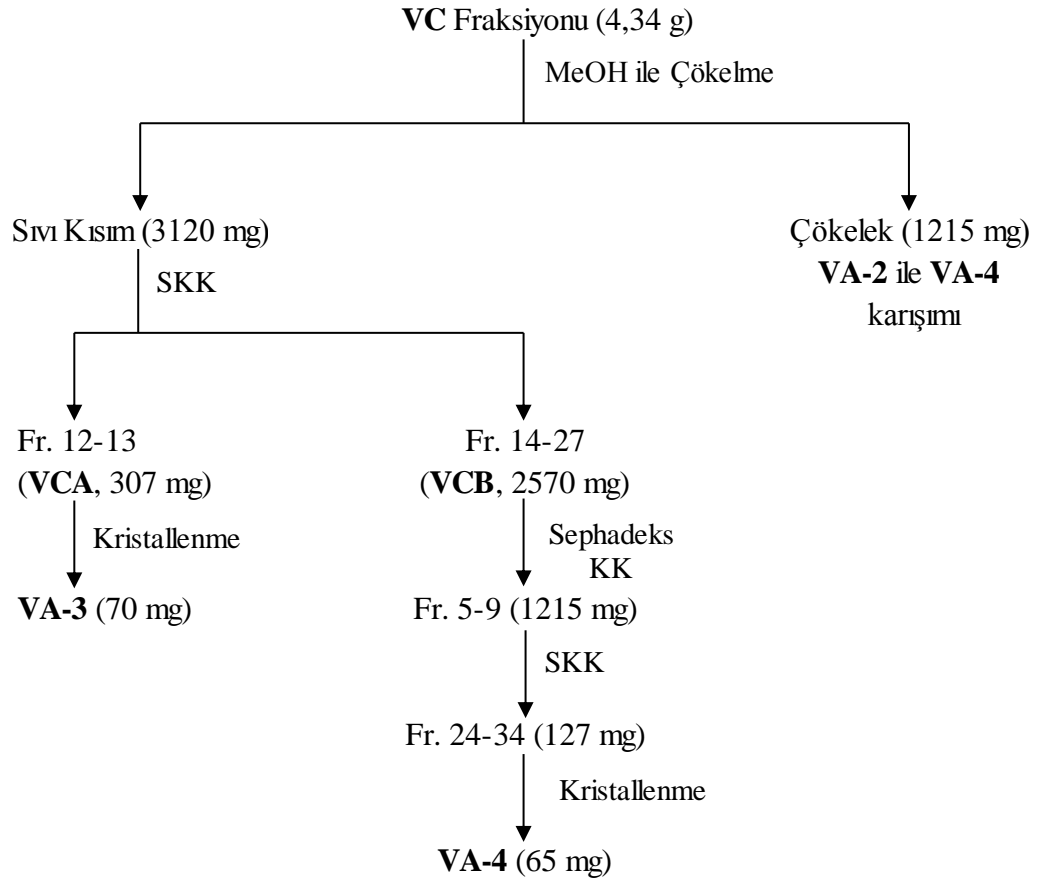


Şekil 3.1. VB fraksiyonundan maddelerin izolasyonu ve saflaştırılması

VC fraksiyonu üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar: VC fraksiyonunu (4.34 g) çözmek üzere üzerine metanol eklendi ve bu işlem sonrasında kabın dibinde metanolün çözemediği çökelek oluştu. Çökelek süzüldü (1215 mg), metanol üzerinden yıkandı ve daha sonra üzerinde çalışmak üzere bekletildi. Metanolde çözünen kısım (3120 mg) yoğunlaştırıldı ve kloroform-hekzan (90:10) çözücü karışımı ile çözüldü. Sıvı kısmı SKK'ya tabi tutuldu. Bu amaçla 110 g silika jel (230:400 mesh) aynı çözücü sistemi ile süspansiyon haline getirildi ve kolona (2,5x51 cm) dolduruldu. Çözülmüş olan ekstre kolona tatbik edildi ve sonra kloroform-hekzan (90:10) çözücü sistemi ile elüe edildi. Fraksiyonlar 20 ml hacimler halinde toplandı ve toplanan fraksiyonlar İTK ile aynı çözücü sisteminde kontrol edildi. Aynı R_f değerli lekeleri bulunduran 12-13. fraksiyonlar **VCA** (307 mg) ve 14-27. fraksiyonlar **VCB** (2570 mg) olarak kodlandı (Şekil 3.2).

VCA fraksiyonu kloroform-metanol çözücü karışımı üzerinden -4°C bekletilerek kristallendirildi. Kristaller ayrıldıktan sonra metanol ile yıkandı. Vanilin/ H_2SO_4 reaktifi ile pembe renk veren kristallerin İTK ile kontrol edildiğinde saf olduğu gözlemlendi ve **VA-3** (70 mg) olarak kodlandı (Şekil 3.2).

VCB fraksiyonu kloroform ile çözüldükten sonra sephadex KK ile fraksiyonlara ayrıldı. Fraksiyonlar 15 ml hacimler halinde toplandı ve toplanan fraksiyonlar İTK ile değişik çözücü sistemlerinde kontrol edildi. Aynı R_f değerli lekeleri bulunduran 5-9. fraksiyonlar (1255 mg) yeniden SKK'ya tabi tutuldu. Bu amaçla, 63 g silika jel (230:400 mesh) kloroform-aseton (97:3) çözücü sisteminde süspansiyon haline getirildi ve kolona (1,8x66 cm) dolduruldu. Ekstre (1255 mg) kloroform-aseton (97:3) çözücü sisteminde çözüldükten sonra kolona tatbik edildi ve aynı sistemde elüsyon yapıldı. Fraksiyonlar 10 ml hacimler halinde toplandı. 24-34. fraksiyonlarda (127 mg) kristallenmenin olduğu gözlemlendi. Kristaller İTK ile kontrol edildiğinde saf olduğu ve görünür ışıkta, UV_{254} nm ve UV_{366} nm'de renk vermediği, vanilin/ H_2SO_4 reaktifi ile sarı renk verdiği tespit edildi. Saflaştırılan madde **VA-4** olarak kodlandı (65 mg). Şekil 3.3'de **VC** fraksiyonunun metanolde çözünmeyen kısmının (1215 mg) İTK ile kloroform-hekzan (90:10) çözücü sisteminde yapılan kontrolünde saf olmadığı, **VA-2** ve **VA-4** maddelerini içerdiği gözlemlendi.



Şekil 3.2. VC fraksiyonundan maddelerin izolasyonu ve saflaştırılması



Şekil 3.3. VC fraksiyonundan MeOH ile çöken kısmın İTK'da yürütülmesi¹

¹ Pembe leke VA-2'ye, sarı leke VA-4'e ait

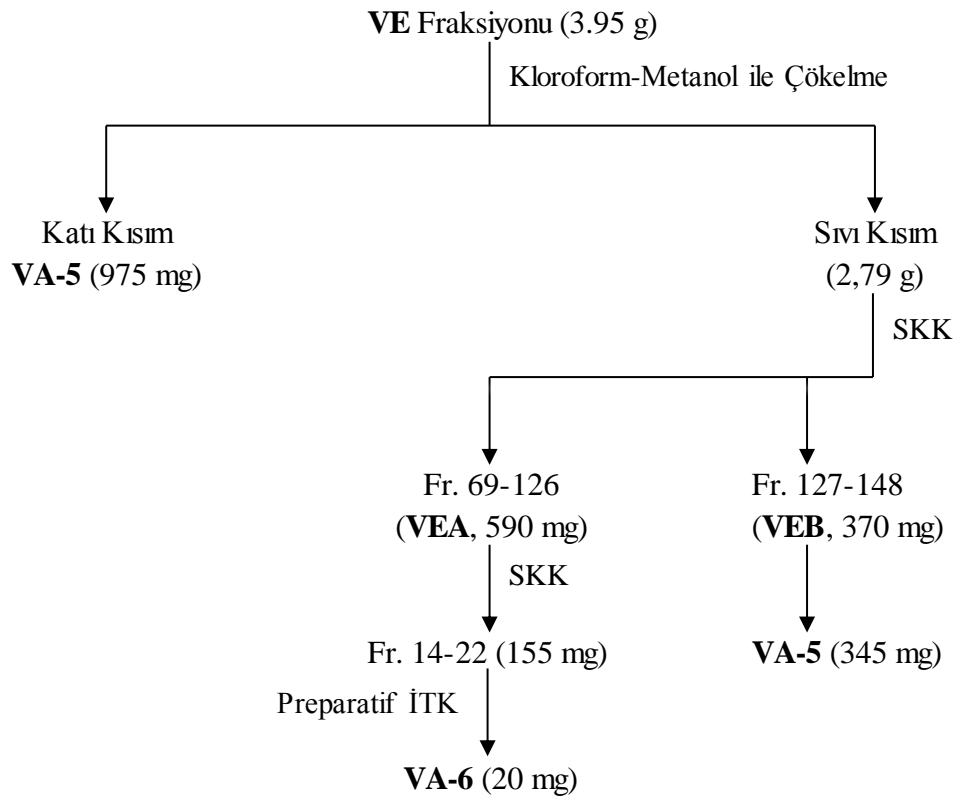
VD fraksiyonu üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar: 175 g silika jel (230-400 mesh), kloroform-aseton (98:2) sisteminde süspansiyon haline getirildikten sonra kolona (3,2x52 cm) dolduruldu. **VD** fraksiyonu (2,2 g) kloroform-aseton (98:2) çözücü sisteminde çözülerek kolona tatbik edildi ve aynı sistemde elüsyona devam edildi. Fraksiyonlar 25 ml hacimler halinde toplanırken İTK ile değişik çözücü sistemlerinde kontrol edildi. Aynı R_f değerli lekeleri içeren 33-57. fraksiyonların (400 mg) daha önce saflaştırılan **VA-4** maddesini içerdiği belirlendi. Bu fraksiyonların bekletilmesi esnasında kristallenen **VA-4** maddesi temiz bir şekilde karışımdan ayrıldı (170 mg).

VE fraksiyonu üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar: **VE** fraksiyonuna (3,95 g) bu fraksiyonu çözmek üzere kloroform-metanol (95:5) çözücü karışımı eklendiğinde balonun dibinde ve kenarlarında açık kahverengimsi renkte amorf bir maddenin çözünmediği gözlemlendi. Karışım süzüldü ve katı kısım metanol üzerinden yıkandı. Katı madde İTK ile kloroform-metanol (80:20) çözücü sisteminde kontrol edildi ve saf olduğu belirlendi. Saflaştırılan yeni madde **VA-5** olarak kodlandı (975 mg). **VA-5** maddesinin görünür ışıkta açık kahverengimsi, UV_{254} nm'de mor renkli, UV_{366} nm'de renksiz ve vanilin/ H_2SO_4 reaktifi ile kiremit renginde olduğu tespit edildi. Sıvı kısım (2,7 g) İTK ile kontrol edildiğinde majör **VA-5** maddesini içerdiği gözlemlendi. **VA-5** miktarını artırmak üzere sıvı kısım SKK'ya tabi tutuldu.

Bu amaçla 170 g silika jel (230-400 mesh) kloroform-metanol (95:5) çözücü sistemi ile süspansiyon haline getirildikten sonra kolona (3,2x50 cm) tatbik edildi. Ekstre (2,7 g) aynı çözücü sisteminde çözülerek kolona eklendi ve kloroform-metanol (95:5) çözücü sistemi ile elüsyona devam edildi. Fraksiyonlar 20 ml hacimler halinde toplandı ve İTK ile yapılan kontrolde 69-126. fraksiyonlar **VEA** (590 mg), 127-148. fraksiyonlar **VEB** (370 mg) olarak kodlandı. **VEA** fraksiyonunu yeniden elüe etmek için 100 g silika jel (230-400 mesh) kloroform-metanol (90:10) çözücü sisteminde süspansiyon haline getirildi ve kolona (2,6x75 cm) yüklendi. **VEA** ekstresi (590 mg) 1 g silika jele emdirildikten sonra kuru tatbikle kolona eklendi. Elüsyon işlemi kloroform-metanol (90:10; 80:20) ile yapıldı ve fraksiyonlar 10 ml hacimlerle toplandı. İTK ile yapılan kontrolde 14-22. fraksiyonlarda (155 mg) majör bir maddenin olduğu belirlendi. Bu

maddeyi almak üzere kloroform:aseton (70:30) çözücü sisteminde preparatif İTK yapıldı. Başarılı bir şekilde saflaştırılan bu maddenin görünür ışıkta açık kahverengimsi, UV₂₅₄ nm'de mor renkli, UV₃₆₆ nm'de renksiz ve vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile kırmızı renge dönüştüğü belirlendi ve **VA-6** (20 mg) olarak kodlandı (Şekil 3.4).

VEB fraksiyonunu (370 mg) bekletme esnasında fraksiyonda katılaştıran madde ayrıldı ve bu maddenin **VA-5** (345 mg) olduğu belirlendi (Şekil 3.4).



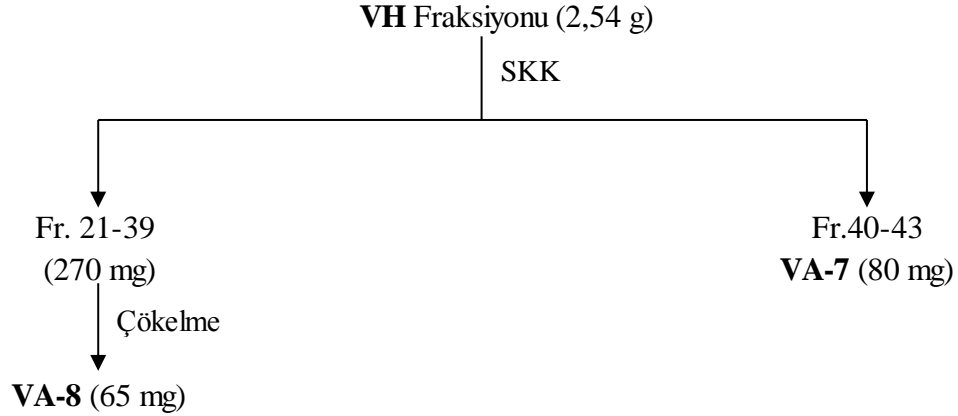
Şekil 3.4. VE fraksiyonundan maddelerin izolasyonu ve saflaştırılması

VF fraksiyonu üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar: VF fraksiyonunu (4,15 g) yeniden fraksiyonlamak için 160 g silika jel (230-400 mesh) kloroform-metanol (90:10) çözücü sisteminde süspansiyon haline getirildi ve kolona (2,6x75 cm) yüklendi. Elüsyon işlemi kloroform-metanol (90:10) ile yapıldı ve fraksiyonlar 20 ml hacimlerle toplandı. İTK ile yapılan kontrolde 28-46. fraksiyonlarda saf bir maddenin daha önce saflaştırılan **VA-5** (100 mg) ile aynı madde olduğu anlaşıldı. Sonraki fraksiyonlardan

54-63. fraksiyonların İTK ile yapılan kontrolünde, görünür ışıkta kahverengi, UV₂₅₄ nm de mor renkli, UV₃₆₆ nm de parlak beyaz renk veren ve vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile kırmızı renge dönüşen saf bir madde içerdiği belirlendi. Fraksiyonlar birleştirildi, tartıldı (1,3 g) ve **VA-7** olarak kodlandı.

VG fraksiyonu üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar: VG fraksiyonunun İTK ile yapılan kontrolünde yüksek oranda **VA-7** maddesi içerdiği tespit edildi. Bu maddenin miktarını artırmak için VG fraksiyonu kloroform-metanol (90:10) çözücü sistemi kullanılarak SKK'ya tabi tutuldu ve 460 mg **VA-7** saflaştırıldı.

VH fraksiyonu üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar: Silika jel (100 g, 230-400 mesh) kloroform-metanol (90:10) çözücü sisteminde süspansiyon haline getirildikten sonra 2,3x60 cm ebatlarındaki kolona dolduruldu. **VH** fraksiyonunun (2,54 g) elüsyonuna kloroform-metanol (90:10) sistemi ile başlandı ve metanolün artan oranlarıyla (80:20, 70:30) devam edildi. Fraksiyonlar 25 ml hacimler halinde toplandı. Toplanan fraksiyonlar İTK ile kontrol edildi ve 21-39. fraksiyonların (270 mg) görünür ışıkta, UV₃₆₆ nm ve UV₂₅₄ nm'de renksiz, vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile mor renk veren bir majör madde ihtiva ettiği gözlemlendi. Bu fraksiyonun bekletilmesi esnasında majör maddenin çöktüğü gözlemlendi. Çökelek sıvı kısımdan ayrıldı ve İTK ile kontrol edildiğinde saf olduğu görüldü. Madde **VA-8** (65 mg) olarak kodlandı. Aynı SKK'nın 40-43. fraksiyonlarının ise İTK ile yapılan kontrolde **VA-7** (80 mg) maddesini saf olarak içerdiği gözlemlendi. Fraksiyonlar birleştirildi ve önceki saflaştırılan **VA-7** maddesinin üzerine eklendi (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. VH fraksiyonundan maddelerin izolasyonu ve saflaştırılması

VI fraksiyonu üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar: Kloroform-metanol (80:20) çözücü sisteminde süspansiyon haline getirilen silika jel (175 g, 230-400 mesh) 2,8x69 cm ebatlarındaki kolona dolduruldu. VI fraksiyonu aynı sistemde çözüldükten sonra yine aynı çözücü sistemi ile elüsyona başlandı ve metanolün artan oranlarıyla (80:20, 70:30, 60:40) devam edildi. Fraksiyonlar 25 ml hacimler halinde toplandı ve toplanan fraksiyonlar İTK ile kontrol edildi. Aynı R_f değerli lekeleri bulduran 14-22. fraksiyonlar (880 mg) **VIA**, 34-43. fraksiyonlar (730 mg) **VIB**, 44-60. fraksiyonlar (1550 mg) **VIC** ve 61-92. fraksiyonlar (2070 mg) **VID** olarak kodlandı.

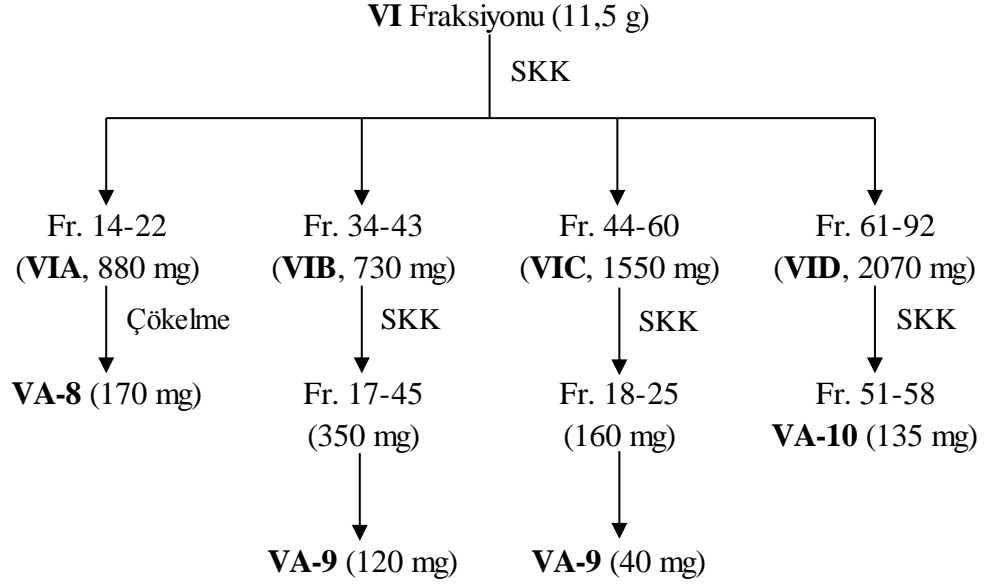
VIA fraksiyonunda bekletilme esnasında kendiliğinden çökme olduğu gözlemlendi. Çöken kısım süzülerek ayrıldı ve metanol üzerinden yıkandı. İTK ile kontrol edildiğinde maddenin saf olduğu (170 mg) ve daha önce saflaştırılan **VA-8** ile aynı madde olduğu anlaşıldı. Madde daha önce saflaştırılan **VA-8** fraksiyonu ile birleştirildi.

VIB fraksiyonundaki maddeleri saflaştırmak üzere, 64 g silika jel (230-400 mesh) kloroform-metanol (80:20) sisteminde süspansiyon haline getirilerek 3x25 cm ebatlarındaki kolona dolduruldu. **VIB** fraksiyonu aynı sistemde çözülerek kolona tatbik edildi ve kloroform-metanol (80:20) ile elüe edildi. Fraksiyonlar 10 ml hacimlerle toplandı ve İTK ile kontrol edildi. Aynı R_f değerli lekeleri ihtiva eden 17-45. fraksiyonlar (350 mg) birleştirildi. Birleştirilen fraksiyona aseton eklenince bir çökmenin olduğu gözlemlendi. Çöken kısım ayrıldı ve İTK ile kontrol edildiğinde saf bir

madde olduğu görüldü. Görünür ışıhta, UV_{366} nm ve UV_{254} nm'de renksiz, vanilin/ H_2SO_4 reaktifi ile sarı renk veren madde **VA-9** olarak kodlandı (120 mg).

VIC fraksiyonundaki maddeleri ayırmak üzere, 70 g silika jel (230-400 mesh) kloroform-metanol (75:25) ile süspansiyon haline getirilerek 3x31 cm ebatlarındaki kolona dolduruldu. Elüsyon kloroform-metanol (75:25) sistemi ile yapıldı ve fraksiyonlar 10 ml hacimler halinde toplandı. İTK ile yapılan kontrolde aynı R_f değerli lekeleri bulunduran 18-25. fraksiyonlar (160 mg) birleştirildi. Bu fraksiyonun da madde özellikleri ve R_f değerine göre **VA-9** olduğu tahmin edildi. Benzer şekilde fraksiyon üzerine aseton eklendiğinde bir çökmenin meydana geldiği gözlemlendi. Çökelek ayrıldı (40 mg) ve **VA-9** ile aynı madde olduğu anlaşıldıktan sonra daha önce saflaştırılan maddenin üzerine eklendi.

VID fraksiyonunu ayırmak için, 80 g silika jel (230-400 mesh mesh) kloroform-metanol (70:30) sisteminde süspansiyon haline getirildi ve sonra 3x32 cm ebatlarındaki kolona dolduruldu. Elüsyon kloroform-metanol (70:30 ve 60:40) sistemiyle yapıldı ve fraksiyonlar 10 ml hacimler halinde toplandı. Toplanan fraksiyonlar İTK ile kontrol edildi ve aynı R_f değerli lekeleri bulunduran 51-58. fraksiyonların saf bir madde içerdiği tespit edildi. Görünür ışıhta ve UV_{366} nm'de renksiz, UV_{254} nm'de mor renkli ve vanilin/ H_2SO_4 reaktifi ile kırmızı renk veren madde **VA-10** (135 mg) olarak kodlandı (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. VI fraksiyonundan maddelerin izolasyonu ve saflaştırılması

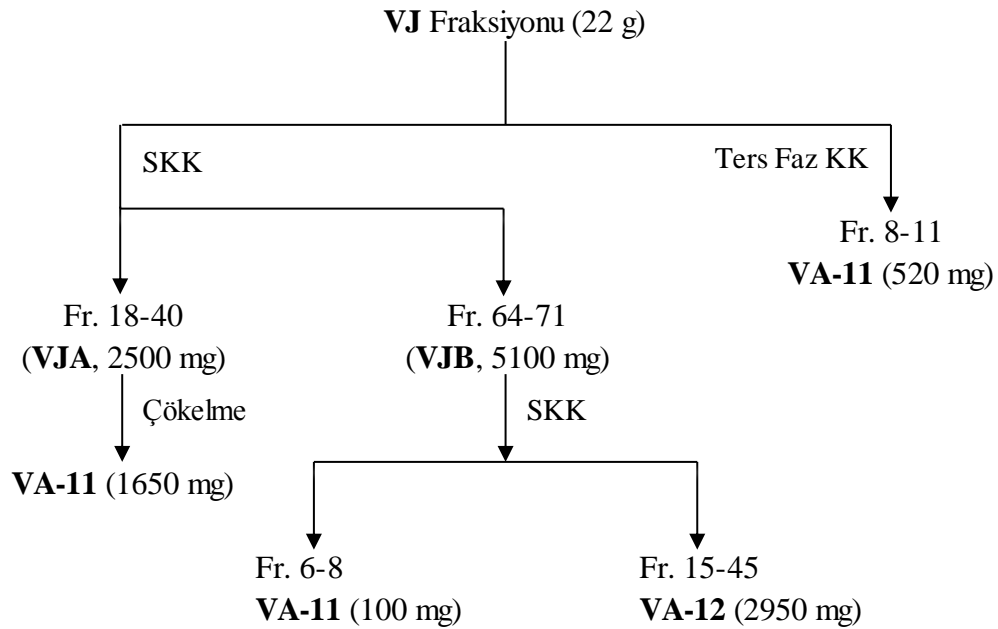
VJ fraksiyonu üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar: VJ fraksiyonundaki maddeleri saflaştırmak üzere 160 g silika jel (230-400 mesh) kloroform-metanol (90:10) sisteminde süspansiyon haline getirildi ve sonra 2,2x100 cm ebatlarındaki kolona dolduruldu. Kolona kloroform-metanol (90:10) elüent sistemi ile başlandı ve metanolün artan oranlarıyla (80:20, 70:30, 60:40, 50:50) devam edildi. Fraksiyonlar 20 ml hacimler halinde toplandı, İTK ile kontrol edildi ve aynı lekeleri içeren 18-40. fraksiyonların (2500 mg) **VJA**, 64-71. fraksiyonlar **VJB** (5100 mg) olarak kodlandı (Şekil 3.7).

VJA fraksiyonu üzerine aseton eklenip bekletildiğinde çökme meydana geldi. Çöken kısım ayrıldı ve metanol ile yıkandı ve İTK ile kontrol edildiğinde saf olduğu görüldü. Görünür ışıkta ve UV₃₆₆ nm de renksiz, UV₂₅₄ nm de mor renkli olan ve vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile yeşil renk veren madde **VA-11** (1,65 g) olarak kodlandı (Şekil 3.7).

VJB fraksiyonunu elüe etmek için, 90 g silika jel 60 (230-400 mesh) kloroform-metanol (60:40) sisteminde süspansiyon haline getirildikten sonra 3x39 cm ebatlarındaki kolona dolduruldu. Elüsyon kloroform-metanol (60:40) sistemiyle yapıldı ve fraksiyonlar 15 ml hacimler halinde toplandı. İTK ile yapılan kontrolde 6-8. fraksiyonların (100 mg) daha

önce saflaştırılan **VA-11** kodlu madde ile aynı madde olduğu anlaşıldı. İTK ile yapılan kontrolde 15-45. fraksiyonların (2,95 g) görünür ışıktaki, UV_{366} nm ve UV_{254} nm de renksiz olan ve vanilin/ H_2SO_4 reaktifi ile siyahımsı bir renk veren saf bir madde içerdiği gözlemlendi. Yeni saflaştırılan madde **VA-12** (2,95 g) olarak kodlandı (Şekil 3.7).

Ayrıca **VJ** fraksiyonunun 2 g'lık kısmı ters faz kromatografisi ile elüe edildi. Bu amaçla ters faz kolonu (3,5x18 cm) 300 ml metanol ile pompa açılarak yıkandı. 100 ml distile su-metanol (90:10) sistemi ile kolon şartlandırıldıktan sonra **VJ** aynı sistemle çalkalandı ve kolona tatbik edildi. Elüsyona 100 ml distile su-metanol (90:10) sistemiyle başlandı ve metanolün artan oranlarıyla (80:20, 70:30, ..., 20:80, 0:100) devam edildi. Fraksiyonlar 100 ml hacimler halinde toplandı, İTK ile kontrol edildi ve 8-11. fraksiyonların (520 mg) saf olarak daha önce saflaştırılan **VA-11** maddesini içerdiği tespit edildi (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. VJ fraksiyonundan maddelerin izolasyonu ve saflaştırılması

3.2.2. NH₄OH-benzen ile ekstraksiyon ve kromatografik çalışmalar

3.2.2.a. Ekstraksiyon

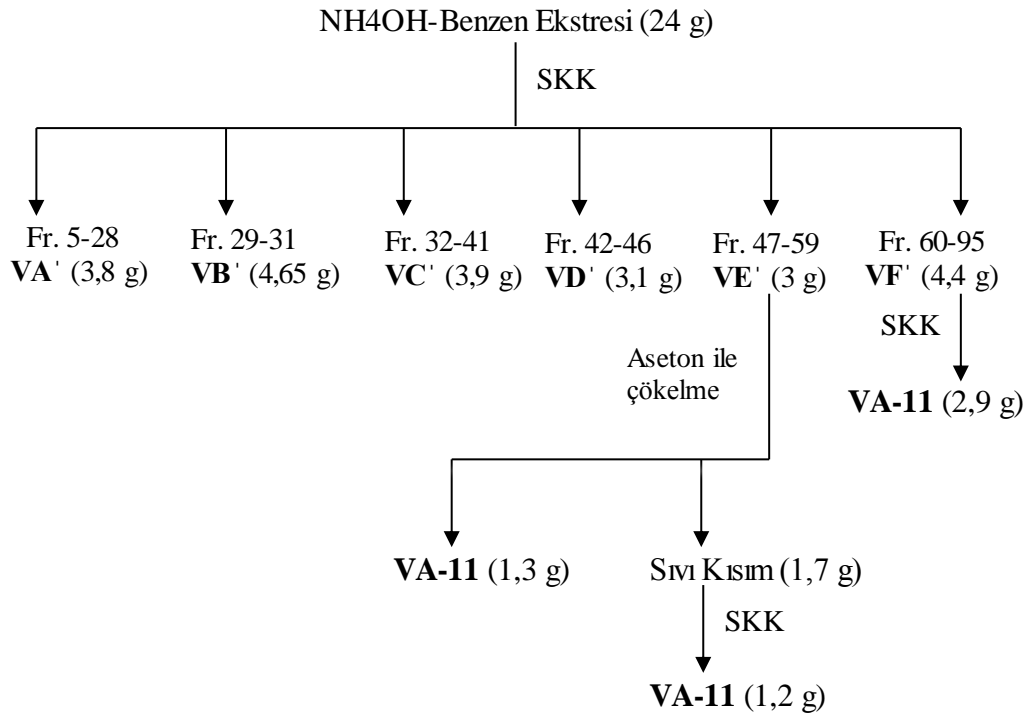
Veratrum album'un toprak altı kısımları doğrudan güneşe maruz bırakılmadan gölgede kurutulduktan sonra blenderde öğütüldü. Öğütülen materyal (1300 g) %7,5 (3,4 mol) seyreltilmiş NH₄OH ile muamele edildikten sonra benzen (5L) ile 40°C sıcaklıkta geri soğutucuda ekstrakte edildi. Ekstre süzüldü ve süzüntü 50°C sıcaklıkta ve düşük basınçta döner buharlaştırıcı ile yoğunlaştırıldı. Bu işlemin sonunda 24 g ekstre elde edildi.

3.2.2.b. NH₄OH-benzen ekstresi üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar

Benzen ekstresi önce kloroformda çözülerek İTK ile kloroform, kloroform-metanol (95:5) ve kloroform-metanol (90:10) çözücü sistemlerinde yürütüldü ve UV₂₅₄, UV₃₆₆ nm ve vanilin/H₂SO₄ revalatörü ile kontrol edildi. Bu işlemin amacı İTK'da, SKK'da uygun çözücü sistemlerini belirlemektir. Uygun elüent sistemleri belirlendikten sonra benzen ekstresini fraksiyonlarına ayırmak üzere, 350 g silika jel 60 (70-230 mesh) kloroform ile süspansiyon haline getirildi ve 3,6x74 cm ebatlarındaki kolona dolduruldu. Benzen ekstresi (24 g) kloroformda çözüldü ve kolona tatbik edildi. Elüsyona kloroform ile başlandı ve kloroform-metanol (95:5) sistemiyle devam edildi. Fraksiyonlar 25 ml hacimler halinde toplandı, İTK ile kontrol edildi ve aynı R_f değerli lekeleri içeren fraksiyonlar birleştirildi. Böylece 5-28. fraksiyonlar **VA'** (3,8 g), 29-31. fraksiyonlar **VB'** (4,65 g), 32-41. fraksiyonlar **VC'** (3,9 g), 42-46. fraksiyonlar **VD'** (3,1 g), 47-59. fraksiyonlar **VE'** (3 g), 60-95. fraksiyonlar **VF'** (4,4 g) olarak kodlandı. Bu fraksiyonlardan **VE'** ile **VF'** fraksiyonları üzerinde yapılan çalışmalarda olumlu sonuçlar alınırken, **VB'**, **VC'** ve **VD'** fraksiyonları üzerinde yapılan çalışmalarda madde saflaştırılmadı. **VA'** fraksiyonunun ise, düşük polaritelerde ve çok sayıda bileşik ihtiva ettiği için, üzerinde kromatografik çalışmalar yapılmadı (Şekil 3.8).

VE' fraksiyonu üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar: VE' fraksiyonunu (3 g) çözmek üzere üzerine aseton eklendiğinde çökme meydana geldi. Çöken kısım sıvı kısımdan ayrıldıktan sonra metanol ile yıkandı ve İTK ile kontrol edildi. İTK'da tek leke olduğu tespit edilen maddenin daha önce saflaştırılan VA-11 kodlu madde ile R_f değerleri mukayese edildi. Mukayese sonucu saflaştırılan maddenin VA-11 olduğu anlaşıldı (1,3 g). Çöken kısım ayrıldıktan sonra geriye kalan sıvı kısmında majör olarak VA-11 maddesini içerdiği, yapılan İTK ile anlaşıldı. VA-11 miktarını artırmak üzere sıvı kısım (1,7 g) yeniden kloroform-metanol (90:10) çözücü sistemiyle SKK yapıldı ve 1,2 g VA-11 saflaştırıldı (Şekil 3.8).

VF' fraksiyonu üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar: VF' fraksiyonu (4,4 g) İTK ile yapılan kontrolünde VE' fraksiyonu gibi majör olarak VA-11 maddesini içerdiği gözlemlendi. VE' fraksiyonu için yapılan işlemlerin tümü VF' fraksiyonu içinde yapıldı ve işlemin sonunda 2,9 g VA-11 maddesi saflaştırıldı (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. NH₄OH-benzen ekstresinden maddelerin izolasyonu ve saflaştırılması

3.2.3. Kloroform ile ekstraksiyon ve üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar

3.2.3.a. Ekstraksiyon

Biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılacak madde miktarını artırmak için *Veratrum album*'un toprak altı kısımları gölgede kurutulduktan sonra blenderde öğütülüp elendi. Öğütülmüş bitkiden 2150 g alındı ve kloroform ile (5x4L) oda sıcaklığında, 48 saat bekletilerek ekstrakte edildi. Ekstre, 50°C sıcaklıkta ve düşük basınçta döner buharlaştırıcıda konsantre hale getirildi ve tartıldı (30 g).

3.2.3.b. Kloroform ekstresi üzerinde kromatografik çalışmalar

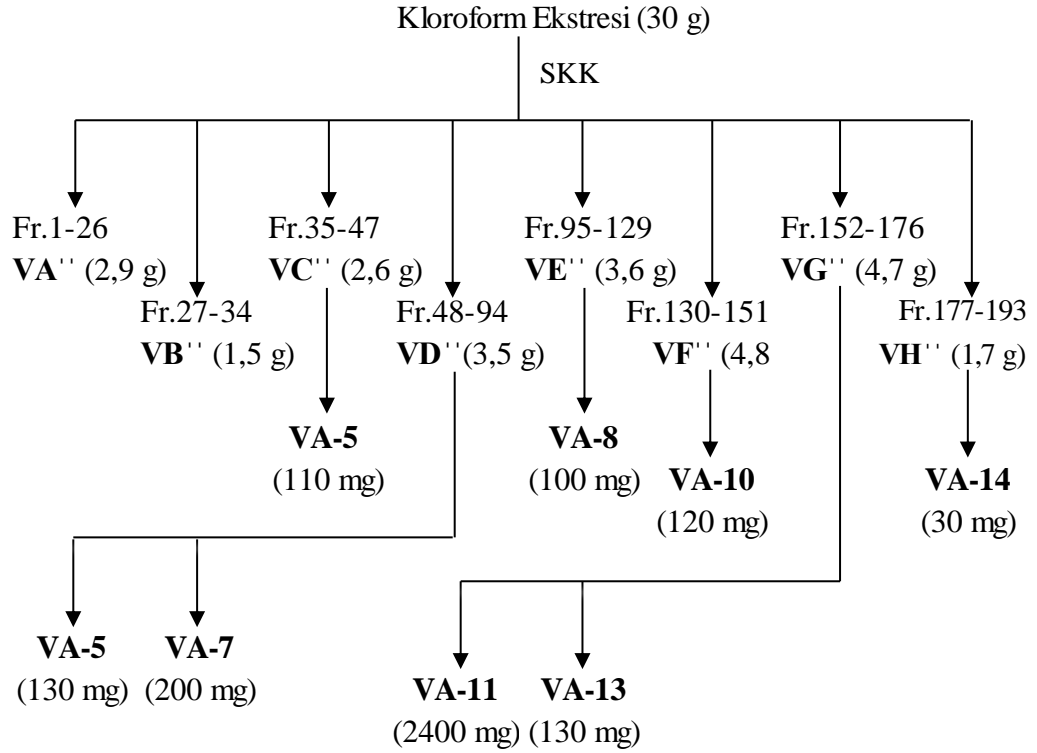
Kloroform ekstresini fraksiyonlara ayırmak için 365 g silika jel 60 (70-230 mesh) CH₂Cl₂-etil asetat (80:20) çözücü sisteminde süspansiyon haline getirilerek kolon (3,6x80 cm) hazırlandı ve CH₂Cl₂-etil asetat (80:20, 70:30,, 0:100) ve etil asetat-metanol (90:10, 80:20, 60:40, 40:60, 50:50) ile elüe edildi. Fraksiyonlar 50 ml hacimler halinde toplandı ve İTK'da kontrol edildi. Aynı R_f değerli lekeleri bulduran 1-26. fraksiyonlar **VA''** (2,9 g), 27-34. fraksiyonlar **VB''** (1,5 g), 35-47. fraksiyonlar **VC''** (2,6 g), 48-94. fraksiyonlar **VD''** (3,5 g), 95-129. fraksiyonlar **VE''** (3,6 g), 130-151. fraksiyonlar **VF''** (4,8 g), 152-176. fraksiyonlar **VG''** (4,7 g), 177-193. fraksiyonlar **VH''** (1,7 g) olarak kodlandı.

Bu fraksiyonlardan **VA''** ile **VB''** üzerinde kromatografik çalışmalar yapılmadı. **VC''** fraksiyonu üzerinde yapılan SKK çalışmalarından **VA-5** (110 mg); **VD''** fraksiyonu üzerinde yapılan SKK çalışmalarında **VA-5** (130 mg) ve **VA-7** (200 mg); **VE''** fraksiyonu üzerinde yapılan SKK çalışmalarında **VA-8** (100 mg); **VF''** fraksiyonu üzerinde yapılan KK çalışmalarında **VA-10** (120 mg) kodlu maddeler izole edildi (Şekil 3.9).

VG'' fraksiyonunu SKK ile fraksiyonlara ayırmak amacıyla 120 g silika jel (230-400 mesh) kloroform-metanol (90:10) çözücü sisteminde süspansiyon haline getirildikten

sonra kolona (3x45 cm) dolduruldu. Kuru tatbikle **VG''** fraksiyonunu kolona yüklemek için **VG''** fraksiyonu 5 g silika jele emdirildi ve kolona tatbik edildi. Fraksiyonlar 15 ml hacimler halinde toplandı ve İTK'da kontrol edildi. Aynı R_f değerli lekeleri bulunduran 14-49. fraksiyonlarda daha önce izole edilen **VA-11** maddesinin olduğu gözlemlendi (2400 mg). Aynı kolonun 115-116. fraksiyonlarında majör bir madde tespit edildi. Aseton üzerinden yıkandıktan sonra temiz bir şekilde alınan bu maddenin görünür ışıkta beyaz, UV_{254} nm de mor, vanilin/ H_2SO_4 revelatörü ile yeşil renkli ve UV_{366} nm de renksiz olduğu belirlendikten sonra, madde **VA-13** (130 mg) olarak kodlandı (Şekil 3.9).

VH'' fraksiyonundaki maddeleri saflaştırmak üzere 90 g silika jel (230-400 mesh) $CH_2Cl_2-CH_3OH$ (85:15) çözücü sisteminde süspansiyon haline getirildi ve kolona (3x33 cm)dolduruldu. **VH''** fraksiyonu (1,7 g) kolona tatbik edildi ve $CH_2Cl_2-CH_3OH$ (85:15) ile elüe edildi. Fraksiyonlar 10 ml hacimler halinde toplandı ve İTK'da kontrol edildi. Aynı R_f değerli lekeleri bulunduran 50-56. fraksiyonlarda bekletilme esnasında kendiliğinden çökme oldu. Çöken kısım süzüldü, aseton üzerinden yıkandı ve İTK'da yapılan kontrolünde saf olduğu görüldü. Görünür ışıkta beyazımsı, UV_{254} nm de mor, vanilin/ H_2SO_4 revelatörü ile yeşil renkli ve UV_{366} nm de renksiz olan bu madde **VA-14** (30 mg) olarak kodlandı (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Kloroform ekstresindeki maddelerin izolasyonu ve saflaştırılması

3.2.4. Etanol ile ekstraksiyon ve kromatografik çalışmalar

3.2.4.a. Ekstraksiyon ve izolasyon

Veratrum türlerinden oldukça polar yapılı protoveratrin A ve protoveratrin B maddelerinin izole edildiği daha önce yapılan çalışmalarda rapor edilmişti. Mevcut çalışmada bu maddeleri saflaştırmak ve insektisidal etkisini araştırmak hedeflerimizden birisiydi. Bu maddelerin rizomlardan etanol ile ekstrakte edilebileceği düşünüldü ve 200 g öğütülmüş rizom etanol ile (5x1L) oda sıcaklığında 24 saat bekletilerek tüketildi. Ekstreler süzülde ve 50°C sıcaklık ve düşük basınçta döner buharlaştırıcı ile konsantre hale (5 g) getirildi. Ekstre SKK ile fraksiyonlamak üzere metanol-kloroform karışımında çözüldü. Bekleme esnasında açık kahverengi bir maddenin kristallendiği görüldü. Kristaller ayrıldı ve aynı çözücü karışımı üzerinden yıkandı. İTK ile kloroform-metanol (75:25) sisteminde kontrol edildiğinde kristallerin saf olduğu belirlendi. Görünür ışıktta, UV₃₆₆ nm'de renksiz, UV₂₅₄ nm'de mor renkli ve

vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile koyu yeşil renk veren bu madde **VA-15** olarak kodlandı (70 mg). Bu ekstrenin geri kalan kısmı İTK'da kontrol edildiğinde bu maddenin dışında önemli bir madde içermediği tespit edildi ve bu nedenle üzerinde kromatografik çalışmalar yapılmadı.

3.2.5. İnsektisidal etkinin belirlenmesi

Veratrum album'dan elde edilen aseton, benzen ve kloroform ekstraları ve saf maddelerin *Leptinotarsa decemlineata*'ya (patates böceği) karşı insektisidal etkilerini belirlemek amacıyla deney materyali olarak patates böceğinin erginleri kullanıldı. Saflaştırılan tüm maddelerin miktarları biyolojik aktivite çalışmaları için yeterli düzeyde değildi. Bu nedenle sadece yeterli miktarda saflaştırılan **VA-2**, **VA-5**, **VA-7**, **VA-8** ve **VA-11** kodlu maddeler toksik etkileri için araştırılabilir. Ayrıca **VA-4** kodlu madde saf halde yeterli miktarda izole edilmediği için bunun yerine **VA-2** ve **VA-4** karışımı kullanıldı.

Deneylerde kullanılan böceklerin hazırlanması: Deneylerde kullanılan patates böceğinin erginleri erkek ve dişi ayırt etmeksizin rastgele 10 üyeli gruplar halinde petri kaplarına konuldu. Petri kaplarına böceklerin beslenmesi için ilaçlanmamış taze patates yaprakları ilave edildi.

Deneylerde kullanılan solüsyonların hazırlanması: Her maddenin 3 dozda solüsyonu hazırlandı. 1. dozda 50 mg, 2. dozda 100 mg ve 3. dozda 200 mg madde ile 50 mg CMC, 4 ml saf su ve 1 ml DMSO süspansiyon haline getirildi. Böylece 10, 20 ve 40 mg/ml konsantrasyonlarda solüsyon hazırlanmış oldu.

Solüsyonların böceklere uygulanması: Hazırlanan süspansiyondan 1 ml alınarak tüm böcekleri ıslatacak şekilde her petriye sprey edildi. Tüm doz uygulamaları paralel 3 tekerrür halinde gerçekleştirildi. Uygulama yapıldıktan sonra petri kaplarının etrafı parafilm ile kapatıldı. Her 12 saatte yaşayan böcekler sayıldı ve kaydedildi. Uygulama 96 saatte sona erdirildi.

Maddelerin toksik etkilerinin belirlenmesi: Bilgisayarda SPSS 16.00 istatistik veri paketi kullanılarak, verilerin karşılaştırılmasında “Varyans Analiz” yöntemi, ortalamalar arası farkın kontrolünde ise “Duncan” testi uygulandı. İstatistiki veriler kullanılarak çizelge ve grafikler oluşturuldu. Ayrıca insektisit olarak kullanılan maddelerin toksik etkilerini belirlemek amacıyla Probit Analiz yöntemi kullanılarak 12. saatteki LD₅₀ değerleri belirlendi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Safılaştırılan Sekonder Metabolitlere Ait Deneysel Bulgular

4.1.1. İnce tabaka kromatografisi sonuçları

Veratrum album 'un aseton, benzen, kloroform ve etanol ekstrelerinden izole edilen 15 bileşğin ince tabaka kromatografisi ile değişik çözücü sistemlerinde belirlenen R_f değerleri Çizelge 4.1 de verilmiştir.

Çizelge 4.1. İzole edilen bileşiklerin farklı çözücü sistemlerindeki R_f değerleri

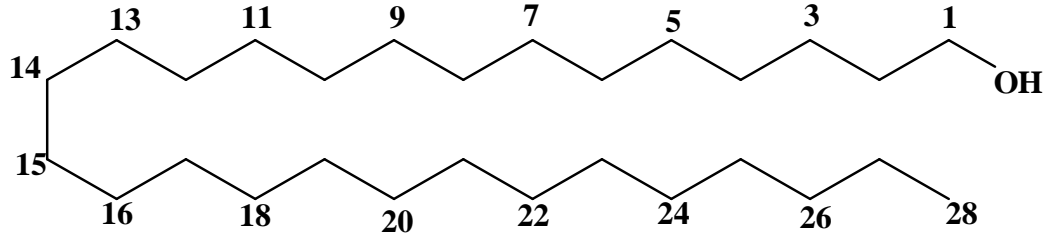
Bileşik	Çözücü Sistemi	R_f	Adsorban
VA-1	Metilen klorür-Hekzan (90:10)	0,30	Silika jel
	Etil asetat- Hekzan (95:5)	0,85	“
VA-2	Kloroform-aseton (95:5)	0,46	“
	Metilen klorür-Hekzan (90:10)	0,25	“
VA-3	Kloroform-metanol (98:2)	0,70	“
	Kloroform-aseton (97:3)	0,75	“
VA-4	Kloroform-aseton (95:5)	0,50	“
	Kloroform-aseton (97:3)	0,47	“
VA-5	Kloroform-metanol (90:10)	0,34	“
	Metilen klorür-aseton (70:30)	0,68	“
VA-6	Kloroform-metanol (90:10)	0,22	“
	Metilenklorür-aseton (70:30)	0,44	“
VA-7	Kloroform-metanol (85:15)	0,78	“
	Metilenklorür-aseton (50:50)	0,36	“
VA-8	Kloroform-metanol (85:15)	0,36	“
	Kloroform-aseton (50:50)	0,52	“
VA-9	Kloroform-metanol (85:15)	0,24	“
	Kloroform-metanol-etil asetat (70:25:5)	0,22	“
VA-10	Kloroform-metanol (85:15)	0,60	“
	Kloroform-metanol-etil asetat (70:25:5)	0,66	“
VA-11	Kloroform-metanol (90:10)	0,51	“
	Kloroform-metanol (80:20)	0,76	“
VA-12	Kloroform-asetik asit-MeOH(40:2:58)	0,62	“
	Kloroform-metanol (70:30)	0,32	“
VA-13	Kloroform-metanol (70:30)	0,46	“
	Kloroform-metanol-etil asetat (70:25:5)	0,24	“
VA-14	Metilenklorür-metanol (60:40)	0,50	“
	Kloroform-metanol (90:10)	0,47	“
VA-15	Metilenklorür-metanol (60:40)	0,32	“

4.2. Saflaştırılan Sekonder Metabolitlere Ait Spektral Bulgular

Bu bölümde *Veratrum album*'dan izole edilen 15 bileşiğin molekül yapılarını aydınlatmak üzere alınan IR, UV, MS ve NMR yöntemleri ile elde edilen spektral bulgular değerlendirilmiştir. Yapılan analizler neticesinde yapısı belirlenen bileşikler aşağıdaki gibidir.

VA-1	:	<i>n</i> -oktakosanol
VA-2	:	β -sitosterol
VA-3	:	stearik asit
VA-4	:	diosgenin
VA-5	:	resveratrol
VA-6	:	moracin J
VA-7	:	oksiresveratrol
VA-8	:	β -sitosterol 3- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit
VA-9	:	diosgenin 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit) (Dioscin'in Prosapogenin A'sı)
VA-10	:	oksiresveratrol 3- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit
VA-11	:	jervin
VA-13	:	pseudojervin (Jervin 3- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit)
VA-14	:	1-hidroksi 5,6-dihidro jervin
VA-15	:	sakkaroz

4.2.1. VA-1 kodlu bileşik



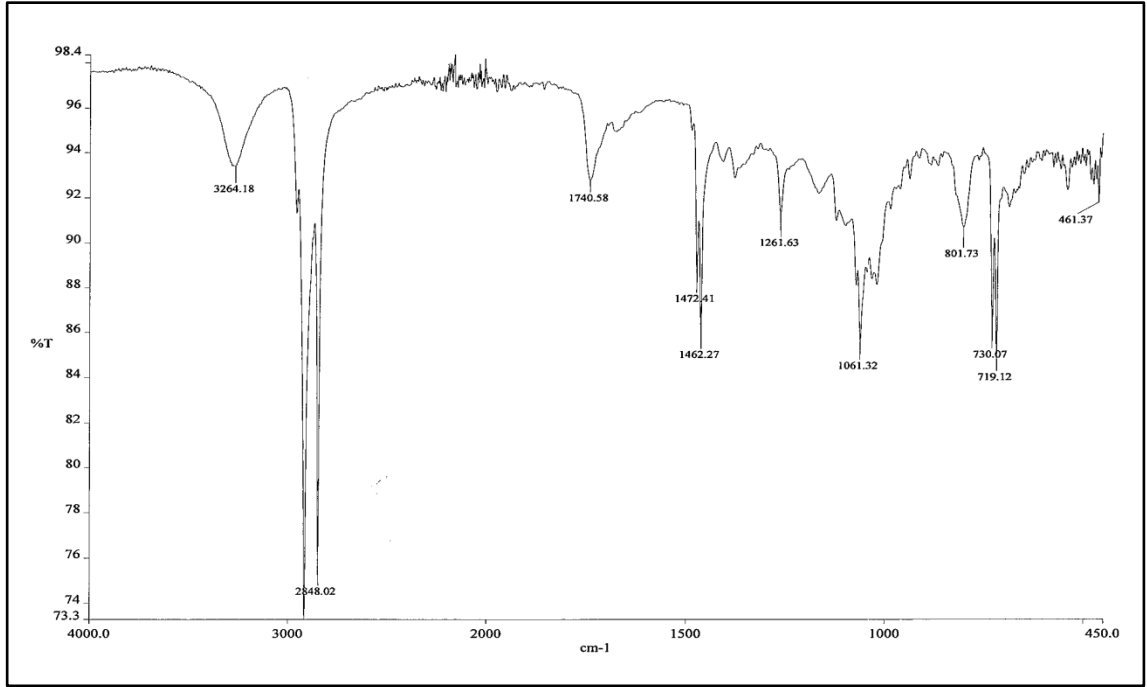
n-Oktakosanol; C₂₈H₅₈O; MA: 410 g/mol

VA-1 bileşiği küçük, beyaz iğnemsı kristaller halinde saflaştırıldı. İTK'da yürütüldüğünde görünür ışıktta, UV₂₅₄ nm ve UV₃₆₆ nm de renksiz olup, H₂SO₄-vanilin reaktifi (105°C) ile pembemsi bir renk vermektedir. Bileşiğin H₂SO₄-vanilin reaktifi ile pembemsi renk vermesi steroid veya terpenik yapılu bir madde olacağı düşüncesini bizde oluşturdu. Bileşik UV spektrumunda (λ_{\max} nm, CH₃Cl) 239 nm de maksimum absorbands gösterdi ve bileşiğin erime noktası 72-73°C olarak ölçüldü. Bileşiğin IR spektrumunda (Şekil 4.1) 2845-2920 cm⁻¹ aralığında gözlenen kuvvetli absorbands alifatik C-H titreşimlerine ait bantlardır (Erdik 1998; Fessenden and Fessenden 2001). Bu bantlar molekülde alifatik gruplarının fazla olduğunu göstermektedir. OH titreşim bandı absorbandsı ise 3264 cm⁻¹ de gözlenmiştir.

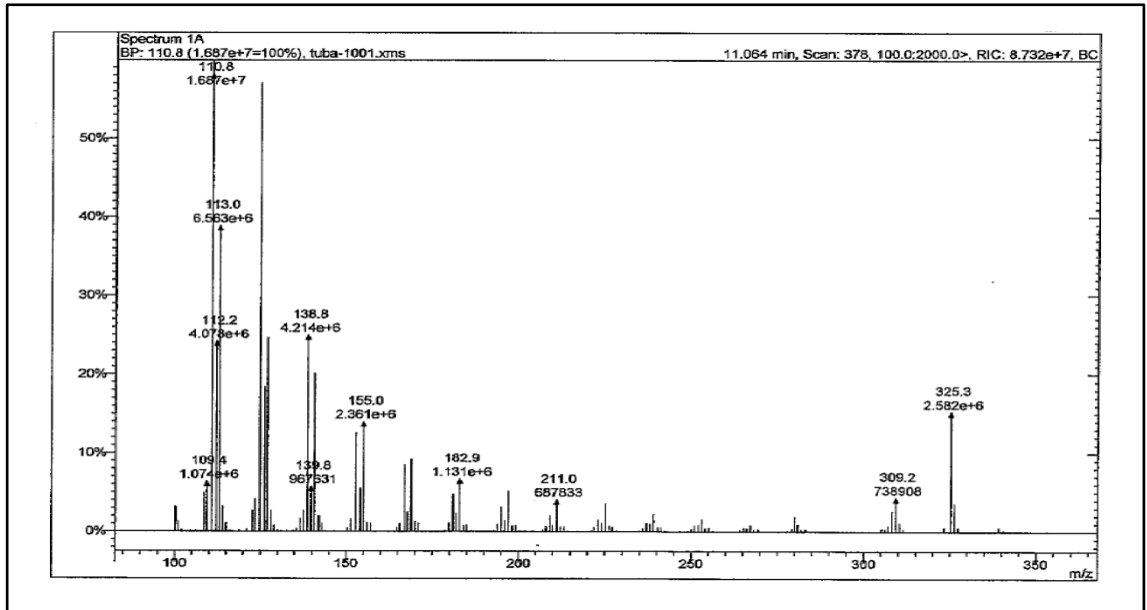
VA-1 bileşiğin kütle spektrumunda (Şekil 4.2) M⁺ piki gözlenememiştir. Bunun yanında düz zincirli alifatik alkollerin kütle spektrumuna benzer yarımla pikleri gözlenmiştir (Erdik 1998; Fessenden and Fessenden 2001; Adams 2007).

VA-1 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumundan (Şekil 4.3) bileşiğin uzun zincirli alifatik bir alkol olduğu anlaşıldı. Yapı ile uyumlu olarak 1 numaralı H atomları $\delta=3,63$ ppm'de triplet ($J=6,60$ Hz) vermiştir. En uçtaki CH₃ hidrojenlerine ait sinyal ise $\delta=0,84$ ppm'de triplet ($J=6,60$ Hz) olarak gözlenmiştir. Moleküldeki fazla sayıdaki CH₂ grubunun kimyasal kayma değerleri birbirine çok yakın olduğu için $\delta= 1,00 - 1,40$ ppm arasında şiddetli bir sinyal vermektedirler. İntegrasyon ile dört hidrojene ait olduğu anlaşılan 2 numaralı CH₂ protonları $\delta=1,33$ ppm'de pentet sinyali vermiştir. Hidrojenlerin

integrasyon oranları, sinyallerdeki yarılmalar ve kimyasal kayma değerlerinden molekülün yapısının *n*-oktakosanol olduğu belirlendi.



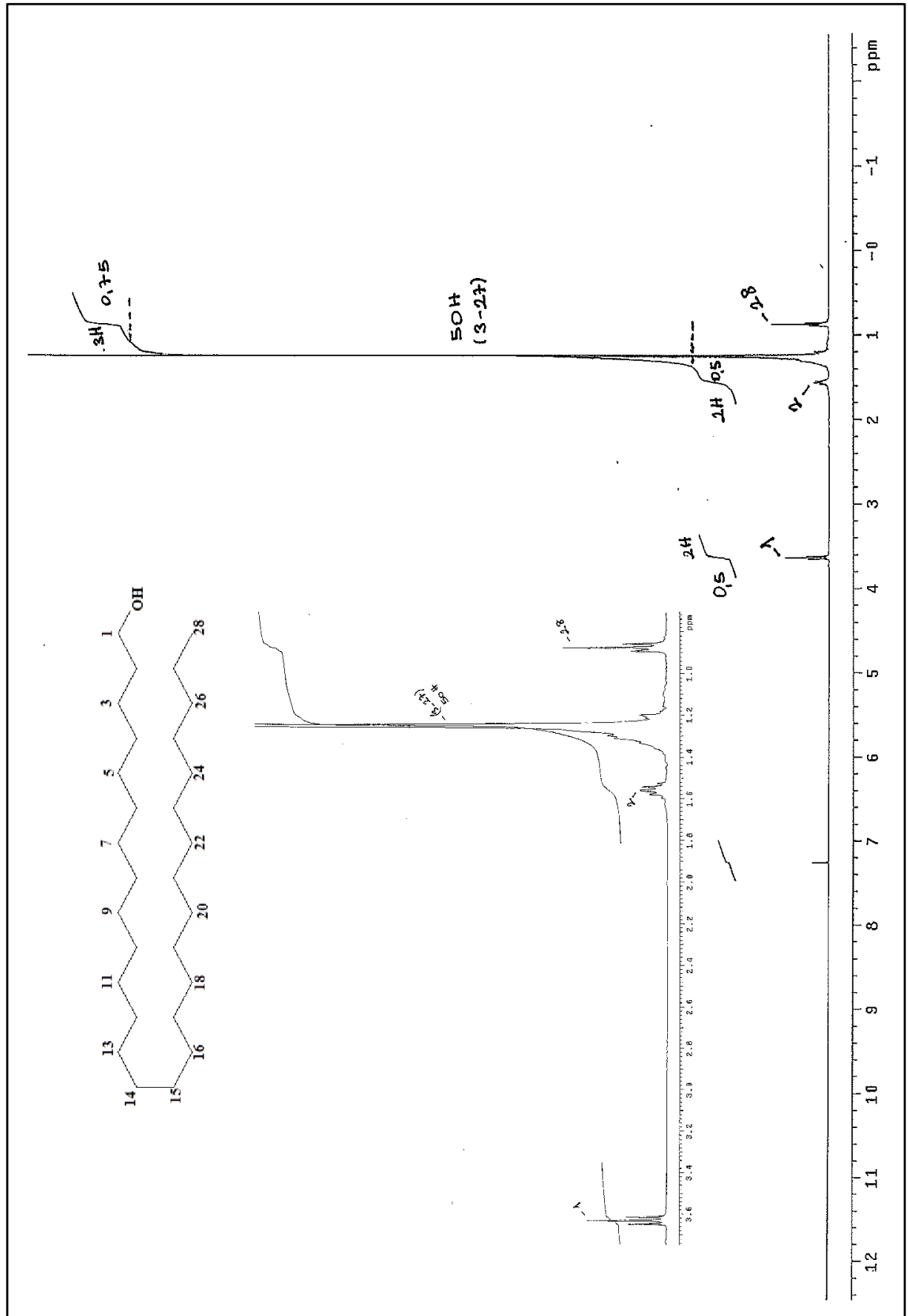
Şekil 4.1. VA-1'in (*n*-oktakosanol) IR Spektrumu



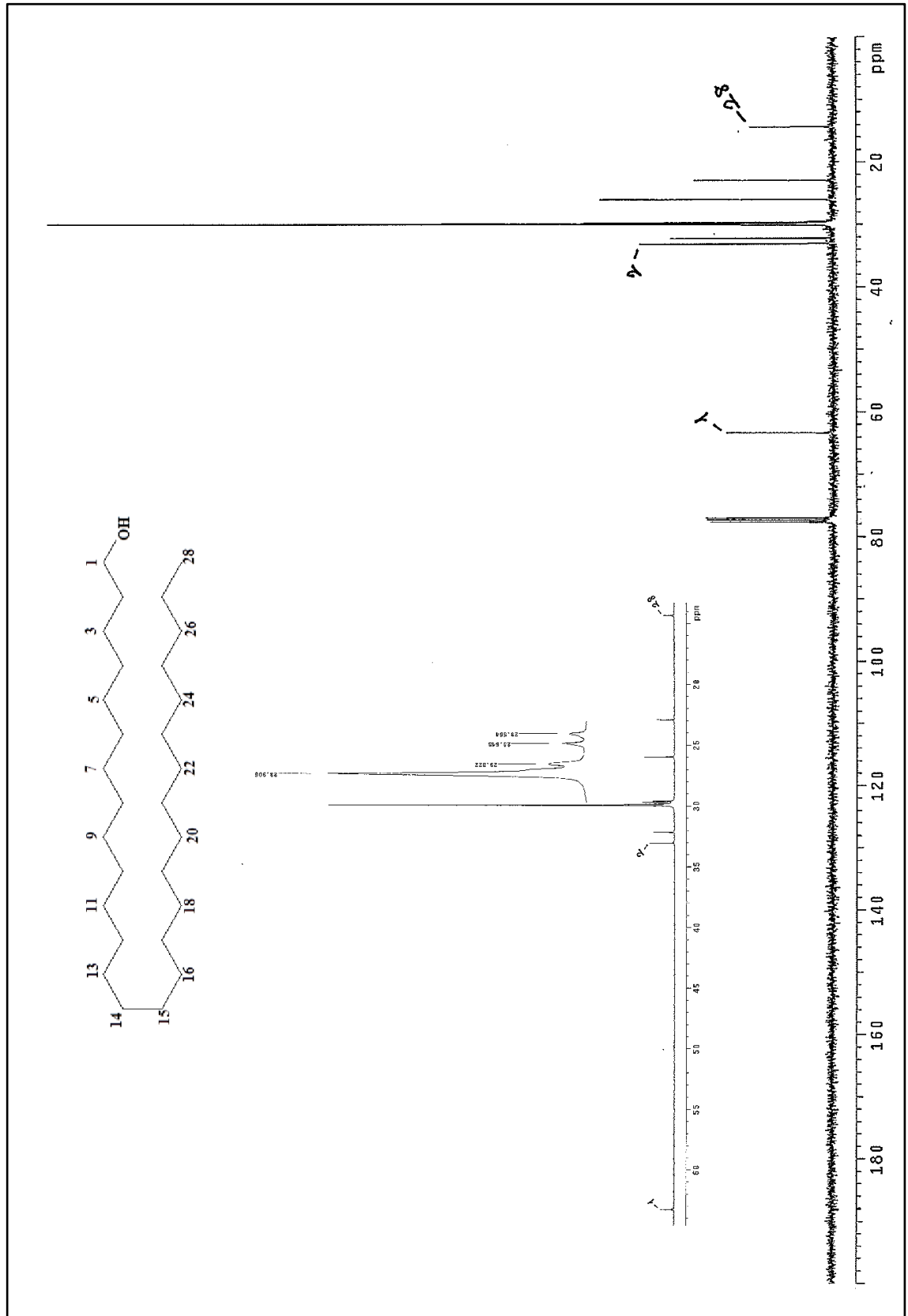
Şekil 4.2. VA-1'in (*n*-oktakosanol) kütle spektrumu

VA-1 bileşiminin ^{13}C -NMR spektrumunda (Şekil 4.4) toplam 13 karbon sinyali gözlenmiştir. $\delta=29,91$ ppm'deki şiddetli sinyal aynı noktada rezonans olan fazla sayıdaki CH_2 grubunun olduğunu göstermektedir. 1 numaralı C atomunun rezonansı O atomunun indüktif etkisinden dolayı diğer atomlara göre daha aşağı alanda, $\delta=63,30$ ppm'de gözlenmiştir. Bileşimin DEPT spektrumu da (Şekil 4.5) önerilen yapı ile uyumludur.

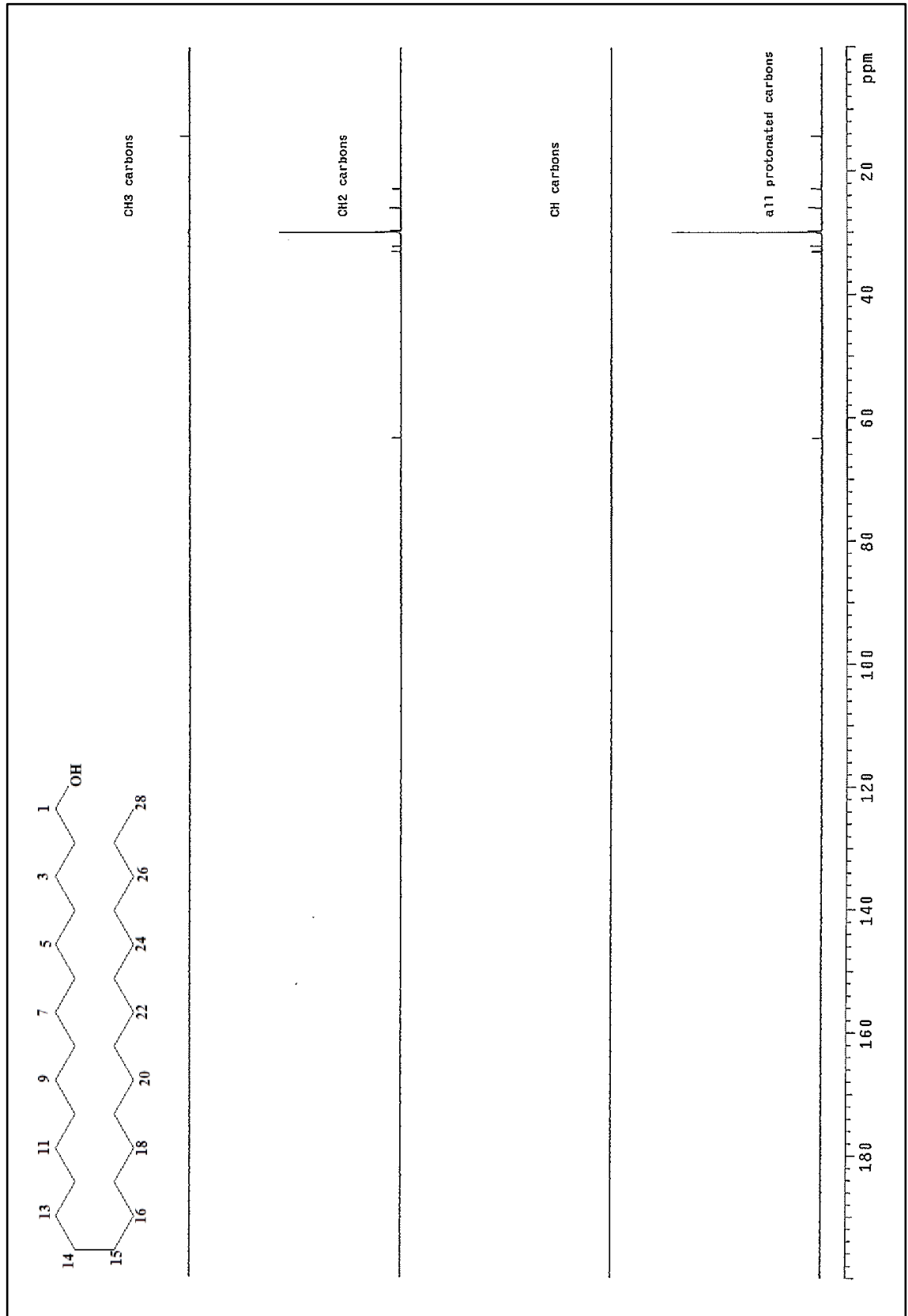
VA-1 bileşiminin ^1H - ^1H COSY ve ^{13}C - ^1H HETCOR (Şekil 4.6) spektrumları önerilen yapı ile uyumludur. ^{13}C - ^1H HETCOR spektrumunda (Şekil 4.6) $\delta=0,87$ ppm'de triplet sinyal $\delta=14,30$ ppm'deki karbon sinyali ile; $\delta=3,63$ ppm'deki 1 numaralı protonlara ait triplet sinyal $\delta=63,30$ ppm'deki karbon sinyali ile ve $\delta=1,25$ ppm'deki fazla sayıdaki CH_2 protonlarına ait şiddetli sinyal ise $\delta=29,91$ ppm'deki kuvvetli karbon sinyali ile korele olduğu gözlenmektedir.



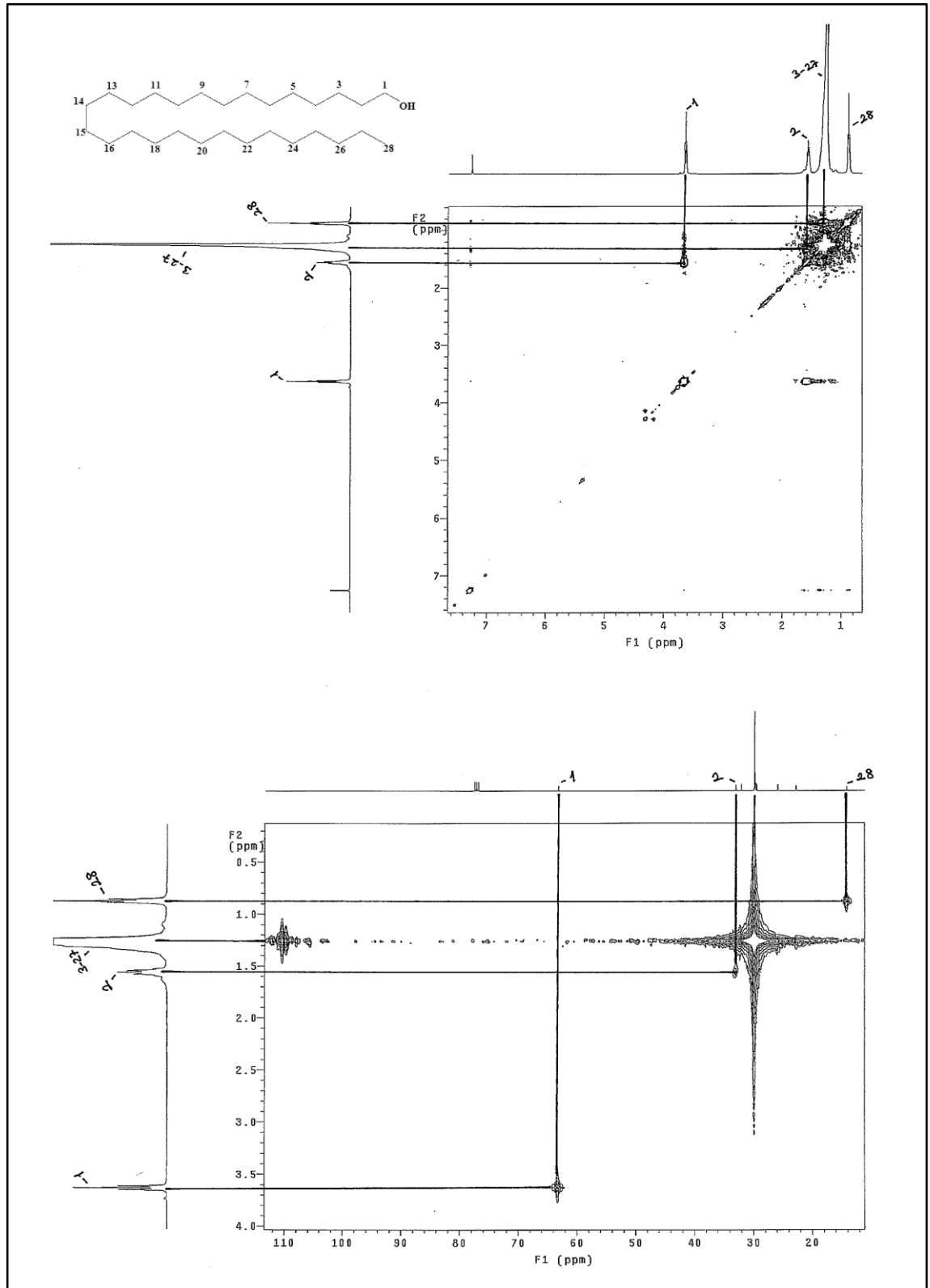
Şekil 4.3. VA-1'in (*n*-oktakosanol) ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.4. VA-1'in (*n*-oktakosanol) ^{13}C NMR (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu

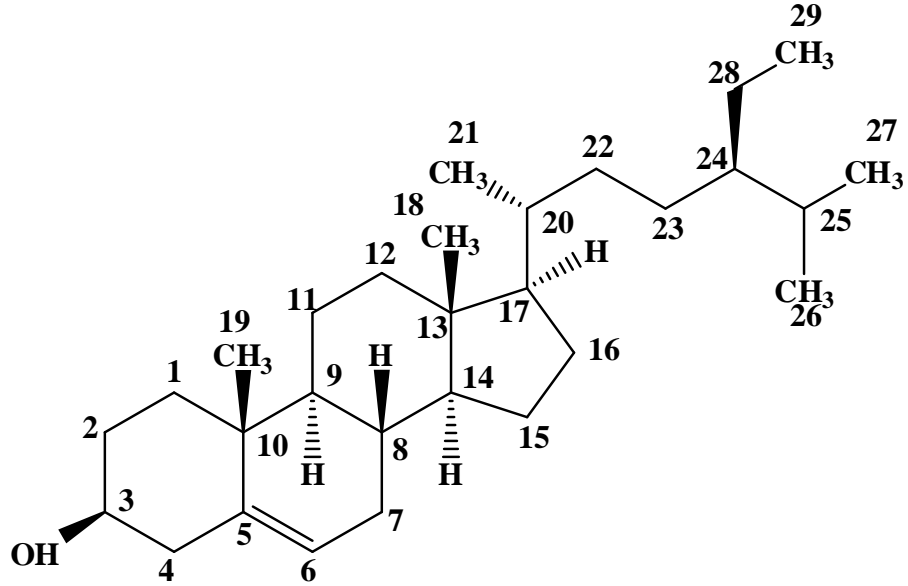


Şekil 4.5. VA-1'in (*n*-oktakosanol) ¹³C NMR (CDCl₃, 400 MHz) spektrumu



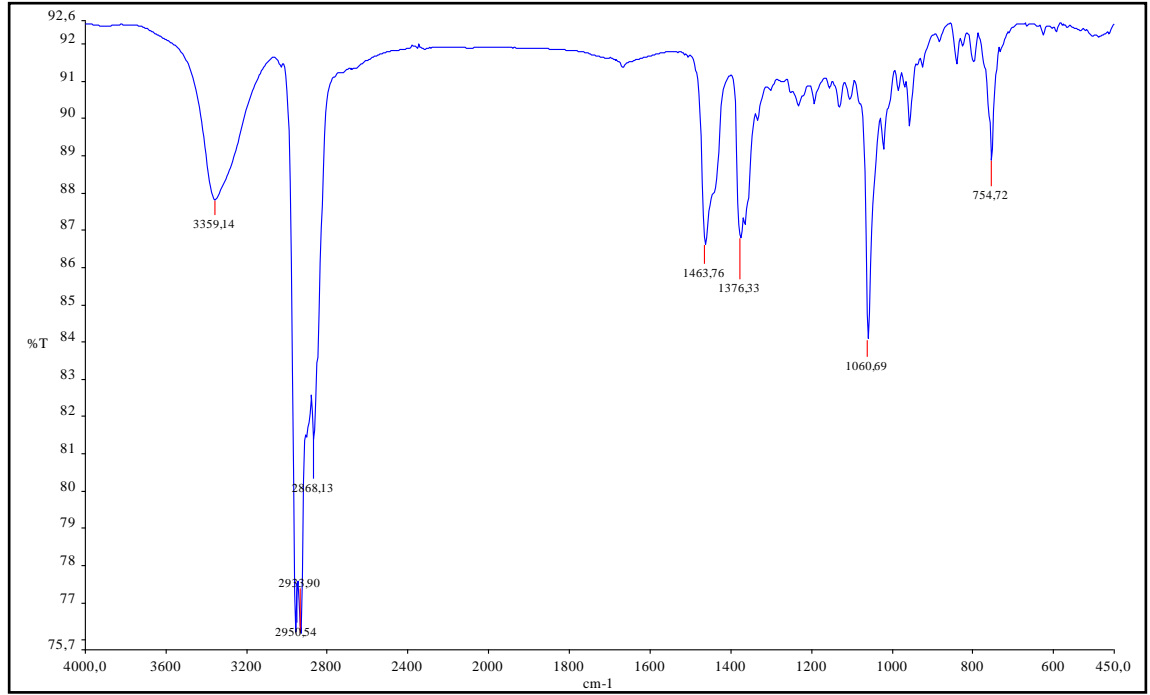
Şekil 4.6. VA-1'in (*n*-oktakosanol) ^1H - ^1H COSY ve ^{13}C - ^1H HETCOR (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu

4.2.2. VA-2 kodlu bileşik



β -Sitosterol; $C_{29}H_{50}O$; MA: 414 g/mol; $[\alpha]_D^{20} = -35^\circ$ ($CHCl_3, c=1$)

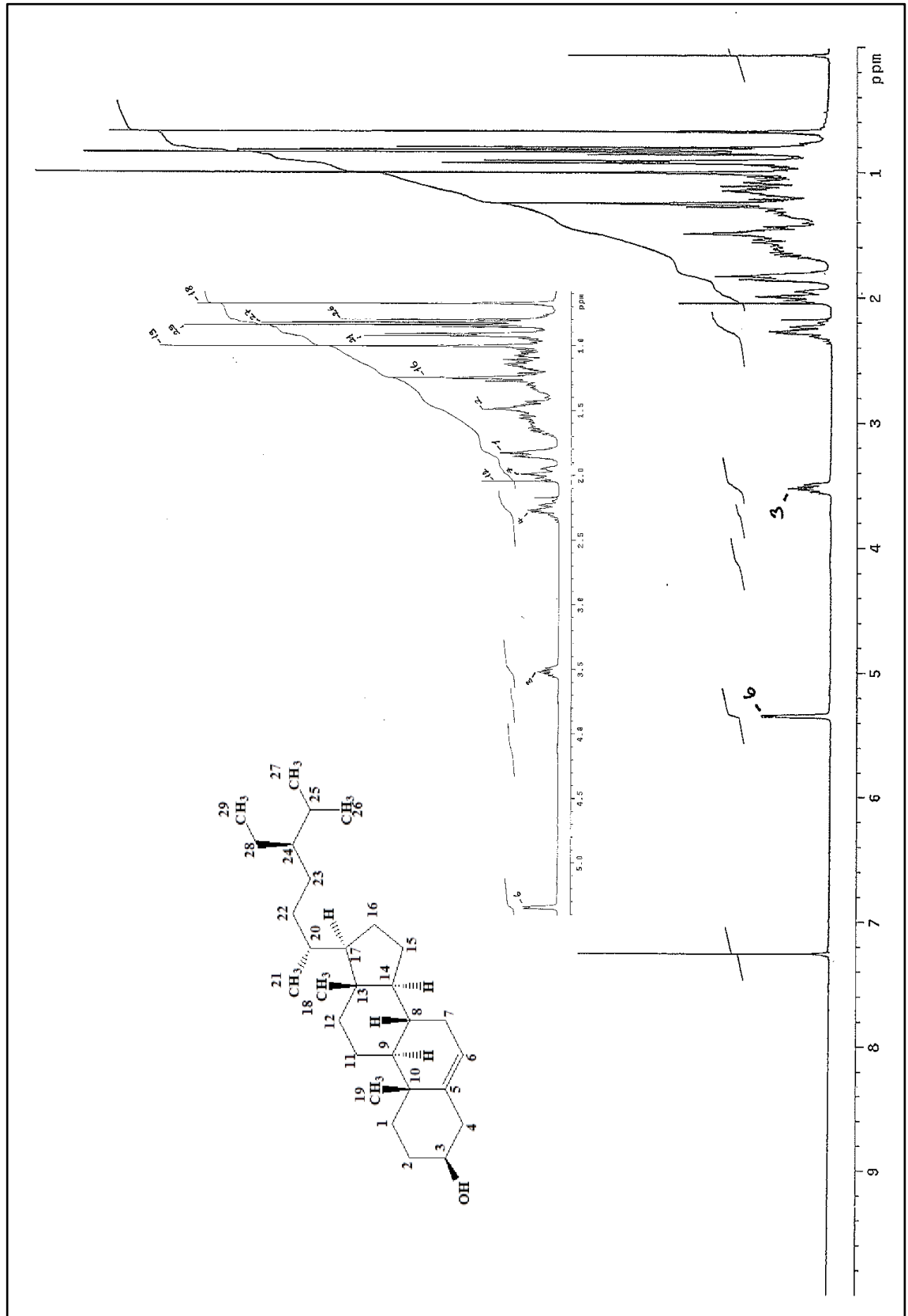
VA-2 bileşiği amorf katı bir madde halinde izole edildi. İTK'da görünür ışıktta, UV_{254} ve UV_{366} nm de renk vermeyen bu madde H_2SO_4 -vanilin reaktifi ($105^\circ C$) ile pembe-mor renk vermektedir. Bileşiğin H_2SO_4 -vanilin reaktifi ($105^\circ C$) pembemsi renk vermesi steroid veya terpenik yapılu bir madde olacağı düşüncesini bizde oluşturdu (Sakar ve Tanker 1991; Wagner and Bladt 1996). Bileşiğin erime noktası $136-138^\circ C$ olarak belirlendi ve bileşik UV spektrumunda (λ_{max} nm, CH_3Cl) 244 nm de maksimum absorbans gösterdi. VA-2 bileşiğinin IR spektrumunda (Şekil 4.7) 3359 cm^{-1} dalga boyunda gözlenen geniş ve şiddetli absorbans bandı molekül yapısında OH grubunun olduğuna işaret etmektedir. Molekülde alifatik grupların olduğunu doğrulayan C-H titreşim bantları ise 2933 cm^{-1} , 2950 cm^{-1} ve 2868 cm^{-1} dalga boylarında gözlenmiştir. Bunların yanı sıra 1463 cm^{-1} ve 1376 cm^{-1} dalga boylarında gözlenen absorbans bantları C=C bağlarına, 1060 cm^{-1} deki absorbans bandı ise C-O bağ titreşimine aittir (Erdik 1998; Fessenden and Fessenden 2001).



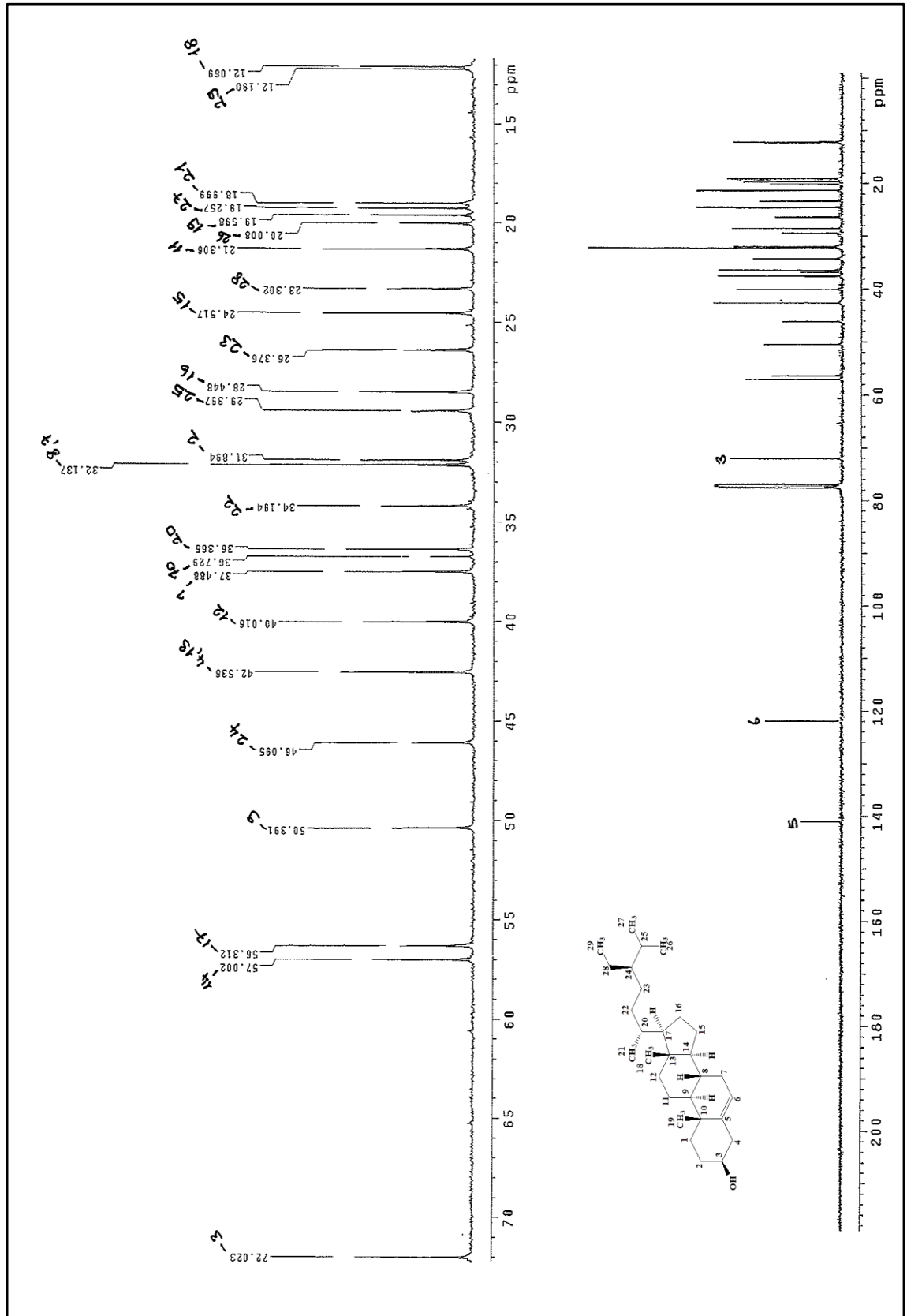
Şekil 4.7. VA-2'nin (β -sitosterol) IR Spektrumu

VA-2 maddesinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (Şekil 4.8) $\delta=0,67\text{-}2,28$ ppm aralığında alifatik hidrojenlere ait sinyaller molekülün steroid veya triterpenik yapıda olduğunu göstermektedir. Bileşiğin ^{13}C NMR spektrumundaki (Şekil 4.9) toplam 29 karbon sinyali molekülün triterpenik yapıda değil de steroid yapısında olduğunu göstermektedir. Bir maddenin steroid veya triterpen yapısında olduğu $^1\text{H-NMR}$ spektrumundaki sinyallerden kolayca anlaşılabilir. Triterpenlerin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda yukarı alanda CH_3 hidrojenlerine ait daha fazla sayıda singlet sinyal gözlenirken steroidlerde metil gruplarına ait daha az sayıda singlet sinyal gözlenmektedir. Bileşiğin DEPT spektrumunda (Şekil 4.10) altı adet CH_3 karbon sinyali gözlenmiştir. Bu altı adet CH_3 protonlarının ikisi singlet, üçü ise dublet sinyal vermiştir. Bu bilgiler bileşiğin steroid yapısını doğrulamaktadır. Metil gruplarından 18 ve 19 numaralı CH_3 protonları sırasıyla $\delta=0,67$ ve $\delta=1,00$ ppm'de singlet vermişlerdir. Diğer metil gruplarından 29 numaralı CH_3 grubu $\delta=0,83$ ppm'de dublet ($J=6,60$ Hz), 21 numaralı CH_3 grubu $\delta=0,80$ ppm'de dublet ($J=6,97$ Hz), 27 numaralı CH_3 protonları ise $\delta=0,91$ ppm de dublet ($J=6,60$ Hz) vererek rezonans olmuşlardır. H-3 protonu ise $\delta=3,52$ ppm de multipllet sinyal vermiştir. Bir adet olefinik H ise (H-6) $\delta=5,35$ ppm'de dublet ($J=5,13$ Hz) sinyal vermiştir.

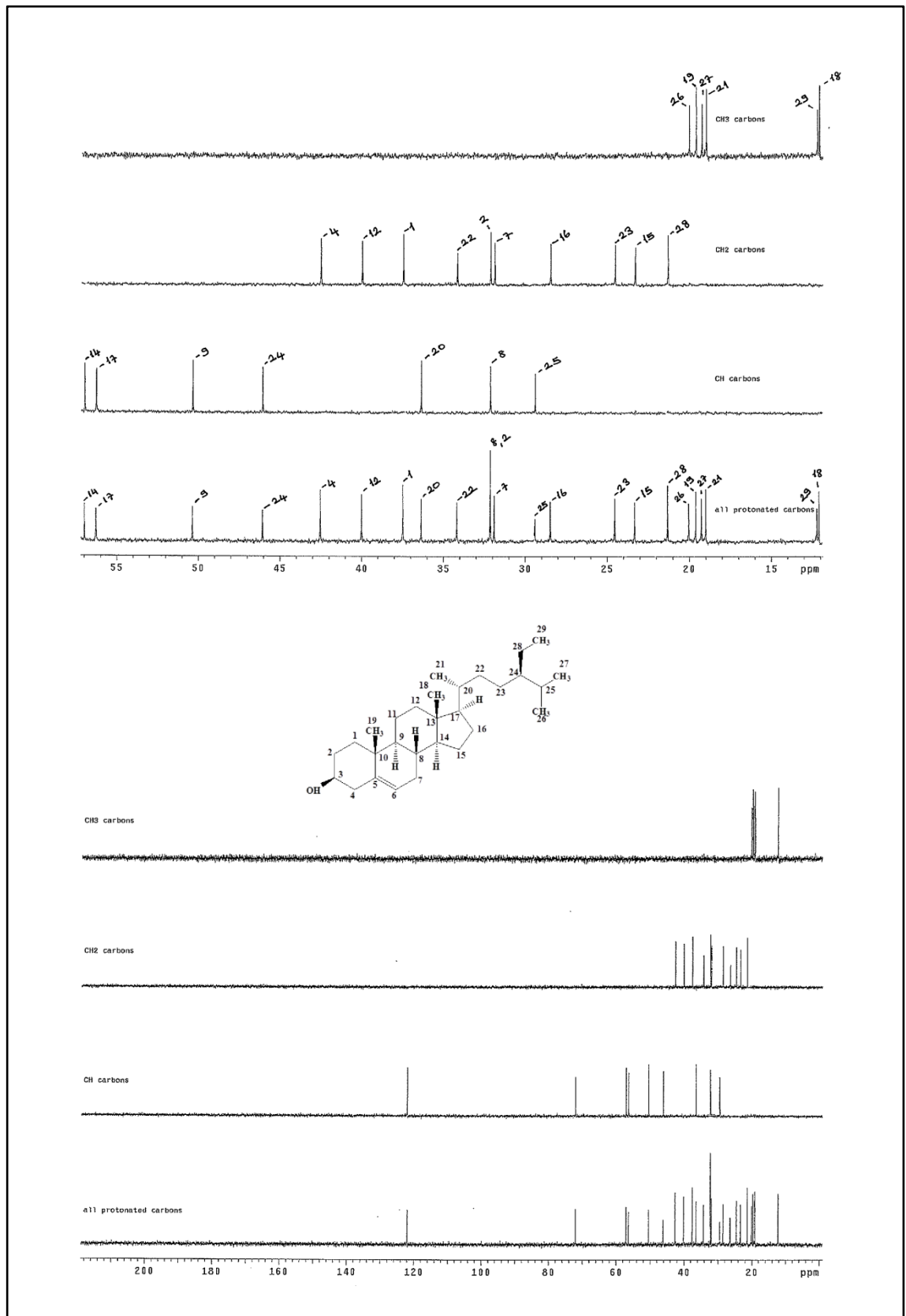
Bileşğin DEPT spektrumundaki 6 adet CH₃ sinyali, 10 adet CH₂ sinyali ve 9 adet CH sinyali steroidin yapısı ile uyumludur. 1 ve 2 boyutlu spektral veriler VA-2'nin yapısının bitkilerde çok yaygın bir steroid olan, **β-sitosterol** olduğunu göstermektedir. VA-2 bileşğinin ¹H-¹H COSY ve ¹³C-¹H HETCOR (Şekil 4.11) spektrumları da önerilen yapı ile tam uyumludur. VA-2 bileşğinin kimyasal yapısı ayrıca literatür verileri ile de desteklenmiştir (Güvenalp 1999, Çakır 2000; Kovganko *et al.* 2000; Fessenden and Fessenden 2001).



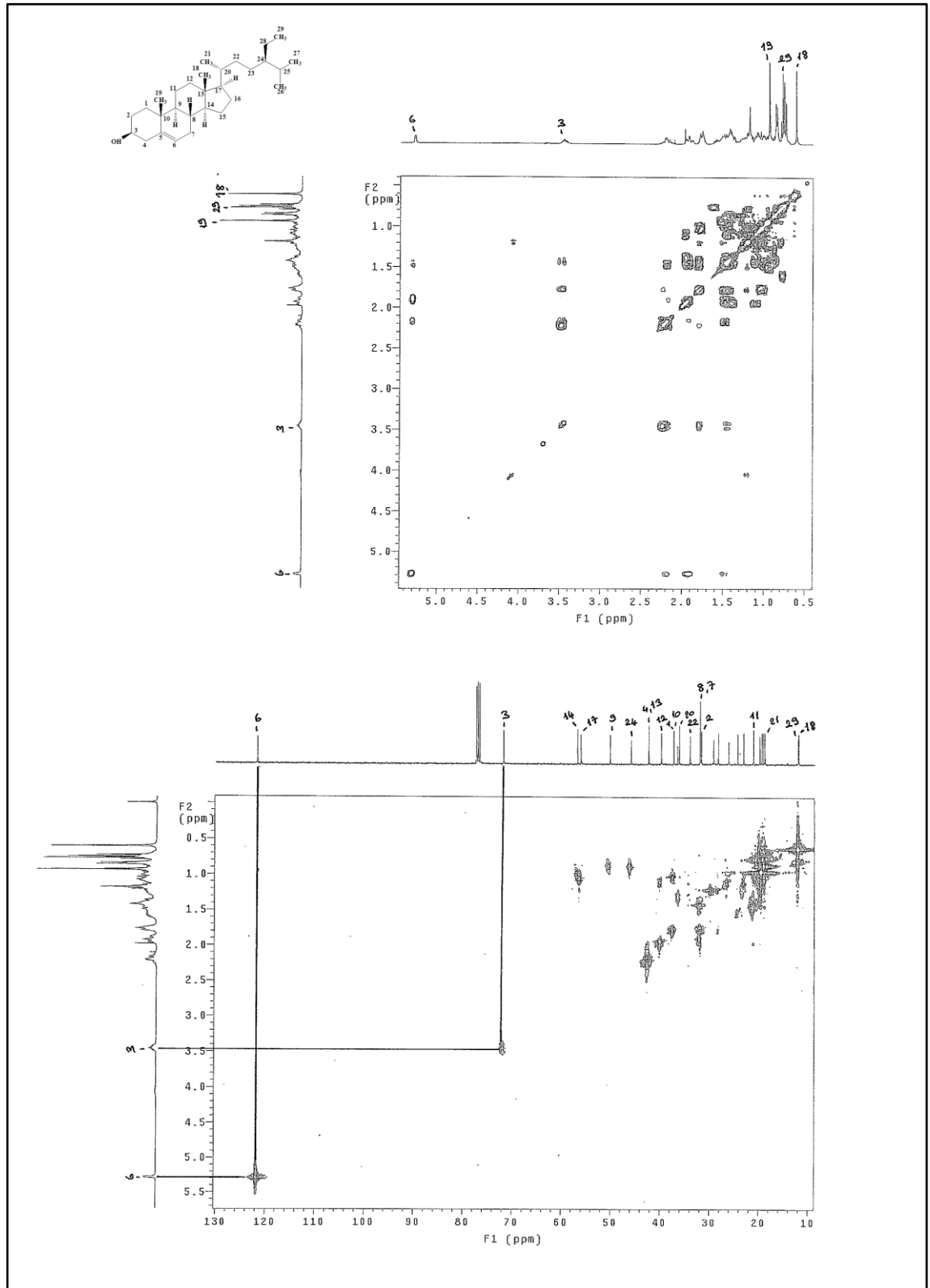
Şekil 4.8. VA-2'nin (β -sitosterol) ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.9. VA-2'nin (β -sitosterol) ^{13}C NMR (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu

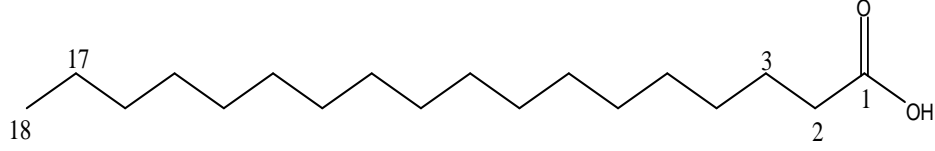


Şekil 4.10. VA-2'nin (β -sitosterol) DEPT (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu



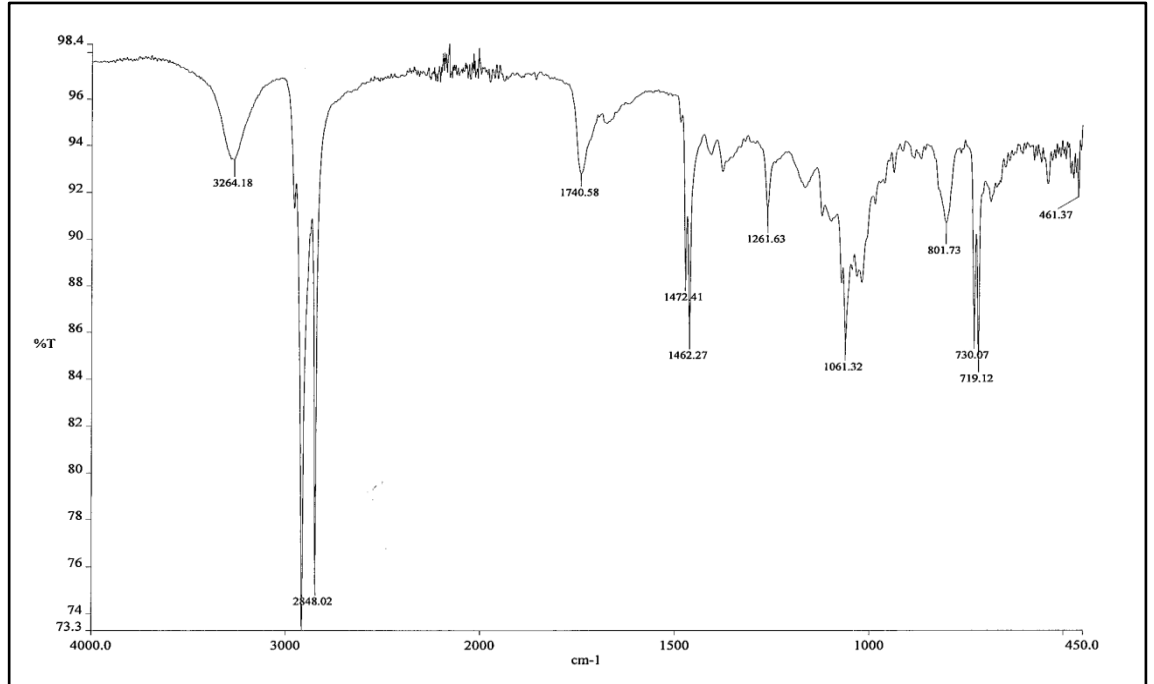
Şekil 4.11. VA-2'nin (β -sitosterol) ^1H - ^1H COSY ve ^{13}C - ^1H HETCOR (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu

4.2.3. VA-3 kodlu bileşik



Stearik asit; $C_{18}H_{36}O_2$; MA: 284 g/mol

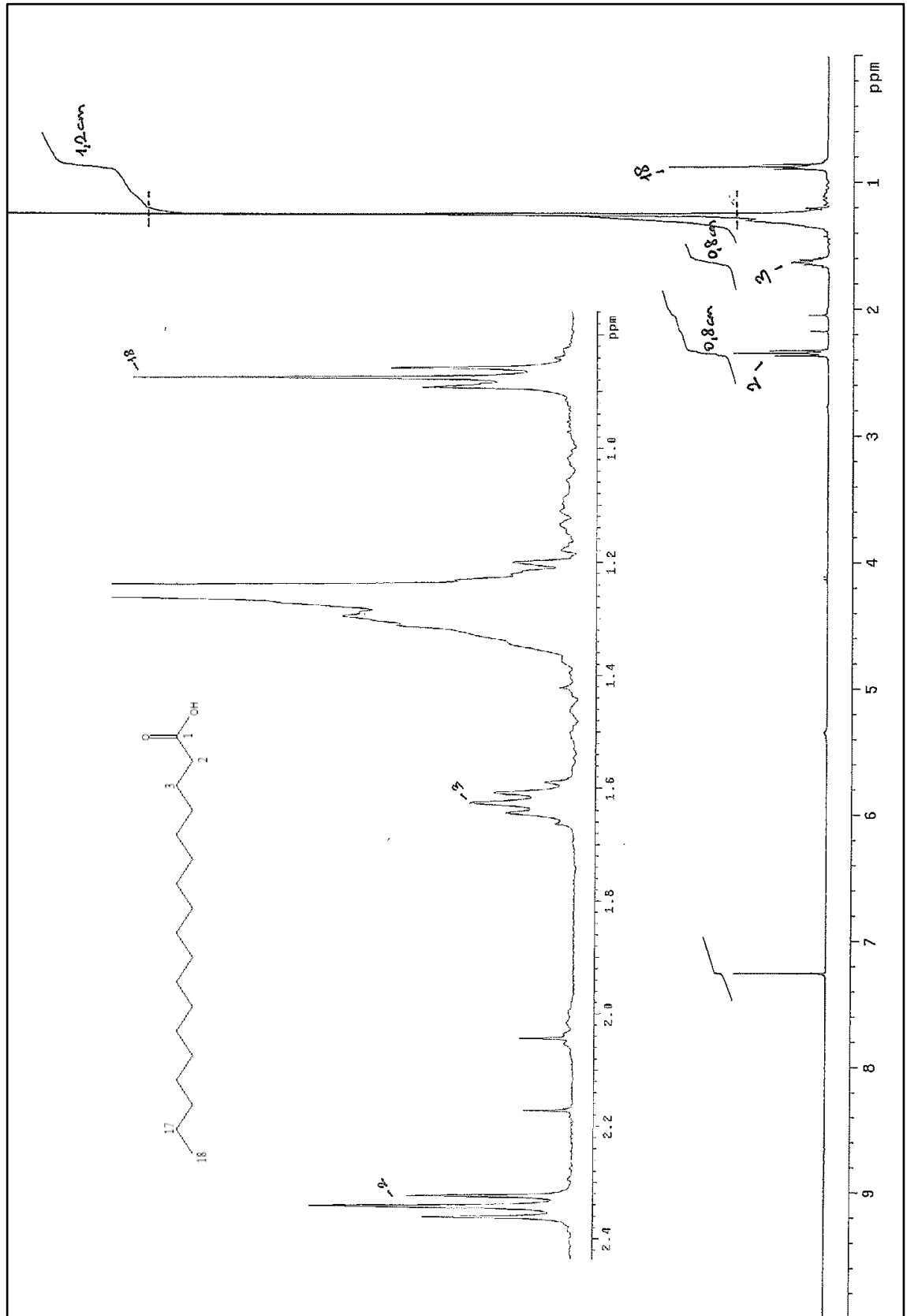
İTK'da görünür ışıkta, UV_{254} ve UV_{366} nm'de renk vermeyen, H_2SO_4 -vanilin reaktifi ($105^\circ C$) ile hafif pembe renk veren VA-3 bileşiği, aseton ekstresinden amorf bir katı olarak izole edildi. Bileşiğin erime noktası $70-71^\circ C$ olarak belirlendi ve bileşik UV spektrumunda (λ_{max} nm, CH_3Cl) 244 nm de maksimum absorbanans gösterdi. Bileşiğin IR spektrumunda (Şekil 4.12) molekülde alifatik grupların fazla olmasından dolayı 2845-2920 cm^{-1} aralığında C-H titreşimlerine ait kuvvetli absorbananslar gözlenmiştir. OH titreşim bandı absorbanansı ise 3264 cm^{-1} de gözlenmiştir (Erdik 1998; Fessenden and Fessenden 2001).



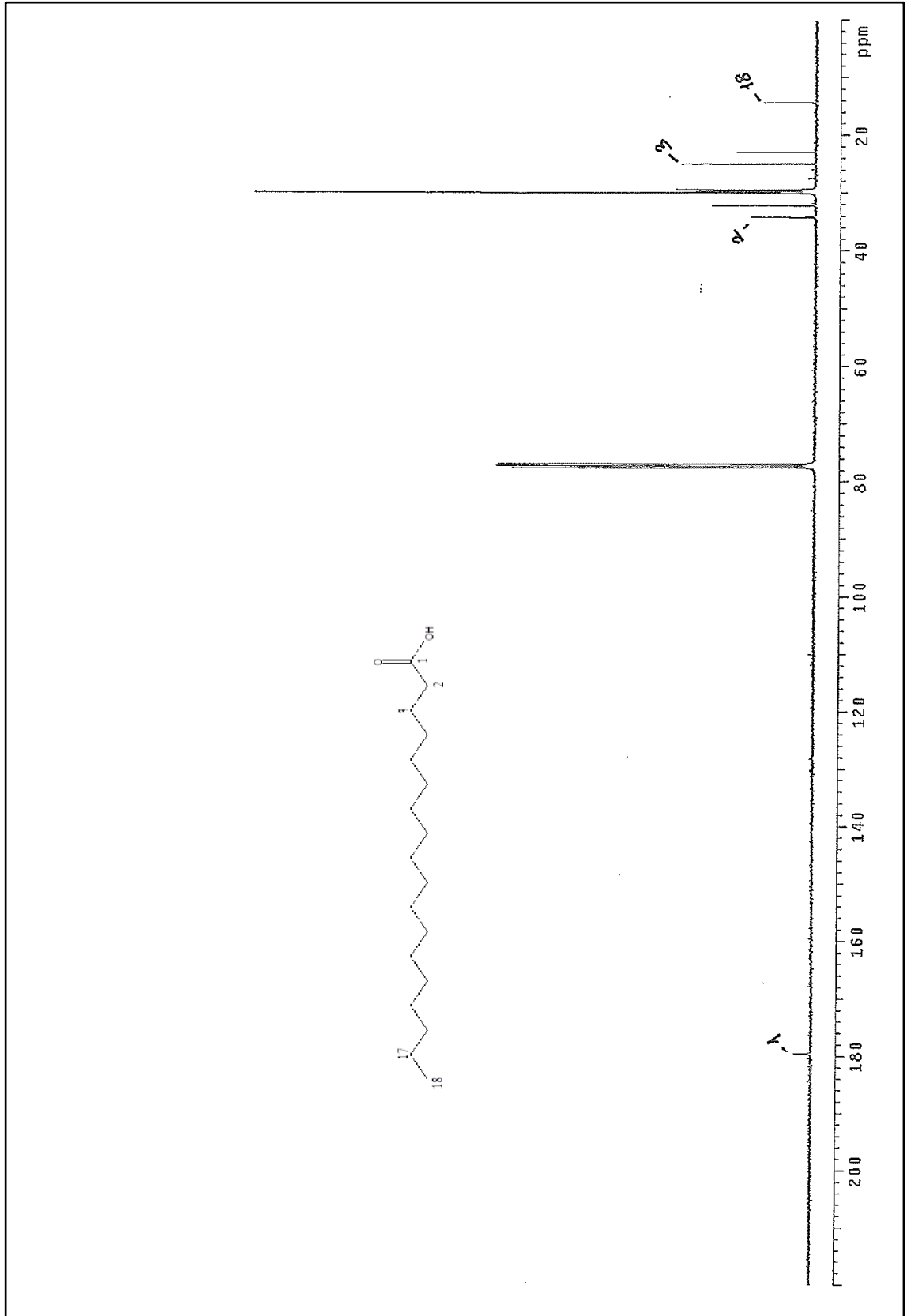
Şekil 4.12. VA-3'ün (stearik asit) IR spektrumu

VA-3 bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (Şekil 4.13) VA-1 bileşiğinin NMR spektrumuna çok benzemektedir. VA-3'ün $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda VA-1 den farklı olarak CH_2OH protonlarına ait triplet sinyal gözlenmemiştir. VA-3 ün terminal $-\text{CH}_3$ grubuna ait protonlar $\delta=0,88$ ppm'de triplet ($J= 6,78$ Hz) sinyal vermiştir. İntegrasyon oranı iki protona karşılık gelen $\delta=2,34$ ppm'deki triplet ($J=7,70$ Hz ve $7,33$ Hz) sinyali karbonil karbonuna komşu metilenik protonlara (H-2) aittir. C-3 karbonuna bağlı $-\text{CH}_2$ hidrojenleri $\delta=1,63$ ppm'de pentet vermektedir.

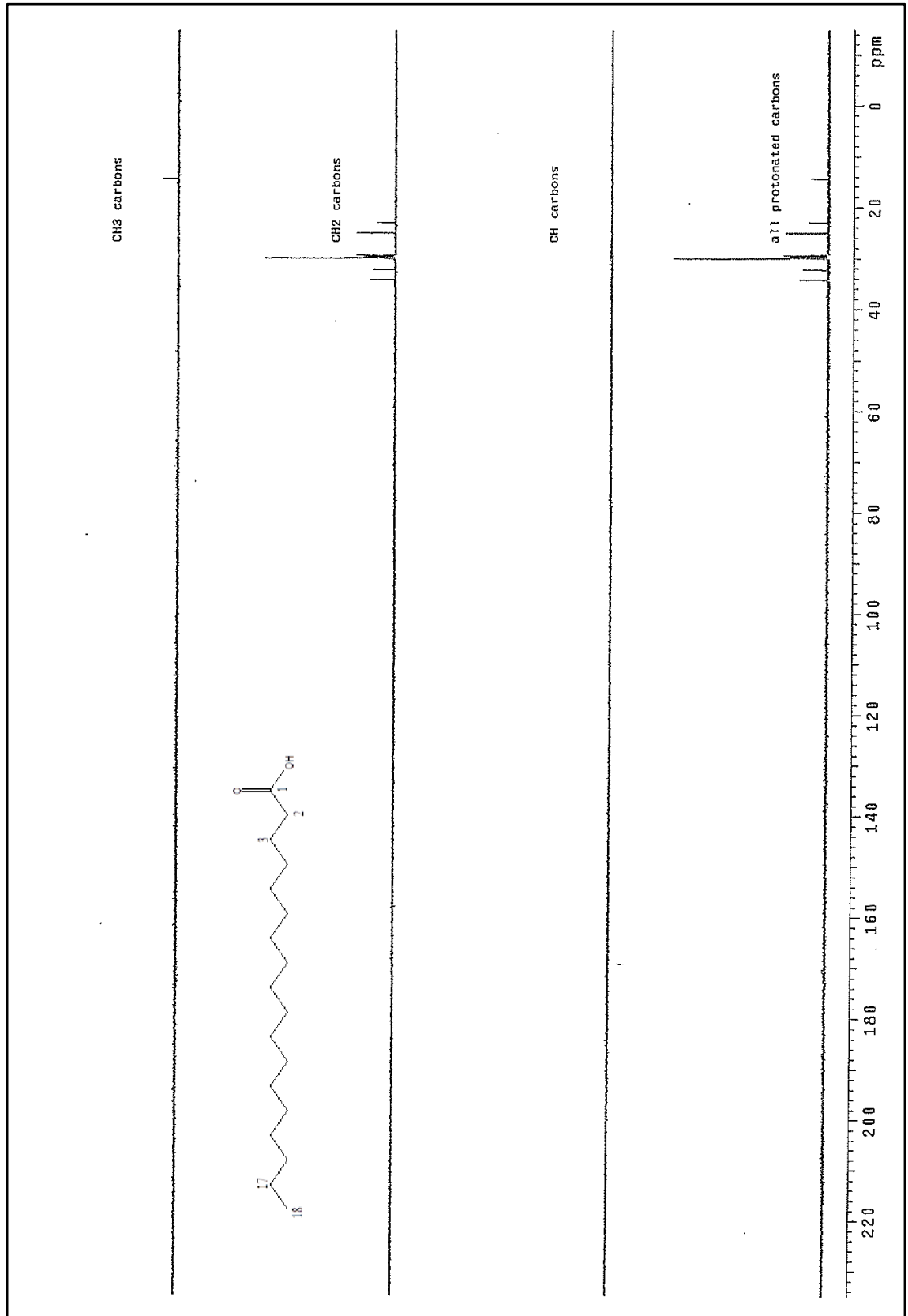
Bileşiğin $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (Şekil 4.14) $\delta=179,65$ ppm'de gözlenen karbon sinyali moleküldeki bir ester veya asit karbonil karbonuna aittir. Bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda $\delta=3$ ppm'den daha aşağı alanda ve $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda ise $\delta=60$ ppm civarında sinyalin gözlenmemesi VA-3'ün bir esterden ziyade asit olduğunu göstermektedir. Bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda $\delta=1,25$ ppm'de gözlenen kuvvetli sinyalin integrasyonu yaklaşık olarak 28-30 hidrojene ait olduğunu göstermiştir. Bu bilgilerden yola çıkılarak bileşiğin stearik asit veya nonadekanoik asit olabileceği düşünüldü. Doğada çift karbonlu yağ asitleri tek karbonlu yağ asitlerine göre çok daha yaygındır. 18 karbonlu yağ asitleri bitkilerde en yaygın yağ asitleri olduğu bilgisinden yola çıkılarak bileşiğin kimyasal yapısı 18 karbonlu **stearik asit** olduğu düşünüldü. VA-3'ün ^{13}C DEPT (Şekil 4.15), $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY ve $^{13}\text{C-}^1\text{H}$ HETCOR (Şekil 4.16) spektrumları da önerilen stearik asit yapısıyla uyumludur.



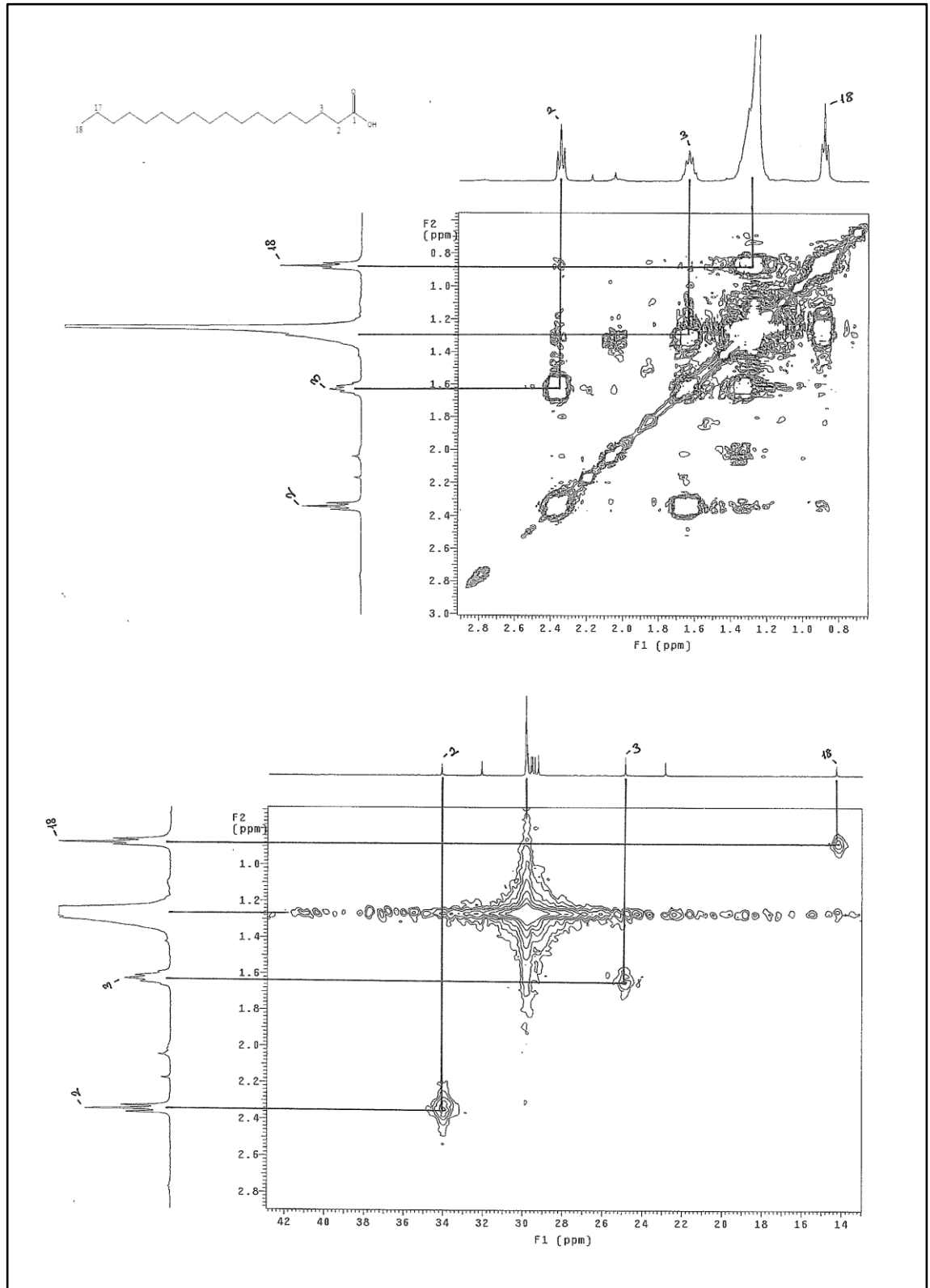
Şekil 4.13. VA-3'ün (stearik asit) $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.14. VA-3'ün (stearik asit) ^{13}C NMR (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu

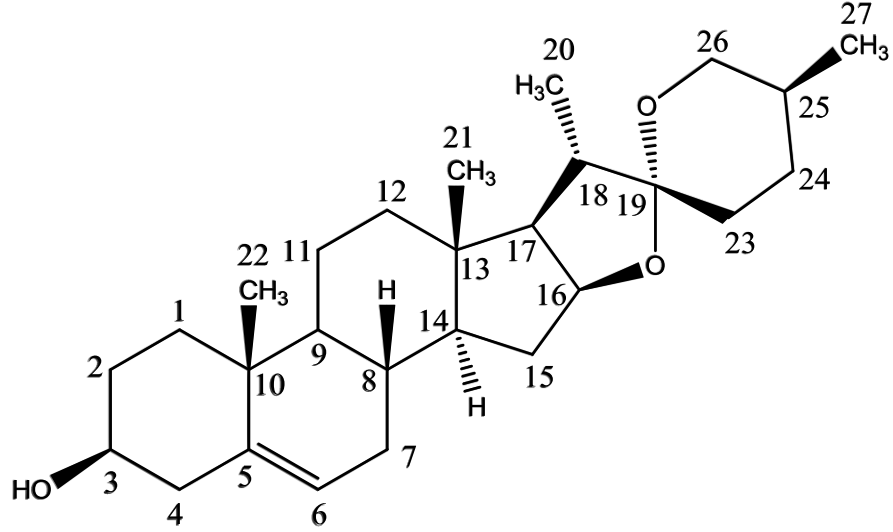


Şekil 4.15. VA-3'ün (stearik asit) DEPT (CDCl₃, 400 MHz) spektrumu



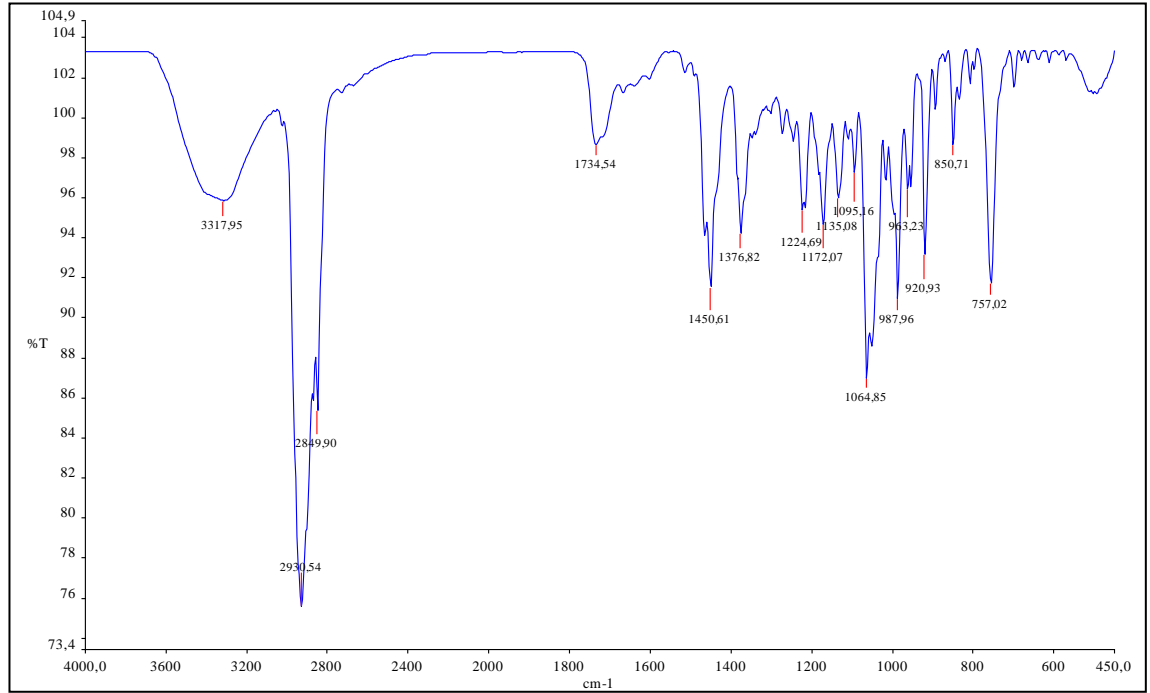
Şekil 4.16. VA-3'ün (stearik asit) ^1H - ^1H COSY ve ^{13}C - ^1H HETCOR (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu

4.2.4. VA-4 kodlu bileşik



Diosgenin; $C_{24}H_{42}O_3$; MA: 414 g/mol; $[\alpha]_D^{20} = -127^\circ$ ($CHCl_3, c=1$)

VA-4 bileşiği amorf beyaz bir katı olarak izole edildi. İTK’da görünür ışıktta, UV_{254} ve UV_{365} nm de renksiz, H_2SO_4 -vanilin reaktifi ile ($105^\circ C$) sarı renk veren bileşiğin erime noktası $191-193^\circ C$ olarak belirlendi. Bileşik UV spektrumunda (λ_{max} nm, CH_3Cl) 239, 285 ve 318 nm değerlerinde maksimum absorbans gösterdi. VA-4’ün IR spektrumunda (Şekil 4.17) 3318 cm^{-1} de gözlenen titreşim bandı molekülde $-OH$ grubunun olduğunu göstermektedir. IR spektrumunda $2850-2930\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenen kuvvetli absorbans bantları alifatik $-CH$ titreşimlerinden ileri gelmektedir. $C=C$ gerilme titreşimleri ise 1450 cm^{-1} de gözlenmiş olup molekülde çift bağ olduğunu göstermektedir. $C-O$ bağına ait titreşim absorbansı ise 1065 cm^{-1} de gözlenmiştir (Erdik 1998; Fessenden and Fessenden 2001).

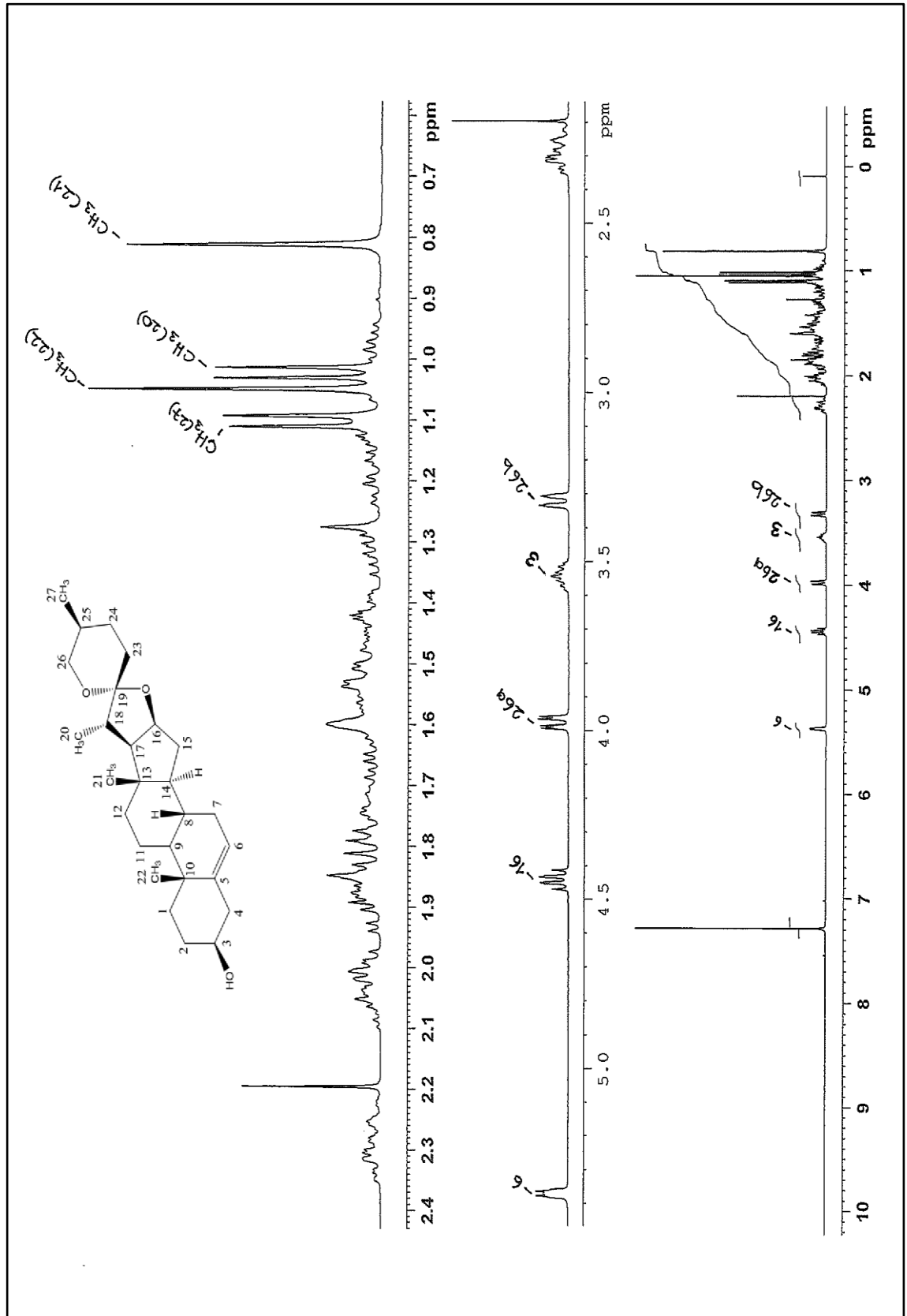


Şekil 4.17. VA-4'ün (diosgenin) IR Spektrumu

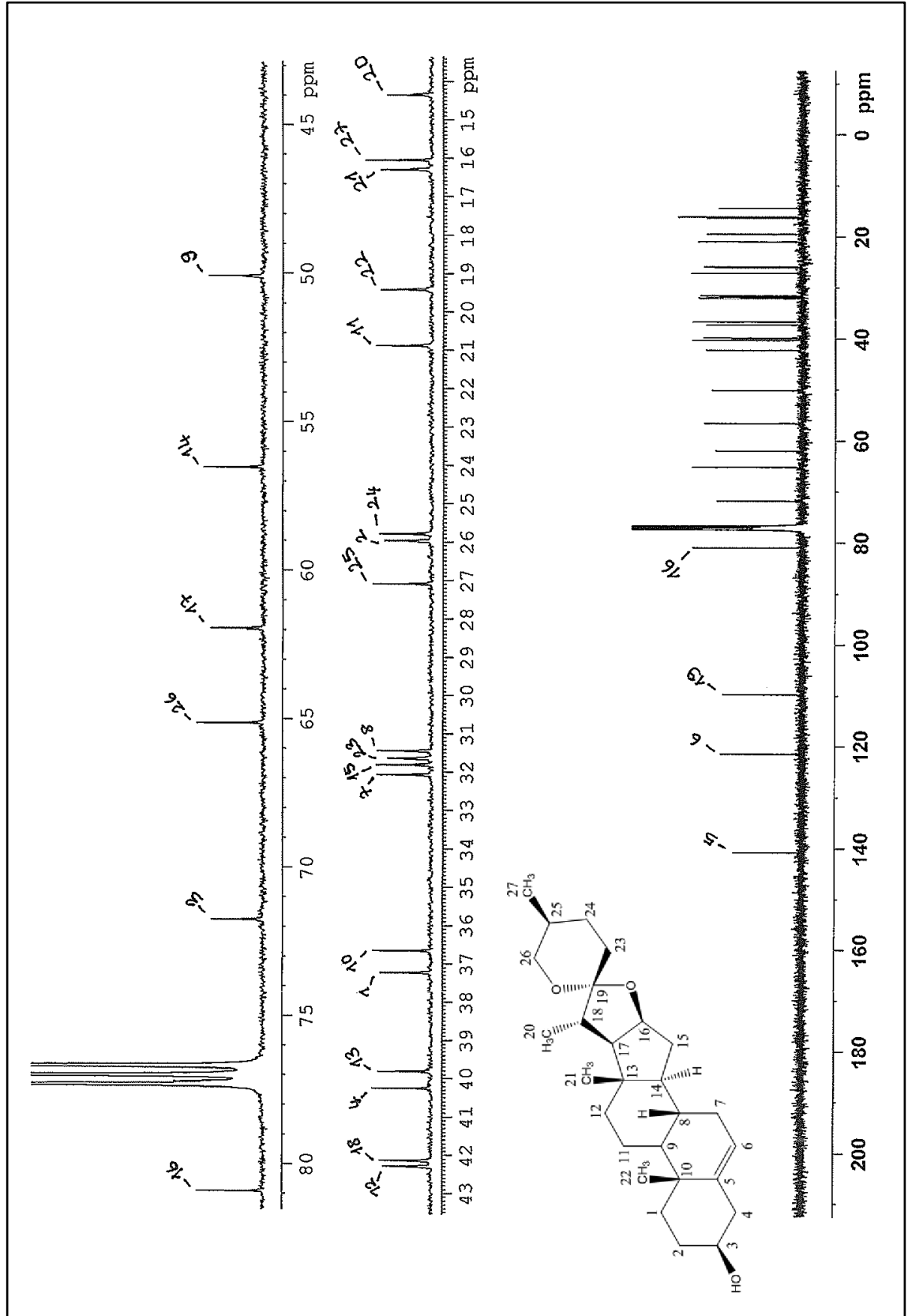
Bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ (Şekil 4.18) ve $^{13}\text{C-NMR}$ (Şekil 4.19) spektrumlarının yorumundan VA-4'ün steroid tipli bir madde olduğu görülmektedir. VA-4 bileşiğine ait UV, IR, $^1\text{H-NMR}$ (Şekil 4.18), $^{13}\text{C-NMR}$ (Şekil 4.19), DEPT (Şekil 4.20, 4.21), $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$ (Şekil 4.22), $^{13}\text{C-}^1\text{H HMQC}$ (Şekil 4.23), ve HMBC (Şekil 4.24), spektral verilerine dayanarak molekülün kimyasal yapısı **diosgenin** olarak aydınlatıldı. VA-4'ün $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (Şekil 4.18) $-\text{CH}_3$ gruplarına ait iki singlet, iki dublet sinyal gözlenmiştir. Molekül yapısına uygun olarak 21 ve 22 numaralı $-\text{CH}_3$ protonları sırasıyla, $\delta=0,81$ ve $\delta=1,05$ ppm'de singlet vererek rezonans olmuşlardır. Diğer 20 ve 27 numaralı $-\text{CH}_3$ protonları ise sırasıyla $\delta=1,02$ ve $\delta=1,10$ ppm'de dublet vererek rezonans olmuşlardır. Bu sinyaller için etkileşme sabitleri $J=6,80$ Hz ve $J=7,12$ Hz olarak hesaplanmıştır. Bileşiğin H-6 olefinik protonu $\delta=5,37$ ppm'de multiyet sinyal vermiştir. H-26 diastropik protonları ise bir AB sistemi vermiş ve $\delta=3,98$ ppm'de dd (H-26a, $J_1=10,96$ Hz, $J_2=2,68$ Hz) ve $\delta=3,32$ ppm'de dublet (H-26b, $J=10,92$ Hz) vererek rezonans olmuştur. H-3 protonu ise $\delta=3,53$ ppm'de multiyet vermiştir. H-16 protonuna ait sinyal 17 nolu protonla etkileşerek dublete, 15 numaralı protonlarla da etkileşerek $\delta=4,44$ ppm'de dt ($J_1=7,12$ Hz, $J_2=7,56$ ve $7,68$ Hz) sinyaline ayrılmıştır.

Bileşiğın ^{13}C -NMR spektrumunda (Şekil 4.19) molekül yapısıyla uygun olarak toplam 27 karbon sinyali gözlenmiştir. Olefinik karbonlara ait sinyaller $\delta=140,8$ (C-5) ve $\delta=121,4$ (C-6) ppm'de gözlenmiştir. C-19 karbon sinyali bağlı iki oksijen atomunun indüktif etkisinden dolayı aşağı alanda $\delta=109,8$ ppm'de rezonans olmuştur. VA-4 bileşiğinin molekül yapısına bakıldığında C-16, C-3 ve C-26 karbonlarına oksijen atomu bağlı olup bu karbonların aşağı alanda rezonans olması beklenir. Beklenildiği gibi bu karbon atomları sırasıyla $\delta=80,9$, $\delta=71,8$ ve $\delta=65,1$ ppm'de rezonans olmuşlardır.

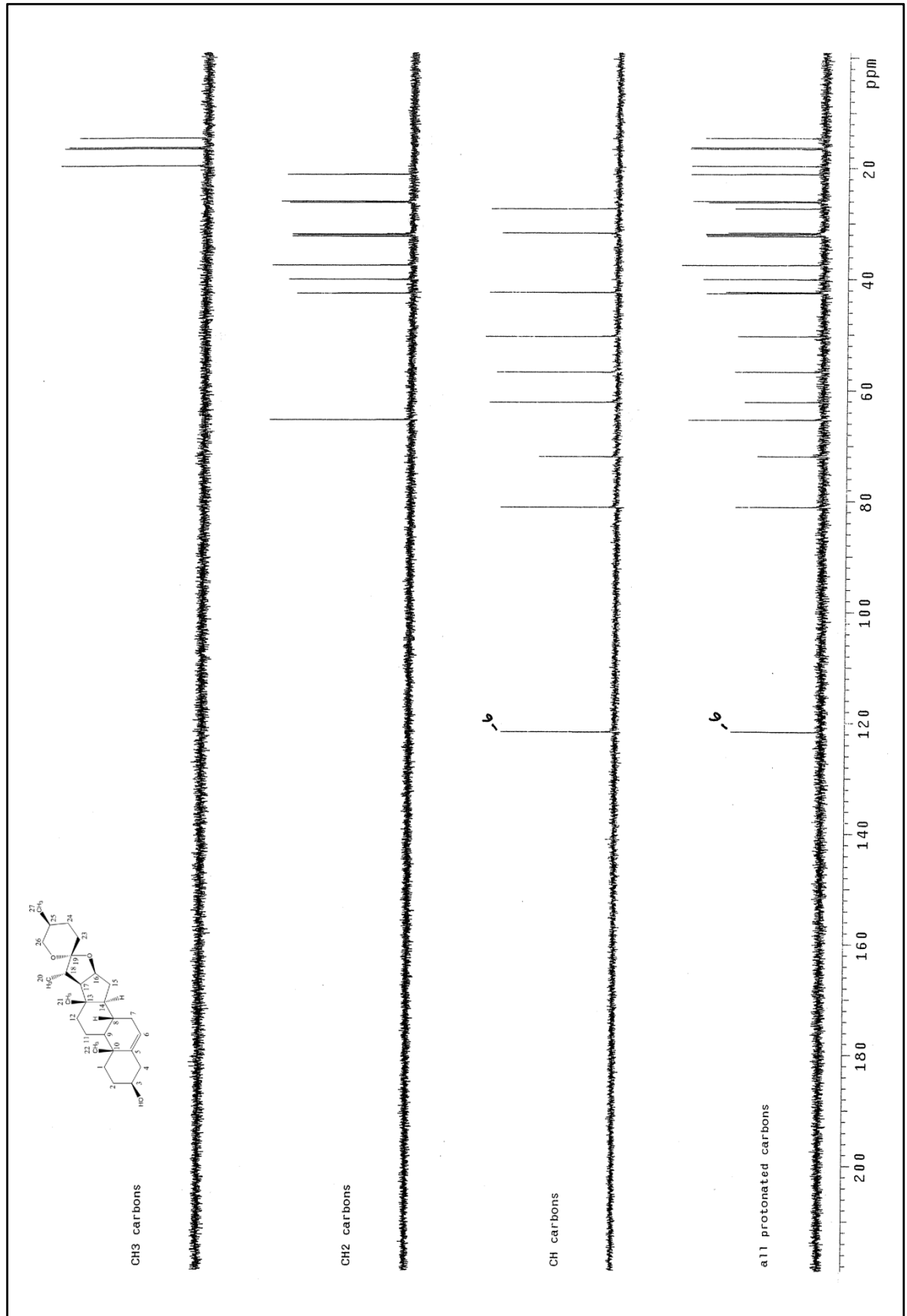
VA-4 bileşiğinin DEPT spektrumunun (Şekil 4.20 ve 4.21) molekül yapısıyla uyumlu olarak 4 adet $-\text{CH}_3$, 10 adet $-\text{CH}_2$ ve 9 adet $-\text{CH}$ karbon sinyali gözlenmiştir. VA-4 bileşiğinin HMQC spektrumu (Şekil 4.23) da önerilen yapıyı doğrulamaktadır. Spektrumdan da görüleceği üzere $\delta=71,8$ ppm de karbon sinyali (C-26) $\delta=3,98$ ppm ve $\delta=3,32$ ppm'deki proton sinyalleriyle korele olmuştur. Bu korelasyon bu proton sinyallerinin diastropik H-26 protonlarına ait olduğunu doğrulamaktadır. HMQC spektrumunda $\delta=4,44$ ppm deki proton sinyali (H-16), $\delta=80,9$ ppm'deki karbon sinyaliyle; $\delta=3,53$ ppm'deki multipler sinyal (H-3) $\delta=71,8$ ppm'deki karbon sinyali ile; $\delta=5,37$ ppm'deki olefinik hidrojene ait (H-6) sinyal $\delta=121,4$ ppm'deki karbon sinyali ile korele olmuştur. Şekil 4.22 den görüleceği üzere tüm korelasyonlar VA-4'ün molekül yapısı ile uyum içerisindedir. VA-4 bileşiğinin molekül yapısı ^1H - ^1H COSY (Şekil 4.22) ve HMBC (Şekil 4.24) spektral verileri ve daha önce yayınlanan literatür verileri (Espejo *et al.* 1982; Tal *et al.* 1984; Chen and Snyder 1989; Indrayanto *et al.* 2001; Pires *et al.* 2002; Saxena and Shalem 2004; Yoon and Kim 2008) ile de doğrulanmıştır.



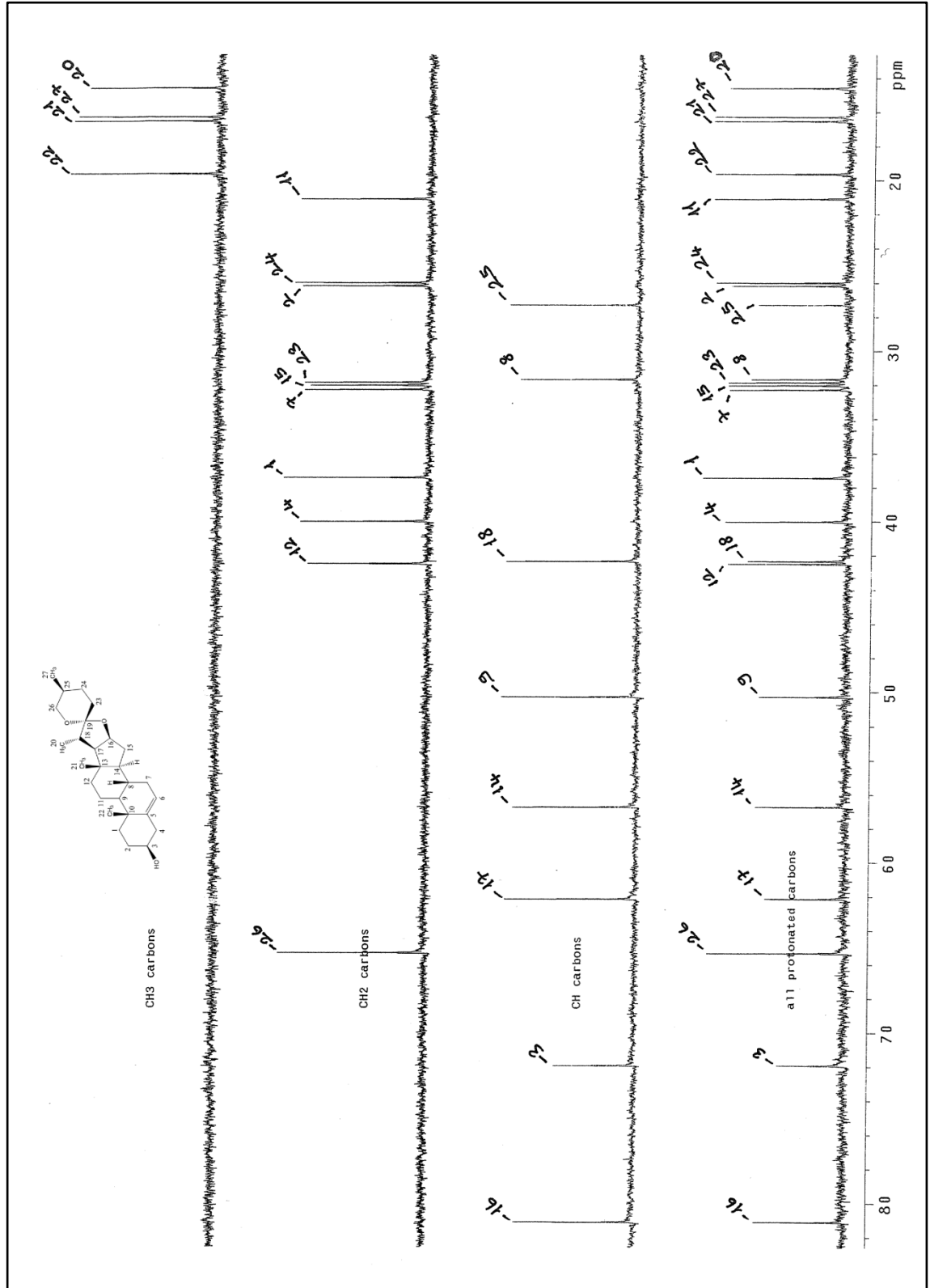
Şekil 4.18. VA-4'ün (diosgenin) ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu



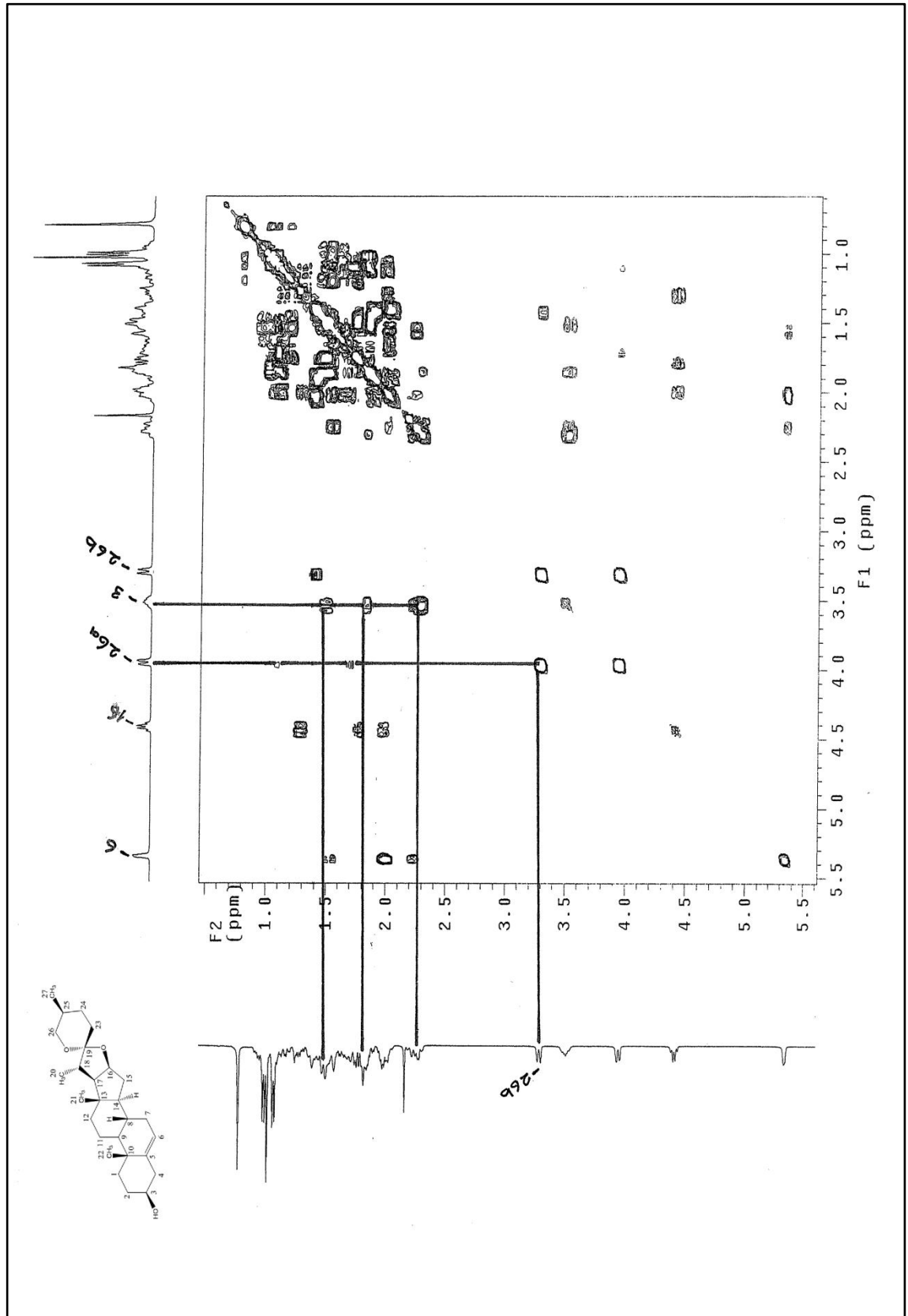
Şekil 4.19. VA-4'ün (diosgenin) ^{13}C NMR (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu



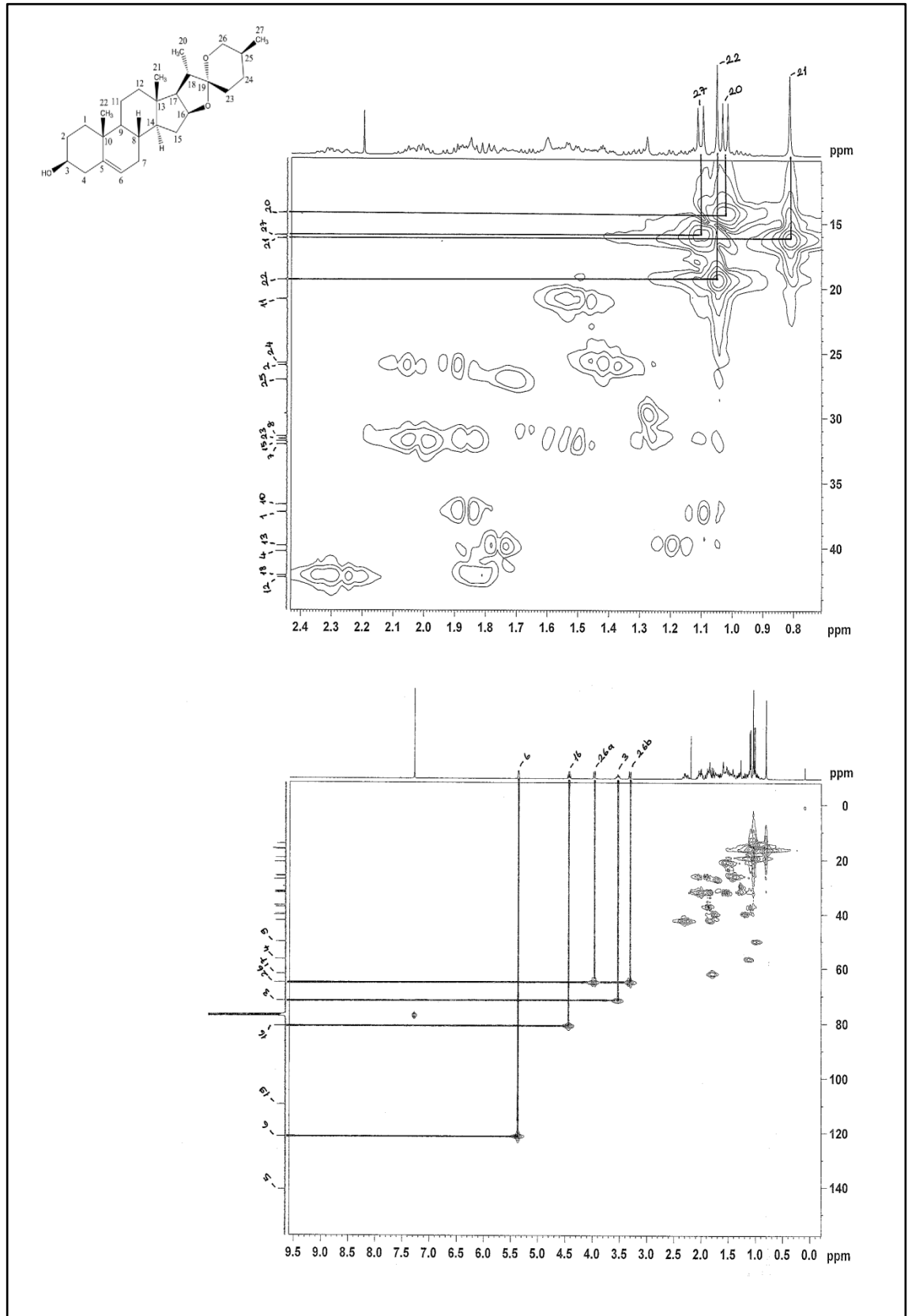
Şekil 4.20. VA-4'ün (diosgenin) DEPT (CDCl₃, 400 MHz) spektrumu



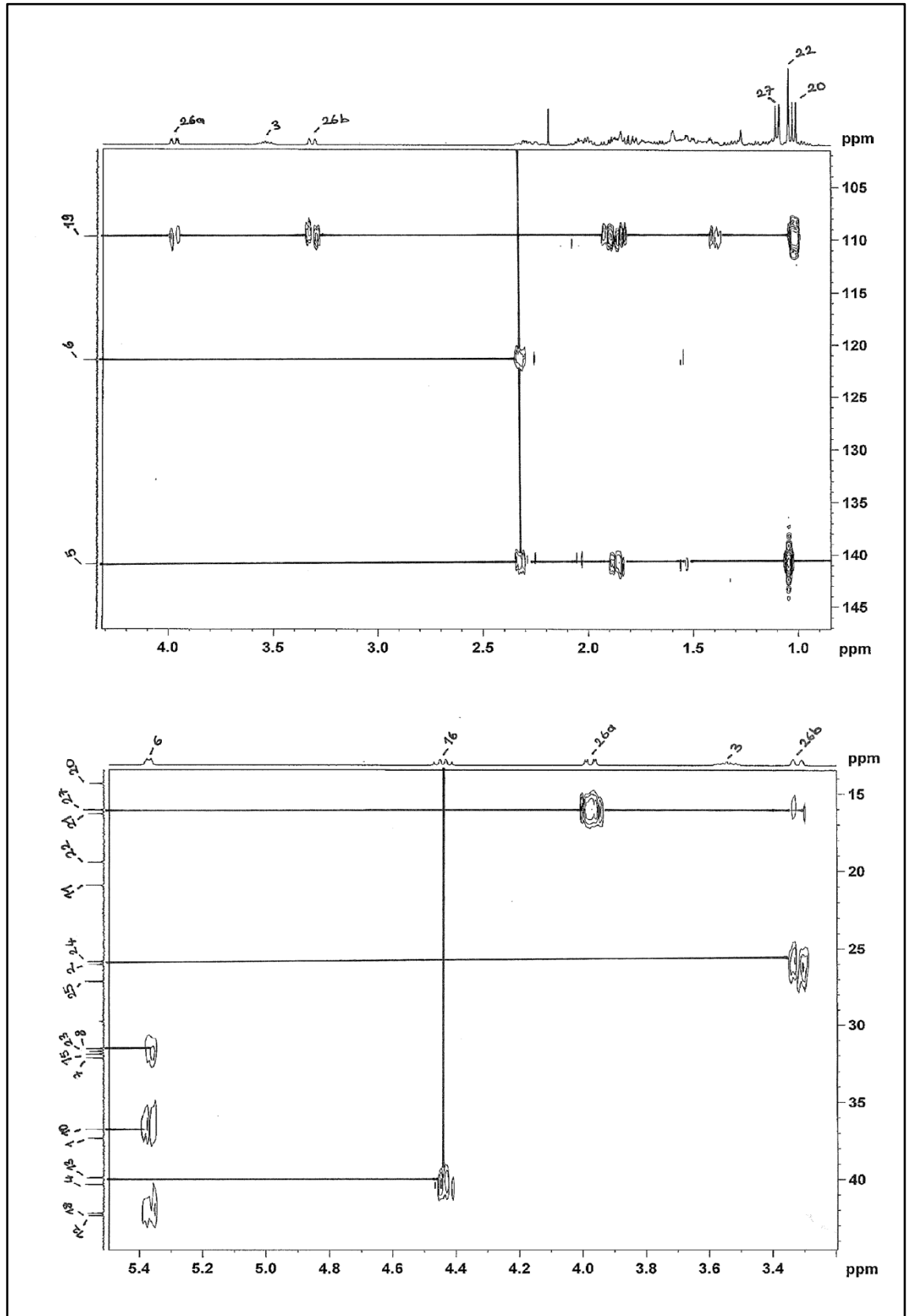
Şekil 4.21. VA-4'ün (diosgenin) DEPT (CDCl₃, 400 MHz) spektrumu (0-80 ppm arası genişletilmiş spektrum)



Şekil 4.22. VA-4'ün (diosgenin) ^1H - ^1H COSY (CDCl_3 , 400 MHz) Spektrumu

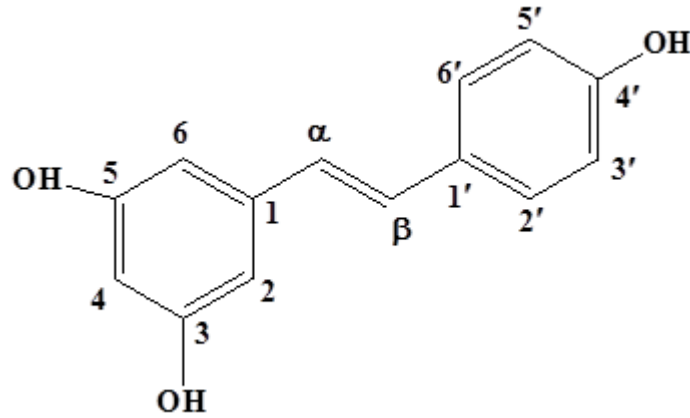


Şekil 4.23. VA-4'ün (diosgenin) ^{13}C - ^1H HMQC (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.24. VA-4'ün (diosgenin) ^{13}C - ^1H HMBC (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu

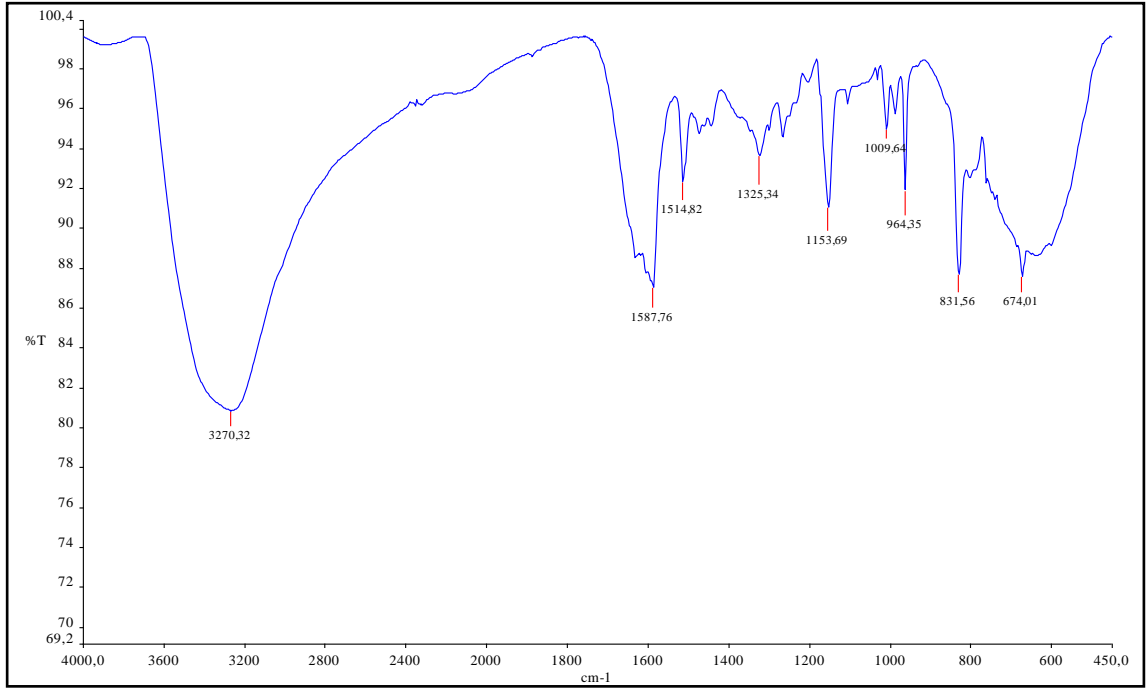
4.2.5. VA-5 kodlu bileşik



Resveratrol; $C_{14}H_{12}O_3$, MA: 228 g/mol

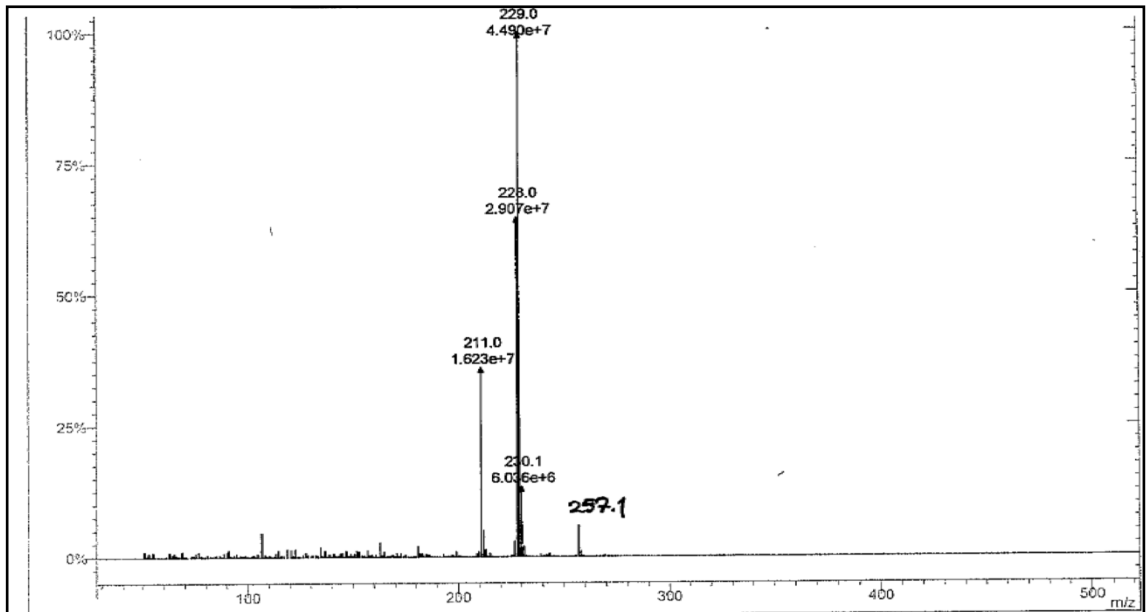
VA-5 bileşiği, UV_{366} nm de parlak, UV_{254} nm de mor renk veren amorf, görünür ışıktaki açık kahverengimsi renkli bir madde olarak izole edildi. Bileşiğin UV_{254} nm de mor renk vermesi fenolik karakterli bir madde olduğunu göstermektedir (Skoog *et al.* 1998). H_2SO_4 -vanilin reaktifi ($105^\circ C$) ile kiremit kırmızısı şeklinde bir renk veren bileşiğin erime noktası $255-256^\circ C$ (bozunma ile) olarak belirlendi. VA-5'in UV spektrumunda (λ_{max} nm, CH_3Cl) maksimum absorptans değerleri 220 ve 305 nm olarak ölçüldü. Bu maksimum absorptans değerleri maddenin fenolik karakterli olduğuna işaret etmektedir (Skoog *et al.* 1998).

VA-5 bileşiğinin IR spektrumunda (Şekil 4.25) 3270 cm^{-1} dalga boyunda gözlenen kuvvetli absorptans ve $2800-3000\text{ cm}^{-1}$ dalga boyu aralığında gözlenemeyen alifatik -CH titreşim bantları molekülün fenolik karakterli olduğunu doğrulamaktadır. Aromatik halkadaki C=C bağları titreşim bantları ise 1578 , 1514 ve 1325 cm^{-1} dalga boylarında gözlenmiştir (Erdik 1998; Skoog *et al.* 1998).



Şekil 4.25. VA-5'in (resveratrol) IR spektrumu

VA-5'in kütle spektrumunda (Şekil 4.26) M^+ piki beklenildiği gibi $m/z=229$ olarak gözlenmiştir.

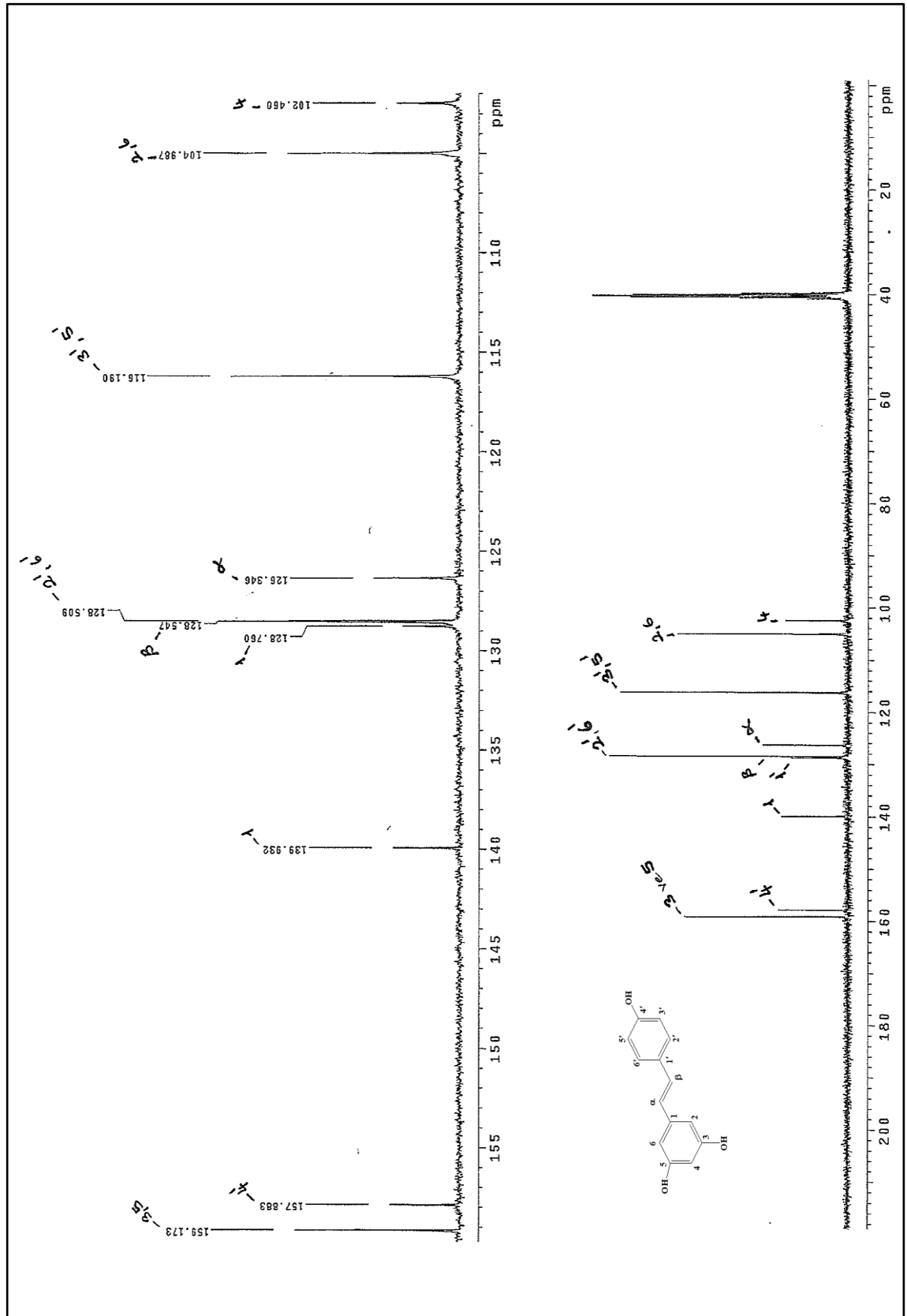


Şekil 4.26. VA-5'in (resveratrol) kütle spektrumu

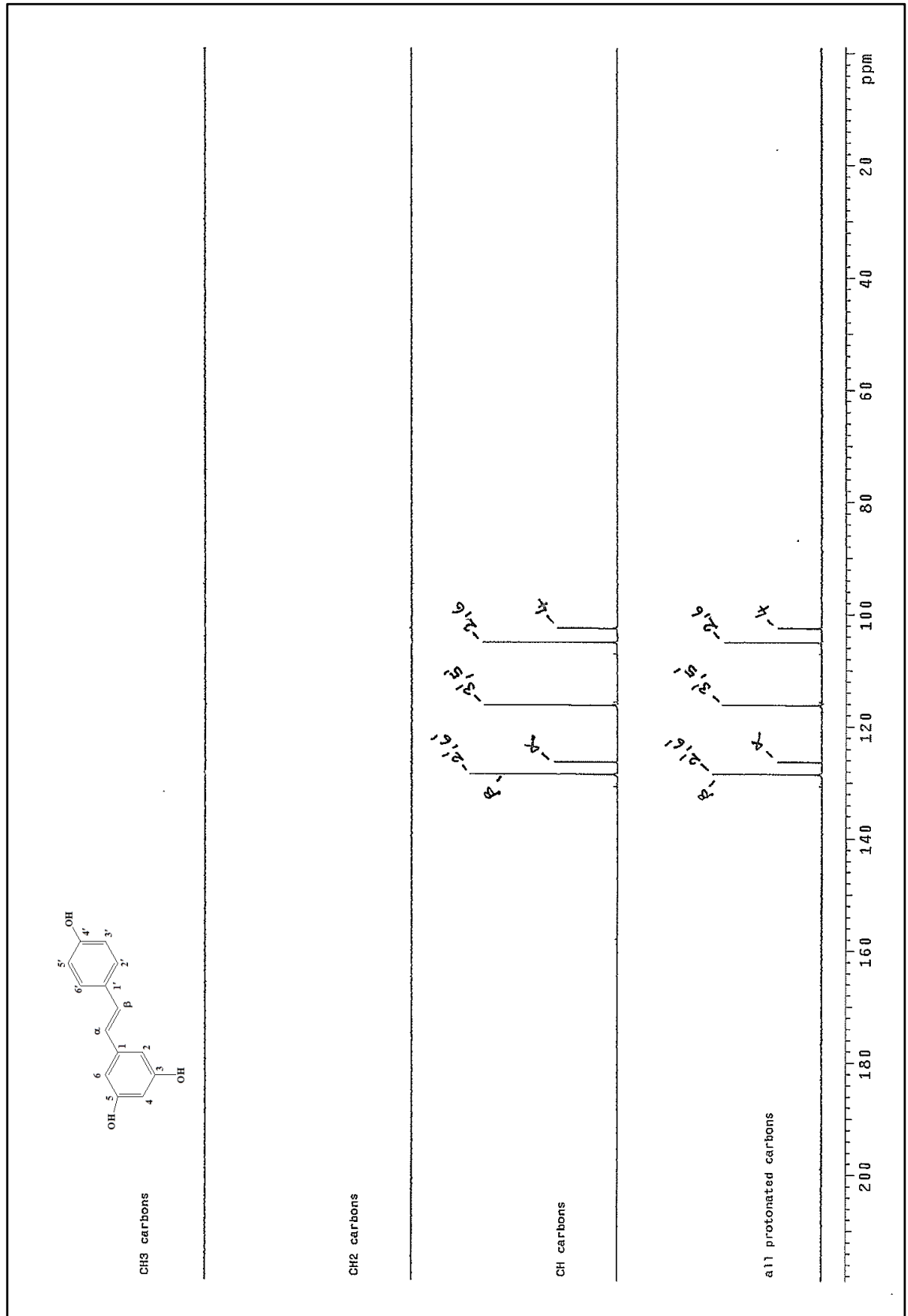
VA-5 bileşiğinin molekül yapısı UV, IR, MS, ^1H NMR, ^{13}C NMR, DEPT, ^1H - ^1H COSY ve ^{13}C - ^1H HETCOR spektral verileri ile **resveratrol** olarak aydınlatılmıştır. Resveratrolün ^1H NMR spektrumunda (Şekil 4.27) aromatik ve olefinik protonların rezonansları $\delta= 6,09-7,38$ ppm aralığında gözlenmiştir. Olefinik protonlar (H- α ve H- β) bir AB sistemi vererek $\delta=6,78$ ppm ($J=16,4$ Hz) ve $\delta=6,91$ ppm'de iki ayrı dublet sinyal vermişlerdir. $J=16,4$ Hz olması bu hidrojenlerin *trans* olduğunu göstermektedir. H-2', H-6', H-3', H-5' protonları *p*- dallanmaya bağlı olarak $\delta=7,37$ ppm ve $\delta=6,73$ ppm'de ($J=8,60$ Hz) bir AA'XX' sistemi vermiştir. H-2 ve H-6 protonları $\delta=6,36$ ppm ($J=2,20$ Hz) de, H-4 protonu $\delta=6,1$ ppm ($J=2,20$ Hz)'de rezonans olmaktadır. Aromatik halkaya bağlı -OH grupları ise $\delta=9,18$ ppm (2xH) ve $\delta=9,53$ ppm (1xH) rezonans olmuşlardır.

VA-5'in ^{13}C -NMR spektrumunda (Şekil 4.28) toplam 9 karbon sinyali gözlenmiş olup tüm sinyaller olefinik bölgededir. Bu rezonans bilgileri resveratrolün molekül yapısı ile uyumludur. VA-5 bileşiği 14 karbonlu olmasına rağmen spektrumda 9 sinyalin gözlenmesi çakışmalardan ileri gelmektedir. Spektrumda da görüleceği üzere C-2 ve C-6 karbonları $\delta=104,99$ ppm, C-3' ve C-5' karbonları $\delta=116,19$ ppm, C-2' ve C-6' karbonları $\delta=128,51$ ppm ve C-3 ve C-5 karbonları $\delta=159,17$ ppm'de beraber rezonans olmuşlardır.

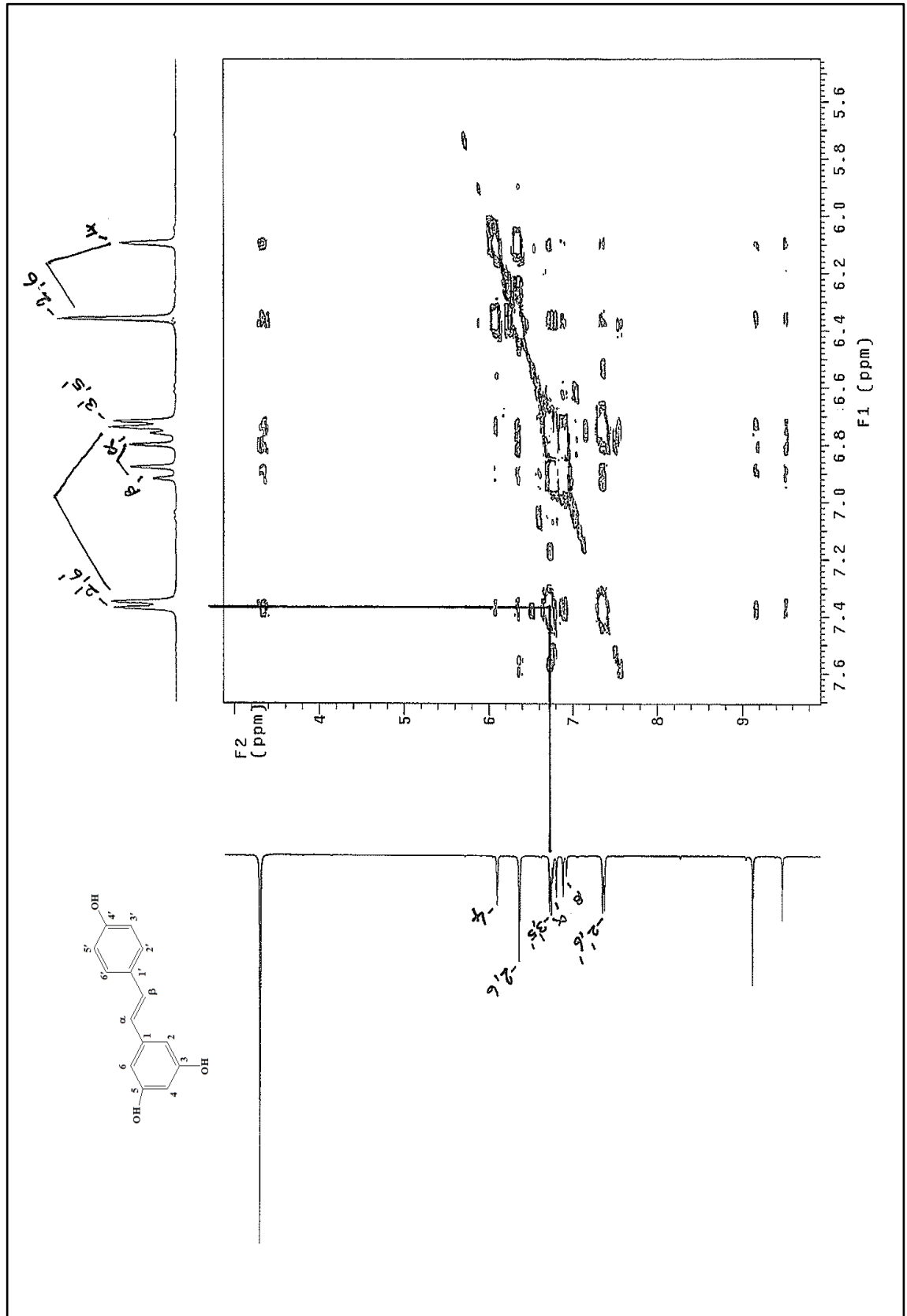
Bileşiğin DEPT spektrumu (Şekil 4.29) da molekül yapısı ile tam bir uyum içerisindedir. DEPT spektrumundan görüleceği üzere molekülde -CH₃ ve CH₂ karbonları gözlenmemiş, sadece 6 adet -CH karbon sinyali gözlenmiştir. Bileşiğin ^1H - ^1H -COSY (Şekil 4.30) ve ^{13}C - ^1H HETCOR (Şekil 4.31) spektrumundaki korelasyonlar da resveratrolün molekül yapısını doğrulamaktadır. VA-5'in molekül yapısının resveratrol olduğu ayrıca daha önce yayınlanmış literatür bilgileriyle de doğrulanmıştır (Mattivi *et al.* 1995; Trela and Waterhouse 1996).



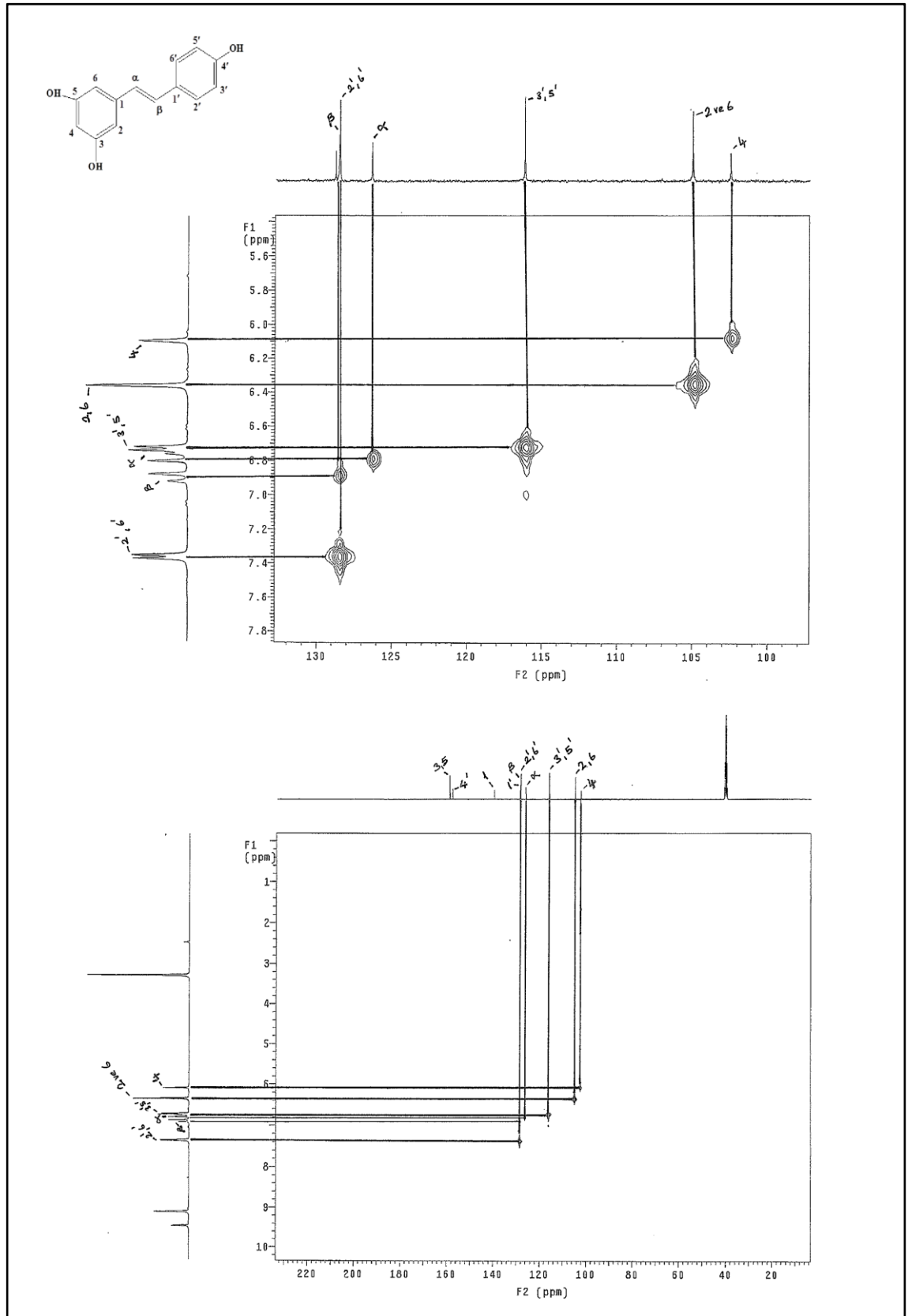
Şekil 4.28. VA-5'in (resveratrol) ^{13}C -NMR (DMSO-d_6 , 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.29. VA-5'in (resveratrol) DEPT (DMSO-d₆, 400 MHz) spektrumu

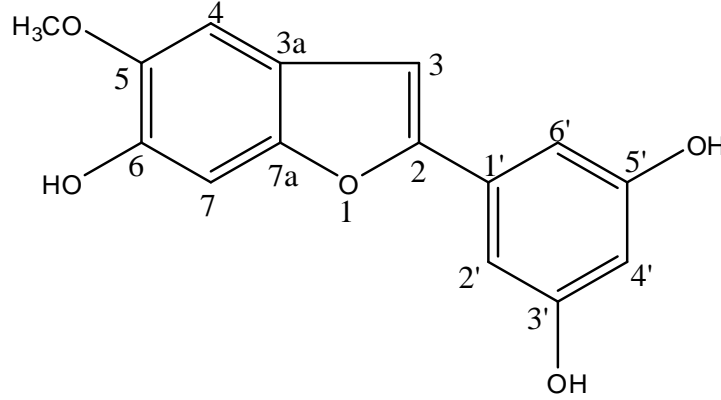


Şekil 4.30. VA-5'in (resveratrol) ^1H - ^1H COSY (DMSO-d_6 , 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.31. VA-5'in (resveratrol) ^{13}C - ^1H HETCOR (DMSO-d_6 , 400 MHz) spektrumu

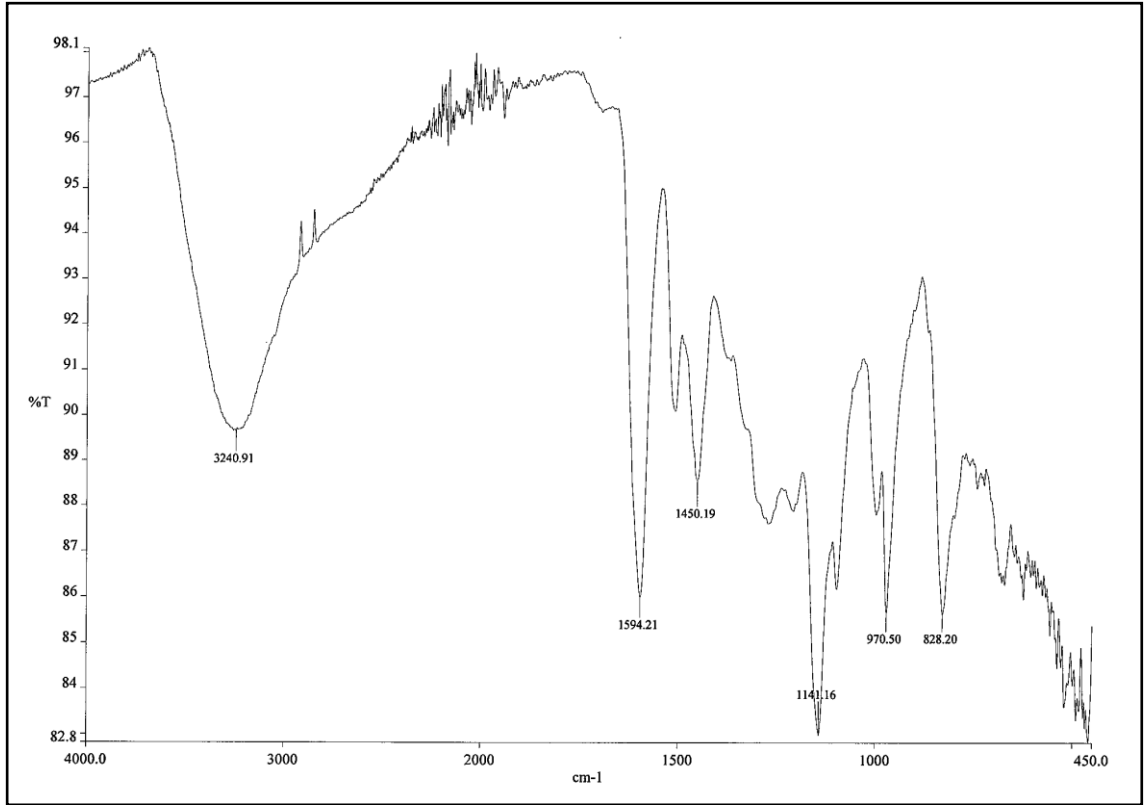
4.2.6. VA-6 kodlu bileşik



Moracin J; C₁₄H₁₂O₃, MA: 272 g/mol

VA-6 bileşiği görünür ışıktta açık kahverengimsi, UV₃₆₆ nm de renksiz, UV₂₅₄ nm de mor renk veren, amorf, koyu kahverengi bir madde olarak izole edildi. Maddenin UV₂₅₄ nm de mor renk vermesi fenolik karakterli bir madde olduğunu göstermektedir (Skoog *et al.* 1998). Bu özellikleri VA-6 maddesinin bizde resveratrol (VA-5) veya oksiresveratrol maddeleri (VA-7) türevi bir madde olacağı düşüncesini doğurdu. H₂SO₄-vanilin reaktifi (105°C) ile kiremit rengi veren bileşiğin UV spektrumunda (λ_{\max} nm, DMSO) maksimum absorbans değeri 330 nm olarak ölçüldü. Bu maksimum absorbans maddenin fenolik karakterli olabileceğine işaret etmektedir (Skoog *et al.* 1998).

VA-6 bileşiğinin IR spektrumunda (Şekil 4.32) fenolik karakterli bir bileşikten beklendiği gibi 3240 cm⁻¹ de aromatik -OH titreşim bantları, 1594 ve 1450 cm⁻¹ de C=C titreşim bantları, 1141 cm⁻¹ de kuvvetli C-O absorbans bandı gözlemlendi (Erdik 1998; Skoog *et al.* 1998).



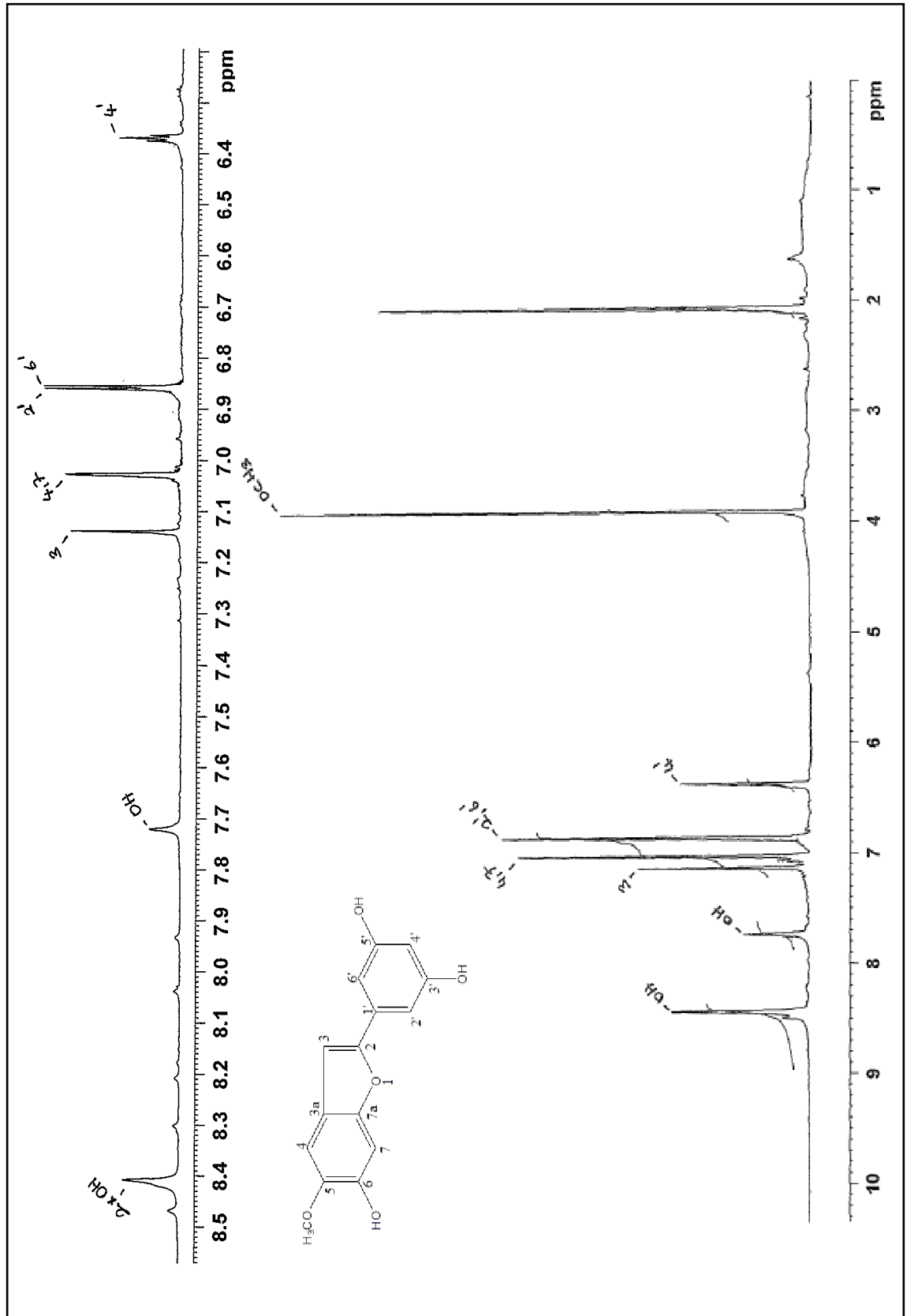
Şekil 4.32. VA-6'nın (moracin J) IR spektrumu

VA-6 bileşiğinin molekül yapısı UV, IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR ve DEPT spektral verileri ile stilbenoid türevlerinden fenolik karakterli bir madde olan **moracin J** olarak aydınlatıldı.

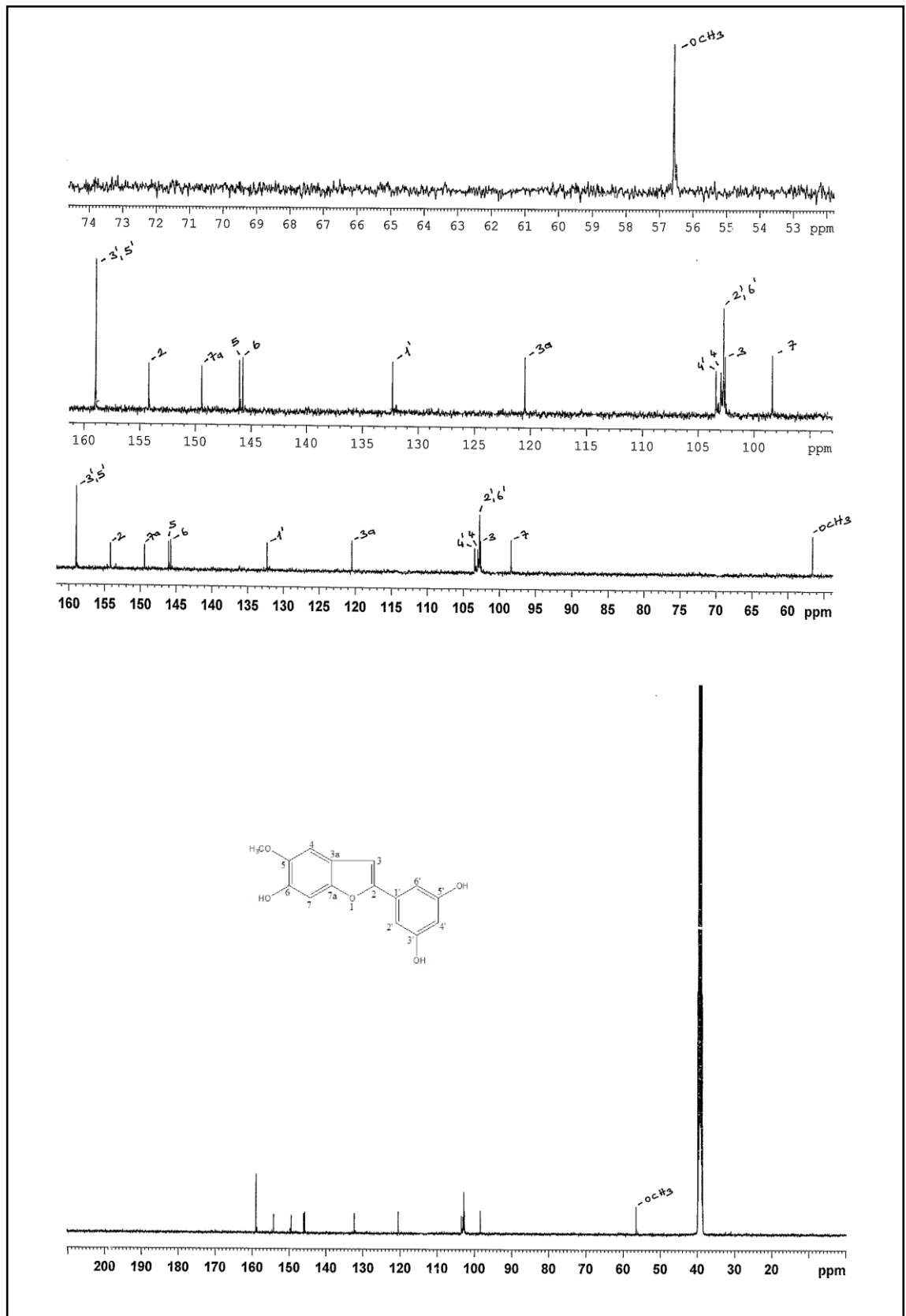
Moracin J molekülünün (VA-6) ^1H -NMR spektrumundan (Şekil 4.33) görüleceği üzere, integrasyon ile 3 protona tekabül eden, aromatik $-\text{OH}$ hidrojenleri $\delta=8,43$ ppm (2xH) ve $\delta=7,74$ ppm'de (1xH) geniş singlet vererek rezonans olmuşlardır. Diğer aromatik hidrojenler ise $\delta=6.37-7.24$ ppm arasında integrasyon ile 6 protona karşılık gelecek şekilde rezonans olmuşlardır. H-4' protonu $\delta=6,37$ ppm'de ($J=1,5$ Hz) triplet sinyal vererek rezonans olurken, H-2' ve H-6' protonlarına ait rezonans sinyalleri $\delta=6,86$ ppm'de ($J=1,5$ Hz) dublet, H-4 ve H-7 protonlarına ait rezonans sinyalleri $\delta=7,03$ ppm ve H-3 protonuna ait rezonans sinyal ise $\delta=7,14$ ppm'de singlet olarak gözlenmiştir. Metoksil grubuna ait sinyal ise $\delta=3,91$ ppm'de şiddetli bir singlet olarak gözlenmektedir.

VA-6 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumunun (Şekil 4.34) resveratrol (VA-5) ve oksiresveratrolün (VA-7) ^{13}C -NMR spektrumlarına çok benzemesi VA-6'nın da stilbenoit türevi bir madde olduğunu açıkça göstermektedir. Bu maddelere ait ^{13}C -NMR spektrumlarında olduğu gibi VA-6 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumunda toplam 13 karbon sinyali gözlenmiştir. Molekül yapısına uygun olarak karbon sinyalinde görülen eksiklik bazı karbon sinyallerinin aynı yerde rezonans olmasından kaynaklanmaktadır. Spektrumdan görüleceği üzere $\delta=159,0$ ve $\delta=102,8$ ppm'de gözlenen karbon sinyalleri diğer karbon sinyallerine nazaran daha şiddetli olup bu sinyaller sırasıyla 3'-5' ve 2'-6' karbonlarına aittir. O atomuna bağlı 2, 7a, 5 ve 6 numaralı karbon atomları diğer olefinik karbonlara göre daha aşağı alanda sırasıyla $\delta=154,2$ ppm, $\delta=149,4$ ppm, $\delta=146,1$ ppm ve $\delta=145,8$ ppm'de rezonans olmuştur. $\delta=132,3$ ppm ve $\delta=120,5$ ppm'de gözlenen karbon sinyalleri sırasıyla C-1' ve C-3a karbonlarına ait sinyallerdir. OH grubu taşımayan karbonlar ise daha yukarı alanda, $\delta=103,4-98,4$ ppm aralığında rezonans olmuşlardır. $\delta=56,6$ ppm'de gözlenen karbon sinyali ise $-\text{OCH}_3$ karbonuna ait sinyaldir. VA-6'nın DEPT spektrumunda (Şekil 4.35) önerilen molekül yapısıyla uyumlu olarak bir adet $-\text{OCH}_3$ karbonuna ait sinyal ve 6 adet ise $\delta=103,4-98,4$ ppm aralığında rezonans olan $-\text{CH}$ karbon sinyali gözlenmiştir.

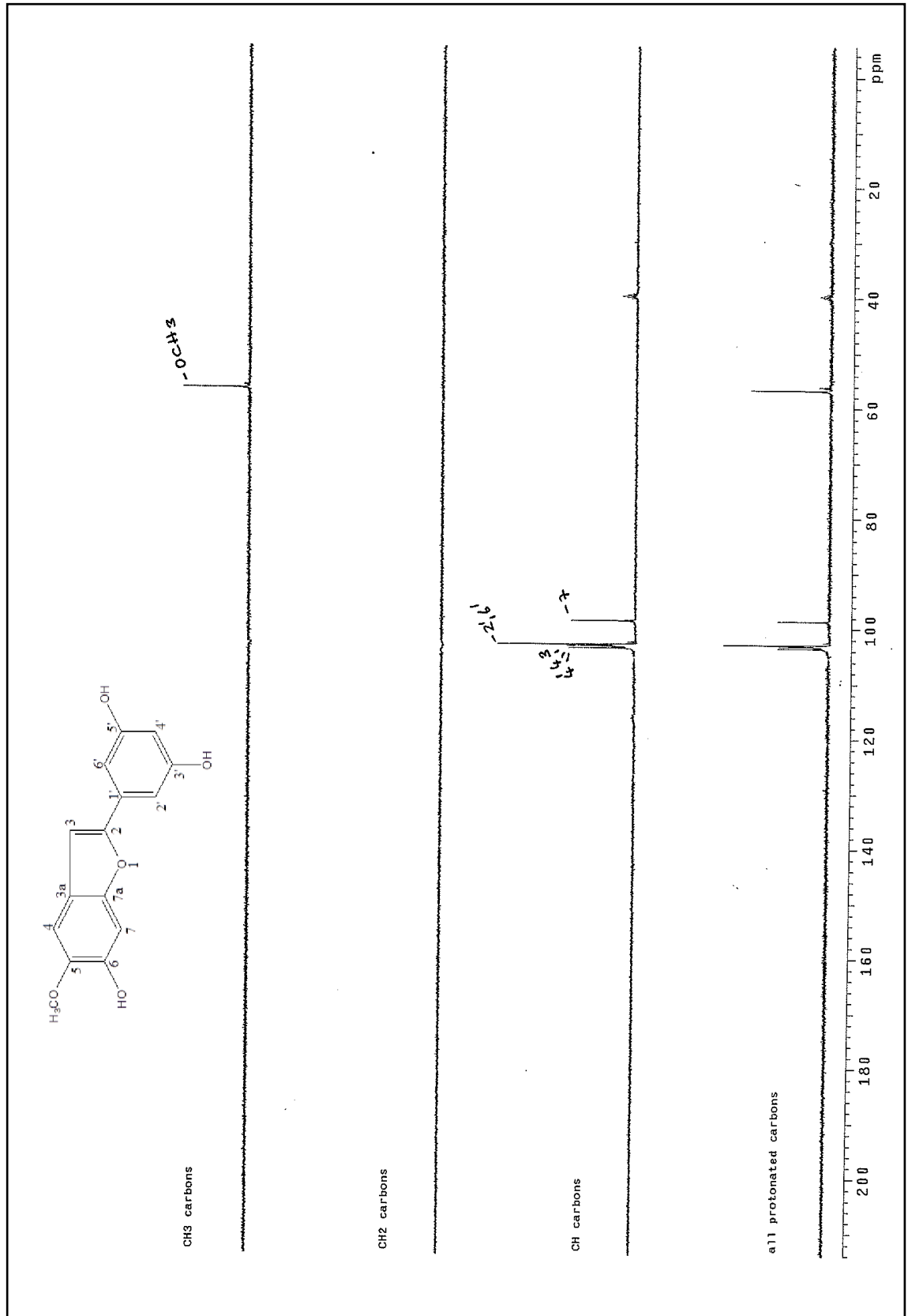
VA-6 bileşiğinin spektral verileri daha önce yayınlanmış olan spektral verilerle de uyum içerisinde olup VA-6'nın molekül yapısının **moracin J** olduğunu doğrulamaktadır (Basnet *et al.* 1993; Kanchanapoom *et al.* 2002; Tan *et al.* 2010).



Şekil 4.33. VA-6'nin (moracin J) $^1\text{H-NMR}$ (aseton- d_6 , 400 MHz) spektrumu

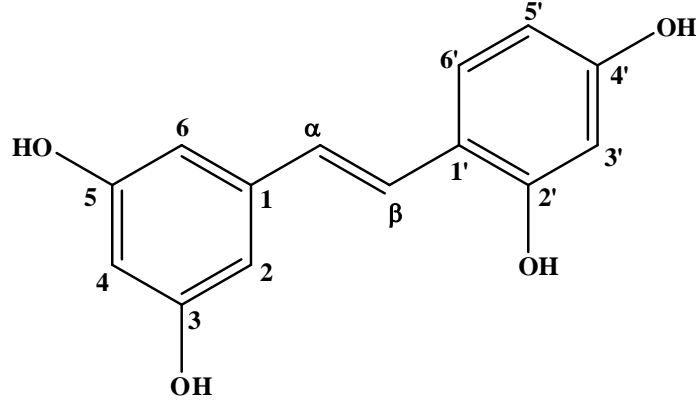


Şekil 4.34. VA-6'nin (moracin J) ^{13}C -NMR (DMSO-d_6 , 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.35. VA-6'nm (moracin J) DEPT (DMSO-d₆, 400 MHz) spektrumu

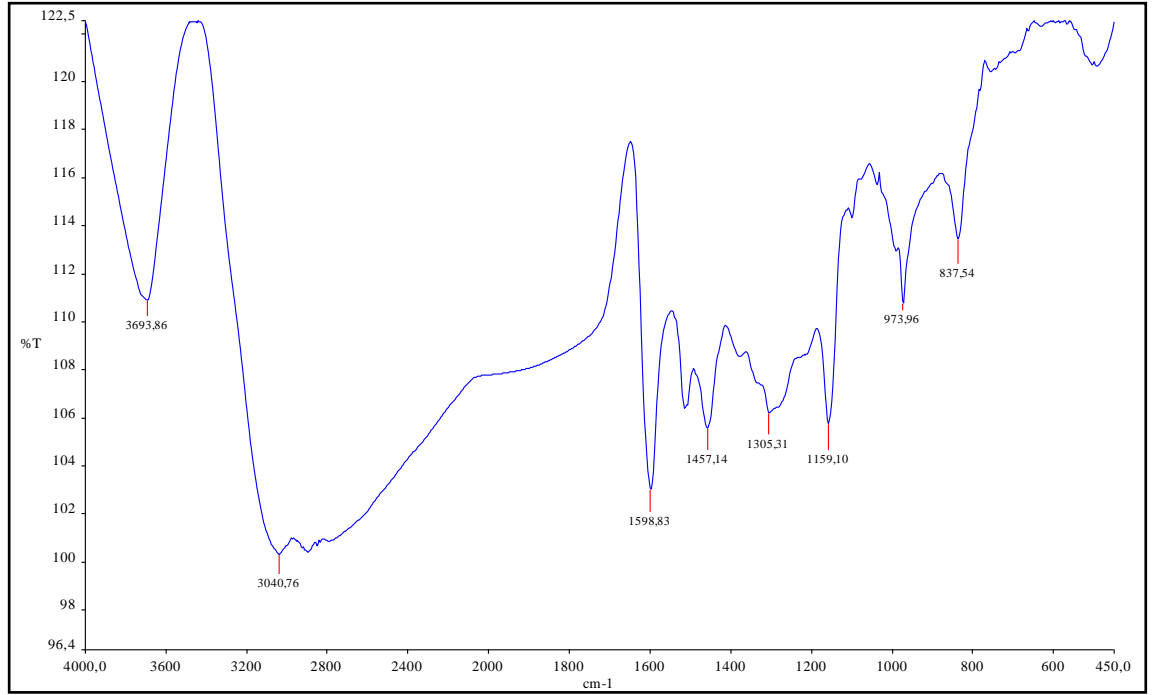
4.2.7. VA-7 kodlu bileşik



Oksiresveratrol; $C_{14}H_{12}O_4$; MA: 244 g/mol

VA-7 bileşiği, görünür ışıktaki renksiz, UV_{366} nm de parlak beyaz, UV_{254} nm de mor renk veren, amorf, koyu kahverengi bir madde olarak izole edildi. Maddenin UV_{254} nm de mor renk vermesi fenolik karakterli bir madde olduğunu göstermektedir (Skoog *et al.* 1998). Bu özellikleri açısından VA-7 bileşiği resveratrol (VA-5) maddesine çok benzemektedir. H_2SO_4 -vanilin reaktifi ($105^\circ C$) ile kırmızı renk veren maddenin erime noktası $199-200^\circ C$ olarak belirlendi. VA-7'nin UV spektrumunda (λ_{max} nm, DMSO) maksimum absorptans değerleri 223, 289 ve 327 nm olarak ölçüldü. Bu maksimum absorptanslar maddenin fenolik karakterli olduğunu doğrulamaktadır (Erdik 1998).

VA-7 bileşiğinin IR spektrumu da resveratrolün IR spektrumuna çok benzemektedir. Bu bilgiler bize VA-7'nin resveratrol benzeri bir madde olduğunu düşüncesini oluşturdu. VA-7'nin IR spektrumunda aromatik -OH titreşim bantları 3694 cm^{-1} dalga boyunda ve aromatik -CH titreşim bantları 3040 cm^{-1} de gözlenirken, aromatik C=C bağları 1599, 1457 ve 1305 cm^{-1} dalga boylarında absorptans vermiştir (Erdik 1998; Skoog *et al.* 1998).



Şekil 4.36. VA-7'nin (oksiresveratrol) IR spektrumu

VA-7 bileşiğinin molekül yapısı UV, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$, $^{13}\text{C-}^1\text{H HETCOR}$ ve HMBC spektral verileri ile resveratrol benzeri bir madde olan **oksiresveratrol** olarak aydınlatılmıştır.

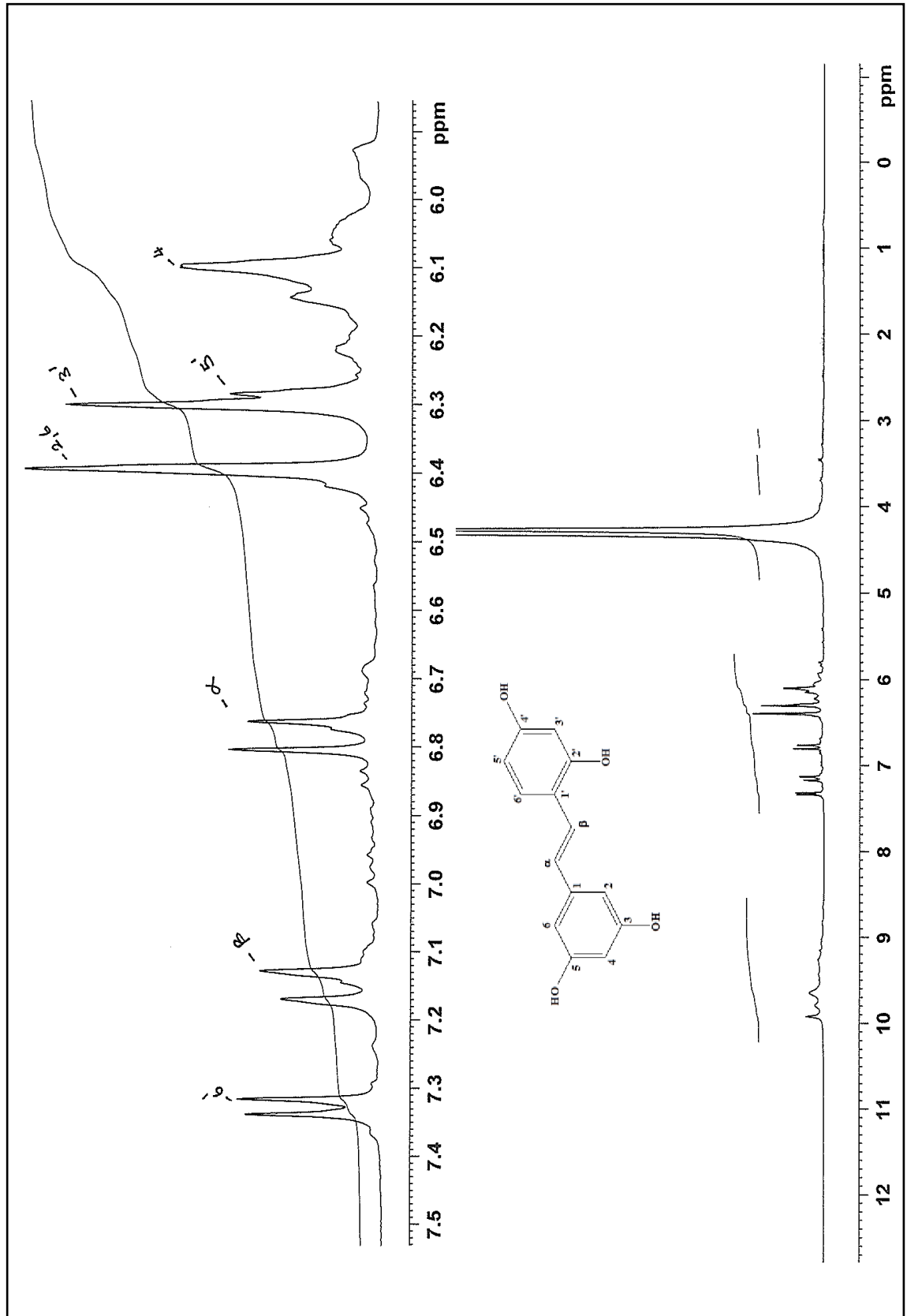
VA-7 bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (Şekil 4.37) $\delta=9-10$ ppm arasındaki yayvan sinyaller aromatik hidroksil gruplarına ait protonları göstermektedir. H- α ve H- β protonları $\delta=7,13$ ppm'de ($J=16,4$ Hz) ve $\delta=6,77$ ppm'de dublet ($J=16,4$ Hz) vermişlerdir. H-6' ve H-5' protonları sırasıyla $\delta=7,32$ ppm ve $\delta=6,30$ ppm'de birbirleriyle etkileşerek dublet sinyal ($J=8,20$ Hz) vermişlerdir. Diğer aromatik hidrojenler $\delta=6,40$ ppm'de (H-2 ve H-6), $\delta=6,30$ ppm (H-3') ve $\delta=6,10$ ppm'de (H-4) rezonans olmuşlardır.

VA-7 bileşiğinin $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (Şekil 4.38) toplam 12 karbon sinyali gözlenmiştir. Resveratrolün $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda olduğu gibi az karbon sinyalinin gözlenmesi özdeş karbon atomlarının aynı yerde rezonans olmasından

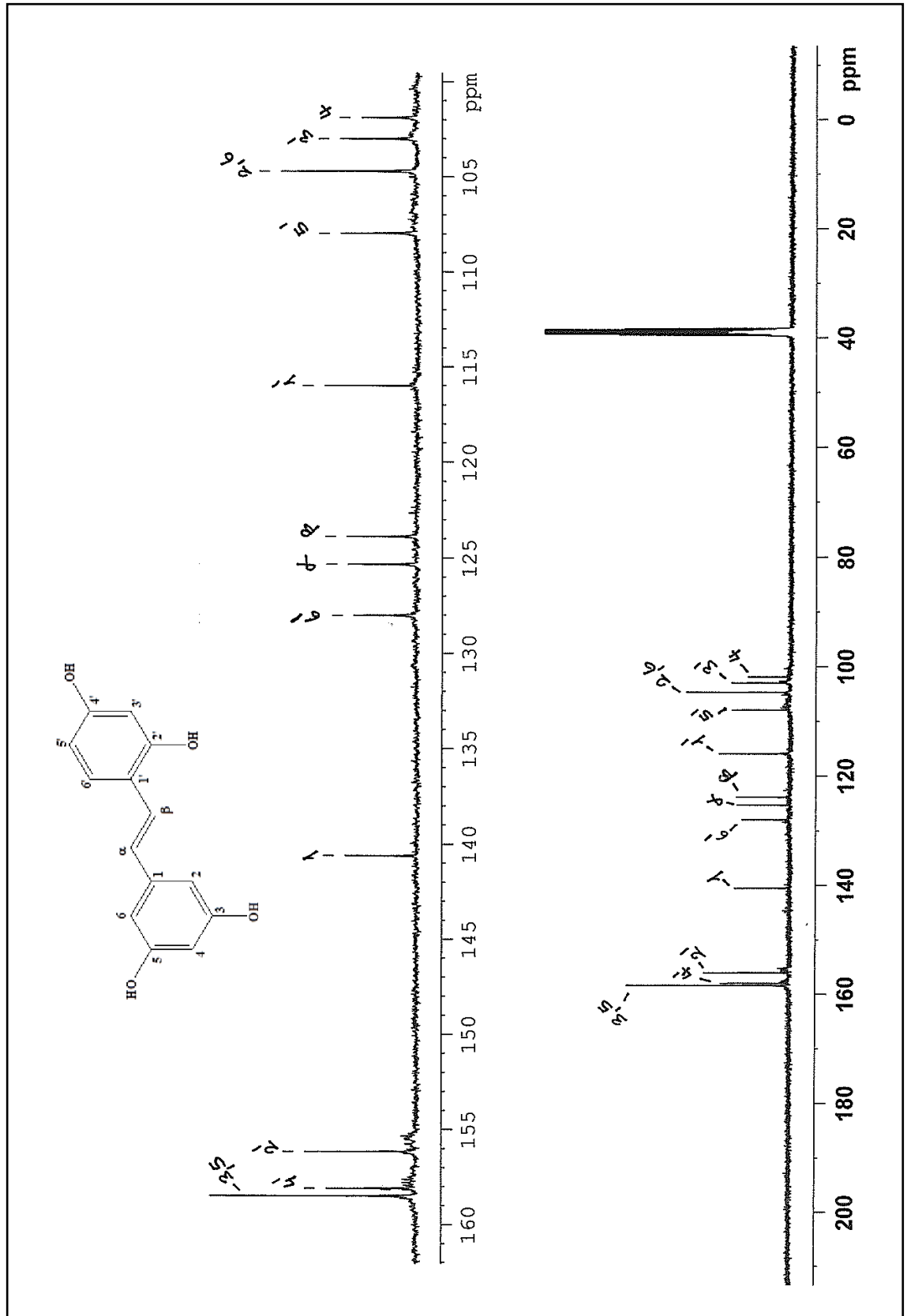
kaynaklanmaktadır. Özdeş C-2 ve C-6 karbonları $\delta=104,71$ ppm'de, C-3 ve C-5 karbonları $\delta=158,09$ ppm'de aynı yerde rezonans olmuşlardır.

VA-7'nin DEPT spektrumunda (Şekil 4.39) önerilen molekül yapısıyla uyumlu olarak sadece 8 adet -CH karbon sinyalleri gözlenmiştir.

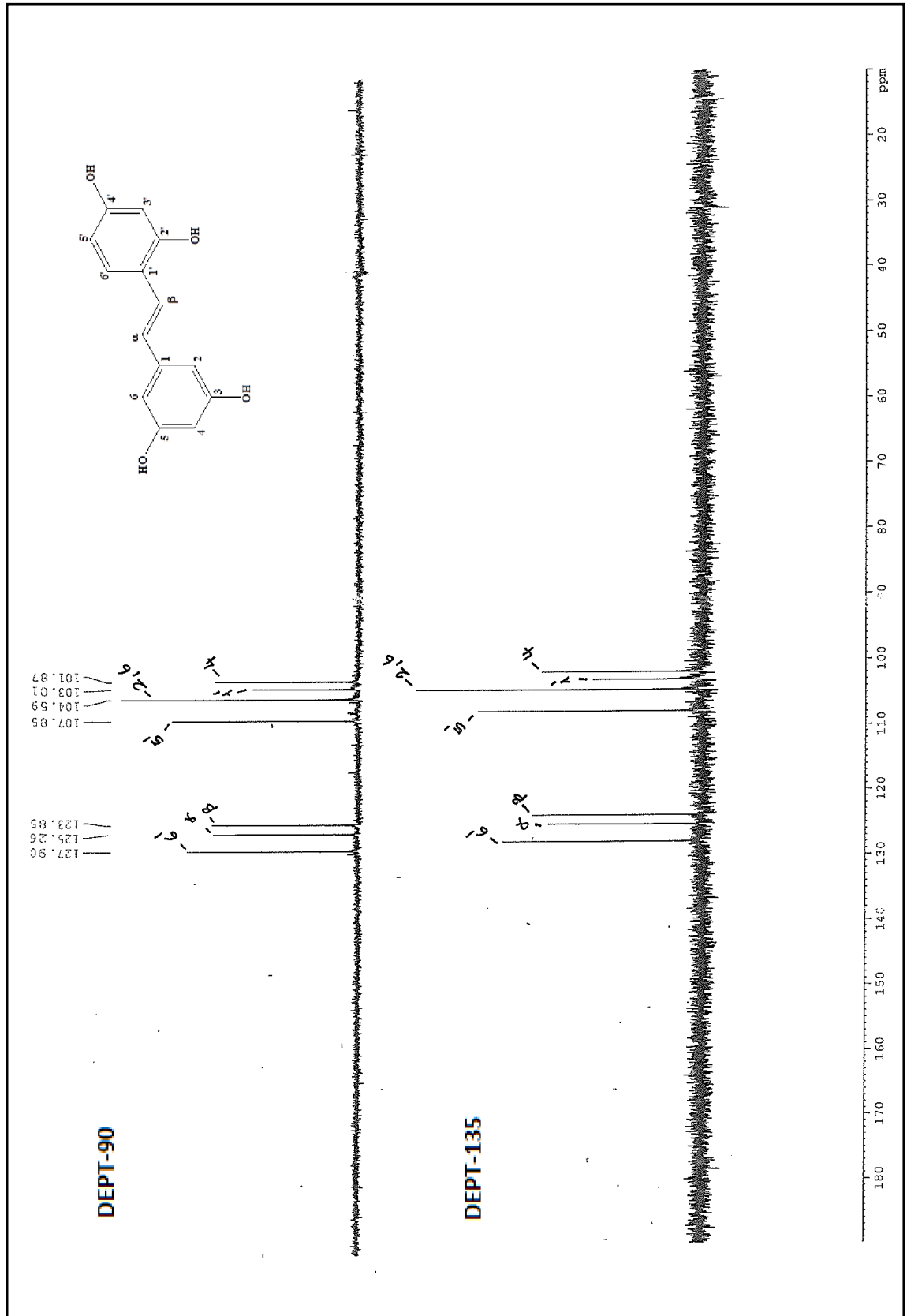
VA-7 bileşiğinin ^1H - ^1H COSY (Şekil 4.40), ^{13}C - ^1H HETCOR (Şekil 4.41) ve HMBC (Şekil 4.42) spektrumları da önerilen yapıyı doğrulamaktadır. Bileşiğin spektral verileri daha önce yayınlanmış olan spektral verilerle de uyum içerisindedir (Ban *et al.* 2006; Hakim *et al.* 2008).



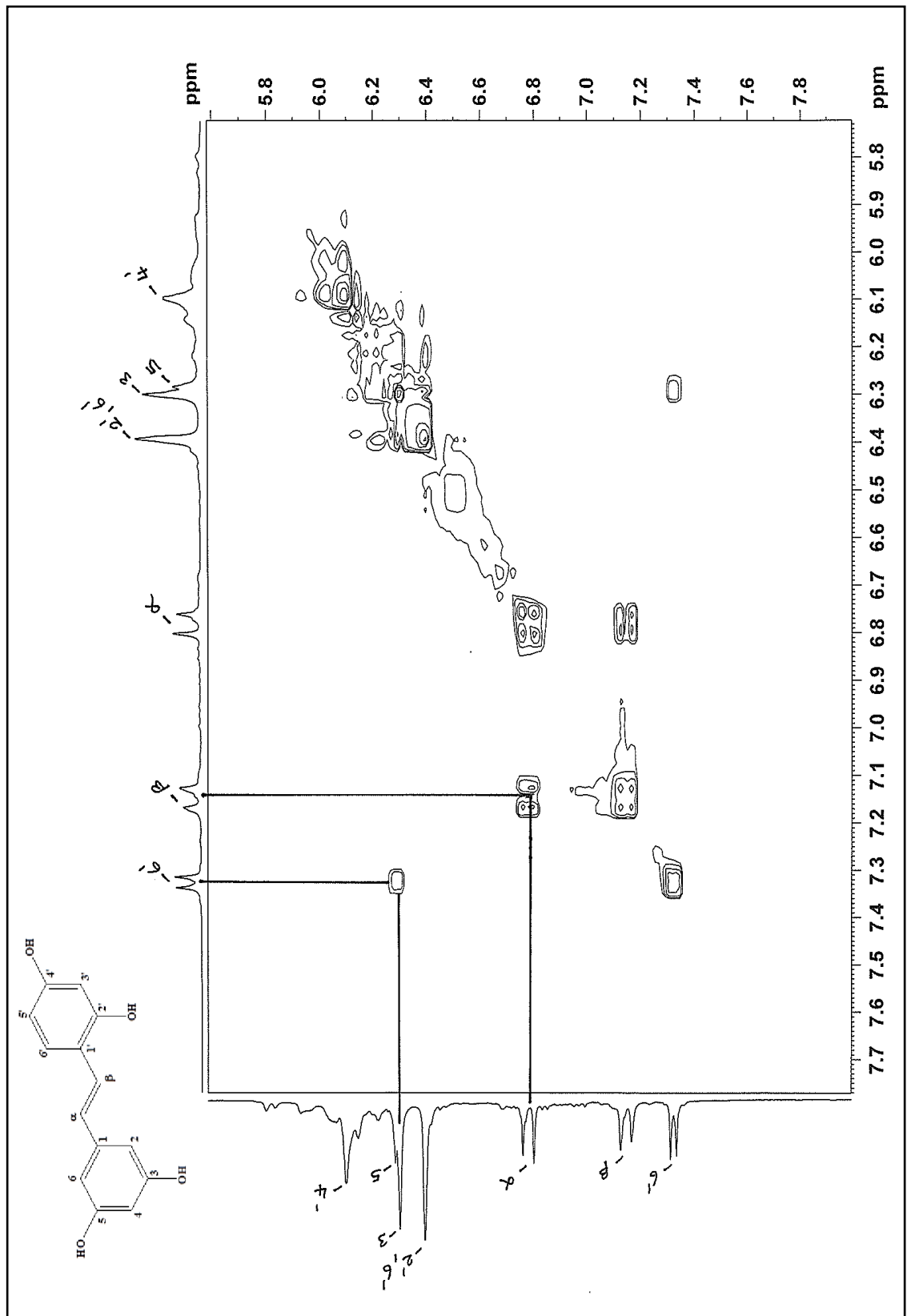
Şekil 4.37. VA-7'nin (oksiresveratrol) $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 400 MHz) spektrumu



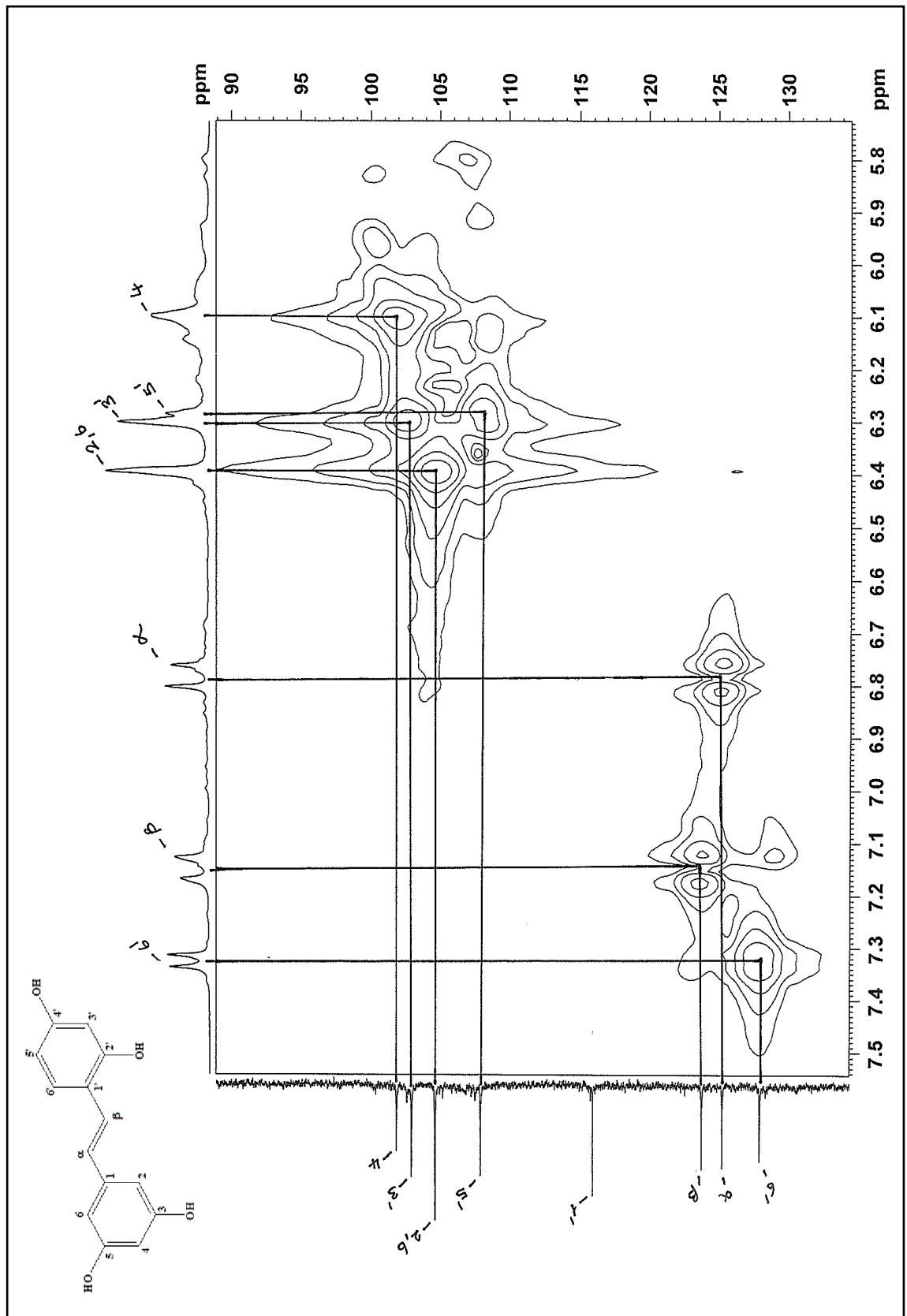
Şekil 4.38. VA-7'nin (oksiresveratrol) ^{13}C -NMR (DMSO-d_6 , 400 MHz) spektrumu



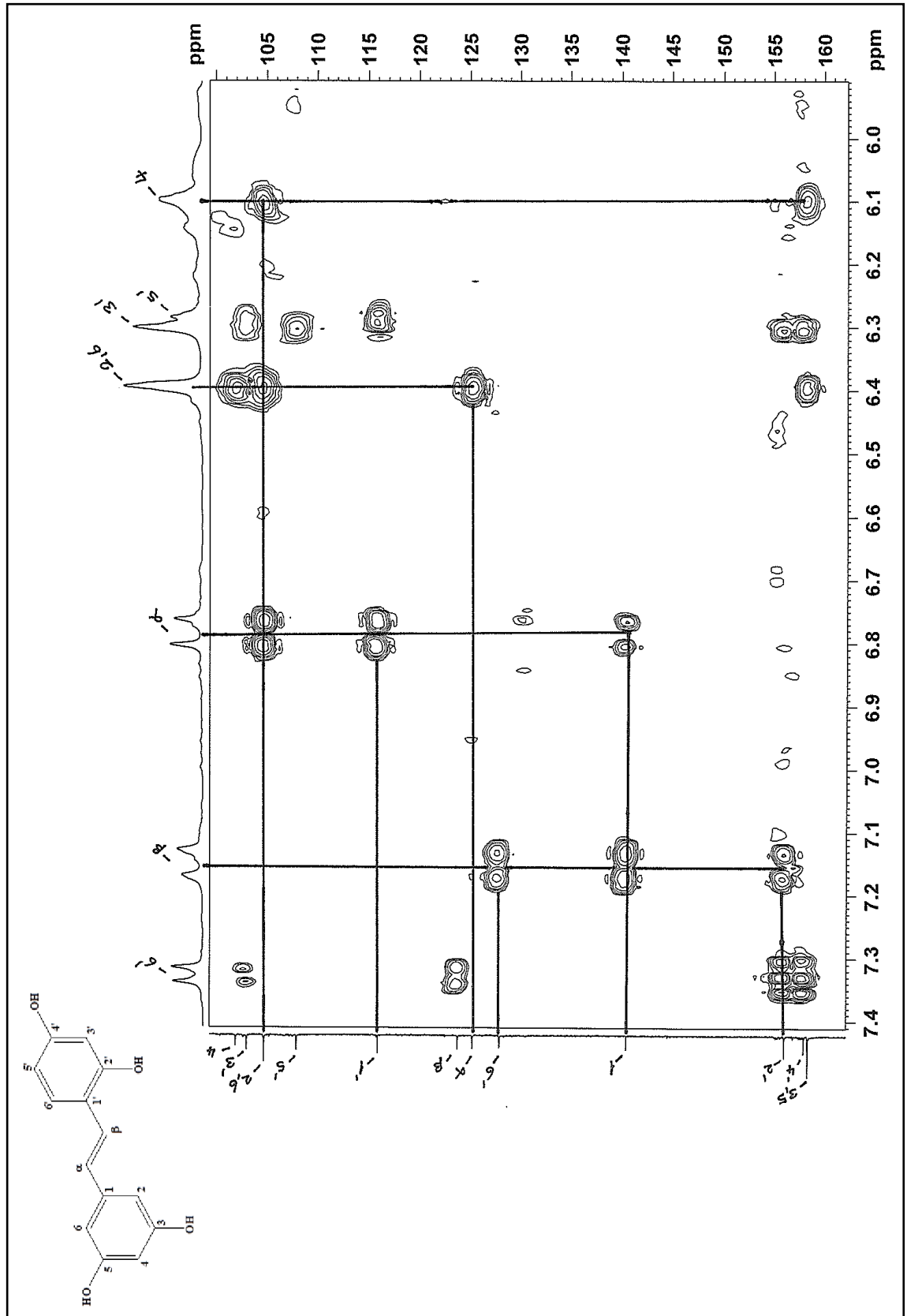
Şekil 4.39. VA-7'nin (oksiresveratrol) DEPT (DMSO-d₆, 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.40. VA-7'nin (oksiresveratrol) ^1H - ^1H COSY (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu

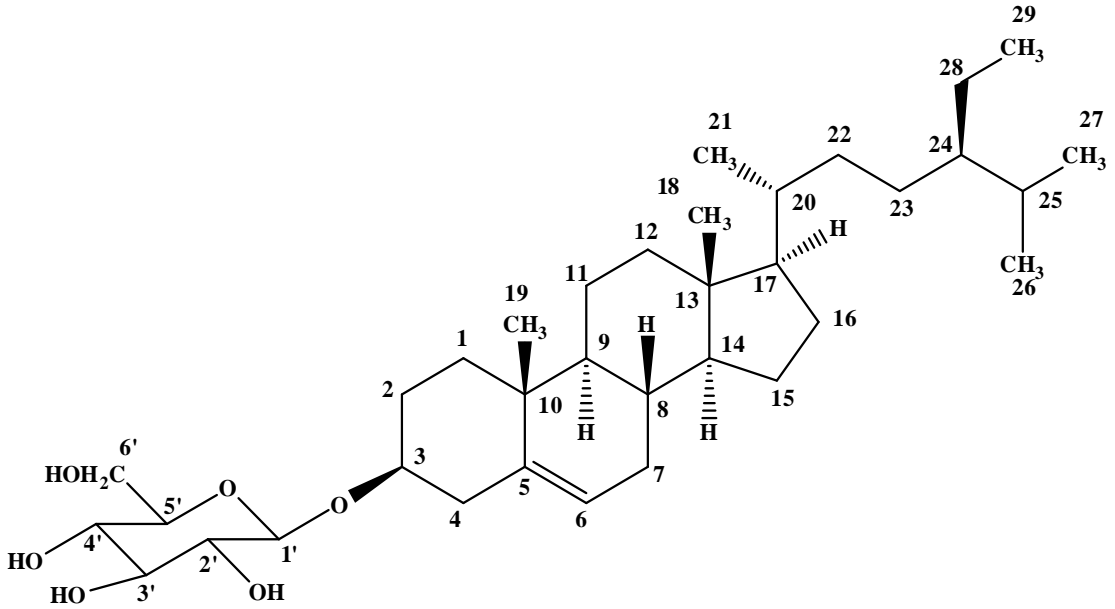


Şekil 4.41. VA-7'nin (oksiresveratrol) ^{13}C - ^1H HMQC (DMSO-d_6 , 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.42. VA-7'nin (oksiresveratrol) ^{13}C - ^1H HMBC (DMSO-d_6 , 400 MHz) spektrumu

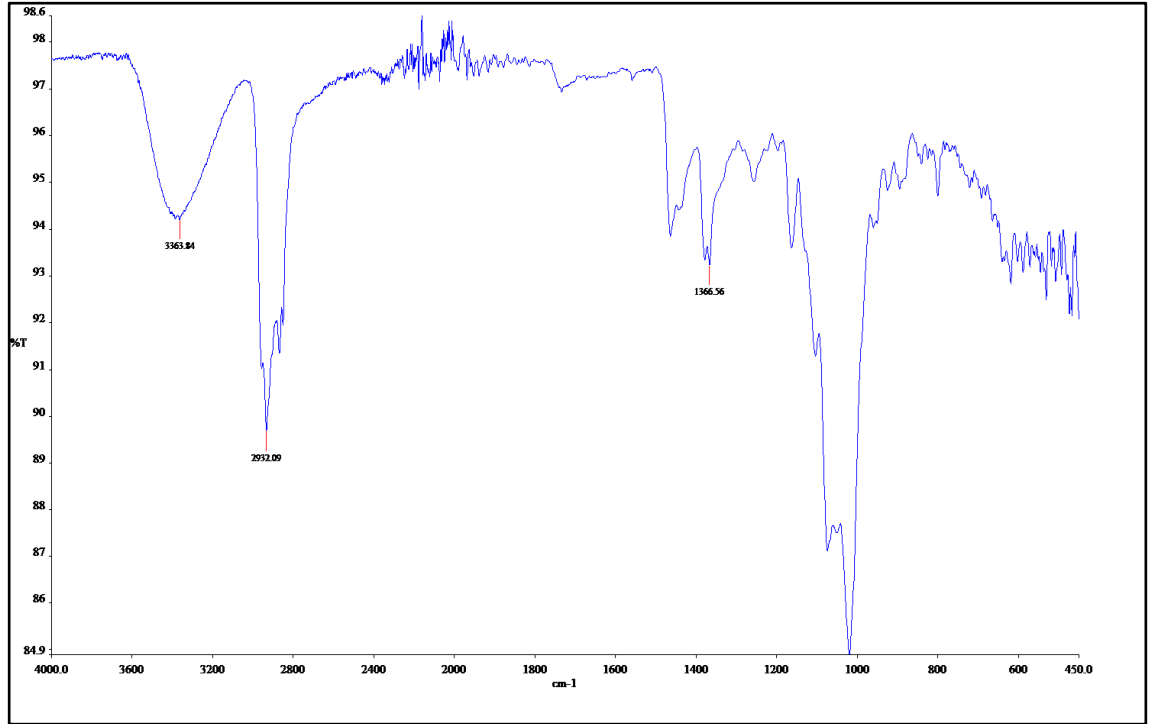
4.2.8. VA-8 kodlu bileşik



β -Sitosterol 3-O- β -D-glikopiranozit; $C_{35}H_{60}O_6$; MA: 576 g/mol;

$$[\alpha]_D^{20} = -30^\circ (C_5H_5N, c=1)$$

VA-8 bileşiği amorf bir katı madde olarak izole edildi. İTK'da görünür ışıhta UV_{254} nm de mor renk veren ve UV_{366} nm de renk vermeyen VA-8, H_2SO_4 -vanilin reaktifi ($105^\circ C$) ile pembe-mor renk vermektedir. Maddenin erime noktası $297-299^\circ C$ olarak belirlendi. Madde aynı zamanda erirken de bozunmuştur. H_2SO_4 -vanilin reaktifi ($105^\circ C$) ile maddenin pembemsi renk vermesi maddenin steroid veya terpenik yapılı bir madde olacağı düşüncesini bizde oluşturdu (Sakar ve Tanker 1991; Wagner and Blatt 1996). Bileşik UV spektrumunda (λ_{max} nm, MeOH) 224 nm de bir steroid veya terpen yapısına uygun olarak maksimum absorbands vermiştir. VA-8 bileşiğinin IR spektrumunda (Şekil 4.43) 3363 cm^{-1} dalga boyunda gözlenen geniş ve şiddetli absorbands bandı molekül yapısında -OH grubu veya gruplarının olduğuna işaret etmektedir. Molekülde alifatik grupların olduğunu doğrulayan C-H titreşim bantları ise 2932 cm^{-1} dalga boyunda absorbands vermişlerdir. Bunların yanı sıra 1366 cm^{-1} dalga boylarında gözlenen absorbands bantları C=C bağlarına, 1060 cm^{-1} ise ve C-O bağ titreşimlerine aittir (Erdik 1998; Skoog *et al.* 1998).

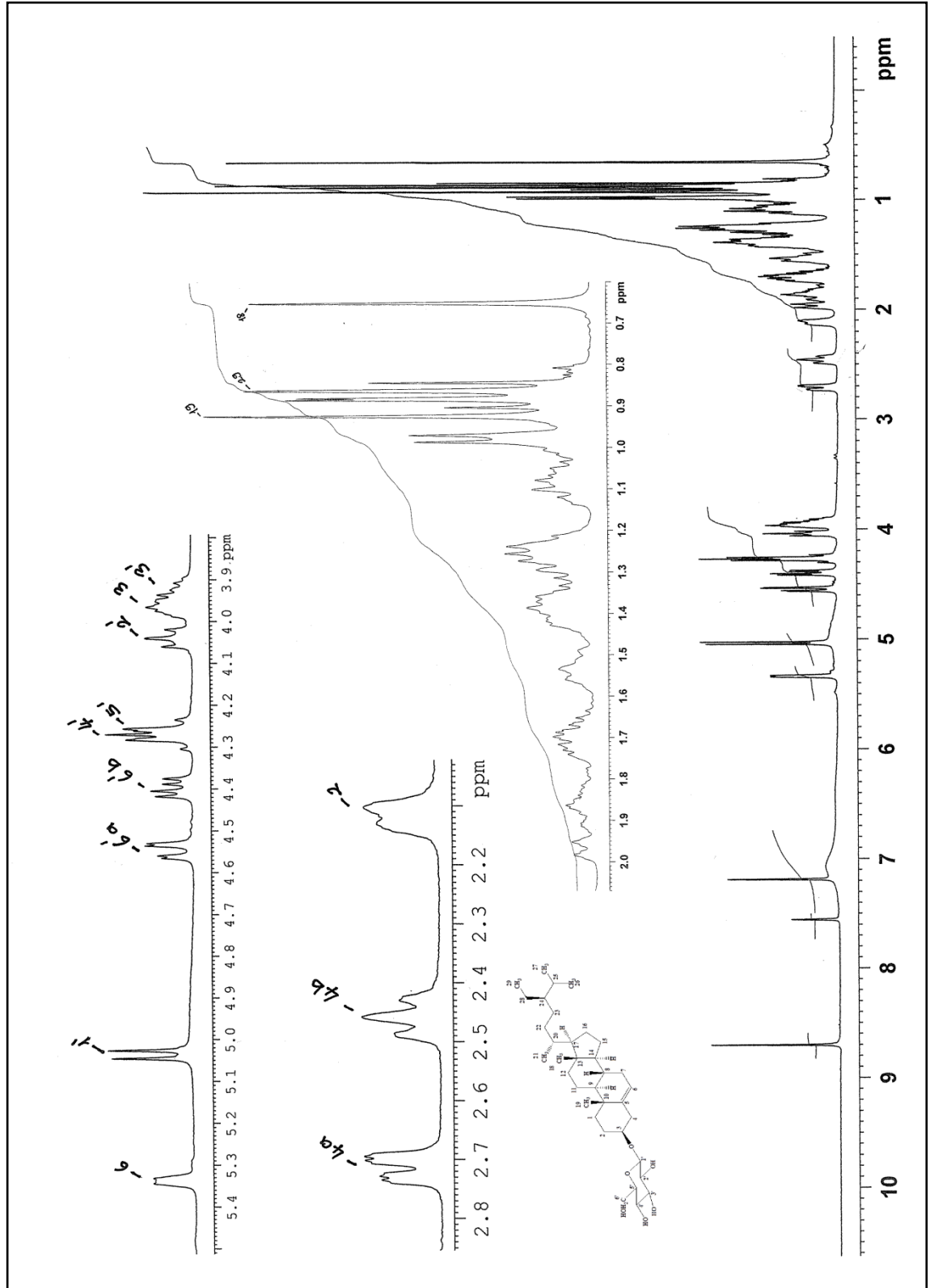


Şekil 4.43. VA-8'in (β -Sitosterol 3-O- β -D-glikopiranozit) IR spektrumu

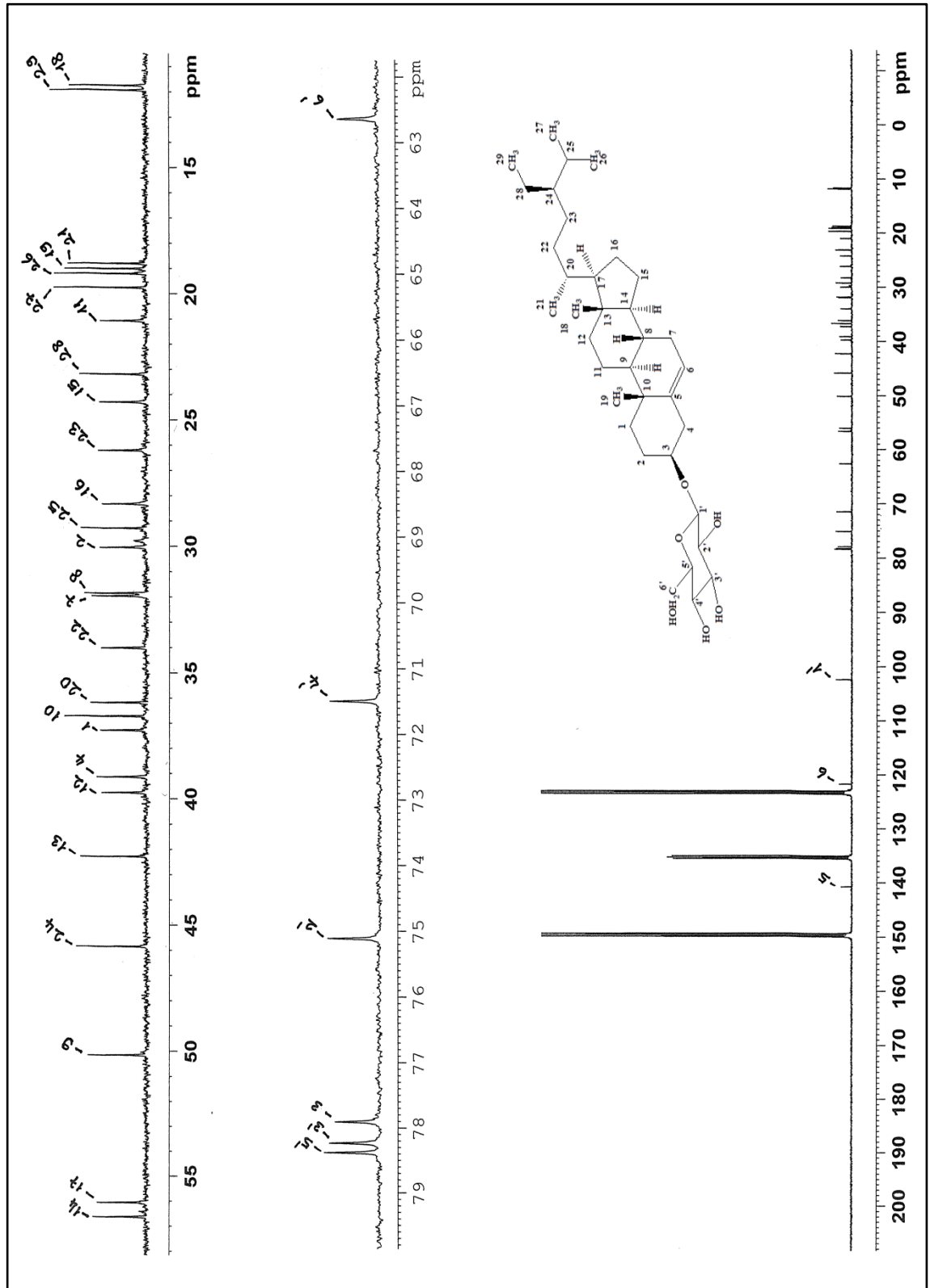
VA-8 bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumundaki sinyaller (Şekil 4.44), $\delta=4.00-4.60$ ppm arasındaki monosakkarit birimine ait sinyaller ile $\delta=5,04$ ppm'de gözlenen dublet sinyal hariç daha önce yapısı aydınlatılmış olan β -sitosterol (VA-2) bileşiğinin sinyallerine çok benzemektedir. Bu bilgiler bize VA-8 bileşiğinin β -sitosterolün glikoziti olduğunu göstermektedir. Aynı benzerlik bileşiğin $^{13}\text{C-NMR}$ (Şekil 4.45) spektrumundaki sinyaller için de geçerlidir. VA-8 bileşiğinin kimyasal yapısı IR, UV, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$ ve $^{13}\text{C-}^1\text{H HETCOR}$ spektral verilerine dayanarak **β -sitosterol-3-O- β -D-glikopiranozit** olarak aydınlatıldı. β -sitosterole bağlı monosakkarit biriminin anomeric protonu (H-1') karakteristik olarak $\delta=5,04$ ppm'de dublet sinyal vermiştir. Bu dubletin etkileşme sabitinin $J=7,68$ ppm olması monosakkaritin glikoz olduğunu ve β -glikopiranozit formunda olduğunu göstermektedir (Çakır 2000; Usuki *et al.* 2008). Glikoz şekerinin diastropik H-6' protonları $\delta=4,55$ ppm'de *dd* (H-6'a, $J_1=11,76$ Hz, $J_2=2,36$ ve $2,28$ Hz) ve $\delta=4,40$ ppm'de (H-6'b, $J_1=11,76$ Hz, $J_2=5,22$ ve $6,52$ Hz) *dd* vermişlerdir.

VA-8 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumunda (Şekil 4.45) toplam 35 karbon sinyali gözlenmiş olup bunun 6 tanesi monosakkarit birimine ait karbon sinyalleridir. Bu durum molekülün steroid glikoziti olduğunu ve önerilen yapıyı doğrular niteliktedir. VA-8'in DEPT spektrumunda (Şekil 4.46) 6 adet CH_3 karbon sinyali, 12 adet CH_2 karbon sinyali ve 14 adet CH karbon sinyali gözlenmiştir. VA-8 bileşiğinin ^{13}C -NMR ve DEPT sinyalleri mukayese edildiğinde toplam 3 adet kuarterner karbona ait sinyaller DEPT spektrumunda yapıyla uyumlu olarak gözlenmemiştir. ^1H -NMR spektrumunda bu 6 adet CH_3 protonlarının ikisi singlet, birisi triplet ve üçü ise dublet sinyal vermiştir. Metil gruplarından 18 ve 19 numaralı $-\text{CH}_3$ protonları sırasıyla $\delta=0,68$ ve $\delta=0,92$ ppm de singlet vermişlerdir. Diğer metil gruplarından 29 numaralı CH_3 grubu $\delta= 0,84$ ppm'de triplet ($J=4,25$ Hz) verirken 21, 26 ve 27 numaralı $-\text{CH}_3$ gruplarının verdiği üç ayrı dublet sinyal ise $\delta=0,81-0,90$ ppm aralığında birbirine karıştığından tam olarak ayrıştırılamamıştır (Şekil 4.44). Bir adet olefinik H ise (H-6) $\delta=5,33$ ppm'de multipler sinyal vererek rezonans olmuştur.

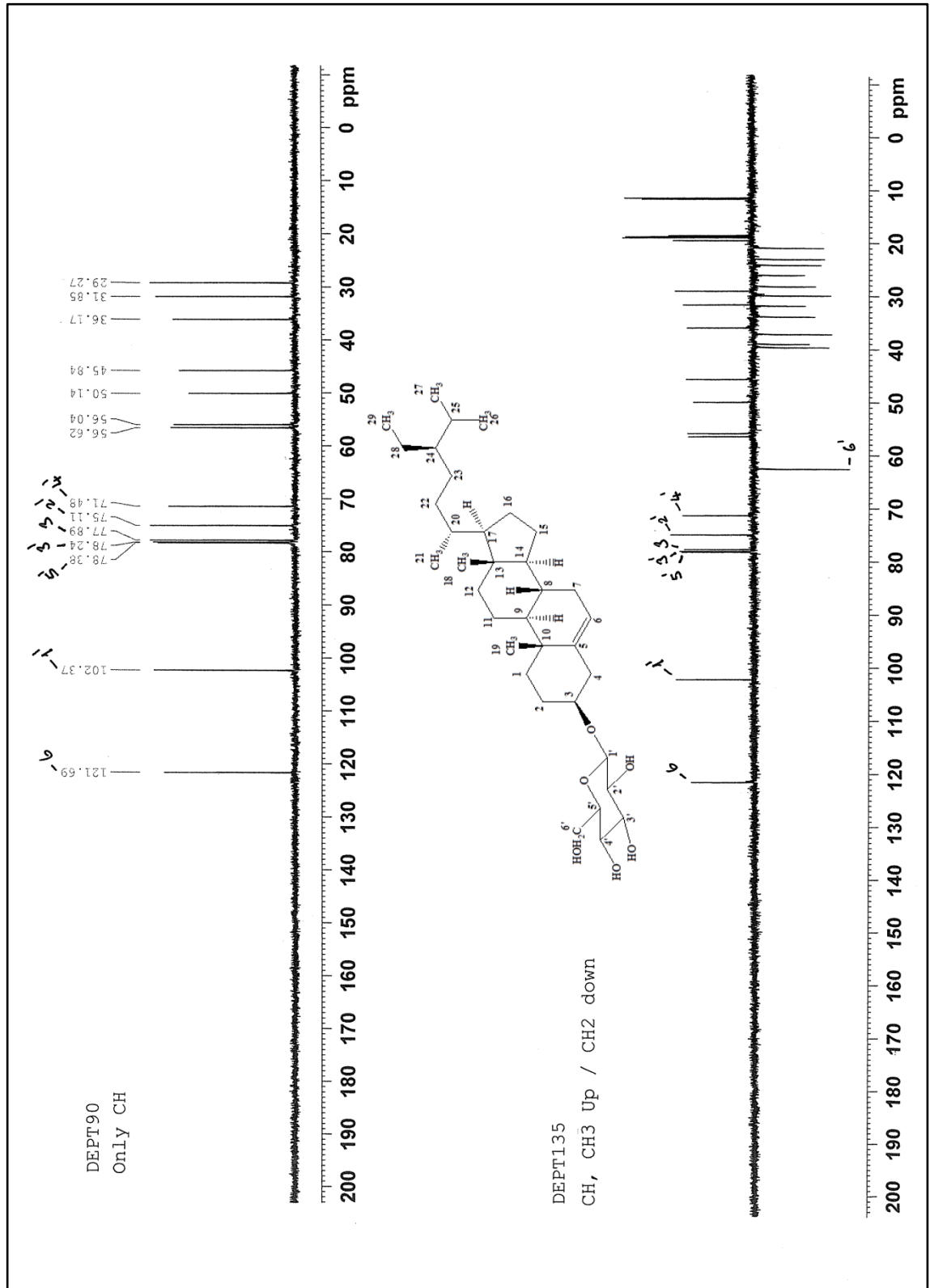
VA-8 bileşiğinin ^1H - ^1H COSY (Şekil 4.47) ve ^{13}C - ^1H HMQC (Şekil 4.48) spektrumları da önerilen yapı ile tam uyumludur. Örneğin, $\delta=5,04$ ppm'de karakteristik anomerik protona ait sinyal $\delta=102,37$ ppm'deki karbon sinyali ile korele olmuştur. Yapıyla uyumlu olarak $\delta=3,90-4,60$ ppm arasındaki glikoz birimine ait proton sinyalleri $\delta= 71-78$ arasındaki toplam 4 karbon sinyal ile korele olmuşlardır. Glikozun $\delta=4,55$ ve $\delta=4,40$ ppm'deki diastropik H-6' protonlarına (H-6'a ve H-6'b) ait sinyal ise $\delta=62,63$ ppm'deki karbon sinyali ile korele olmuştur.



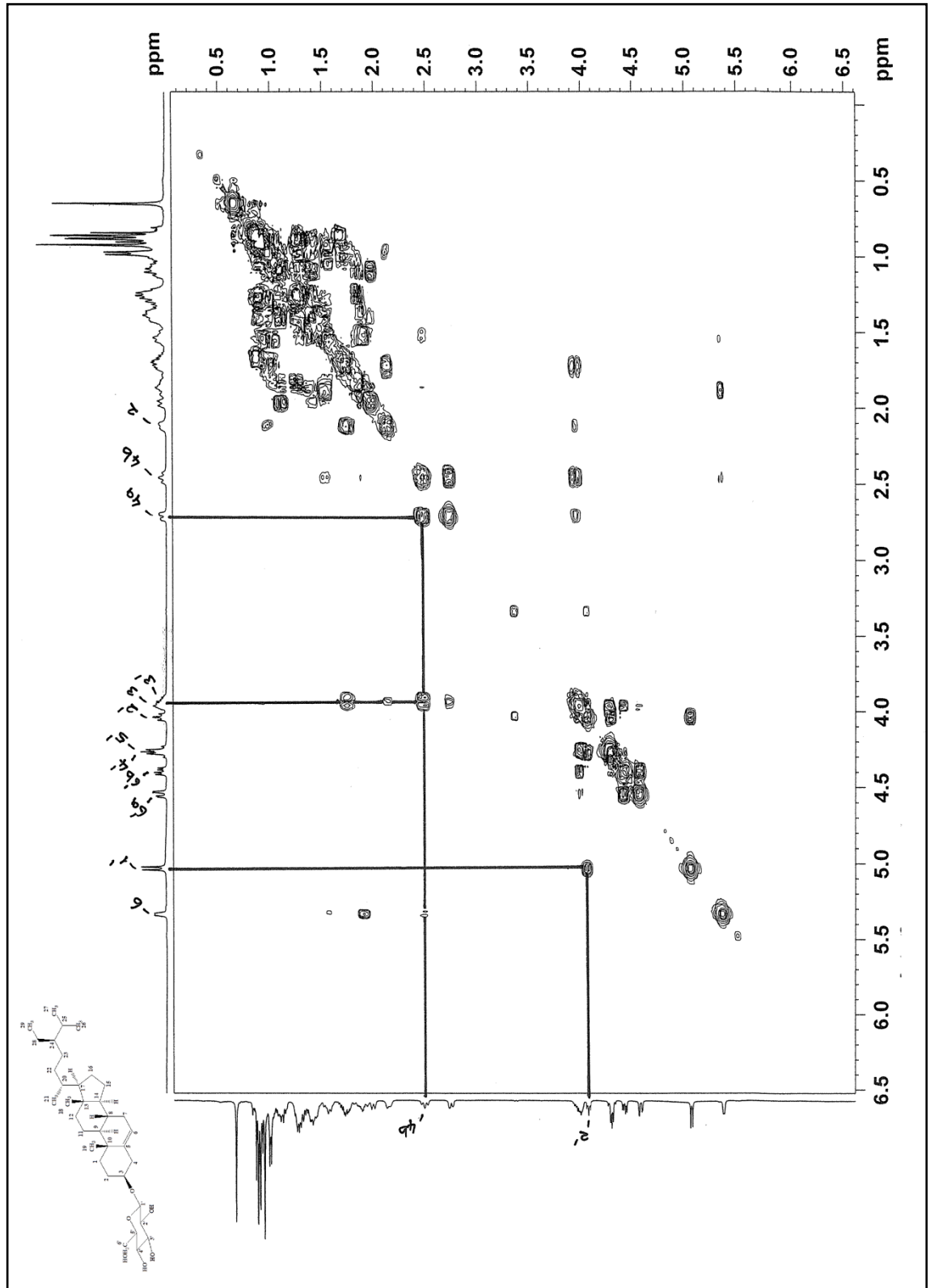
Şekil 4.44. VA-8'in (β -Sitosterol 3-O- β -D-glikopiranozit) $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu



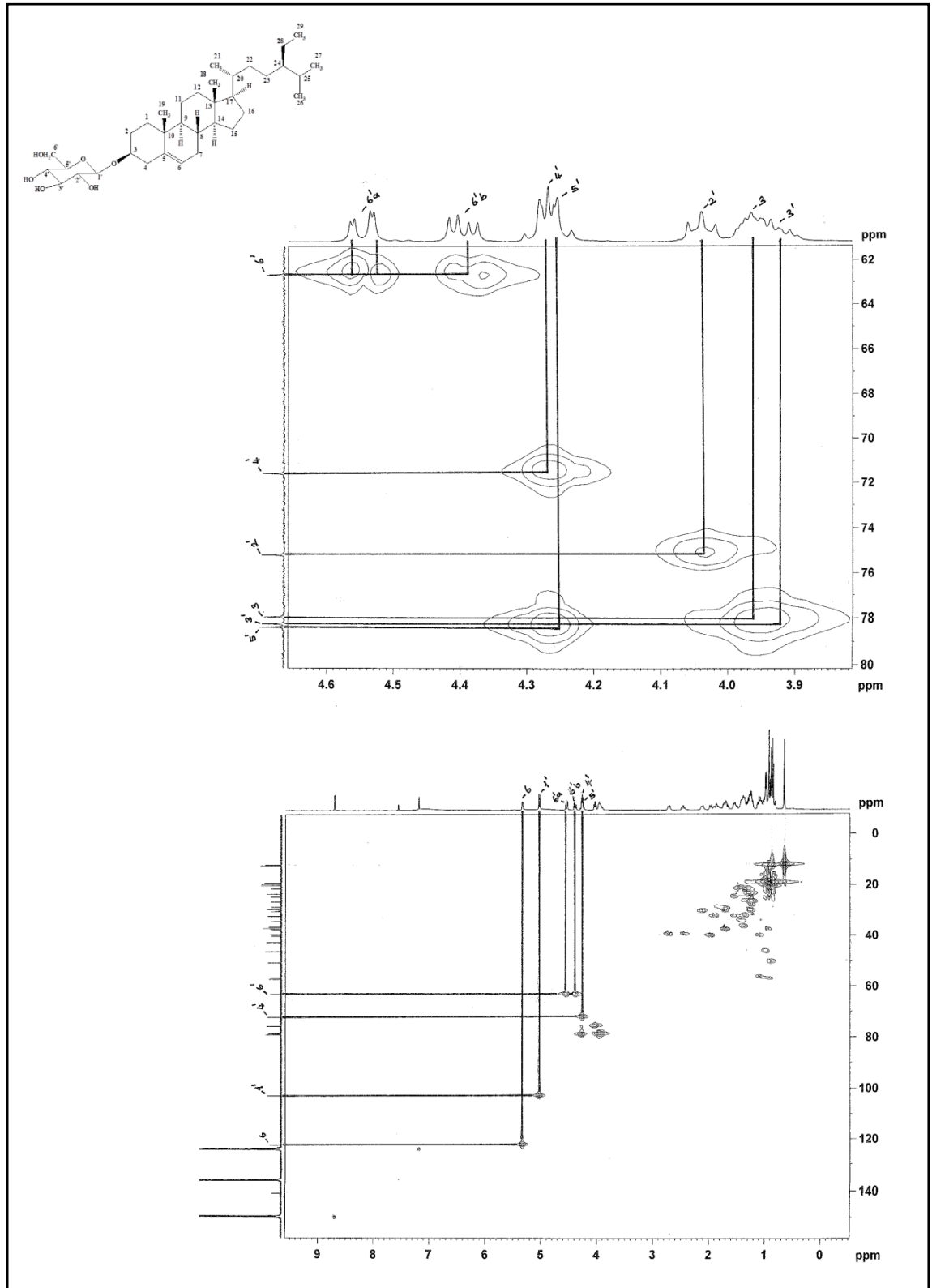
Şekil 4.45. VA-8'in (β -Sitosterol 3-O- β -D-glikopiranozit) ^{13}C -NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.46. VA-8'in (β -Sitosterol 3-O- β -D-glikopiranozit) DEPT (C_5D_5N , 400 MHz) spektrumu

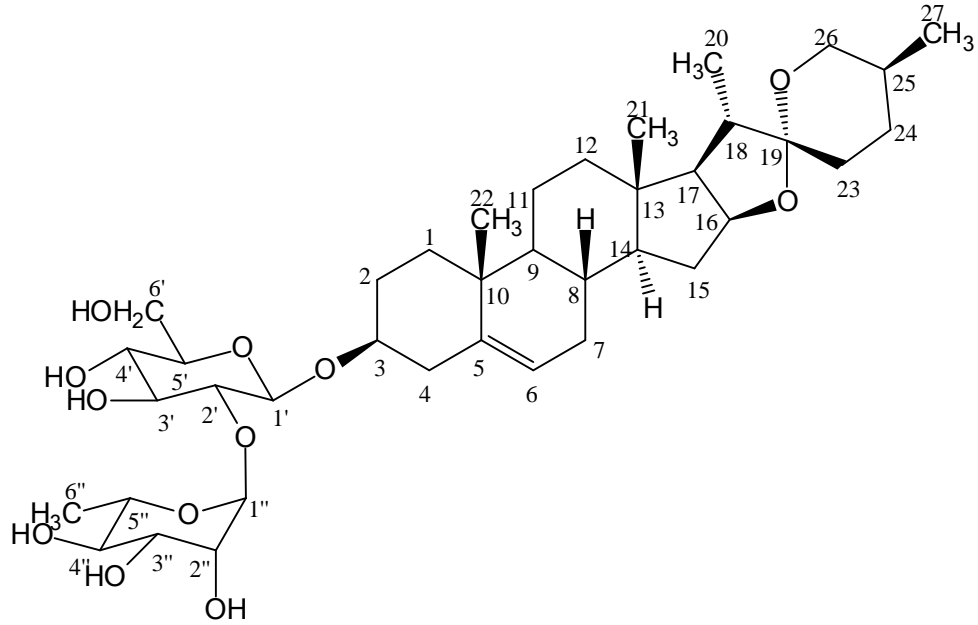


Şekil 4.47. VA-8'in (β -Sitosterol 3-O- β -D-glikopiranozit) ^1H - ^1H COSY ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu



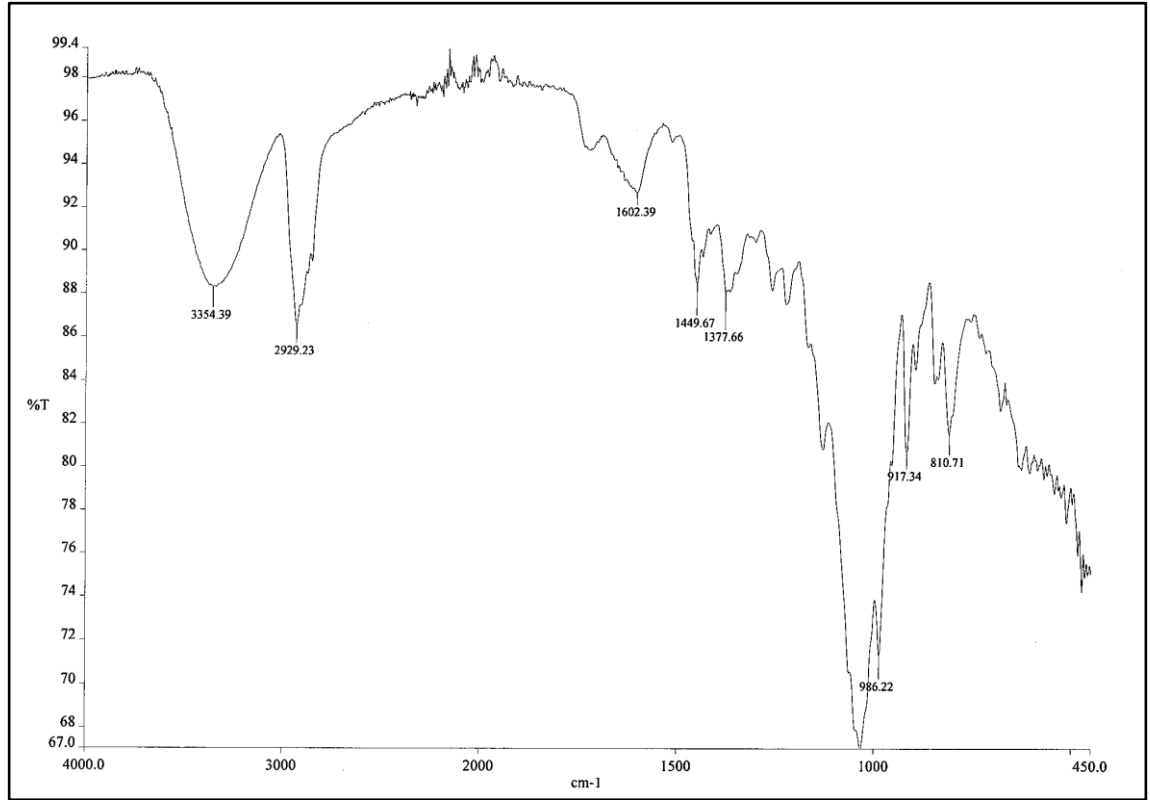
Şekil 4.48. VA-8'in (β -Sitosterol 3-O- β -D-glikopiranozit) ^{13}C - ^1H HMQC ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu

4.2.9. VA-9 kodlu bileşik



Diosgenin 3-*O*- α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozid (Dioscin'in Prosapogenin A); C₃₉H₆₂O₁₂; MA: 722 g/mol; $[\alpha]_D^{20} = -60^\circ$ (C₅H₅N, c=1)

VA-9 bileşiği amorf bir katı madde halinde izole edildi. VA-9 bileşiği İTK'da görünür ışıktta ve UV₃₆₆ nm de renksiz olup, UV₂₅₄ nm de mor renk vermektedir. VA-9 bileşiği H₂SO₄-vanilin reaktifı (105°C) ile sarı renk vermiştir. Maddenin erime noktası 248-250°C olarak belirlendi. Bileşik UV spektrumunda (λ_{\max} nm, MeOH) 216 ve 285 nm de bir steroid veya terpen yapısına uygun olarak maksimum absorbanlar vermiştir. VA-9 bileşiğinin IR spektrumunda (Şekil 4.49) 3354 cm⁻¹ de -OH, 2929 cm⁻¹ de alifatik -CH, 1050 cm⁻¹ de ise çok kuvvetli C-O titreşim bantları gözlenmiştir (Skoog *et al.* 1998).



Şekil 4.49. VA-9'un (diosgenin 3-*O*- α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit) IR spektrumu

UV, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$, $^{13}\text{C-}^1\text{H HMQC}$ ve HMBC yöntemleri ile elde edilen bilgilerden VA-9 bileşiğinin kimyasal yapısı **diosgenin 3-*O*- α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit (Dioscin'in Prosapogenin A'sı)** olarak karakterize edildi. VA-9 bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (Şekil 4.50) gözlenen proton sinyalleri daha önce izole edilen ve yapısı aydınlatılan diosgenin (VA-4) maddesine çok benzemektedir. Bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda gözlenen $\delta=3,90$ - $5,20$ ppm arasında gözlenen proton sinyalleri molekülde bir disakkarit biriminin olduğunu göstermektedir. Disakkarit birimine ait anomerik protonlardan birisi $\delta=5,08$ ppm'de dublet ($J=7,28$ Hz) verirken diğer anomerik proton ise $\delta=6,42$ ppm'de singlet vermiştir. Bu bilgiler bize VA-9'un diosgenin bileşiğinin disakkarit birimi içeren bir 3-*O*-glikozit olduğunu göstermektedir. Bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (Şekil 4.50) diosgenin bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ (Şekil 4.18) spektrumundan farklı olarak $\delta=1,78$ ppm'de gözlenen CH_3 protonlarına ait dublet sinyal ($J=6,24$ Hz) monosakkaritin birisinin ranoz şekeri olduğuna işaret etmektedir (Agrawal 1989; Çakır 2000; Cakir *et al.*

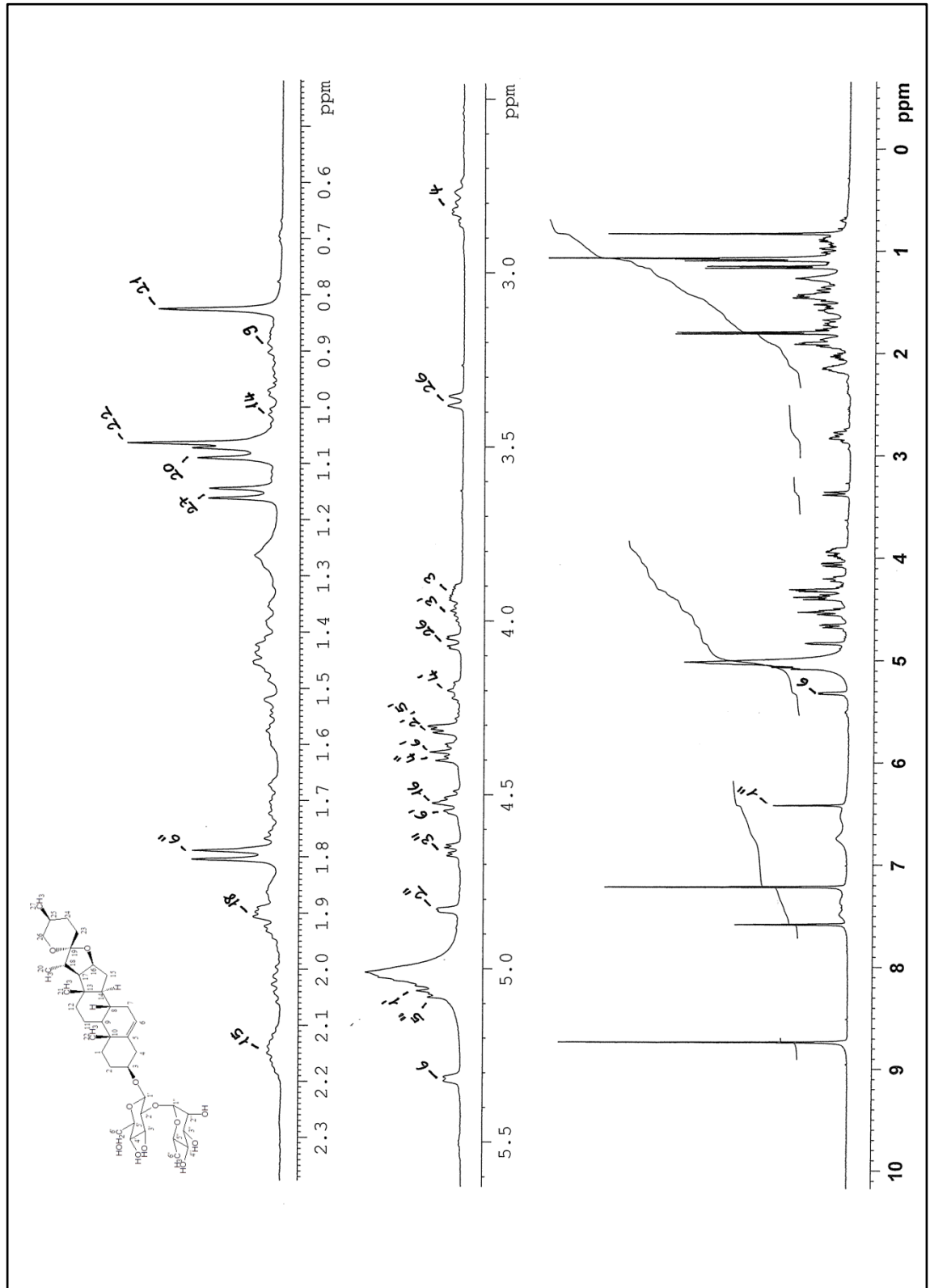
2003). Ramnoz monosakkaritine ait anomerik protonun ise $\delta=6,42$ ppm'de singlet vererek rezonans olması α - formunda bağlı olduğunu göstermektedir (Agrawal 1989; Çakır 2000; Cakir *et al.* 2003). Monosakkaritlerin çoğu D- formunda bulunurken ramnoz monosakkariti L- formunda bulunduğu rapor edilmiştir (Agrawal 1989; Çakır 2000; Cakir *et al.* 2003). Bu bilgilerden ramnoz monosakkaritinin α -L- formunda diosgenin aglikonuna bağlandığı açıkça görülmektedir. Diğer monosakkarit biriminin spektral verilerinden ve etkileşme sabiti değerinden ($J=7,28$ Hz) β -D-glikoz olduğu tespit edilmiştir (Agrawal 1989; Cakir *et al.* 2006). VA-9 bileşiğinin diğer metil protonları ise $\delta=0,83$ ppm (H-21, s), $\delta=1,06$ ppm (H-22, s), $\delta=1,08$ ppm (H-20, d, $J=7,08$ Hz) ve $\delta=1,15$ ppm (H-27, d, $J=6,92$ Hz)'de rezonans olmuşlardır.

VA-9 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumunda (Şekil 4.51) önerilen yapıyla uyumlu olarak toplam 39 karbon sinyali gözlemlendi. Bu sinyallerden 12 adeti glikoz ve ramnoz monosakkaritlerine, diğer 27 adeti ise diosgenin molekülüne ait karbon sinyalleridir. Ramnoz ve glikoz monosakkaritlerinin anomerik karbonları karakteristik olarak sırasıyla $\delta=101,9$ ppm ve $\delta=100,2$ ppm'de rezonans olmuşlardır. Moleküldeki 19 nolu karbon atomu iki adet oksijen atomuna bağlı olmasından dolayı aşağı alanda $\delta=109,5$ ppm'de rezonans olmuştur. Monosakkarit birimlerine ait diğer 9 adet karbon sinyalleri ise $\delta=60-80$ ppm arasında gözlenmiştir. Glikoz monosakkaritine ait C-6 karbon sinyali ise $\delta=62,5$ ppm'de gözlenmiştir. VA-9'un DEPT-90 spektrumunda (Şekil 4.52) yapıyla uyumlu olarak toplam 19 adet CH karbon sinyali gözlenmiştir. Bileşiğin DEPT-135 spektrumunda (Şekil 4.53) $-\text{CH}_3$ ve $-\text{CH}$ karbonlara ait toplam 24 adet pozitif karbon sinyal (5 adet $-\text{CH}_3$, 19 adet $-\text{CH}$ karbonu), 11 adet $-\text{CH}_2$ ve kuarterner karbonlara ait negatif sinyal (8 adet $-\text{CH}_2$, 3 adet q) gözlenmiştir. Bu veriler VA-9'un önerilen yapısıyla tam bir uyum halindedir.

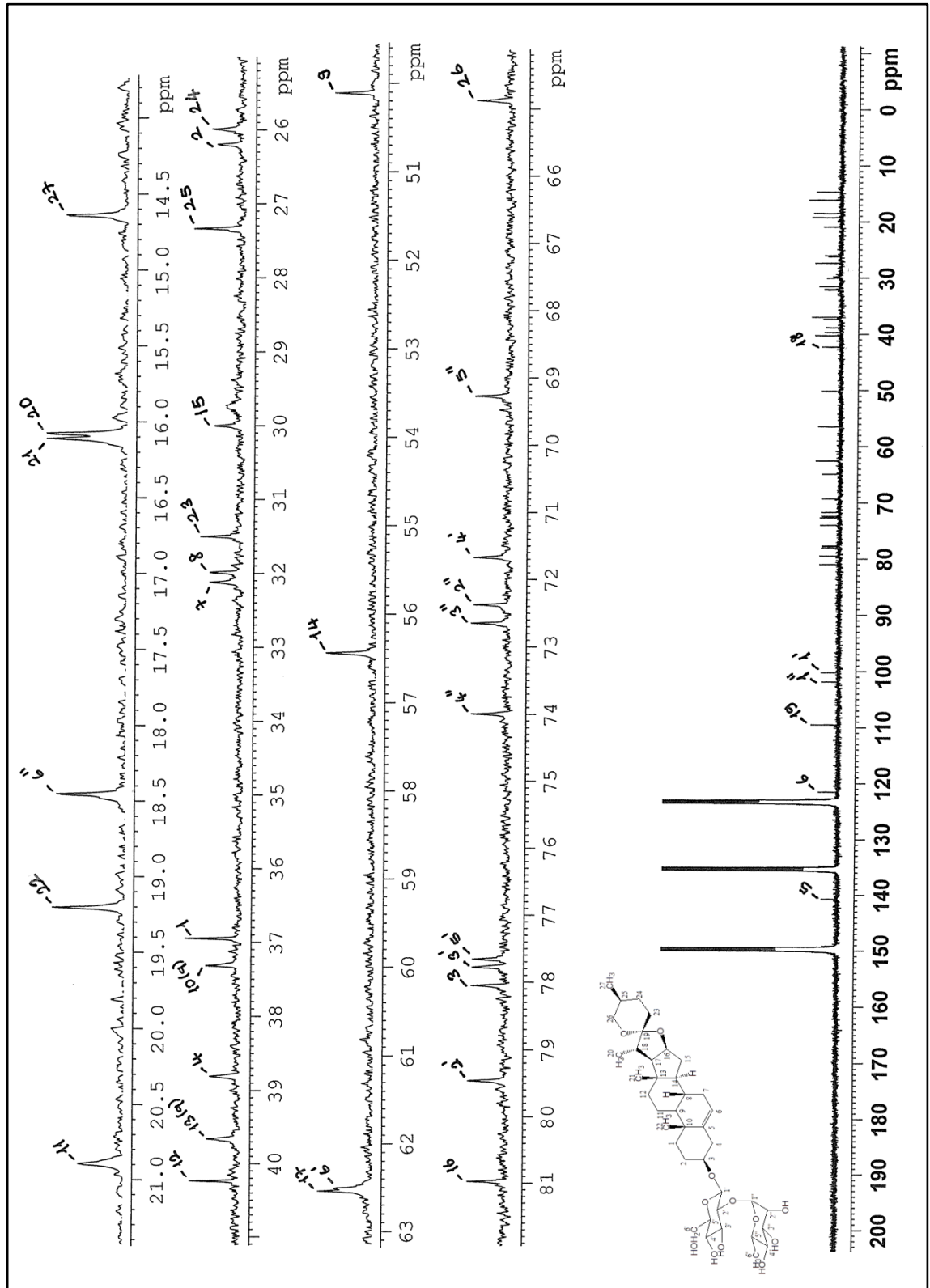
VA-9 bileşiğinin ^{13}C - ^1H HMQC spektrumundan da (Şekil 4.55) yapıyı doğrulayıcı bilgiler elde edilmiştir. Yapıyla uyumlu olarak $\delta=6,42$ ppm'deki ramnoz monosakkaritinin anomerik protonuna (H-1'') ait sinyal $\delta=101,9$ ppm'deki karbon sinyali ile, glikozun anomerik protonuna ait (H-1') $\delta=5,08$ ppm'deki dublet sinyal $\delta=100,2$ ppm'deki karbon sinyali ile korele olmuştur. Ramnozun $\delta=1,78$ ppm'de 6" CH_3

protonlarına ait sinyal $\delta=18,5$ ppm'deki karbon sinyali ile korele olmuştur. Bileşiğin ^{13}C - ^1H HMQC spektrumunda (Şekil 4.55) gözlenen tüm korelasyonlar önerilen yapı ile tam bir uyum halindedir. VA-9 bileşiğinin ^1H - ^1H COSY spektrumu (Şekil 4.54) ve HMBC spektrumu (Şekil 4.56) önerilen yapı ile tam bir uyum halindedir.

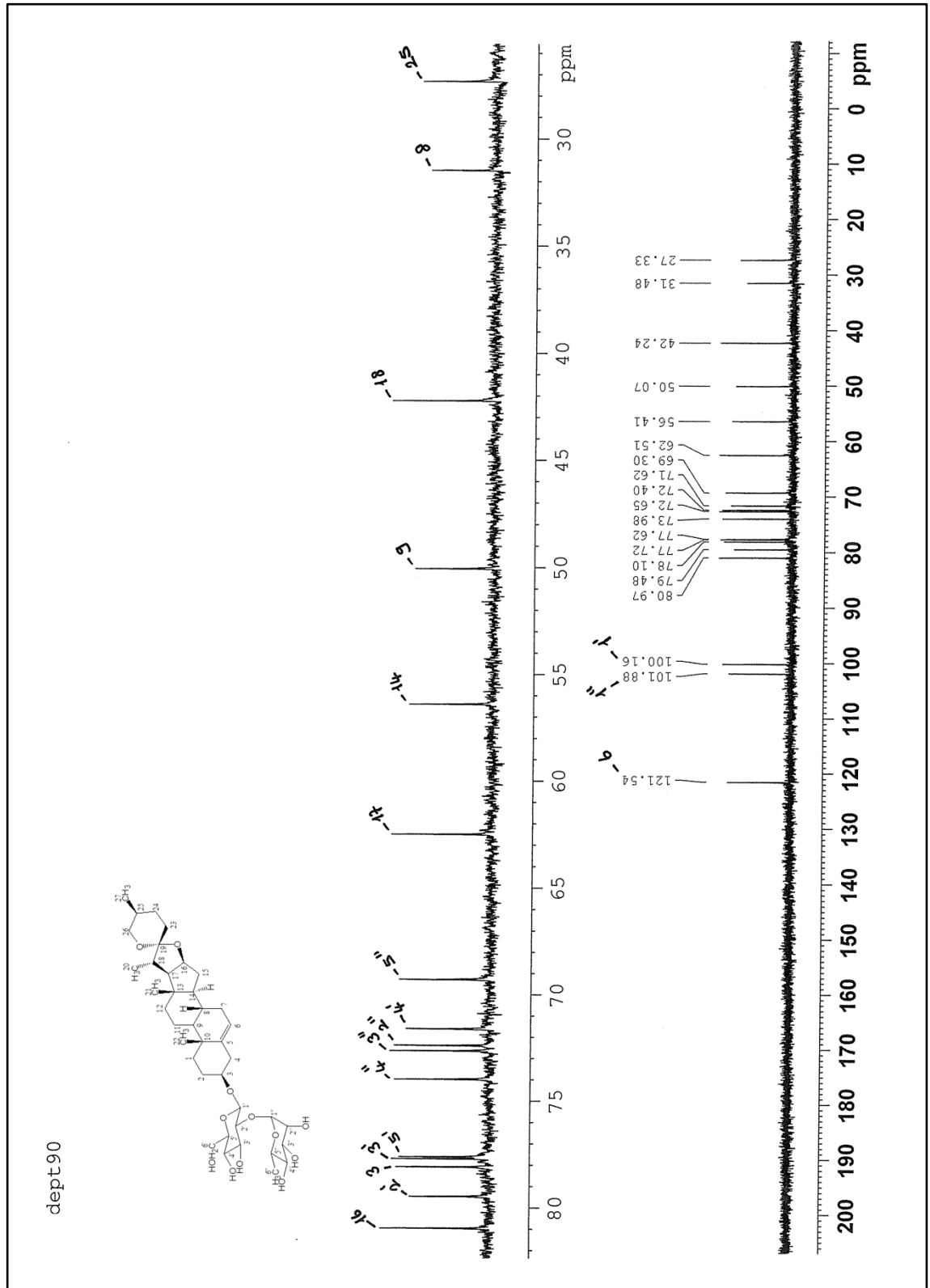
VA-9 bileşiğinin kimyasal yapısının **diosgenin 3-O- α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit (Dioscin'in Prosapogenin A sı)** olduğu daha önce yayınlanmış literatür verileri ile de desteklenmiştir (Espejo *et al.* 1982; Tal *et al.* 1984; Agrawal *et al.* 1985; Chen and Synder 1989; Han *et al.* 1999; Indrayanto *et al.* 2001; Pires *et al.* 2002; Saxena and Shalem 2004; Agrawal 2005; Yoon and Kim 2008; Wang *et al.* 2009, 2010).



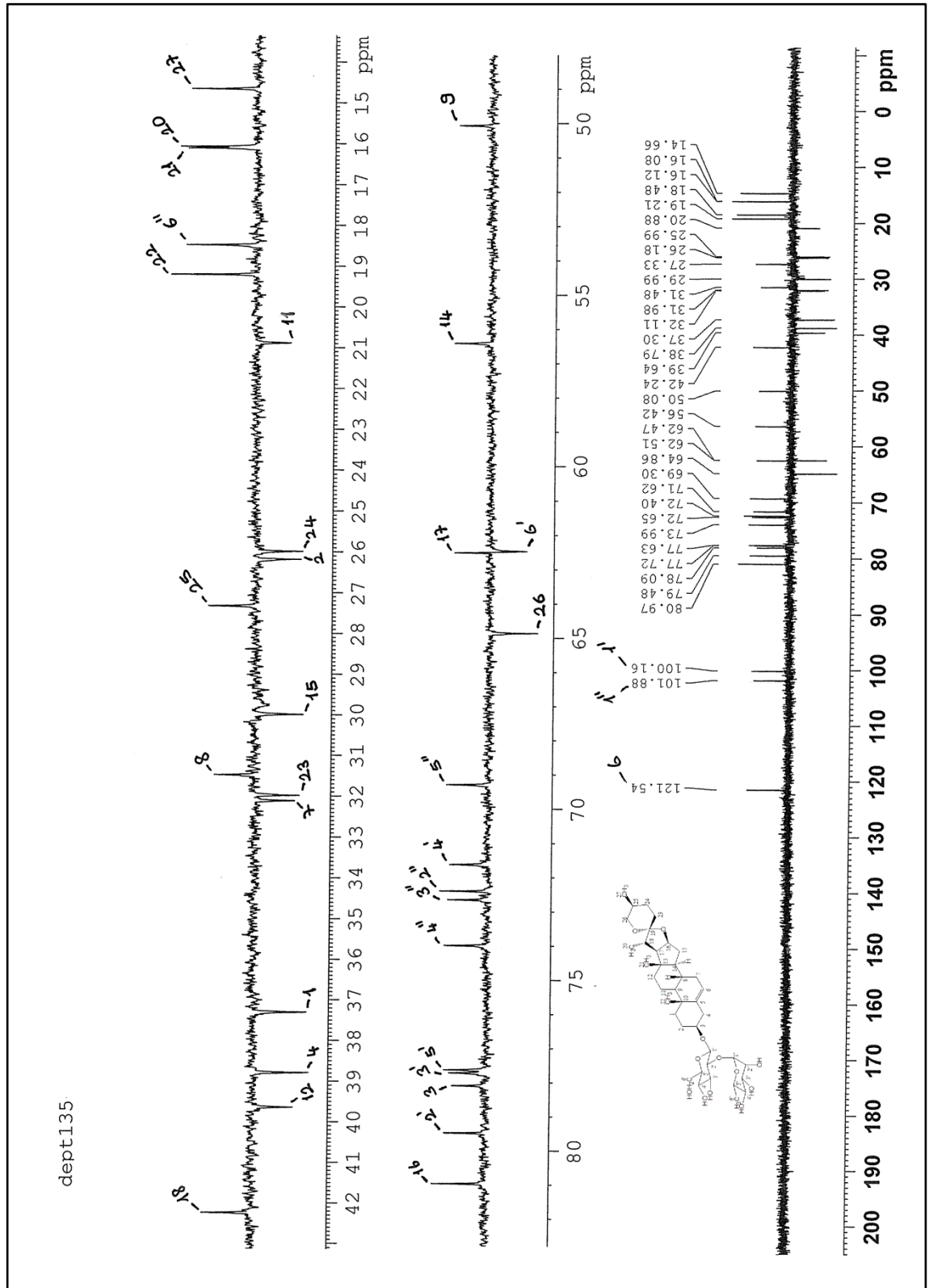
Şekil 4.50. VA-9'un (diosgenin 3-*O*- α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit) $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu



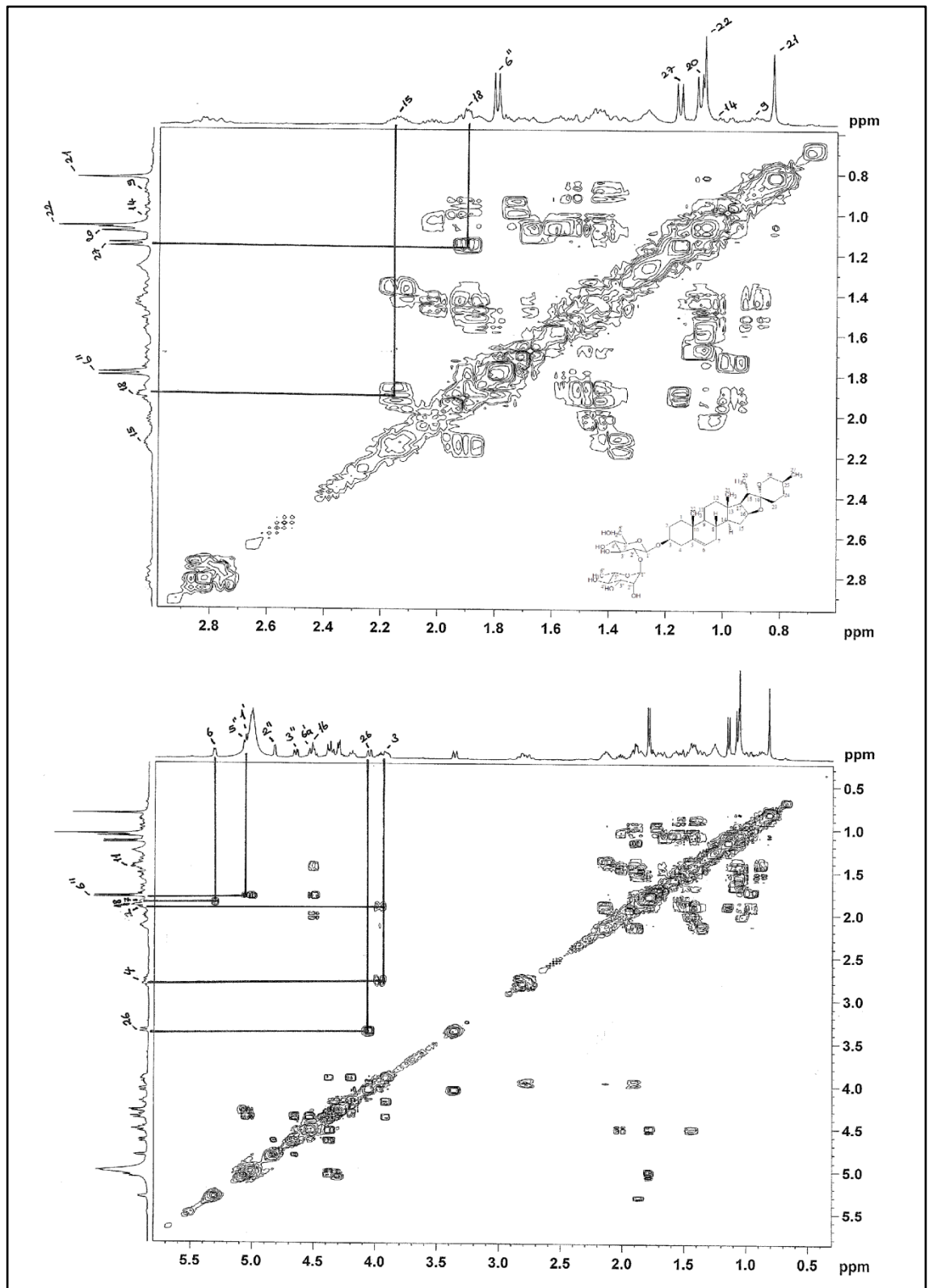
Şekil 4.51. VA-9'un (diosgenin 3-*O*- α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit) ^{13}C -NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu



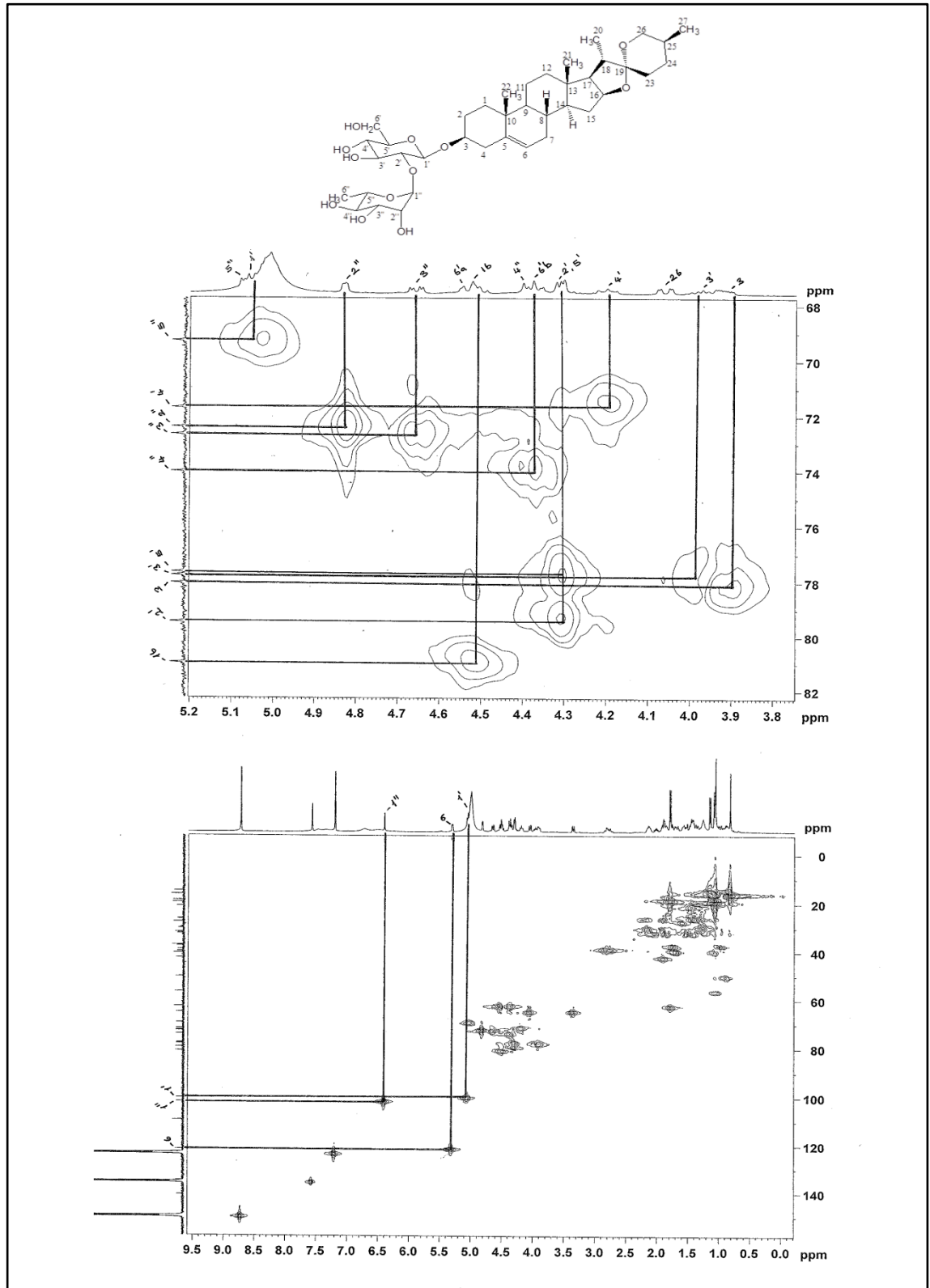
Şekil 4.52. VA-9'un (diosgenin 3-O- α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit) DEPT-90 (C_5D_5N , 400 MHz) spektrumu



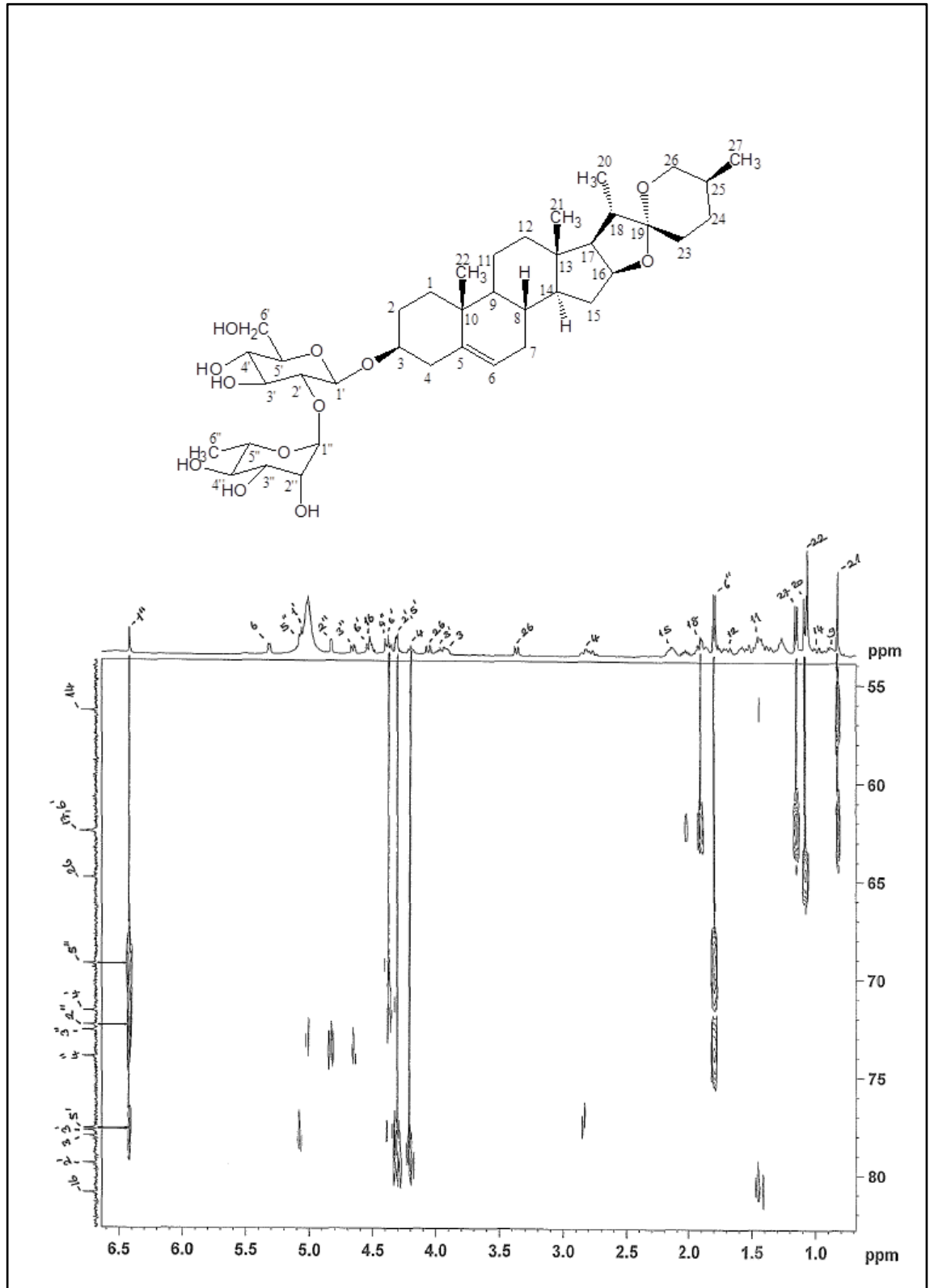
Şekil 4.53. VA-9'un (diosgenin 3-O- α -L-ramnopyranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit) DEPT-135 (C_5D_5N , 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.54. VA-9'un (diosgenin 3-*O*- α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit) ^1H - ^1H COSY ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu

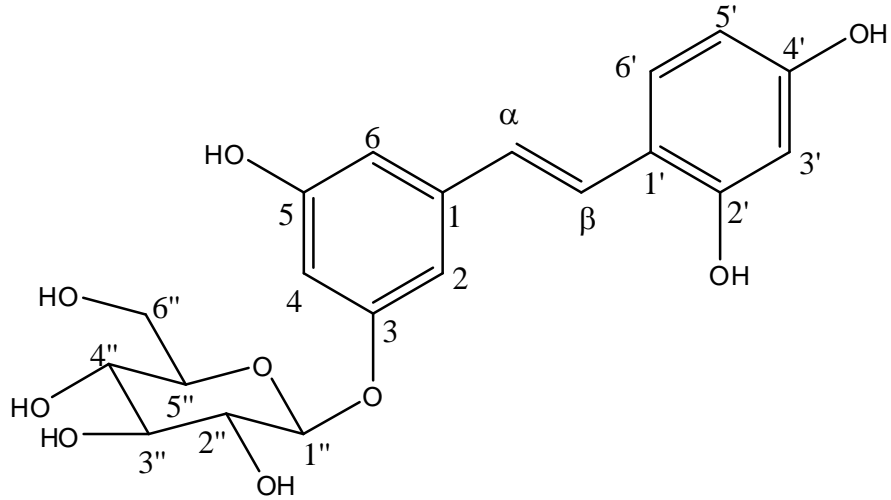


Şekil 4.55. VA-9'un (diosgenin 3-*O*- α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit) ^{13}C - ^1H HMQC ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.56. VA-9'un (diosgenin 3-*O*- α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit) ^{13}C - ^1H HMBC ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu

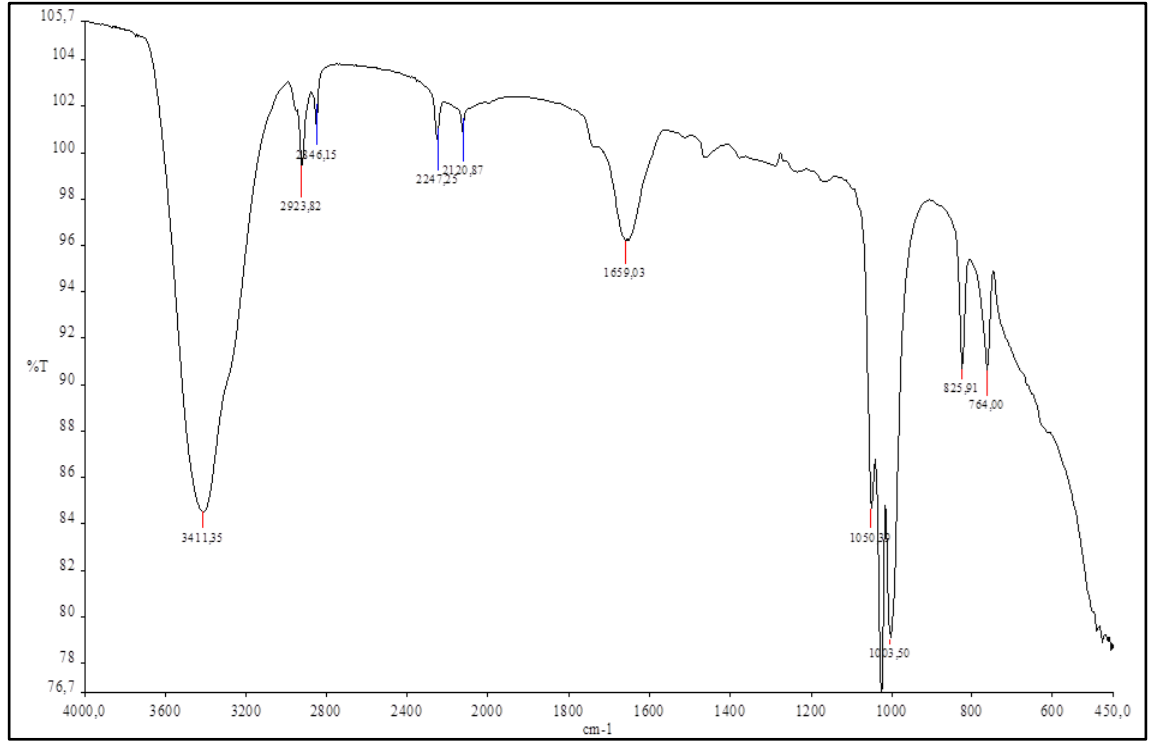
4.2.10. V-10 kodlu bileşik



Oksiresveratrol 3-*O*- β -D-glikopiranozit; C₂₀H₂₂O₉; MA: 406 g/mol; $[\alpha]_D^{20} = -27^\circ$
(CH₃OH, c=1)

VA-10 bileşiği koyu sarı amorf bir katı olarak izole edildi. Bileşik İTK'da görünür ışıkta sarı renkli, UV₂₅₄ nm de mor renkli, UV₃₆₆ nm de ise renk vermemektedir. VA-10 bileşiğine ait İTK'daki leke H₂SO₄-vanilin reaktifi ve sonrasında ısıtma (105°C) ile kırmızı renge dönüşmüştür. VA-10 bileşiğinin UV₂₅₄ nm de mor renk, H₂SO₄-vanilin reaktifi ile resveratrol ve oksiresveratrol gibi kırmızımsı renk vermesi bizde maddenin stilbenoit yapılu bir madde olduğu düşüncesini doğurdu (Sakar ve Tanker 1991; Wagner and Bladt 1996). Bileşik UV spektrumunda (λ_{\max} nm, DMSO) 333 nm de bir stilbenoit yapısına uygun olarak maksimum absorpsiyon vermiştir.

UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, ¹H-¹H COSY, ¹³C-¹H HMQC ve ¹³C-¹H HMBC yöntemleri ile elde edilen bilgilerden VA-10 bileşiğinin kimyasal yapısı **oksiresveratrol 3-*O*- β -D-glikopiranozit** olarak karakterize edildi. VA-10 bileşiğinin IR spektrumunda (Şekil 4.57) 3411 cm⁻¹ de -OH, 2846-2923 cm⁻¹ aralığında olefinik -CH, 1659 cm⁻¹ de C=C titreşim bantları, 1050 cm⁻¹ de ise çok kuvvetli C-O titreşim bantları gözlenmiştir (Erdik 1998; Fessenden and Fessenden 2001).



Şekil 4.57. VA-10'un (oksiresveratrol 3-O-β-D-glikopiranozit) IR Spektrumu

VA-10'un $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (Şekil 4.58) $\delta=6,30-7,40$ ppm arasında aromatik veya olefinik sekiz hidrojene ait olduğu belirlenen sinyaller gözlenmiştir. Bir stilbenoit yapısına uygun olarak α - ve β - hidrojenleri sırası ile $\delta=6,90$ ppm ve $\delta=7,33$ ppm'de dublet sinyal vererek rezonans olmuşlardır. Bu protonlara ait etkileşme sabitinin $J=16,40$ Hz olması bu protonların *trans*- olduğunu göstermektedir. H-6' protonu H-5' protonu ile *orto* etkileşerek $\delta=7,36$ ppm'de *d* sinyal ($J=8,92$ Hz) vermiştir. H-2 ve H-6 protonları ise sırasıyla, $\delta=6,77$ ppm de triplet ($J=1,64$ ve $1,56$ ppm) ve $\delta=6,64$ ppm'de triplet ($J=1,60$ ve $1,52$ Hz) vererek rezonans olmuşlardır. Benzer şekilde H-3' protonu ise $\delta=6,46$ ppm'de triplet sinyal ($J=2,16$ ve $2,12$ Hz) vermiştir. Diğer taraftan, $\delta=6,30-6,35$ ppm arasında gözlenen multipler sinyal H-4 ve H-5' protonlarına aittir. VA-10'un $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (Şekil 4.58) $\delta=3,40-4,00$ ppm arasında gözlenen sinyaller molekülde bir monosakkarit biriminin olduğunu göstermektedir. Monosakkaritin anomerik hidrojenine (H-1'') ait sinyal metanolün keskin piki altında kaldığından gözlenememiştir. Ancak bileşiğin DMSO- d_6 içerisinde alınan $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (Şekil 4.59) anomerik protana ait sinyal $\delta=4,78$ ppm'de dublet ($J=7,56$ Hz) olarak

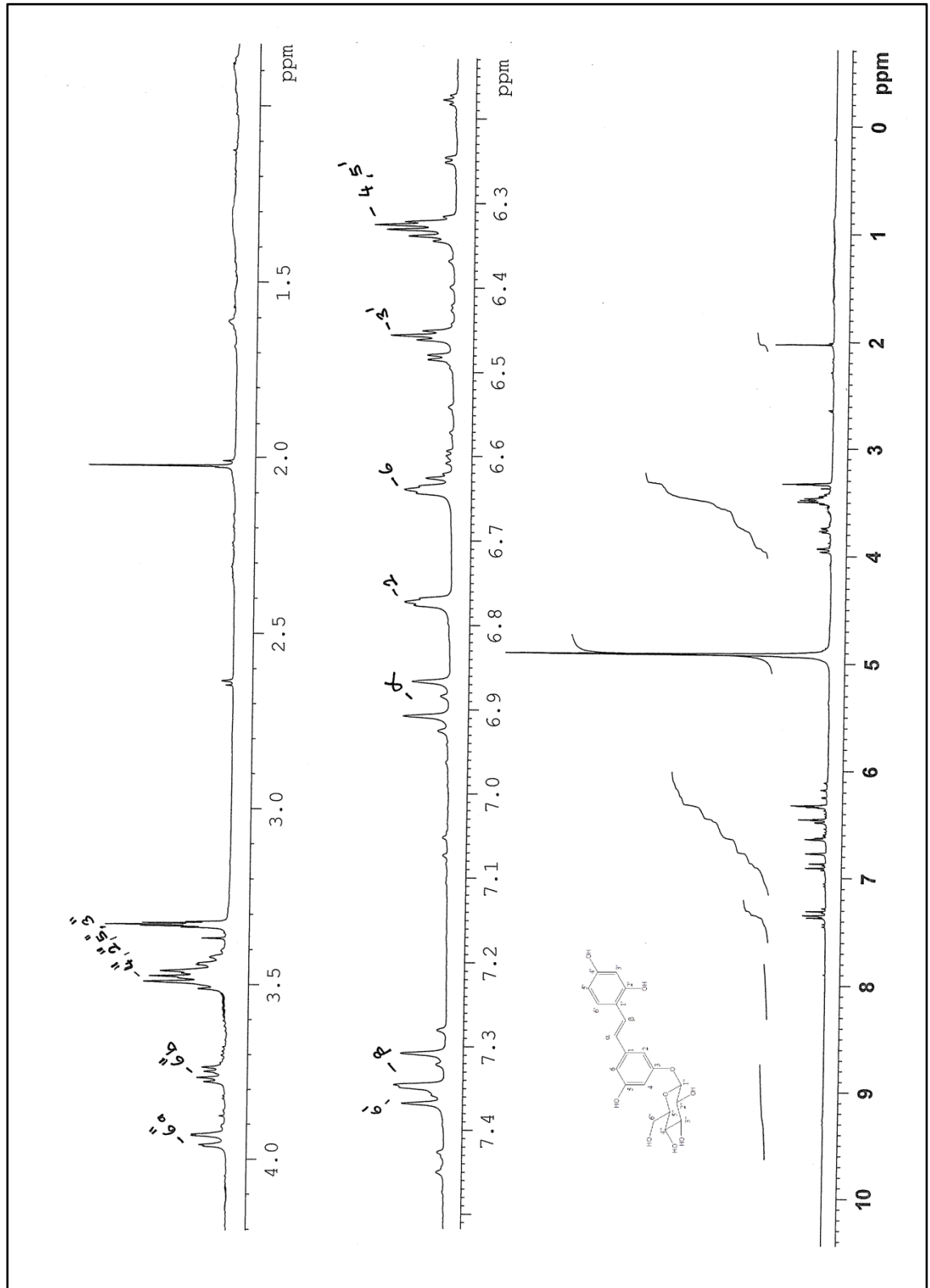
gözlenmiştir. Anomerik protonun rezonansı ve etkileşme sabiti bize monosakkaritin glikoz olduğunu ve β - bağı ile bağlandığını işaret etmektedir (Dai *et al.* 2009). Diastropik H-6" protonlarına ait sinyaller $\delta=3,95$ ppm (1H, *dd*, $J_1=12,04$ Hz, $J_2=1,76$ ve $1,68$ Hz) ve $\delta=3,76$ ppm'de (1H, *dd*, $J_1=12,04$ Hz, $J_2=4,88$ Hz) gözlenmiştir.

VA-10 metabolitinin ^{13}C -NMR spektrumunda (Şekil 4.60) stilbenoit yapısına uygun olarak molekülün aglikon kısmındaki karbonlara ait $\delta=100$ -160 ppm arasında 14 adet karbon sinyali, 6 adet ise glikoza ait karbon sinyali olmak üzere toplam 20 karbon sinyali gözlenmiştir. Glikozun karakteristik anomerik karbonu (C-1" ve C-6") karbonu sırasıyla $\delta=101,0$ ppm ve $\delta=61,1$ ppm'de rezonans olmuşlardır. VA-10 bileşiğinin DEPT spektrumunda (Şekil 4.61) molekül yapısı ile uyumlu olarak bir adet CH_2 karbon sinyali, 13 adet $-\text{CH}$ karbon sinyali gözlenmiştir. Bu bilgilerden VA-10 bileşiğinin 6 adet kuarterner karbonu içerdiği anlaşılmaktadır.

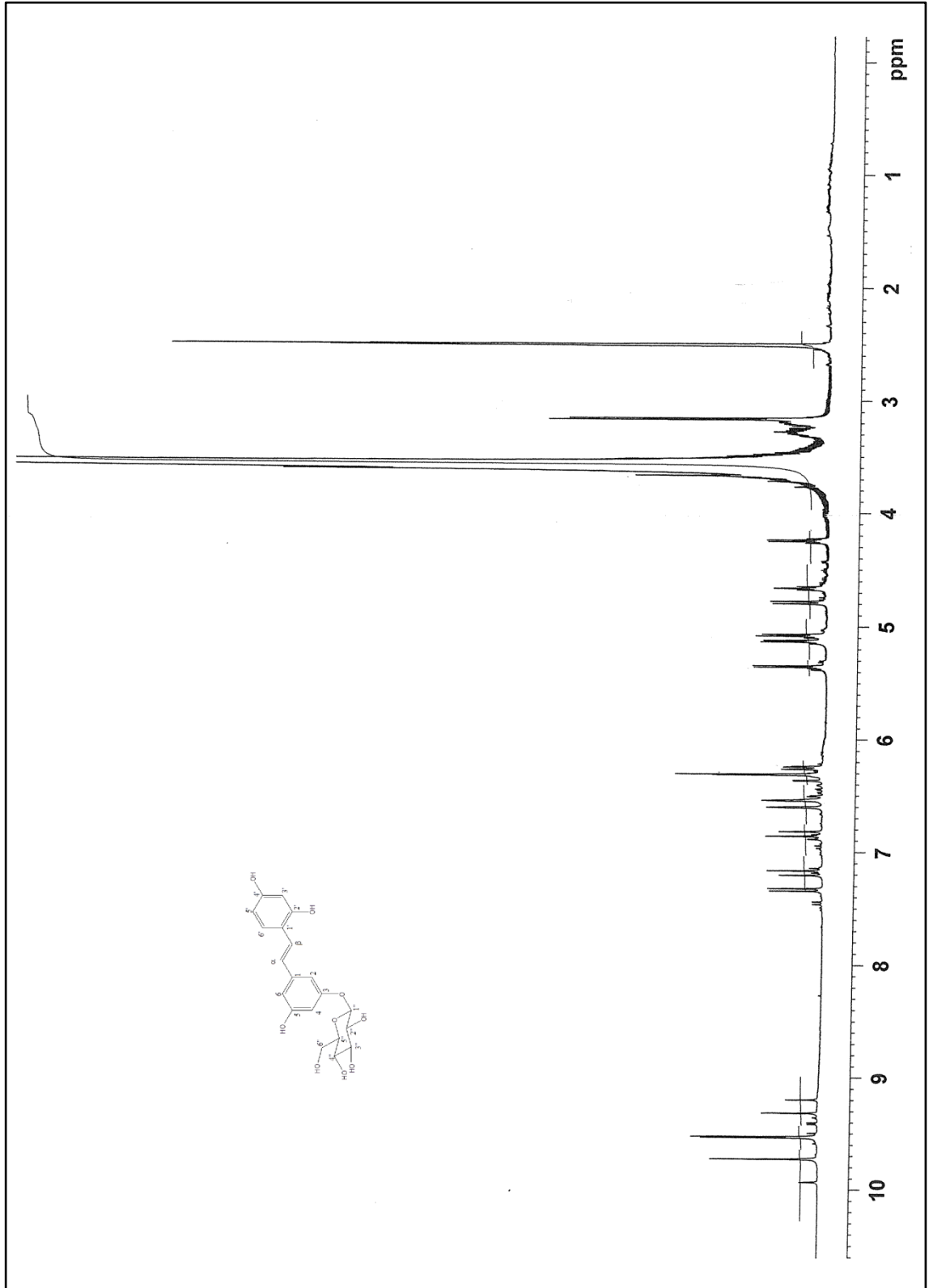
VA-10 bileşiğinin ^1H - ^1H COSY spektrumu da (Şekil 4.62) yapı hakkında detaylı bilgiler vermiştir. H-6"a diastropik hidrojenine ait $\delta=3,95$ ppm'deki sinyal 6"b diastropik hidrojene ait $\delta=3,76$ ppm'deki sinyal ile korele olmuştur. Molekül yapısına uygun olarak H-6' hidrojeni sinyali H-5' hidrojeni ile, H- α hidrojeni sinyali ise H- β hidrojeni ile korele olmuştur. VA-10 bileşiğinin ^{13}C - ^1H HMQC NMR spektrumu da (Şekil 4.63) önerilen yapı ile uyumludur. Glikoz monosakkaritin 6' karbonuna bağlı diastropik hidrojenlere ait $\delta=3,95$ ppm ve $\delta=3,76$ ppm'de gözlenen sinyaller $\delta=61,1$ ppm'deki karbon sinyali ile korele olmuştur. Anomerik hidrojene ait (H-1") ait $\delta=4,78$ ppm'deki dublet sinyal ise $\delta=101,0$ ppm deki karbon sinyali ile korele olmuştur. Moleküldeki olefinik C- α ve C- β karbonlara ait, sırasıyla $\delta=124,8$ ppm ve $\delta=124,0$ ppm'deki sinyaller $\delta=6,90$ ppm ve $\delta=7,33$ ppm'deki dublet sinyaller ile korele olmuştur. HMQC spektrumundaki diğer tüm korelasyonlar da önerilen molekül yapısını doğrulamaktadır.

VA-10 bileşiğinin ^{13}C - ^1H HMBC spektrumu da (Şekil 4.64) önerilen yapı ile tam uyumludur. Moleküldeki üç bağ üzerinden etkileşimler Şekil 4.63'de verilmiştir. VA-10 bileşiğinin molekül yapısının **oksiresveratrol 3-O- β -D-glikopiranozit** olduğu daha

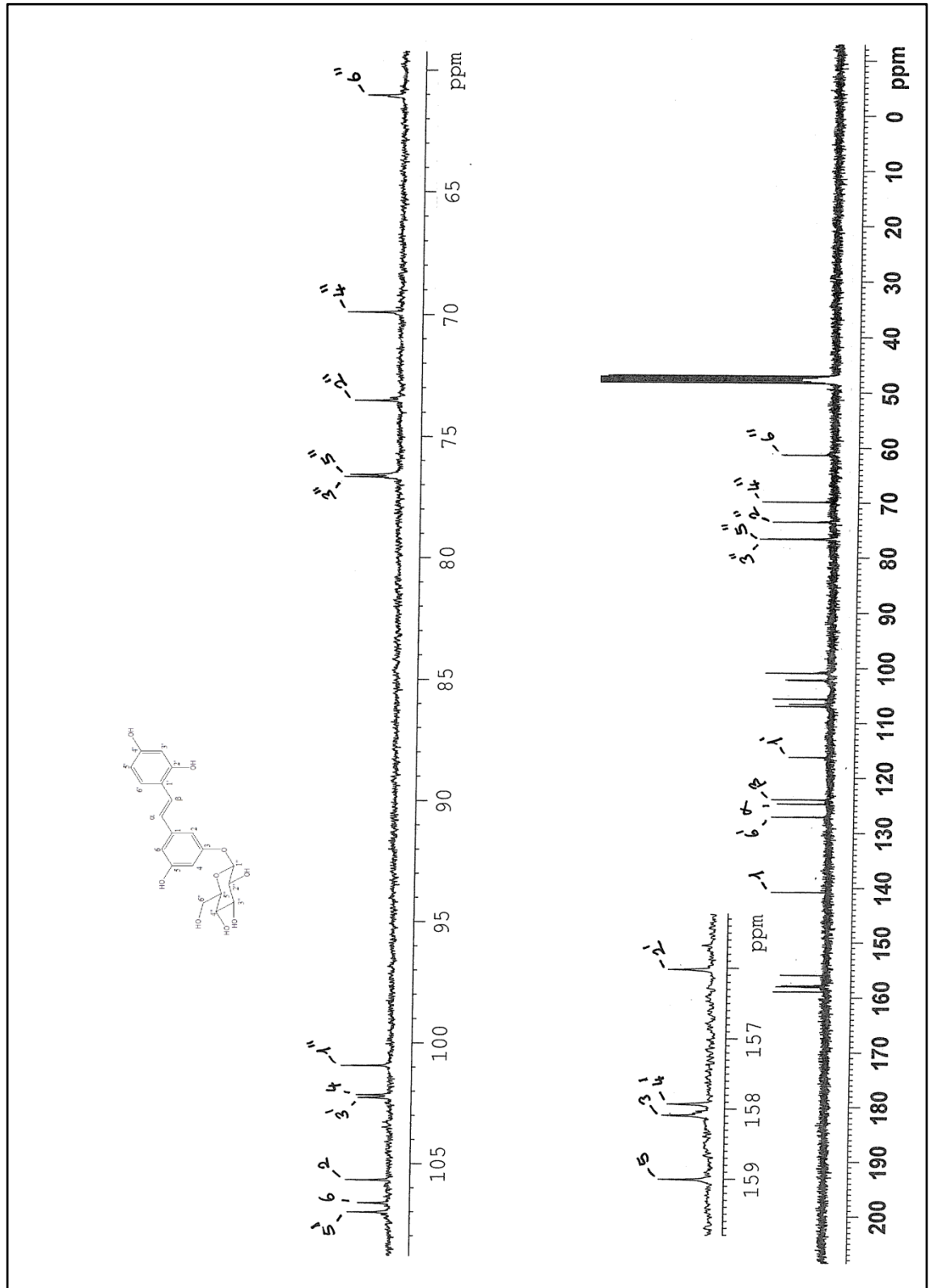
nce yayınlanan raporlardaki spektral verilerle de doğrulanmıştır (Kanchanapoom *et al.* 2002; Awaad 2006; Dai *et al.* 2009).



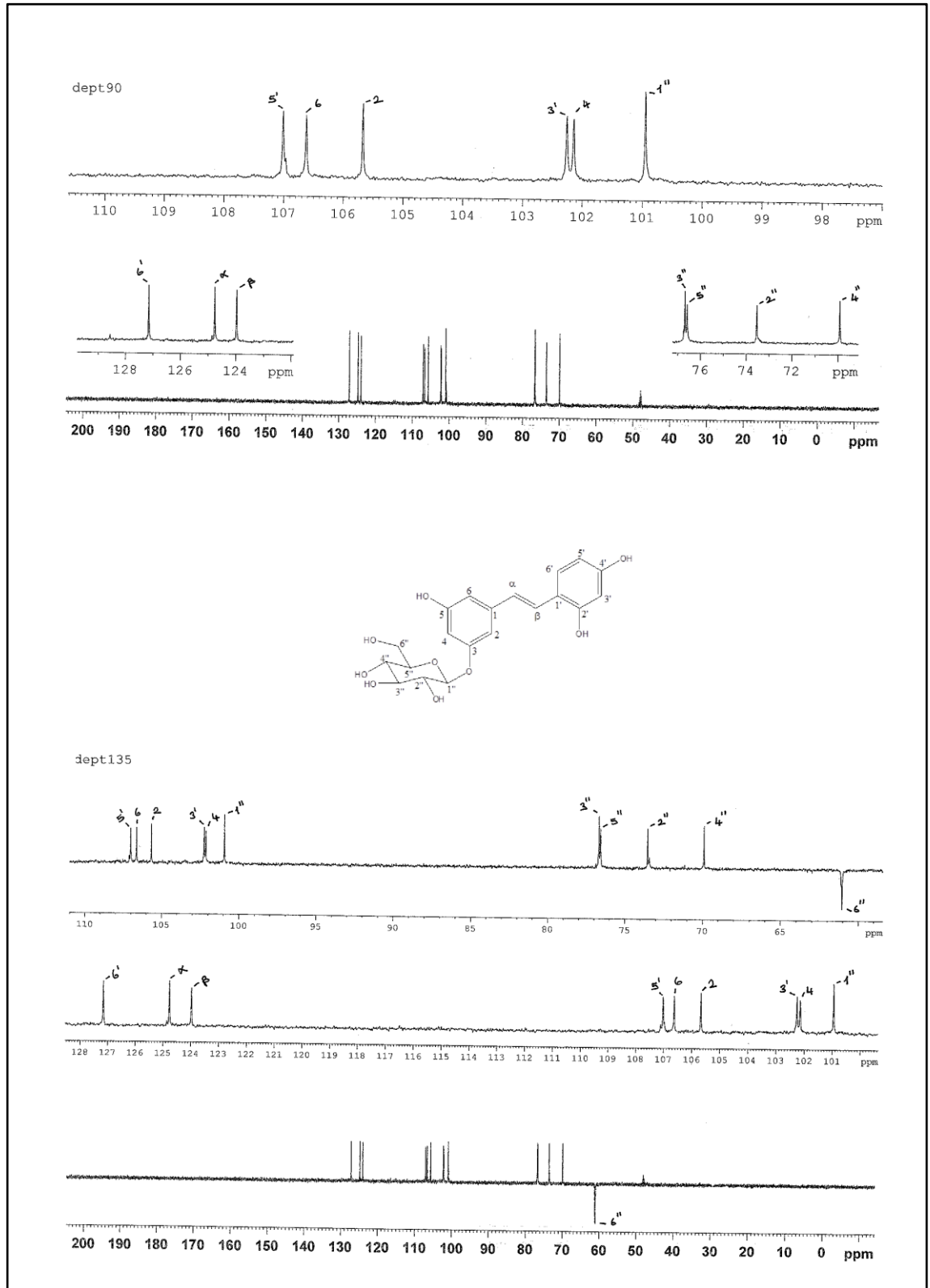
Şekil 4.58. VA-10'un (oksiresveratrol 3-O- β -D-glikopiranozit) $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz) spektrumu



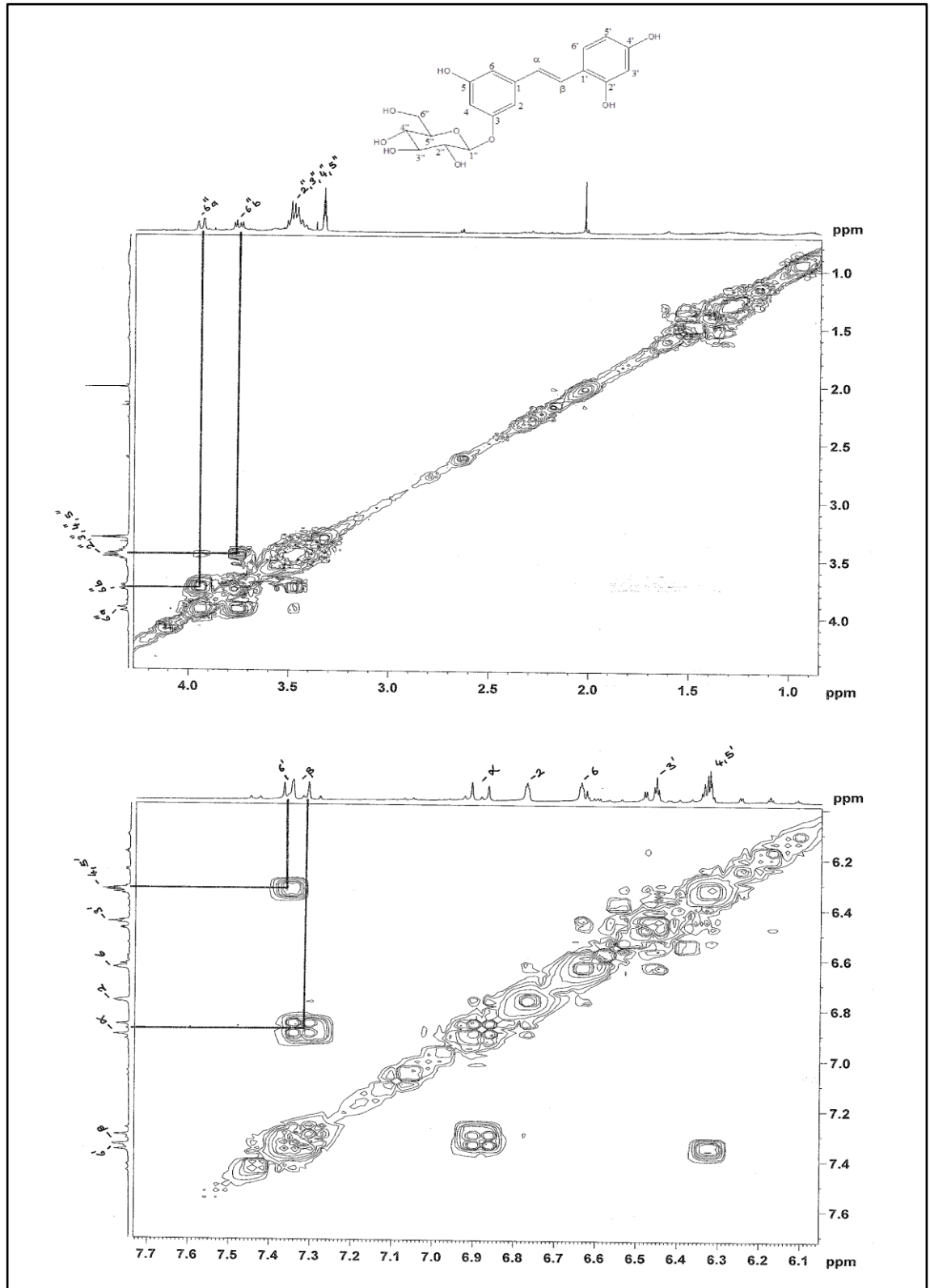
Şekil 4.59. VA-10'un (oksiresveratrol 3-O-β-D-glikopiranozit) ¹H-NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) spektrumu



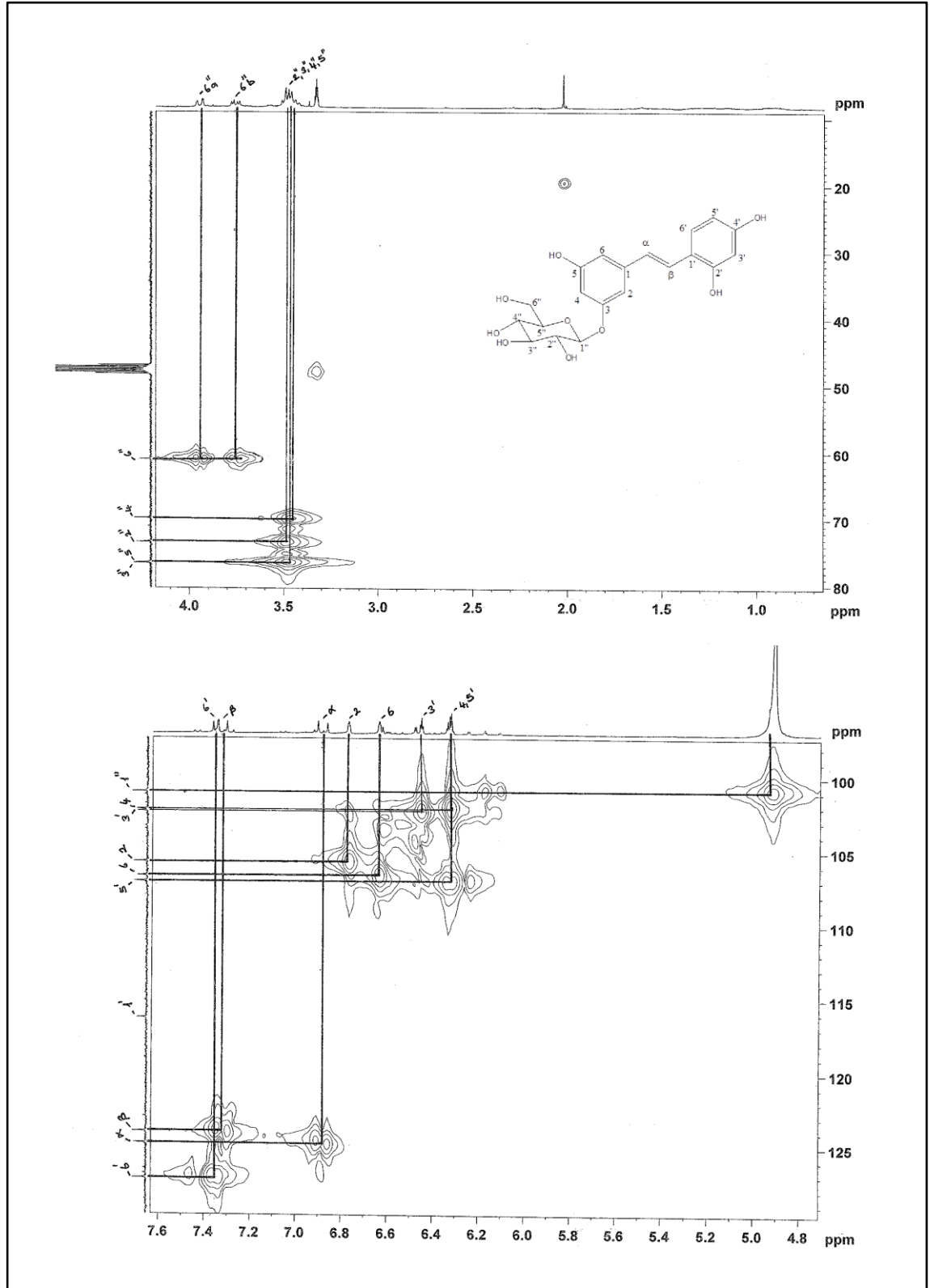
Şekil 4.60. VA-10'un (oksiresveratrol 3-O- β -D-glikopiranozit) ^{13}C -NMR (CD_3OD , 400 MHz) spektrumu



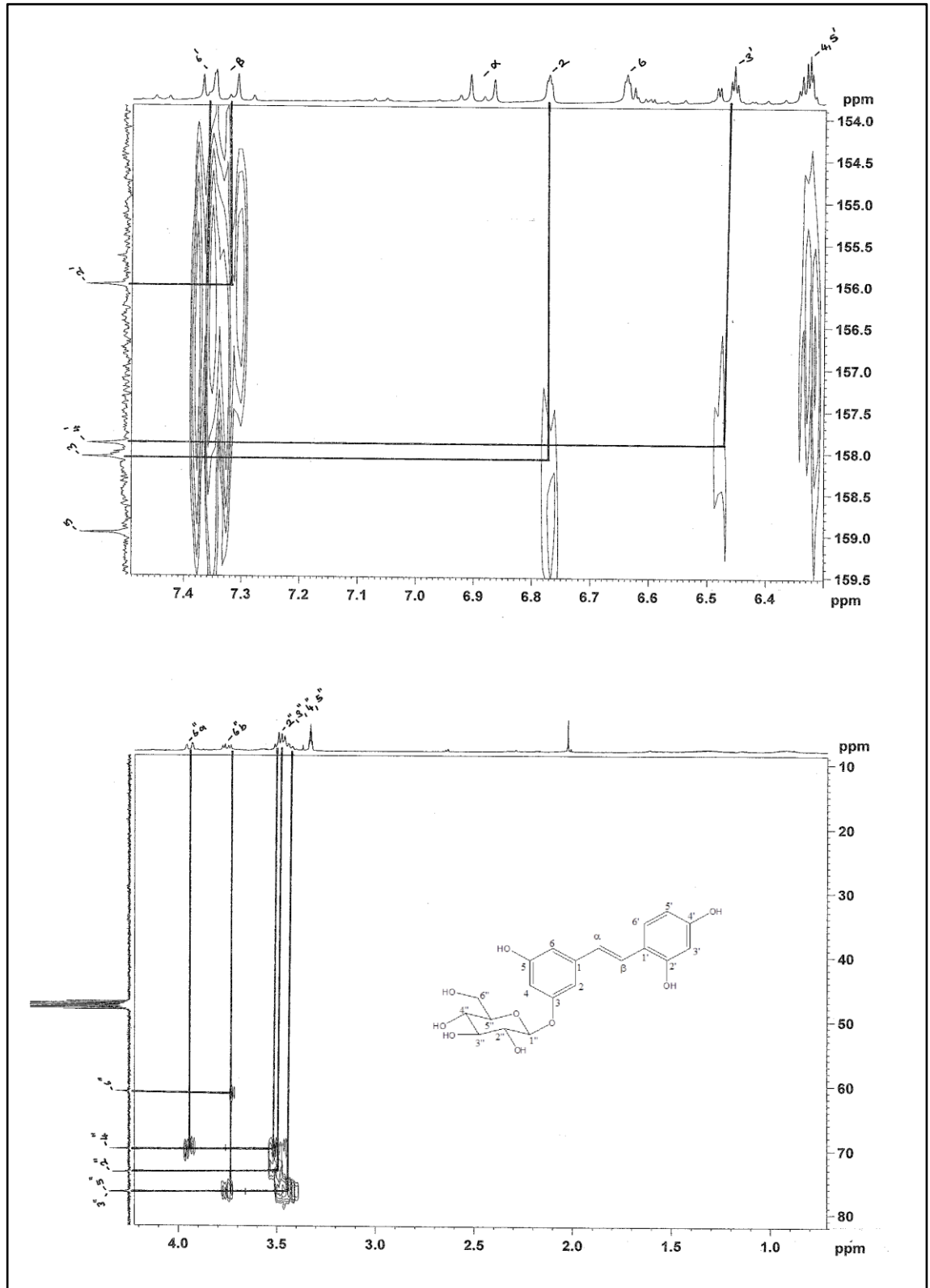
Şekil 4.61. VA-10'un (oksiresveratrol 3-O-β-D-glikopiranozit) DEPT (CD₃OD, 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.62. VA-10'un (oksiresveratrol 3-O- β -D-glikopiranozit) ^1H - ^1H COSY (CD_3OD , 400 MHz) spektrumu

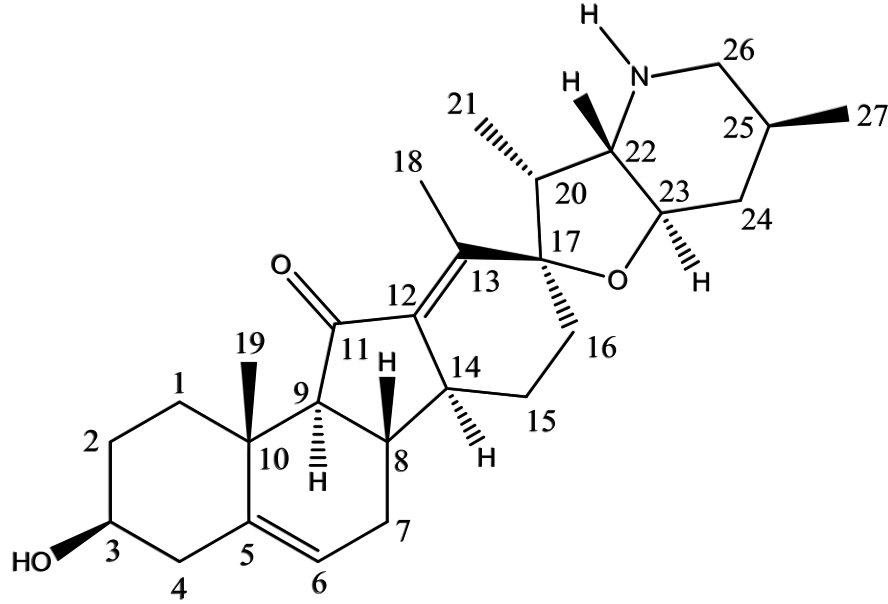


Şekil 4.63. VA-10'un (oksiresveratrol 3-O- β -D-glikopiranozit) ^{13}C - ^1H HMQC (CD_3OD , 400 MHz) spektrumu



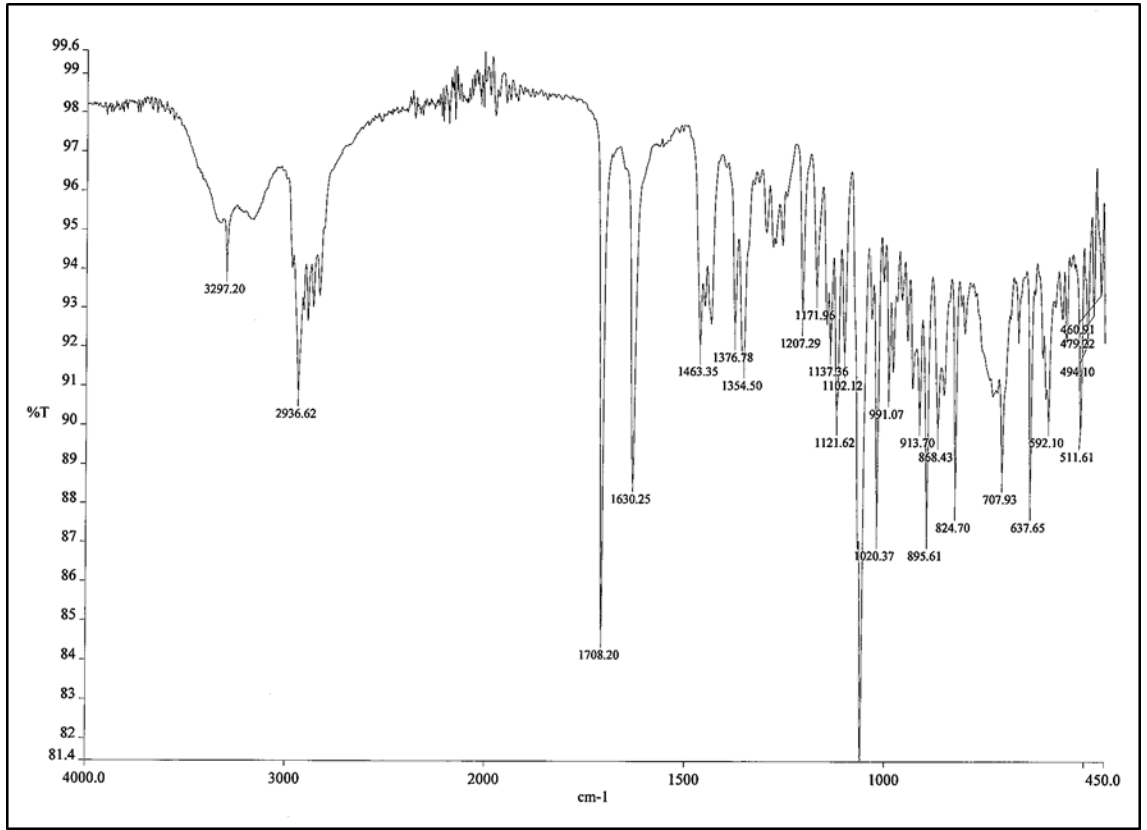
Şekil 4.64. VA-10'un (oksiresveratrol 3-O-β-D-glikopiranozit) ¹³C-¹H HMBC (CD₃OD, 400 MHz) spektrumu

4.2.11. VA-11 kodlu bileşik



Jervin; $C_{27}H_{39}NO_3$; MA: 425 g/mol; $[\alpha]_D^{20} = -167^\circ$ ($CHCl_3$, c=1)

Amorf, toprak rengi bir katı olarak izole edilen VA-11'in kimyasal yapısı UV, IR, 1H -NMR, ^{13}C -NMR, DEPT, 1H - 1H COSY, ^{13}C - 1H HETCOR ve ^{13}C - 1H HMBC yöntemleri ile elde edilen bilgilerden, bir steroidal alkaloid olan **jervin** olarak aydınlatılmıştır. VA-11 UV spektrumunda (λ_{max} nm, CH_3Cl) bir steroidal alkaloid yapısına uygun olarak 251 nm de maksimum absorbans vermiştir. VA-11 bileşiğinin IR spektrumunda (Şekil 4.65) 3297 cm^{-1} de gözlenen keskin absorbans bandı karakteristik $-NH$ titreşiminden kaynaklanmakta olup maddenin steroidal alkaloid tipli bir madde olduğunu göstermektedir. 3300 cm^{-1} de gözlenen absorbans bandı ise moleküldeki $-OH$ grubundan kaynaklanmaktadır. Molekülde çok fazla sayıdaki alifatik $-CH$ titreşimlerine ait absorbanslar ise 2800 - 2936 cm^{-1} arasında gözlenmiştir. IR spektrumundaki 1708 cm^{-1} de ki kuvvetli absorbans bandı ise $C=O$ grubuna aitken, $C=C$ gerilme titreşimi ise 1463 cm^{-1} de gözlenmiştir. Moleküldeki $C-O$ titreşim bandı ise 1060 cm^{-1} de çok kuvvetli olarak gözlenmiştir (Erdik 1998; Skoog *et al.* 1998).



Şekil 4.65. VA-11'in (Jervin) IR spektrumu

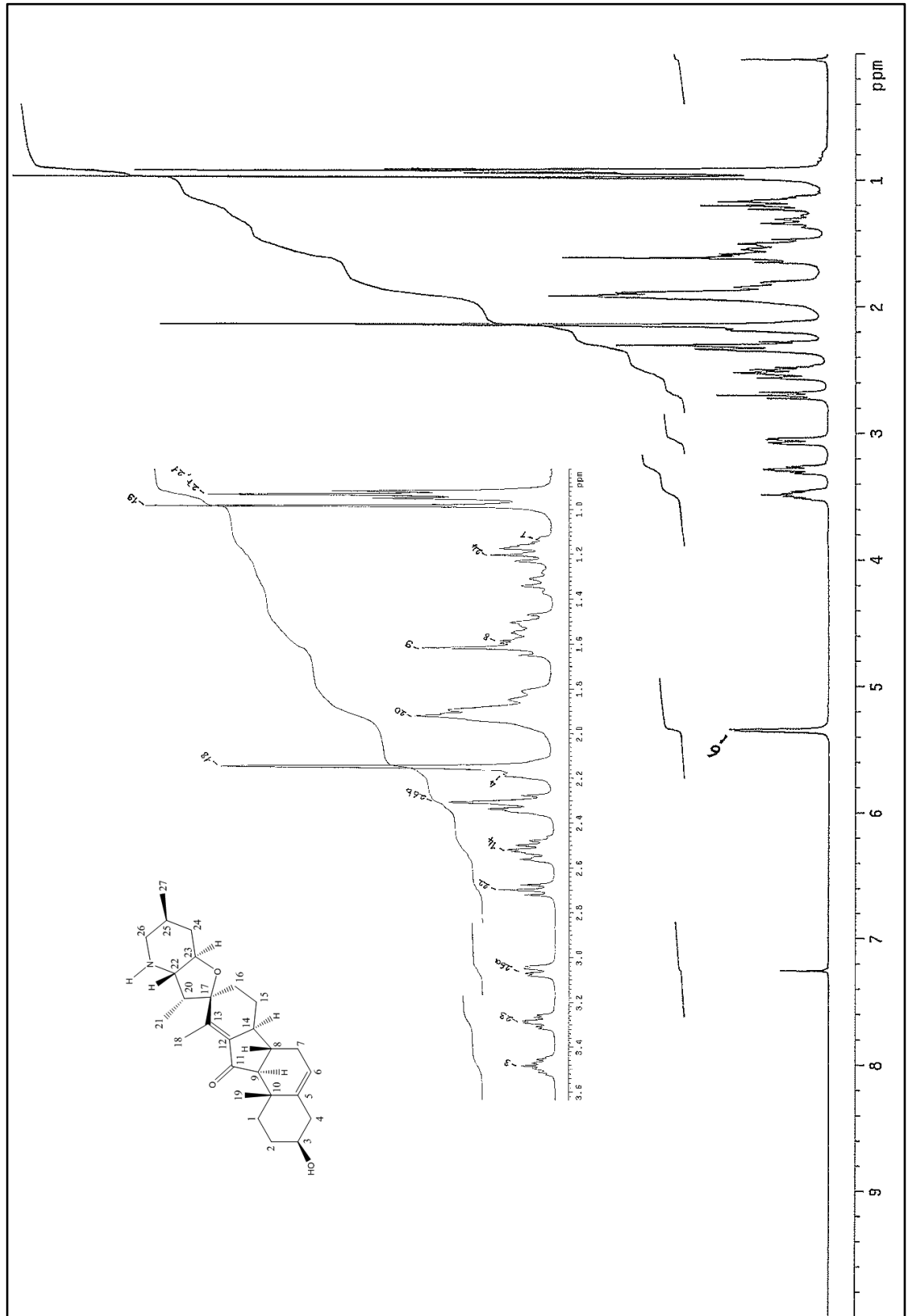
VA-11 bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (Şekil 4.66) bir steroidal alkoloit yapısına uygun olarak $\delta=0.92\text{-}3.51$ ppm arasında çok sayıda alifatik protona ait sinyal gözlenmiştir. Spektrumda 4 adet metil grubuna ait iki singlet ($\delta=0.98$ ppm, H-19 ve $\delta=2.15$ ppm, H-18) ve iki adet dublet ($\delta=0.93$ ppm, $J=6.22$ Hz, H-27 ve $\delta=0.94$ ppm, $J=5.95$ Hz, H-21) sinyal gözlenmiştir. H-23 protonu bir adet H-22 ve iki adet de H-24 protonları ile etkileşerek $\delta=3.29$ ppm'de *dt* sinyali ($J_1=10.25$ Hz, $J_2=4.03$ Hz) vermiştir. H-26 diastropik hidrojenlerden birisi $\delta=3.06$ ppm'de (H-26a, *dd*, $J_1=12.4$ Hz, $J_2=4.03$ Hz) ve $\delta=2.31$ ppm'de *t* ($J=12.5$ Hz) sinyal vermiştir. $\delta=3.49$ ppm'de gözlenen multipler sinyal ise H-3 protonuna aittir.

VA-11 bileşiğinin $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (Şekil 4.67) steroidal alkoloit yapısıyla uyumlu olarak toplam 27 karbon sinyali gözlendi. Keton karbonil karbonuna ait sinyal $\delta=207.01$ ppm'de gözlenirken, C-12, C-5, C-13 ve C-6 olefinik karbonlara ait sinyaller

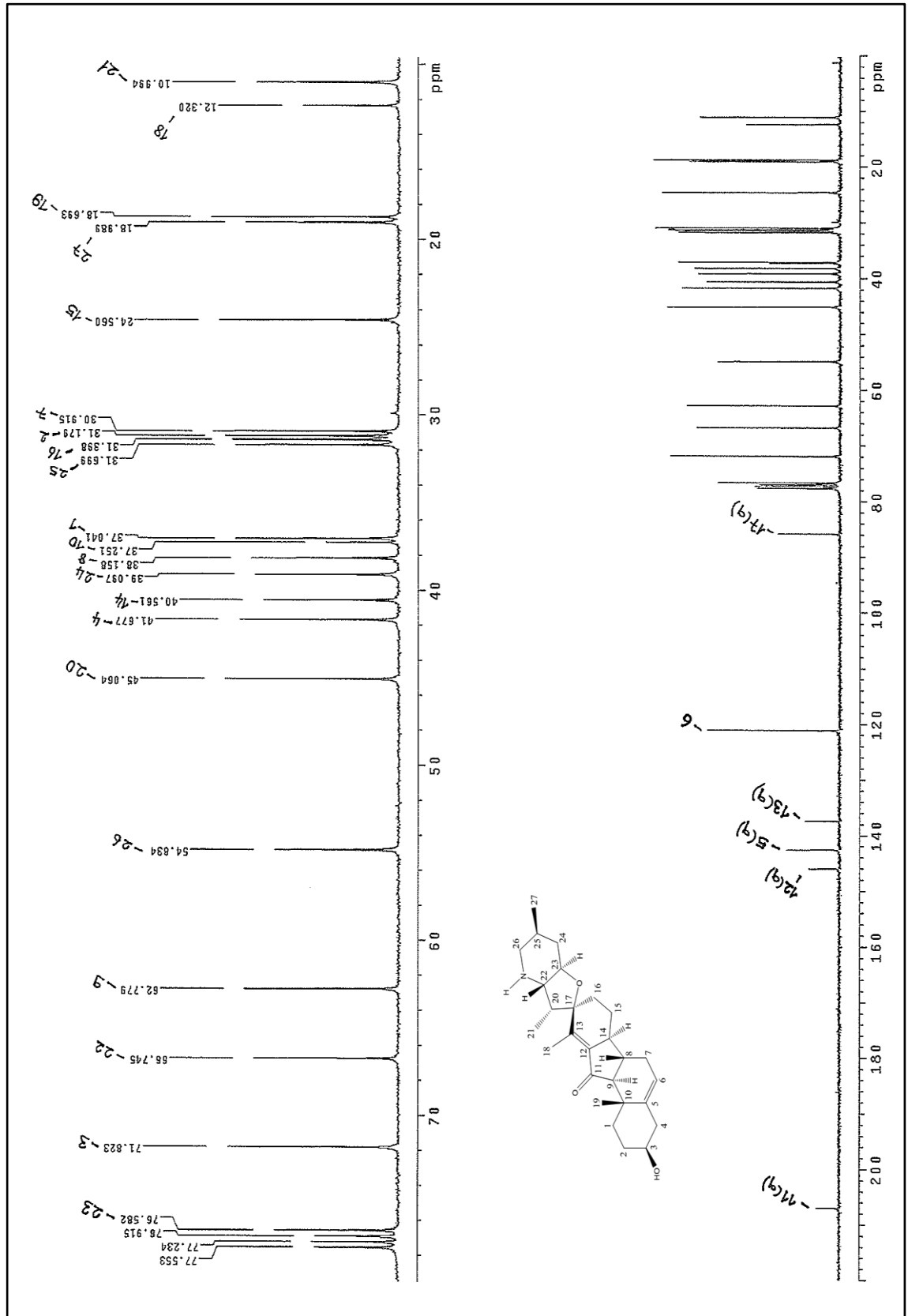
ise sırasıyla, $\delta=146,0$ ppm, $\delta=142,6$ ppm, $\delta=137,4$ ppm ve $\delta=121,1$ ppm'de gözlenmiştir. $\delta=85,8$ ppm'de gözlenen karbon sinyali ise C-17 kuarterner karbonuna ait sinyaldir. VA-11 bileşiğinin DEPT spektrumu da (Şekil 4.68, 4.69) önerilen uyumlu olup, 4 adet CH₃, 8 adet CH₂ ve 9 adet CH gruplarına ait karbon sinyali gözlenmiştir. DEPT spektrumunda gözlenmeyen 6 adet karbon sinyali ise kuarterner karbon atomlarına aittir.

VA-11 bileşiğinin kimyasal yapısının jervin olduğu 2D-NMR spektrumları ile doğrulanmıştır. VA-11'in ¹³C-¹H HETCOR spektrumunda (Şekil 4.71) $\delta=121,1$ ppm'deki karbon sinyali $\delta=5,35$ ppm'deki H-6 protonuna ait sinyal ile, $\delta=76,6$ ppm'de rezonans olan C-23 sinyali $\delta=3,29$ ppm'deki proton sinyali ile korele olmuştur. C-26 karbonuna ait $\delta=54,8$ ppm'deki karbon sinyali $\delta=3,06$ ppm ve $\delta=2,31$ ppm'deki diastropik hidrojenlere ait hidrojen sinyalleri ile korele olmuştur.

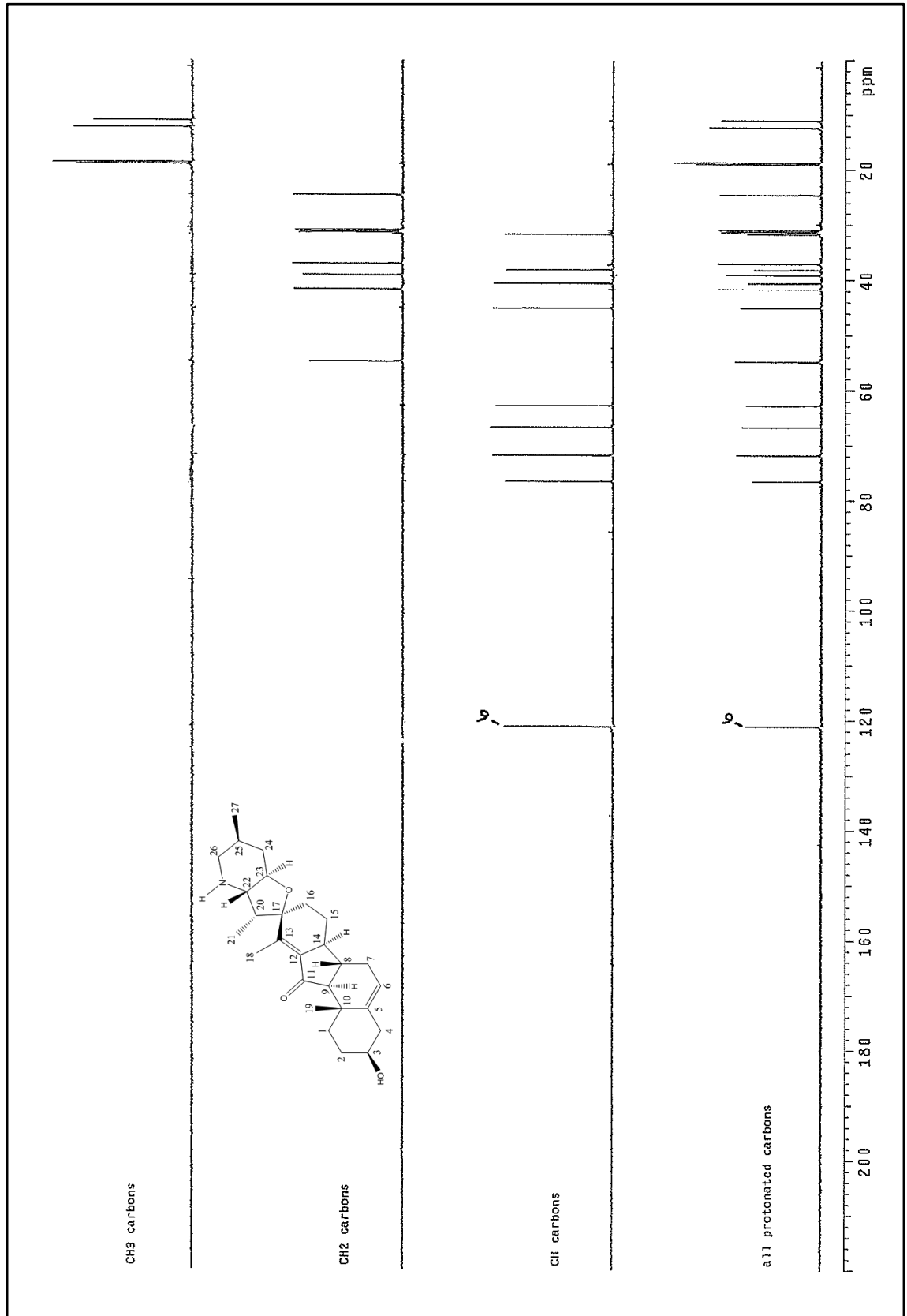
VA-11 bileşiğinin (jervin) ¹H-¹H COSY (Şekil 4.70) ve ¹³C-¹H HMBC (Şekil 4.72) spektrumları da önerilen yapıyı doğrulamaktadır. Bileşiğin ¹³C-¹H HMBC (Şekil 4.72) spektrumunda $\delta=0,98$ ppm'deki -CH₃ (19) protonlarına ait olan sinyal $\delta=142,6$ ppm'deki C-5 karbon sinyali ile korele olmuştur. $\delta=0,93$ ppm ve $\delta=0,94$ ppm'de gözlenen H-21 ve H-27 -CH₃ hidrojenlerine ait birbiri ile çakışan iki dublet sinyal uzak bağ etkileşimi ile C-17 ($\delta=85,8$ ppm), C-22 ($\delta=66,8$ ppm), C-26 ($\delta=54,8$ ppm), C-24 ($\delta=39,1$ ppm) ve C-25 ($\delta=31,7$ ppm) karbon sinyalleri ile korele olmuştur. H-18 metil grubu protonuna ait singlet sinyal ise beklenildiği gibi üç bağ üzerinden $\delta=85,8$ ppm'deki C-17, $\delta=146,0$ ppm'de rezonans olan C-12 ve $\delta=137,4$ ppm'de rezonans olan C-13 karbonları ile korele olmuştur. Benzer şekilde $\delta=0,98$ ppm'deki metil grubuna ait sinyal (H-19) üç bağ etkileşimi üzerinden $\delta=62,8$ ppm'deki C-9 ve $\delta=37,0$ ppm'deki C-1 karbon sinyali ile korele olmuştur. Jervinin yapısı ayrıca literatürde daha önce yayınlanmış spektral verilerle de desteklenmiştir (Rahman *et al.* 1991, 1992, 1996).



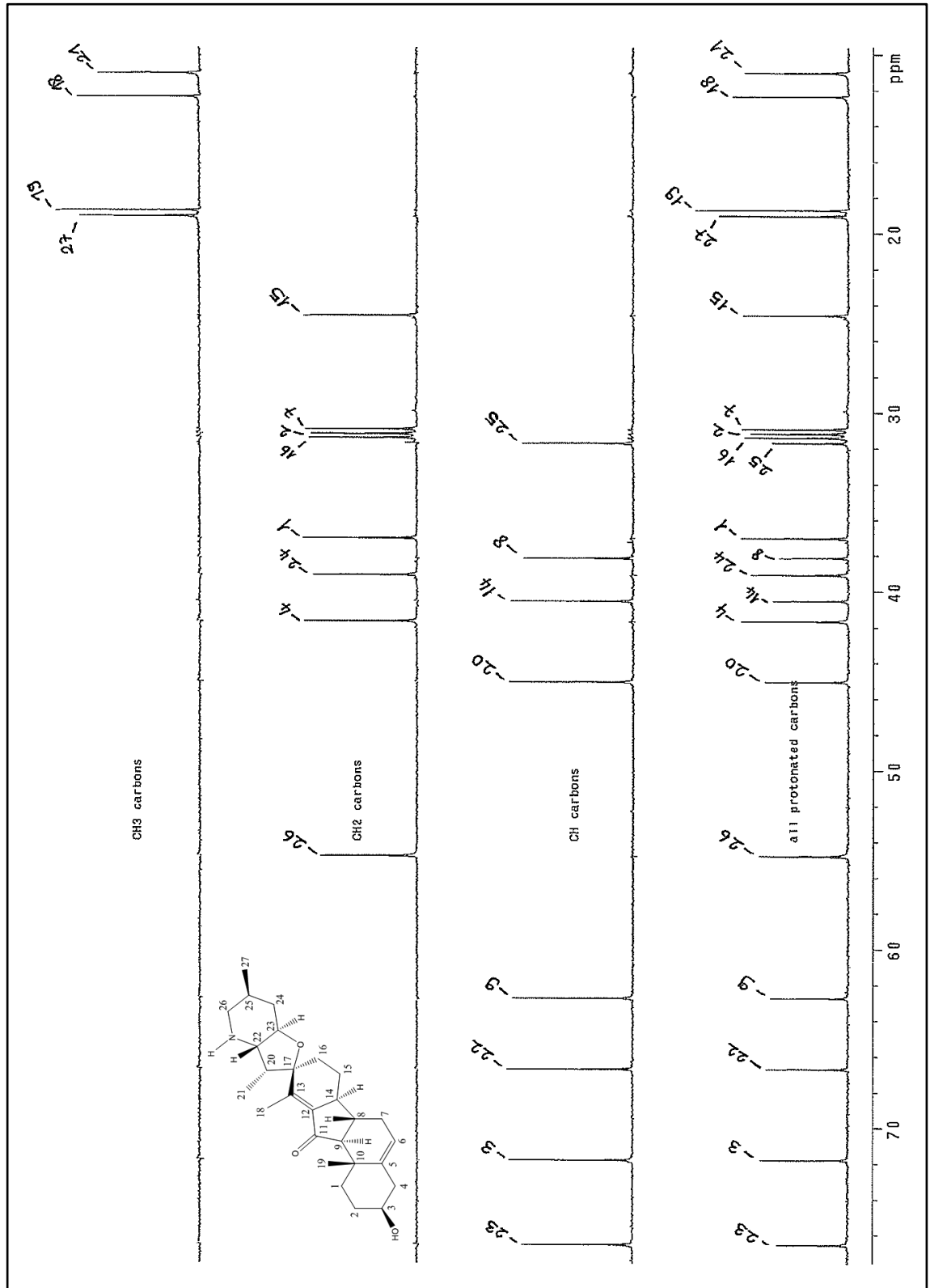
Şekil 4.66. VA-11'in (Jervin) ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) spektrumu



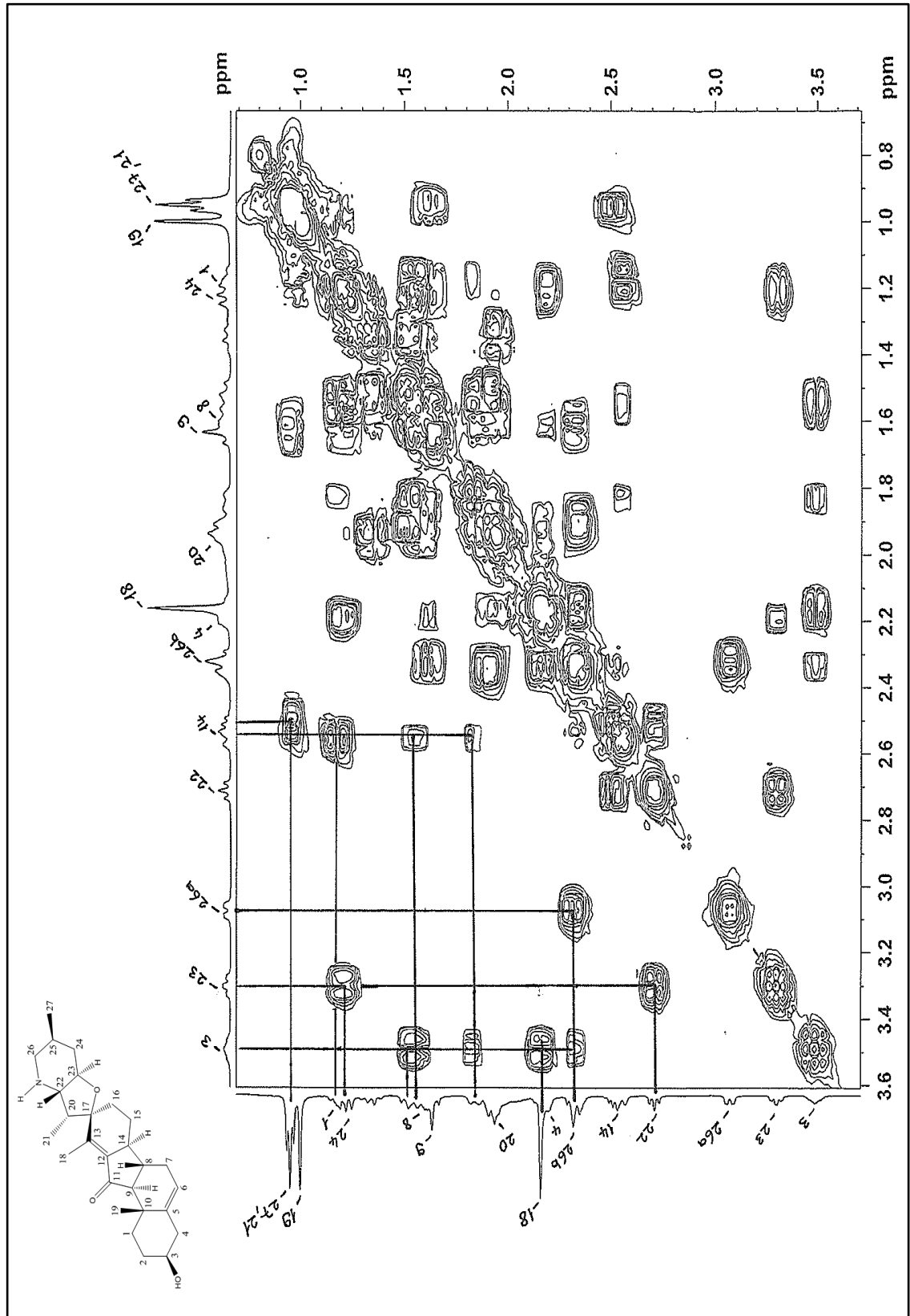
Şekil 4.67. VA-11'in (Jervin) ^{13}C NMR (CDCl₃, 400 MHz) spektrumu



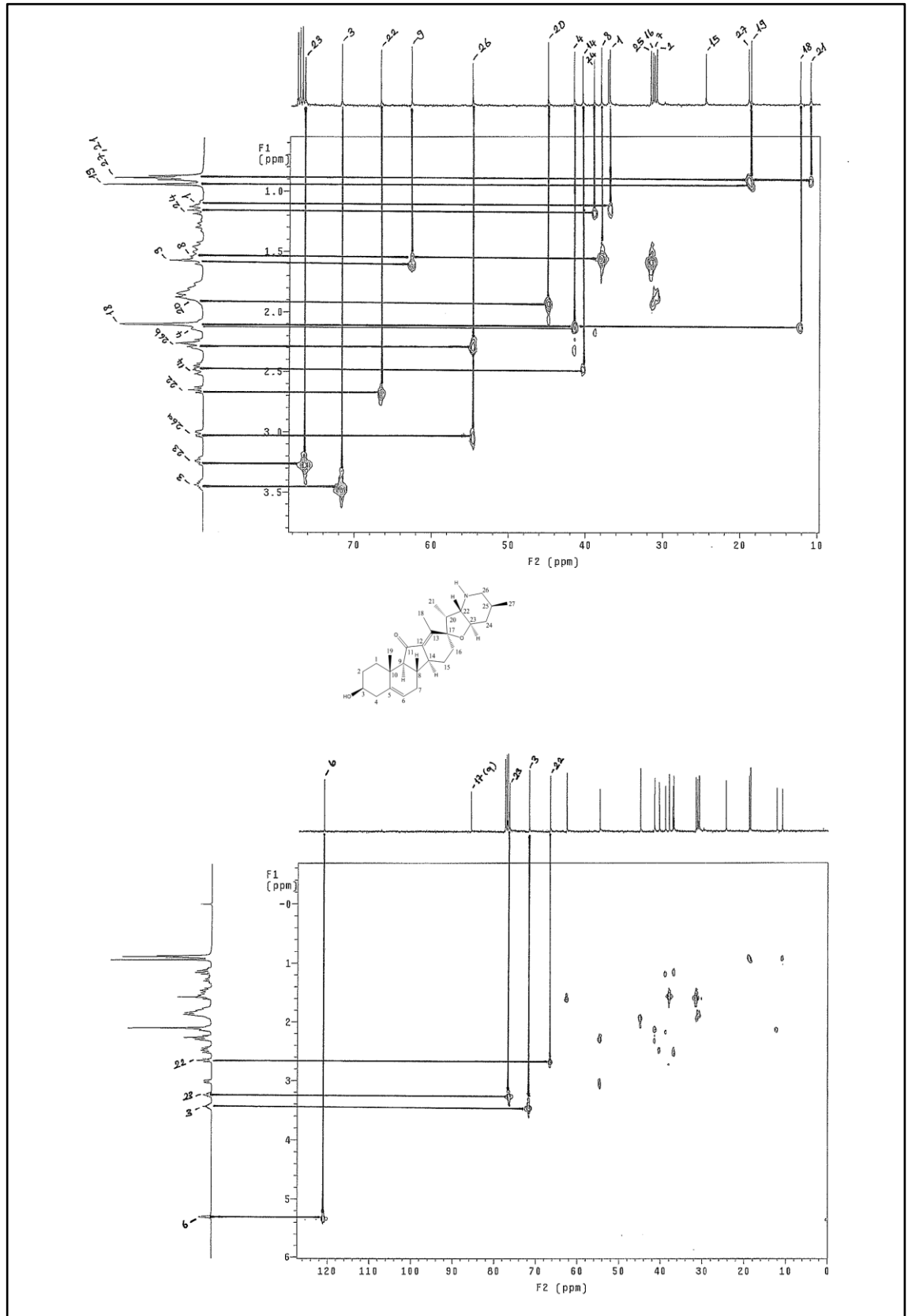
Şekil 4.68. VA-11'in (Jervin) DEPT (CDCl₃, 400 MHz) spektrumu



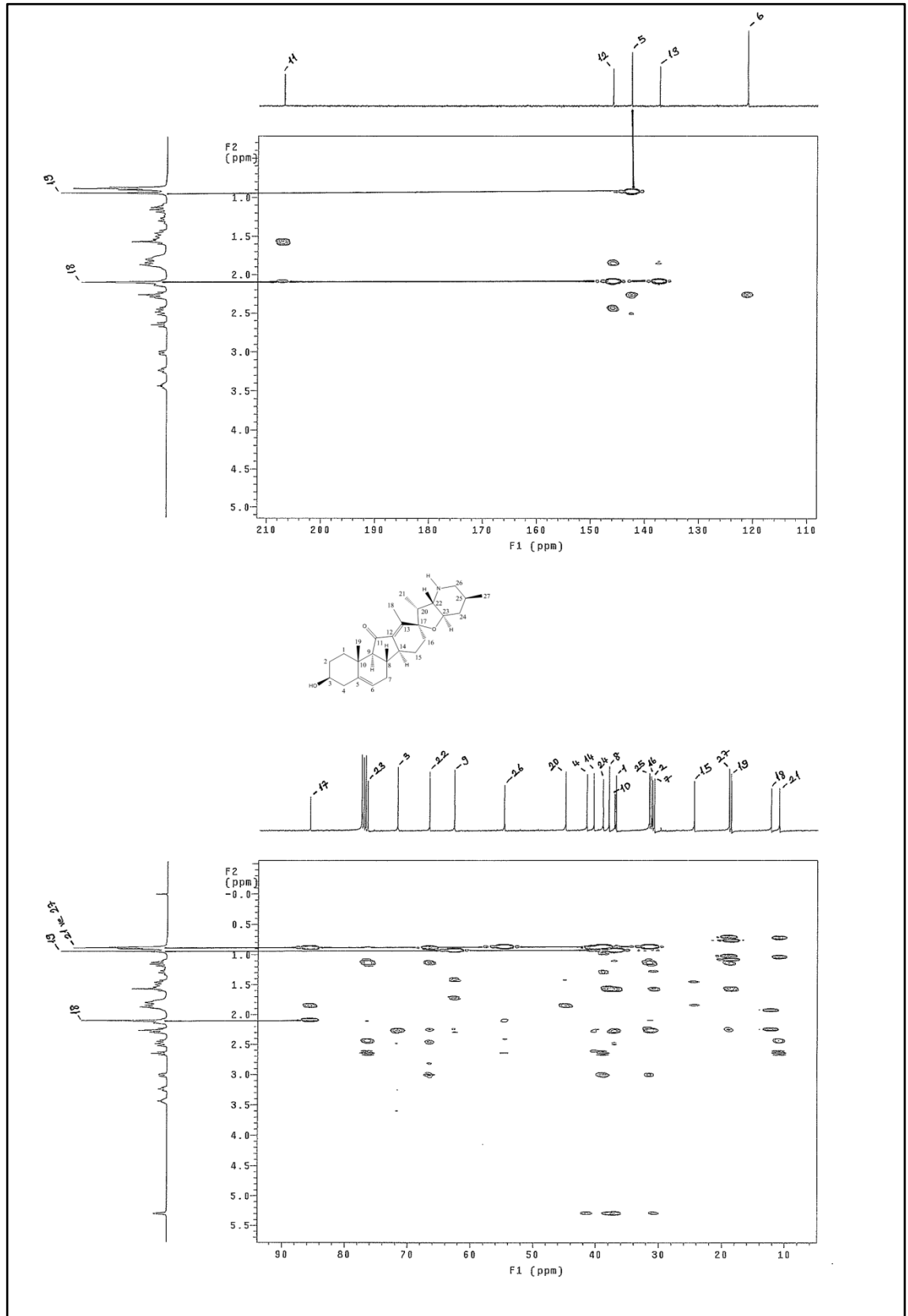
Şekil 4.69. VA-11'in (Jervin) DEPT (CDCl₃, 400 MHz) spektrumu (0-80 ppm arası genişletilmiş spektrum)



Şekil 4.70. VA-11'in (Jervin) ^1H - ^1H COSY (CDCl_3 , 400 MHz) Spektrumu



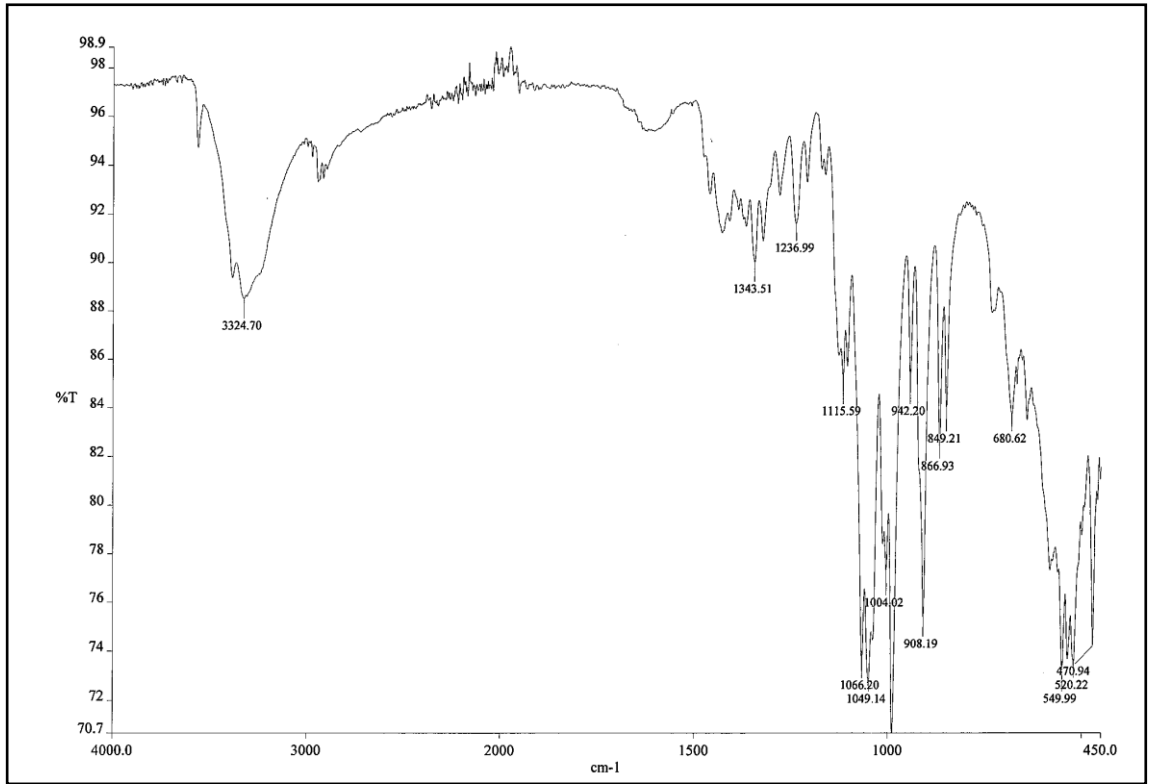
Şekil 4.71. VA-11'in (Jervin) ^{13}C - ^1H HETCOR (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.72. VA-11'in (Jervin) ^{13}C - ^1H HMBC (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu

4.2.12. VA-12 kodlu bileşik

Veratrum album rizomlarının aseton ekstresinden amorf bir katı olarak izole edilen VA-12 bileşiği İTK'da görünür ışıktaki UV₂₅₄ ve UV₃₆₆ nm de renk vermemiştir. H₂SO₄-vanilin reaktifi (105°C) püskürtüldüğünde ise siyahımsı bir renk vermektedir. VA-12 bileşiğinin IR spektrumunda (Şekil 4.73) 3324 cm⁻¹ de -OH, 1343 cm⁻¹ de olefinik -CH, 1049 cm⁻¹ ve 1066 cm⁻¹ de ise çok kuvvetli C-O titreşim bantları gözlenmiştir (Skoog *et al.* 1998).

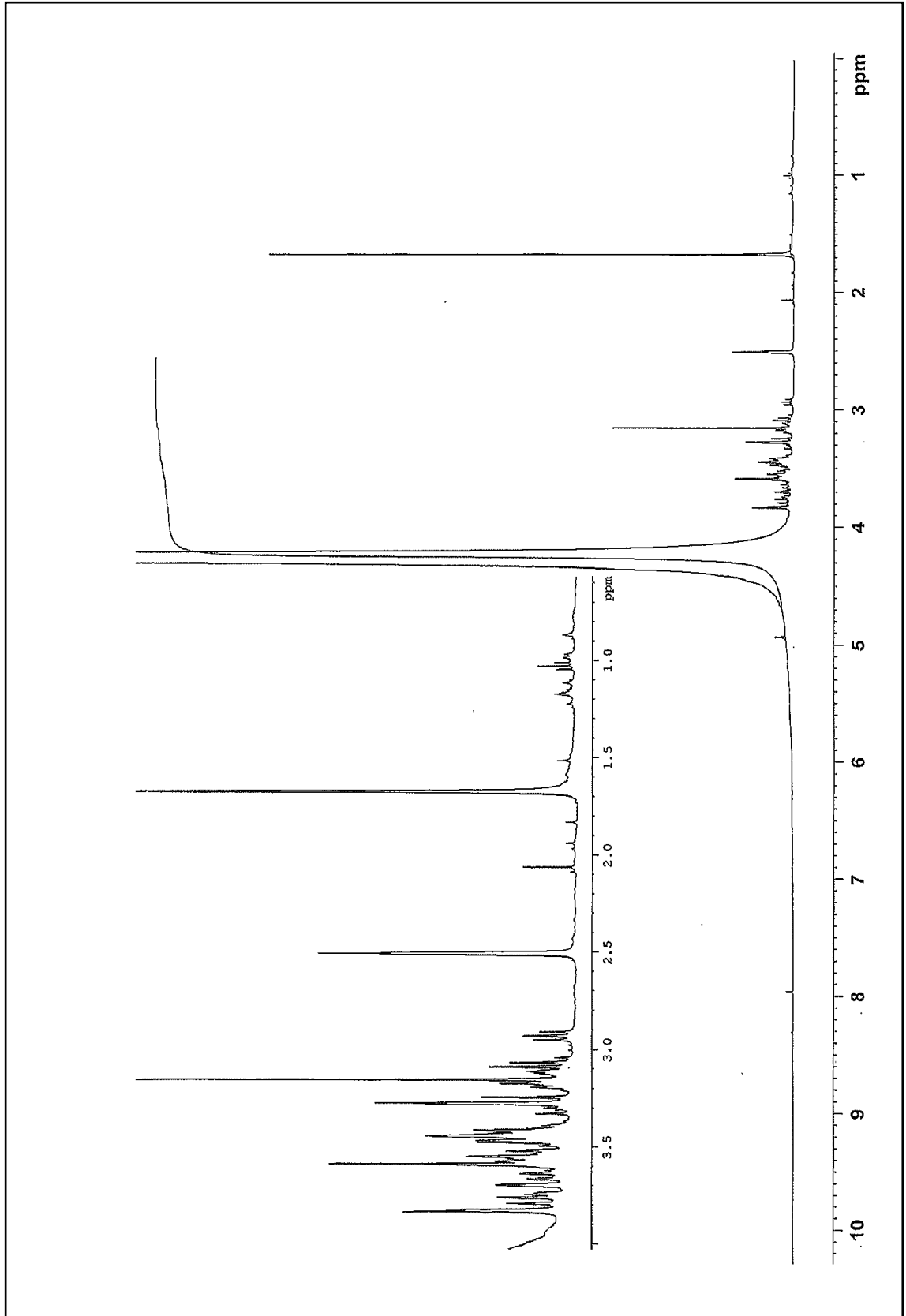


Şekil 4.73. VA-12 bileşiğinin IR spektrumu

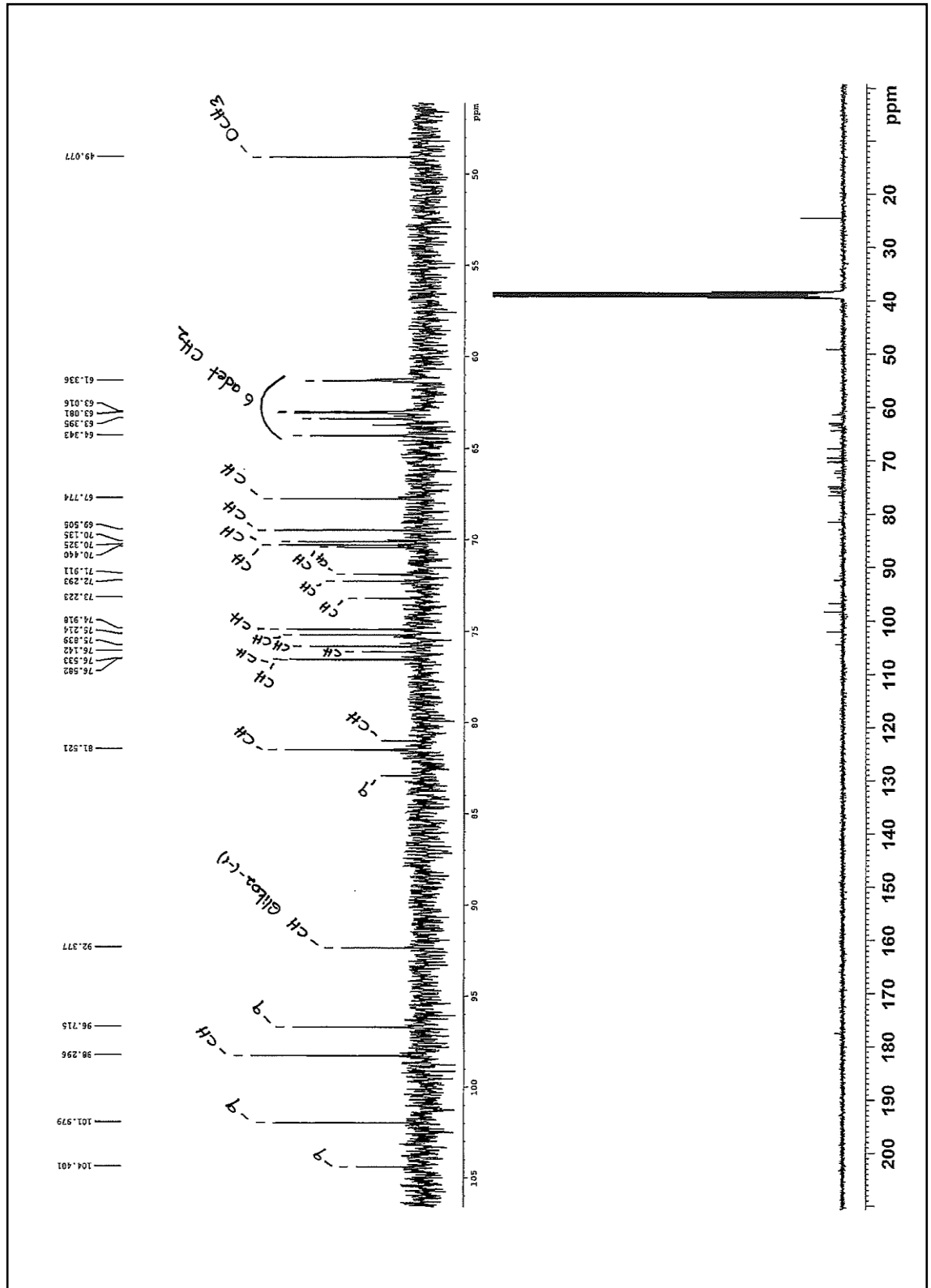
VA-12 molekülünün ¹H-NMR spektrumunda (Şekil 4.74) tüm proton sinyalleri δ=2.91-5.00 ppm aralığında gözlenmiştir. Protonların tümünün bu aralıkta rezonans olması ve çok fazla sayıda proton sinyali gözlenmesi VA-12 molekülünün oligosakkarit türevi bir molekül olduğunu göstermektedir. δ=1,68 ppm'de gözlenen sinyal molekülde bir veya

iki adet $-CH_3$ grubunun olduğunu gösterirken, moleküldeki $-OCH_3$ grubuna ait proton sinyalleri $\delta=3.20$ ppm'de rezonans olmuşlardır.

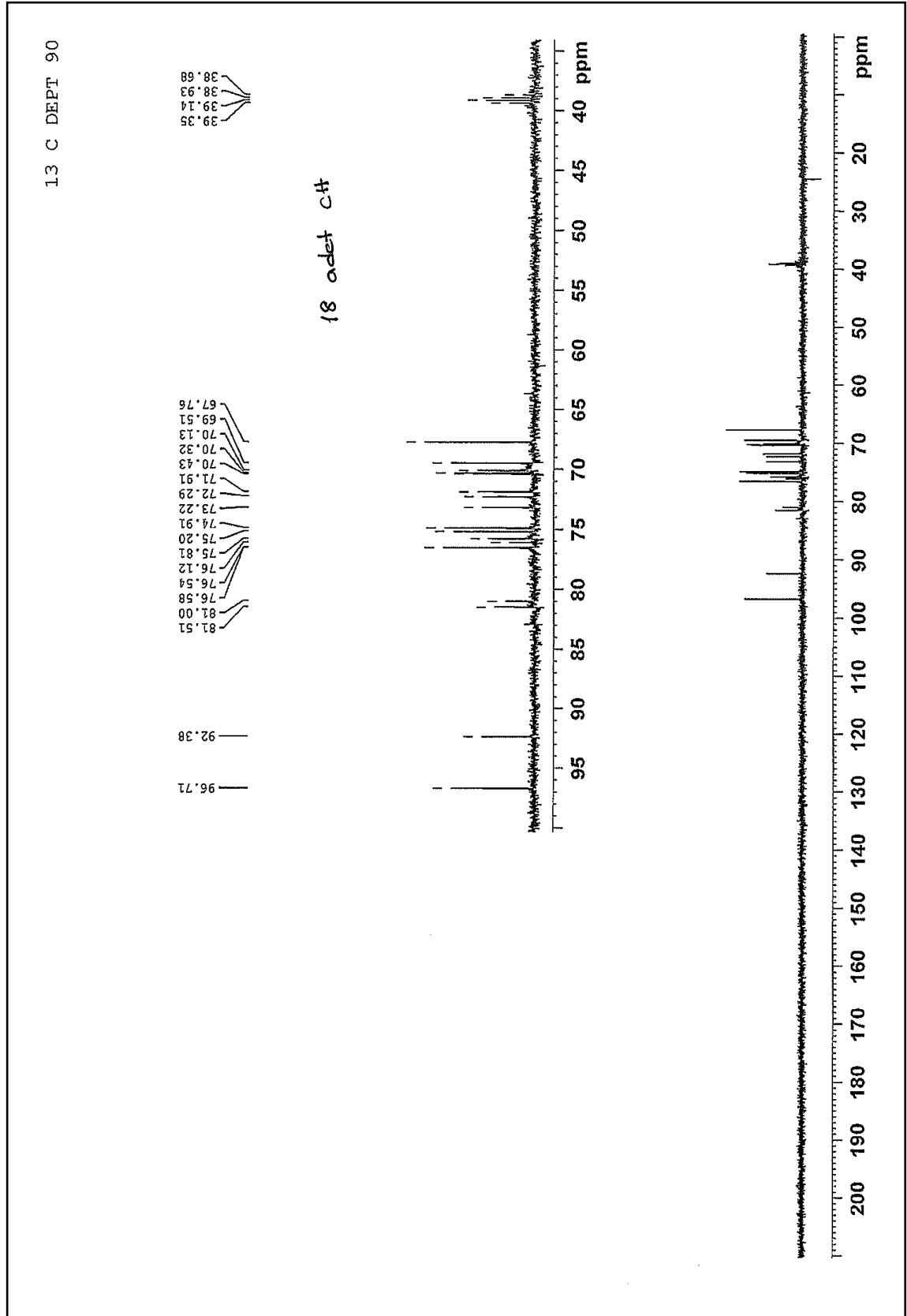
Bileşiğin ^{13}C -NMR spektrumunda (Şekil 4.75) bir oligosakkarit yapısına uygun olarak $\delta=60-105$ ppm aralığında çok sayıda karbon sinyali gözlenmiştir. Bileşiğin spektrumunda oligosakkarit birimine ait toplam 30 karbon sinyalinin gözlenmesi molekülün 5 adet monosakkarit birimi içerdiğine işaret etmektedir. Molekülde $-CH_3$ grubunun varlığına işaret olarak $\delta=24,5$ ppm'de bir karbon sinyali gözlenmiştir. Bu sinyalin ramnoz monosakkaritine ait 6 numaralı karbon sinyali olabileceği düşünülebilir. Ancak bu sinyalin 1H -NMR spektrumunda (Şekil 4.74) bir *d* sinyal yerine *s* sinyal vermesi ramnozun 6 numaralı $-CH_3$ grubundan ileri gelmediğini göstermektedir. Bu kuvvetli sinyal moleküldeki $-OCOCH_3$ (asetoksi) grubundan ileri gelebilir. ^{13}C -NMR spektrumunda $\delta=177,5$ ppm'de gözlenen sinyal de bunu doğrular niteliktedir. $\delta=49.1$ ppm de gözlenen sinyal ise molekülde bir metoksi grubunun olduğunu göstermektedir. VA-12 oligosakkarit bileşiğinin DEPT-90 spektrumunda (Şekil 4.76) toplam 18 adet $-CH$ sinyali belirlenirken, DEPT-135 spektrumunda (Şekil 4.77) ise 7 adet $-CH_2$ sinyali tespit edilmiştir. DEPT-135 spektrumunda (Şekil 4.77) $\delta=49,1$ ppm ve $\delta=24,5$ ppm'de gözlenen sinyallerin $-CH_3$ grubuna ait sinyal olduğu açık bir şekilde gözlenmektedir. Bu bilgilerden yola çıkarak oligosakkaritin 4 adet kuarterner karbon içerdiği belirlenmiştir. Bu kuarterner karbonlar oligosakkaritin bir veya iki fruktoz içerdiğini göstermektedir. Bununla beraber VA-12 molekülünün kimyasal yapısı bu bilgilerden yola çıkılarak aydınlatılamamıştır.



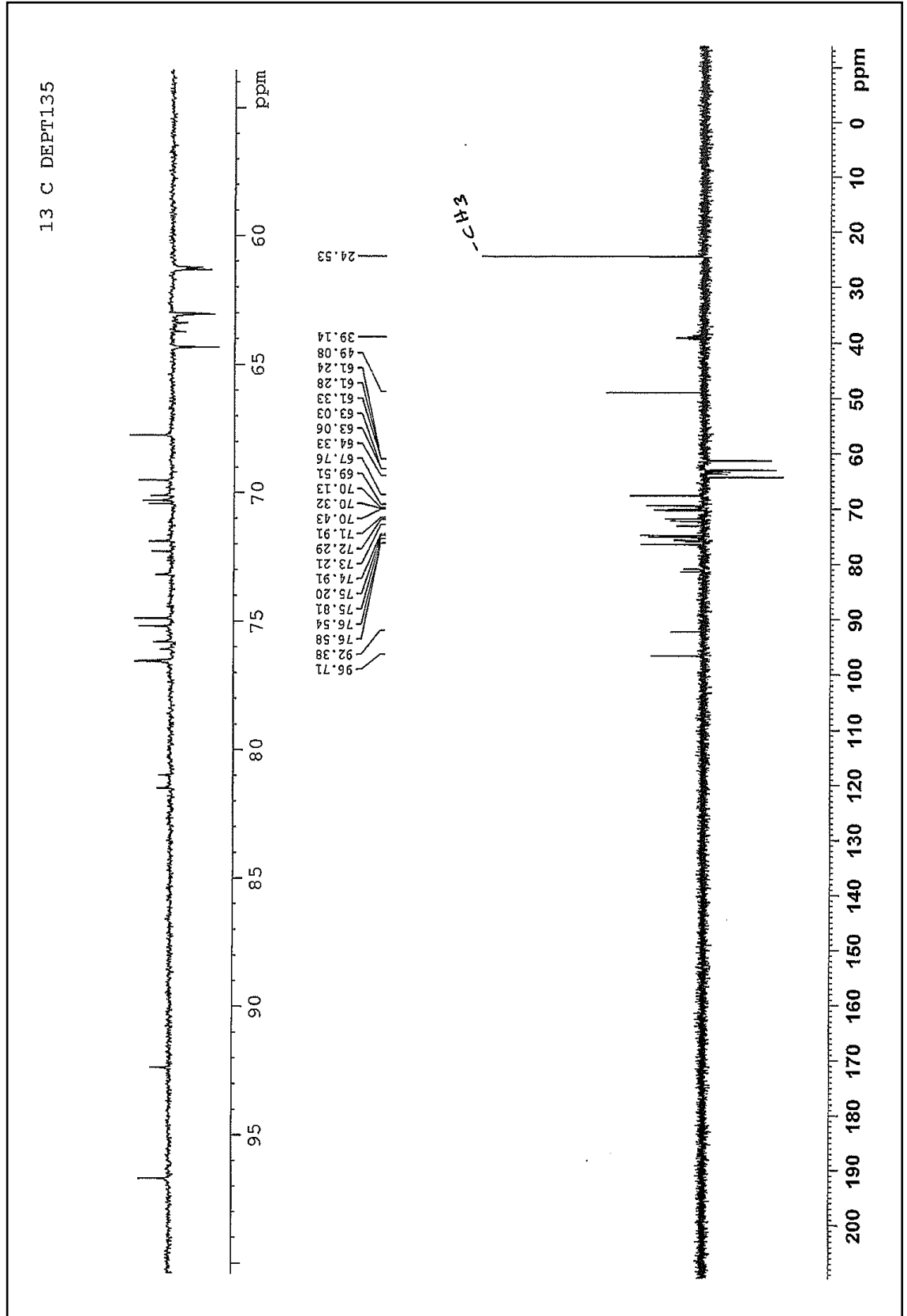
Şekil 4.74. VA-12 bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.75. VA-12 bileşiğinin ^{13}C -NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) spektrumu

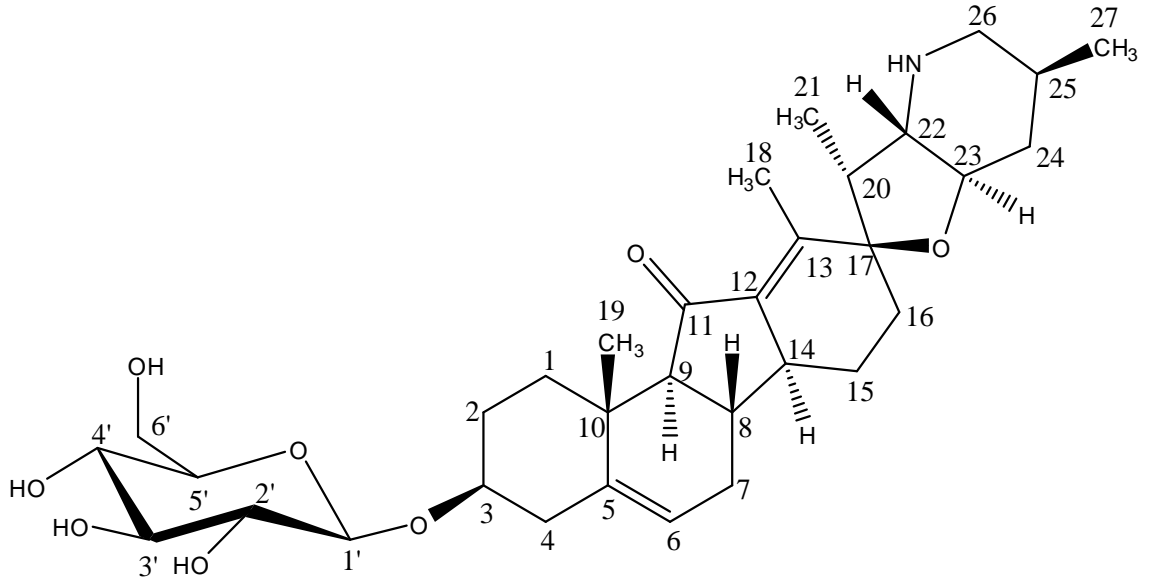


Şekil 4.76. VA-12 bileşiğinin DEPT-90 (DMSO-d₆, 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.77. VA-12 bileşiğinin DEPT-135 (DMSO-d₆, 400 MHz) spektrumu

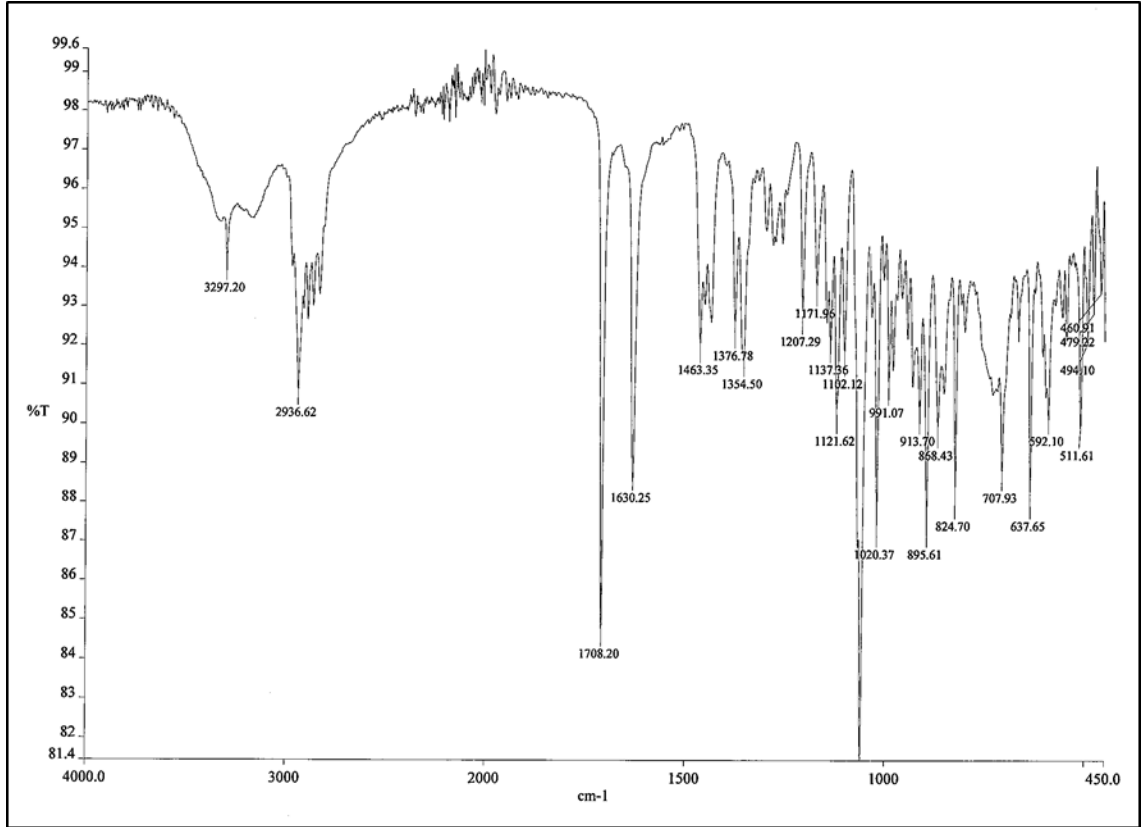
4.2.13. VA-13 kodlu bileşik



(Pseudojervin) (Jervin 3-*O*- β -D-Glikopiranozit); $C_{33}H_{49}NO_8$; MA: 587 g/mol
 $[\alpha]_D^{20} = -160^\circ$ (C_5H_5N , $c=1$)

İTK'da görünür ışıkta renksiz, UV_{254} nm de mor renkli ve UV_{366} nm'de renk vermeyen VA-13 bileşiği kloroform ekstresinden amorf beyaz bir katı madde halinde izole edildi. H_2SO_4 -vanilin reaktifi ($105^\circ C$) püskürtüldükten sonra ısıtılınca yeşil renge dönüşmekte olan maddenin erime noktası ise $291-293^\circ C$ olarak belirlendi. VA-13 bileşiğinin UV_{254} nm de mor renk vermesi, maddenin stilbenoid yapılu bir madde olduğu düşüncesini bizde oluşturdu (Sakar ve Tanker 1991; Wagner and Bladt 1996). Bileşik UV spektrumunda ise (λ_{max} nm, MeOH- $CHCl_3$) 357, 279 ve 277 nm değerlerinde maksimum absorpsiyonlar vermiştir. Bununla beraber bileşiğin 1H -NMR, ^{13}C -NMR, DEPT, 1H - 1H COSY, ^{13}C - 1H HMQC ve ^{13}C - 1H HMBC spektral verileri, stilbenoid tipli madde yerine jervinin bir glikoziti olduğunu göstermiştir. Spektral verilerden faydalanarak VA-13'ün kimyasal yapısı jervinin bir glikoziti olan, **pseudojervin (jervin-3-*O*- β -D-glikopiranozit)** olarak aydınlatıldı.

VA-13 bileşğinin IR spektrumunda (Şekil 4.78) 3297 cm^{-1} de $-\text{NH}$, 2936 cm^{-1} de olefinik $-\text{CH}$, 1708 cm^{-1} de $\text{C}=\text{O}$ titreşim bandı, 1463 cm^{-1} de $\text{C}=\text{C}$ gerilme titreşimi, 1060 cm^{-1} de ise çok kuvvetli $\text{C}-\text{O}$ ve $\text{C}-\text{N}$ titreşim bantları gözlenmiştir (Erdik 1998).



Şekil 4.78. VA-13'ün (Pseudojervin) IR spektrumu

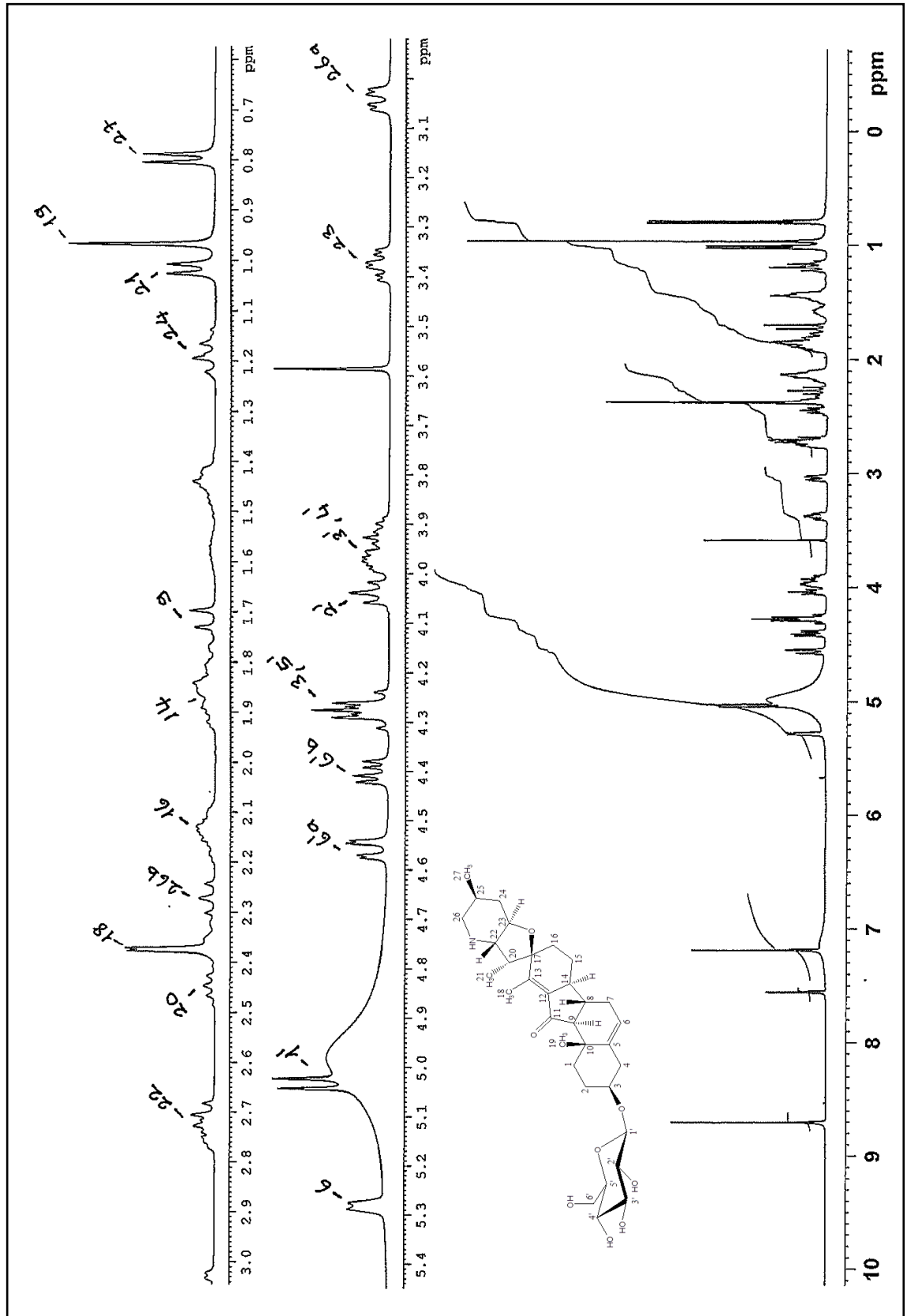
Pseudojervin bileşğinin ^1H -NMR spektrumunda (Şekil 4.79) $\delta=3.90$ - 4.61 ppm arasında gözlenen sinyaller ile $\delta=5.07$ ppm'de gözlenen glikozun anomerik protonuna ait *d* sinyal ($J=7.41$ Hz) hariç diğer tüm sinyaller jervin molekülüne ait proton rezonansları ile hemen hemen aynıdır. Bir steroidal alkoloit yapısına uygun olarak çok sayıda alifatik protona ait sinyaller $\delta=0.92$ - 3.51 ppm arasında gözlenmiştir. Moleküldeki 18 ve 19 numaralı iki adet metil grupları beklenildiği gibi $\delta=2.41$ ppm ve $\delta=1.00$ ppm'de singlet sinyal vererek rezonans olmuşlardır. Diğer 27 ve 21 numaralı metil grupları ise sırasıyla $\delta=0.80$ ppm ve $\delta=1.02$ ppm'de dublet (CH_3 -21 için $J=6.63$ Hz, CH_3 -27 için $J=7.41$ Hz) vermişlerdir. H-23 protonu bir adet H-22 ve iki adet de H-24 protonları ile

etkileşerek $\delta=3,38$ ppm'de *dt* sinyali ($J_1=10,14$ Hz, $J_2=3,50$ ve $2,73$ Hz) vermiştir. Moleküldeki H-26 diastropik hidrojenlerden birisi $\delta=3,05$ ppm'de (H-26a, *dd*, $J_1=12,09$ Hz, $J_2=3,90$ Hz) ve $\delta=2,24$ ppm'de *t* ($J=11,70$ Hz) sinyal vermiştir. Jervin molekülünde $\delta=3,49$ ppm'de rezonans olan H-3 protonu, pseudojervin molekülünde C-3 pozisyonundaki monosakkarit birimindeki oksijen atomlarının indüktif etkisinden dolayı daha aşağı alanda, $\delta=4,27$ ppm'de rezonans olmuştur. Monosakkarit biriminin karakteristik anomerik protonu $\delta=5,04$ ppm'de dublet ($J=7,41$ Hz) vererek rezonans olmuştur. Anomerik protona ait etkileşme sabiti ve rezonans bölgesi monosakkaritin glikoz olduğunu ve β - bağı ile jervine bağlandığına işaret etmektedir (Dai *et al.* 2009). Glikozun diastropik H-6' protonlarına ait sinyaller ise $\delta=4,57$ ppm (1H, *dd*, $J_1=11,70$ Hz, $J_2=2,34$ Hz) ve $\delta=4,40$ ppm'de (1H, *dd*, $J_1=11,70$ Hz, $J_2=5,46$ Hz) gözlenmiştir. H-6 ise $\delta=5,28$ ppm'de dubleti andıran multipler sinyal vererek rezonans olmuştur.

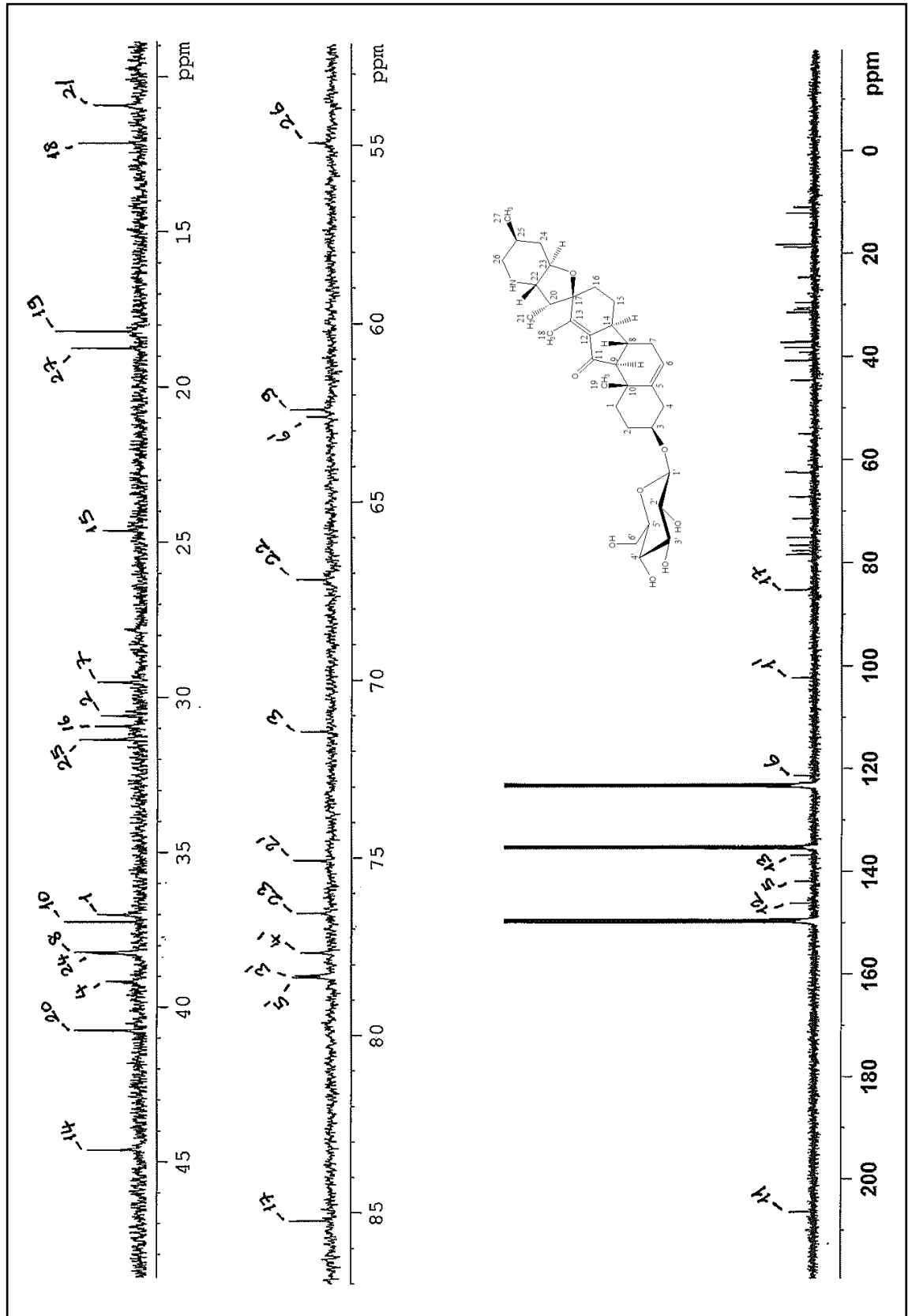
VA-13 molekülünün ^{13}C -NMR spektrumunda (Şekil 4.80) glikoza ait 6 karbon sinyali ve steroidal alkaloid yapısıyla uyumlu olarak 27 karbon sinyali olmak üzere 33 karbon sinyali gözlenmiştir. Pseudojervinin keton karbonil karbonuna (C-11) ait sinyal $\delta=206,5$ ppm'de gözlenmiştir. C-12, C-5, C-13 ve C-6 olefinik karbonlara ait sinyaller ise sırasıyla, $\delta=146,2$ ppm, $\delta=141,9$ ppm, $\delta=136,9$ ppm ve $\delta=121,4$ ppm'de gözlenmiştir. C-17 kuarterner karbonu, bağlı bir adet O atomunun indüktif etkisinden dolayı $\delta=85,2$ ppm'de rezonans olmuştur. Bileşiğin glikoz birimi içerdiği ^{13}C -NMR spektrumundan da kolayca görülmektedir. Glikozun anomerik karbonu (C-1') $\delta=102,3$ ppm'de ve metilen karbonu (C-6') ise $\delta=62,6$ ppm'de rezonans olmuştur. $\delta=60-80$ ppm arasında gözlenen toplam 9 adet karbon sinyalinin dört adeti jervinin C-9 ($\delta=62,4$), C-22 ($\delta=67,2$), C-3 ($\delta=71,5$) ve C-23 ($\delta=76,6$) karbonlarına aitken diğerleri glikoz şekerine ait (anomerik karbon, C-1' hariç) karbon sinyalleridir. VA-13 molekülünün DEPT spektrumunda da (Şekil 4.81) önerilen yapıyla tam uyumlu olarak toplam 4 adet CH_3 , 9 adet CH_2 (8 jervin ve 1 glikoz) ve 14 adet CH (9 jervin ve 5 glikoz) karbon sinyali belirlenmiştir. DEPT spektrumunda gözlenmeyen 6 adet karbon sinyali ise jervinin kuarterner karbon atomlarına aittir.

VA-13 bileşiğinin kimyasal yapısının pseudojervin olduğu ayrıca 2D-NMR spektrumları ile de doğrulanmıştır. VA-13'ün ^{13}C - ^1H HMQC spektrumunda (Şekil 4.83

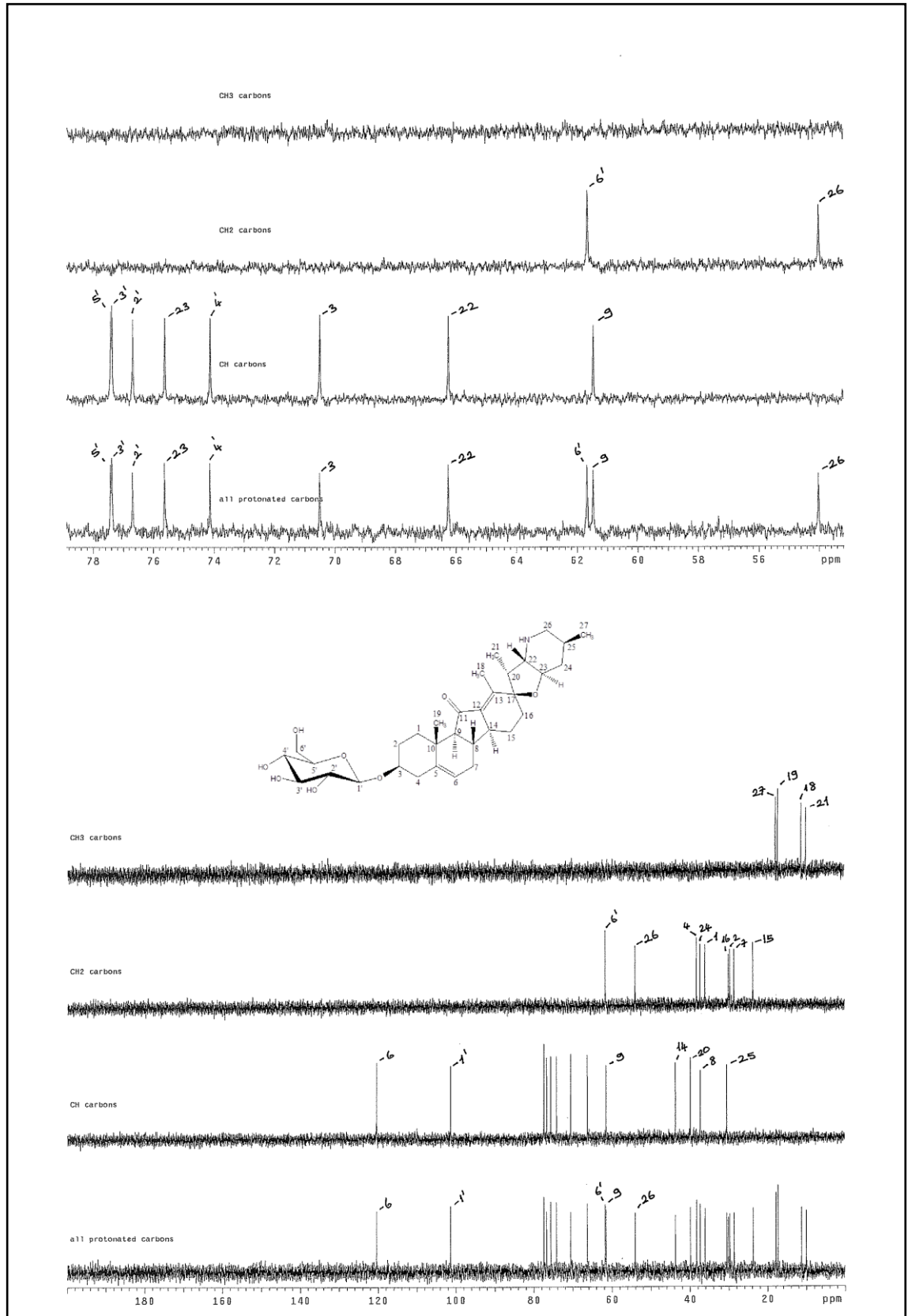
ve 4.84) $\delta=121,4$ ppm'deki karbon sinyali $\delta=5,28$ ppm'deki H-6 protonuna ait sinyal ile, $\delta=76,6$ ppm'de rezonans olan C-23 sinyali $\delta=3,38$ ppm'deki *dt* proton sinyali ile korele olmuştur. C-26 karbonuna ait $\delta=54,9$ ppm'deki karbon sinyali $\delta=3,05$ ppm ve $\delta=2,24$ ppm'deki diastropik hidrojenlere ait sinyaller ile korele olmuştur. $\delta=102,3$ ppm'deki anomerik C-1' karbon sinyali $\delta=5,04$ ppm'deki *d* sinyal ile korele olmuştur. Glikozun $\delta=4,57$ ppm (1H, *dd*) ve $\delta=4,40$ ppm (1H, *dd*) de gözlenen diastropik H-6' protonlarına ait sinyaller $\delta=62,6$ ppm'deki karbon sinyali ile korele olmuştur. VA-13 bileşiğinin (jervin) ^1H - ^1H COSY (Şekil 4.82) ve ^{13}C - ^1H HMBC spektrumu (Şekil 4.85) da önerilen pseudojervin yapısını doğrulamaktadır. Pseudojervinin yapısı ayrıca literatürde daha önce yayınlanmış spektral verilerle de desteklenmiştir (Rahman *et al.* 1991, 1992, 1996).



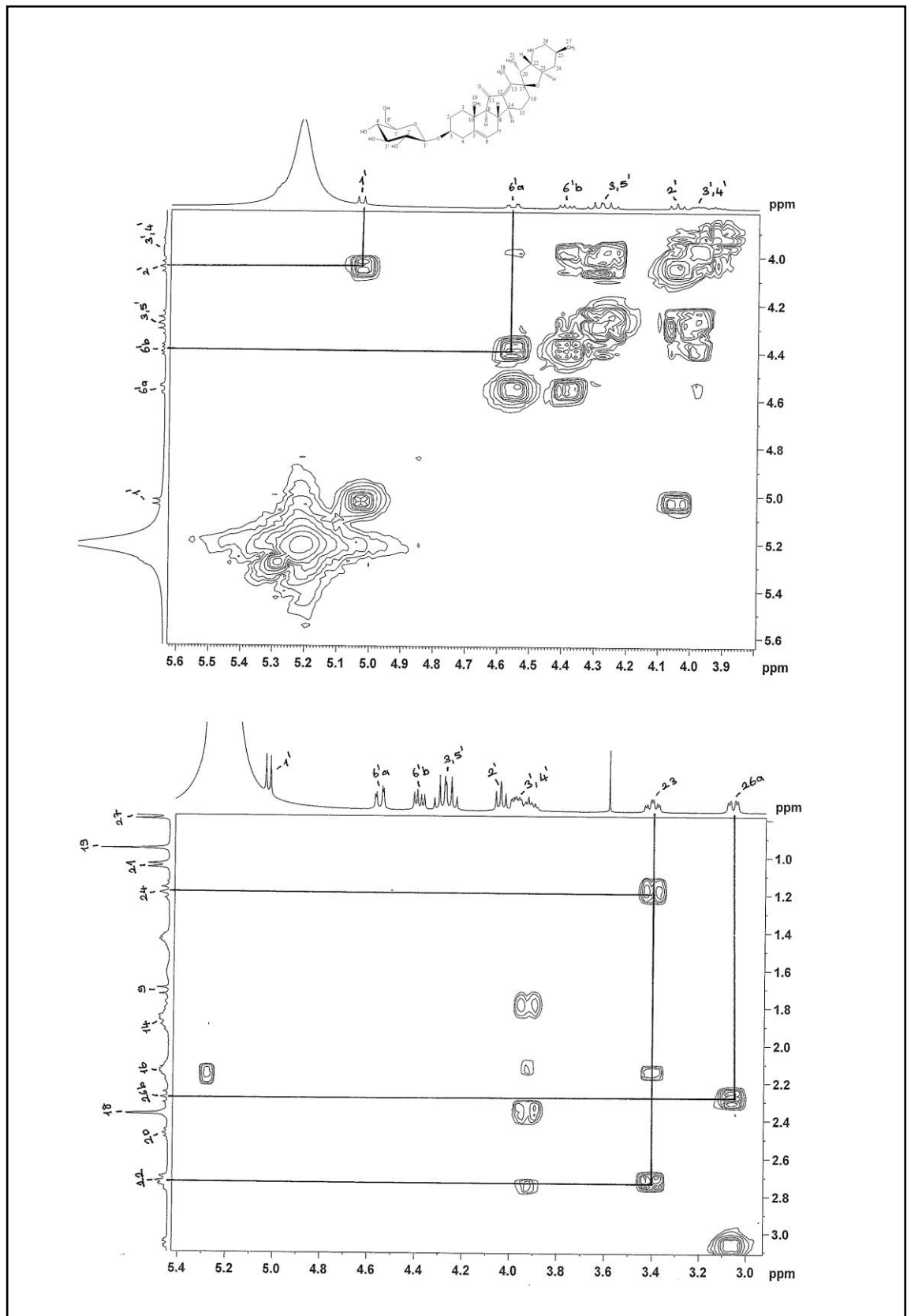
Şekil 4.79. VA-13'ün (Pseudojervin) $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu



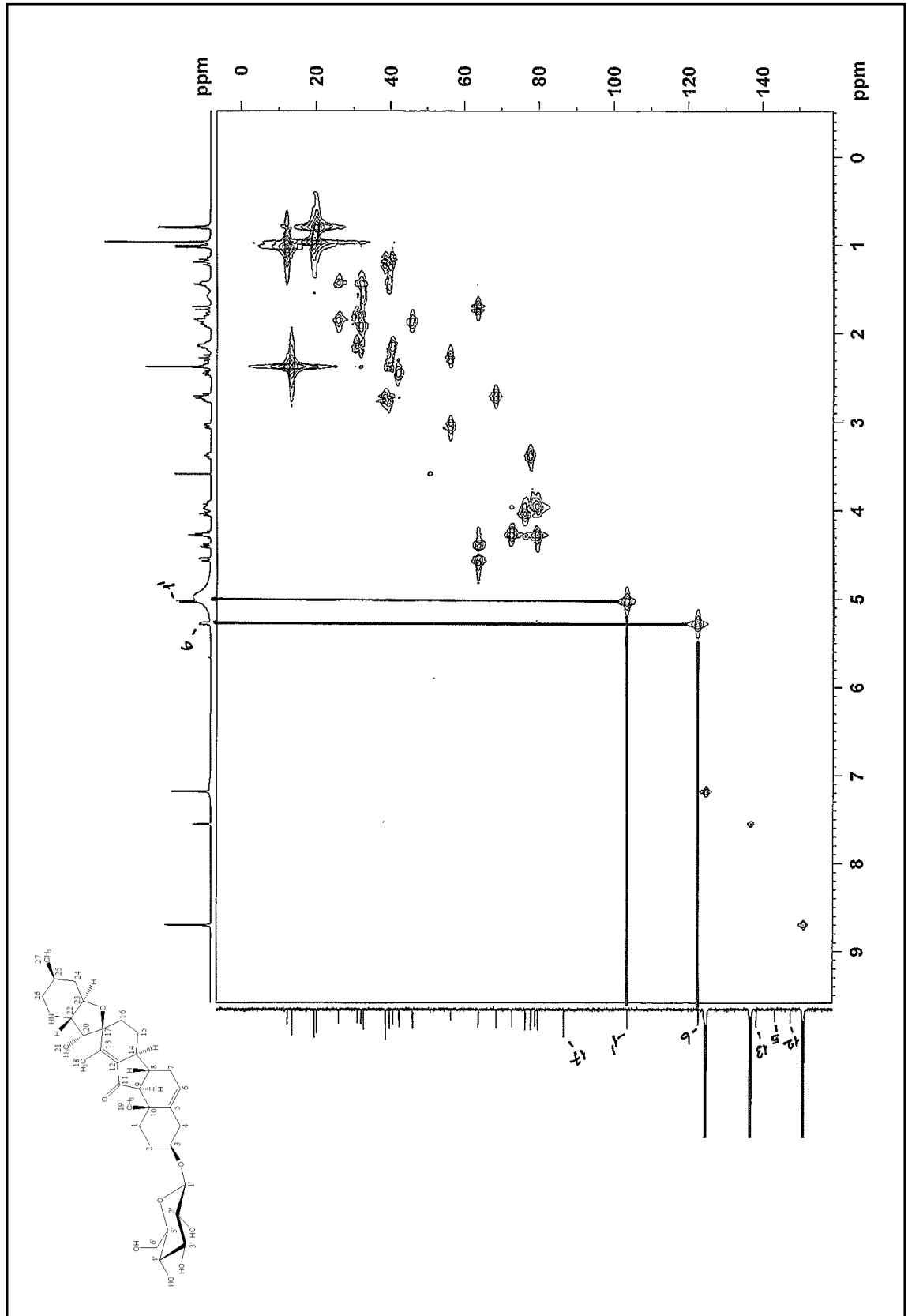
Şekil 4.80. VA-13'ün (Pseudojervin) ^{13}C -NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu



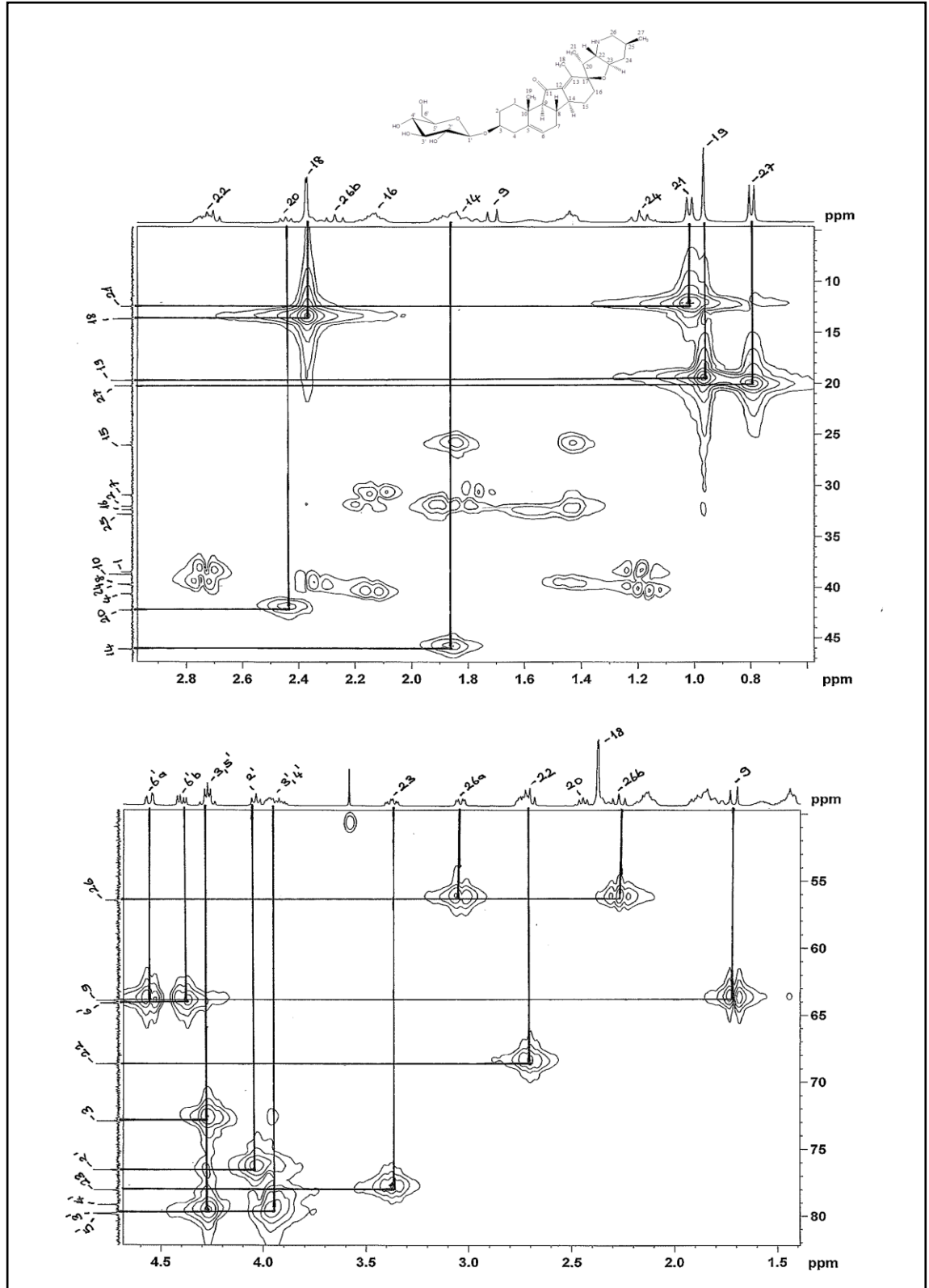
Şekil 4.81. VA-13'ün (Pseudojervin) DEPT (C_5D_5N , 400 MHz) spektrumu



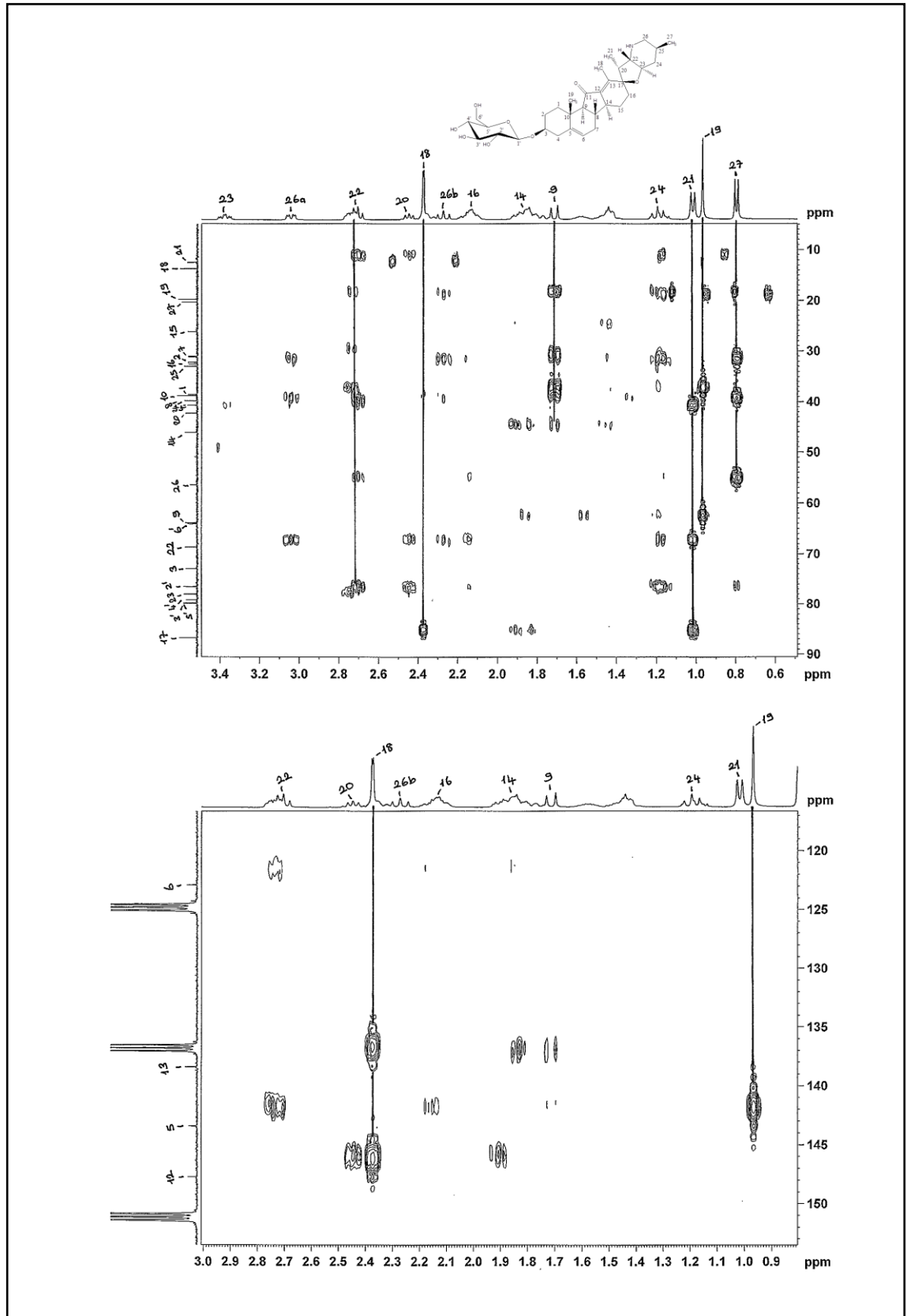
Şekil 4.82. VA-13 ün (Pseudojervin) ^1H - ^1H COSY ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.83. VA-13'ün (Pseudojervin) ^{13}C - ^1H HMQC ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu

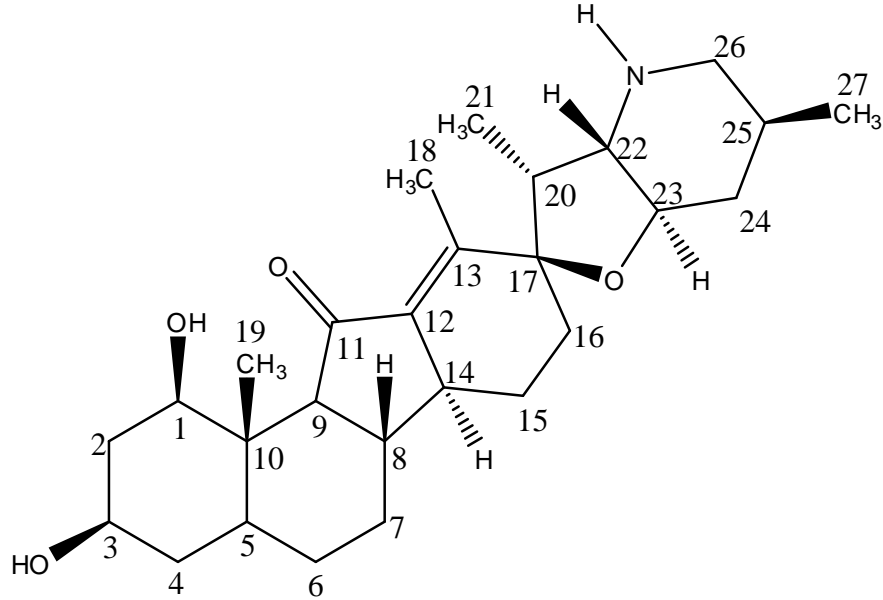


Şekil 4.84. VA-13'ün (Pseudojervin) ^{13}C - ^1H HMQC ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu (genişletilmiş spektrumlar)



Şekil 4.85. VA-13'ün (Pseudojervin) ^{13}C - ^1H HMBC ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu

4.2.14. VA-14 kodlu bileşik

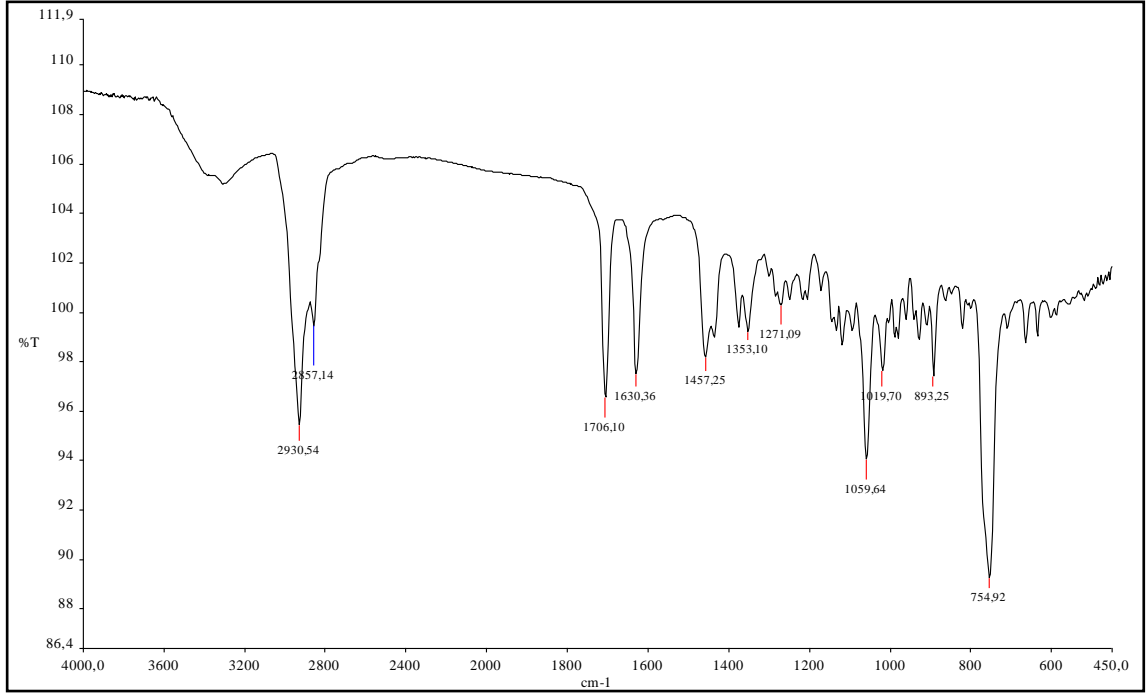


1-Hidroksi 5,6-dihidro jervin; $C_{27}H_{41}NO_4$; MA: 443 g/mol
 $[\alpha]_D^{20} = +78^\circ$ ($CHCl_3, c=1$)

VA-14 bileşiği NH_4OH -benzen ekstresinden amorf, hafif kahverengimsi renkli bir madde olarak izole edildi. İTK'da görünür ışıkta ve UV_{366} nm de renksiz, UV_{254} nm de ise mor renkli olan VA-14 bileşiği H_2SO_4 -vanilin reaktifi püskürtüldükten sonra $105^\circ C$ ısıtıldığında ise İTK'da yeşil renkli maddeye dönüşmüştür. VA-14'ün erime noktası $239-240^\circ C$ olarak belirlendi. VA-14'ün İTK'da UV_{254} nm de mor renk vermesi bu maddenin steroidal alkaloid tipli bir bileşik olabileceğine işaret etmektedir (Sakar ve Tanker 1991; Wagner and Bladt 1996).

VA-14 bileşiğinin kimyasal yapısı UV, IR, 1H -NMR, ^{13}C -NMR, DEPT, 1H - 1H COSY, ^{13}C - 1H HMQC ve ^{13}C - 1H HMBC yöntemlerine dayanarak bir steroidal alkaloid olan jervin türevi **1-hidroksi-5,6-dihidrojervin** olarak aydınlatılmıştır. VA-14 molekülünün UV spektrumunda (λ_{max} nm, $CHCl_3$) bir steroidal alkaloid yapısına uygun olarak 250 nm de maksimum absorptans gözlenmiştir. VA-14'ün IR spektrumunda (Şekil 4.86) 3297 cm^{-1} de karakteristik $-NH$, 3300 cm^{-1} de $-OH$, $2857-2930\text{ cm}^{-1}$ arasında alifatik $-CH$,

1706 cm^{-1} de kuvvetli C=O, 1457 cm^{-1} de ise C=C gerilme titreşim bantları gözlenmiştir. Moleküldeki C-O ve C-N titreşim bantları ise 1059 cm^{-1} ve 754 cm^{-1} de çok kuvvetli olarak gözlenmiştir (Erdik 1998; Fessenden and Fessenden 2001).



Şekil 4.86. VA-14'ün (1-hidroksi-5,6-dihydrojervin) IR spektrumu

VA-14 bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (Şekil 4.87) daha önce saflaştırılan jervin molekülüne çok benzemektedir. Bu benzerlik VA-14 molekülünün de jervin türevi bir bileşik olduğunu açıkça göstermektedir. Molekülün $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda bir steroidal alkaloid yapısına uygun olarak $\delta=0,92-3,51$ ppm arasında çok sayıda alifatik protona ait sinyal gözlenmiştir. Metil gruplarından 18 nolu metil hidrojenleri diğer steroidal alkaloidlerin aksine $\delta=2,37$ ppm'de küçük bir etkileşim ile ($J=2,00$ Hz) dublet iki sinyal vermiştir. Diğer metil gruplarından CH_3-19 $\delta=1,41$ ppm'de singlet, CH_3-21 $\delta=1,23$ ppm'de dublet ($J=7,44$ Hz) ve CH_3-27 ise $\delta=0,84$ ppm'de dublet ($J=6,64$ Hz) vererek rezonans olmuşlardır. H-23 protonu bir adet H-22 ve iki adet de H-24 protonları ile etkileşerek $\delta=3,65$ ppm'de *dt* sinyali ($J_1=10,12$ Hz, $J_2=3,12$ Hz) vermiştir. H-26 diastropik hidrojenlerden H-26a $\delta=3,26$ ppm'de *dd* ($J_1=12,36$ Hz, $J_2=4,00$ Hz) vererek

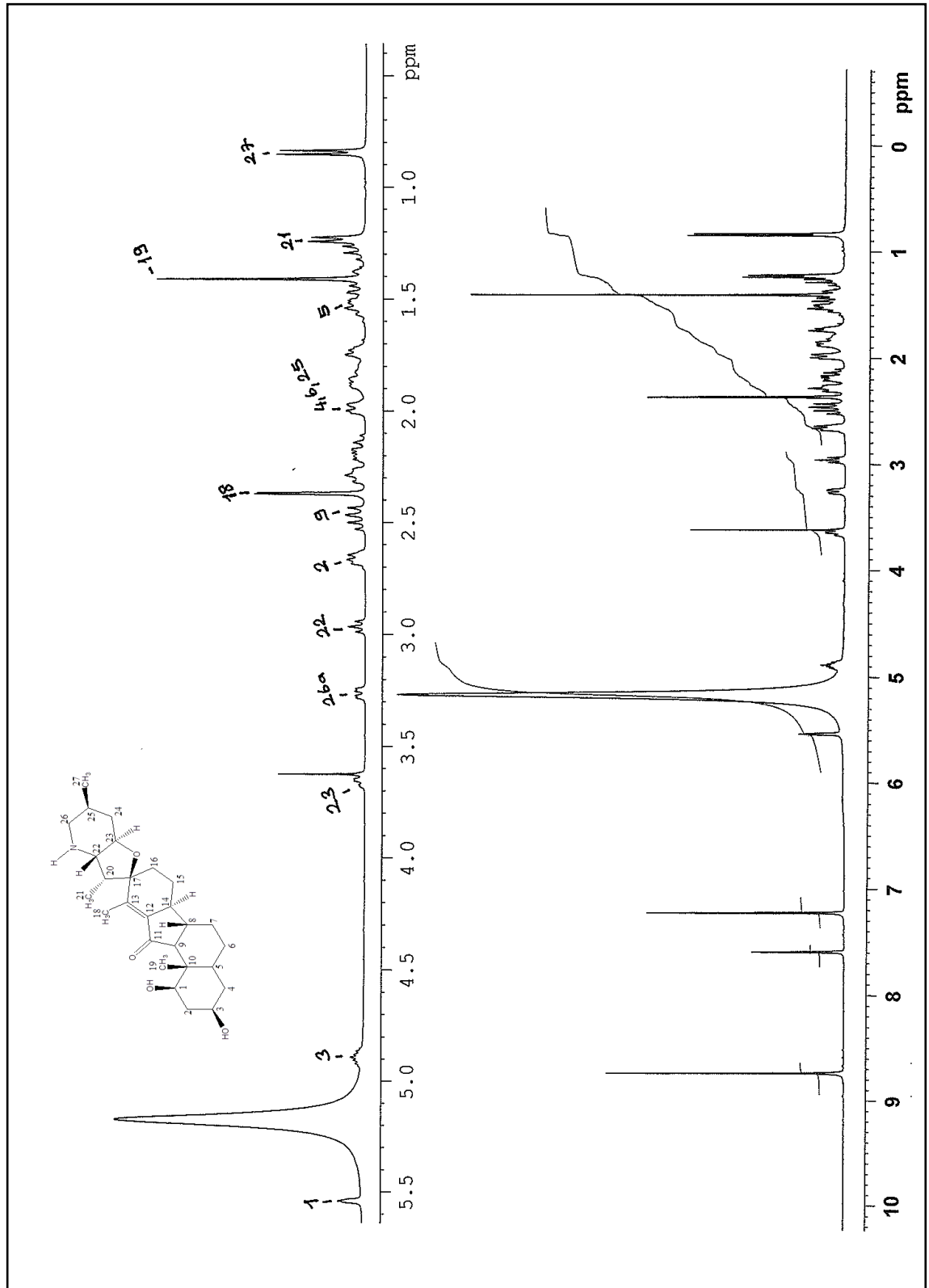
rezonans olmuştur. $\delta=5,54$ ppm ve $\delta=4,89$ ppm'de gözlenen multipler sinyal ise sırasıyla H-1 ve H-3 protonlarına aittir.

VA-14 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumunda (Şekil 4.88) steroidal alkoloit yapısıyla uyumlu olarak toplam 27 karbon sinyali gözlemlendi. C-11 keton karbonil karbonuna ait sinyal aşağı alanda, $\delta=208,6$ ppm'de gözlenmiştir. Spektrumda olefinik bölgede sadece 2 karbon sinyali gözlenmesi molekülde tek çift bağ olduğunu göstermektedir. Jervin molekülünün ^{13}C -NMR spektrumu ile (Şekil 4.67) mukayese edildiğinde C-5 ve C-6 sinyallerinin gözlenmemesi VA-14 molekülünde C-5 ve C-6 karbonları arasındaki çift bağın olmadığına işaret etmektedir. Moleküldeki C-13 ve C-12 olefinik karbonlara ait sinyaller ise sırasıyla, $\delta=146,7$ ppm ve $\delta=138,2$ ppm'de gözlenmiştir. $\delta=87,2$ ppm'de gözlenen karbon sinyali ise C-17 kuarterner karbonuna ait sinyaldir. Moleküldeki C-1 karbonu ise $\delta=72,3$ ppm'de rezonans olmuştur. VA-14 bileşiğinin DEPT spektrumu da (Şekil 4.89) önerilen yapıyla uyumlu olup, 4 adet CH_3 , 8 adet CH_2 ve 10 adet CH gruplarına ait karbon sinyali gözlenmiştir. DEPT spektrumunda gözlenmeyen 5 adet karbon sinyali ise kuarterner karbon atomlarına aittir. ^{13}C -NMR spektrumunda $\delta=146,7$ ppm ve $\delta=138,2$ ppm'deki olefinik karbon sinyalleri DEPT spektrumunda gözlenmemesi yapıyla uyumlu olarak bu karbonların kuarterner karbonlar olduğunu göstermektedir.

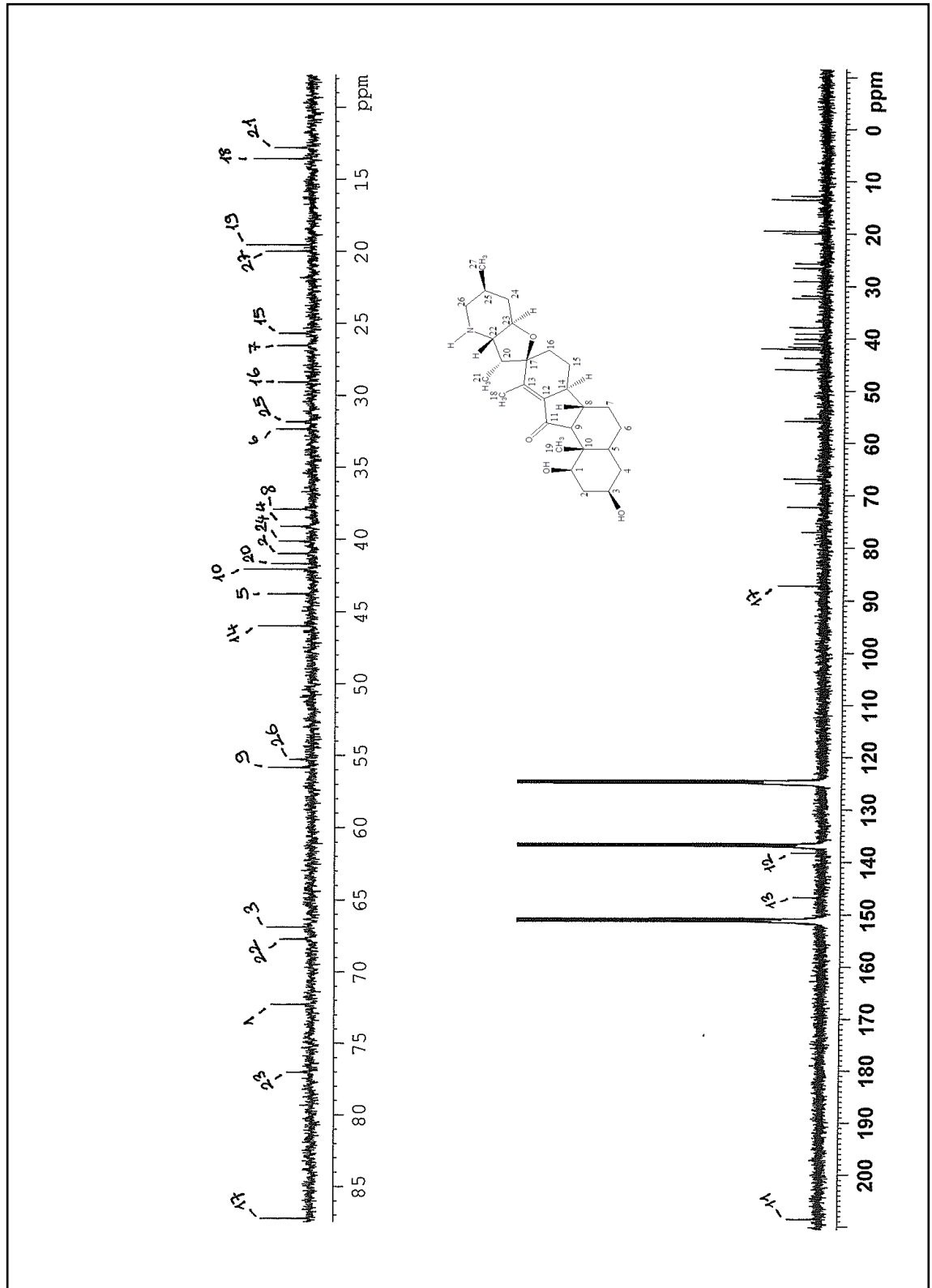
VA-14'ün molekül yapısının **1-hidroksi-5,6-dihidrojervin** olduğu 2D-NMR spektrumları ile de doğrulanmıştır. VA-14'ün ^{13}C - ^1H HMQC spektrumunda (Şekil 4.91 ve 4.92) $\delta=146,7$ ppm ve $\delta=138,2$ ppm'deki olefinik karbon sinyalleri (C-13 ve C-12) herhangi bir proton sinyali ile korele olmaması bunların kuarterner karbon olduğunu açık bir delildir. $\delta=5,54$ ppm'deki H-1 protonuna ait sinyal, $\delta=72,3$ ppm'deki karbon sinyali ile $\delta=4,89$ ppm'deki H-3 proton sinyali ise $\delta=67,3$ ppm'deki karbon sinyali ile korele olmuştur. Diğer taraftan, önerilen molekül yapısıyla uyumlu olarak C-26 karbonuna ait $\delta=55,3$ ppm'deki karbon sinyali $\delta=3,65$ ppm'deki diastropik hidrojenlerden birisine ait olan *dt* sinyali ile korele olmuştur. Bunlara ilave olarak Şekil 4.91 ve 4.92'den görüleceği üzere $\delta=20,0$ ppm (C-27), $\delta=12,8$ ppm (C-21), $\delta=19,5$ ppm (C-19) ve $\delta=13,6$ ppm (C-18) deki $-\text{CH}_3$ karbon sinyalleri sırasıyla $\delta=0,84$ ppm, $\delta=1,23$

ppm, $\delta=1,41$ ppm ve $\delta=2,37$ ppm'deki proton sinyalleri ile korele olmuştur. Diğer sinyallerin analizi spektrumdaki konturlerin kaymasından dolayı iyi yapılamamıştır.

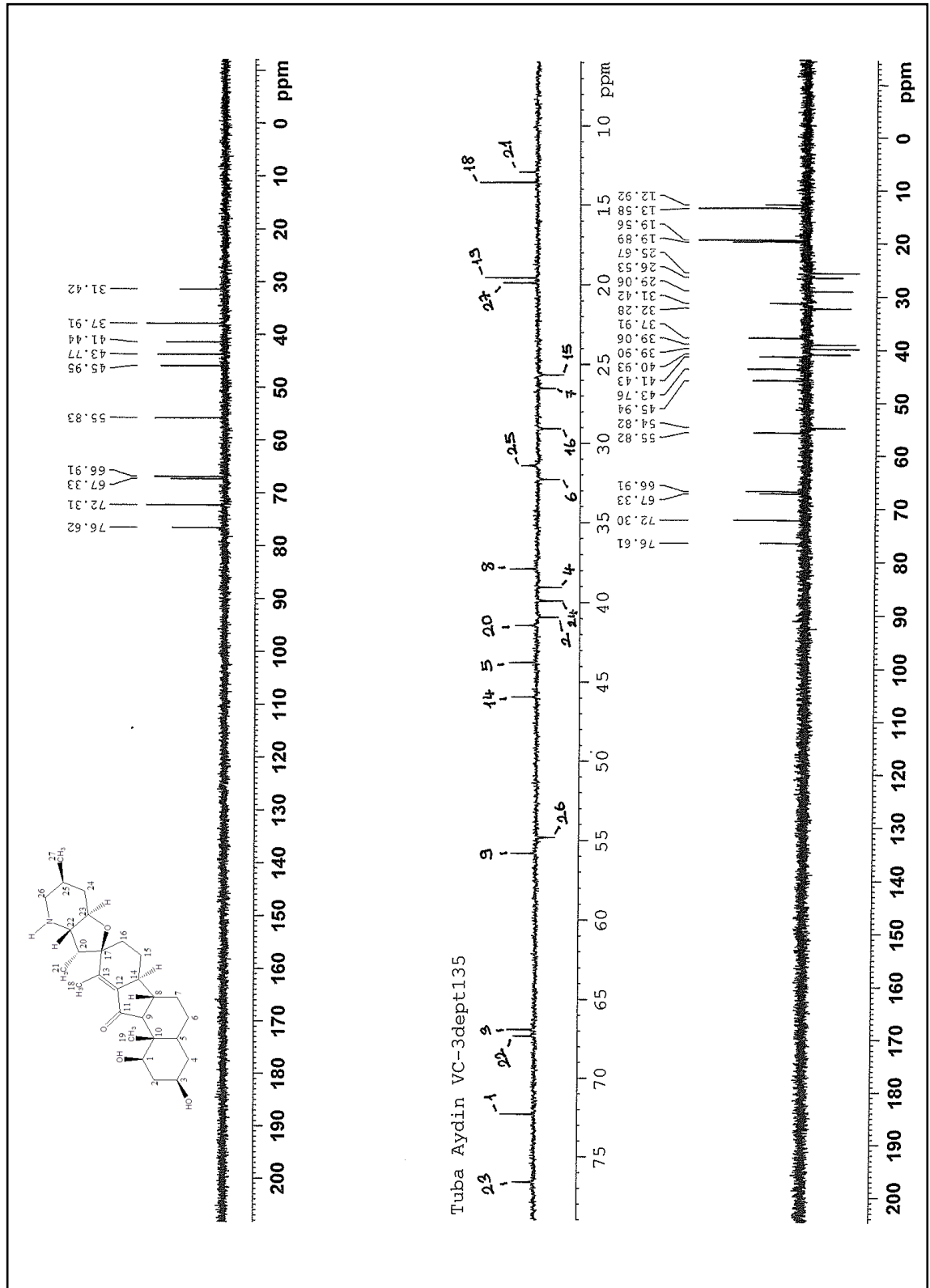
VA-14 bileşiğinin ^1H - ^1H COSY (Şekil 4.90) ve ^{13}C - ^1H HMBC (Şekil 4.93) spektrumları da molekül yapısının **1-hidroksi-5,6-dihidrojerin** olduğunu doğrulamaktadır. Bileşiğin ^{13}C - ^1H HMBC spektrumunda (Şekil 4.93) $\delta=0,84$ ppm'deki $-\text{CH}_3$ (27) protonlarına ait olan sinyal üç bağ üzerinden korelasyon ile, beklenildiği gibi $\delta=31,4$ ppm'deki C-25 karbon sinyali, $\delta=41,4$ ppm'deki C-24 karbon sinyali ve $\delta=54,8$ ppm'deki C-26 karbon sinyali ile korele olmuştur. CH_3 -19 protonlarına ait olan sinyaller ise $\delta=37,9$ ppm'deki C-8, $\delta=42,1$ ppm'deki C-10, $\delta=55,8$ ppm'deki C-9 ve $\delta=72,3$ ppm'deki C-1 karbon sinyali ile korele olmuştur. VA-14 bileşiğinin kimyasal yapısının **1-hidroksi-5,6-dehidrojerin** olduğu ayrıca literatürde daha önce yayınlanmış spektral verilerle de desteklenmiştir (Rahman *et al.* 1992, 1993; Sultana 1993).



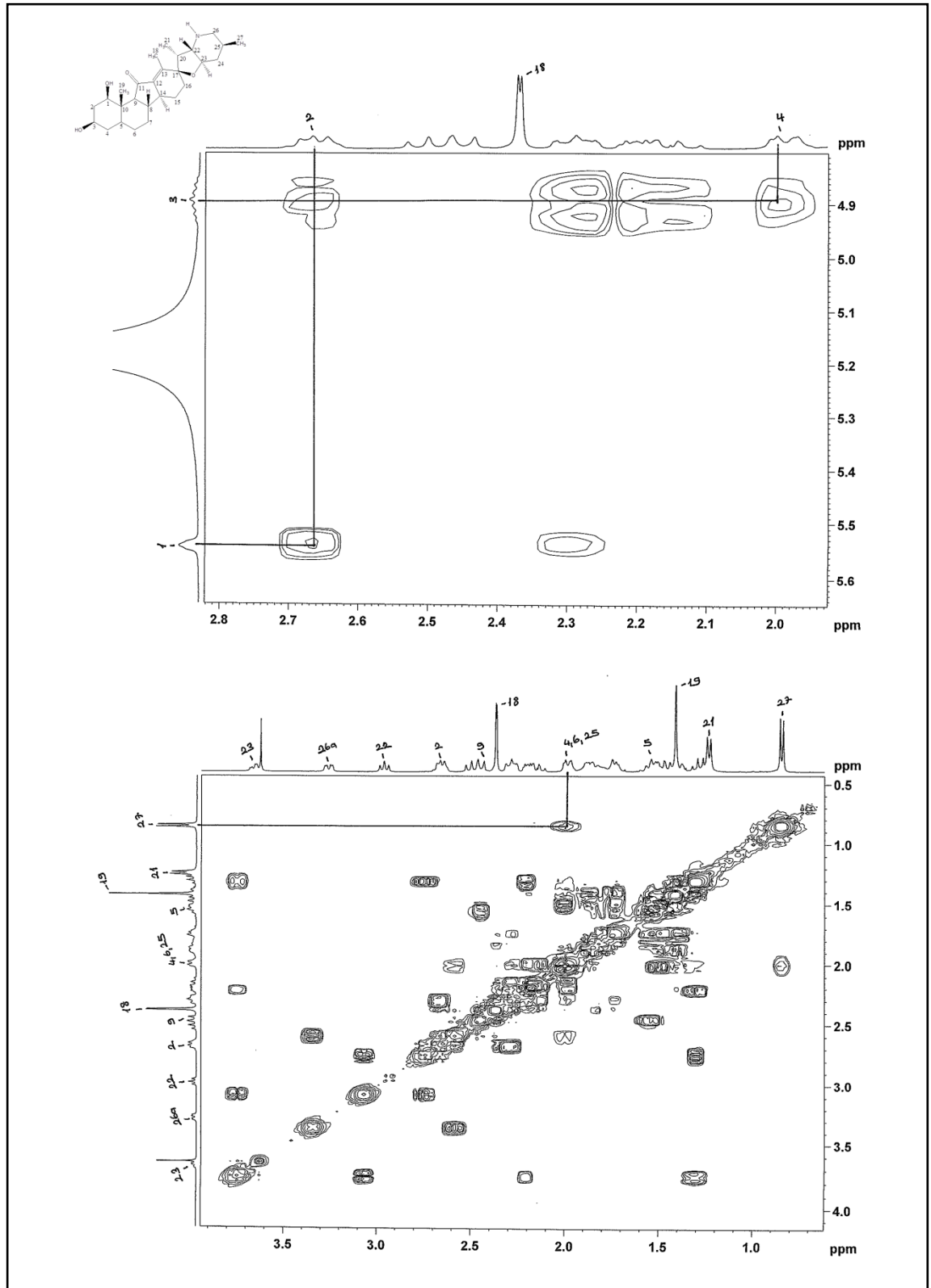
Şekil 4.87. VA-14'ün (1-hidroksi-5,6-dihydrojervin) $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu



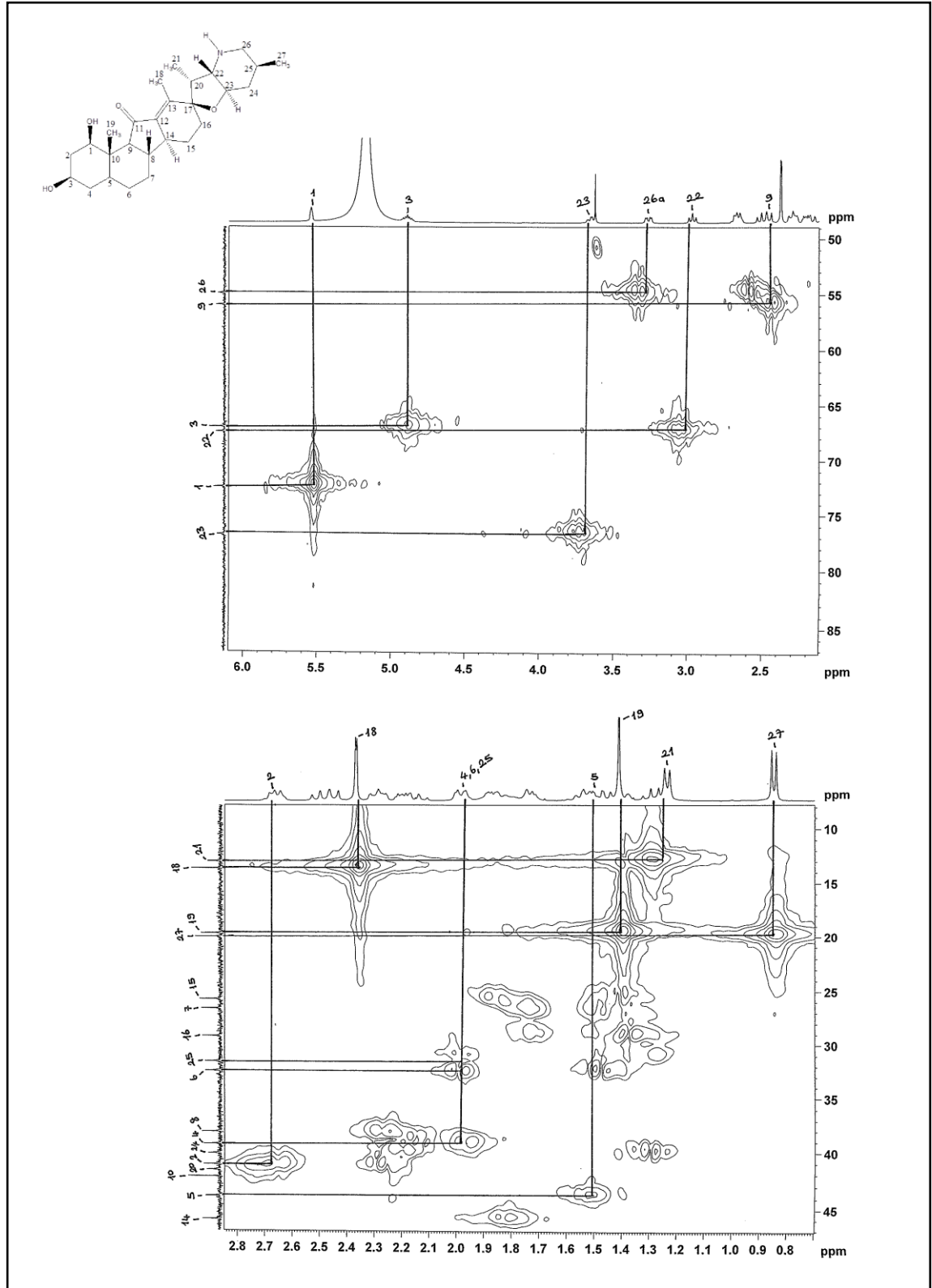
Şekil 4.88. VA-14'ün (1-hidroksi-5,6-dihydrojervin) ^{13}C -NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu



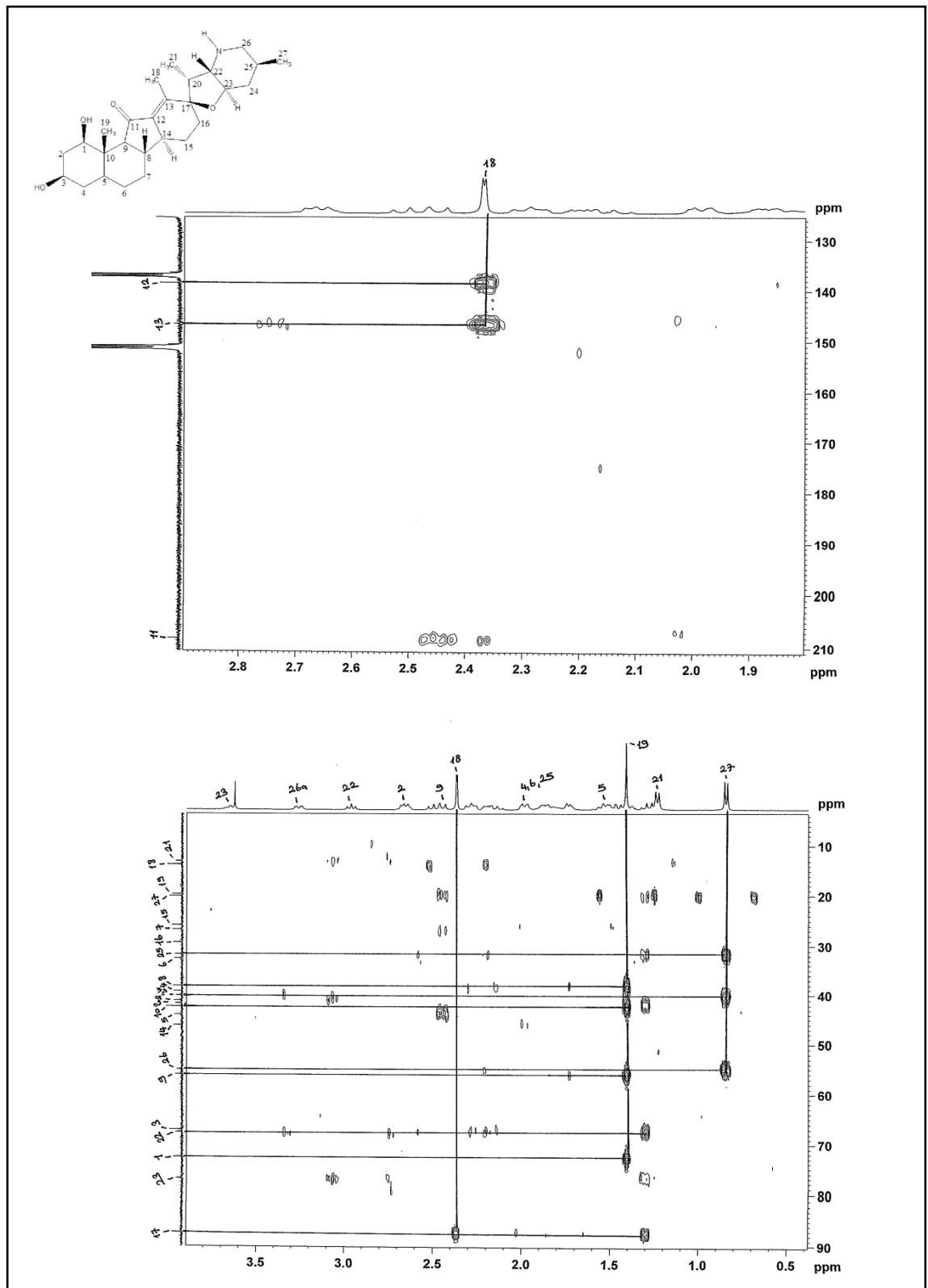
Şekil 4.89. VA-14'ün (1-hidroksi-5,6-dihydrojervin) DEPT (C_5D_5N , 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.90. VA-14'ün (1-hidroksi-5,6-dihydrojervin) ^1H - ^1H COSY ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu

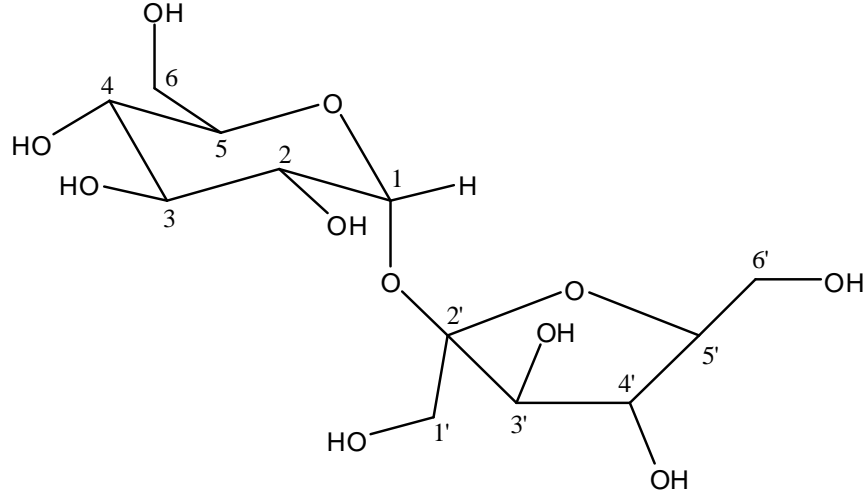


Şekil 4.92. VA-14'ün (1-hidroksi-5,6-dihydrojervin) ^1H - ^{13}C HMQC ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu (genişletilmiş spektrumlar)



Şekil 4.93. VA-14'nin (1-hidroksi-5,6-dihydrojervin) 2D ^1H - ^{13}C HMBC ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) spektrumu

4.2.15. VA-15 kodlu bileşik

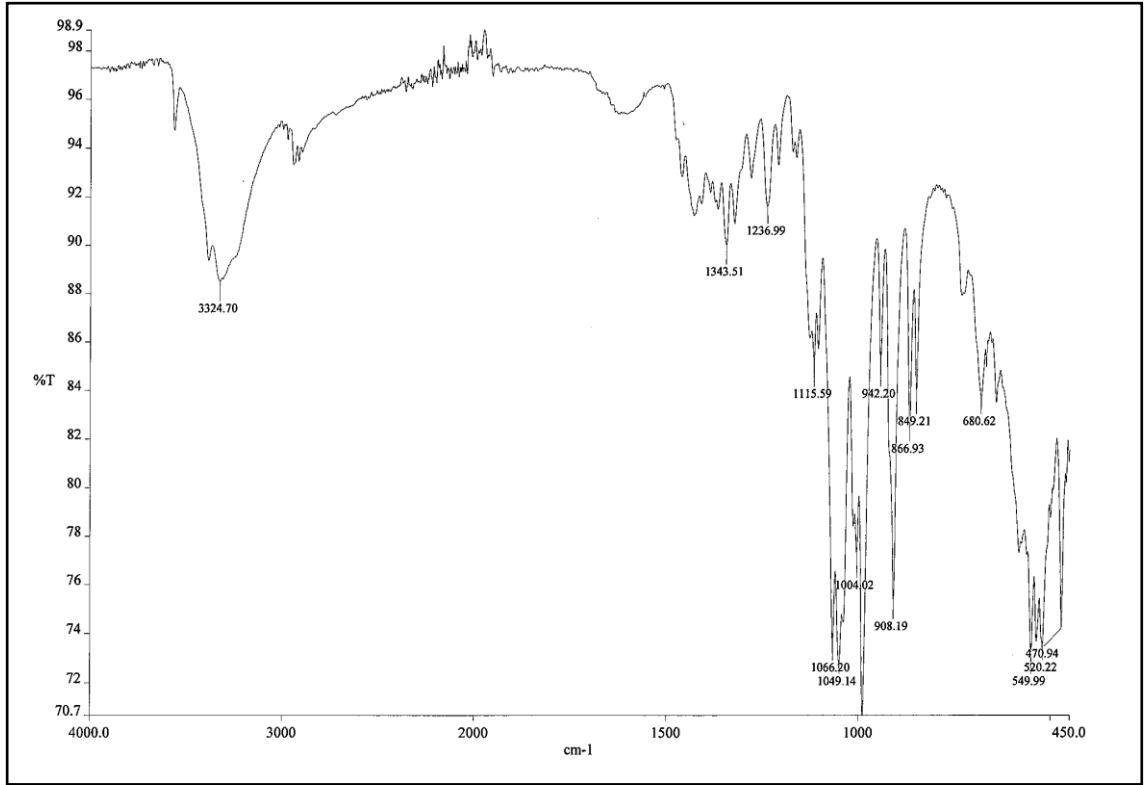


Sakkaroz (β -D-fruktofuranozil-(2 \rightarrow 1)- α -D-glikopiranozit); $C_{12}H_{22}O_{11}$

$$\text{MA: } 342 \text{ g/mol; } [\alpha]_D^{20} = +66^\circ (\text{MeOH, } c=1)$$

VA-15 molekülü etanol ekstresinden hafif kahverengimsi renkli kristaller halinde izole edildi. İTK'da görünür ışıktta ve UV_{366} nm'de renk vermeyen, UV_{254} nm'de ise mor renkli olan VA-15 bileşiği, H_2SO_4 -vanilin reaktifi ($105^\circ C$) ile İTK'da yeşil renkli maddeye dönüşmüştür. VA-15 bileşiğinin erime noktası $182-183^\circ C$ olarak belirlendi. VA-15 UV spektrumunda (λ_{max} nm, H_2O) 318, 286 ve 194 nm değerlerinde maksimum absorpsanlar vermiştir.

VA-15 bileşiğinin kimyasal yapısı UV, IR, 1H -NMR, ^{13}C -NMR, DEPT, 1H - 1H COSY, ^{13}C - 1H HETCOR ve ^{13}C - 1H HMBC yöntemlerine dayanarak oldukça yaygın bir disakkarit olan ve çay şekeri olarak bilinen **sakkaroz** veya **sukroz** şekeri (**β -D-fruktofuranozil-(2 \rightarrow 1)- α -D-glikopiranozit**) olarak aydınlatılmıştır. VA-15 bileşiğinin IR spektrumunda (Şekil 4.94) 3324 cm^{-1} civarlarındaki absorpsan bantları moleküldeki -OH titreşimlerinden kaynaklanan absorpsan bantlarıdır. $2800-2936 \text{ cm}^{-1}$ arasında alifatik -CH, 1343 cm^{-1} de ise C=C gerilme titreşim bantları gözlenmiştir. Moleküldeki fazla sayıdaki C-O titreşim bantları ise 1066 cm^{-1} ve 1049 cm^{-1} de çok kuvvetli olarak gözlenmiştir (Skoog *et al.* 1998).



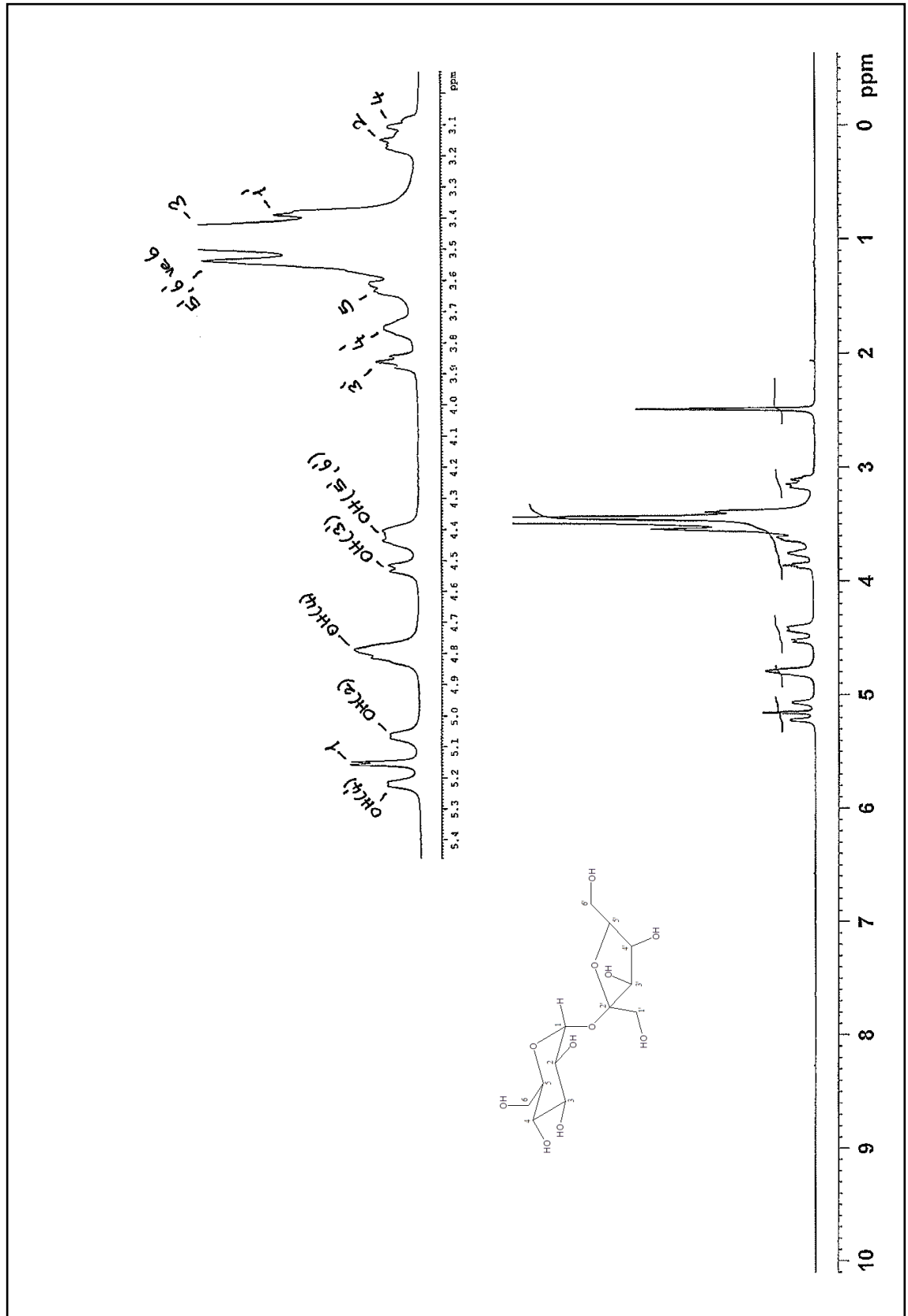
Şekil 4.94. VA-15'in (sakkaroz) IR spektrumu

VA-15 bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumundan (Şekil 4.95) görüleceği üzere moleküldeki tüm hidrojenler $\delta=3\text{-}5,2$ ppm arasında rezonans olmuşlardır. Bu sinyaller molekülün bir disakkarit olduğunun açık bir delilidir. Moleküldeki H-1 anomerik protonu $\delta=5,15$ ppm'de dublet sinyal vermiş olup, $J=3,52$ Hz'lik etkileşim sabiti diğer monosakkarit, fruktoza α -bağı ile bağlandığını göstermektedir (Neubauer *et al.* 2001). Anomerik H-1 hidrojenine ait bu *d* sinyal hariç $\delta=4,30\text{-}5,21$ ppm arasındaki tüm sinyaller moleküldeki -OH hidrojenlerinden kaynaklanmaktadır. Fruktozun H-3' protonu $\delta=3,86$ ppm'de triplete benzer bir sinyal ($J=8,40$ Hz ve $J=7,08$ Hz) vererek rezonans olmuştur. Moleküldeki diğer tüm hidrojenler multiyet sinyal vererek rezonans olmuşlardır.

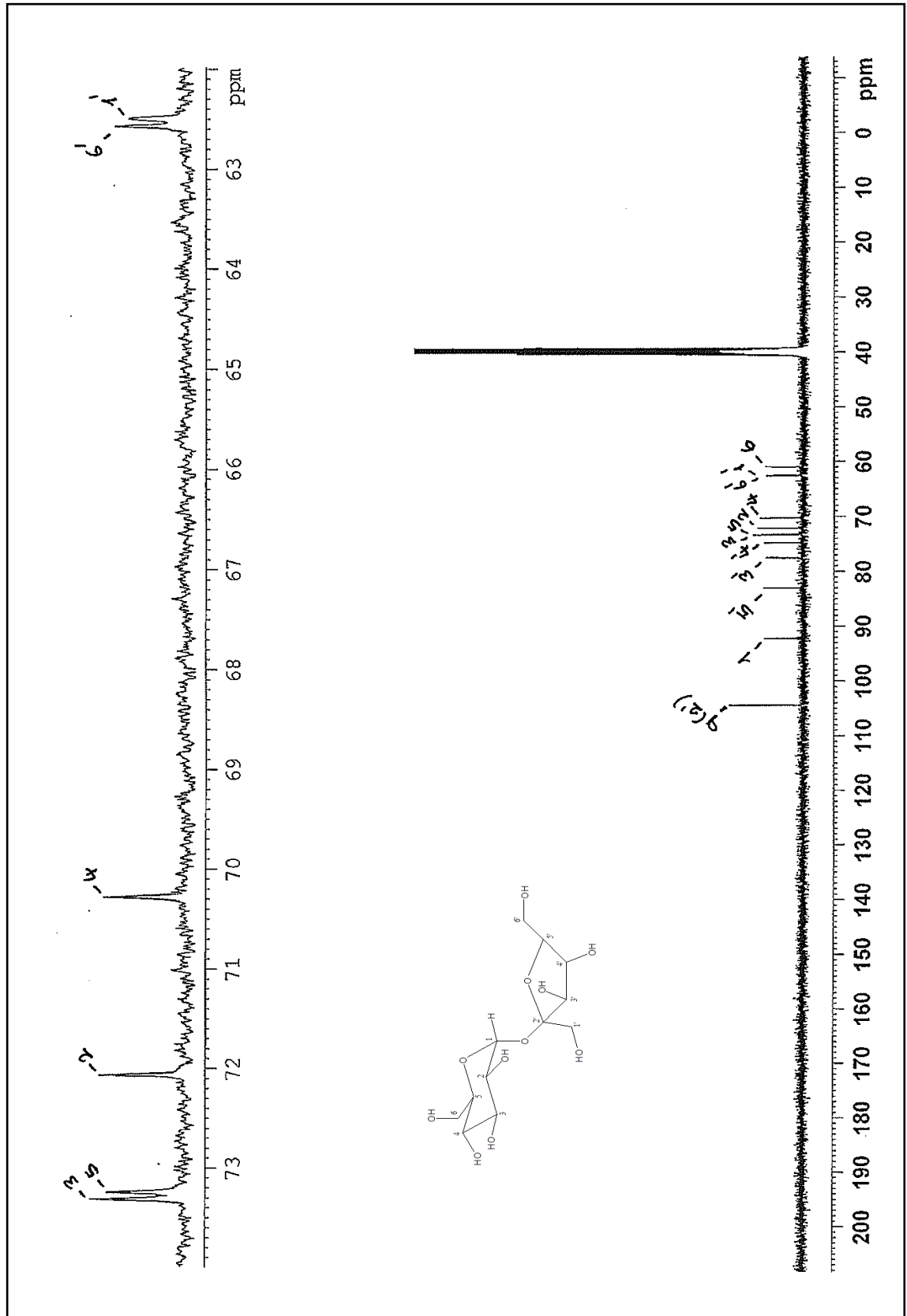
VA-15 bileşiğinin $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (Şekil 4.96) disakkarit yapısıyla uyumlu olarak $\delta=60\text{-}105$ ppm arasında toplam 12 karbon sinyali gözlemlendi. Sakkarozun anomerik karbonu, C-1 $\delta=92,2$ ppm'de rezonans olurken, fruktoz şekerinin anomerik karbonu (C-2') $\delta=104,5$ ppm'de rezonans olmuştur. Glikozun C-6 metilen karbonuna ait rezonans sinyali $\delta=60,9$ ppm'de, fruktozun iki adet metilen karbonlarına (C-1' ve C-6') ait

rezonans sinyalleri ise sırasıyla $\delta=62,5$ ppm ve $\delta=62,6$ ppm'de gözlenmiştir. VA-15 molekülünün DEPT spektrumu (Şekil 4.97) incelendiğinde önerilen yapıyla uyumlu olarak 3 adet CH₂ ve 18 adet CH gruplarına ait karbon sinyali mevcuttur. Moleküldeki $\delta=104,5$ ppm'deki C-2' kuarterner karbonuna ait sinyal ise DEPT spektrumunda (Şekil 4.97) gözlenmemiştir.

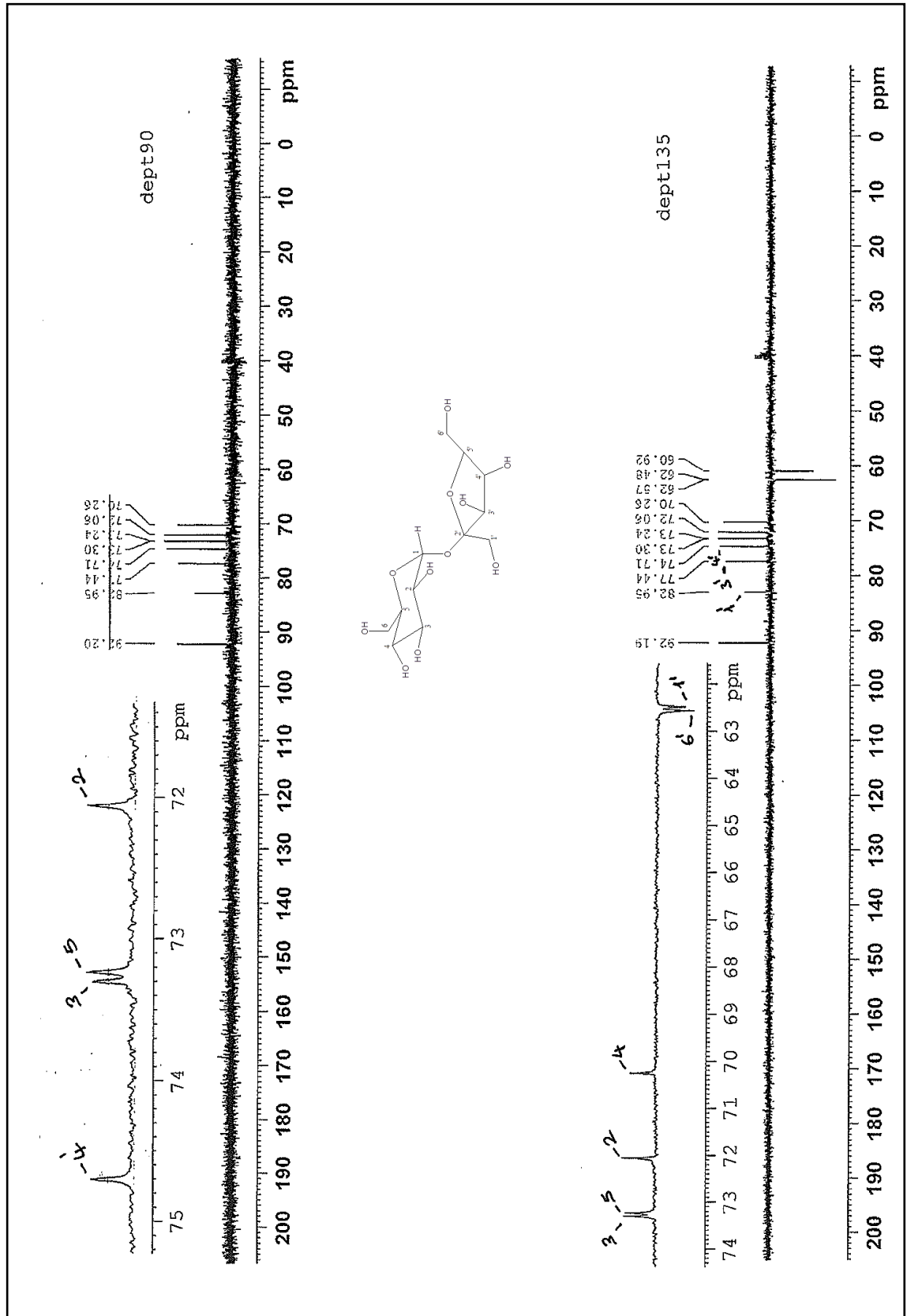
VA-15'in molekül yapısının **sakkaroz** olduğu 2D NMR spektrumları ile de doğrulanmıştır. VA-15'in ¹³C-¹H HMQC spektrumunda (Şekil 4.99) $\delta=5,15$ ppm'deki anomerik karbona ait sinyal $\delta=92,2$ ppm'deki karbon sinyali ile korele olmuştur. Bileşiğin ¹³C-¹H HMQC spektrumundan (Şekil 4.99) her bir karbona bağlı proton sinyali tamamen çözümlenmiş ve anomerik H-1 hidrojenine ait *d* sinyal hariç, $\delta=4,30-5,21$ ppm arasındaki tüm proton sinyallerinin herhangi bir karbon sinyali ile korele olmaması da bu sinyallerin moleküldeki -OH hidrojenlerine ait sinyaller olduğunu göstermektedir. VA-15'in ¹H-¹H COSY (Şekil 4.98) ve ¹³C-¹H HMBC (Şekil 4.100) spektrumları da önerilen yapıyla tam uyumlu olup VA-15'in molekül yapısının **sakkaroz** olduğunu ispatlamaktadır. Bileşiğin ¹³C-¹H HMBC (Şekil 4.100) spektrumunda $\delta=5,15$ ppm'deki anomerik H-1 protonuna ait sinyal sırasıyla C-2', C-3 ve C-5 karbonlarına ait $\delta=55,8$ ppm, $\delta=73,2$ ppm ve $\delta=73,3$ ppm'deki sinyallerle korele olmuştur. Glikoza ait H-1 anomerik hidrojenine ait $\delta=5,15$ ppm'deki sinyalin $\delta=104,5$ ppm'deki fruktozun C-2' karbonuna ait sinyal ile korelasyonu fruktozun glikoz şekerine **2→1** pozisyonundan bağlandığını doğrulamaktadır. VA-15 molekülünün ¹³C-¹H HMBC spektrumundan (Şekil 4.100) görüleceği üzere spektrumdaki diğer tüm korelasyonlar önerilen yapıyla tam bir uyum halindedir. VA-15 bileşiğinin kimyasal yapısının **sakkaroz** olduğu ayrıca literatürde daha önce yayınlanmış spektral verilerle de desteklenmiştir (Jung *et al.* 2000; Chandrika *et al.* 2005; Otsuka *et al.* 2008; Öztürk 2008).



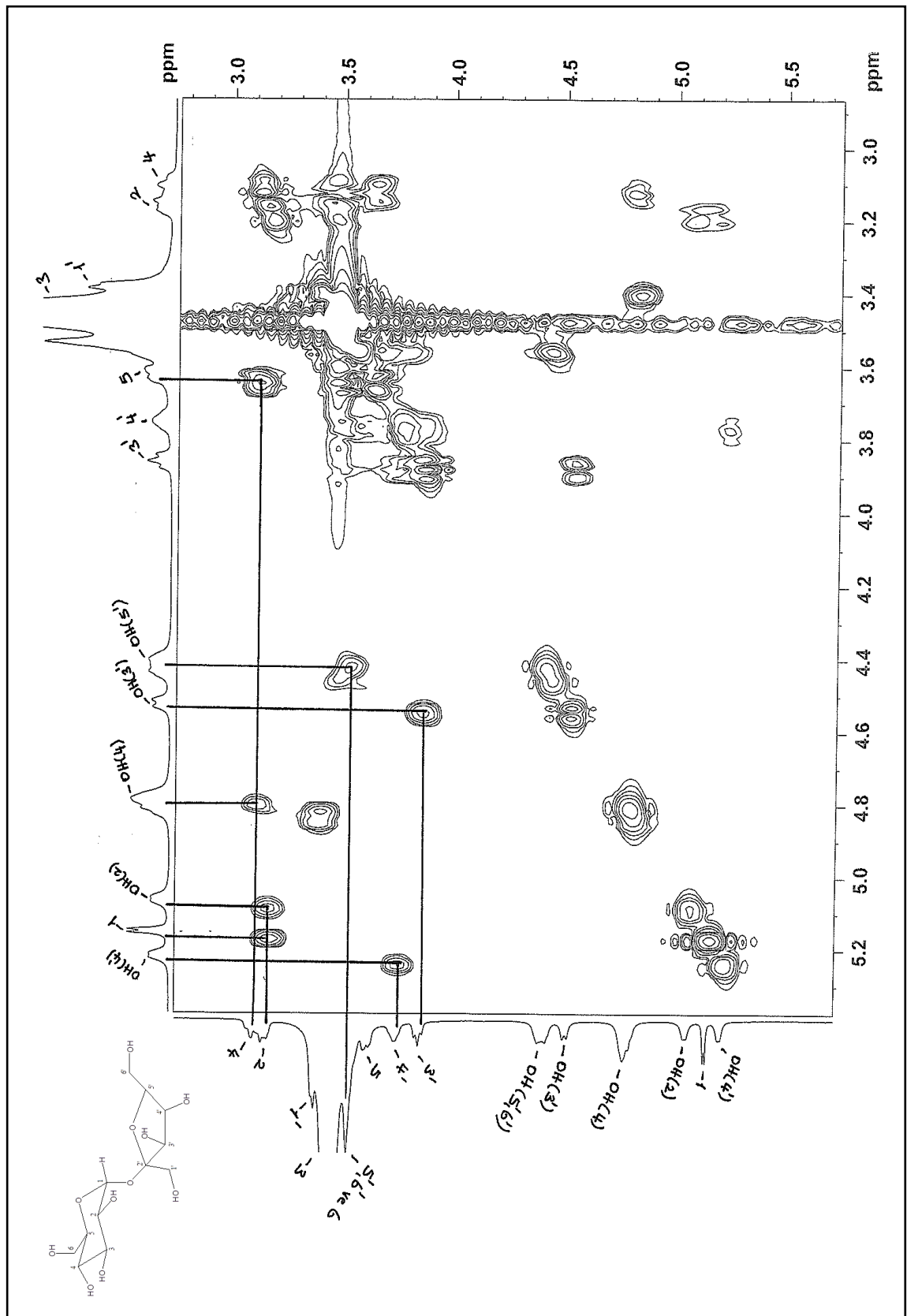
Şekil 4.95. VA-15'in (sakkaroz) $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 400 MHz) spektrumu



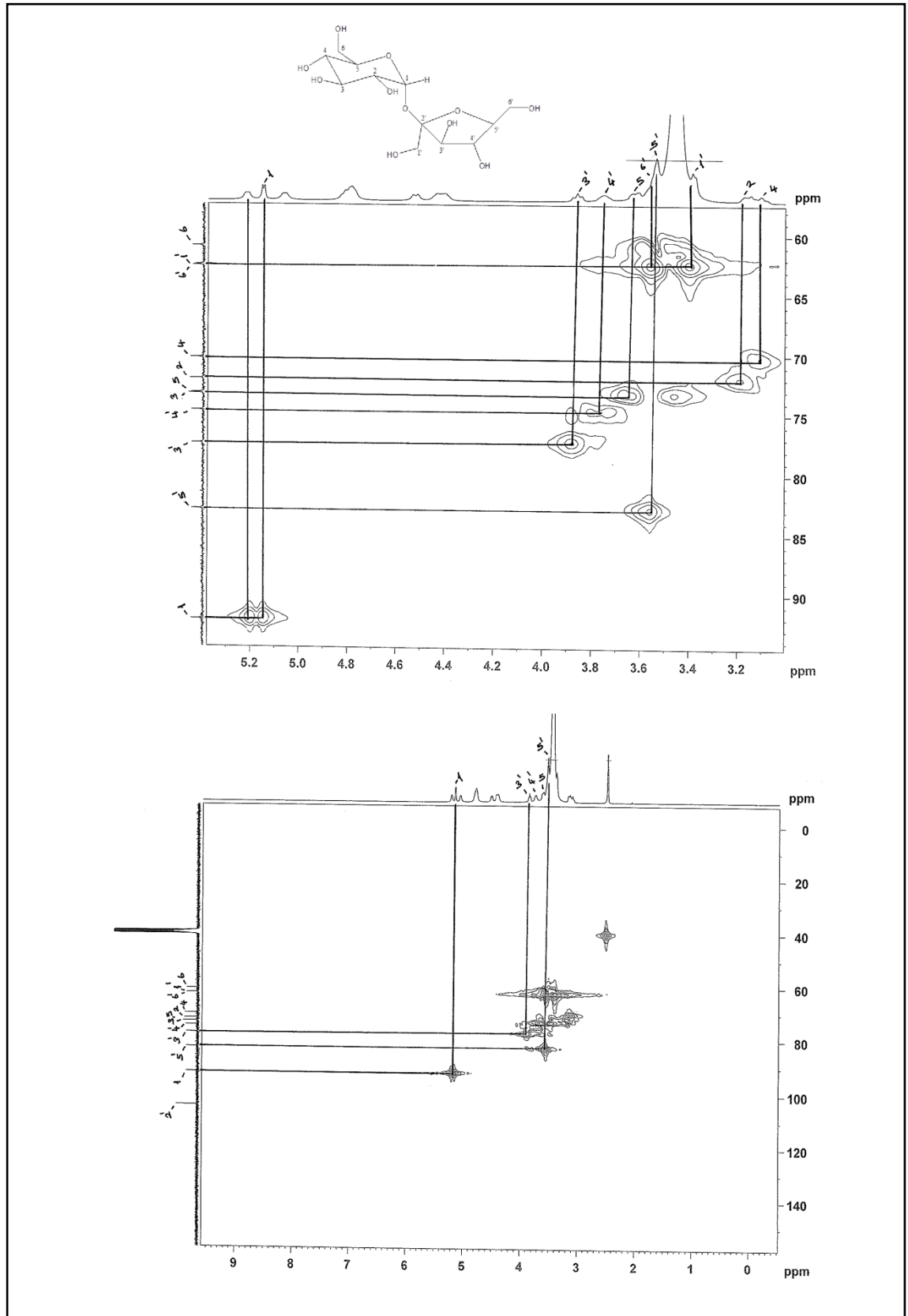
Şekil 4.96. VA-15'in (sakkaroz) ^{13}C -NMR (DMSO-d_6 , 400 MHz) spektrumu



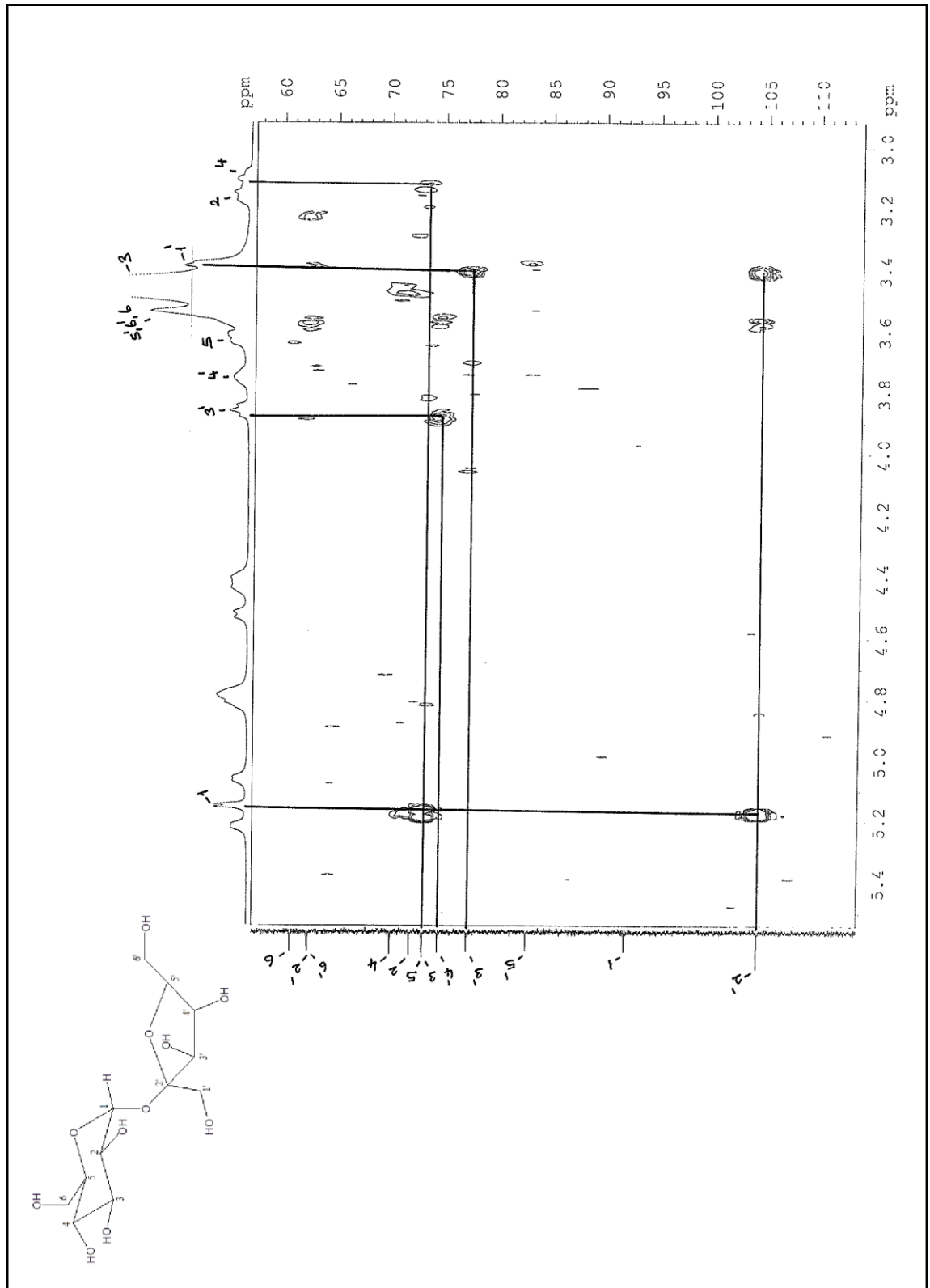
Şekil 4.97. VA-15'in (sakkaroz) DEPT (DMSO-d₆, 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.98. VA-15'in (sakkaroz) ^1H - ^1H COSY (DMSO-d_6 , 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.99. VA-15'in (sakkaroz) ^{13}C - ^1H HMQC (DMSO- d_6 , 400 MHz) spektrumu



Şekil 4.100. VA-15'in (sakkaroz) ^{13}C - ^1H HMBC (DMSO- d_6 , 400 MHz) spektrumu

4.3. İnsektisidal Etki Sonuçları

Veratrum album bitkisinden elde edilen ekstre ve saf maddelerin patates böceğine karşı insektisidal etkilerini gösteren çizelge ve grafikler bu bölümde verilmiştir.

Çizelge 4.2.'de test edilen maddelerin 12. saatteki LD₅₀ değerleri gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Maddelerin LD₅₀ değerleri

Sıra No	Madde	LD ₅₀ değeri
1	NH ₄ OH-benzen ekstresi	-
2	Kloroform ekstresi	0,071
3	Aseton ekstresi	4,15
4	β-Sitosterol 3-O-β-D-glikopiranozit	5,24
5	Oksiresveratrol	7,16
6	Jervin	13,34
7	β-sitosterol ve diosgenin karışımı	13,48
8	Resveratrol	28,84
9	β-sitosterol	250,73

NH₄OH-benzen ekstresinin uygulandığı deney grubunda 12. saatte tüm dozlarda %100 ölüm gerçekleştiği için Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi bu maddeye ait LD₅₀ değeri hesaplanamadı. Ancak NH₄OH-benzen ekstresi en toksik madde olarak belirlendi. LD₅₀ değeri, ağız ve deri yolu ile deneme hayvanlarına uygulandığı zaman bunların %50'sini öldüren dozdur ve mg/kg ile ifade edilir. Düşük LD₅₀ değeri o bileşiğin zehirliliğinin yüksek olduğunu göstermektedir (Ware 1986). Test edilen maddelerin LD₅₀ değerlerine baktığımız zaman ekstrelerin saf maddelerden daha düşük LD₅₀ değerine sahip oldukları dolayısıyla daha toksik oldukları sonucuna ulaşılmıştır. Zehirlilik yönünden sınıflandırılma yapıldığında üç ekstrenin de LD₅₀ değeri 5'ten küçük olduğu için çok zehirli insektisit olarak belirlendiler. LD₅₀ değeri 5 ile 50 arasında bulunan β-sitosterol dışındaki saf maddeler ise zehirli insektisitler olarak sınıflandırılabilirler. β-sitosterol 50

ile 500 arasında bir değere sahip olduğu için orta derecede zehirli insektisit olarak sınıflandırılmıştır (Ware 1986).

Bu çalışmadaki böcek ölümlerinin artan doza ve zamana göre değişimi bilgisayarda SPSS 16.00 istatistik veri paketi kullanılarak analiz edildi. Ortalama ölüm sonuçları ANOVA ile belirlendi ve ortalamalar arasındaki farklar LSD ile test edilip, $p < 0,05$ anlamlı sayıldı.

Yapılan analizler sonucunda patates böceğinin yetişkinlerine karşı ekstre ve saf maddelerden oluşan toplam 9 maddenin insektisidal etkisi değerlendirildi. Maddeler böceklere 10, 20 ve 40 mg dozlarda uygulandı. Maddelerin insektisidal etkileri, 12. saatte %100 ölüme sebep olan Lambda cyhalothrin böcek ilacının toksik etkisiyle karşılaştırıldı.

Elde edilen çizelge ve grafikler deneyde kullanılan 9 maddenin ayrı ayrı patates böceğine karşı insektisidal etkisini göstermektedir. Genel olarak böceklerin ölüm oranları, böceklerin muamele edildiği maddelerin artan dozlarıyla ve böceklerin maddelere maruz kaldıkları zamanla birlikte artmaktadır. Çizelge ve grafiklerden, özellikle ekstrelerin saf maddelere göre daha toksik etki gösterdiği belirlendi.

Ekstrelerden NH_4OH -benzen ekstresi, alkaloitlerce zengin ekstre olup toksik etkisi en yüksek uygulama maddesi olmuştur. Ekstrenin uygulandığı tüm dozlarda 12. saatte patates böceği erginlerinde %100 ölüm gözlenmiştir. Alkaloitlerce zengin NH_4OH -benzen ekstresinden sonra sırasıyla kloroform ve aseton ekstreleri çok toksik etki göstermiştir. Bu ekstrelerin artan dozlarda ve ilerleyen saatlerde daha toksik etki gösterdiği belirlenmiştir ve tüm dozlarında, 24. saatin sonunda %100 böcek ölümleri gerçekleşmiştir.

Ekstrelerden sonra insektisidal etkisi en yüksek olan madde β -Sitosterol 3-O- β -D-glikopiranozit bileşiği olmuştur. Bileşiğin etkisi artan dozlarla birlikte yükseliş

gösterirken, 20 mg ve 40 mg uygulama dozlarında 24. saatte, tüm dozlarında ise 48. saate %100 ölüm gözlenmiştir.

Böceklerde 24. saatte %100 ölüme sebep olan diğer bir madde ise oksiresveratrol maddesidir. Bu maddenin 40 mg'lık dozunun uygulandığı böceklerde 24. saatte, 20 mg'lık dozunun uygulandığı böceklerde 36. saatte ve 10 mg'lık dozunun uygulandığı böceklerde ise 72. saatte %100 ölüm gözlenmiştir. Bu durum bize zamanla toksik etkinin arttığını göstermektedir. Jervin ile β -sitosterol ve diosgenin karışımının 40 mg dozda uygulandığı böceklerde 36. saatte %100 ölüm gerçekleşirken, bu maddelerden 20 mg'lık dozlarda jervin 72. saatte, β -sitosterol ve diosgenin karışımı ise 84. saatte %100 ölüme sebep olmuştur. Jervin ile β -sitosterol ve diosgenin karışımının 10 mg'lık dozunun uygulandığı böceklerde %100 ölüm gözlenmemiştir.

β -sitosterol bileşiğinin 20 ve 40 mg uygulama dozlarında 60. saatte böceklerin tümü ölmüş, 10 mg uygulama dozunda ise tam ölüm gözlenmemiştir. β -sitosterol ve diosgenin karışımı ile saf β -sitosterol maddesinin insektisidal etkilerini kıyasladığımızda, β -sitosterol ve diosgenin karışımının daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bu bilgilerden yola çıkarak karışımdaki diosgenin bileşiğinin β -sitosterolden daha etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Resveratrol maddesinin ise 40 mg'lık dozunda 96. saatte böceklerin tümü ölmüştür.

Test edilen tüm maddelere ait çizelge ve grafikler aşağıda verilmiştir.

Çizelge 4.3. *Veratrum album* ekstresi ve saf metabolitlerinin 12. saatte patates böceğine karşı toksik etkileri

Uygulama	Doz (mg/ml)	Ölüm (%)
Aseton Ekstresi	10	63,33 ± 6,67* <i>g</i>
	20	76,67 ± 3,33* <i>gh</i>
	40	100,00 ± 0,00* <i>j</i>
Kloroform ekstresi	10	83,33 ± 3,33* <i>hi</i>
	20	83,33 ± 3,33* <i>hi</i>
	40	90,00 ± 0,00* <i>hij</i>
NH ₄ OH-benzen ekstresi (alkaloitlerce zengin ekstre)	10	100,00 ± 0,00* <i>j</i>
	20	100,00 ± 0,00* <i>j</i>
	40	100,00 ± 0,00* <i>j</i>
β-Sitosterol (VA-2)	10	6,67 ± 3,33 <i>abc</i>
	20	13,33 ± 3,33* <i>abcd</i>
	40	16,67 ± 3,33* <i>bcde</i>
β-Sitosterol+Diosgenin (VA-2+VA-4)	10	3,33 ± 3,33 <i>ab</i>
	20	20,00 ± 5,77* <i>cde</i>
	40	83,33 ± 12,02* <i>hi</i>
Resveratrol (VA-5)	10	0,00 ± 0,00 <i>a</i>
	20	26,67 ± 8,82* <i>de</i>
	40	30,00 ± 10,00* <i>e</i>
Oksiresveratrol (VA-7)	10	30,00 ± 5,77* <i>e</i>
	20	66,67 ± 8,82* <i>g</i>
	40	96,67 ± 3,33* <i>ij</i>
β-Sitosterol 3-O-β-D-glikopiranozit (VA-8)	10	46,67 ± 3,33* <i>f</i>
	20	83,33 ± 3,33* <i>hi</i>
	40	96,67 ± 3,33* <i>ij</i>
Jervin (VA-11)	10	13,33 ± 3,33* <i>abcd</i>
	20	23,33 ± 3,33* <i>de</i>
	40	76,67 ± 8,82* <i>gh</i>
Pozitif Kontrol	10	100,00 ± 0,00* <i>j</i>
	20	100,00 ± 0,00* <i>j</i>
	40	100,00 ± 0,00* <i>j</i>
Negatif Kontrol	-	2,50 ± 1,79<i>ab</i>

Toksik etki sonuçları ort. % ölüm oranları ± SE (standart hata) olarak verildi.

Aynı harfler Duncan testine göre istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$)

*LSD testine göre negatif kontrolden istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.4. *Veratrum album* ekstresi ve saf metabolitlerinin 24. saatte patates böceğine karşı toksik etkileri

Uygulama	Doz (mg/ml)	Ölüm (%)
Aseton Ekstresi	10	100,00 ± 0,00*h
	20	100,00 ± 0,00*h
	40	100,00 ± 0,00*h
Kloroform ekstresi	10	100,00 ± 0,00*h
	20	100,00 ± 0,00*h
	40	100,00 ± 0,00*h
NH ₄ OH-benzen ekstresi (alkaloitlerce zengin ekstre)	10	100,00 ± 0,00*h
	20	100,00 ± 0,00*h
	40	100,00 ± 0,00*h
β-Sitosterol (VA2)	10	6,67 ± 3,33ab
	20	33,33 ± 8,82*f
	40	53,33 ± 3,33*cd
β-Sitosterol+Diosgenin (VA-2+VA-4)	10	20,00 ± 5,77*bc
	20	36,67 ± 8,82*de
	40	96,67 ± 3,33*h
Resveratrol (VA-5)	10	13,33 ± 3,33ab
	20	36,67 ± 8,82*de
	40	83,33 ± 8,82*gh
Oksiresveratrol (VA-7)	10	50,0 ± 11,55*ef
	20	86,67 ± 3,33*gh
	40	100,00 ± 0,00*h
β-Sitosterol 3-O-β-D-glikopiranozit (VA-8)	10	73,33 ± 6,67*g
	20	100,00 ± 0,00*h
	40	100,00 ± 0,00*h
Jervin (VA-11)	10	20,00 ± 0,00*bc
	20	33,33 ± 8,82*cd
	40	80,00 ± 11,55*g
Pozitif Kontrol	10	100,00 ± 0,00*h
	20	100,00 ± 0,00*h
	40	100,00 ± 0,00*h
Negatif Kontrol	-	4,17 ± 2,29a

Toksik etki sonuçları ort. % ölüm oranları ± SE (standart hata) olarak verildi.

Aynı harfler Duncan testine göre istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$)

*LSD testine göre negatif kontrolden istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.5. *Veratrum album* ekstresi ve saf metabolitlerinin 36. saatte patates böceğine karşı toksik etkileri

Uygulama	Doz (mg/ml)	Ölüm (%)
Aseton Ekstresi	10	100,00 ± 0,00*h
	20	100,00 ± 0,00*h
	40	100,00 ± 0,00*h
Kloroform ekstresi	10	100,00 ± 0,00*h
	20	100,00 ± 0,00*h
	40	100,00 ± 0,00*h
NH ₄ OH-benzen ekstresi (alkaloitlerce zengin ekstre)	10	100,00 ± 0,00*h
	20	100,00 ± 0,00*h
	40	100,00 ± 0,00*h
β-Sitosterol (VA-2)	10	16,67 ± 3,33ab
	20	43,33 ± 18,56*g
	40	76,67 ± 8,82*de
β-Sitosterol+Diosgenin (VA-2+VA-4)	10	26,67 ± 6,67*bc
	20	70,00 ± 5,78*fg
	40	100,00 ± 0,00*h
Resveratrol (VA-5)	10	16,67 ± 3,33ab
	20	53,33 ± 3,33*de
	40	83,33 ± 8,82*gh
Oksiresveratrol (VA-7)	10	56,67 ± 6,67*ef
	20	100,00 ± 0,00*h
	40	100,00 ± 0,00*h
β-Sitosterol 3-O-β-D-glikopiranozit (VA-8)	10	93,33 ± 6,67*h
	20	100,00 ± 0,00*h
	40	100,00 ± 0,00*h
Jervin (VA-11)	10	40,00 ± 5,77*cd
	20	50,00 ± 5,77*de
	40	100,00 ± 0,00*h
Pozitif Kontrol	10	100,00 ± 0,00*h
	20	100,00 ± 0,00*h
	40	100,00 ± 0,00*h
Negatif Kontrol	-	5,00 ± 2,30a

Toksik etki sonuçları ort. % ölüm oranları ± SE (standart hata) olarak verildi.

Aynı harfler Duncan testine göre istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$)

*LSD testine göre negatif kontrolden istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.6. *Veratrum album* ekstresi ve saf metabolitlerinin 48. saatte patates böceğine karşı toksik etkileri

Uygulama	Doz (mg/ml)	Ölüm (%)
Aseton Ekstresi	10	100,00 ± 0,00* ^g
	20	100,00 ± 0,00* ^g
	40	100,00 ± 0,00* ^g
Kloroform ekstresi	10	100,00 ± 0,00* ^g
	20	100,00 ± 0,00* ^g
	40	100,00 ± 0,00* ^g
NH ₄ OH-benzen ekstresi (alkaloitlerce zengin ekstre)	10	100,00 ± 0,00* ^g
	20	100,00 ± 0,00* ^g
	40	100,00 ± 0,00* ^g
β-Sitosterol (VA-2)	10	23,33 ± 3,33* ^b
	20	83,33 ± 8,82* ^{ef}
	40	93,33 ± 3,33* ^{fg}
β-Sitosterol+Diosgenin (VA-2+VA-4)	10	63,33 ± 8,82* ^d
	20	93,33 ± 6,67* ^{fg}
	40	100,00 ± 0,00* ^g
Resveratrol (VA-5)	10	20,00 ± 5,77 ^b
	20	60,00 ± 5,77* ^d
	40	86,67 ± 6,67* ^{efg}
Oksiresveratrol (VA-7)	10	73,33 ± 8,82* ^{de}
	20	100,00 ± 0,00* ^g
	40	100,00 ± 0,00* ^g
β-Sitosterol 3-O-β-D-glikopiranozit (VA-8)	10	100,00 ± 0,00* ^g
	20	100,00 ± 0,00* ^g
	40	100,00 ± 0,00* ^g
Jervin (VA-11)	10	40,00 ± 5,77* ^c
	20	73,33 ± 8,82* ^{de}
	40	100,00 ± 0,00* ^g
Pozitif Kontrol	10	100,00 ± 0,00* ^g
	20	100,00 ± 0,00* ^g
	40	100,00 ± 0,00* ^g
Negatif Kontrol	-	6,67 ± 3,33^a

Toksik etki sonuçları ort. % ölüm oranları ± SE (standart hata) olarak verildi.

Aynı harfler Duncan testine göre istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$)

*LSD testine göre negatif kontrolden istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.7. *Veratrum album* ekstresi ve saf metabolitlerinin 60. saatte patates böceğine karşı toksik etkileri

Uygulama	Doz (mg/ml)	Ölüm (%)
Aseton Ekstresi	10	100,00 ± 0,00*f
	20	100,00 ± 0,00*f
	40	100,00 ± 0,00*f
Kloroform ekstresi	10	100,00 ± 0,00*f
	20	100,00 ± 0,00*f
	40	100,00 ± 0,00*f
NH ₄ OH-benzen ekstresi (alkaloitlerce zengin ekstre)	10	100,00 ± 0,00*f
	20	100,00 ± 0,00*f
	40	100,00 ± 0,00*f
β-Sitosterol (VA-2)	10	53,33 ± 8,82*c
	20	100,00 ± 0,00*f
	40	100,00 ± 0,00*f
β-Sitosterol+Diosgenin (VA-2+VA-4)	10	73,33 ± 13,33*d
	20	93,33 ± 6,67*f
	40	100,00 ± 0,00*f
Resveratrol (VA-5)	10	30,00 ± 5,77*b
	20	76,67 ± 8,82*de
	40	90,00 ± 5,77*ef
Oksiresveratrol (VA-7)	10	93,33 ± 6,67*f
	20	100,00 ± 0,00*f
	40	100,00 ± 0,00*f
β-Sitosterol 3-O-β-D-glikopiranozit (VA-8)	10	100,00 ± 0,00*f
	20	100,00 ± 0,00*f
	40	100,00 ± 0,00*f
Jervin (VA-11)	10	40,00 ± 5,77*bc
	20	93,33 ± 6,67*f
	40	100,00 ± 0,00*f
Pozitif Kontrol	10	100,00 ± 0,00*f
	20	100,00 ± 0,00*f
	40	100,00 ± 0,00*f
Negatif Kontrol	-	9,17 ± 3,36a

Toksik etki sonuçları ort. % ölüm oranları ± SE (standart hata) olarak verildi.

Aynı harfler Duncan testine göre istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$)

*LSD testine göre negatif kontrolden istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.8. *Veratrum album* ekstresi ve saf metabolitlerinin 72. saatte patates böceğine karşı toksik etkileri

Uygulama	Doz (mg/ml)	Ölüm (%)
Aseton Ekstresi	10	100,00 ± 0,00*e
	20	100,00 ± 0,00*e
	40	100,00 ± 0,00*e
Kloroform ekstresi	10	100,00 ± 0,00*e
	20	100,00 ± 0,00*e
	40	100,00 ± 0,00*e
NH ₄ OH-benzen ekstresi (alkaloitlerce zengin ekstre)	10	100,00 ± 0,00*e
	20	100,00 ± 0,00*e
	40	100,00 ± 0,00*e
β-Sitosterol (VA-2)	10	73,33 ± 14,53*d
	20	100,00 ± 0,00*e
	40	100,00 ± 0,00*e
β-Sitosterol+Diosgenin (VA-2+VA-4)	10	73,33 ± 13,33*d
	20	96,67 ± 3,33*e
	40	100,00 ± 0,00*e
Resveratrol (VA-5)	10	33,33 ± 3,33*b
	20	86,67 ± 8,82*d
	40	90,00 ± 5,77*e
Oksiresveratrol (VA-7)	10	100,00 ± 0,00*e
	20	100,00 ± 0,00*e
	40	100,00 ± 0,00*e
β-Sitosterol 3-O-β-D-glikopiranozit (VA-8)	10	100,00 ± 0,00*e
	20	100,00 ± 0,00*e
	40	100,00 ± 0,00*e
Jervin (VA-11)	10	50,00 ± 5,77*c
	20	100,00 ± 0,00*e
	40	100,00 ± 0,00*e
Pozitif Kontrol	10	100,00 ± 0,00*e
	20	100,00 ± 0,00*e
	40	100,00 ± 0,00*e
Negatif Kontrol	-	12,50 ± 3,28a

Toksik etki sonuçları ort. % ölüm oranları ± SE (standart hata) olarak verildi.

Aynı harfler Duncan testine göre istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$).

*LSD testine göre negatif kontrolden istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.9. *Veratrum album* ekstresi ve saf metabolitlerinin 84. saatte patates böceğine karşı toksik etkileri

Uygulama	Doz (mg/ml)	Ölüm (%)
Aseton Ekstresi	10	100,00 ± 0,00*d
	20	100,00 ± 0,00*d
	40	100,00 ± 0,00*d
Kloroform ekstresi	10	100,00 ± 0,00*d
	20	100,00 ± 0,00*d
	40	100,00 ± 0,00*d
NH ₄ OH-benzen ekstresi (alkaloitlerce zengin ekstre)	10	100,00 ± 0,00*d
	20	100,00 ± 0,00*d
	40	100,00 ± 0,00*d
β-Sitosterol (VA-2)	10	76,67 ± 12,02*c
	20	100,00 ± 0,00*d
	40	100,00 ± 0,00*d
β-Sitosterol+Diosgenin (VA-2+VA-4)	10	83,33 ± 8,82*c
	20	100,00 ± 0,00*d
	40	100,00 ± 0,00*d
Resveratrol (VA-5)	10	46,67 ± 3,33*b
	20	83,33 ± 8,82*c
	40	96,67 ± 3,33*d
Oksiresveratrol (VA-7)	10	100,00 ± 0,00*d
	20	100,00 ± 0,00*d
	40	100,00 ± 0,00*d
β-Sitosterol 3-O-β-D-glikopiranozit (VA-8)	10	100,00 ± 0,00*d
	20	100,00 ± 0,00*d
	40	100,00 ± 0,00*d
Jervin (VA-11)	10	56,67 ± 3,33*b
	20	100,00 ± 0,00*d
	40	100,00 ± 0,00*d
Pozitif Kontrol	10	100,00 ± 0,00*d
	20	100,00 ± 0,00*d
	40	100,00 ± 0,00*d
Negatif Kontrol	-	13,33 ± 2,84a

Toksik etki sonuçları ort. % ölüm oranları ± SE (standart hata) olarak verildi.

Aynı harfler Duncan testine göre istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$).

*LSD testine göre negatif kontrolden istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

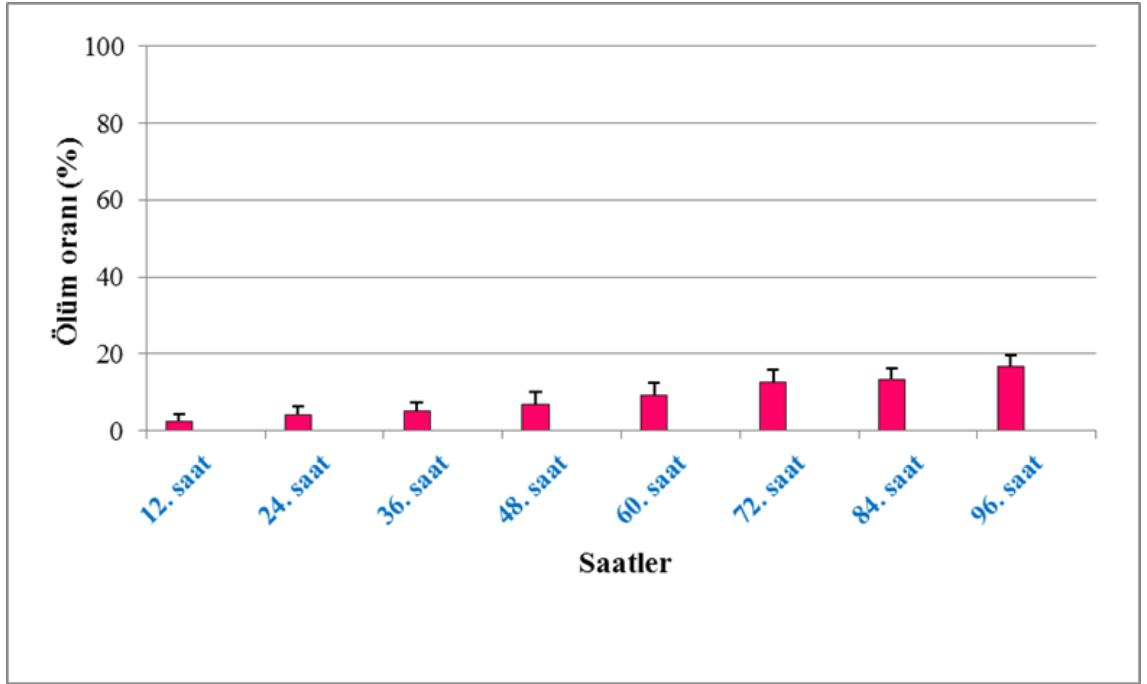
Çizelge 4.10. *Veratrum album* ekstresi ve saf metabolitlerinin 96. saatte patates böceğine karşı toksik etkileri

Uygulama	Doz (mg/ml)	Ölüm (%)
Aseton Ekstresi	10	100,00 ± 0,00*e
	20	100,00 ± 0,00*e
	40	100,00 ± 0,00*e
Kloroform ekstresi	10	100,00 ± 0,00*e
	20	100,00 ± 0,00*e
	40	100,00 ± 0,00*e
NH ₄ OH-benzen ekstresi (alkaloitlerce zengin ekstre)	10	100,00 ± 0,00*e
	20	100,00 ± 0,00*e
	40	100,00 ± 0,00*e
β-Sitosterol (VA2)	10	83,33 ± 8,82*d
	20	100,00 ± 0,00*e
	40	100,00 ± 0,00*e
β-Sitosterol+Diosgenin (VA-2+VA-4)	10	96,67 ± 3,33*e
	20	100,00 ± 0,00*e
	40	100,00 ± 0,00*e
Resveratrol (VA-5)	10	50,00 ± 5,77*b
	20	86,67 ± 8,82*d
	40	100,00 ± 0,00*e
Oksiresveratrol (VA-7)	10	100,00 ± 0,00*e
	20	100,00 ± 0,00*e
	40	100,00 ± 0,00*e
β-Sitosterol 3-O-β-D-glikopiranozit (VA-8)	10	100,00 ± 0,00*e
	20	100,00 ± 0,00*e
	40	100,00 ± 0,00*e
Jervin (VA-11)	10	60,00 ± 0,00*c
	20	100,00 ± 0,00*e
	40	100,00 ± 0,00*e
Pozitif Kontrol	10	100,00 ± 0,00*e
	20	100,00 ± 0,00*e
	40	100,00 ± 0,00*e
Negatif Kontrol	-	16,67 ± 2,84a

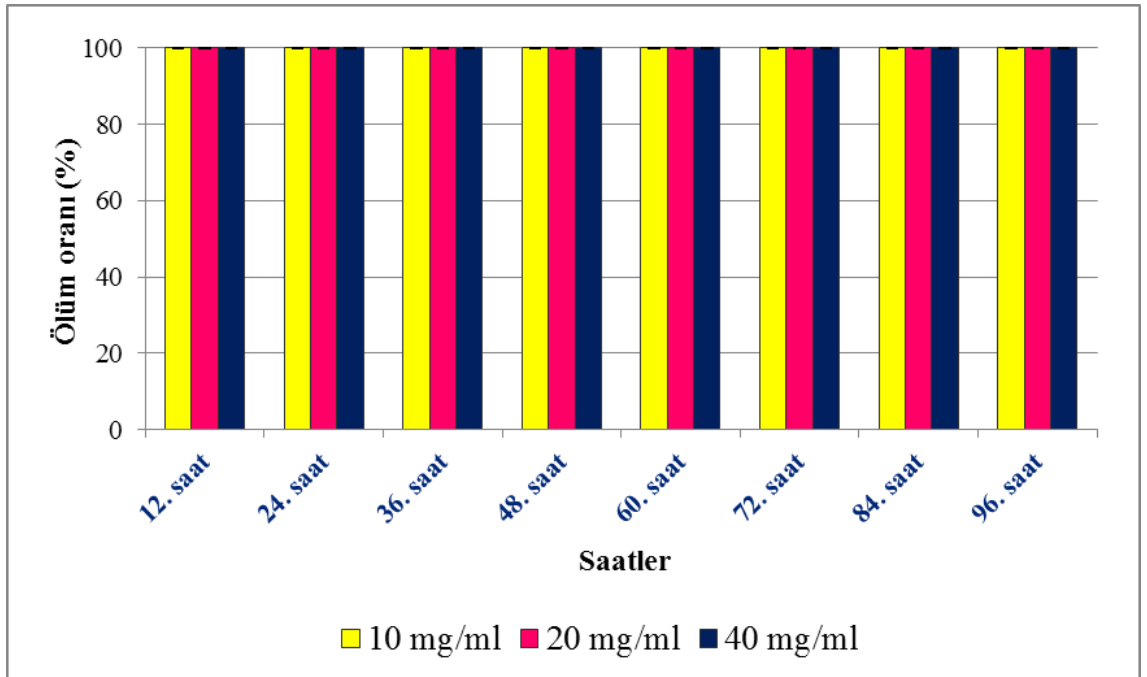
Toksik etki sonuçları ort. % ölüm oranları ± SE (standart hata) olarak verildi.

Aynı harfler Duncan testine göre istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$).

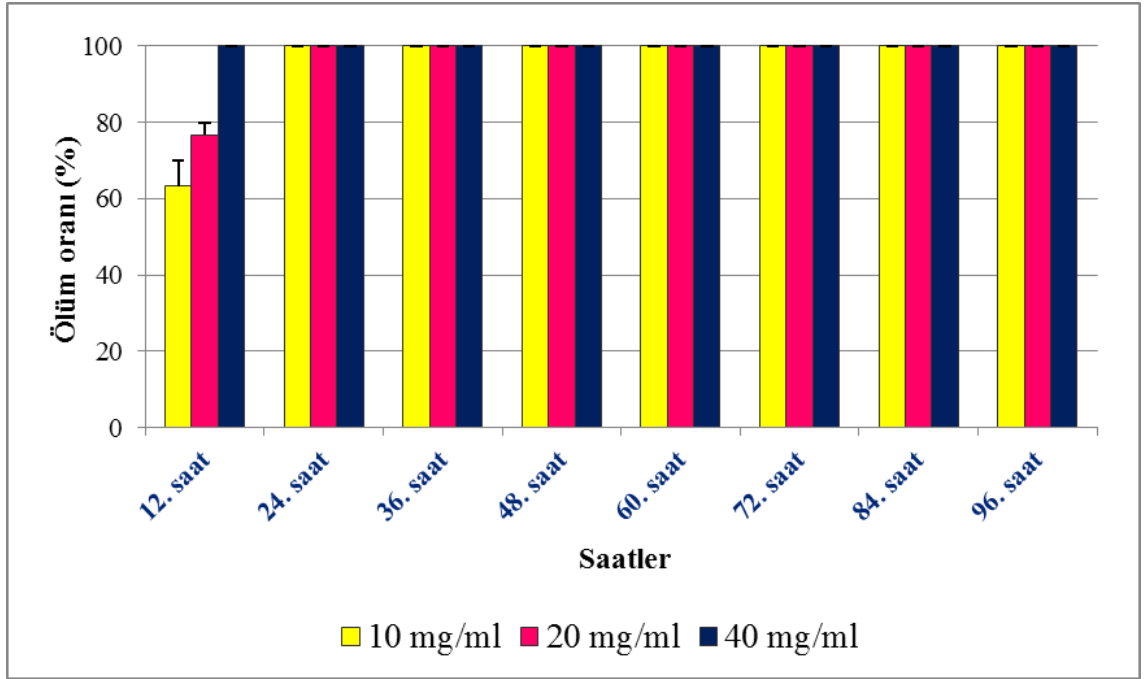
*LSD testine göre negatif kontrolden istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.



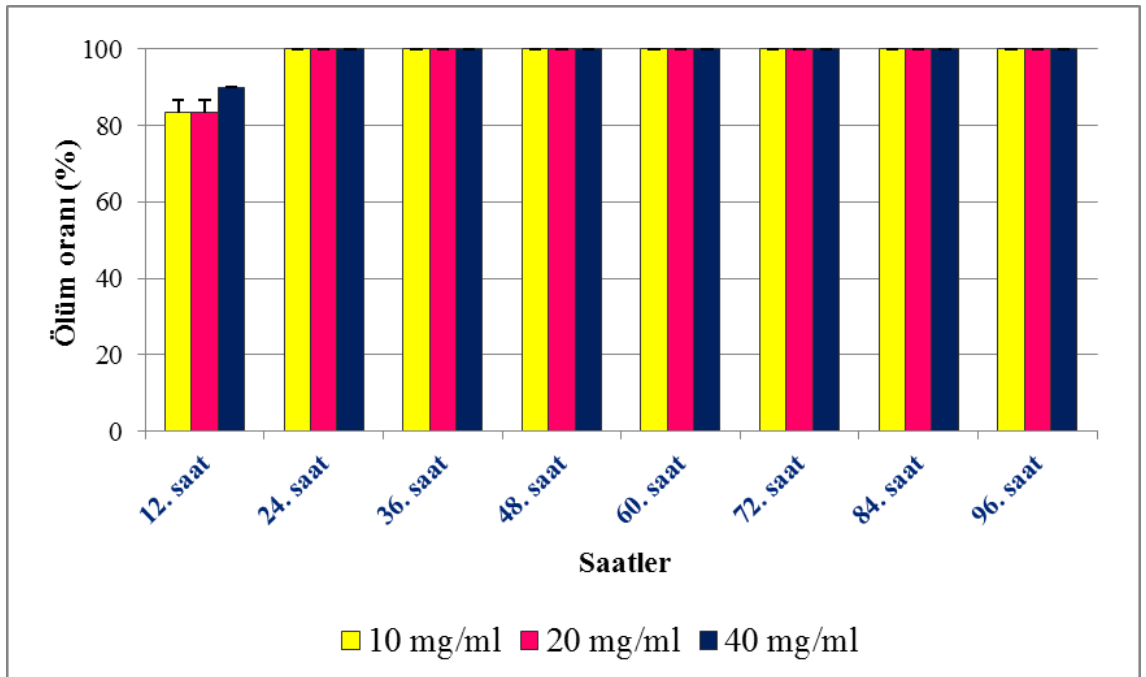
Şekil 4.101. Kontrol grubundaki patates böceklerinin ölüm oranları



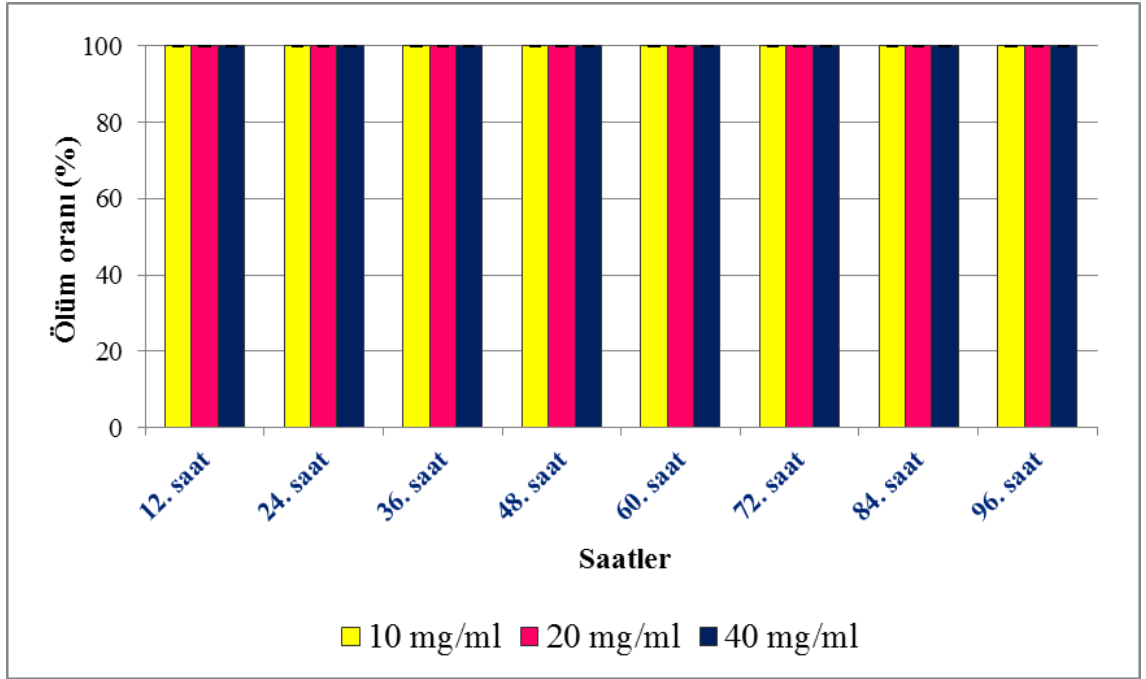
Şekil 4.102. Lambda cyhalothrin ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları



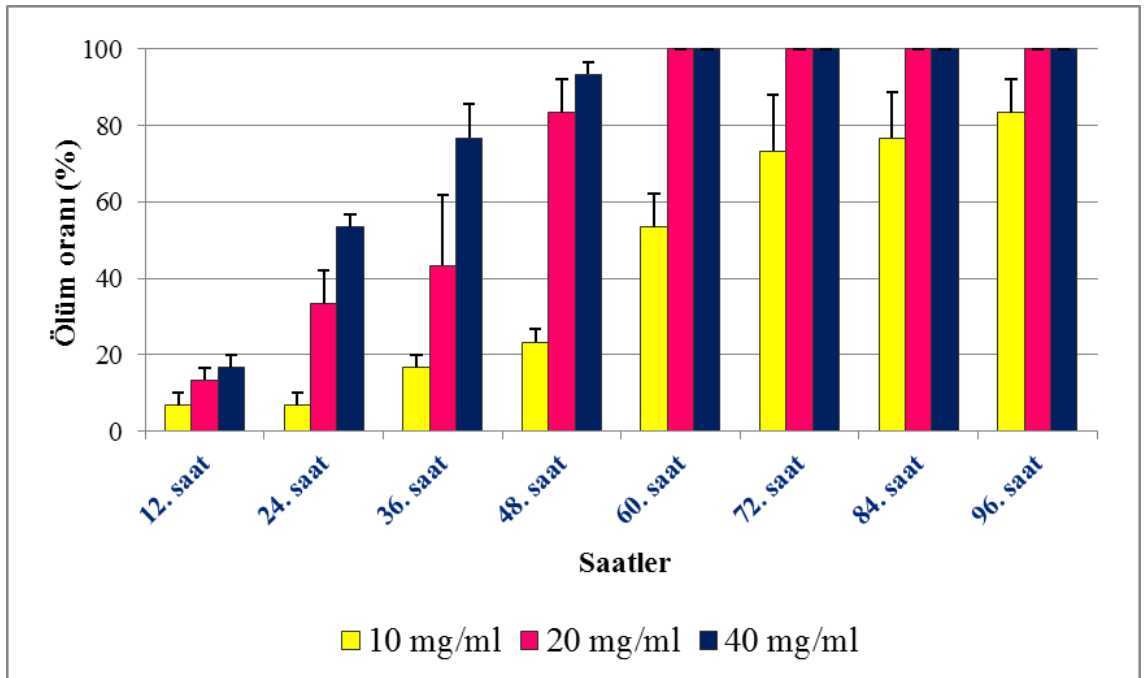
Şekil 4.103. Aseton ekstresi ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları



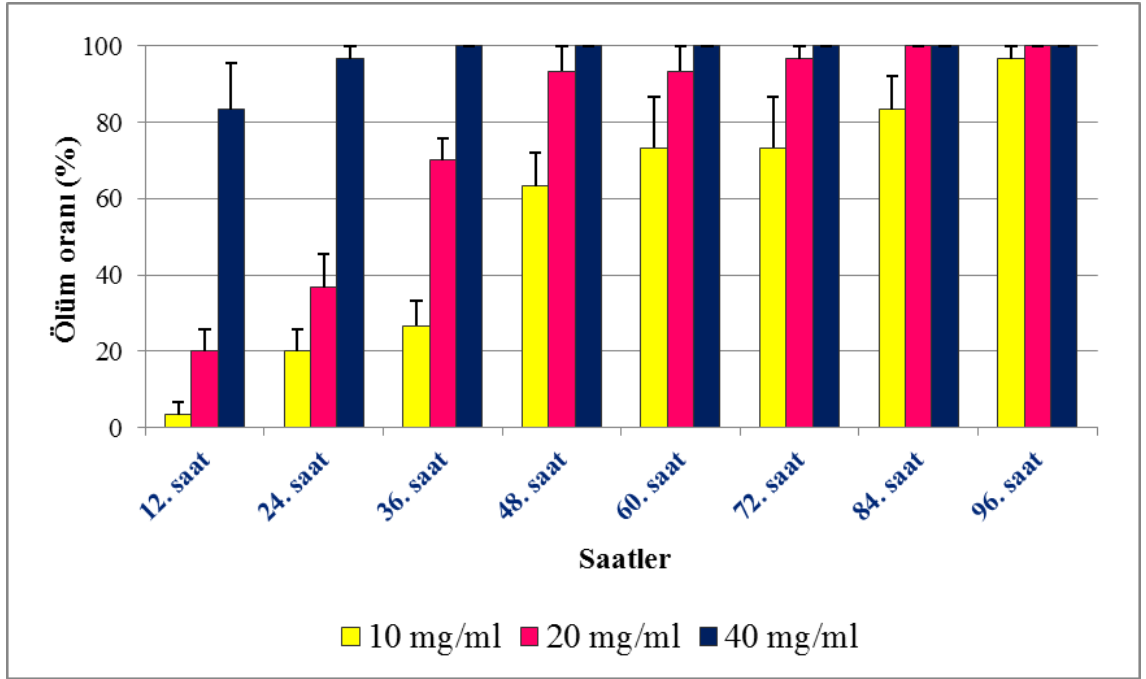
Şekil 4.104. Kloroform ekstresi ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları



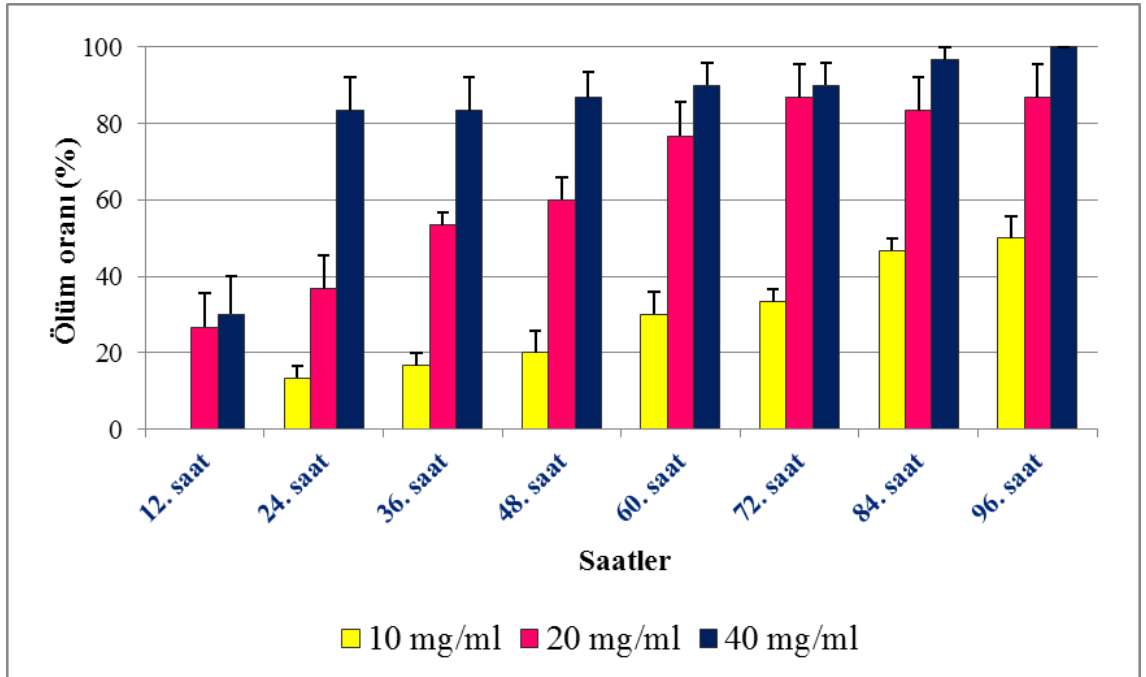
Şekil 4.105. NH_4OH -benzen ekstresi ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları



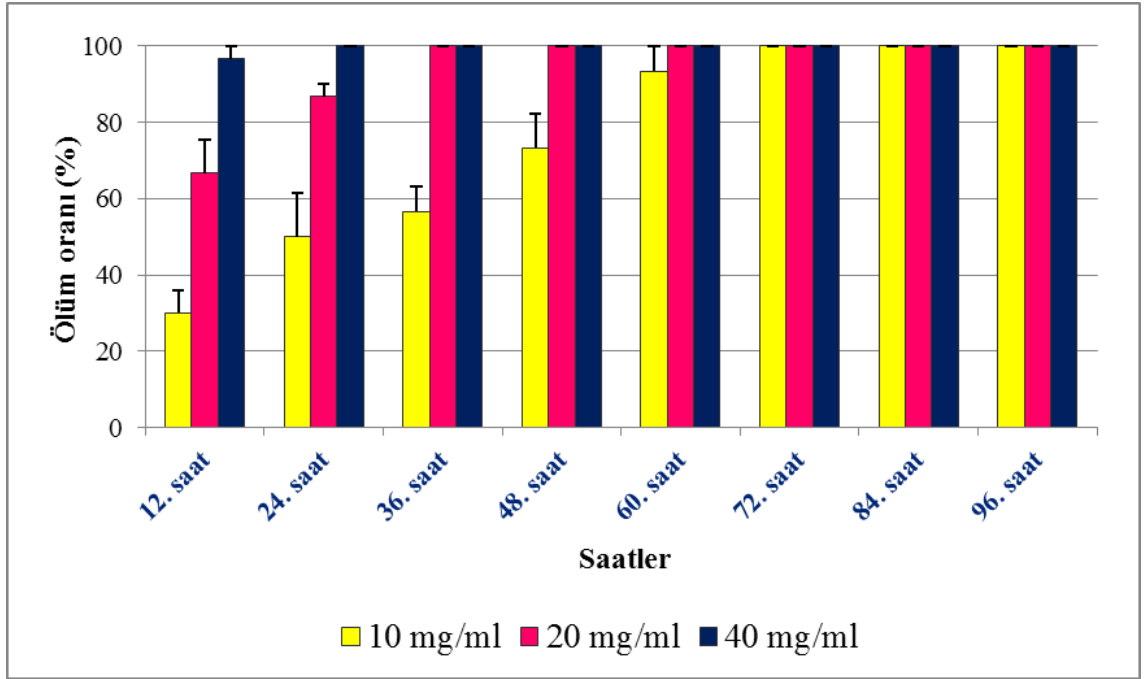
Şekil 4.106. β -sitosterol ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları



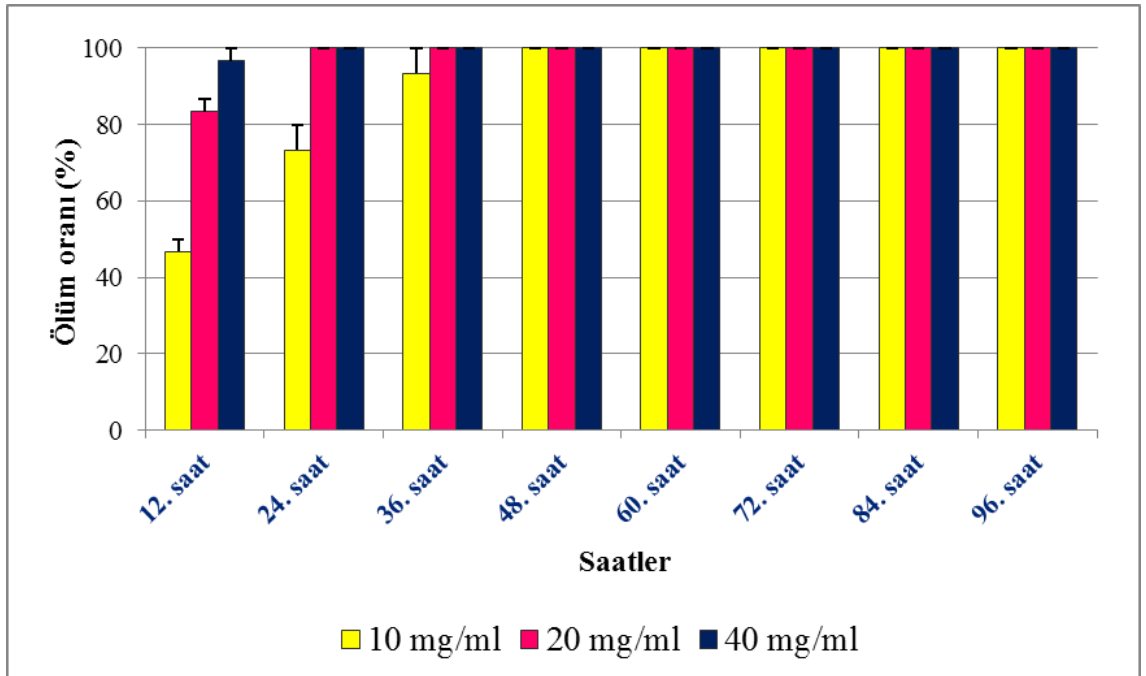
Şekil 4.107. β -sitosterol-diosgenin karışımı ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları



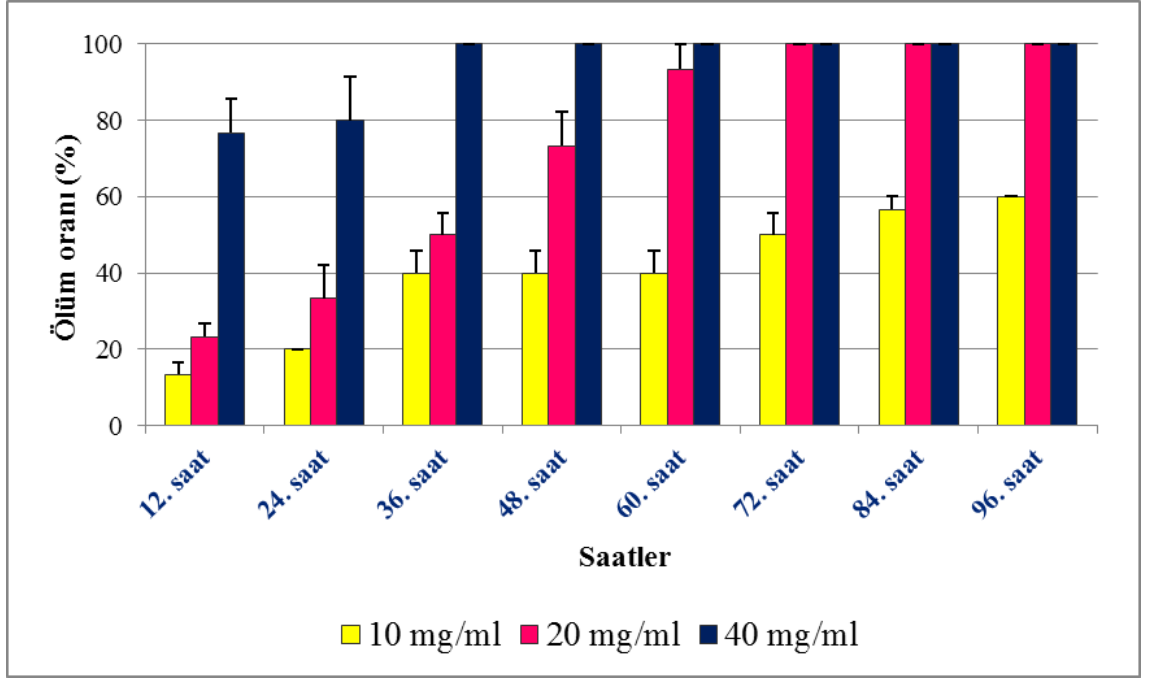
Şekil 4.108. Resveratrol ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları



Şekil 4.109. Oksiresveratrol ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları



Şekil 4.110. β -Sitosterol 3-O- β -D-glikopiranozit ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları



Şekil 4.111. Jervin ile muamele edilen patates böceklerinin ölüm oranları

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Veratrum album bitkisinin rizomlarından elde edilen ekstre ve saf metabolitlerin insektisidal etkilerini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada, böcek materyali olarak daha önce çalışılmamış olması nedeniyle *Leptinotarsa decemlineata* (patates böceği) kullanılmıştır.

Bu amaçla *Veratrum album* bitkisinin rizomları kurutulup öğütüldükten sonra dört farklı çözücü ile ekstrakte edildi. Ekstreler kolon kromatografisi, ince tabaka kromatografisi ve ters faz kromatografisi ile elüe edilerek saf metabolitler izole edildi. İzole edilen bileşiklerin molekül yapıları UV, IR, MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve 2D-NMR yöntemleri kullanılarak aydınlatıldı. Cyclopamine maddesini izole etmek amacıyla ilk ekstraksiyon aseton ile yapıldı. Ancak aseton ekstresi üzerinde yapılan kromatografik araştırmalar sonucu cyclopamine maddesine rastlanmadı. Kromatografik çalışmalar sonucunda *Veratrum album* rizomlarının aseton ekstresinden toplam 12 metabolit izole edildi. *Veratrum album* bitkisinin rizomlarındaki sadece alkaloid tipli maddeleri tüketmek üzere bitkinin öğütülmüş rizomları NH₄OH ile muamele edildi ve sonrasında benzen ile tüketildi (Tanker ve Tanker 1990). Elde edilen bu ekstreten daha önce aseton ekstresinden de izole edilen jervin bileşiği izole edildi. Biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılacak maddelerin miktarını artırmak ve de farklı yeni maddeler izole etmek amacıyla bitkinin öğütülmüş rizomları ayrıca kloroform ile ekstrakte edildi. Kloroform ekstresi üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar neticesinde daha önce izole edilen bazı maddelerin miktarları artırılırken, iki farklı madde daha izole edildi. Yapılan literatür taramalarına göre daha önce yapılan çalışmalarda *Veratrum* türlerinin rizomlarının daha polar yapılı germin, protoveratrin A ve protoveratrin B tipli alkaloid tipli maddeleri içerdiği rapor edilmiştir (Ujvary *et al.* 1991; Tang *et al.* 2008). *Veratrum album* bitkisinin rizomlarındaki bu polar alkaloid tipli maddeleri izole etmek üzere öğütülmüş rizomlar ayrıca etanol ile tüketildi. Etanol ekstresi üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar sonucu ekstrenin sadece bir madde içerdiği ve bu maddeleri içermediği gözlemlendi. Etanol ekstresindeki bu majör madde kromatografik çalışmalarla izole edildi. *Veratrum album* rizomlarından elde edilen dört farklı ekstreten, böylece

toplam 15 madde kromatografik yöntemlerle izole edildi ve bunlardan 14 tanesinin molekül yapısı UV, IR, MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 1D ve 2D-NMR gibi spektroskopik yöntemlerle aydınlatıldı.

Mevcut çalışmada 3 adet steroidal alkaloid ve glikoziti, 4 adet stilbenoit ve stilbenoit glikoziti, 4 adet steroid ve steroid glikoziti, 1 adet karbohidrat ve 2 adet alifatik alkol ve asit tipli bileşik izole edilmiş ve kimyasal yapıları karakterize edilmiştir. Literatürde *Veratrum* cinsine ait türlerin genellikle steroidal alkaloid ve stilbenoit tipli bileşikleri sentezledikleri rapor edilmiştir (Zhou *et al.* 1999; Ivanova *et al.* 2011). *Veratrum* türleri sentezledikleri çeşitli biyolojik aktiviteye sahip steroidal alkaloid açısından zengin türlerdir ve bitkideki steroidal alkaloid içeriği yetiştirme ortamına göre büyük ölçüde değişiklik gösterir (Sultana 1993). Verarin, jervin, pseudojervin, veratramin, cyclopamin, veratrobasin, veratrenon, germin, protoveratridin, protoveratrin A, protoveratrin B, protoveratrin C, solanidin ve rubijervin literatürde *Veratrum* türlerinden izole edilen ve karakterize edilen steroidal alkaloidlerden bazılarıdır (Sultana 1993). Bu çalışmada *Veratrum album*'un rizomlarından **jervin** (VA-11), **pseudojervin** (VA-13) ve **1-hidroksi-5,6-dehidrojervin** (VA-14) steroidal alkaloidleri izole edilmiş ve kimyasal yapıları karakterize edilmiştir. Diğer taraftan, izole edilen steroidal alkaloid olmayan bileşiklerden steroidal sapogenin **diosgenin** (VA-4) ile bu bileşiğin glikoziti **diosgenin-3-O- α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glukopiranozit** (VA-9), hidroksistilben tipli **oksiresveratrol-3-O- β -D-glikozit** (VA-10) ve fitoaleksinin türü bir bileşik olan **moracin J** (VA-6) bileşikleri *Veratrum album*'un rizomlarından ilk kez bu çalışmada izole edildi ve karakterize edildi. Ayrıca uzun zincirli alifatik alkol olan **n-oktakosanol** (VA-1), bitki sterolu olarak bilinen **β -sitosterol** (VA-2) ve bu bileşiğin glikoziti olan **β -sitosterol-3-O- β -D-glukopiranozit** (VA-8), bir yağ asidi olan **stearik asit** (VA-3), hidroksistilben bileşiklerden **resveratrol** (VA-5) ve **oksiresveratrol** (VA-7) ile yağın disakkarit, **sakaroz** (VA-15) bileşikleri de *Veratrum album* rizomlarından izole edilen ve karakterize edilen diğer bileşiklerdir. Ayrıca NMR spektral verilerine göre bir oligosakkarit olduğu belirlenen VA-12 maddesinin molekül yapısı tam olarak aydınlatılmadı.

Veratrum album'un aseton ekstresinden ilk izole edilen **n-oktakosanol** (VA-1) maddesinin literatürde ayrıca *Eucalyptus* türü yapraklarında, akasyada, yoncada, baklagillerde, yem ve tahıllarda, dut ağacı ve pirinçte, özellikle de buğday tohumunda bulunduğu rapor edilmiştir (Pollard *et al.* 1933; Mori 1982; Baker 1982; Snider 1984; Irmak and Dunford 2005; Wang *et al.* 2010). Büyük molekül kütleli alkollerin doğal bir karışımı olan polikosanolün temel aktif bileşeni **n-oktakosanol** dür. Bu bileşik çeşitli farmakolojik etkilere sahiptir. (Gonzalez *et al.* 1996). **n-oktakosanol** ün (VA-1), parkinson hastalığına karşı koruyucu etkiye sahip olduğu literatürde rapor edilmiştir (Snider 1984; Wang *et al.* 2010). Bu maddenin ayrıca ipekböceğinin larvalarında güçlü bir beslenme uyarıcı etkiye sahip olduğu da belirlenmiştir (Mori 1982).

Veratrum album rizomlarının aseton ekstresinden izole edilen VA-2 ve VA-8 bileşiklerinin kimyasal yapıları spektroskopik yöntemlerle sırasıyla, **β -sitosterol** ve β -sitosterolün glikoziti olan **β -sitosterol 3-O- β -D-glikopiranozit** olarak belirlendi. **β -sitosterol** hemen hemen her bitki türünde bulunan oldukça yaygın bir steroidtir. Örneğin, *Tephrosia strigosa*, *Heliotropium indicum*, *Ajuga macrosperma*, *Brillantaisia palisatii*, *Elaphoglossum spathulatum*, *Parahancornia amapa*, *Conyza bonariensis*, *Lilium longiflorum*, *Tulipa gesneriana*, *Zhongguo zhongyao*, *Atractylodes chinense*, *Hygrophila spinosa*, *Ageratum conyzoides*, *Eulophia epidendreaea*, *Plantago ovata* Forsk, *Hypericum hyssopifolium* bunlardan bazılarıdır (Pandey *et al.* 1996; Dinda *et al.* 1997; Sreenivasulu and Sarma 1999; Carvalho *et al.* 2001, Kong *et al.* 2003; Berrondo *et al.* 2003; Cakir *et al.* 2003; Socolsky *et al.* 2003; Nakamura *et al.* 2005; Maridass and Ramesh 2010; Patra *et al.* 2010; Kamboj and Saluja 2011). **β -sitosterol 3-O- β -D-glukopiranozit** bileşiğinin ise *Eulophia epidendreaea*, *Ocimum sanctum* L, *Tribulus terrestris*, *Dioscorea zingiberensis* C.H. Wright bitkilerinde bulunduğu rapor edilmiştir (Deepak *et al.* 2002; Rahman *et al.* 2009; Wang *et al.* 2009; Maridass and Ramesh 2010). Bitkilerde yaygın olarak bulunan bu steroller değişik farmakolojik etkilere sahip bileşiklerdir. Literatürde bu iki metabolitin kolon kanserini tedavi edici etkilerinin yanı sıra, antienflamatuar, antipiretik, antitümör, ve antikompleman aktivitelerinin olduğu, kan şekeri ve kolesterolü düşürdükleri, kanda periferik lenfositleri çoğalttıkları ve immünomodülatör ajan oldukları bildirilmiştir (Bouic and Lamprecht 1999; Bouic

2002; Ivorra *et al.* 1988; Ju *et al.* 2004). Bu farmakolojik özelliklerinin yanı sıra **β -sitosterol**'ün, östrojeni etkilediği ve insülini hafiflettiği, prostat büyümesini tedavi ettiği, antiartritik ve antiülser özelliğinin olduğu, spermatogenezi inhibe ettiği, antioksidan özellik gösterdiği ve kanser riskini azalttığı, karaciğer aktivitesini geliştirdiği de rapor edilmiştir (Yamada *et al.* 1987; Yamamoto *et al.* 1991; Bouic *et al.* 1996; Donald *et al.* 1997; Ju *et al.* 2004; Maridass and Ramesh 2010; Patra *et al.* 2010; Ye *et al.* 2010).

Bu çalışmada *Veratrum album* bitkisinin rizomlarının aseton ekstresinden izole edilen ve kimyasal yapısı spektroskopik yöntemlerle **stearik asit** olarak belirlenen VA-3 bileşiği, doğada yaygın olarak bulunan yağ asitlerinden biri olup genellikle bitkisel ve hayvansal yağlarda gliserol esteri olarak bulunur. **Stearik asit** bileşiğine hayvansal kaynaklarda bitkisel kaynaklara oranla daha sık rastlanır (Rogers *et al.* 2001). Klinik çalışmalarda diğer doymuş yağ asitlerine göre **stearik asit**, kolesterolü düşürücü etkisiyle bilinmektedir (Hunter *et al.* 2010). Ayrıca **stearik asit** enjeksiyon kalıplama seramiklerinde yaygın olarak kullanılan bir yağlayıcı maddedir (Tseng *et al.* 1999).

Veratrum album'un rizomlarının aseton ekstresinden izole edilen VA-4 bileşiğinin yapısı spektroskopik yöntemlerle **diosgenin** olarak belirlendi. *Veratrum album* rizomlarından **diosgenin** bileşiğinin varlığı ilk defa bu çalışma ile tespit edildi. **Diosgenin** antioksidatif, hipolipidemik, antikanser, antialerjik, damar genişletici ve bağışıklık uyarıcı gibi farmakolojik özellikleri olan önemli bir maddedir. Bu farmakolojik özelliklerine ilaveten belki de **diosgeninin** en önemli özelliği ilaç olarak kullanılan bazı steroid hormonal hormonların (kortizon ve progesteron hormonları) sentezinde çıkış maddesi olarak kullanılmasıdır (Marker and Krueger 1940). Örneğin **diosgenin** doğum kontrol hapı gibi bazı önemli ilaçların sentezinde çıkış maddesi olarak kullanılmaktadır. Bu yüzden farmakolojik ve sentetik çalışmalarda saf **diosgenin** oldukça önemli bir maddedir (Singh and Thakur 1982; Espejo *et al.* 1982; Williams *et al.* 2005; Hou *et al.* 2006; Tewtrakul and Itharat 2006; Li and Yu 2006; Denance *et al.* 2006; Son *et al.* 2007; Chiang *et al.* 2007; Raju and Bird, 2007; Dias *et al.* 2007; Zhang *et al.* 2007; Xu *et al.* 2008; Yoon and Kim, 2008; Wang *et al.* 2011). Literatürde

diosgenin içeren bitkilerden bazıları *Costus speciosus*, *Dioscorea floribunda*, *Rhizoma dioscoreae*, *Dioscorea composita*, *Allium vineale*, *Brachiaria decumbens*, *Asparagus officinalis*, *Agave intermixta* Trel. olmasına karşın en fazla bulunduğu türler şüphesiz *Dioscorea* türleridir (Hoyer *et al.* 1975; Singh and Thakur 1982; Espejo *et al.* 1982; Tal *et al.* 1984; Chen and Snyder 1989; Pires *et al.* 2002; Quilez *et al.* 2004; Xu *et al.* 2008; Wang *et al.* 2011). *Dioscorea* türleri Güney Amerika, Meksika ve Asya’da yetişmektedir ve rizomları **diosgenin** maddesi bakımından zengin olup “wild yam” veya “yabani yam” olarak bilinir (Son *et al.* 2007). VA-9 bileşiğinin kimyasal yapısı ise diosgeninin bir glikoziti olan **dioscinin prosapogenin A’sı** (diosgenin-3-*O*- α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glikopiranozit), olarak belirlendi. **Diosgenin**, dioscin türevlerinin hidroliz ürünüdür. Dolayısıyla dioscin türevleri de diosgenin gibi ilaç endüstrisinde kullanılan önemli kaynaklardandır. Bu tür maddelerin antikanser, antiviral, antifungal, antiobezite ve antitümör etkileri olduğu rapor edilmiştir (Indrayanto *et al.* 2001; Yoon and Kim 2008).

Veratrum album’un rizomlarının aseton ekstresinden izole edilen VA-5 maddesinin kimyasal yapısı **resveratrol** olarak karakterize edildi. **Resveratrol**, hidroksistilben bileşiklerin temsilcisidir ve güçlü bir serbest radikal inhibitörü olarak bilinmektedir (Ban *et al.* 2006). *Veratrum* türlerinde yaygın olarak bulunan **resveratrol** kelime anlamı olarak, “*Veratrum* bitkilerinden” anlamında “veratr” kökü ile “-den gelir” anlamında latin öneki “res” ve alkol grupları içerdiği için “ol” son ekinin birleşmesiyle meydana gelmiştir (Delmas *et al.* 2006). **Resveratrol** sınırlı sayıda bitkilerde bulunur ve özellikle *trans*-resveratrol, *cis*-resveratrol bileşiğine nazaran daha yaygındır. **Resveratrol** kaynağı olarak bilinen bitkilerden bazıları gıda olarak alınan üzüm, yer fıstığı, yabanmersini ve duttur. Gıdalarda bulunan **resveratrol** ayrıca antimikrobiyal aktiviteye de sahiptir. Örneğin üzüm kabuğundan bol miktarda üretilen **resveratrol**, bu gıdaya çok bulaşan *Bothrytis cinerea* mantarının çoğalmasını önler. Gıdalarla alınan **resveratrol** doğal bir antibiyotiktir. Gıdalar dışındaki **resveratrol** kaynağı bitkilerden bazıları *Polygonum cuspidatum*, *Yucca schidigera*, *Cissus sicyoides* L.’dir (Kimura and Okuda 2001; Oleszek *et al.* 2001; Lucena *et al.* 2010) Literatürde **resveratrol**ün damar rahatsızlıkları, kanser, viral enfeksiyonlar ve Alzheimer gibi hastalıkları önleyici

etkilerinin olduğu ve kuvvetli bir antioksidan olduğu rapor edilmiştir (Surh 1999; Fremont 2000; Latruffe *et al.* 2002; Guiso *et al.* 2002; Wang *et al.* 2002; Russo *et al.* 2003, Lorenz *et al.* 2003; Quilez *et al.* 2004; Delmas *et al.* 2006; Aftab *et al.* 2010).

Yapısı **moracin J** olarak analiz edilen VA-6 bileşigi bir fitoaleksinin bileşigidir. Fitoaleksinler bitkiler tarafından sentezlenen, düşük moleköl ağırlıklı antimikrobiyal bileşiklerdir (Thomma *et al.* 1999). Literatürde hastalıklı dut ağacında sentezlendiği rapor edilen **moracin J**, ilk defa bu çalışmada *Veratrum album* bitkisinin rizomlarından izole edildi (Takasugi *et al.* 1979).

Kimyasal yapısı **oksiresveratrol** olarak karakterize edilen VA-6, resveratrol bileşiginin bir analogudur. **Oksiresveratrol** doğal hidroksistilben bileşiklerden birisi olup güçlü bir antioksidan ve serbest radikal süpürücü olarak bilinmektedir (Lorenz *et al.* 2003; Ban *et al.* 2006). **Oksiresveratrol** ün taze kesilmiş elmada meydana gelen kararmaları önleyici aktivitesinin olduğu da ayrıca rapor edilmiştir (Li *et al.* 2007). Ayrıca iskemi halinde ve parkinson hastalığında sinirleri koruyucu etkisinin ve antiherpetik aktivitesinin olduğu rapor edilmiştir (Andrabi *et al.* 2004; Chao *et al.* 2008; Chuanasa *et al.* 2008; Sasivimolphan *et al.* 2009; Aftab *et al.* 2010). Literatürde **oksiresveratrol**ün izole edildiği bitkilerden bazıları *Smilacis chinae*, *Morus spp.*, *Artocarpus lakoocha* ve *Ramulus mori* türleridir (Ban *et al.* 2006; Zhang *et al.* 2008; Chuanasa *et al.* 2008; Aftab *et al.* 2010).

Veratrum album rizomlarının aseton ekstresinden izole edilen VA-10 maddesinin kimyasal yapısı oksiresveratrol bileşiginin bir glikoziti olan **oksiresveratrol-3-O-β-D-glikopiranozit** olarak karakterize edildi. Dai ve arkadaşları tarafından (2009) *Veratrum dahuricum* bitkisinden izole edildiği rapor edilen bu bileşik *Veratrum album* rizomlarından ilk defa bu çalışma ile ortaya konmuştur. Aynı çalışmada **oksiresveratrol-3-O-β-D-glikopiranozitin** kan pıhtılaşmasını inhibe ettiği (platelet aggregation inhibition) rapor edilmiştir.

Veratrum album bitkisinin rizomlarından elde edilen aseton ekstresi üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar sonucunda ekstreden majör olarak izole edilen madde VA-11 bileşiğidir. VA-11 bileşiğinin kimyasal yapısı spektroskopik yöntemlerle **jervin** olarak belirlenmiştir. **Jervin** *Veratrum* türlerinde majör olarak bulunan steroidal alkaloitlerden birisidir. Hipertansiyon ve kalp hastalıklarının tedavisinde kullanılan **jervin**, Hedgehog sinyal yolunun inhibisyonuna sebep olduğu için güçlü bir teratojen olarak da bilinmektedir (Keeler and Binns 1966; Chen *et al.* 2002). Antitümör aktivitesinin olduğu rapor edilen **jervin**, önemli bir steroidal alkaloit olan cyclopamine bileşiğinin de analogudur (Lee *et al.* 2007; Tang *et al.* 2008; Heretsch *et al.* 2010). Bu özelliğinden dolayı **jervin** ve *Veratrum* türlerinden elde edilen steroidal alkaloitlerce zengin ekstrelerin, bazı kanser hücrelerine karşı test edildiği ve antikanser özelliklerinin olduğu rapor edilmiştir (Vachalkova *et al.* 1998). Oldukça toksik bileşik olan **jervin** cyclopamine bileşiğinin biyosenteziyle meydana gelebilmektedirler (Heretsch *et al.* 2010). Cyclopamine kanserli hücrelerin çoğalmasında önemli Hedgehog sinyal yolunun güçlü bir antagonisti ve blokeridir (Altaba *et al.* 2002; Zhang *et al.* 2008; Lipinski *et al.* 2008; Tremblay *et al.* 2008; Growdon *et al.* 2009; Jimeno *et al.* 2009; Zunich *et al.* 2009). Bu özelliğinden dolayı cyclopamine literatürde safra kesesi kanseri, prostat kanseri, göğüs kanseri, pankreas kanseri, deri kanseri, sedef hastalığı ve daha birçok kanser hastalığının tedavisinde oldukça etkili bir ajan olduğu tespit edilmiştir (Tas and Avcı 2004a,b; Sanchez *et al.* 2005; Tremblay *et al.* 2008; Shigemura *et al.* 2011; Kai *et al.* 2011; Wu *et al.* 2011; Kim *et al.* 2012). Ancak bu çalışmada *Veratrum album* bitkisinin rizomlarında cyclopamine maddesine rastlanmamıştır. Diğer izole edilen steroidal alkaloit tipli maddelerden VA-13 ün kimyasal yapısı **pseudojervin**, VA-14'ün kimyasal yapısı ise **1-hidroksi-5,6 dihidrojervin** olarak karakterize edildi.

Veratrum album rizomlarında muhtemel polar yapılı germin, protoveratridin, protoveratrin A, protoveratrin B, protoveratrin C gibi maddeleri izole etmek üzere rizomlar etanol ile tüketildi ve ekstre kolon kromatografisine tabi tutuldu. Kromatografik çalışmaların sonucunda ekstrenin yüksek oranda tek bir madde içerdiği tespit edildi. Bu madde açık kahverengimsi bir kristal olarak izole edildi ve VA-15 olarak kodlandı. VA-15 maddesinin kimyasal yapısı spektral verilerle yaygın bir

disakkarit olan **sakkaroz** olarak aydınlatıldı. Glukoz ve fruktoz şekerlerinin bileşiminden oluşan sakkaroz çay şekeri olarak bilinmektedir.

L. decemlineata (Colorado potato beetle), ülkemizde “Patates böceği” adıyla bilinen ve patates yapraklarına önemli ölçüde zarar veren bir böcek türüdür. Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya’da 16 milyon km² civarında bir alana yayılmıştır ve yayılmaya devam etmektedir. Böcek patates bitkisinin gelişimini yavaşlatıp üretimin azalmasına neden olmaktadır. Bu özelliğinden dolayı kimyasal mücadeleyi de zorunlu kılmaktadır. *L. decemlineata* tüm dönemlerinde patates yapraklarıyla beslendiği ve patatesteki uzun süre kaldığı için, bu böcek türüne karşı etkili bir kontrol tekniği geliştirilememiştir. (Casagrande 1987; Ünal ve Uğurlu 2000; Alyokhin *et al.* 2008a). Hızlı üreyen, farklı fiziksel koşullarda yaşayabilen ve insektisitlere karşı dayanıklılık geliştiren bir zararlı olup, patates üretiminde önemli bir tehdit olmaya devam etmektedir (Alyokhin *et al.* 2008a). Böcek hem uçuş hem de yürüme yeteneğine sahip olduğu için diğer alanlara kolayca yayılabilmektedir. *L. decemlineata* ülkemizde ilk defa 1963 yılında Edirne’nin Yunanistan ile sınır olan köylerinde görülmüştür. Bu tarihten itibaren *L. decemlineata* ile kimyasal mücadele yöntemleri geliştirilmiş olmasına rağmen böcek yayılmaya devam etmiştir (Ünal ve Uğurlu 2000).

Böceklerle mücadelede sentetik kimyasalların kullanılması durumunda biyolojik parçalanma sürelerinin doğal kimyasallara nazaran uzun olmasından dolayı çevresel sorunlara neden olmaktadır (Isman 2006). Bu nedenle son zamanlarda zararlılarla mücadelede alternatif, doğal insektisitlerin geliştirilmesi konusunda çalışmalar yaygınlaşmıştır (Yılmaz ve Kansu 1987; Bentley *et al.* 1990; Ujvary *et al.* 1991; Gonzalez *et al.* 1997; Murray *et al.* 1999; Scott *et al.* 2003; Gokce *et al.* 2006; Atanasov and Gerasimova 2007). Bitkilerden elde edilen ekstre ve saf maddelerin zararlılara karşı toksik, uzaklaştırıcı, beslenmeyi engelleyici, gelişmeyi ve çoğalmayı engelleyici etkileri olduğu rapor edilmiştir (Singh *et al.* 1989; Shukla *et al.* 1989; Mwangi *et al.* 1992; Shaaya *et al.* 1993; Schmitt 1994; Ndungu *et al.* 1995). *Derris* spp., *Lonchocarpus* spp. ve *Tephrosia* spp. bitkilerinin köklerinden elde edilen “rotenon” bileşiği 1930’lu yıllardan beri *Leptinotarsa decemlineata*’ya karşı ticari bir insektisit olarak

kullanılmaktadır (Duke 1990). Literatürde *L. decemlineata* türüne karşı bazı bitki ekstraları ve doğal metabolitlerin insektisidal etkileri üzerine bazı kayıtlara rastlanmıştır. Örneğin, *Piper nigrum* L. ve *P. tuberculatum* Jacq'ın ekstraları ve bu türlerin içerdiği piperamit türü alkaloidler, *Citrus* türlerinden izole edilen limonoidler ve silphenin türevi maddeler bu türe karşı güçlü insektisidal etki göstermişlerdir (Bentley *et al.* 1988, 1990; Gonzalez *et al.* 1997; Murray *et al.* 1999; Scott *et al.* 2003).

Veratrum türleri ve bu türlerdeki steroidal alkaloidler toksik özellikleri ile bilinen türlerdir. Literatürde *Veratrum* ekstraları ve bazı saf steroidal alkaloidlerinin sivrisinek, ipek böceği, sirke sineğine ve de farklı taksondaki birçok böcek grubuna karşı insektisidal aktivitesinin olduğu çalışmalar rapor edilmiştir (Yılmaz ve Kansu 1987; Sener *et al.* 1998). Yapılan bir araştırmada *V. album* ekstre ve bazı fraksiyonlarının *Pseudococcus longispinus* ve *Pseudococcus affinis* (Homoptera: Pseudococcidae; unlu biti) türlerine karşı oldukça toksik olduğu belirlenmiştir (Atanasov and Gerasimova 2007). Yılmaz ve Kansu (1987) yaptıkları bir çalışmada ise *V. album*'dan elde ettikleri aseton ekstresinin meyve sineği, üzüm sineği, şarap sineği gibi adlarla bilinen *Drosophila melanogaster* türüne karşı güçlü toksik etkisinin olduğunu bulmuşlardır. *Veratrum* türlerinden izole edilen veratradin, cevadin, veracevin, protoveratrin A ve protoveratrin gibi bazı steroidal alkaloid tipli bileşiklerin karasinek (Housefly; *Musca domestica*: Diptera) ve süneye (*Oncopeltus fasciatus*) karşı toksik etkileri araştırılmıştır (Ujvary *et al.* 1991). Bu çalışmada tüm maddeler her iki canlı türüne karşıda oldukça toksik olmasına karşın, protoveratrin A her iki türe karşı da en düşük LD₅₀ değerleri ile (karasinek için LD₅₀=0,10 ve süne için LD₅₀=0,09) en toksik madde olarak belirlenmiştir.

Diğer taraftan yapılan literatür taramasında *Veratrum* türlerine ait ekstre ve saf metabolitlerinin *Leptinotarsa decemlineata*'ya (patates böceği) karşı insektisidal etkilerini belirlemeye yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Mevcut çalışmada patates bitkisine önemli oranda zarar veren *Leptinotarsa decemlineata*'nın erginlerine karşı, *Veratrum album* rizomlarından elde edilen ekstre ve yeterli miktarda izole edilen, saf sekonder metabolitlerinin insektisidal aktiviteleri araştırılmıştır. Bu amaçla, *Veratrum*

album rizomlarının aseton, benzen ve kloroform ekstraları ile *Veratrum album* rizomlarından izole edilen β -sitosterol, resveratrol, oksiresveratrol, β -sitosterol-3-*O*- β -D-glikopiranozit, β -sitosterol ve diosgenin karışımı ile jervinin *L. decemlineata* erginlerine karşı toksik etkileri araştırıldı. Çalışma sonuçları bize test edilen ekstre ve maddelerin çoğunun patates böceğine karşı oldukça toksik olduğunu göstermiştir. Genellikle, ekstre ve saf maddelerin dozu arttıkça toksik etkileri artmıştır. Tüm ekstre ve saf metabolitlerin yüksek dozda (40 mg/ml) böcek ölümlerini artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca ekstre ve saf metabolitlerin zamana bağlı olarak toksik etkisi artmış ve zamanla böcek ölüm yüzdesi de artmıştır. Çizelge 4.3'ten görüleceği üzere, 12. saatteki böcek ölümleri dikkate alındığında en toksik etkinin steroidal alkaloitce zengin olan NH_4OH -benzen ekstresinin olduğu açıkça görülmektedir. Bu ekstre üzerinde yapılan kromatografik çalışmalarda bu ekstrenin majör olarak jervin, minör miktarda da pseudojervin içerdiği belirlenmiştir. Çizelge 4.3'ten görüleceği üzere, jervinin 12. saatteki böcek ölümleri dikkate alındığında benzen ekstresinin toksik etkisi jervine göre oldukça fazla olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar bize böcek çalışmalarında kullanılmak üzere ekstreden yeterli miktarda izole edilemeyen minör maddelerin çok daha toksik özellikte olduğunu göstermektedir. Test edilen saf bileşikler arasında β -sitosterol-3-*O*- β -D-glikopiranozit *Leptinotarsa decemlineata* erginlerine karşı en güçlü toksik etkiyi göstermiştir. Test edilen stilbenoid tipli resveratrol ve oksiresveratrolün toksik etkileri mukayese edildiğinde Çizelge 4.3'ten görüleceği üzere uygulamadan 12 saat sonra böcek ölümleri dikkate alındığında oksiresveratrolün resveratrol'den daha toksik olduğu gözlenmiştir. Hatta oksiresveratrolün toksik etkisi jervinden daha yüksek bulundu.

Sonuç olarak bu çalışma ile literatüre iki önemli katkı yapılmıştır. Bunlar:

1. Ülkemiz florasında yetişen *Veratrum album* bitkisinin rizomlarının kimyasal bileşimi detaylı olarak ortaya konmuş ve bu bitkinin rizomlarının kimyasal bileşiminin jervin, pseudojervin, 1-hidroksi-5,6-dihydrojervin, β -sitosterol, β -sitosterol-3-*O*- β -D-glikopiranozit, resveratrol, oksiresveratrol, oksiresveratrol-3-*O*- β -D-glikopiranozit,

diosgenin, diosgenin-3-*O*- α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glukopiranozit (Dioscin'in prosapogenin A), stearik asit, *n*-oktakosanol ve sakkaroz olduğu tespit edilmiştir.

2. *Veratrum album*'un rizomlarından elde edilen ekstre ve bazı metabolitlerin önemli bir tarım zararlısı *L. decemlineata*'ya (patates böceği) karşı toksik etkileri ilk defa bu çalışmada ortaya konmuştur. Mevcut çalışma ile *Veratrum album*'un rizomlarından elde edilen ekstrelerin özellikle alkaloit bakımından zengin NH₄OH-benzen ekstresinin ve izole edilen maddelerden β -sitosterol-3-*O*- β -D-glikopiranozit, oksiresveratrol ve de nispeten jervinin, *L. decemlineata*'ya (patates böceği) karşı güçlü böcek öldürücü etkisinin olduğu ortaya konmuştur.

Bu sonuçlara dayanarak *V. album* bitkisinin rizomlarından elde edilecek özellikle alkaloit bakımından zengin NH₄OH-benzen ve de aseton ekstrelerinin *Leptinotarsa decemlineata*'ya karşı insektisit olarak kimyasal mücadelede kullanabileceğini söylemek mümkündür. Böylece böcek direnci, çevre kirliliği gibi sentetik kimyasal insektisitlerin olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak mümkün görölmektedir.

KAYNAKLAR

- Adams, R.P., 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass spectrometry, 4th Edition Allured Publishing Corporation, 804 p, Carol Stream, USA.
- Aftab, N., Likhitwitayawuid, K. and Vieira, A., 2010. Comparative antioxidant activities and synergism of resveratrol and oxyresveratrol. *Natural Product Research*, 24(18), 1726-1733.
- Agrawal, P.K., Jain, D.C., Gupta, R.K. and Thakur, R.S., 1985. Carbon-13 NMR spectroscopy of steroidal sapogenins and steroidal saponins. *Phytochemistry* 24(11), 2479-2496.
- Agrawal, P.K., 1989. Carbon-13 NMR of Flavonoids. Elsevier Science Publishers, 564 p, New York, USA.
- Agrawal, P.K., 2005. Determining ring-F configuration in spirostane-type steroidal sapogenins by ¹H-NMR. *Indian Journal of Chemistry* 44B(5), 1092-1094.
- Alyokhin, A., Baker, M., Sanchez D.M., Dively, G. and Grafius E., 2008a. Colorado potato beetle resistance to insecticides. *American Journal of Potato Research*, 85(6), 395-413.
- Alyokhin, A., Sewel, G. and Choban R., 2008b. Reduced viability of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, eggs exposed to novaluron. *Pest Management Science*, 64(1), 94-99.
- Alyokhin, A., 2009. Colorado potato beetle management on potatoes: current challenges and future prospects. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 3(1), 10-19.
- Altaba, A.R.I., Sanchez, M.P. and Damhane, N., 2002. Gli and hedgehog in cancer: Tumours, embryos and stem cell. *Nature Reviews Cancer*, 2(5), 361-372.
- Andrabi, S.A., Spina, M.G., Lorenz, P., Ebmeyer, U., Wolf, G. and Horn, T.F.W., 2004. Oxyresveratrol (trans-2,3',4,5'-tetrahydroxystilbene) is neuroprotective and inhibits the apoptotic cell death in transient cerebral ischemia. *Brain Research*, 1017(1-2), 98-107.
- Anonim, 2006. Birinci Basamağa Yönelik Zehirlenmeler Tanı Ve Tedavi Rehberleri Saha Uygulama Çalışması, T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü, <http://www.zipasilaclama.com/zehirlenmelerahauygulamasi.pdf> (17/02/2012).
- Atanasov, A. and Gerasimova, N., 2007. Determination of the quantity of biologically active substance from *Nicotiana tabacum* L. and *Veratrum album* L. Insecticidally active against species from the *Pseudococcus* genus (Homoptera:Pseudococcidae). *Plant Science*, 44(3), 248-251.
- Awaad, A.S., 2006. Phenolic glycosides of *Juncus acutus* and its anti-enzymatic activity. *Chemistry of Natural Compounds* 42(2), 152-155.
- Baker, E.A., 1982. Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes. *The Plant Cuticle*, Ed: D.F. Cutler, K.L. Alvin and C.E. Price. Academic Press, London, New York, 139-165.
- Ban, J.Y., Jeon, S.Y., Nguyen, T.T., Bae, K., Song, K.S. and Seong, Y.H., 2006. Neuroprotective effect of oxyresveratrol from *Smilacis chinensis* rhizome on

- amyloid Beta protein (25-35)-induced neurotoxicity in cultured rat cortical neurons. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(12), 2419-2424.
- Baskaran, V. and Narayanasamy, P., 1995. *Traditional Pest Control*. Caterpillar Publications, Mariyappa Nagar, Tamil nadu, 90 p, India.
- Basnet, P., Kadota, S., Terashima, S., Shimizu, M. and Namba, T., 1993. Two new 2 arylbenzofuran derivatives from hypoglycemic activity-bearing fractions of *Morus insignis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 41(7), 1238-1243.
- Baytop, T., 1989. *Türkiye'de Zehirli Bitkiler, Bitki Zehirlenmeleri ve Tedavi Yöntemleri*. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No:3560, 290 s, İstanbul.
- Baytop, T., 1999. *Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi: Geçmişte ve Bugün*. Nobel Tıp Kitabevleri Yayınları, 480 s, İstanbul.
- Bentley, M.D., Rajab M.S., Alford A.R., Mendel M.J. and Hassanali, A., 1988. Structure-activity studies of modified *Citrus* limonoids as antifeedants for Colorado potato beetle larvae, *Leptinotarsa decemlineata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 49(3), 189-193.
- Bentley, M.D., Rajab, M.S., Mendel, M.J. and Alford, A.R., 1990. Limonoid Model Insect Antifeedants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(6), 1400-1403.
- Bergmann, E.D., Levinson, Z.H. and Mechoulam, R., 1958. The toxicity of *Veratrum* and *Solanum* alkaloids to housefly larvae. *Journal of Insect Physiology*, 2(3), 162-177.
- Berrondo, L.F., Gabriel, F.T., Fernandes, S.B.D.O., and Menezes, F.D.S. 2003. Dirhamnosyl flavonoid and other constituents from *Brillantaisia palisatii*. *Quimica Nova*, 26(6), 922-923.
- Bondarenko, N.V., 1979. Alkaloids of *Veratrum nigrum* II. *Chemistry of Natural Compounds*, 15(1), 92-93.
- Bondarenko, N.V., 1982. Alkaloids of *Veratrum oxysepalum*. *Chemistry of Natural Compounds*, 18(4), 504-505.
- Bondarenko, N.V., 1984a. Alkaloids of *Veratrum dahuricum*. *Chemistry of Natural Compounds*, 20(6), 762-763.
- Bondarenko, N.V., 1984b. Alkaloids *Veratrum oxysepalum* III. *Chemistry of Natural Compounds*, 20(2), 248-249.
- Bouic, P.J.D., Etsebeth, S., Liebenberg, R.W., Albrecht, C.F., Pegel, K. and Van Jaarsveld, P.P., 1996. Beta-sitosterol and beta-sitosterol glucoside stimulate human peripheral blood lymphocyte proliferation: implications for their use as an immunomodulatory vitamin combination. *International Journal of Immunopharmacology*, 18(12), 693-700.
- Bouic, P.J.D. and Lamprecht, J.H., 1999. Plant sterols and sterolins: a review of their immune-modulating properties. *Alternative Medicine Review*, 4(3), 170-177.
- Bouic, P.J.D., 2002. Sterols and sterolins: new drugs for the immune system? *Drug Discovery Today*, 7(14), 775-778.
- Brown, A.W.A., 1951. *Chemical control of insects feeding on plants*. *Insect control by chemicals*, Ed:John Wiley. Sons Inc., New York, 574-667.
- Bruneton, J., 1999. *Pharmacognosy: Phytochemistry, Medicinal Plants*. Lavoisier Publishing, 545 p, France.
- Cakir, A., Mavi, A., Yildirim, A., Duru, M.E., Harmandar, H. and Kazaz, C., 2003.

- Isolation and characterization of antioxidant phenolic compounds from the aerial parts of *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fractionation. *Journal of Ethnopharmacology*, 87(1), 73-83.
- Cakir, A., Mavi, A., Kazaz, C., Yıldırım, A., Küfrevioğlu, O.İ., 2006. Antioxidant Activities of the Extracts and Components of *Teucrium orientale* L. var. *orientale*. *Turkish Journal of Chemistry* 30(4), 483-494.
- Carvalho, M.G., Velloso, C.R.X., Braz-Filho, R., and Costa, W.F., 2001. Acyl lupeol esters from *Parahancornia amapa* (Apocynaceae). *Journal of Brazilian Chemical Society*, 12(4), 556-559.
- Casagrande, R.A., 1987. The Colorado potato beetle: 125 years of mismanagement. *Bulletin of The Entomological Society of America*, 33(3), 142-150.
- Cetin, H., Yanikoglu, A. and Cilek, J.E., 2011. Larvicidal activity of selected plant hydrodistillate extracts against the house mosquito, *Culex pipiens*, a West Nile virus vector. *Parasitology Research*, 108(4), 943-948.
- Chandrika, B., Schnackenberg, L.K., Raveendran, P. and Wallen, S.L., 2005. High resolution 1H NMR structural studies of sucrose octaacetate in supercritical carbon dioxide. *Chemistry A European Journal* 11(21), 6266-6271.
- Chao, J., Yu M.S., Ho, Y.S., Wang, M. and Chang, R.C., 2008. Dietary oxyresveratrol prevents parkinsonian mimetic 6-hydroxydopamine neurotoxicity. *Free Radical Biology and Medicine*, 45(7), 1019-1026.
- Chen, S. and Snyder, J.K., 1989. Diosgenin-Bearing, Molluscicidal Saponins from *Allium vineale*: An NMR Approach for the Structural Assignment of Oligosaccharide Units. *Journal of Organic Chemistry*, 54(15), 3679-3689.
- Chen, J.K., Taipale, J., Cooper, M.K. and Beachy, P.A., 2002. Inhibition of Hedgehog signaling by direct binding of cyclopamine to Smoothened. *Genes and Development*, 16(21), 2743-2748.
- Chiang, C.T., Way, T.D., Tsai, S.J. and Lin, J.K., 2007. Diosgenin, a naturally occurring steroid, suppresses fatty acid synthase expression in HER2-overexpressing breast cancer cells through modulating Akt, mTOR and JNK phosphorylation. *FEBS Letters*, 581(30), 5735-5742.
- Chuanasa, T., Phromjai, J., Lipipun, V., Likhitwitayawuid, K., Suzuki, M., Pramyothin, P., Hattori, M., Shiraki, K., 2008. Anti-herpes simplex virus (HSV-1) activity of oxyresveratrol derived from Thai medicinal plant: mechanism of action and therapeutic efficacy on cutaneous HSV-1 infection in mice. *Antiviral Research*, 80(1), 62-70.
- Chung, M.I., Teng, C.M., Cheng, K.L., Ko, F.N. and Lin, C.N., 1992. An antiplatelet principle of *Veratrum formosanum*. *Planta Medica*, 58(3), 274-276.
- Cordeiro, E.M.G., Correa, A.S., Venzon, M. and Guedes, R.N.C., 2010. Insecticide survival and behavioral avoidance in the lacewings *Chrysoperla externa* and *Ceraeochrysa cubana*. *Chemosphere*, 81(10), 1352-1357.
- Çakır, A., 2000. *Hypericum hypssopifolium* Chaix subsp. *elongatum* (Ledeb.) Woron var. *elongatum*'un toprak üstü kısımlarının fitokimyasal olarak araştırılması. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Dai, L.M., Tang, J., Li, H.L., Shen, Y.H., Peng, C.Y. and Zhang, W.D., 2009. A new stilbene glycosides from the n-butanol fraction of *Veratrum dahuricum*. *Chemistry of Natural Compounds* 45(3), 325-329.
- Dan, L.G.D., Dan, H.D., Piccinin, G.G., Ricci, T.T. and Ortiz, A.H.T., 2012. Insecticide

- treatment and physiological quality of soybean seeds. *Revista Caatinga*, 25(1), 45-51.
- Deepak, M., Dipankar, G., Prashanth, D., Asha, M.K., Amit, A. and Venkataraman, B.V., 2002. Tribulosin and β -sitosterol-D-glucoside, the anthelmintic principles of *Tribulus terrestris*. *Phytomedicine*, 9, 753-756.
- Delmas, D., Lancon, A., Colin, D., Jannin, B. and Latruffe, N., 2006. Resveratrol as a chemopreventive agent: A promising molecule for fighting cancer. *Current Drug Targets*, 7(4), 423-442.
- Denance, M., Guyot, M. and Samadi, M., 2006. Short synthesis of 16 β -hydroxy-5 α cholestane-3,6-dione a novel cytotoxic marine oxysterol. *Steroids*, 71(7), 599-602.
- Dev, S. and Koul, O., 1997. *Insecticides of Natural Origin*. Harwood Academic Publisher, 365 p, Amsterdam.
- Dias, K.L.G., Correia, N.A., Pereira, K.K.G, Barbosa, J.M., Cavalcante, K.V.M, Araujo, I.G.A, Silva, D.F., Guedes, D.N., Neto, M.A., Bendhack, L.M. and Medeiros, I.A., 2007. Mechanisms involved in the vasodilator effect induced by diosgenin in rat superior mesenteric artery. *European Journal of Pharmacology*, 574(2-3), 172-178.
- di Magliano, M.P. and Hebrok, M., 2003. Hedgehog signalling in cancer formation and maintenance. *Nature Reviews Cancer*, 3(12), 903-911.
- Dinda, B., Banerjee, J. and Guha, S., 1997. Triterpenes from *Ajuga macrosperma* Wall. *Journal of The Indian Chemical Society*, 74(5), 424-424.
- Donald, P.R., Lamprecht, J.H., Freestone, M., Albrecht, C.F., Bouic, P.J.D, Kotze, D. and van Jaarsveld P.P., 1997. A randomised placebo-controlled trial of the efficacy of beta-sitosterol and its glucoside as adjuvants in the treatment of pulmonary tuberculosis. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 1(6), 518-522.
- Duke, O.S., 1990. Natural Pesticides from Plants. *Advances in New Crops* <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/proceedings> (24/03/2012).
- El Sayed, K.A., Mcchesney, J.D., Halim, A.F., Zaghloul, A.M. and Voehler, M., 1995. Two steroidal alkaloids from *Veratrum viride*. *Phytochemistry*, 38(6), 1547-1550.
- Erdik, E., 1998. *Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler*. Gazi Kitabevi Yayınları, 2. Baskı, 531 s, Ankara.
- Erler, F., Polat, E., Demir, H., Cetin, H. and Erdemir, T., 2009. Control of the mushroom phorid fly, *Megaselia halterata* (Wood), with plant extracts. *Pest Management Science*, 65(2), 144-149.
- Espejo, O., Llavot, J.C., Jung, H. and Giral F., 1982. Spirostanic diosgenin precursors from *Dioscorea composita* tubers. *Phytochemistry*, 21(2), 413-416.
- Ferro, D.N., Tuttle, A.F. and Weber, D.C., 1991. Ovipositional and flight behavior of overwintered Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology*, 20(5), 1309-1314.
- Ferro, D.N., 1994. Biological control of the Colorado potato beetle. *Advances in Potato Pest Biology and Management*, Ed:G.W. Zehnder, M.L. Powelson, R.K. Jansson and K.V. Raman. American Phytopathological Society Press, St Paul, MN, USA, 357-375.
- Ferro, D.N., Alyokhin, A.V. and Tobin, D.B., 1999. Reproductive status and flight

- activity of the overwintered Colorado potato beetle. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 91(3), 443–448.
- Fessenden, R.J. and Fessenden, J.S., 2001. *Organic Chemistry*. Cole Publishing Company, 1170 p, California, USA.
- Fetoui, H., Makni, M., Garoui, E.M. and Zeghal, N., 2010. Toxic effects of lambda cyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide, on the rat kidney: Involvement of oxidative stress and protective role of ascorbic acid. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62(6), 593-599.
- Fremont, L., 2000. Minireview-Biological effects of resveratrol. *Life Sciences*, 66(8), 663-673.
- Foldesiova, V., Grancai, D., Suchy, V. and Ubik, K., 1995. Minor alkaloids of *Veratrum lobelianum* Bernh (Liliaceae). *Farmaceuticky Obzor*, 64(7-8), 193-196.
- Gaffield, W., Benson, M., Lundin, R.E. and Keeler, R.F., 1986. C-13 and proton nuclear-magnetic-resonance spectra of *Veratrum* alkaloids. *Journal of Natural Product*, 49(2), 286-292.
- Garcia, J., 2001. Kaolin Particle Film Knocks Out Citrus' Evil Weevil. *Agricultural Research*, 49(3), 18.
- Gauthier, N.L., Hofmaster R.N., and Semel, M., 1981. History of Colorado Potato Beetle Control. In *Advances in Potato Pest Management*, Ed:J.H. Lashomb and R. Casagrande. Hutchinson Ross Publishing Co, Stroudsburg PA, 13-33.
- Gfeller, H., Schlunegger, U.P., Schaffner, U., Boeve, J.L. and Ujvary, I., 2005. Analysis of the chemical defense system in an insect larva by tandem mass-spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 30(9), 1291-1295.
- Gilani, A.H., Aftab, K., Saeed, S.A., Ali, R.A. and Rahman, A.U., 1995. O-acetyljervine a new beta adrenoceptor agonist from *Veratrum album*. *Archives of Pharmacal Research*, 18(2), 129-132.
- Girard, J.E., 2005. *Principles of Environmental Chemistry*. Jones and Bartlett Publishers, Inc, 677 p, USA.
- Gonzalez-Coloma, A., Reina, M., Cabrera, R., Castanera, P. and Gutierrez, C., 1995. Antifeedant and toxic effects of sesquiterpenes from *Senecio palmensis* to Colorado potato beetle. *Journal of Chemical Ecology*, 21(9), 1255-1270.
- Gonzalez, B.L., Magraner, H.J., Acosta, G.P.C. and Perez, S.N., 1996. Analytical procedure for the determination of 1-octacosanol in plasma by solvent extraction and capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 682(2), 359-363.
- Gonzalez, A.G., Jimenez, I.A., Ravelo, A.G., Coll, J., Gonzalez, J.A. and Lloria, J., 1997. Antifeedant activity of sesquiterpenes from *Celastraceae*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 25(6), 513-519.
- Gokce, A., Isaacs, R. and Whalon, M.E., 2006. Behavioural response of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) larvae to selected plant extracts. *Pest Management Science*, 62(11), 1052-1057.
- Grancai, D., Suchy, V., Tomko, J., Dolejs, I., 1986. *Veratrum alkaolids*. 33. Rhamnoveracintine a new glycoalkaloid from *Veratrum-album* ssp. *lobelianum* (Bernh) suessenguth. *Chemical Papers*, 40(6), 835-838.
- Growdon, W.B., Curley, M., Friel, A., Ferguson, J., Mandley, E., Foster, R., MacDougal, J. and Rueda, B., 2009. Hedgehog pathway inhibitor cyclopamine suppresses GLI1 expression and inhibits seruos ovarian cancer xenograft

- growth. *Gynecologic Oncology*, 112(2), S10-S10.
- Guiso, M., Marra, C. and Farina, A., 2002. A new efficient resveratrol synthesis. *Tetrahedron Letters*, 43(4), 597-598.
- Güvenalp, Z., 1999. *Centranthus longiflorus* stev. subsp. *longiflorus* bitkisi üzerine fitokimyasal araştırmalar. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Gündüz, T., 1998. Çevre Sorunları. Gazi Kitabevi Yayınları, 201 s, Ankara.
- Hakim, E.H., Syah, Y.M., Juliawati, L.D. and Mujahidin, D.D., 2008. Aktifitas Antioksidan dan Inhibitor Tirozinase Beberapa Stilbenoid dari Tumbuhan Moraceae dan Dipterocarpaceae yang Potensial untuk Bahan Kosmetik. *Jurnal Matematika Dan Sains*, 13(2), 33-42.
- Han, X.W. and Ruegger, H., 1992. Epimeric (20R,20S)-Verazine isolated from *Veratrum maackii*: Two-Dimensional NMR Studies And Total Assignment of ^1H and ^{13}C - resonances. *Planta Medica*, 58(5), 449-453.
- Han, X.W., Yu, H., Liu, X.M., Bao, X., Yu, B., Li, C., Hui, Y.Z., 1999. Complete ^1H and ^{13}C -NMR assignments of diosgenyl saponins. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 37(2), 140-144.
- Hanawa S., Tahara, S. and Mizutani, J., 1992. Antifungal stress compounds from *Veratrum grandiflorum* leaves treated with cupric chloride. *Phytochemistry*, 31(9), 3005-3007.
- Hardman, J.M., Smith, R.F. and Bent, E., 1995. Effects of different integrated pest management programs on biological control of mites on apple by predatory mites (Acari) in Nova Scotia. *Environmental Entomology*, 24(1), 125-142.
- Harvey, J.H., 1976. Turkey as a Source of Garden Plants. *The Garden History Society*, 4(3), 21-42.
- Heretsch, P., Tzagkaroulaki, L. and Giannis, A., 2010. Cycloamine and Hedgehog Signaling: Chemistry, Biology, Medical Perspectives. *Angewandte Chemie International Edition*, 49(20), 3418-3427.
- Hitchner, L.S., 1952. The Insecticide Industry. *Yearbook of Agriculture*, 1952, 450-454.
- Hollman, A., 2003. Plants and the Heart The *Veratrum* alkaloids, eclampsia of pregnancy, and hypertension. *Dialogues in Cardiovascular Medicine*, 8(4), 229-233.
- Hou, S.J., Zou, C.C., Zhou, L., Lei, P.S. and Yu, D.Q., 2006. Synthesis of three natural diosgenyl glycosides. *Journal of Asian Natural Products Research*, 8(8), 689-696.
- Hoyer, G.A., Sucrow, W. and Winkler, D., 1975. Diosgenin saponin from *Dioscorea floribunda*. *Phytochemistry*, 14(2), 539-542.
- Huang, H.Q., Li, H.L., Tang, J., Lv, Y.F. and Zhang, W.D., 2008. A new aurone and other phenolic constituents from *Veratrum schindleri* Loes. f. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36(7), 590-592.
- Hummelbrunner, L.A. and Isman, M.B., 2001. Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., *Noctuidae*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2), 715-720.
- Hunter, J.E., Zhang, J. and Kris-Etherton, P.M., 2010. Cardiovascular disease risk of dietary stearic acid compared with trans, other saturated, and unsaturated fatty acids: a systematic review. *American Journal of Clinical Nutrition* (American

- Society for Nutrition), 91(1), 46–63.
- Indrayanto, G., Zumaroh, S., Syahrani, A. and Wilkins, A.L., 2001. C-27 and C-3 glucosylation of diosgenin by cell suspension cultures of *Costus speciosus*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 3(2), 161-168.
- Irmak, S. and Dunfort, N.T., 2005. Policosanol contents and compositions of wheat varieties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53(14), 5583-5586.
- Irsch, E.M., Pachaly, P., Breitmaier, E. and Sin, K.S., 1993. Alkaloids from *Veratrum patulum*. 1. Isolation and structure elucidation of new steroid alkaloid glycosides. *Liebigs Annalen Der Chemie*, 3, 281-285.
- Isman M.B., 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19(8-10), 603-608.
- Isman, M., 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, 51, 45-66.
- Ivanova A., Serly J., Christo V., Stamboliyska B., Molnar J, 2011. Alkaloids derived from genus *Veratrum* and *Peganum* of Mongolia origin as multidrug resistance inhibitors of cancer cells. *Fitoterapia*, 82(4), 570-575.
- Ivorra, M.D., D'Ocon, M.P., Paya, M. and Villar, A., 1988. Antihyperglycemic and insulin-releasing effects of beta-sitosterol 3-beta-D-glucoside and its aglycone, beta-sitosterol. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*, 296, 224-231.
- Jacobson, M., 1958. From plants a review of the literature, 1941-1953. United States Department of Agriculture, Agriculture Handbook No. 154, 306 p, Washington.
- Jacobson, M., 1983. Insecticides, insect repellants, and attractants from arid/semiarid-land plants. *Plants: The Potentials of Extracting Protein, Medicines and Other Useful Chemicals-Workshop Proceedings*, Congress Office of Technology Assessment, Washington DC.
- Jacques, R.L., 1988. The potato beetles: The genus *Leptinotarsa* in North America (Coleoptera Chrysomelidae). Brill Academic Publishers, 144 p, Leiden.
- Jaeger, C.H. and Monson, R.K., 1992. Adaptive significance of nitrogen storage in *Bistorta bistortoides*, an alpine herb. *Oecologia*, 92(4), 578–585.
- James, L.F., 1999. Teratological research at the USDA-ARS Poisonous Plant Research Laboratory. *Journal of Natural Toxins*, 8(1), 63-80.
- Jia, Z.J., Li, W.K., Li, Y., Yang, L.M. and Zhu, Z.Q., 1983. Study on alkaloids of *Veratrum lobelianum* Bernh. I. *Lanzhou Daxue Xuebao*, 19, 203.
- Jimeno, A., Feldmann, G., Suarez-Gauthier, A., Rasheed, Z., Solomon, A., Zou, G.M., Rubio-Viqueira B., Garcia-Garcia, E., Lopez-Rios, F., Matsui, W., Maitra, A. and Hidalgo, M., 2009. A direct pancreatic cancer xenograft model as a platform for cancer stem cell therapeutic development. *Molecular Cancer Therapeutics*, 8(2), 310-314.
- Jin, M.H., Kim, H.J., Kang, S.J., Kang, S.H., Kim, C.H. and Jung, M.H., Three melanogenesis inhibitors from the roots of *Veratrum nigrum* 2002. *Saengyak Hakhoechi*, 33(4), 399-403.
- Ju, Y.H., Clausen, L.M., Allred, K.F., Almada, A.L. and Helferich, W.G., 2004. β -sitosterol, β -sitosterol glucoside, and a mixture of β -sitosterol and β -sitosterol glucoside modulate the growth of estrogen-responsive breast cancer cells in vitro and in ovariectomized athymic mice. *Journal of Nutrition*, 134(5), 1145-1151.

- Jung, M.H., Kim, H.S., Ahn, S., Kim, C.T., Jin, M.H., Yim, Y.H., Kim, Y.K., Ok, J.H., 2000. Complete Assignment of the ^1H and ^{13}C NMR Spectra of a Sucrose Ester from *Euphorbia lathyris* L. Journal of the Korean Magnetic Resonance Society, 4, 125-132.
- Kadota, S., Chen, S.Z., Li, J.X., Xu, G.J. and Namba, T., 1995. A steroidal alkaloid from *Veratrum oblongum*. Phytochemistry, 38(3), 777-781.
- Kai, M., Onishi, H., Souzaki, M., Tanaka, H., Kubo, M., Tanaka, M. and Katano, M., 2011. Semi-quantitative evaluation of CD44+/CD24-tumor cell distribution in breast cancer tissue using a newly developed fluorescence immunohistochemical staining method. Cancer Science, 102(12), 2132-2138.
- Kamboj, A. and Saluja, A.K., 2011. Isolation of stigmasterol and β -sitosterol from petroleum ether extract of aerial parts of *Ageratum conyzoides* (asteraceae). International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 3(1), 94-96.
- Kanchanapoom, T., Suga, K., Kasai, R., Yamasaki, K., Kamel, M.S. and Mohamed, M.H., 2002. Stilbene and 2-arylbenzofuran glucosides from the rhizomes of *Schoenocaulon officinale*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 50(6), 863-865.
- Kaneko, K., Katsuhara, T., Mitsuhashi, H., Chen, Y.P., Hsu, H.Y. and Shiro, M., 1985. Isolation and structure elucidation of new alkaloids from *Fritillaria delavayi* Franch. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 33(6), 2614-2617.
- Keeler, R.F. and Binns, W., 1966. Teratogenic compounds of *Veratrum californicum* (Durand). I. Preparation and characterization of fractions and alkaloids for biologic testing. Canadian Journal of Biochemistry, 44(6), 819-828.
- Keeler, R.F., 1969. Teratogenic compounds of *Veratrum californicum* (durand) - VI: The structure of cyclopamine. Phytochemistry, 8(1), 223-225.
- Klein, R.A. and Dunkel, F.V., 2003. New Pest Management Frontiers: Linking Plant Medicine to Traditional Knowledge. American Entomologist, 49(1), 7-17.
- Kleijn, D., Treier, U.A. and Muller, S.H., 2005. The importance of nitrogen and carbohydrate storage for plant growth of the alpine herb *Veratrum album*. New Phytologist, 162(2), 565-575.
- Kim, Y.J., Bin Park, S., Park, J.Y., Park, S.W., Chung, J.B., Song, S.Y. and Bang, S., 2012. The sonic hedgehog pathway as a treatment target for extrahepatic biliary tract cancer. Molecular Medicine Reports, 5(1), 12-16.
- Kimura, Y. and Okuda, H., 2001. Resveratrol Isolated from *Polygonum cuspidatum* Root Prevents Tumor Growth and Metastasis to Lung and Tumor-Induced Neovascularization in Lewis Lung Carcinoma-Bearing Mice. Journal of Nutrition, 131(6), 1844-1849.
- Kitajima, J., Noda, N., Ida, Y., Miyahara, K. and Kawasaki, T., 1981. Steroid alkaloids of fresh bulbs of *Fritillaria thunbergii* miq and of crude drug bai-mo prepared therefrom. Heterocycles, 15(2), 791-796.
- Kong, J.M., Goh, N.K., Chia, L.S. and Chia, T.F., 2003. Recent advances in traditional plant drugs and orchids. Acta Pharmacology Sinica, 24(1), 7-21.
- Kordali, S., Kesdek, M. and Cakir, A., 2007. Toxicity of monoterpenes against larvae and adults of colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae). Industrial Crops and Products, 26(3), 278-297.
- Kovganko, N.V., Kashkan Z.N. and Borisov, E.V., 2000. ^{13}C -NMR Spectra of Functionally Substituted 3β -Chloroderivatives of Cholesterol and β -Sitosterol.

- Chemistry of Natural Compounds, 36(6), 595-598.
- Kupchan, S.M. and Gruenfeld, N., 1959. *Veratrum* alkaloids XXXV. The hypotensive principles of cryptenamine a *Veratrum viride* alkaloid preparation. Journal of the American Pharmaceutical Association, 48(12), 727-730.
- Lapointe, S.L., 2000. Particle film deters oviposition by *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Economic Entomology, 93(5), 1459-1463.
- Latruffe, N., Delmas, D., Jannin, B., Malki, M.C., Passilly-Degrace, P. and Berlot, J.P., 2002. Molecular analysis on the chemopreventive properties of resveratrol, a plant polyphenol microcomponent. International Journal of Molecular Medicine, 10(6), 755-760.
- Lee, J., Wu, X., di Magliano, M.P., Peters, E.C., Wang, Y., Hong, J., Hebrok, M., Din, S., Cho, C.Y. and Schultz, P.G., 2007. A small-molecule antagonist of the hedgehog signaling pathway. Chembiochem, 8(16), 1916-1919.
- Lefevre, K.S. and De Kort, C.A.D., 1989. Adult diapause in the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*: effects of external factors on maintenance, termination and post-diapause development. Physiological Entomology, 14(3), 299-308.
- Li, H.J., Jiang, Y. and Li, P., 2006. Chemistry, bioactivity and geographical diversity of steroidal alkaloids from the *Liliaceae* family. Natural Product Reports, 23(5), 735-752.
- Li, M. and Yu, B., 2006. Facile conversion of spirostan saponin into furostan saponin: synthesis of methyl protodioscin and its 26-thio-analogue. Organic Letters, 8(13), 2679-2682.
- Li, H.L., Tang, J., Liu, R.H., Lin, M., Wang, B., Lv, Y.F., Huang, H.Q., Zhang, C. and Zhang, W.D., 2007. Characterization and identification of steroidal alkaloids in the Chinese herb *Veratrum nigrum* L. by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization with multi-stage mass spectrometry. Rapid Communications In Mass Spectrometry, 21(6), 869-879.
- Li, H.Y., Xu, W., Li, H.L., Zhang, W.D. and Hu, L.W., 2009. LC-MS-MS method for the determination of protoveratrine A in rat plasma. Chromatographia, 69(5-6), 523-529.
- Liang, G.Y. and Sun, N.J., 1984a. Chemical studies on active principles of *Veratrum stenophyllum*. II. Studies on the structure of a new blood pressure lowering agents--stenophylline A. Acta Pharmaceutica Sinica, 19(3), 190-194.
- Liang, G.Y. and Sun, N.J., 1984b. Chemical studies on active principles of *Veratrum stenophyllum*. I. Structure of stenophylline B and identification of other components. Acta Pharmaceutica Sinica, 19(2), 131-136
- Lipinski, R.J., Dengler, E., Kiehn, M., Peterson, R.E. and Bushman, W., 2007. Identification and characterization of several dietary alkaloids as weak inhibitors of hedgehog signaling. Toxicological Sciences, 100(2), 456-463.
- Lipinski, R.J., Hutson, P.R., Hannam, P.W., Nydza, R.J., Washington, I.M., Moore, R.W., Girdaukas, G.G., Peterson, R.E. and Bushman, W., 2008. Dose-route dependent teratogenicity, toxicity, and pharmacokinetic profiles of the hedgehog signaling antagonist cyclopamine in the mouse. Toxicological Sciences, 104(1), 189-197.
- Lipson, D.A., Schmidt, S.K. and Monson R.K., 1999. Links between microbial

- population dynamics and nitrogen availability in an alpine ecosystem. *Ecology*, 80(5), 1623-1631.
- Lorenz, P., Roychowdhury, S., Engelmann, M., Wolf, G. and Horn, T.F.V., 2003. Oxyresveratrol and resveratrol are potent antioxidants and free radical scavengers: effect on nitrosative and oxidative stress derived from microglial cells. *Nitric Oxide Biology and Chemistry*, 9(2), 64-76.
- Lucena, F.R.S., Almeida, E.R., Aguiar, J.S., Silva, T.G., Souza, V.M.O. and Nascimento, S.C., 2010. Cytotoxic, antitumor and leukocyte migration activities of resveratrol and sitosterol present in the hidroalcoholic extract of *Cissus sicyoides* L., *Vitaceae*, leaves. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 20(5), 729-733.
- Maridass, M. and Ramesh, U., 2010. Investigation of phytochemical constituents from *Eulophia epidendreae*. *International Journal of Biological Technology*, 1(1), 1-7.
- Marker, R.E. and Krueger, J., 1940. Sterols. CXII. Sapogenins. XLI. The Preparation of Trillin and its Conversion to Progesterone. *Journal of the American Chemical Society*, 62(12), 3349-3350.
- Mattivi, F., Reniero, F. and Korhammer, S., 1995. Isolation, Characterization, and Evolution in Red Wine Vinification of Resveratrol Monomers. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 43(7), 1820-1823.
- McFerrer, M.A., 2006. Useful plants of dermatology. VIII. The false hellebore (*Veratrum californicum*). *Journal of the American Academy of Dermatology*, 54(4), 718-720.
- McMahon, A.P., Ingham, P.W., and Tabin, C., 2003. Developmental roles and clinical significance of hedgehog signaling. *Current Topics in Developmental Biology*, 53, 1-114.
- Mendel, M.J., Alford, A.R., Rajab, M.S. and Bentley, M.D., 1991. Antifeedant effects of *Citrus* limonoids differing in a-ring structure on Colorado potato beetle (Coleoptera, Chrysomelidae) larvae. *Journal of Economic Entomology*, 84(4), 1158-1162.
- Min, Z.D., Tan, R.X., Zheng, Q.T. and He, C.H., 1988. The structure and absolute configuration of vertaline B isolated from *Veratrum taliense* Lose. f. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 23(8), 584-587.
- Mizuno, M. Tan, R.X., Zhen, P., Min, Z.D., Inuma, M. and Tanaka, T., 1990. 2. Steroidal alkaloid glycosides from *Veratrum taliense*. *Phytochemistry*, 29(1), 359-361.
- Moreau, T., Hoyle, J. and Warman, P., 2006. Alternative pest controls for the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* on potatoes. *Canadian Journal of Plant Science*, 86(3), 756-756.
- Mori, M., 1982. *n*-Hexacosanol and *n*-octacosanol: Feeding stimulants for larvae of the silkworm, *Bombyx mori*. *Journal of Insect Physiology*, 28(11), 969-973.
- Murray, K.D., Hasegawa, S. and Alford, A.R., 1999. Antifeedant activity of *Citrus* limonoids against Colorado potato beetle: comparison of aglycones and glucosides. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 92(3), 331-334.
- Mwangi, J. W., Addae-Mensah, I., Muriuki, G., Munavu, R., Lwande, W. and Hassanali, A., 1992. Essential oils of *Lippia* Species in Kenya IV: Maize Weevil (*Sitophilus zeamais*) Repellency and Larvicidal Activity. *International Journal of*

- Pharmacognosy, 30(1), 9-16.
- Nakamura, Y., Yoshikawa, N., Hiroki, I., Sato, K., Ohtsuki, K., Chang, C.C, Upham, B.L., Trosko, J.E., 2005. β -Sitosterol from *Psyllium* seed husk (*Plantago ovata* Forsk) restores gap junctional intercellular communication in Ha-ras transfected rat liver cells. *Nutrition and Cancer*, 51(2), 218-225.
- Nakhatov, I., Shakirov, R., Taskhanova, E.M. and Yunusov, S.Y., 1980. Alkaloids of *Veratrum dahuricum*. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, 1, 131-132.
- Nakhatov, I., Shakirov, R., and Yunusov, S.Y., 1983. Alkaloids of *Veratrum lobelianum*. IX. 15-[(1)-2-methylbutyryl]germine. *Chemistry of Natural Compounds*, 19(1), 120-121.
- Nakhatov, I., Shakirov, R., and Yunusov, S.Y., 1984. Alkaloids of *Veratrum lobelianum*. X. Structure of verdine. *Chemistry of Natural Compounds*, 20(3), 375-376.
- Ndungu, M., Lwande, W., Hassanali, A., Moreka, I. and Chabra, S.C., 1995. *Cleome monophylla* Essential Oil and its Constituents as Tick (*Rhipicephalus appendiculatus*) and Maize Weevil (*Sitophilus zeamais*) Repellents. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 76(3), 217-222.
- Neubauer, H., Meiler, J., Peti, W. and Griesinger, C., 2001. NMR Structure Determination of Saccharose and Raffinose by Means of Homo- and Heteronuclear Dipolar Couplings. *Helvetica Chimica Acta*, 84(1), 243-258.
- Oatis, J.E., Brunfeld, P., Rushing, J.W., Moeller, P.D., Bearden, D.W., Gaillen, T.N. and Cooper, G., 2008. Isolation, purification, and full NMR assignments of cyclopamine from *Veratrum californicum*. *Chemistry Central Journal*, 2(12), 12-18.
- Oleszek, W., Sitek, M., Stochmal, A., Piacente, S., Pizza, C. and Cheeke, P., 2001. Resveratrol and Other Phenolics from the Bark of *Yucca schidigera* Roetzl. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49(2), 747-752.
- Otsuka, H., Kuwabara, H. and Hoshiyama, H., 2008. Identification of Sucrose Diesters of Aryldihydronaphthalene-Type Lignans from *Trigonotis peduncularis* and the Nature of Their Fluorescence. *Journal of Natural Products*, 71, 1178-1181.
- Öztürk, M., 2008. *Micromeria cilicica* ve *M. juliana* türlerinde antioksidan bileşiklerin HPLC ile analizi ve yapılarının aydınlatılması. Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Pandey, D., Singh, J., Roy, R., Singh, V.B., and Pandey, V.P., 1996. Constituents of *Heliotropium indicum*. *Oriental Journal of Chemistry*, 12 (3), 321-322.
- Patra, A., Jha, S., Murthy, P.N., Manik, Sharone, A., 2010. Isolation and characterization of stigmast-5-en-3 β -ol (β -sitosterol) from the leaves of *Hygrophila spinosa* T. Anders. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 1(2), 95-100.
- Pavela, R., 2010. Antifeedant activity of plant extracts on *Leptinotarsa decemlineata* Say. and *Spodoptera littoralis* Bois. larvae. *Industrial Crops And Products*, 32(3), 213-219.
- Pavela, R., Sajfrtova, M., Sovova, H., Barnet, M. and Karban, J., 2010. The insecticidal activity of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. extracts obtained by supercritical fluid extraction and hydrodistillation. *Industrial Crops and Products*, 31(3), 449-454.
- Perry, A.S., 1998. Insecticides in agriculture and environment: retrospects and

- prospects. Springer-Verlag, 261 p, Berlin.
- Pires, V.S., Taketa, A.T.C., Gosmann, G. and Schenkel, E.P., 2002. Saponins and Sapogenins from *Brachiaria decumbens* Stapf. Journal of the Brazilian Chemical Society, 13(2), 135-139.
- Pollard, A., Chibnall, A.C. and Piper, S.H., 1933. The isolation of n-octacosanol from wheat wax. Biochem Journal, 27(6), 1889–1893.
- Quan, X., Piao, H., Sun, X. and Wang, L., 2003. Studies on the chemical constituents of *Veratrum dahuricum*. Chinese Pharmaceutical Journal, 38(12), 914-916.
- Quilez, A.M., Saenz, M.T., Garcia, M.D. and de la Puerta, R. 2004. Phytochemical analysis and anti-allergic study of *Agave intermixta* Trel. and *Cissus sicyoides* L. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 56(9), 1185-1189.
- Quinton, R.J., 1955. DDT-resistant Colorado potato beetles? Proceedings of the North-Central Branch of the Entomological Society of America, 9, 94-95.
- Rahman, A.U., Rahat, A.A., Parveen, T., Choudhary, M.I., Şener, B., Turkoz, S., 1991. Alkaloids from *Veratrum album*. Phytochemistry, 30(1), 368-370.
- Rahman, A.U., Rahat, A.A., Choudhary, M.I., Sener, B. and Turkoz, S., 1992. New Steroidal Alkaloids from Rhizomes of *Veratrum album*. Journal of Natural Products, 55(5), 565-570.
- Rahman, A.U., Rahat, A.A., Gilani, A.H., Choudhary, M.I., Aftab, K., Sener, B. and Turkoz, S., 1993. Isolation of Antihypertensive Alkaloids from the rhizomes of *Veratrum album*. Planta Medica, 59(6), 569-571.
- Rahman, A.U., Rahat, A.A., Ashraf, M., Choudhary, M.I., Sener, B. and Turkoz, S., 1996. Steroidal alkaloids from *Veratrum album*. Phytochemistry, 43(4), 907-911.
- Rahman, S.M.M., Mukta, Z.A. and Hossain, M.A., 2009. Isolation and characterization of β -sitosterol-D-glycoside from petroleum extract of the leaves of *Ocimum sanctum* L. Asian Journal of Food and Agro-Industry, 2(01), 39-43.
- Raju, J. and Bird, R.P., 2007. Diosgenin, a naturally occurring furostanol saponin suppresses 3-hydroxyl-3-methylglutaryl CoA reductase expression and induces apoptosis in HCT-116 human colon carcinoma cells. Cancer Letters, 255(2), 194-204.
- Rogers, B.J., Dieffenbacher, A. and Holm, J.V., 2001. Lexicon of lipid nutrition (IUPAC Technical Report). Pure and Applied Chemistry, 73(4), 685–744.
- Russo, A., Palumbo, M., Aliano, C., Lempereur, L., Scoto, G. and Renis, M., 2003. Red wine micronutrients as protective agents in Alzheimer-like induced insult. Life Sciences., 72(21), 2369-2379.
- Sanchez, P., Clement, V. and Altaba, A.R.I., 2005. Therapeutic targeting of the Hedgehog-GLI pathway in prostate cancer. Cancer Research, 65(8), 2990-2992.
- Sakar, M.K. ve Tanker, M., 1991. Fitokimyasal Analizler Tanım, miktar tayini ve izolasyon. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 224 s, Ankara.
- Sasivimolphan, P., Lipipun, V., Likhitwitayawuid, K., Takemoto, M., Pramyothin, P., Hattori, M. and Shiraki, K., 2009. Inhibitory activity of oxyresveratrol on wild-type and drug-resistant varicella-zoster virus replication in vitro. Antiviral Research, 84(1), 95-97.
- Satıl, F. ve Akan H., 2006. *Liliaceae* familyasından bazı endemik ve nadir geofitler üzerinde anatomik araştırmalar. Ekoloji, 15 (58), 21-27.
- Saxena, V.K. and Shalem, A., 2004. Yamogenin 3-O- β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 4)-O-

- α -D-xylopyranoside from the seeds of *Trigonella foenum-graecum*. Journal of Chemical Sciences, 116(2), 79-82.
- Schaffner, U., Nentwig, W. and Braendle, R., 1995. Effect of mowing, rust infection and seed production on C and N reserves and morphology of the perennial *Veratrum album* (Liliales, Melanthiaceae). Botanica Helvetica, 105(1), 17-23.
- Schmitt, A., 1994. Plant Extracts as Pest and Disease Control Agents. Proceedings of the International Meeting, Trento.
- Scott, I.M., Jensen, H., Scott, J.G., Isman, M.B., Arnason, J.T. and Philogene, B.J.R., 2003. Botanical insecticides for controlling agricultural pests: Piperamides and the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* say (Coleoptera: Chrysomelidae). Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 54(4), 212-225.
- Sener B. and Rahman A.U., 1996. New bioactive organic compounds from Turkish medicinal plants. Journal of The Royal Netherlands Chemical Society, 115(1), 103-107.
- Sener, B., Bingol, F., Erdogan, I., Bowers, W.S. and Evans, P.H., 1998. Biological activities of some Turkish medicinal plants. Pure and Applied Chemistry, 70(2), 403-406.
- Shaaya, E., Ravid, U., Paster, N., Kostjukovsky, M., Menasherov, M. and Plotkin, S., 1993. Essential oils and their Components as Active Fumigants against Several Species of Stored Product Insects and Fungi. ISHS Acta Horticulturae 344 International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants, Ed: D. Palevitch, and E. Putievski. Tiberias on the Sea of Galilee, Israel, 131-137.
- Shakirov, R., Kulkova, V.V. and Nakhatov, I., 1995. Alkaloids of *Veratrum lobelianum* verdinine and 3,15-DI-O-(2-methylbutyroyl) germinine. Chemistry of Natural Compounds, 31(1), 79-82.
- Shakirov, R., 1997. New C-nor,D-homosteroid alkaloid germinine from *Veratrum lobelianum*. Chemistry of Natural Compounds, 33(4), 479-480.
- Shakirov, R. and Yunusov, S.Y., 1983. The Alkaloids of *Veratrum-lobelianum* .8. The structure of germinaline. Chemistry of Natural Compounds, 19(1), 118-119.
- Shigemura, K., Huang, W.C., Li, X.Y., Zhau, H.E., Zhu, G.D., Gotoh, A., Fujisawa, M. Xie, J.W., Marshall, F.F. and Chung, L.W.K., 2011. Active Sonic Hedgehog Signaling Between Androgen Independent Human Prostate Cancer Cells and Normal/Benign but Not Cancer-Associated Prostate Stromal Cells. Prostate, 71(16), 1711-1722.
- Shukla, H.S., Upadhyay, P.D. and Tripathi, S.C., 1989. Insect Repellent Property of Essential Oils of *Foeniculum vulgare*, *Pimpinella anisum* and Anethole. Pesticides, 23(1), 33-35.
- Singh, D., Siddiqui, M.S. and Sharma, S., 1989. Reproduction Retardant and Fumigant Properties in Essential Oils against Rice Weevil(Col:Curculionidae) in Stored Wheat. Journal of Economic Entomology, 82(3), 727-733.
- Singh, R.N. and Saratchandra, B., 2005. The Development of Botanical Products with Special Reference to Seri-Ecosystem. Caspian Journal of Environmental Sciences, 3(1), 1-8.
- Singh, S.B. and Thakur, R.S., 1982. Saponins from the seeds of *Costus speciosus*. Journal of Natural Products, 45(6), 667-671.
- Skoog, D.A., Holler, F.J. and Nieman, T.A., 1998. Enstrümantal Analiz. Harcourt Brace

- and Company, 849 p, United States of America.
- Snider S.R., 1984. Octacosanol in Parkinsonism. *Annals of Neurology*, 16(6), 723.
- Socolsky, C., Salvatore, A., Asakawa, Y. and Bardon, A., 2003. Bioactive new bitter-tasting p-hydroxystyrene glycoside and other constituents from the fern *Elaphoglossum spathulatum*. *Arkivoc*, 10, 347-355.
- Son, I.S., Kim, J.H., Sohn, H.Y., Son, K.H., Kim, J.S. and Kwon, C.S., 2007. Antioxidative and hypolipidemic effects of diosgenin, a steroidal saponin of yam (*Dioscorea* spp.), on high-cholesterol fed rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 71(12), 3063-3071.
- Sreenivasulu, B., and Sarma, P.N. 1999. Chemical examination of the whole plants of *Tephrosia strigosa*. *Indian Journal of Chemistry Sec B*, 30(19), 1217-1218.
- Suladze, T.S. and Vachnadze, V.Y., 2002. Alkaloids of *Veratrum lobelianum* growing in Georgia. *Chemistry of Natural Compounds*, 38(5), 470-470.
- Sultana, R., 1993. Isolation and structure elucidation of chemical constituents of the biologically active fraction of *Veratrum* species. Doctora Thesis, Hej Research Institiue of Chemistry, University of Karachi.
- Surh, Y.J., 1999. Molecular mechanisms of chemopreventive effects of selected dietary and medicinal phenolic substances. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanismis of Mutagenesis*, 428(1-2), 305-327.
- Takasugi, M., Nagao, S., Munoz, L., Ishikawa, S., Masamune, T., Shirata, A. And Takahashi, K., 1979. The structure of phytoalexins produced in diseased mulberry. 22nd Symposium on the Chemistry of Natural Products, Fukuoka, Japan.
- Tal, B., Tamir, I., Rokem, J.S. and Goldberg, I., 1984. Isolation and characterization of an intermediate steroid metabolite in diosgenin biosynthesis in suspension cultures of *Dioscorea deltoidea* cells. *Biochemical Journal*, 219(2), 619-624.
- Tanaka, N., Suto, S. and Kobayashi, J., 2011. Veramadines A and B, new steroidal alkaloids from *Veratrum maackii* var. japonicum. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 59(7), 909-912.
- Tan, Y.X., Yang, Y., Zhang, T., Chen, R.Y. and Yu, D.Q., 2010. Bioactive 2-arylbenzofuran derivatives from *Morus wittiorum*. *Fitoterapia*, 81 (7), 742-746.
- Tang, J., Li, H.L., Li, Y.L. and Zhang, W.D., 2007. Flavonoids from rhizomes of *Veratrum dahuricum*. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(6), 696-697.
- Tang, J., Li, H.L., Shen, Y.H., Jin, H.Z., Yan, S.K., Liu, R.H. and Zhang, W.D., 2008. Antitumor activity of extracts and compounds from the rhizomes of *Veratrum dahuricum*. *Phytotherapy Research*, 22(8), 1093-1096.
- Tang, J.A., Li, H.L., Shen, Y.H., Jin, H.Z., Yan, S.K., Liu, X.H., Zeng, H.W., Liu, R.H., Tan, Y.X. and Zhang, W.D., 2010. Antitumor and Antiplatelet Activity of Alkaloids from *Veratrum dahuricum*. *Phytotherapy Research*, 24(6), 821-826.
- Tanker, M. ve Tanker, N., 1990, *Farmakognozi*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 546 s, Ankara.
- Tanker, N., Koyuncu, M. and Coşkun, M., 1998. *Farmasötik Botanik*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 418 s, Ankara.
- Taskhanova, E.M. and Shakirov, R., 1981. 2. *Veratrum lobelianum* alkaloids. *Khimiya Prirodnikh Soedinanii*, 3, 404-405.
- Tas, S. and Avci, O., 2004a. Rapid clearance of psoriatic skin lesions induced by topical cyclopamine- A preliminary prof of concept study. *Dermatology*, 209(2), 126-

- 131.
- Tas, S. and Avci, O., 2004b. Induction of the differentiation and apoptosis of tumor cells in vivo with efficiency and selectivity. *European Journal of Dermatology*, 14(2), 96-102.
- Tewtrakul, S. and Itharat, A., 2006. Anti-allergic substances from the rhizomes of *Dioscorea membranacea*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 14(24), 8707-8711.
- Tezuka, Y., Kikuchi, T., Zhao, W.J., Chen, J. and Guo, Y.T., 1998a. (+)-Verussurine, a new steroidal alkaloid from the roots and rhizomes of *Veratrum nigrum* var. *ussuriense* and structure revision of (+)-verabenzoamine. *Journal of Natural Products*, 61(11), 1397-1399.
- Tezuka, Y., Kikuchi, T., Zhao, W.J., Chen, J. and Guo, Y.T., 1998b. Two new steroidal alkaloids, 20-isoveratramine and verapatuline, from the roots and rhizomes of *Veratrum patulum*. *Journal of Natural Products*, 61(9), 1078-1081.
- Thomma, B.P.H.J. Nelissen, I., Eggermont K. and Broekaert, W.F., 1999. Deficiency in phytoalexin production causes enhanced susceptibility of *Arabidopsis thaliana* to the fungus *Alternaria brassicicola*. *The Plant Journal*, 19(2), 163-171.
- To, I.K., Tezuka, Y. and Kikuchi, T., 1988. Steroidal alkaloids of *Veratrum maackii* *Wakan Iyaku Gakkaishi*, 5(3), 382-383.
- Tomko, J. and Vassova, A., 1981. 3. Alkaloids of *Veratrum album* subsp. *lobelianum* (Bernh.) Suessenguth. *Farmaceuticky Obzor*, 50(2), 115-122.
- Trela, B.C. and Waterhouse, A.L., 1996. Resveratrol: Isomeric Molar Absorptivities and Stability. *Journal of Agriculture Food and Chemistry*, 44(5), 1253-1257.
- Tremblay, M.R., Nevalainen, M., Nair, S.J., Porter, J.R., Castro, A.C., Behnke, M.L., Yu, L.C., Hagel, M., White, K., Faia, K., Grenier, L., Campbell, M.J., Cushing, J., Woodward, C.N., Hoyt, J., Foley, M.A., Read, M.A., Sydor, J.R., Tong, J.K., Palombella, V.J., McGovern, K. and Adams, J., 2008. Semisynthetic cycloamine analogues potent and orally bioavailable hedgehog pathway antagonist. *Journal of Medicinal Chemistry*, 51(21), 6646-6649.
- Tseng, W.J., Liu, D.M. and Hsu, C.K., 1999. Influence of stearic acid on suspension structure and green microstructure of injection-molded zirconia ceramics. *Ceramics International* 25(2), 191-195.
- Usuki, S., Ariga, T., Dasgupta, S., Kasama, T., Morikawa, K., Nonaka, S., Okuhara, Y., Kise, M. and Yu, R.K., 2008. Structural analysis of novel bioactive acylated steryl glucosides in pre-germinated brown rice bran. *Journal of Lipid Research*, 49(10), 2188-2196.
- Ujvary, I., Eya, B.K., Grendell, R.L., Toia, R.F. and Casida, J.E., 1991. Insecticidal activity of Various 3-Acyl and other derivatives of veracevine relative to the *Veratrum* alkaloids, veratridine and cevadine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(10), 1875-1881.
- Ünal, G. ve Uğurlu, S., 2000. Orta Anadolu Bölgesinde Patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say) popülasyonlarının yaygın olarak kullanılan insektisitlere karşı duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi. *Türkiye 4. Entomoloji Kongresi*, Aydın.
- Vachalkova, A., Grancai, D., Nagy, M. and Novotny, L., 1998. Evaluation of potential carcinogenicity of steroidal alkaloids from *Veratrum album* L. by the DC polarography method. *Neoplasma*, 45(4), 243-247.
- Wagner, H. and Bladt, S., 1996. *Plant drug analysis: a thin-layer chromatography atlas*.

- Springer, 384 p, Berlin.
- Wang, L., Wang, X., Yuan, X. and Zhao, B., 2011. Simultaneous Analysis of Diosgenin and Sarsasapogenin in *Asparagus officinalis* byproduct by thin-layer chromatography. *Phytochemical Analysis*, 22(1), 14-17.
- Wang, S.Y. and Wang, G.K., 2003. Voltage-gate sodium channels as primary targets of diverse lipid-soluble neurotoxins. *Cellular Signalling*, 15(2), 151-159.
- Wang, T., Liu, Y.Y., Wang, X., Yang, N., Zhu, H.B. and Zuo, P.P., 2010. Protective effects of octacosanol on 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonism in rats via regulation of ProNGF and NGF signaling. *Acta Pharmacologica Sinica*, 31(7), 765-774.
- Wang, Y., Catana, F., Yang, Y., Roderick, R. and Breemen, R.B.V., 2002. An LC-MS method for analyzing total resveratrol in grape juice, cranberry juice, and in wine. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 50(3), 431-435.
- Wang, Y., Lai, D., Zhang, Y., Kang, A., Cao, Y. and Sun, W., 2009. Study of steroidal saponins in *Dioscorea zingiberensis* C.H. Wright. *Journal of Natural Products*, 2, 123-132.
- Ware, G.W., 1986. *Fundamentals of Pesticides. -A Self Instruction Guide*. Thomson Publications, 274 p, Fresno, CA.
- Weber, D., 2003. Insect Control. Colorado beetle: pest on the move. *Pesticide Outlook*, 14(6), 256-259.
- Weber, D.C. and Ferro, D.N., 1994. Movement of overwintered colorado potato beetles in the field. *Journal of Agricultural Entomology*, 11(1), 17-27.
- Wen, W.F., Zhao, W.J. and Wang, S.S., 2005. Recent progress in steroidal alkaloids from *Veratrum*. *The Proceedings of the 3rd International Conference on Functional Molecules, Chine*.
- Whalon, M.E., Sanchez, D.M. and Hollingworth, R.M., 2008. The MSU Arthropod pesticide resistance database. USA, [http://www.pesticideresistance.org/\(18/03/2012\)](http://www.pesticideresistance.org/(18/03/2012)).
- Williams, J.R., Gong, H., Hoff, N. and Olubodun, O.I., 2005. Synthesis of the shark repellent pavoninin-4. *Journal of Organic Chemistry*, 70(26), 10732-10736.
- Wu, J.Y., Xu, X.F., Xu, L., Niu, P.Q., Wang, F., Hu, G.Y., Wang, X.P. and Guo, C.Y., 2011. Cyclopamine Blocked the Growth of Colorectal Cancer SW116 Cells by Modulating Some Target Genes of Gli1 in vitro. *Hepato-Gastroenterology*, 58(110), 1511-1518.
- Xu, D.M., Xu, M.L., Wang, S.Q., Hung, E.X., Wen, X.G., Arihara, S. and Shoji, N., 1990. 2 New steroidal alkaloids from *Fritillaria ussuriensis*. *Journal of Natural Products*, 53(3), 549-552.
- Xu, Y., Han, X., Dong, D., Xu, L., Qi, Y., Peng, J. and Zhan, L., 2008. Efficient protocol for purification of diosgenin and two fatty acids from *Rhizoma dioscoreae* by SFE coupled with high-speed counter-current chromatography and evaporative light scattering detection. *Journal of Separation Science*, 31(20), 3638-3646.
- Yamada, H., Yoshino, M., Matsumoto, T., Nagai, T., Kiyohara, H., Cyong, J.C., Nakagawa, A., Tanaka, H. and Omura, S., 1987. Effects of phytosterols on anticomplementary activity. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 35(12), 4851- 4855.
- Yamamoto, M., Masui, T., Sugiyama, K., Yakota, M., Nakagomi, K., and Nakazawa,

- H., 1991. Anti-inflammatory active constituents of *Aloe arborescens* Miller. *Agricultural and Biological Chemistry*, 55(6), 1627-1629.
- Yang, C., Liu, R., Zhou, J., Chui, Z., Ni, F. and Yang, Y., 1987. Steroidal Alkaloids of *Veratrum mentzeanum*. *Acta Botanica Yunnanica*, 9(3), 359-364.
- Ye, J.C., Chang, W.C., Hsieh, D.J.Y. and Hsiao, M.W., 2010. Extraction and analysis of β -sitosterol in herbal medicines. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(7), 522-527.
- Yılmaz, D. and Kansu, I.A., 1987. Investigations on the insecticidal activity of an extract of *Veratrum album* L.(*Liliaceae*). *Türkiye 1. Entomoloji Kongresi Bildirileri*. Ege Üniversitesi, Bornova, İzmir.
- Yoon, K.D. and Kim, J., 2008. Preparative separation of dioscin derivatives from *Dioscorea villosa* by centrifugal partition chromatography coupled with evaporative light scattering detection. *Journal of Separation Science*, 31(13), 2486-2491.
- Zhang, J., Garrossian, M., Gardner, D., Garrossian, A., Chang, Y.T., Kim, Y.K. and Chang, C.W.T., 2008. Synthesis and anticancer activity studies of cyclopamine derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 18(4), 1359-1363.
- Zhang, X.F., Cui, Y., Huang, J.J., Zhang, Y.Z., Nie, Z., Wang, L.F., Yan, B.Z., Tang, Y.L. and Liu, Y., 2007. Immuno-stimulating properties of diosgenyl saponins isolated from *Paris polyphylla*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 17(9), 2408-2413.
- Zhao, W.J., Chen, J., Guo, Y.T. and Xu, L.Z., 1986. Chemical studies on the alkaloids of *Veratrum maackii*. *Zhongyao Tongbao*, 11(5), 294-295.
- Zhao, W.J., Chen, J., Guo, Y.T., Xu, L.S. and Sun, N.J., 1987. Chemical research on the alkaloids from *Veratrum nigrum* L. var. *Ussuriense* Nakai. *Bulletin Chin Mat Med*, 12(10), 34-35.
- Zhao, W.J., Tezuka, Y., Kikuchi, T., Chen, J. and Guo, Y.T., 1989. Studies on the constituents of *Veratrum* plants. 1. Constituents of *Veratrum-maackii* reg isolation and structure determination of a new alkaloid, maackinine. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37(11), 2920-2928.
- Zhao, W.J., Tezuka, Y., Kikuchi, T., Chen, J. and Guo, Y.T., 1991. Studies on the constituents of *Veratrum* plants .2. Constituents of *Veratrum-nigrum* 1 var *ussuriense* - structure and H-1-nuclear and C-13-nuclear magnetic-resonance spectra of a new alkaloid, verussurinine, and related alkaloids. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 39(3), 549-554.
- Zhou, C.X., Tanaka, J., Cheng, C.H.K., Higa, T. and Tan, R.X., 1999. Steroidal alkaloids and stilbenoids from *Veratrum taliense*. *Planta Medica*, 65(5), 480-482.
- Zhou, C.X., Kong, L.D., Ye, W.C., Cheng, C.H.K., Tan, R.X., 2001. Inhibition of xanthine and monoamine oxidases by stilbenoids from *Veratrum taliense*. *Planta Medica*, 67(2), 158-161.
- Zhou, C.X., Liu, J.Y., Ye, W.C., Liu, C.H. and Tan, R.X., 2003. Neoverataline A and B, two antifungal alkaloids with a novel carbon skeleton from *Veratrum taliense*. *Tetrahedron*, 59(30), 5743-5747.
- Zhu, R.X., Liu, Q., Tang, J., Li, H.L., Cao, Z.W., 2011. Investigations on inhibitors of Hedgehog Signal Pathway: A quantitative structure-activity relationship study. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(5), 3018-3033.

Zunich, S.M., Douglas, T., Valdovinos, M., Chang, T., Bushman, W., Walterhouse, D., Iannaccone, P. and Lamm, M.L.G., 2009. Paracrine sonic hedgehog signalling by prostate cancer cells induces osteoblast differentiation. *Molecular Cancer*, 8(12), 1-11 .

ÖZGEÇMİŞ

18 Nisan 1982 yılında Erzurum'un Pasinler ilçesinde dünyaya gelen Tuba AYDIN, ilk öğrenimine Köprüköy Atatürk İlkokulunda başladı. Orta öğrenimini Erzurum Atatürk Lisesi'nde 1999 yılında bitirdikten sonra 2005 yılında Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği Bölümünden mezun oldu. Aynı yıl Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Bölümünde Doktora eğitimine başlayan araştırmacı 2008 yılından itibaren Erzurum Valiliği'nde çalışmaktadır.