

40165

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

*Abies nordmanniana* subsp. *equi-trojani*  
ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

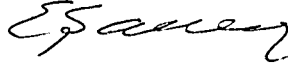
DOKTORA TEZİ  
FARMAKOGNOZİ PROGRAMI

Eczacı  
Dilek Ercil

Rehber Öğretim Üyesi  
Prof. Dr. M. Koray Sakar

ANKARA-1995

DOKTORA TEZ SAVUNMA JÜRİSİ



Prof.Dr.Engin Şarer  
Başkan



Prof.Dr.İhsan Çalış  
Üye



Prof.Dr.M.Koray Sakar  
Danışman-Üye



Doç.Dr.A.Ahmet Başaran  
Üye



Doç.Dr.Nürten Ezer  
Üye

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
1-GİRİŞ ve AMAÇ-----	1
2-TEORİK KISIM-----	2
2 A- Botanik Bölüm -----	2
Pinaceae Familyası-----	4
<i>Abies</i> Cinsi-----	5
<i>Abies nordmanniana</i> subsp. <i>equi-trojani</i> -----	6
<i>Abies nordmanniana</i> subsp. <i>bornmuelleriana</i> -----	9
2 B- Fitokimyasal Bölüm-----	11
Terpenler-----	11
Diterpenler-----	17
Flavonoitler-----	20
2 C- <i>Abies</i> Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar-----	29
Uçucu Yağlar-----	30
Seskiterpenler-----	32
Diterpenler-----	33
Triterpenler-----	35
Flavonoitler-----	36
Tanenler-----	37
Lignanlar-----	38
3- DENEYSEL KISIM-----	39
Materyal-----	39
Yöntem-----	39
Fiziksel Yöntemler-----	41
Kimyasal Yöntemler-----	42
Ekstraksiyon-----	44
İzolasyon-----	45
4- BULGULAR-----	55
Abietik asit-----	55
(-)-Abietinal-----	61
cis-Abienol-----	67
Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil (1+2) $\beta$ -D-glukopiranozit-	
8-C- $\beta$ -D-glukopiranozit -----	74
Tilirozit ( Kemferol 3-O-(6''-O-p-kumaroil) $\beta$ -D-glukopiranozit)-	80

	<b>Sayfa No</b>
Kemferol 3-0- $\alpha$ -L-ramnopiranozit -----	86
Kersetin 3-0- $\alpha$ -L-ramnopiranozit -----	88
Kersetin 3-0- $\beta$ -D-galaktopiranozit -----	90
Mirsetin 3-0- $\alpha$ -L-ramnopiranozit -----	92
(+)-Kateşin pentaasetat-----	95
(+)-Gallokateşin hekzaasetat-----	100
(-)-Epigallokateşin hekzaasetat-----	104
<b>5- SONUÇ ve TARTIŞMA-----</b>	<b>108</b>
<b>6- ÖZET-----</b>	<b>114</b>
<b>SUMMARY-----</b>	<b>115</b>
<b>7- LİTERATÜR-----</b>	<b>116</b>
<b>EKLER-----</b>	<b>127</b>



## 1 - GİRİŞ ve AMAÇ

Coniferae 'de türü en fazla olan Pinaceae familyasının 9 cinsi vardır. *Abies* cinsi kuzey yarımkürenin ılıman bölgelerinde yayılmıştır ve yaklaşık 40 türü ve çok çeşitli varyete formları vardır (1,2).

Pinaceae familyası alkaloit, flavonit, fenol heteroziti, lignan, tanen, balsam (terpentin), mono- ve seskiterpen (UY.), 20 C lu asitler taşır. Şikimik asit, kinik asit, tohumlarda sabit yağ ve estolit mumu bulunur (3).

*Abies* cinsinin Türkiye florasında *Abies cilicica* (Ant. & Kotschy) ve *Abies nordmanniana* (Stev.) Spach olmak üzere 2 türü vardır. *A. cilicica* ; *A. cilicica* subsp. *cilicica* ve *A. cilicica* subsp. *isaurica* olmak üzere 2 alttür, *A. nordmanniana* ise *A. nordmanniana* subsp. *nordmanniana*, *A. nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana* ve *A. nordmanniana* subsp. *equi-trojani* olmak üzere 3 alttür taşımaktadır (4).

*A. nordmanniana* (Stev.) Spach kozalakları üzerinde meydana gelen sakız antiseptik ve yara iyi edici olarak kullanılmaktadır. Yaprakları balgam söktürücü ve kabız etkiye sahiptir (5).

Çalışmanın amacı: Üzerinde herhangi bir kimyasal çalışma bulunmayan *A. nordmanniana* subsp. *equi-trojani* bitkisinin diterpenleri, flavanoitleri ve tanenlerinin izolasyonu, bunların kimyasal yapısının aydınlatılması ve morfolojik olarak yukarıda sözü edilen alttüre çok benzer olan diğer endemik bir alttür olan *A. nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana* ile kimyasal bileşikler yönünden mukayesesi amaçlanmıştır.

## 2 A- BOTANİK BÖLÜM

### TÜRKİYEDEKİ GYMNOSPERMLERİN MORFOLOJİK YÖNDEN TAYİNİ: (4).

1-Yapraklar noduslarda pul haline indirgenmiş; atkuyruğunu andıran ( equisetoid ) çalılar. (Ephedraceae)

*Ephedra*

1-Yapraklar noduslarda pul şekline indirgenmemiş; atkuyruğunu andırmayan (equisetoid olmayan) ağaç veya çalılar.

2- Yapraklar yaşlılarda pulsu, kiremitvari ve basık, veya dar uzun mızraksı (linear-lanseolat) ve taban kısmında eklemli (artikulat) . (Cupressaceae)

3-Bütün yapraklar pulsu ve kiremitvari; meyva odunsu kozalak; tohumlar kanatlı

*Cupressus*

3-Yapraklar hiç olmazsa genç bitkilerde dar-uzun mızraksı (linear-lanseolat); pulsu ve kiremitvari değil; meyva etli, bakkayı andırır; tohumlar kanatsız.

*Juniperus*

2-Yapraklar yaşlılarda uzunca oblong-linear, taban kısmında eklemsiz (artikulat değil).

4-Yapraklarda reçine kanalları yoktur; meyva etli bir arillus ile çevrili (Taxaceae)

*Taxus*

4-Yapraklar reçine kanallıdır; meyva odunsu kozalak, arillussuz (Pinaceae)

5-Olgun yapraklar kısa sürgün üzerinde, çevrel (vertisillat) veya ikili demet halinde

6-Yapraklar ikili demet halinde, her demet taban kısmında bir kin tarafından sarılı

*Pinus*

6-Yapraklar çevrel (vertisillat) dizilişli, taban kısmında kın yok.

*Cedrus*

5-Olgun yapraklar uzun sürgünler üzerinde sarmal dizilişli; kısa sürgün yok.

7-Yapraklar döküldükten sonra küçük dallar üzerinde çok sayıda törpü gibi çıkıntı kalır; kozalaklar sarkık, bütün halde düşer ( kozalak pulları dağılmaz).

*Picea*

7-Küçük dallar üzerinde yukarıdaki çıkıntılar yoktur; kozalaklar dik, kozalak pulları devamlı kalan eksenden ayrılır.

*Abies*

**PINACEAE familyası : (2, 3, 4, 6 )**

Ağaçlar. Yapraklar linear veya linear oblong, daima reçine kanallı, kısa sürgünler üzerinde demet halinde veya çevrel dizilişli veya uzun sürgünler üzerinde tek tektir. Meyva odunsu kozalak.

Coniferae içinde türce en zengin olan familya Pinaceaedir. 215 türü 9 cinse dağılmıştır.

*Abies*: Kuzey yarımkürede yaklaşık 40 türü vardır.

*Keteleeria*: Çinde 3-4 türü vardır.

*Pseudotsuga*: Kuzey Amerika'nın batısında ve Doğu Asya'da 7 türü vardır.

*Tsuga*: Kuzey Amerika'nın batısında ve Doğu Asya'da 14 türü vardır.

*Picea*: Kuzey yarımkürede yaklaşık 140 türü vardır.

*Pseudolarix*: Kuzey-doğu Çin'de vardır.

*Larix*: Kuzey yarımkürede 10 türü vardır.

*Cedrus*: Himalaya dağları ve Akdeniz bölgesinde 4 türü vardır.

*Pinus*: Kuzey yarımkürede yaklaşık 90 türü vardır.



*ABIES* ( = GÖKNAR ) Cinsi

Piramidal bir tepeye sahip, dalları gövdeye çevrel olarak dizilmiş, yaprak dökmeven, boylu, konik yapıda orman ağaçlarıdır. Yapraklar lineardan linear-oblonga kadar değişir, yassılaşıdır. Yaprak ucu akuttan emarginata kadar değişir. Yaprak alt yüzlerinde iki tane paralel belirgin, gümüşı beyaz stoma çizgisi taşır. Yaprak izleri dairesel dizilişte ve disk şeklindedir. Tomurcuklar çoğunlukla reçinelidir. Genç sürgünlerdeki açık gri renkteki kabuk ince ve düzgün, yaşlılarda kalın, aynı zamanda çatlaklıdır. Dişı kozalaklar dik, sık dizilişli birbiri üzerine binmiş pullar taşır, brakteler çıkıntılı veya yapışık, olgunlukta pullar dökülür. Üç köşeli, sivri uçlu olan tohum kanatlıdır (2,4).

*Abies* tayini zor bir cinstir. Türkiye'de yetişen iki türü olgun kozalağın karakteristikleriyle ayırt edilebilir. Bu karakteristikler coğrafi konum ile yakın ilişkidir. *Abies cilicica* sadece Güney Anadolu'da görülürken, *Abies nordmanniana* sadece kuzey Anadolu'da bulunur (4,7).

1-Brakteler kozalak pullarının aralarından çıkmış, uçta kıvrık

2- *nordmanniana*

1-Brakteler çok çıkmamış

1- *cilicica*

1-*Abies cilicica*: Otuz metreye kadar yükselen ağaçlar. Genç sürgün kabukları gri-kahverengi, tüylü veya tüysüz. Yapraklar linear-oblong, emarginat, paralel çizgiler çok belirgin değil. Tohumlar reçineli veya değil. Kozalak subsesil silindirik, uç kısımlarda sivrilmiş, 15 cm'ye kadar veya daha fazla, brakteler pulların arasında saklı. İki alt türe ayrılabilir: (4)

1-Tomurcuklar reçinesiz; yeni sürgünler tüylü  
subsp. *cilicica*

1- Tomurcuklar reçineli; genç sürgünler tüysüz  
subsp. *isaurica*

2-*Abies nordmanniana* : Boyu 35 m'ye kadar varan yüksek ağaçlar. Genç sürgünlerin kabukları grimsi, daha sonra gri-siyah, tüysüz veya tüylü. Yapraklar linear veya linear-oblong, akuttan trunkat-emarginata kadar. Kozalaklar silindirik, reçineli. Brakteler pulların arasından çıkmış, uçları kalkık. 3 alt türe ayrılabilir (4).

1- Yapraklar kısmen akut; tomurcuklar reçinesiz; genç sürgünler tüysüz  
subsp. *equi-trojani*

1-Yapraklar trunkat veya emarginat; tomurcuklar reçineli ve/veya sürgünler tüylü.

2-Sürgünler tüylü; tomurcuklar reçinesiz.

subsp. *nordmanniana*

2-Sürgünler tüysüz, tomurcuklar genellikle reçineli

subsp. *bornmuelleriana*

*Abies nordmanniana* subsp. *equi-trojani* (Aschersan & Sinten ex Boiss.)  
Coode & Cullen

*Abies bornmuelleriana*'ya benzeyen yüksek ağaç. *Abies cephalonica* ve *Abies nordmanniana* arasında bulunur. Sürgün tüysüz. Belirgin bir şekilde sarı-kahverengi, tomurcuk az veya çok reçineli, kahverengi pullu, iğne yapraklar çok sık olarak bulunur. 15 ile 25 mm uzunluğundadır ve uç kısmına doğru incilir. Ucu ince veya küt, nadiren yuvarlağımsı, çoğunlukla yaprağın üst kısmında stoma çizgisi bulunur. Kozalaklar silindirik uzun, pullar 20 mm uzunluğunda, 30 mm genişliğinde, yukarısı yuvarlağımsı, kapaksız pullar çıkıntı taşır. Geniş 4 köşeli dışarı doğru çıkıntılıdır. Tohum yumurta şeklinde 10 mm uzunluğunda ve geniş kanatlı. 1972 den beri sadece Kaz dağında 1300 ile 1800 m yükseklikte yetişmektedir (8).

Göknarlarda morfolojik özelliklere bakarak tür ayırımı oldukça zor gözükmektedir. Göknar türlerimize ait anatomik özelliklerin büyük ölçüde farklılığı, özellikle öz ışınlarındaki hücre adedi ve maksimum yükseklikleri bakımından olan farkın açık şekilde görüldüğü söylenmektedir. Türlerdeki trakeitlerde ard arda gelen kenarlı geçitler çiftinin sayısı *Abies nordmanniana* ve *bornmuelleriana* 4, *Abies cilicica* 'da 2 olduğu halde, *Abies equi-trojani* 'de 6 dır. Öz ışınlarında maksimum yükseklikler *Abies cilicica* 'da 490 mikron, *Abies nordmanniana* 'da 550 mikron ve *Abies bornmuelleriana* 'da 630 mikron olmasına karşılık, *Abies equi-trojani* 'de 720 mikron olarak bulunmuştur. Öz ışınlarındaki hücre adedinde *A. nordmanniana* 'da 29, *A. bornmuelleriana* 'da 34, *A. cilicica* 'da 28 ve *A. equi-trojani* 'de 53 dür (9).

Kaz dağı göknarlarının polenleri mikroskop altında incelendiğinde, polenler arasında şekil bakımından farklı ve anormal formlar gösteren fertlerin çok miktarda olduğu görülmüştür. Ayrıca polenlerin boyutları önemli bir varyasyon içindedir. *Abies equi-trojani* 'nin polen gövde uzunluk ölçüleri 84,6-114,6 mikron arasında olduğu gösterilmiştir. Bu durumu diğer göknarlarda görülmesinin olanak dışı olduğu yazılmaktadır. Polenleri çok farklı şekilde ve boyutlarda olan bu gibi türlerin melez olduğu Moss'a atfen Aytuğ tarafından bildirilmektedir. Melez polenlerinin % 50 sinden fazlası normal olmayan polenlerdir. Normal polenlerin de bir kısmı çok küçük, bir kısmı ise oldukça büyüktür. Polen gövdesinden başka, polen baloncuklarında çok farklı durumlar göstermektedir. Kaz dağı göknarının morfolojik bakımdan ebeveyni olduğu kabul edilen *Abies bornmuelleriana* Mattf. ile *Abies cephalonica* Loud. a benzediği görülmektedir (9, 10, 11, 12).

#### Yayılış

A4 Kastamonu: Azdavay'dan Cide'ye doğru, 1000 m, Ilgaz dağı karakol üstü, 2000-2150 m. A6 Tokat: Tokat. B1 Balıkesir: Kaz dağı (4). Balıkesir: Edremit, Kaz dağı, 1400 m, 27-7-1961, K.Karamanoğlu (ANK 246!), Balıkesir:Kaz dağı, Beypınar Koşara arası, 1450 m, 17-10-1970, A.Baytop (İSTE 18775!), Balıkesir: Kaz dağları, Gürgen dağı, Çamalanı mevki, 1300 m, 27-10-1973, N.Özhatay (İSTE 26967!). Balıkesir:

Kaz dağları, Tavşan oynağı, 1400 m, 27-10-1973, E. Tuzlacı (İSTE 26987!).  
B1 Balıkesir: Edremit, Kaz dağı, Gürgen dağı serisi, 1 nolu bölme, Kalafat  
mekii (Göknar ormanı), 1350 m, 22-7-1991, D. Ercil, (HÜEF 91126!).

### Habitat

Kaz dağı göknarı yurdumuzun kuzeybatısında Biga yarımadasının dağlık kesiminde (Kaz dağları) yayılmıştır. Bu yörede 400-1650 metre yükseklikler arasında görölmekte ve genel olarak 1000-1300 metre yüksekliklerde optimal yayılışını yapmaktadır. Edremit, Yenice ve Bayramiç Devlet Orman İşletme Müdürlükleri mntıklarında bu tür, genel olarak kayın, karaçam ve meşe türleri ile karışık bir halde bulunmaktadır (11).



*Abies nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana* (Mattf.) Coode & Cullen

Ünlü botanikçi Bornmüller'in ismini taşıyan bu tür tamamen Türkiye'ye özgü bir göknardır. 30-40 m boyunda ağaçlardır. *A. nordmanniana* 'ya çok benzer. Esasen bazı botanikçiler onun bir varyetesi, bazıları da *A. nordmanniana* ile *A. cephalonica* arasında yer alan bir tür olduğunu kabul etmektedirler. En önemli farkları: tomurcukları, *A. nordmanniana* 'nin aksine olarak reçineli buna karşılık genç sürgünlerin tüysüz oluşudur. İğne yaprak, kozalak v.s. gibi morfolojik özellikleri *A. nordmanniana* 'nın hemen hemen aynıdır. Yalnız iğne yapraklardan bazılarının üst yüzlerinin uç kısmında da beyaz stoma lekeleri görülür (2).

#### Yayıllık

A2 Bilecik: Gök dağı, Bursa: Uludağ, 1100-1700 m . A3 Bolu: Abant gölü altı, 1200 m , Zonguldak: Kozlu'dan Neyren'e doğru 300 m. Bolu: Yedigöl'de Devrek üstü, 1000 m .A4 Bolu:Gerede'den Kızılcıhamam'a doğru, 1350 m. Zonguldak: Karabük üstü Kel Tepe, 1700 m. Kastamonu: Ilgaz dağı'nın kuzey kısmı 1350 m. A5 Sinop: Boyabat'tan Sinop'a doğru, 1150 m . Samsun: Alaçam, Dütman dağı, 1500 m (4).

Bolu: Uludağ, 25-6-1945 (İSTE 1058!). Ankara: Kızılcıhamam ormanları, 2-6-1947, H.Bağda (İSTE 1057!). Bursa: Uludağ, 200 m, 16-8-1955, A. ve T. Baytop (İSTE 4421!). Bursa: Uludağ, Bakacık yol üstü, 3-8-1957, N.Gülen (İSTE 5100!). Bursa: Uludağ, otellerin civarı, 1900 m, 18-10-1970, N.Özhatay (İSTE 18871!). Bolu: Abant, 1400 m, A. Baytop, E. Tuzlacı (İSTE 27126!). Bolu Kuru motel, 860 m, 30-8-1972, I.Kukkonen (İSTE 34347!). A3 Kocaeli: Kuzuyayla- Keltepe, 20-5-1973, (İSTE 24639!). Bolu: Abant, 1350 m, 27-6-1975, A.Baytop (İSTE 32354!). Konya: Sultan dağları, Tekke üstleri, Yanvandere havzası, Akşehir ormanı bekçi kulübesi civarı, 1750 m, 28-9-1976, G. Dökmeci (İSTE 36029!). A3 Bolu: Abant gölü, Mudurnu yol sapağında 1 km sonra yol kenarındaki sırtlar, 1350 m, 19-5-1983, N. ve E. Özhatay (İSTE 50519!). Bolu: Abant, 800-900 m, 14-7-1935, Fehmi, (ANK 245!). Sinop: Gerze-Boyabat, 1000 m, 7-9-1954, Davis, O.Polurin (ANK 25001!). Bolu: Kuru motel, 860 m, 30-8-1972, Ilkka Kukkonen (ANK 8355!). Bolu: Ay Gerede- Aktaş ormanı, 1600 m, 23-4-1976, O.Ketenoğlu (ANK 560!). Kastamonu: Cide, Fagus ormanı, 600 m, 15-6-1977, Y.Akman,

(ANK 7099!). A3 Bolu: Yedigöller Milli Parkı, Köyüeri, 1100 m, 7-4-1977, R.İlarslan, (ANK 105!). A4 Çankırı: Işık dağı güney yamacı, 1900 m, 27-7-1975, B.Kasaplıgil, S.Başaran (AEF 05075!). A4 Ankara: Kızılcahamam, Işık dağı, 1500 m, 10-7-1976, F.Demircioğlu, M.Koyuncu, Ü.Kol, S.Başaran, F.İlisulu, (AEF 6895!). İzmit: Keltepe kayın ormanlarında %5 karışık, B.Kasaplıgil, (AEF 8592!). A4 Ankara: Kızılcahamam, Soğuksu Milli Parkı, göllü mevki, 1600 m, 1-8-1989, Ö.Eyüboğlu (GAZİ 1134!). A3 Adapazarı: Sapanca üstü, Solucak yaylası, 1100 m, 5-8-1985, S.Yıldırım (HÜB 8576!). A4 Çankırı: Ilgaz dağları, TV kulesi çevresi, 20-8-1985, S.Yıldırım (HÜB 8709!). A3 Bolu: Abant gölü, çeşme çevresi, 1400 m, 5-4-1991, S.Yıldırım (HÜB 13976!). A4 Ankara: Kızılcahamam-Bozalan'daki dere yatağı, sarıçam ormanının üstü, Kızılcahamam'dan yaklaşık 35 km sonra, Çamlıdere-Çamkoru tarafında, 1300 m, 15-9-1992, D.Ercil, (HÜEF 92-203!).

### Habitat

Kızılırmak'ın denize döküldüğü yer ile Uludağ arasında kalan Batı Karadeniz bölgesi ve Kocaeli havzasıdır. 2000 m ye, yani yukarı orman sınırına kadar yükselir. Ayancık ormanlarında, Ilgaz'da Bolu'nun Seben dağlarında, Abant'ta, Bozüyük dolaylarında ve Uludağ'da vardır (2).

## 2 B- Fitokimyasal Bölüm

### TERPENLER

Terpenler bitkiler ve hayvanlar aleminde geniş yayılışı olan bir grup maddedir. Bu terim bütün bu maddelerin ortak biyosentetik orijine sahip olduğunu göstermekte kullanılır. Terpenlerin temeli olan izopren molekülü ( $\text{CH}_2 = \text{C}(\text{CH}_3) - \text{CH} = \text{CH}_2$ ) dür. İzopren molekülünün 2,3,4,5,6,8 veya daha çoğunun birbiri ile bağlanması ile çeşitli terpen grupları oluşur (13, 14).

<u>Tip</u>	<u>İzopren ünitesi sayısı</u>
Hemiterpen	1
Monoterpenler	2
Seskiterpenler	3
Diterpenler	4
Sesterterpenler	5
Triterpenler	6
Tetraterpenler	8
Politerpenler	n

Her ne kadar, terpenler biyogenetik olarak, doğal ürünler olan izopren molekülünden türerlerse de, bu madde *invivo* prekürsör değildir. Prekürsör bileşik, izopentenil pirofosfat ( $\text{CH}_2 = \text{C}(\text{CH}_3) \text{CH}_2 \text{CH}_2 \text{OPP}$ ) dir. Bu bileşiğin ön kademesi olan mevalonik asit ( $\text{CH}_2 \text{OH} - \text{CH}_2 \text{C}(\text{OH}, \text{CH}_3) \text{CH}_2 \text{CO}_2\text{H}$ ) ise asetat yolu ile meydana gelir. İzopentenil pirofosfat canlı hücrelerde izomerik dimetil allil pirofosfat ( $(\text{CH}_3)_2 \text{C} = \text{CH} \text{CH}_2 \text{OPP}$ ) ile dengededir (14, 15).

Birinci basamakta asetil-CoA ile asetoasetil-CoA reaksiyona girer ve hidrokسيمetilglutaril-CoA sentetaz enzimi aracılığı ile hidrokسيمetilglutaril-CoA sentez edilir. İkinci basamakta NADPH+H<sup>+</sup> nın redüklenmesi ile ve hidrokسيمetilglutaril-CoA redüktaz enziminin aracılığı ile mevalonik asit sentezlenmektedir. İkinci ana basamak mevalonik asitin fosforilasyonu ile başlamaktadır. Mevalonik asit, ATP varlığında ve mevalonat kinaz enziminin aracılığı ile 5-fosfomevalonik asite dönüşmektedir. 5-fosfomevalonik asit



ikinci bir ATP' nin harcanması ile 5- pirofosfomevalonik asite dönüşmektedir. Bu enzimatik basamak fosfomevalonat kinaz enzimi tarafından katalizlenmektedir. Bir ATP' nin daha harcanması ve pirofosfomevalonat kinaz enzimi aracılığı ile 3-fosfo -5-pirofosfomevalonat sentezlenmektedir. 3-fosfo-5-pirofosfomevalonik asit, pirofosfomevalonat dekarboksilaz enzimi aracılığı ile 3-izopentenil pirofosforik asite dönüşmektedir. Üçüncü karbona bağlı fosfat grubu inorganik fosfat halinde, karboksil grubu ise dekarboksilasyon ile molekülden ayrılmaktadır (15, 16 ).

Aktif izopren olarak adlandırılan izopentenil pirofosfat bütün terpenoit ünitelerinin yapısına girmektedir (13).

Bir sonraki basamakta izopentenil pirofosfat izomeraz enzimi aracılığı ile çift bağın yeri değiştirilir ve 3,3-dimetilallil pirofosforik asit meydana gelir. Bu safhadan sonra 2-dimetilallil pirofosfattan birinin pirofosfat grubu koparak dimetilallil transferaz enzimi aracılığı ile bir kondensasyon meydana gelerek geranil pirofosfat oluşur. Geranil pirofosfat bitki terpenlerinin çoğunun, oluşumunun başlangıç noktasıdır. Monoterpenler geranilpirofosfattan siklizasyon, rearanjman veya oksidasyon ile meydana gelir (15, 16).

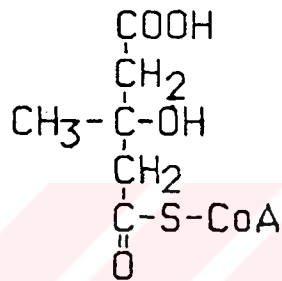
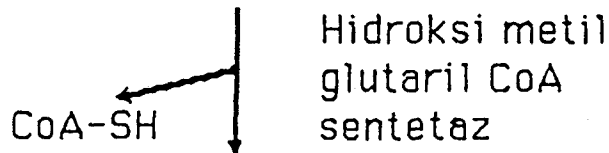
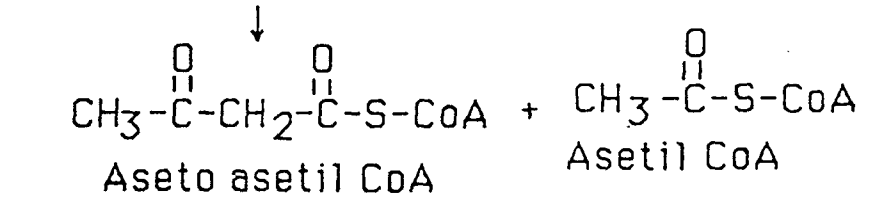
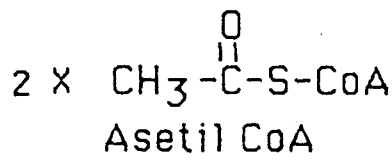
Geranil pirofosfata bir molekül dimetilallil pirofosfatın katılması ile farnesil pirofosforik asit oluşur. Reaksiyon dimetilallil transferaz enzimi tarafından katalizlenmektedir (15 ).

Farnesilpirofosfat ise seskiterpenlerin başlangıç noktasıdır. Diterpenler iki geranilpirofosfat ünitesinin kondensasyonu ile oluşan geranil geranilpirofosfattan meydana gelir (13 ).

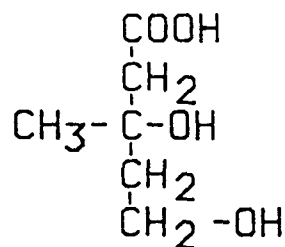
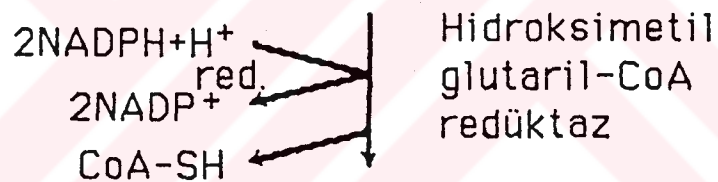
Skualen sentetaz katalizörlüğünde 2 molekül farnesilpirofosfat kafa-kuyruk pozisyonundan dimerleşmesi ile preskualen üzerinde ( siklopropilkarbinil pirofosfat ) ve NADP H ile enzimatik olarak skualen meydana gelir (15 ).

Skualen (C<sub>30</sub>) den siklik triterpenlere ve steroidlere geçilir. Tetraterpenler (C<sub>40</sub> ) ise geranilgeranil pirofosfatın dimerizasyon ürünleridir ve bitkiler aleminde geniş dağılımı vardır. Örn: Karotenoidler (13 ).

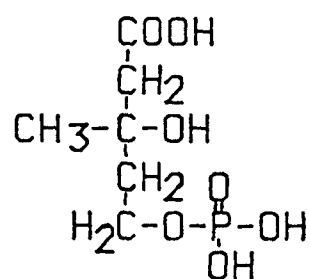
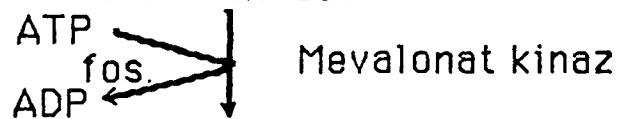




3-Hidroksi-3-metil glutaril-CoA

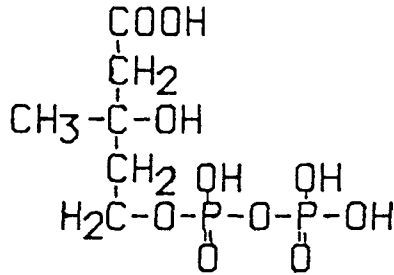
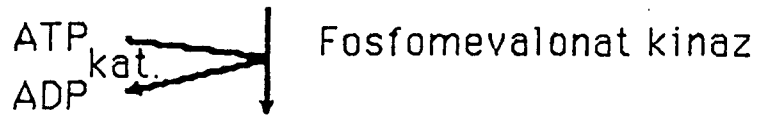


Mevalonik asit

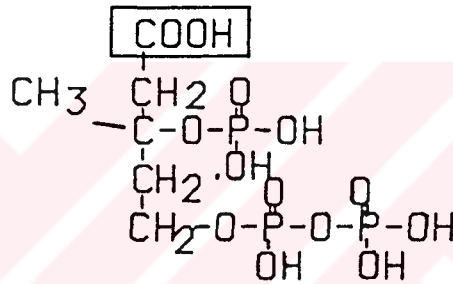
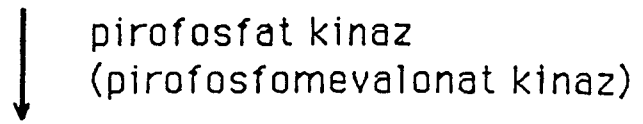


5-fosfomevalonik asit

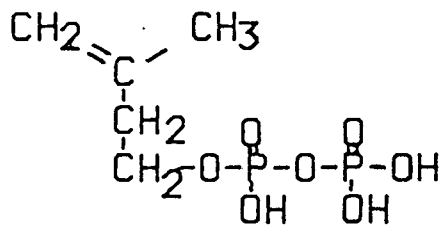
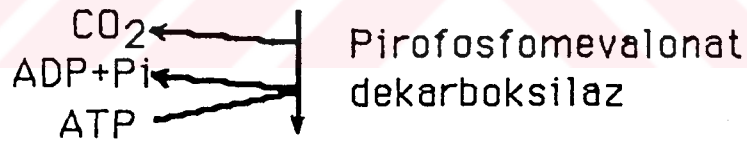
5-fosfomevalonik asit



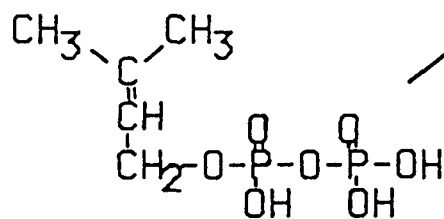
5-pirofosfomevalonik asit



3-fosfo-5-pirofosfomevalonik asit



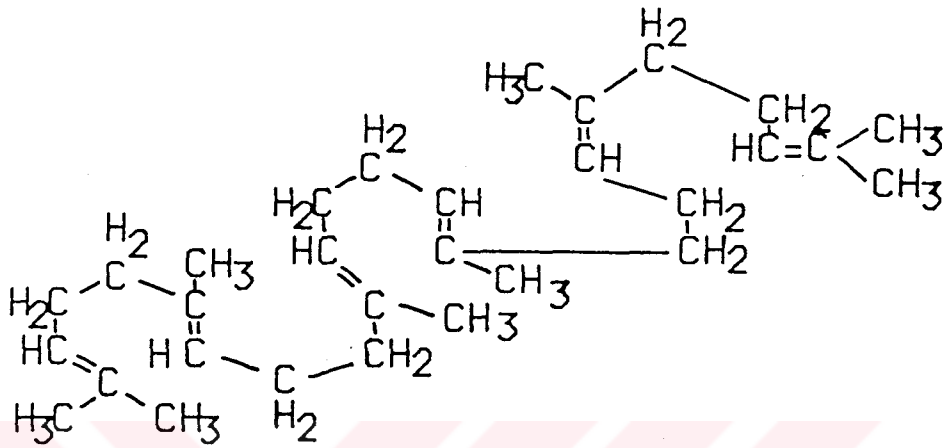
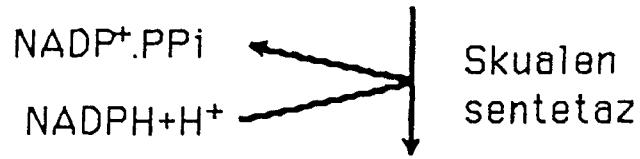
3-izopentenil pirofosforik asit



3,3-Dimetil allil pirofosforik asit



Preskualen pirofosfat



Squalen

**TERPENLERİN BİYOSENTEZİ ( 15, 16 ).**

## DİTERPENLER

Diterpenlerce zengin familyalar (17).

### Gymnospermae

Araucariaceae  
Cupressaceae  
Pinaceae  
Podocarpaceae  
Taxodiaceae

### Angiospermae

#### Dicotyledoneae

Burseraceae  
Cistaceae  
Euphorbiaceae  
Labiales  
Leguminosae  
Ranunculaceae

İskeletteki halka sayısına göre diterpenlerin sınıflandırılması (17, 18, 19).

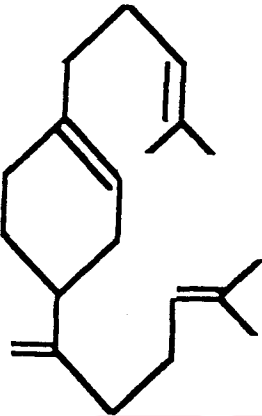
- \_ Asiklik Diterpenler: Fitan
- \_ Monosiklik Diterpenler: Kembran
- \_ Bisiklik Diterpenler: Labdan, Manool, Klerodan
- \_ Trisiklik Diterpenler: Pimaran, Abietan, Kasan, Rosan, Totarol
- \_ Tetrasiklik Diterpenler: Kavran, Staken, Atisiren, Trakiloban, Gibban
- \_ Tetrasiklik ve Pentasiklik Diterpenler: Diterpen alkaloidleri, Akonitum alkaloidleri, Kavran alkaloidleri
- \_ Makrosiklik Diterpen siklizasyon ürünleri: Kembran, Takzan, Kolevan, Fujinan, Erikan, Tigliyan

## 1-Asiklik diterpenler



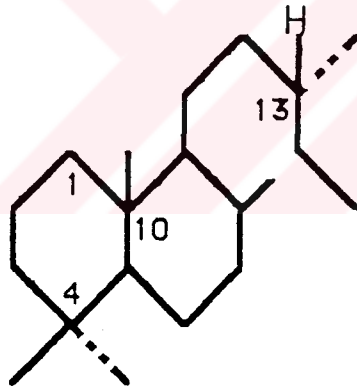
Fitan

## 2-Monosiklik diterpenler

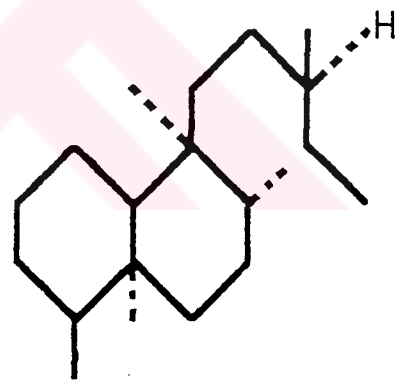


Kamforen

## 3-Bisiklik diterpenler

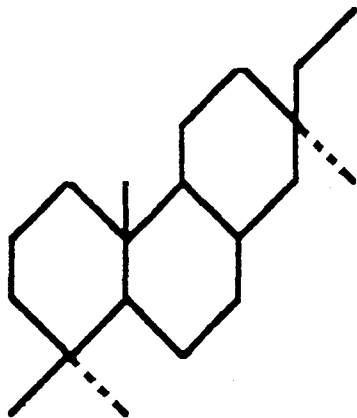


Labdan

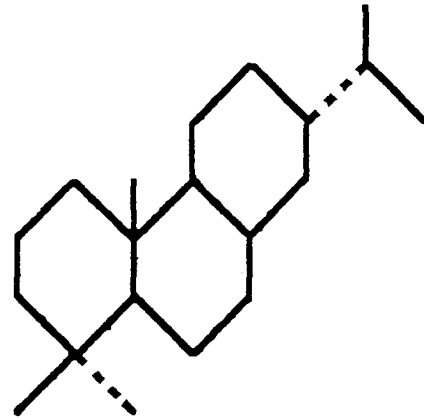


Klerodan

## 4-Trisiklik diterpenler

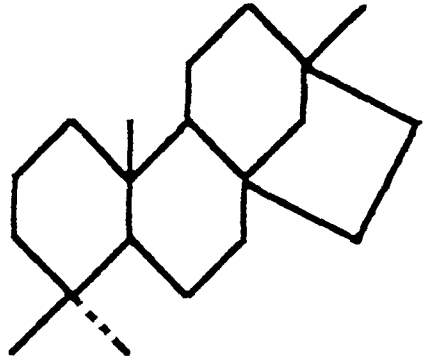


Pimaran

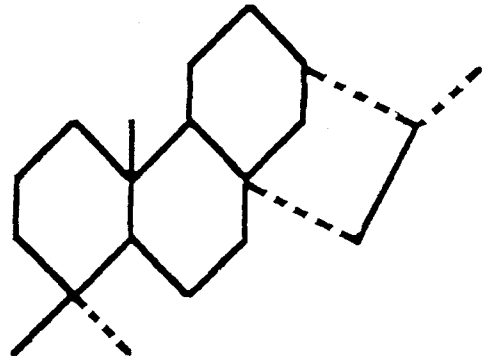


Abietan

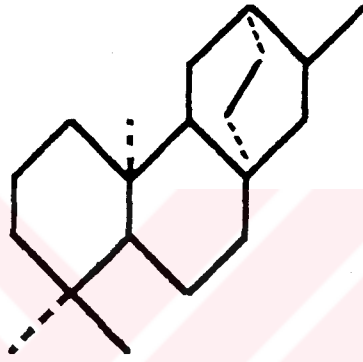
## 5- Tetrasiklik diterpenler



Beyeran

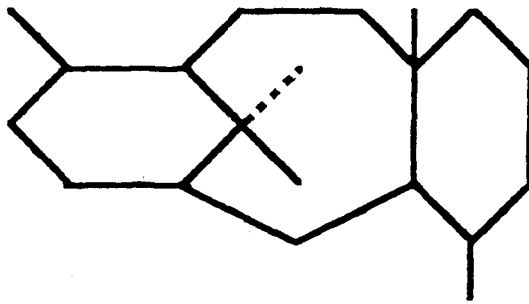


Kauren



Atisiren

## 6- Makrosiklik diterpenler



Takzan

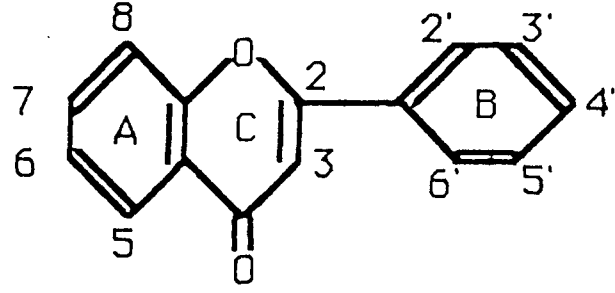
## FLAYONOİTLER

Flavonoitler bitkilerin kök hariç, bütün kısımlarında bulunabilir. İzolasyon metodu materyalin kaynağına ve flavonoitin tipine bağlıdır. Çalışılan flavonoitin polaritesine bağlı olarak ekstraksiyon için kullanılacak solvan seçilir. Az polar solvanlar özellikle flavonoit aglikonlarının ekstraksiyonu için, daha polar solvanlar ise flavonoit glikozitleri ve antosiyaninler için kullanılır. Dihidroflavonoller, flavanonlar, izoflavonlar gibi az polar aglikonlar veya çok sayıda metilli flavon ve flavonoller benzen, kloroform, eter veya etilasetat gibi solvanlar ile ekstre edilirler. Flavonoit glikozitleri ve hidroksi flavonlar, flavonoller, biflavonlar, auronlar ve kalkonlar gibi daha polar aglikonlar genellikle aseton, alkol, su veya bunların kombinasyonlarının ekstraksiyonu ile bitki materyalinden izole edilirler. Artan polaritede çeşitli solvanlarla ard arda ekstraksiyon aglikonlardan glikozitlerin ayrılmasını sağlar yani polar maddelerden non-polar maddelerin ayrımı sağlanır (20).

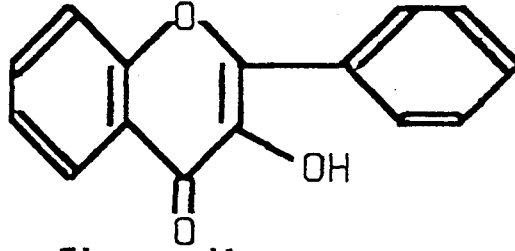
Kolon kromatografisi flavonoitlerin ayrımında en kullanışlı tekniktir. Flavonoitlerin ayrımı için adsorban olarak silika jel, kieselgur, magnesol, selüloz, alüminyum oksit, poliamid, Sephadex, iyon değiştirici reçineler kullanılır. YBSK (Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi), DCCC (Droplet Counter Current Chromatography), CTLC (Centrifugal Thin-Layer Chromatography), RLCCC (Rotation Locular Counter Current Chromatography) gibi yeni tekniklerde ayırımda kullanılmaktadır (20).



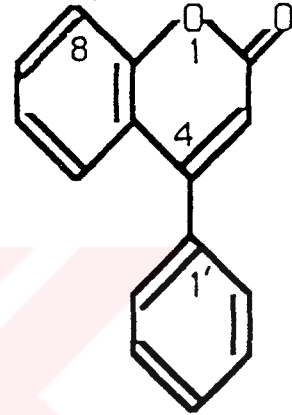
Flavonoit sınıflarının temel iskeletleri ve numaralandırılması (21).



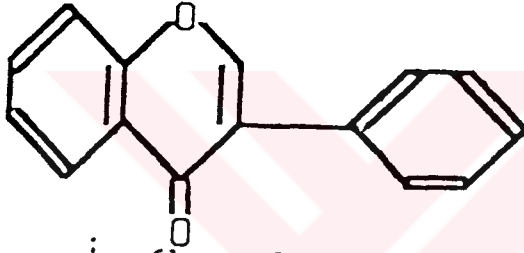
Flavonlar



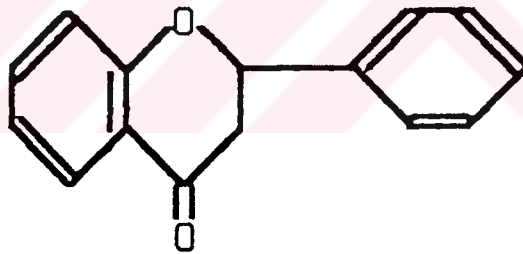
Flavonoller



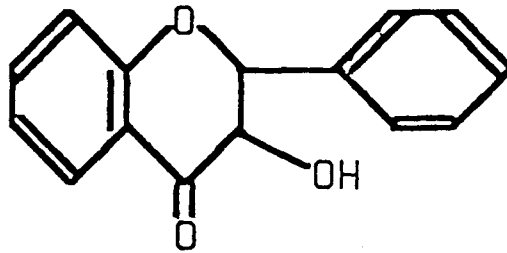
Neoflavonoitler



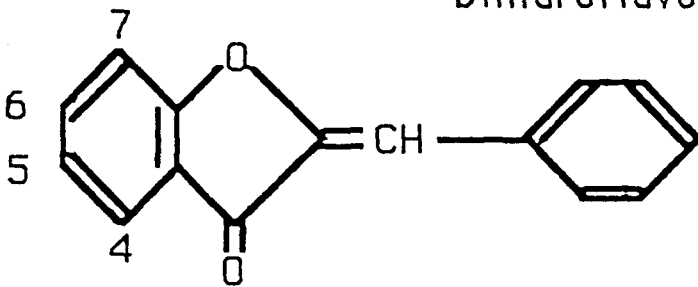
İzoflavonlar



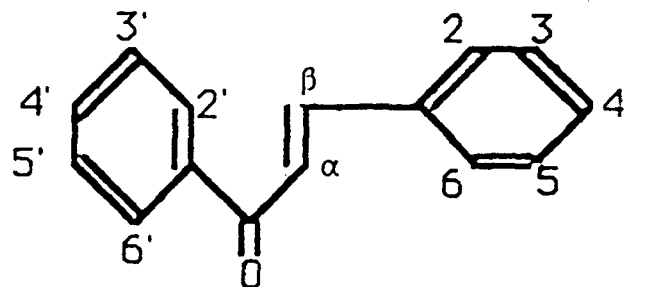
Flavononlar



Dihidroflavonoller



Auronlar



Kalkonlar

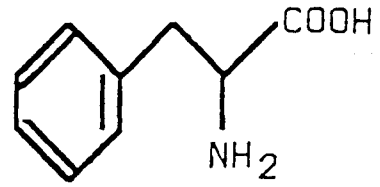
**Flavonoitlerin Biyosentezi:**

Flavonoitler genellikle 15 C lu bir prekürsör olan kalkondan hareketle meydana gelirler. Kalkon ise asetat-malonat yolundan 6 C lu bir prekürsör türevi ve bir sinnamik asit türevinin kondensasyonu ile meydana gelir. Kalkondan hareket ile halka kapanması, oksidasyon, redüksiyon, dehidroksilasyon v.b. etkilerle değişik flavonoitler meydana gelir (22).

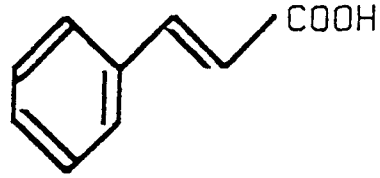
Flavonoit bileşiklerindeki iki aromatik halka ayrı ayrı biyosentez edilmektedir. A halkası, 3 molekül asetat'ın kafa kuyruk kondensasyonu ile malonil CoA üzerinden oluşmaktadır. C halkası ve 3 C atomlu köprü, şikimik asit yolundan fenil alanin, sinnamik asit ve p-kumarik asit üzerinden meydana gelmektedir (22).



Şikimik asit yolu ile



Fenilalanin

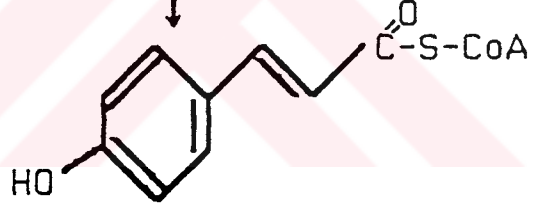
Fenilalanin  
amonyak-liyaz(PAL)

Sinnamik asit

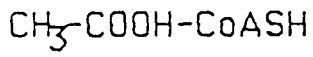
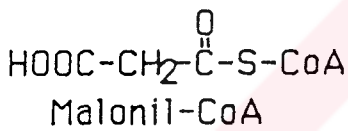
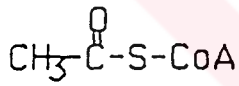
Trans-sinnamik asit  
4-hidroksilaz

p-Kumarik asit

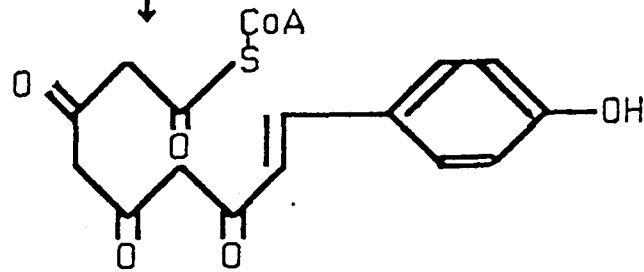
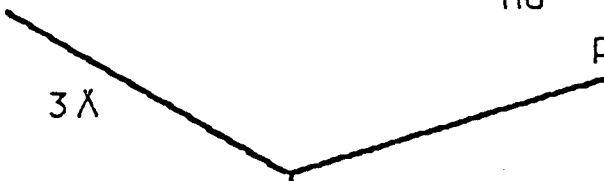
p-Kumarat-CoA-Liyaz



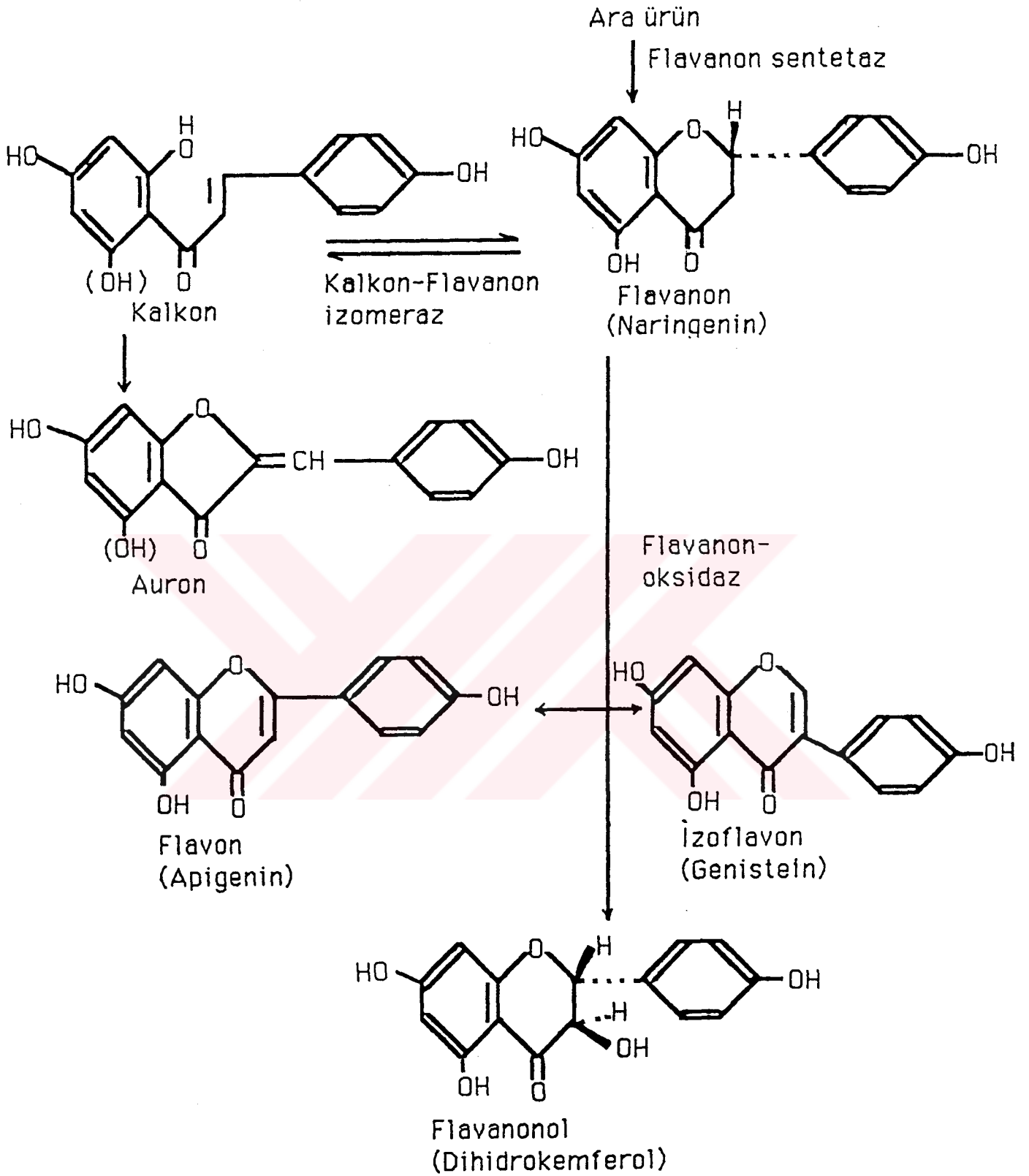
p-Kumaril-CoA

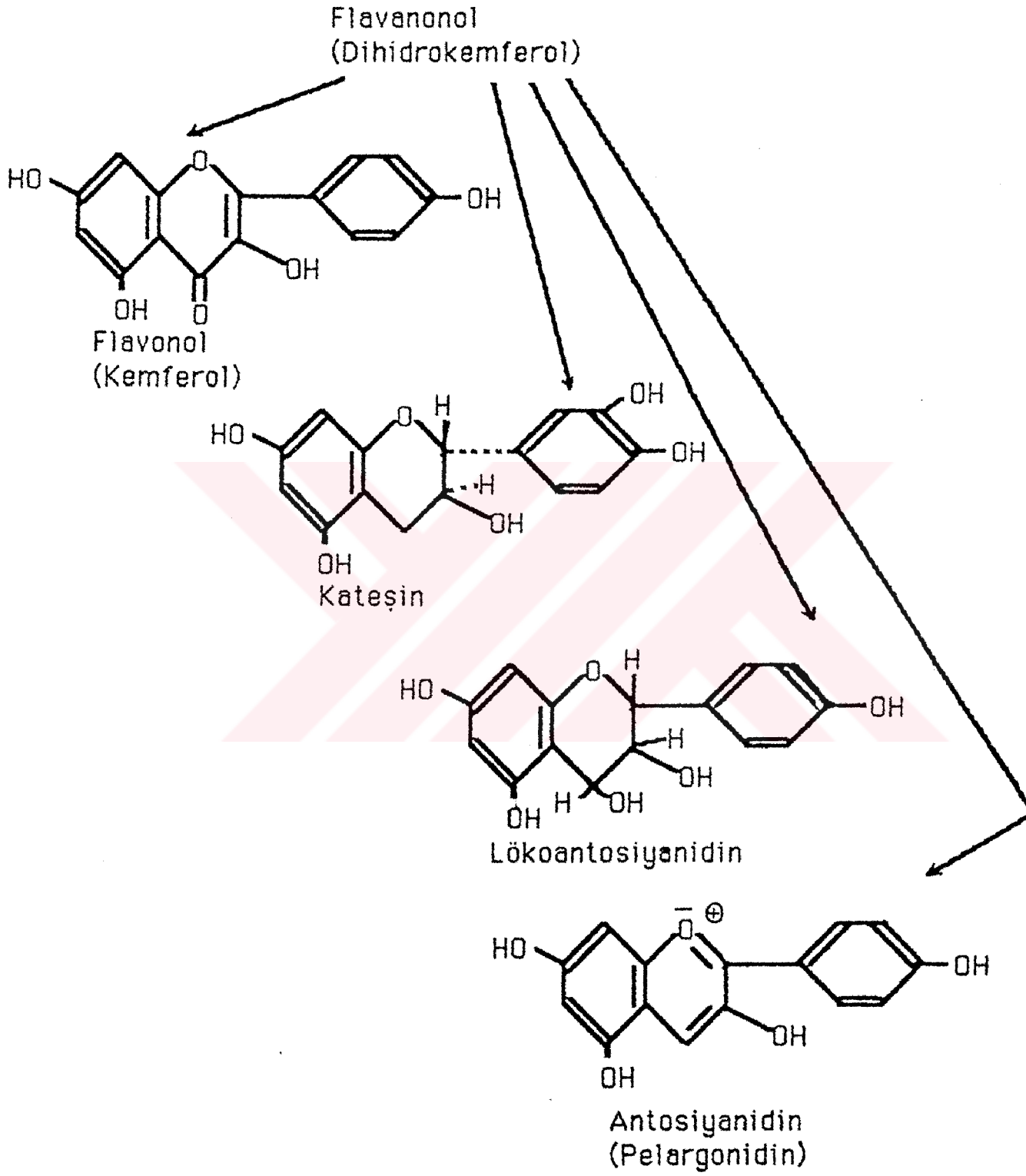
ATP  
Asetat-Koenzim  
A-Ligaz

3λ



Ara ürün



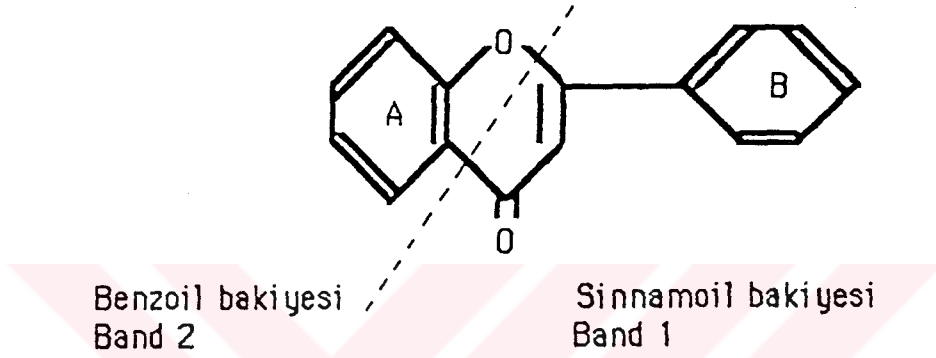


**Flavonoitlerin Biyosentezi ( 23, 104 ).**

## Ultraviyole absorpsiyon spektroskopisi ile Flavonol yapı tayini:(20, 21, 24).

Flavon ve Flavonollerin metanolde UV spektrumları:

Flavon ve flavonollerin metanol spektrumunda 240-400 nm bölgesinde iki major absorpsiyon piki görülür. Bu iki pik ekseriya Band 1 (genellikle 300-380 nm) ve Band 2 (genellikle 240-280 nm) olarak bilinir.



Band 1 B-halkası sinnamoil sistemine bağlı, Band 2 A-halkası benzoil sistemine bağlı olarak absorpsiyon gösterir. UV spektrumlarındaki veriler, süstitüe olmuş veya olmamış flavonoitlerin yapılarının aydınlatılmasında diğer spektroskopik yöntemlerle elde edilen verileri destekler. Eğer 250-275 nm arasında iki pik varsa yada tek pik ve omuz varsa 3',4'-OH taşıyan flavon yada flavonol olduğunu gösterir.

Metanol spektrumunda Band 1 in pozisyonu flavonoit tipi hakkında bilgi verir.

<u>Flavonoit tipi</u>	<u>Band 1 (nm)</u>
Flavonlar-----	304-350
Flavonoller (3-OH süstitüe)-----	328-357
Flavonoller (serbest 3-OH)-----	352-385

Flavon ve flavonollerde A-halkasında OH grupları arttıkça Band 1 çok az etkilenir, Band 2 de ise dikkate değer batokromik kayma görülür. Eğer flavon ve flavonol iskeletinde 3,5 veya 4' hidroksil grupları metillenirse veya ozlar bağlanırsa, özellikle Band 1 de hipsokromik kaymalar (kısa dalga boyuna doğru) görülür.

Fonksiyonel grupların konumunu tesbit için UV de çeşitli reaktifler kullanılır.

#### 1- NaOMe spektrumu

Sodyum metilat kuvvetli bazdır ve flavonoit çekirdeğindeki bütün hidroksil gruplarını iyonize eder. Serbest 3- ve/veya 4'-hidroksi grubu tesbiti için kullanılır. Flavon ve flavonollerin metanoldeki çözeltisine NaOMe eklenmesi ile genelde bütün absorpsiyon bandlarında batokromik kayma görülür. Band 1 in yaklaşık 40-65 nm geniş batokromik kayması ve aynı zamanda şiddetin düşmemesi, serbest 4'-hidroksil grubunun varlığını teşhis eder. Serbest 4'-hidroksil grubu olmaksızın flavonoller Band 1 de 50-60 nm batokromik kayma verir ve genelde pik şiddeti düşer. NaOMe spektrumunda MeOH spektrumuna göre 300-350 nm arasında üçüncü band meydana gelirse C-7 de serbest OH grubu vardır, band meydana gelmiyorsa C-7 bağlıdır veya C-7 de süstitüent yoktur.

#### 2- NaOAc spektrumu

Sodyum asetat NaOMe dan daha zayıf bir bazdır ve bu nedenle flavon ve flavonollerde yalnız fazla asidik hidroksil gruplarını iyonize eder ( Örn: 3,7 ve 4'-hidroksi grupları). 7-hidroksi grubunun iyonizasyonundan ana olarak Band 2 etkilenir, NaOAc özellikle 7-hidroksi gruplarının spesifik tayini için teşhis maddesidir. NaOAc varlığında Band 2 nin 5-20 nm batokromik kayması ve Band 1 de omuz varlığı serbest 7-hidroksi grubu içeren flavon ve flavonolleri gösterir. 5,6,7 de OH, 5,7,8 de OH veya 3,3',4' OH grupları içerenler alkaliye duyarlılığı olduğu için Band 2 de bozulma görülür.

#### 3- NaOAc+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> spektrumu

Sodyum asetat varlığında borik asit, C-5,6 daki hariç, flavonoit çekirdeğindeki bütün orto dihidroksi gruplarla şelat yapar. NaOAc+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> varlığında Band 1 in 12-30 nm batokromik kayması flavon ve flavonollerin B-halkasında orto dihidroksi grup içerdiğini gösterir. A halkasında 6,7 veya 7,8 dihidroksi grup içeren flavon ve flavonollerde Band 2 de 5-10 nm lik batokromik kayma verir.

#### 4- AlCl<sub>3</sub> ve AlCl<sub>3</sub>+HCl spektrumları

AlCl<sub>3</sub> ile flavon ve flavonollerin B halkasında orto dihidroksi gruplar arasında şelat oluşur. Ayrıca 3 ve 5-OH lerlede şelat yapar. B halkasındakiler aside dayanıksızdır, HCl ilavesi ile bu şelat parçalanır. Flavon ve flavonollerde 5-OH

varsa, Band 1 de 35-55 nm lik batokromik kayma görülür. 5-OH ve 6 da oksijen fonksiyonu varsa (OH/OCH<sub>3</sub>) Band 1 de 17-20 nm lik batokromik kayma görülür. AlCl<sub>3</sub> li çözeltiye HCl ilave edilince 30-40 nm lik Band 1 de hipsokromik kayma, B halkasındaki orto dihidroksi gruplarını gösterir. A halkasında orto dihidroksi grupları varsa Band 1 de 20-25 nm lik hipsokromik kayma gözlenir.





## 2 C- *Abies* Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

*Abies* türleri üzerinde yapılmış olan kimyasal araştırmalar, izole edilen bileşikler açısından incelenmiştir. Araştırmanın sonuçları uçucu yağlar, seskiterpenler, diterpenler, triterpenler, flavonoidler, tanenler ve lignanlar başlıkları altında toplanmıştır. *Abies* türleri ayrıca, organik asitler, mumlar v.b. bileşiklerde taşımaktadır ( 3 ).



## UÇUCU YAĞLAR

*Abies* türlerinin uçucu yağları üzerinde çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Bu araştırmalar genellikle bitkinin yaprakları, dal uçları, tohumları ve reçineleri üzerindedir.

Uçucu yağ yüzdeleri uçucu yağın elde edildiği kısma göre değişiklik göstermektedir. *Abies nordmanniana* yaprakları %0,24-%0,35 uçucu yağ taşımaktadır (25). *Abies amabilis* (Dougl.) yaprak uçucu yağı ortalama % 0,7 iken dal uçlarında ortalama % 0,4 bulunmuştur ( 26 ).

*A. semenovii* reçinesinde monoterpen olarak  $\alpha$ -pinen, kamfen,  $\beta$ -pinen,  $\Delta^3$ -karen,  $\beta$ -fellandren, limonen, mirsen,  $\gamma$ -terpinen içerdiği bulunmuştur (27).

1977 yılında E. von Rudloff ve R.S. Hunt tarafından *A. amabilis*' in yaprak ve dal uçlarının uçucu yağları üzerinde yapılan kemosistemik çalışmada ana içerik olarak (-)-  $\beta$ - fellandren, (+)-kar-3-en, (-)- $\beta$ -pinen, (-)- $\alpha$ -pinen, mirsen, (-)-limonen, terpinolen,  $\beta$ -seskifellandren ve  $\beta$ -bisabolen daha az oranda santen, trisiklen, kamfen, sabinen,  $\alpha$ -fellandren, cis- ve trans- osimen  $\gamma$ -terpinen, linalol, terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpineol, bornil asetat, metil timol, timol,  $\alpha$ -kubeben,  $\alpha$ -kopaen, karyofillen, humulen ve kadinen-murolen izomerleri ve bunların alkolleri tanımlanmıştır. Uçucu bileşenlerin tanımı gaz-sıvı kromatografisindeki tutulma zamanları ile karşılaştırılması,  $^1\text{H-NMR}$ , IR ve kütle spektroskopisi (GC-MS) ile yapılmıştır (26).

*A. sibirica* Ledeb.. uçucu yağlarındaki monoterpenler üzerinde yapılan bir çalışmada ise santen, trisiklen,  $\alpha$ -pinen, kamfen,  $\beta$ -pinen, mirsen, kar-3-en, dipenten,  $\beta$ -fellandren, terpinolen,  $\gamma$ -terpinen, bornil asetat bulunmuştur (28).

*Abies alba* Mill. in tohumlarının reçinesinde ise  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, kar-3-en, limonen bulunmuştur (29, 30).

1979 da *Abies* türleri üzerinde yapılan kemosistemik bir çalışmada

*A. lasiocarpa* (Hook.) Nutt. ve *A. bifolia* (A Murr.)' dan trisiklen, kamfen,  $\beta$ -pinen,  $\alpha$ -terpineol, mirsen,  $\beta$ -fellandren, borneol ve bornil asetat izole edilmiştir (31).

Kafkasya'da yetişen *A. nordmanniana* reçinesinde monoterpen olarak  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen,  $\beta$ -fellandren, kar-3-en, limonen, kamfen, mirsen bulunmuştur (32). *A. nordmanniana* yapraklarından elde edilen Oleum Abietis nordmanniana adlı uçucu yağ  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, kamfen ve borneol taşımaktadır (26).

*A. nephrolepis* Maxim. ise (+)- $\beta$ -sedrol taşımaktadır (33).

1989 yılında *A. concolor* (Gord. & Glend.) Hoopes yapraklarının uçucu yağında yapılan çalışmada monoterpen olarak trisiklen,  $\alpha$ -pinen, kamfen,  $\beta$ -pinen, mirsen,  $\alpha$ -fellandren,  $\Delta^3$ karen,  $\alpha$ -terpinen, p-simen, limonen, cis- $\beta$ -osimen,  $\gamma$ -terpinen, trans- $\beta$ -osimen, terpinolen, oksijenli monoterpen olarakta fenkon, linalol, d-kamfor, l-borneol, terpinen-4-ol, sitronellal, l-karvan, l-piperitan bulunmuştur (34).

*A. sachalinensis* (Fr. Schm.) Mast. yapraklarının uçucu yağ kompozisyonu ise K. Kenzo ve arkadaşları tarafından santen, trisiklen,  $\alpha$ -pinen, kamfen,  $\beta$ -pinen, sabinen,  $\delta$ -3-karen, mirsen,  $\alpha$ -fellandren,  $\alpha$ -terpinen, limonen,  $\beta$ -fellandren,  $\gamma$ -terpinen, p-simen,  $\alpha$ -terpinolen, hekzanol, (z)-3-hekzenol, asetik asit, fenkil asetat, linalol, linalil asetat, bornil asetat,  $\beta$ -karyofilen, nonanol,  $\alpha$ -humulen,  $\gamma$ -selinen,  $\alpha$ -terpinil asetat, borneol,  $\delta$ -kadinen, (E,E)- $\alpha$ -farnesen, p-simen-8-ol, nonadekan, nerolidol, heneikosan,  $\delta$ -kadinol, dokasan, trikosan olarak açıklanmıştır (35).

## SESKİTERPENLER

1989 yılında John F. Manvilla ve Alan S. Tracey tarafından Kolombiya' nın sahil kesiminde yetişen *A. lasiocarpa* (Hook.) Nutt. ve dağlarında yetişen *A. bifolia* üzerinde yapılan bir araştırmada *A. lasiocarpa* 'nın seskiterpenleri olarak z- $\alpha$ -atlanton, E- $\alpha$ -atlanton, lasiokarpenon (4R,1'S), lasiokarpenonal (4R,5R,1'S), juvabion (4R,1'R), epijuvabion (4R,1'S), 1'z-dehidrojuvabion (4R), 1'E-dehidrojuvabion (4R), juvabiol (4R,1'R,3'S), epijuvabiol (4R,1'S,3'S), 1'E dehidrojuvabiol (4R,3'S), 4'-dehidrojuvabion (4R,1'R), 4'-dehidroepijuvabion (4R,1'S) bulunmuştur. *A. lasiocarpa* 'yı *A. bifolia* 'dan ayıran en önemli kimyasal farklılık epijuvabion, 4'-dehidrojuvabion ve 4'-dehidroepijuvabion'ı taşımasıdır (36). *A. lasiocarpa* 'nın odunlarından yeni bir seskiterpen alkol olarak lasiokarpenonol izole edilmiştir (37).

*A. pinsabo* Boiss. 'nın odunundan ise seskiterpen olarak epitodomatoik asit, cis-dihidroepitodomatoik asit, 4'-dehidroepitodomatoik asit ve 3'-dihidroepitodomatoik asit izole edilmiştir (38).

*A. marocana* Trabut yapraklarından ise 1991 yılında A.F.Borrero ve arkadaşları tarafından seskiterpen hidrokarbon olarak  $\beta$ -karyofillen,  $\gamma$ -kadinen, cis-kalamenen,  $\alpha$ -kubenen,  $\alpha$ -kopaen,  $\alpha$ -humulen,  $\alpha$ -murolen,  $\gamma$ -murolen izole edilmiş ve yapıları kimyasal ve spektroskopik metodlar ile tanımlanmıştır (39).

*A. sachalinensis* 'in odunlarından yedi epijuvabion tipinde seskiterpen bulunmuştur. Bunlar (+) -4'- dehidroksoepijuvabion, (-) -4'- dehidroksojuvabion, epijuvabenol eter, 5'-hidroksiepijuvabion, Ar-dihidroksiepijuvabion, 3'-dehidroepijuvabi- 5'-ol, 3'- izodehidro epitatomatoik asittir (40).

Japon araştırmacılar Hokkaido' da doğal olarak yetişen *Abies sachalinensis* ' in odunlarındaki juvabion analoglarını araştırmışlar, bu araştırmada 4R,1'R konfigürasyona sahip juvabion tip seskiterpenler içeren juvabion grubu ile, 4R,1'S konfigürasyona sahip epijuvabion tip bileşikleri içeren epijuvabion grup olmak üzere iki grup oluşturmuşlardır (35). Yine *A. sachalinensis* odunundan metil- 4-(2-hidroksi- 1,5-dimetil- 3-oksohekzil)-

1-siklohekzen, 1-karboksilat, metil 1-hidroksi- 4-[1(S), 5-dimetil 3-oksoheksil]- 2-siklohekzen- 1-karboksilat, metil 4(R)- [1(R), 5-dimetil- 3-oksoheksil]- 3-okzo 1-siklohekzen- 1-karboksilat [(-)-okzoepijuvabion], (+)-okzojuvabion juvabion analogları olarak izole edilmiştir (41).

## DİTERPENLER

*Abies*türlerinin diterpenleri üzerinde yapılan çalışmalar genellikle abietan grubu diterpenler taşıdığını göstermiştir.

*Abies*'ler abietik, dehidroabietik, neoabietik, levopimarik, palustrik, izopimarik, sandarokopimarik ve pimarik asitleri taşımaktadır ( 42 ).

*A. gracilis* reçinesinden cis-abienol ve abietinol, neoabietik asit, palustrik asit bulunmuştur (43 ).

Kafkasya'da yetişen *A. nordmanniana* reçinesinden dehidroabietan ve abietadien izole edilmiştir (32 ).

*A.sibirica* 'nın yapraklarından endoperoksit diterpenler izole edilmiş, yapıları  $9\alpha$ ,  $13\alpha$ - epidioksi- 8(14)-abieten- 18-oik asit,  $8\alpha$ -  $12\alpha$ -epidioksi- $\beta$ -abieten- 18 oik asit ve bunların metil esterleri olarak aydınlatılmıştır (44 ). Reçinesinden 14,15- bis- nor-  $8\alpha$ -hidroksilabd- 11-en-13-on yapısında yeni bir diterpen hidroksi keton (45), neoabienol adında yeni diterpenik alkol izole edilmiştir (46 ).

*A. alba* reçinesinin ise %50,6 nötral diterpenleri içerdiği, bunun ise %0,48 hidrokarbonlara ve %38,5 oksijen içeren bileşiklere ait olduğu, çok miktarda cis-abienol içerdiği yapılan çalışmada gösterilmiştir (47 ). Odununun ise manool, 13-epimanool, abieta-8,11,13-trien, abieta-8,11,13- trien-7-on taşıdığı saptanmıştır (48 ).

*A.semenovii* reçinesinde bol miktarda cis-abienol, az miktarda palustrial,

abietinal, abietinol içermekte, asit bileşikler olarak ise abietik asit, neoabietik asit, sandarokopimarik asit, dehidroabietik asit, palustrik asit, levopimarik asit, izopimarik asit içermektedir ( 27 ).

*A.firma* Sieb. et Zucc.' nin tohumlarında ise izopimarinal, izopimarik asit, abietinal, abietik asit, dehidroabietinal, dehidroabietik asit, manool, 19-asetoksi- manool, torulosol, izopimarinol, abietinol ve dehidroabietinol bulunmuştur (49 ).

*A. balsamea*'nın iğne yapraklarından ve ladin ağacı tomurcuklarından, ladin ağacında bulunan kurtçuğa ve larvalara karşı toksik olan  $9\alpha$ -hidroksi-1,8(14),15- izopimaratrien- 3,7, 11-trion ve  $9\alpha$ -hidroksi 1,8(14), 15-izopimaratrien-3,11-dion yapısında diterpenler izole edilip, yapıları aydınlatılmıştır (50 ).

*A. maroccana* 'da 3 endoperoksit tipte diterpen izole edilmiştir. Bunlar metil 8,12  $\alpha$ -epidioksi- 13-abieten- 18-oat, metil 9,13  $\beta$ -epidioksi- 8(14)-abieten- 18-oat ve metil 9,13  $\alpha$ -epidioksi- 8(14)-abieten- 18- oat dır (51).

*A. pinsapo* 'da ise 3  $\beta$ -hidroksi- 13-epimanool, 13-epimanool, manool, abieta-7,13-dien, abieta-8,11,13-trien izole edilip, yapıları spektroskopik metodlar ile aydınlatılmıştır (52).

## TRİTERPENLER

*A. mariesii* Mast. bitkisinin gövde kabuğundan gammakran 3,21-dion, gammakran-3 $\alpha$ , 21  $\beta$ -diol, 3 $\alpha$ -hidroksigammakran- 21-on (53), diğ̈er bir çalışmada ise abieslakton, demetilabieslakton, neoabieslakton izole edilmiştir (54). Tohumlarda ise mariesiik asit A bulunmuştur (55).

*A. grandis* (Dougl.) Lindl. 'ten siklograndisolit, epi-siklograndisolit bileşikleri izole edilerek yapıları aydınlatılmıştır (56).

*A. firma* 'nın gövde kabuklarından 3 $\beta$ -hidroksi-9 $\beta$ -lanosta- 7,24-dien- 26-23R-olit, 27-hidroksi- 3-okzo-9 $\beta$ -lanosta- 7,24-dien- 26,23R-olit yapısında tetrasiklik triterpen lakton bulunmuştur (57). Yine kabuklarından diğ̈er bir çalışmada yeni bir triterpen lakton olan 3-okso-9 $\beta$ -lanosta-7,24-dien -26,23 R-olit bulunmuştur (58). Tohumlarından ise firmanoik asit, izofirmanoik asit, firmanolit, 23-epi-firmanolit izole edilmiştir (59).

*A. veitchii* Lindl. gövde kabuklarından hopan-3 $\alpha$ , 22-diol, gammakran-3 $\beta$ , 21 $\alpha$ -diol (60), veitkiolit ve abieslakton (61) izole edilmiştir.

*A. alba* 'nın yaprakları üzerinde yapılan bir çalışmada da 3  $\alpha$ -hidroksilanost-9(11)-en 26,23 olit, dihidrograndisolit, grandisolit, siklo-grandisolit ve abieslakton izole edilmiştir (62).

*A. sibirica*'dan abiesonik asit (63), kabuklarından, metoksilakton, abieslakton (64), yapraklarından ise 9 $\beta$ -H lanost- 7-en- 3-on (65), (22z)- 3-okso-9 $\beta$ -lanosta- 7, 22, 24-trien- 26, 23 olit, (22z) -3-okzolanosta-8(9), 22, 24-trien- 26, 23-olit (66), mariesianoit, etoksimariesienoit ve bunların metil esterleri (67), izofirmanoik asit (68), ayrıca yapraklarından yeni bir triterpen asit (69) izole edilmiştir.

## FLAYONOİTLER

Coniferae yaprakları üzerinde yapılan bir çalışmada *A. concolor*, *A. grandis*, *A. holophylla* Maxim. , *A. homolepis* S. et Z. , *A. numidica* De Lannoy ex Carr. f. *glauca* , *A. pinsapo glauca*, *A. veitchii* yapraklarının kemferol 3-O- $\beta$ -glukopiranozit ve kemferol 3-O- $\alpha$ -ramnopiranozit taşıdığı bulunmuştur (70).

*A. balsamea* ve *A. grandis* flavonoitleri üzerinde yapılan bir çalışmada her ikisinin de mirsetin-3-glukozit, larisitrin-3-glukozit, kemferol-3-glukozit, izoramnetin-3-glukozit, kemferol-3-(*p*-kumaril glukozit) bulunmuş, *A. grandis*'te ayrıca siringetin-3-glukozit 'inde varlığı tesbit edilmiştir (71).

*A. alba* ise flavonoit olarak kersetol, kersimeritrin (kersetol-7- $\beta$ -D-glukozit), izokersitrin (kersetol-3-glukozit), kemferol, aromadendrin (dihidrokemferol) bulunmuştur (72).

*A. amabilis* yapraklarından siringetin 3-O-rutinozit, kemferol 3-O-rutinozit, kersetin 3-O-rutinozit, larisitrin 3-O-rutinozit, izoramnetin 3-O-ramnozit, izoramnetin 3-O-galaktozit, izoramnetin 3-O-glukozit, kemferol 3-O-ramnozit, kemferol-3-O-galaktozit, kemferol 3-O-glukozit, kersetin 3-O-ramnozit, kersetin 3-O-galaktozit, kersetin 3-O-glukozit, larisitrin 3-O-ramnozit, larisitrin 3-O-galaktozit, larisitrin 3-O-glukozit, mirsetin 3-O-ramnozit, ramnosilviteksin (=Abietin), dihidrokersetin, odun ve kabuğundan ise dihidrokersetin 3'-O-glukozit (73), dihidrokemferol ve bunun 3'-O-glukoziti (74) bulunmuştur.

*A. neprolepis* kabuklarından kersetin, dihidrokersetin, kemferol (75), *A. neprolepis* ve *A. sibirica* yapraklarından ise kemferol, kersetin, kemferol 3-glukozit, izoramnetin 3-glukozit, kersetin 7-glukozit, kemferol 7-glukozit, kersetin 3-glukozit, apigenin-8 C- $\beta$ -D-glupiranozil- $\alpha$ -L-ramnopiranozit (=abietin) (76) bulunmuştur.

*A. webbianae* Lindl. yapraklarından 5, 3'', 7'' -trihidroksi- 7, 4', 4'''-trimetoksi (3', 6'')- biflavon (=Abiesin) adlı biflavonoit izole edilmiştir (77).



*Abies alba*, *A. balsamea*, *A. cephalonica*, *A. concolor*, *A. magnifica* Murr. , *A. marocana*, *A. nordmanniana*, *A. numidica*, *A. pindrow* Royle var. *brevifolia* Dallim. et Jacks *A. pinsapo*, *A. procera* Rehd.' nin C-gluko­zil flavonlar taşıdığı tesbit edilmiştir (78).

## TANENLER

*Abies* türleri kondanse tanen grubu maddeler taşımaktadır. *Abies* türleri prodelfinidin ( B halkasında 3', 4', 5',-trihidroksi tip ) içerirler (79 ).

*A. alba*, *A. balsamea*, *A. bracteata* D. Don, *A. cephalonica*, *A. concolor*, *A. excelsior* Franco, *A. holophylla*, *A. homolepis*, *A. koreana* Wils., *A. magnifica*, *A. marocana*, *A. nebrodensis* (Lojac.) Mattei, *A. nordmannian*, *A. numidica*, *A. pardei* Gaus­sen, *A. pindrow*, *A. pinsapo*, *A. procera*, *A. veitchii* türlerinin kuru materyalde proantosiyanlarının % mg/g miktarları verilmiş ve prodelfinidin, prosiyanidin miktarları hesaplanmıştır (80).

*A. nordmanniana* gövde ve kök kabukları %10 tanen taşımaktadır (25). *A. nordmanniana* 'nın kabukları üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise (+)-kateşin, (-)-epikateşin, (+)-gallokateşin tesbit edilmiştir (81 ). *A. firma* ve *A. sachalinensis* kabuklarının kateşin:epikateşin (2,3-trans:2,3-cis) ve çok az miktarda dimerik proantosiyanidinler ve polimerik proantosiyanidinler içerdiği (82) saptanmıştır.

*A. amabilis* ' de ekstre edilebilen tanen konsantrasyonu kuru ağırlık üzerinden mg/g cinsinden ve dış kabuk, iç kabuk ve odunu üzerinde incelenmiş , dış kabukta yüksek konsantrasyonda ekstre edilebilen tanen bulunmuştur (83).

Bu çalışmaların yanında *A. concolor* 'daki kompleks tanenlerin ise antitümör aktivite gösterdiği tesbit edilmiştir (84 ).

## LİGNANLAR

*A. sachalinensis* odunlarından todolaktol B, todolaktol C ve todolaktol D (85, 86), todolaktol A, (+)-epipinorezinol, (+)-pinorezinol, (-)-konidendrin adlı lignanlar (87), larisirezinol, izolarisirezinol, tetrahidro- $\alpha^4$ ,2-bis (4-hidroksi-3-metoksifenil)-3,4-furandimetanol (86) izole edilmiştir.

*A. sibirica* odunlarından sekoizolarisirezinol, 3,4-divaniltetrahidrofuran, liovil, larisirezinol, pinorezinol, olivil, matairezinol, hidroksimatairezinol (88), 9-vaniloksiloksi-4,4'-dihidroksi-3,3'-dimetoksi-7,9'-epoksilignan, 9-kumaroiloksi-8'-4,4'-trihidroksi-3,3'-dimetoksi-7,9'-epoksilignan, 9-feruloiloksi-8',4,4'-trihidroksi-3,3'-dimetoksi-7,9'-epoksilignan, 7-(4'-hidroksibenzoiloksi)-4,4'-dihidroksi-3,3'-dimetoksi-9,9'-lignanolit, 7-vaniloiloksi-4,4'-dihidroksi-3,3'-dimetoksi-9,9'-lignanolit, *A. sibirica*'nın yanında *A. nephrolepis*'den de izole edilmiştir (89). Ayrıca *A. nephrolepis*'den matairezinol, hidroksimatairezinol, 3,4-diviniltetrahidrofuran, (+)-pinorezinol, liovil, vanillin (90), liovil, larisirezinol, matairezinol, izolarisirezinol, pinorezinol ve hidroksimatairezinol'de (91) izole edilmiştir.

*A. pinsapo* odununun kloroformlu ekstresinden yeni lignan bileşiği olarak 4,4',9-trihidroksi-3,3'-dimetoksi-9,9'-epoksilignan, (9'R)-9'-hidroksilarisirezinol, (7'R)-7'-hidroksilarisirezinol, seskilignan olarak seskipinsapol C izole edilmiştir (92).

*Abies* yapraklarının lignanları üzerinde yapılan çalışmalarda liovil, larisirezinol, matairezinol, izolarisirezinol tesbit edilmiştir (93). Ayrıca *Abies* yapraklarında 2,3-dihidro-7-hidroksi-2-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-hidroksimetil-5-benzofuranpropanol, 1-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-2-[4-(3-hidroksiizopropil)-2-hidroksifenoksi]-1,3-propandiol, (+)-izolarisirezinol türevleri olan 5-6 lignan glikozitleri de saptanmıştır (94).



### **3- DENEYSEL KISIM**

## MATERYAL VE YÖNTEM

### MATERYAL

*Abies nordmanniana* subsp. *equi-trojani* (Ascher & Sint. ex Boiss.) Coode & Cullen: 22 Temmuz 1991 tarihinde Balıkesir ili, Edremit ilçesi, Kaz dağı Gürgen dağı serisinden toplanmıştır. Bitkisel materyal Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalının herbaryumunda bulunmaktadır. (HÜEF 91-126)

*Abies nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana* (Mattf.) Coode & Cullen: 15 Eylül 1992 de Ankara ili, Kızılcahamam ilçesi, Bozalan daki dere yatağından toplanmıştır. Bitkisel materyal Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalının herbaryumunda bulunmaktadır. (HÜEF 92-203)

Çalışmamızda bitkinin açık havada, gölgede kurutulan ve toz edilen genç dal kabukları, yaprakları ve kozalakları kullanılmıştır.

### YÖNTEM

Ekstraksiyon ve Yoğunlaştırma: Çalışmada toz edilmiş kozalak petrol eteri (40-60° C) ile, dal ve gövde kabukları metanol (≈90) ile, yapraklar metanol ile ekstre edilip, çeşitli solvanlar kullanılarak kolon kromatografisi ile fraksiyonlanmıştır. Yoğunlaştırma ve uçurma işlemleri rotavapor (40° C de) (Heidolph 5111 ve Buchi RE 111) ile yapılmıştır.

Sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemleri ve faz ayırımları ayırma hunisi yardımı ile gerçekleştirilmiştir.

### **Kromatografik Çalışmada Kullanılan Adsorbanlar:**

- KK (Kolon Kromatografisi): Silika jel (Kieselgel 60, 0,063-0,2 mm, Merck.Art.7734)  
 : Sephadex LH-20 (Pharmacia)
- OBSK (Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi): Sepralyte, RP-18, 20-45 µm
- YSK (Yakum Sıvı Kromatografisi): RP18 Orpegen 20-45 µm , 60 A
- İTK (İnce Tabaka Kromatografisi): Silika jel F 254 Alüminyum folyo hazır plak (0,2mm) (Merck 5554)  
 : Selüloz plak (0,25mm)  
 : Silika jel 60 HF 254 plak (0,9mm)  
 (preparatif ayırım için)

### **Kromatografik Çalışmada Kullanılan Solvan Sistemleri:**

Kromatografik yöntemlerin uygulanması sırasında kullanılan solvan sistemlerinin hazırlanmasında Merck kalitesinde solvanlar kullanılmıştır.

- KK : Sephadex LH-20 kolon: Etanol  
 (Petrol eteri:Kloroform:Metanol) (7:4:1)
- Silika jel kolon : (Petrol eteri:Etilasetat) (85:15) (90:10)  
 (n-Hekzan:Etilasetat) (90:10) (98:2) (96:4)  
 (n-Hekzan:Eter) (99:1)
- Alüminyum oksit kolon: (n-Hekzan:Eter) (99:1)
- YSK RP-18 kolon: (Metanol:Su) (50:50) (70:30) (25:75)
- RP-18 kolon (OBSK): (Metanol:Su) (30:70) (35:65) (40:60)
- İTK: (Toluen:Aseton:Formik asit) (30:30:6)  
 (Sikloheksan:Etilasetat) (8:2)  
 (Kloroform:Etilasetat) (6:4)  
 (Su:Dioksan) (10:1)  
 (Kloroform:Metanol:Su) (64:36:7)  
 (Benzol:Aseton) (8:2)  
 (n-Butanol:Glasiyel asetik asit:Su) (4:1:5)

**Lekelerin belirlenmesi:**

UV 254/366 nm (Camag UV lambası kullanılarak)

Vanilin (%1): der. Sülfürik asit , (110 ° C de 5-10 dk.)

NA: 2-aminoetildifenilborinat'ın metanoldeki %11lik çözeltisi

Timol %1: der. Sülfürik asit

Kromatografi tankı: Camag, 22x23x8 cm

**Fiziksel Yöntemler:**

UV spektrumlar ( $\lambda$  max): Shimadzu UV-160A (Metanol)

IR spektrumlar ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ ): Perkin-Elmer FT-IR 1720 x (%1 KBr pelletleri)

$^1\text{H}$ -NMR spektrumlar : Bruker WM-199,975 MHz ve JNMA 500 FT-NMR 500 MHz

$^{13}\text{C}$ -NMR spektrumlar: Bruker WM 50,29 MHz ve JNMA 500 FT-NMR 125 MHz

OBSK: Kolon boyutları:Lobomatic AG, 18x352 mm

Pompa: LEWA M5

Basınç: 10-15 bar

İnjektör: Rheodyne (Loop 0,5, 1 ve 5 ml)

Adsorban: Karşıt faz kolon dolgu materyali, Sepralyte RP-18  
(Analytichem), 25-40  $\mu\text{m}$

Solvan sistemi: Değişik oranlarda Su:Metanol karışımı

Akış hızı: 4,5-5 ml/dk.

Fraksiyon toplayıcı: LKB 17000 Minirac

Fraksiyon miktarı: 5-10 ml

Liyofilizasyon: Virtis Freeze mobile 6

## Kimyasal Yöntemler

### Asetilasyon:

100 mg madde 0,8 ml susuz piridin ve 1 ml asetik asit anhidritli ortamda 24 saat karanlıkta bekletilir. Buzlu su yardımı ile çökmesi sağlanır. Çökelek G<sub>4</sub> filtreden süzülür. Piridin kokusu kalmayınca kadar buzlu su ile yıkanır. Çökelek aseton (Merck) ile çözülüp alınır. Kuruluğa kadar rotavaporda uçurulur, kloroform (Merck) ile çözülür ve alınır. Kuruluğa kadar rotavaporda uçurulur. Liyofilize edilir.

### Asit Hidroliz:

Madde (2mg) metanolde çözüldü, üzerine aynı hacimde 2N HCl kondu. 1 saat 100 ° C de su banyosunda ısıtıldı. Yoğunlaştırıldı. 5 defa 5 er ml eter ile çalkalandı. Eterli kısım (Aglikon) ve sulu kısım ayrıldı. Sulu faz NaHCO<sub>3</sub> ile nötralize edildi. Vakumda, 50 ° C de kurutuldu. Bakiye piridinde çözüldü. Piridinli kısım ayrılıp, yoğunlaştırıldı.(=Oz)

### NaBH<sub>4</sub> ile Redüksiyon:

87,67 mg madde (=Abietal) tartıldı ve alındı. 180 mg NaBH<sub>4</sub> tartıldı ve petrol eteri ile yıkandı, kurutuldu. NaBH<sub>4</sub> 20 ml metanol (Merck) de çözüldü. Madde 5 ml etilasetat da çözüldü. İki çözelti birbirine karıştırılıp 4 saat bekletildi. Üzerine 10 ml su ilave edildi. Ardından eterle çalkalandı ve eterli faz alınıp, susuz Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile suyundan kurtarıldı, yoğunlaştırıldı. Madde (=Abietinol) elde edildi.

### Wilson-Tauböck renk reaksiyonu:

1-2 mg flavonoid birkaç damla aseton da ısıtıldı, üzerine küçük bir spatül ucu ile ince toz edilmiş borik asit ve ince toz edilmiş oksalik asit ilave edildi ve kuruluğa kadar uçuruldu. Sarı renkli bakiye 10 ml eterde çözüldü, eterli çözelti 5-hidroksi flavonol ve 5-hidroksi flavonların mevcudiyeti nedeni ile UV ışığında (366 nm) sarı yeşil floresan gösterdi.

**Zirkonyum - sitrik asit reaksiyonu:**

3-5 mg flavonoit 10 ml metanol de çözüldü ve 1 ml metanollü zirkonyum ( IV ) oksiklorür (  $ZrOCl_2$  ) çözeltisi ( %2 a/h ) ilave edildi. Koyu sarı renkli bir çözelti oluştu. Onun üzerine % 2 ( a/h ) lik metanollü sitrik asit çözeltisi ilave edilip , su ile 50 ml ye tamamlandığında birkaç dakika içinde sarı rengin kaybolması C-3 pozisyonunda OH grubunun olmadığını veya C-3 deki OH grubunun metillenmiş olduğunu ya da heterozit teşkil etmiş bulunduğunu gösterir.



## EKSTRAKSİYON ve İZOLASYON ÇALIŞMALARI

Çalışmamızda ekstraksiyon ve maddelerin izolasyonu sırasında Materyal ve Yöntem kısmında verilen malzeme ve yöntemler kullanılmıştır.

### EKSTRAKSİYON:

*Abies nordmanniana* subsp. *equi-trojani* :

**KOZALAK:** Toz edilmiş materyal (2,3 kg) 5 lt petrol eteri (40-60 ° C) ile 48 saat maserasyona tabi tutuldu. Petrol eteri rotavapor yardımı ile uçuruldu. Yoğun ekstre % 5 lik  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ile ekstre edildi. Fazlar ayırma hunisi yardımı ile ayrıldı. Petrol eterli kısım (Nötral fraksiyon) ve  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  lı fraksiyon olmak üzere iki kısım elde edildi.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  lı fraksiyon %10 luk HCl yardımı ile asitlendirildi (Asitlik turnusol kağıdı ile kontrol edildi.) ve petrol eteri ile ayırma hunisinde ekstraksiyona tabi tutuldu. Petrol eterli fraksiyon (=Asit fraksiyon) ve HCl li fraksiyon (=Artık) olmak üzere iki kısım elde edildi.

**YAPRAK:** Toz edilmiş materyal (280 g ) 2 lt metanol ile ekstre edildi. Metanol rotavapor yardımı ile yoğunlaştırıldı. Yoğun ekstre petrol eteri ile ekstre edilerek pigmentler gibi lipofilik maddelerinden kurtarıldı. Petrol eterli kısım ayrıldı. Kalan kısım etilasetat ile ekstre edildi. Etilasetatlı fraksiyon ayrılıp, yoğunlaştırıldı.

**GENÇ DAL KABUKLARI:** Toz edilmiş materyal (400 g ) 3x1,5 lt metanol ve mekanik karıştırıcı yardımı ile ekstre edildi. Metanol rotavapor yardımı ile uçuruldu. Bakiye suda çözüldü ve petrol eteri ile ekstre edildi. Petrol eterli ve sulu faz olmak üzere iki faz ayrıldı. Sulu faz etilasetat ile ekstre edildi. Buradan elde edilen etilasetatlı faz yoğunlaştırıldı. Kalan sulu faz n-butanol ile ekstre edildi. n-Butanol fazı yoğunlaştırıldı.

*Abies nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana*:

**KOZALAK:** Toz edilmiş materyal ( 1,8 kg) 5 lt petrol eteri (40-60° C) ile 48 saat maserasyona tabi tutuldu. Petrol eteri rotavapor yardımı ile uçuruldu. Yoğun ekstre kolon kromatografisine tabi tutuldu.

**YAPRAK:** Toz edilmiş materyal ( 400 g ) 2 lt metanol ile ekstre edildi. Metanol rotavapor yardımı ile yoğunlaştırıldı. Yoğun ekstre petrol eteri ile ekstre edilerek pigmentler gibi lipofilik maddelerinden kurtarıldı. Petrol eterli kısım ayrıldı. Kalan kısım etilasetat ile ekstre edildi. Etilasetatlı fraksiyon ayrılıp, yoğunlaştırıldı.

## İZOLASYON

*A. nordmanniana* subsp. *equi-trojani* bitkisinin kozalaklarından elde edilen Asit faz ve Nötr faz İTK ile sikloheksan:etilasetat(8:2) solvan sistemi ve Vanilin (%1): der. sülfürik asit reaktifi kullanılarak yapılan kontrolde diterpenik maddeler yönünden zengin olduğu belirlenmiştir.

6 g Asit faz silika jel adsorban (60 g) (Kolon:3cm x 80cm) ve petrol eteri ile hazırlanan kolona tatbik edildi. Artan polaritede solvan sistemi (petrol eteri:etilasetat) kullanılarak yapılan elüsyon sonucu toplanan fraksiyonlar İTK ile sikloheksan:etilasetat (8:2)solvan sistemi kullanılarak kontrol edildi. Petrol eteri:etilasetat (85:15)solvan sistemi ile elüe olan ve saf olan Fr(17-29) (= Abietik asit) birleştirilerek yoğunlaştırıldı. (Her fraksiyon 25 ml)

8gNötral faz silika jel adsorban (80 g) (Kolon:3cm x 80cm) ve petrol eteri ile hazırlanan kolona tatbik edildi. Artan polaritede solvan sistemi (petrol eteri:etilasetat) kullanılarak yapılan elüsyon sonucu toplanan fraksiyonlar (her fraksiyon 20 ml) İTK ile sikloheksan:etilasetat (8:2) solvan sistemi kullanılarak kontrol edildi. Petrol eteri:etilasetat (90:10) solvan sistemi ile elüe olan Fr(16-20) birleştirildi ve yoğunlaştırıldı. Fr(16-20) Sephadex LH-20 adsorban (Kolon:2cm x 75cm) ve petrol eteri:kloroform:metanol (7:4:1) solvan sistemi ile hazırlanan kolona tatbik edildi. Aynı solvan sistemi

ile elüsyon yapıldı. ( Her fraksiyon 20 ml ) Toplanan fraksiyonlar İTK ile sikloheksan:etilasetat (8:2) solvan sistemi kullanılarak kontrol edildi. Fr(2) yoğunlaştırıldı. Fr(2) sikloheksan:etilasetat (8:2) solvan sisteminde preparatif ayırma tabi tutuldu ve madde saflaştırıldı. (Fr(2)) = [ (-)-Abietinal ]

*Abies nordmanniana* subsp. *equi-trojani* bitkisinin yapraklarından elde edilen petrol eteri ekstresi İTK ile sikloheksan:etilasetat (8:2) solvan sistemi kullanılarak yapılan kontrolde diterpenik maddeleri içerdiği belirlenmiştir.

Petrol eteri ekstresi silika jel adsorban (100g) (Kolon:3cm x 80 cm) ve n-hekzan ile hazırlanan kolona tatbik edildi. Artan polaritede solvan sistemi (n-hekzan:etilasetat) kullanılarak yapılan elüsyon sonucu toplanan fraksiyonlar (her fraksiyon 50 ml) İTK ile sikloheksan:etilasetat (8:2) solvan sistemi ve Vanilin ( %1): der. sülfürik asit reaktifi kullanılarak kontrol edildi. n-Hekzan:etilasetat (90:10) solvan sistemi ile elüe olan Fr(2) yoğunlaştırıldı ve tekrar silika jel adsorban (40g) ve n-hekzan ile hazırlanmış kolona (Kolon:2cm x 75cm) tatbik edildi. Artan polaritede solvan sistemi (n-hekzan:eter) kullanılarak yapılan elüsyon sonucu toplanan fraksiyonlar (her fraksiyon 20 ml) İTK ile sikloheksan:etilasetat (8:2) solvan sistemi kullanılarak kontrol edildi. n-Hekzan:eter (99:1) solvan sistemi ile elüe olan saf madde Fr(99-102) (= cis- Abienol ) birleştirilerek yoğunlaştırıldı.

*A. nordmanniana* subsp. *equi-trojani* bitkisinin yapraklarından elde edilen etilasetat ekstresinin İTK ile toluen:aseton:formik asit (30:30:6) solvan sistemi kullanılarak yapılan kontrolünde ekstrenin flavonoidleri içerdiği belirlenmiştir. (Reaktif: NA)

Metanol ekstresinin etilasetat ile tüketilmesi ile hazırlanan etilasetat ekstresi (5,372 g) Sephadex LH-20 adsorban ve etanol ile hazırlanan kolona (Kolon:3cm x 80cm) tatbik edildi. Etanol ile yapılan elüsyon sonucu toplanan fraksiyonlar (her fraksiyon 50 ml) İTK ile toluen:aseton : formik asit (30:30:6) ve selüloz plak ile su: dioksan (10:1) solvan sistemleri kullanılarak kontrol edildi. Fr(4-5) ve Fr(6) yoğunlaştırıldı. Fr(6) VSK-RP-18 kolona (kolon:2 cm x 40 cm) tatbik edildi ve artan oranlarda

su : metanol solvan sistemi kullanılarak yapılan elüsyon sonucu toplanan fraksiyonlar ( her fraksiyon 15 ml ) İTK ile toluen : aseton : formik asit ( 30: 30: 6 ) solvan sistemi kullanılarak kontrol edildi. Su: metanol ( 60:40 ) solvan sistemi ile elüe olan Fr ( 17-21 ) (=Mirsetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit) yoğunlaştırıldı ve madde saf olarak elde edildi. Fr ( 4-5 ) OBSK ile RP-18 adsorban ve artan oranda su: metanol solvan sistemi kullanılarak elüsyona tabi tutuldu. Su:metanol (70:30) solvan sisteminde elüe olan fraksiyonlar (her fraksiyon 20 ml) İTK ile toluen: aseton: formik asit (30:30:6) solvan sistemi kullanılarak kontrol sonucu Fr(30-35) ve Fr(85-100) (=Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit)birleştirildi. Fr(30-35) Sephadex LH-20 kolona (Kolon:2cm x 75cm) tatbik edildi ve artan oranda su:metanol solvan sistemi ile elüsyona tabi tutuldu. Su:metanol (85:15) solvan sistemiyle elüe olan Fr(3-4) ( = Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil (1 $\rightarrow$ 2)  $\beta$ -D-glukopiranozit- 8-C- $\beta$ -D-glukopiranozit ) birleştirilip, yoğunlaştırıldı.

*A. nordmanniana* subsp. *equi-trojani* bitkisinin dal kabuklarından elde edilen n-butanol ekstresi İTK ile toluen: aseton: formik asit (30:30:6) solvan sistemi ve Vanilin (%1) : der. sülfürik asit reaktifi kullanılarak yapılan kontrolde kondanse tanenler yönünden zengin olduğu belirlenmiştir.

n-Butanol ekstresi Sephadex LH-20 adsorban , etanol ile hazırlanan kolona (Kolon:3cm x 80cm) tatbik edildi. Etanol ile yapılan elüsyon sonucu toplanan fraksiyonlar (her fraksiyon 50 ml) İTK ile toluen: aseton: formik asit (30:30:6) solvan sistemi kullanılarak kontrol edildi. Fr(4) ve Fr(5-8) yoğunlaştırıldı. Fr(4) susuz piridin ve asetik asit anhidrit ile asetilasyon sonucu (+)-kateşin pentaasetat elde edildi. Fr(5-8) VSK-RP-18 kolona tatbik edildi ve artan oranlarda su: metanol solvan sistemi kullanılarak yapılan elüsyon sonucu toplanan fraksiyonlar İTK ile toluen: aseton: formik asit (30:30:6) solvan sistemi kullanılarak kontrol edildi. Su: metanol (75:25) solvan sistemi ile elüe olan Fr(3-5) ilk önce susuz piridin ve asetik asit anhidrit ile asetilasyona tabi tutuldu. Buradan preparatif İTK ile kloroform:etilasetat (7:3) solvan sistemi kullanılarak (+)-gallokateşin hekzaasetat ve (-)-epigallokateşin hekzaasetat ayrıldı.

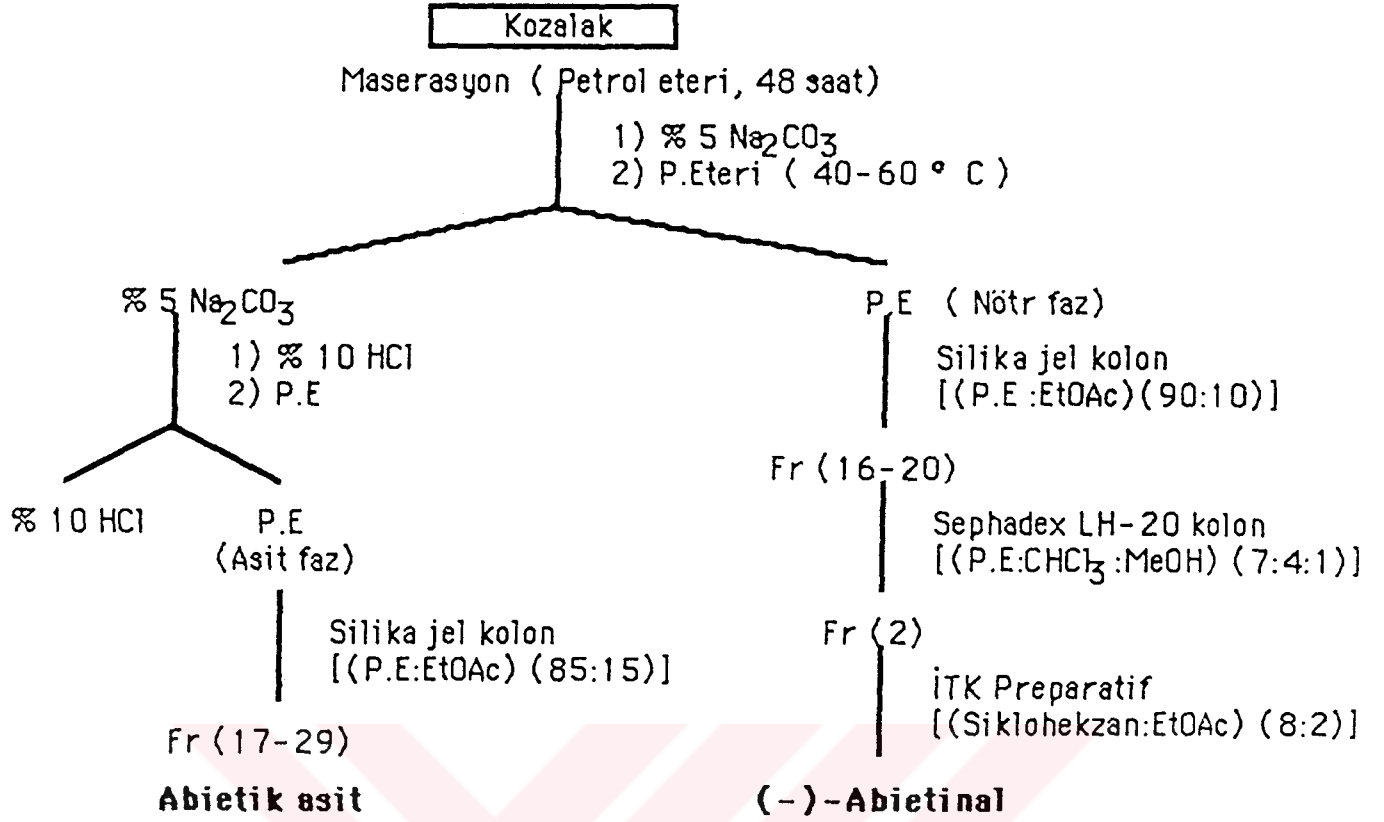
*A. nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana* bitkisinin kozalaklarından elde edilen petrol eteri ekstresi İTK ile sikloheksan:etilasetat (8:2) solvan sistemi kullanılarak yapılan kontrolde diterpenik maddeler yönünden zengin olduğu belirlenmiştir.

Petrol eteri ekstresi (76 g) silika jel adsorban (380g) ve petrol eteri ile hazırlanan kolona (Kolon:4,5cm x 80cm) tatbik edildi. Artan polaritede solvan sistemi (petrol eteri:etilasetat) kullanılarak yapılan elüsyon sonucu toplanan fraksiyonlar (her fraksiyon 150 ml) İTK ile sikloheksan:etilasetat (8:2) solvan sistemi kullanılarak kontrol edildi . Petrol eteri: etilasetat (90:10) solvan sistemi ile elüe olan Fr(45-48) birleştirilerek yoğunlaştırıldı. Fr(45-48) silika jel adsorban (35g) ve hekzan ile hazırlanmış kolona (Kolon:2cm x 75cm) tatbik edildi ve artan oranlarda hekzan: eter ile elüsyona tabi tutuldu. Toplanan fraksiyonlar (her fraksiyon 20 ml) İTK ile sikloheksan: etilasetat (8:2) solvan sistemi kullanılarak kontrol edildi ve hekzan: eter (98:2) solvan sistemi ile elüe olan Fr(15-17) ve hekzan: eter (96:4) solvan sistemi ile elüe olan Fr(51-64) birleştirildi ve yoğunlaştırıldı. Fr(15-17) alüminyum oksit kolondan (35g) (Kolon:2cm x 75cm), hekzan: eter (99:1) solvan sistemi ile elüsyona tabi tutuldu. (Her fraksiyon 20 ml) İTK ile sikloheksan: etilasetat (8:2) solvan sisteminde fraksiyonların kontrolü sonucu Fr(5-27) birleştirilip yoğunlaştırıldı. Bu fraksiyonu saflaştırma işlemi preparatif İTK ile sikloheksan: etilasetat (8:2) solvan sistemi yardımı ile yapıldı [ = (-)-Abietinal ]. Fr(51-64) preparatif İTK ile sikloheksan: etilasetat (8:2) solvan sisteminde temizlendi ( = Abietik asit ).

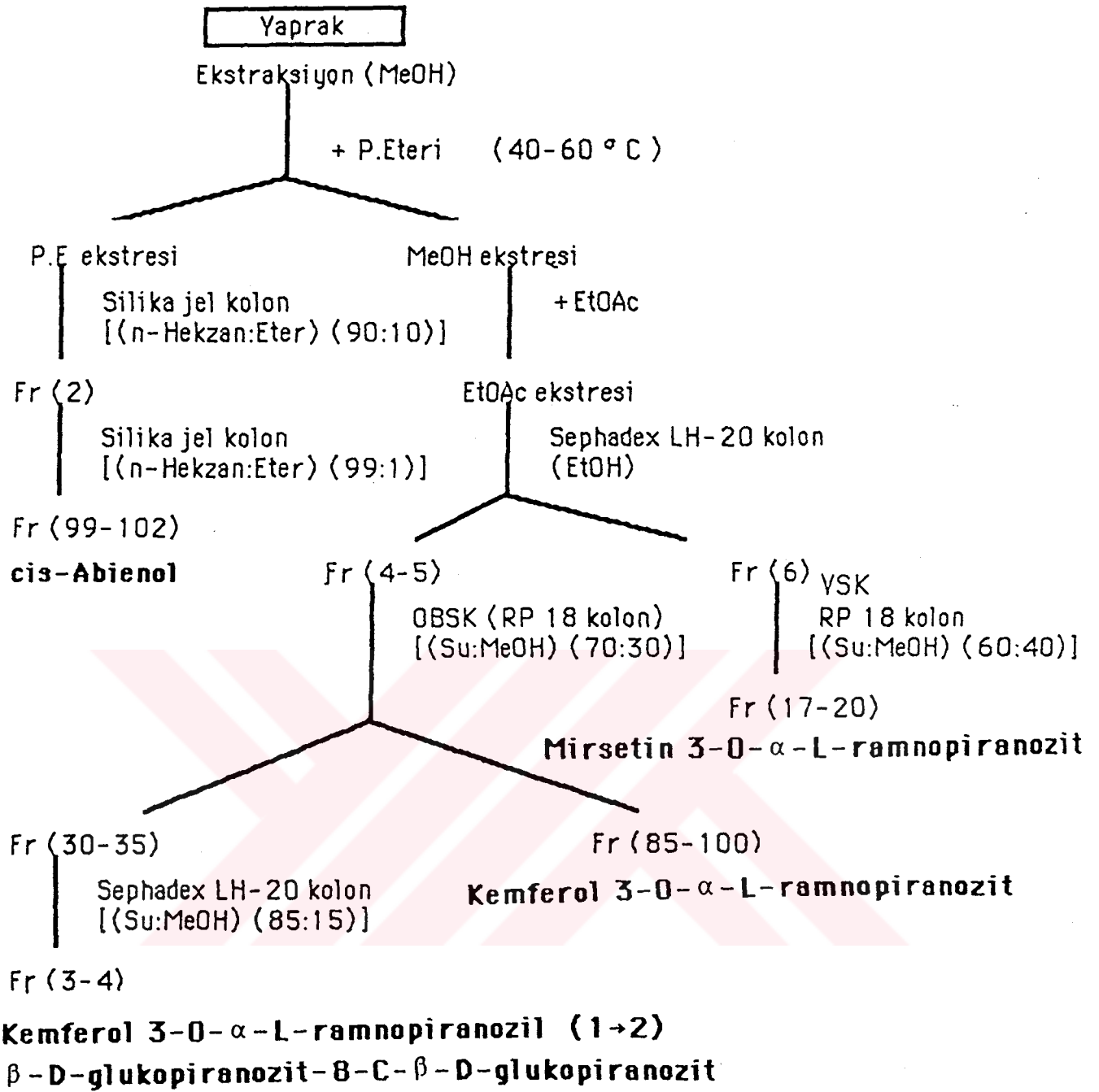
*A. nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana* bitkisinin yapraklarından elde edilen etilasetat ekstresi İTK ile toluen: aseton: formik asit (30:30:6) solvan sistemi kullanılarak NA ile yapılan kontrolde flavonoidleri içerdiği belirlenmiştir.

Etilasetat ekstresi (8,95g) Sephadex LH-20 adsorban ve etanol ile hazırlanan kolona (Kolon:3cm x 80cm) tatbik edildi. Etanol ile yapılan elüsyon sonucu toplanan fraksiyonlar (her fraksiyon 100 ml) İTK ile toluen: aseton: formik asit (30:30:6) solvan sisteminde kontrol edildi. Fr(5-7)yoğunlaştırıldı. Fr(5-7) VSK RP-18 kolonda artan oranda su:metanol solvan sistemi kullanılarak elüsyona tabi tutuldu. İTK ile kontroller sonucu su:metanol

( 50:50 )solvan sistemi ile elüe olan Fr ( 4-7 ) ve su: metanol ( 30:70 ) solvan sistemi ile elüe olan Fr ( 8 ) yoğunlaştırdı. Fr ( 4-7 ) OBSK ile RP-18 kolonda ( Kolon : 2,5 cm x 44 cm ) artan oranda su : metanol ile elüsyona tabi tutuldu. Su : metanol ( 65 : 35 ) ile elüe olan Fr ( 39-47 ) (=Mirsetin 3-O- $\alpha$ -L- ramnopiranozit) ve Fr(52-65) (=Kersetin 3-O- $\beta$ -D-galaktopiranozit) ve su:metanol (60:40) ile elüe olan Fr(69-76) (=Kersetin 3-O- $\alpha$ -L- ramnopiranozit) ve Fr(109-112) (=Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit) İTK ile toluen: aseton: formik asit (30: 30:6 ) solvan sisteminde kontroller sonucu toplandı ( Revalatör: Vanilin (‰1) der. sülfürik asit ). Fr 8 ise Sephadex LH-20 adsorban ve etanol ile hazırlanan kolona ( Kolon: 2 cm X 75 cm ) konup, etanol ile elüsyon ( her fraksiyon 20 ml ) ve İTK ile kontroller sonucu Fr ( 16-18 ) (=Tilirozit ) [ = Kemferol 3-O-(6''-O-p-kumaroil )  $\beta$ -D-glukopiranozit ] elde edildi.

*Abies nordmanniana* subsp. *equi-trojani*

*Abies nordmanniana* subsp. *equi-trojani*





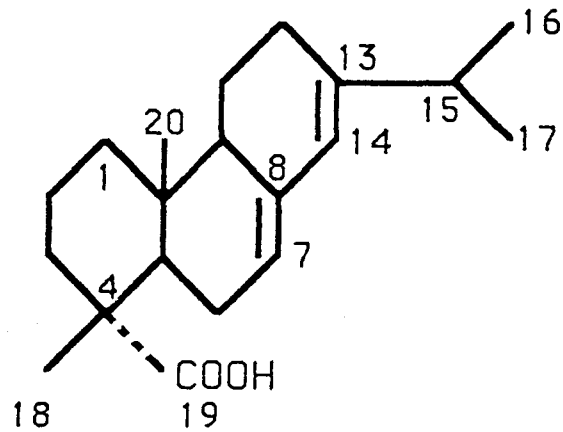








4- BULGULAR

**Abietik asit**
 $C_{20}H_{30}O_2$ 

Mol.ağ: 302,45

 UY  $\lambda$  maks. ( MeOH ) nm : 241

 IR  $\nu$  maks. ( % 1 KBr )  $cm^{-1}$ : 1697 ve 2400-3200 ( COOH )

 $^1H$  NMR ( 200 MHz,  $CDCl_3$  ) Spekt. : Spektrum 2 ; Tablo 1

 $^{13}C$  NMR ( 50,29 MHz,  $CDCl_3$  ) Spekt. : Spektrum 3 ; Tablo 1

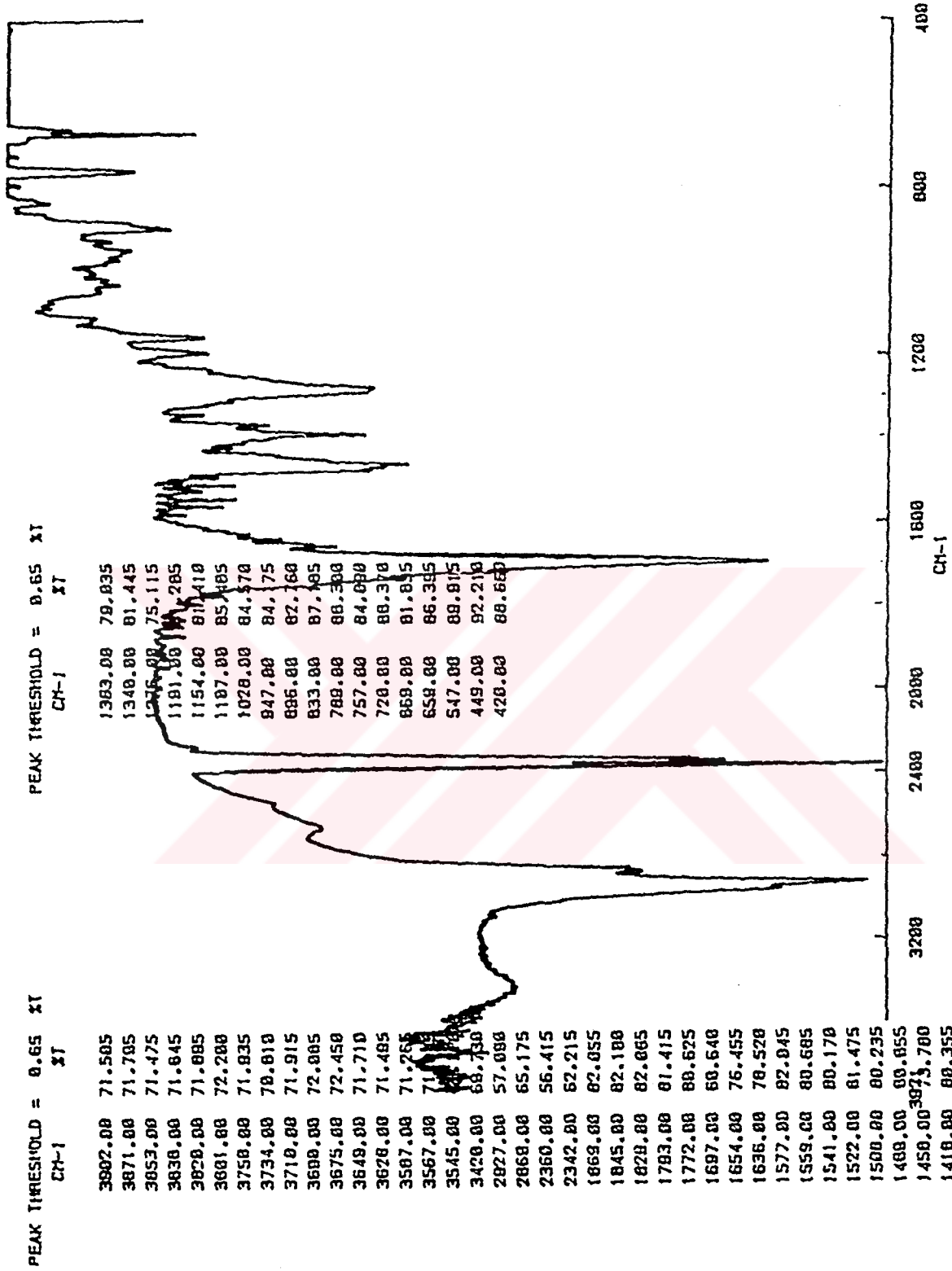
## Abietik asit

IR spektrumunda  $1697\text{ cm}^{-1}$  deki pik C=O gerilim titreşiminden ve  $2400-3200\text{ cm}^{-1}$  arasındaki pikler ise COOH deki OH grubunun titreşiminden ileri gelmektedir. UV metanol spektrumunda  $241\text{ nm}$  de absorpsiyon maksimumu,  $235,2\text{ nm}$  ve  $249,4\text{ nm}$  deki omuzla birlikte 7-13 abietadienler için karakteristiktir.

Bileşiğin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu incelendiğinde  $5,36\text{ ppm}$  de multiplet şeklinde görülen H-7 ye ait sinyal ve  $5,77\text{ ppm}$  de singlet şeklinde H-14 e ait sinyal görülmektedir. C-13 e bağlı izopropil grubunun metil sinyalleri  $1,01\text{ ppm}$  de 6 protonluk çift dublet şeklinde ( $J=1,5/6,8\text{ Hz}$ ) görülmektedir. C-4 e bağlı diğer metil sinyali ise  $1,23\text{ ppm}$  de 3 protonluk singlet,  $0,83\text{ ppm}$  de ise C-10 a bağlı metil sinyali 3 protonluk singlet şeklinde görülmektedir. C-4 e bağlı  $9,85\text{ ppm}$  deki 1 protonluk br.s karboksil grubuna aittir ( 95 ).

Bileşiğin  $^{13}\text{C-NMR}$  spektrumu incelendiğinde 20 tane karbon atomu sinyali bulunduğu görülmektedir.  $120,5\text{ ppm}$  de C-7,  $135,6\text{ ppm}$  de C-8 e ait sinyallerin,  $145,1\text{ ppm}$  de C-13,  $122,7\text{ ppm}$  de C-14 e ait sinyallerin ( yani düşük alana kaymış olarak ) görülmesi, C -7 ve C-8 arasında ve C-13 ve C-14 arasında çifte bağın bulunduğunu gösterir.  $185\text{ ppm}$  de görülen pik C-19 a bağlı karboksil grubundan ileri gelmektedir.  $20,9\text{ ppm}$  de C-16,  $21,5\text{ ppm}$  de C-17,  $16,7\text{ ppm}$  de C-18 ve  $14,1\text{ ppm}$  de C-20 nin yüksek alanda gözlenmesi metil gruplarının varlığını göstermektedir ( 95 ).

Bu bilgiler ışığında bileşik abietik asit olarak tanımlanmıştır.

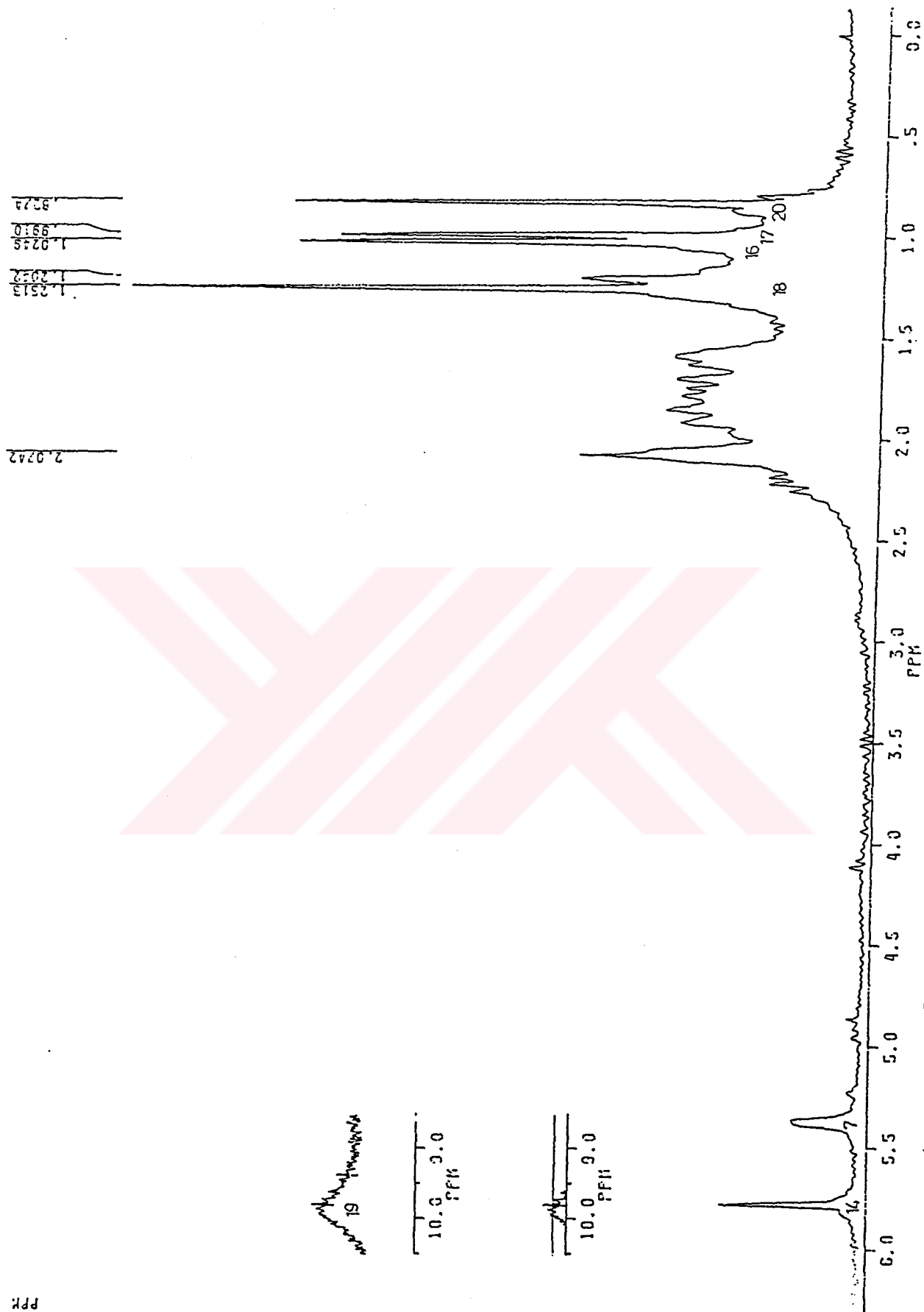


Spektrum 1: Abietik asit'in IR Spektrumu

H	$\delta$ (ppm)	C-Atom	$\delta$ (ppm)	C-Tipi
H-7	5,36 m	C-1	38,4	CH <sub>2</sub>
H-14	5,77 s	C-2	18,1	CH <sub>2</sub>
H-16	} 1,01 dd (J=1,5/6,8 Hz)	C-3	37,3	CH <sub>2</sub>
H-17		C-4	46,4	C
H-18	1,23 s	C-5	45,1	CH
H-19	9,85 br.s	C-6	25,7	CH <sub>2</sub>
H-20	0,83 s	C-7	120,5	CH
		C-8	135,6	C
		C-9	51,1	CH
		C-10	34,6	C
		C-11	22,6	CH <sub>2</sub>
		C-12	27,5	CH <sub>2</sub>
		C-13	145,1	C
		C-14	122,7	CH
		C-15	34,9	CH
		C-16	20,9	CH <sub>3</sub>
		C-17	21,5	CH <sub>3</sub>
		C-18	16,7	CH <sub>3</sub>
		C-19	185,0	COOH
		C-20	14,1	CH <sub>3</sub>

Tablo: 1 Abietik asit'in <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR Spektral Değerleri





Spektrum 2: Abietik asit' in 1 H-NMR (200 MHz, CDCl 3 ) Spektrum

PPM



59.47	14
39.32	11
37.32	17
34.93	16
34.59	18
29.23	12
27.54	6
27.52	10
25.68	13
22.57	15
21.46	9
20.94	5
19.14	4
18.26	20
14.05	2

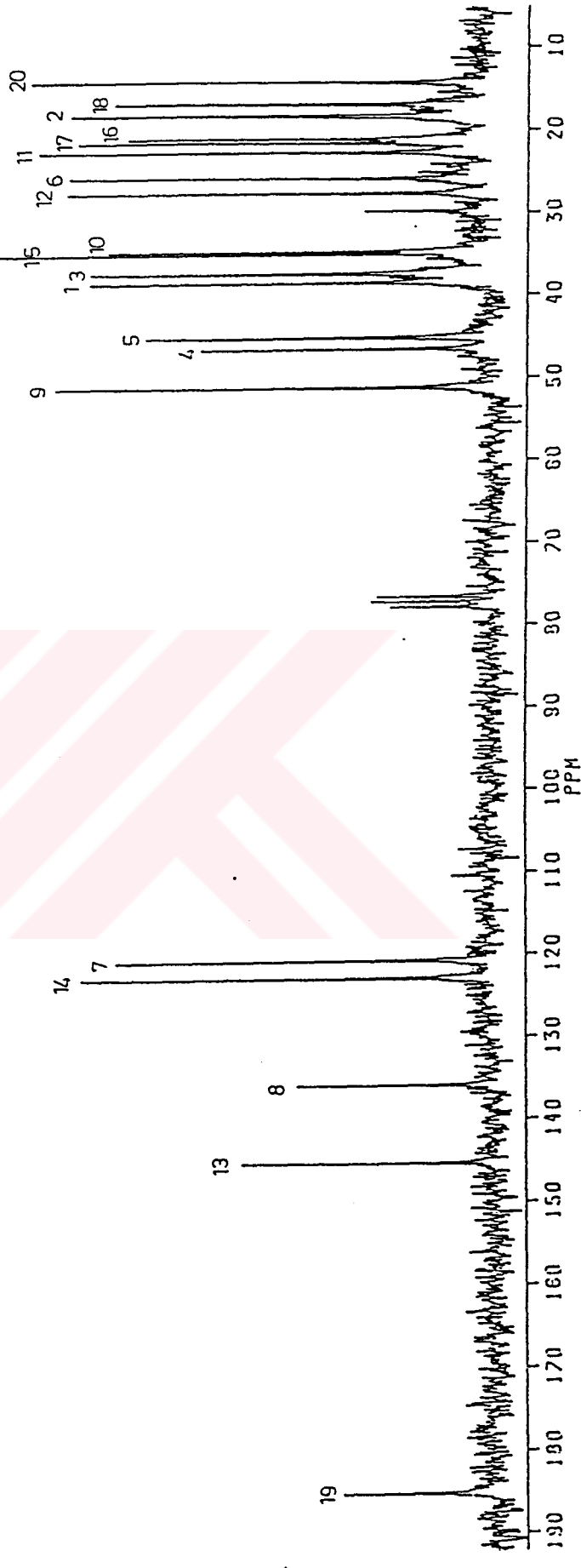
22.23	19
22.10	13
26.48	7

132.65	14
120.58	7

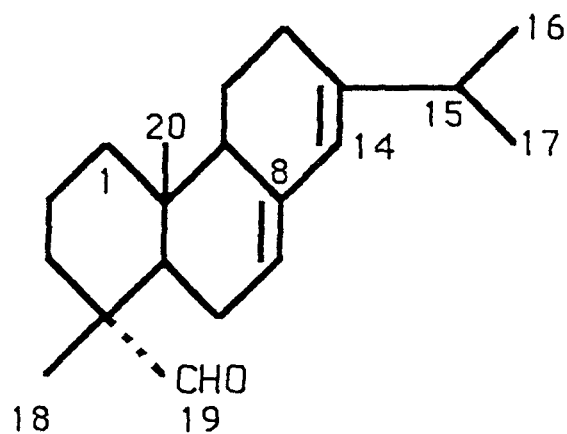
135.62	8
--------	---

145.02	13
--------	----

158.93	19
--------	----



Spektrum 3: Abietik asit' in <sup>13</sup>C-NMR (50,29 MHz, CDCl<sub>3</sub>) Spektrumu

**(-)-Abietinal**
 $C_{20}H_{30}O_1$ 

Mol. aḡ: 286,45

 UV  $\lambda$  maks. ( MeOH ) nm : 241,2

 IR  $\nu$  maks. ( % 1 KBr )  $cm^{-1}$ : 1727, 2693 ( CHO )

 $^1H$  NMR ( 200 MHz,  $CDCl_3$  ) Spekt. : Spektrum 5 ; Tablo 2

 $^{13}C$  NMR ( 50,29 MHz,  $CDCl_3$  ) Spekt. : Spektrum 6; Tablo 2

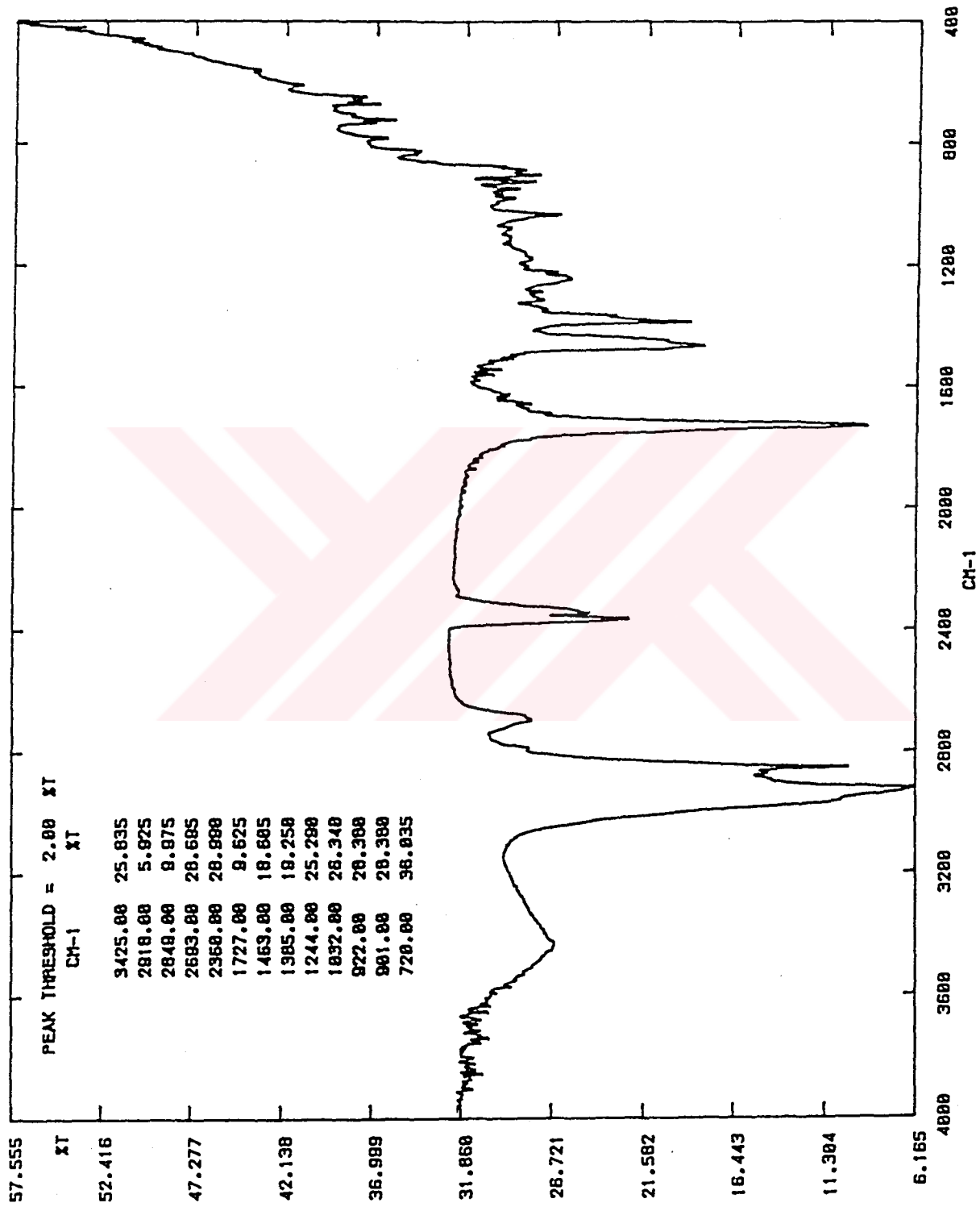
### (-)-Abietinal

IR spektrumunda  $1727\text{ cm}^{-1}$  de ve  $2693\text{ cm}^{-1}$  deki pikler molekülde aldehit grubunun varlığını kanıtlamaktadır. UV metanol spektrumunda  $241,2\text{ nm}$  de absorpsiyon maksimum  $236,2\text{ nm}$  ve  $250\text{ nm}$  deki omuzla 7-13-abietadienler için karakteristiktir.

$^1\text{H-NMR}$  spektrumunda  $5,35\text{ ppm}$  de 1 protonluk multipllet H-7 ve  $5,77\text{ ppm}$  de yine 1 protonluk singlet H-14 protonundan ileri gelmektedir ve C-7-8 ile C-13-14 arasında çifte bağ olduğunu göstermektedir. C-13'e bağlı izopropil grubunun metil sinyalleri  $1,02\text{ ppm}$  de dd şeklinde ( $J=1,5/6,8\text{ Hz}$ ) görülmektedir.  $9,24\text{ ppm}$  de 1H lik singlet H-19 daki aldehit grubundan dolaydır. C-10 daki  $\text{CH}_3$  grubu  $0,85\text{ ppm}$  de singlet olarak C-4 deki metil grubu ise  $1,14$  de 3 protonluk singlet şeklinde görülmektedir. Bu bileşiğin bize abietaldehit yapısında olduğunu göstermektedir. Eğer 4-epialdehit yapısında olsaydı CHO  $9,7\text{ ppm}$  de C-10-  $\text{CH}_3$   $0,67\text{ ppm}$  ve C-4- $\text{CH}_3$  grubu ise  $1,02\text{ ppm}$  de olması gerekirdi (96).

Bileşiğin  $^{13}\text{C-NMR}$  spektrumu incelendiğinde 20 tane karbon atomu sinyali bulunduğu görülmektedir.  $120,2\text{ ppm}$  de C-7,  $135,9\text{ ppm}$  de C-8 e ait sinyallerin,  $145,5\text{ ppm}$  de C-13,  $122,6\text{ ppm}$  de C-14 e ait sinyallerin (düşük alana kaymış olarak) görülmesi, C-7 ve C-8 arasında ve C-13 ve C-14 arasında çifte bağın bulunduğunu göstermektedir.  $206,1\text{ ppm}$  de görülen pik C-19 a bağlı aldehit grubundan ileri gelmektedir  $21,0\text{ ppm}$  de C-16,  $21,5\text{ ppm}$  de C-17,  $24,0\text{ ppm}$  de C-18 ve  $14,5\text{ ppm}$  de C-20 nin yüksek alanda gözlenmesi metil gruplarının varlığını göstermektedir (95).

Ayrıca bileşik  $\text{NaBH}_4$  ile redüksiyona tabi tutularak elde edilen ürün,  $^1\text{H-NMR}$  spektral analizi ile Abietinol yapısında olduğu tespit edilmiştir (95). Bu bilgiler ışığında bileşik (-)-Abietinal olarak tanımlanmıştır.



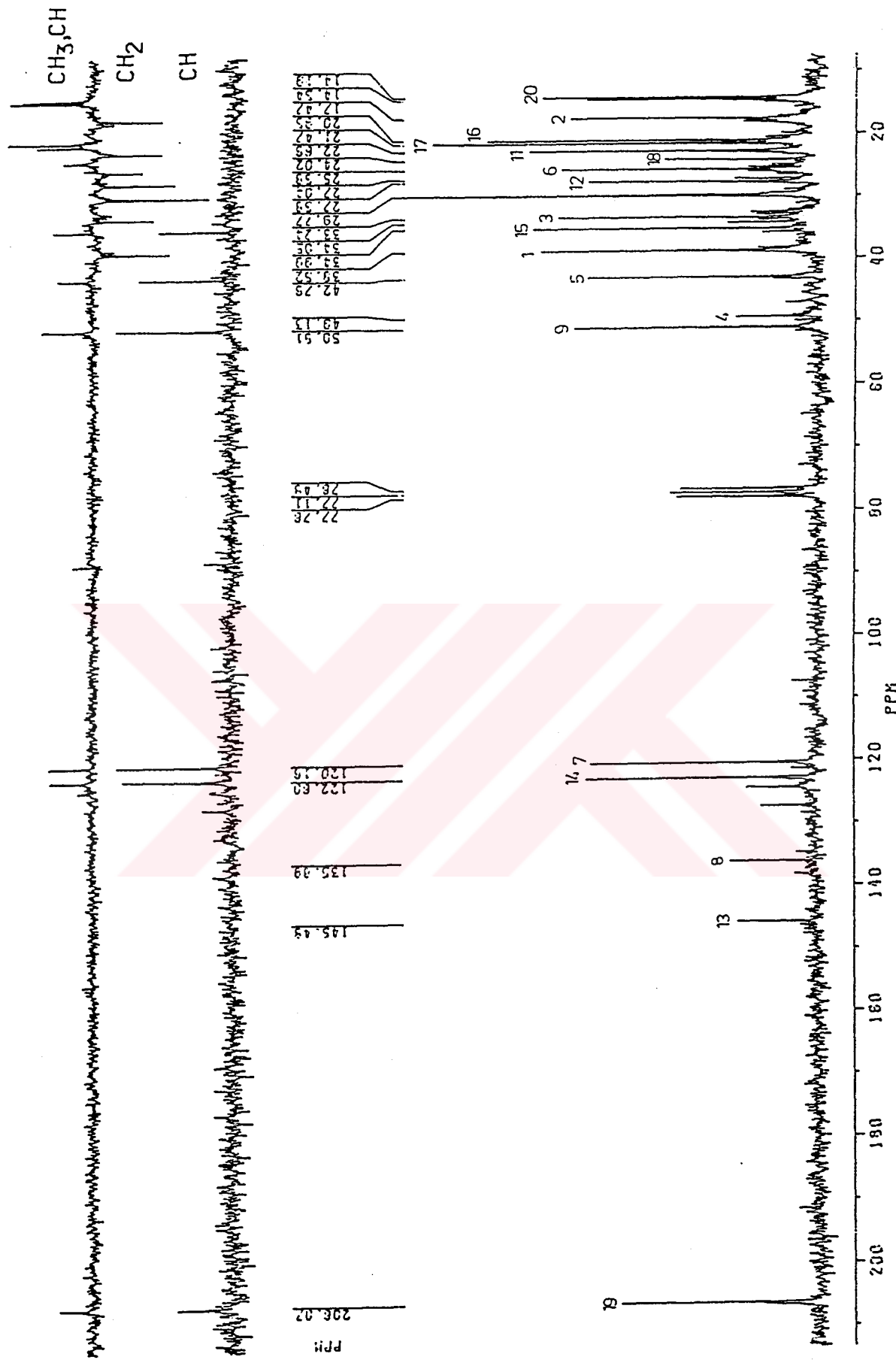
Spektrum 4: (-)-Abietinal' in IR Spektrum

H	$\delta$ (ppm)
H-7	5,35 m
H-14	5,77 s
H-16	} 1,02 dd (J=1,5/6,8 Hz)
H-17	
H-18	1,14 s
H-19	9,24 s
H-20	0,85 s

C-Atom	$\delta$ (ppm)	C-Tipi
C-1	38,5	CH <sub>2</sub>
C-2	17,5	CH <sub>2</sub>
C-3	33,2	CH <sub>2</sub>
C-4	49,1	C
C-5	42,8	CH
C-6	25,6	CH <sub>2</sub>
C-7	120,2	CH
C-8	135,9	C
C-9	50,9	CH
C-10	34,1	C
C-11	22,7	CH <sub>2</sub>
C-12	27,6	CH <sub>2</sub>
C-13	145,5	C
C-14	122,6	CH
C-15	35,0	CH
C-16	21,0	CH <sub>3</sub>
C-17	21,5	CH <sub>3</sub>
C-18	24,0	CH <sub>3</sub>
C-19	206,1	CHO
C-20	14,5	CH <sub>3</sub>

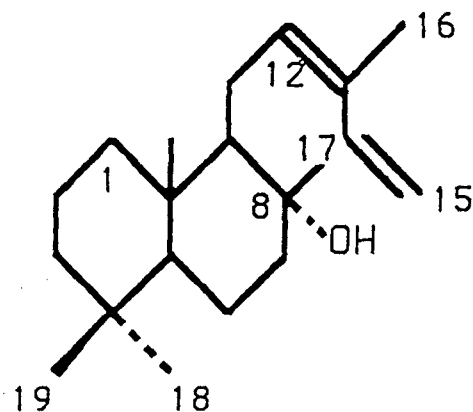
Tablo: 2 (-)-Abietinal'in <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR Spektral Değerleri





Spektrum 6: (-)-Abietinal in  $^{13}C$ -NMR (50,29 MHz,  $CDCl_3$ ) Spektrum



**cis-Abienol**

$C_{20}H_{34}O_1$

Mol. a $\bar{g}$ : 290,48

UV  $\lambda$  maks. ( MeOH ) nm : 237,5

IR  $\nu$  maks. ( % 1 KBr )  $cm^{-1}$  : 3372 ( OH )

1643-1600 ( C=C )

$^1H$  NMR ( 200 MHz,  $CDCl_3$  ) Spekt. : Spektrum 8; Tablo 3

$^{13}C$  NMR ( 50,29 MHz,  $CDCl_3$  ) Spekt. : Spektrum 9; Tablo 3

### **cis-Abienol**

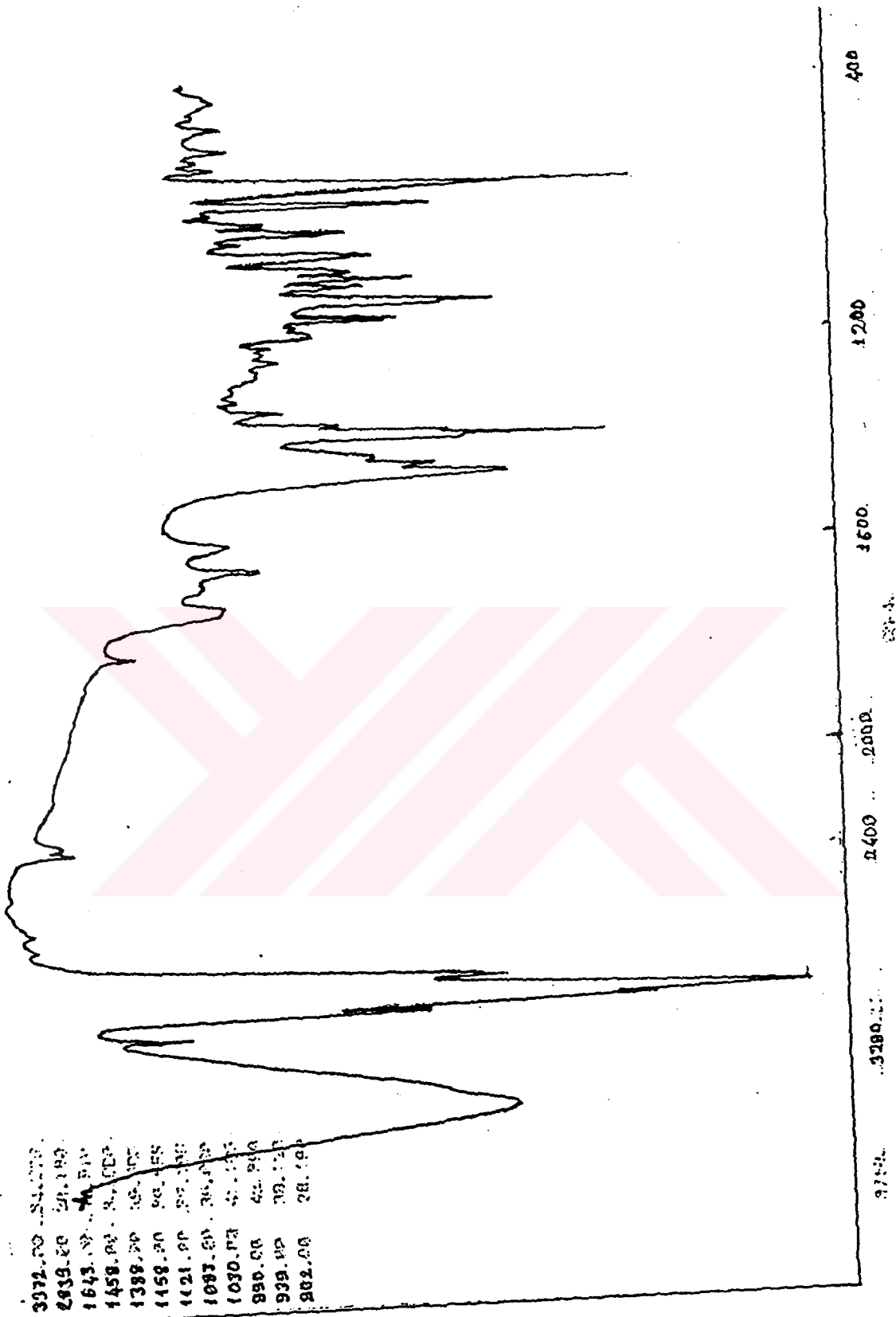
IR spektrumunda  $3372\text{ cm}^{-1}$  deki yayvan bir band hidroksil grubundan,  $1643\text{ cm}^{-1}$ - $1600\text{ cm}^{-1}$  deki band konjuge çifte bağın absorpsiyonuna aittir.

Bileşiğin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumunda 5 tane metil sinyalini  $1,79$ ;  $1,18$ ;  $0,87$ ;  $0,79$  ve  $0,84$  ppm lerde singlet şeklinde görmekteyiz.  $5,50$  ppm de bir protonluk H-12 sinyalini triplet şeklinde,  $6,89$  ppm de bir protonluk H-14 sinyali dd şeklinde (  $J=17,3/10,7$  Hz ) görülmektedir. H-15 deki trans proton  $5,20$  ppm de dd şeklinde aynı yerdeki cis proton ise  $5,11$  ppm de d (  $10,7/17,3$  Hz ) olarak görülmektedir. Bu bilgilerle beraber  $237,5$  nm deki UV absorpsiyonu ve  $6,89$  ppm de dd şeklindeki H-14 e ait pik bize Z tipte konjuge dien sistemi olduğunu göstermektedir ( 97,98 ).

Bileşiğin  $^{13}\text{C-NMR}$  spektrumunda  $133,82$ ;  $130,77$ ;  $133,66$  ve  $113,57$  ppm de görülen sinyaller sırası ile C-12, C-13, C-14 ve C-15 e aittir. Bu veriler ışığında bileşiğin 8-hidroksi 12,14-labdadien yapısında olduğunu göstermekte ve C-8 deki tersiyer hidroksil grup için aksiyal konfigürasyon  $^{13}\text{C-NMR}$  spektrumu ile tespit edilmiştir ( 97, 98 ).

PEAK IDENTIFICATION LIST

3372.70	34.000
2939.50	30.000
1643.00	30.000
1458.00	30.000
1388.00	30.000
1158.00	30.000
1021.00	30.000
1007.00	30.000
1030.00	30.000
890.00	30.000
939.00	30.000
802.00	30.000

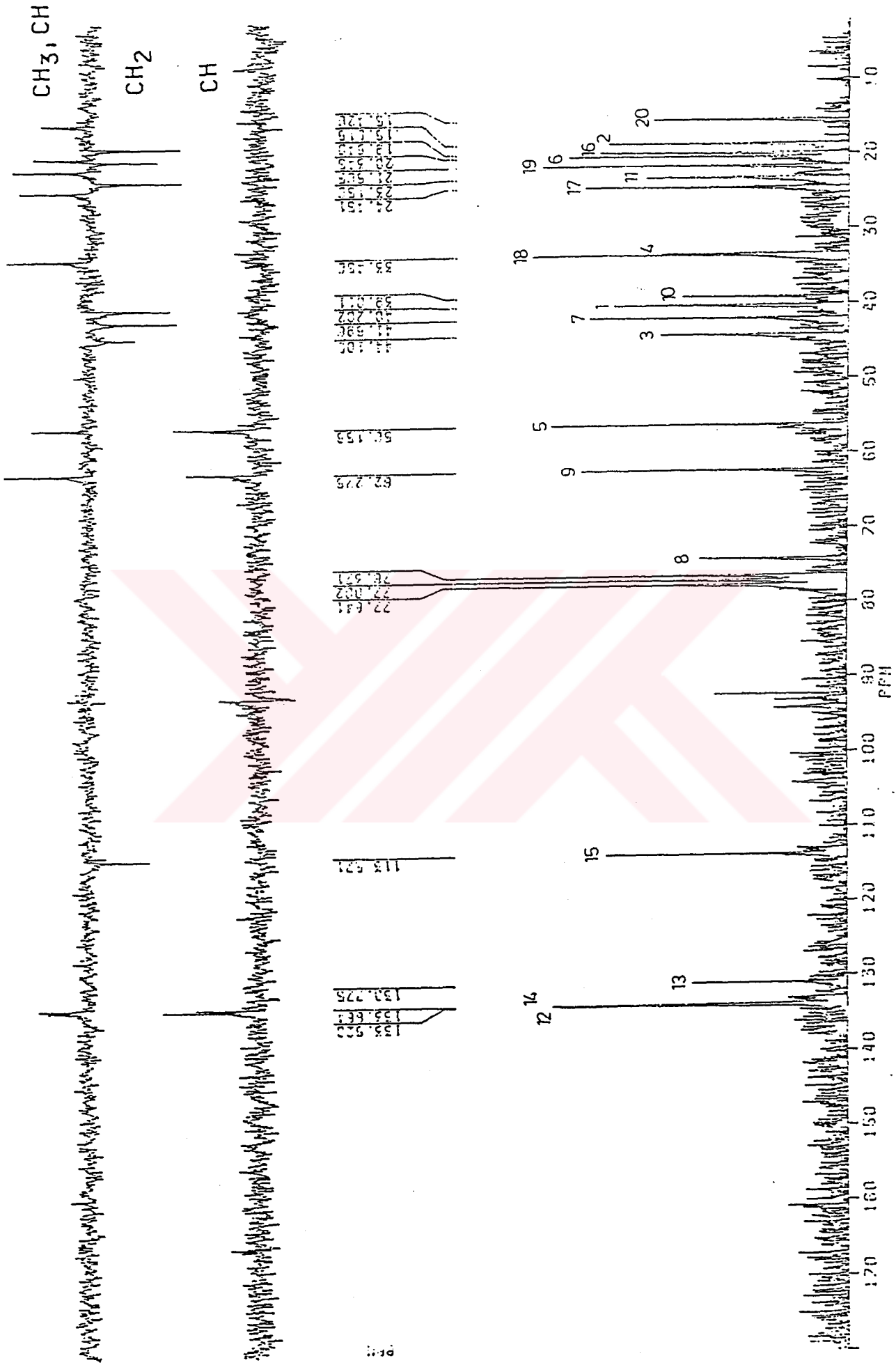


Spektrum 7: cis-Abienol'ün IR Spektrumu

H	$\delta$ (ppm)	C-Atom	$\delta$ (ppm)	C-Tipi
H-12	5,50 t (7,3 Hz)	C-1	40,20	CH <sub>2</sub>
H-14	6,89 dd (17,3/10,7 Hz)	C-2	18,82	CH <sub>2</sub>
H-15	5,11 d (10,7 Hz) 5,20 d (17,3 Hz)	C-3	44,10	CH <sub>2</sub>
H-16	1,79 s	C-4	33,45	C
H-17	1,18 s	C-5	56,16	CH
H-18	0,87 s	C-6	20,38	CH <sub>2</sub>
H-19	0,79 s	C-7	41,90	CH <sub>2</sub>
H-20	0,84 s	C-8	73,80	C
		C-9	62,28	CH
		C-10	39,01	C
		C-11	23,16	CH <sub>2</sub>
		C-12	133,82	CH
		C-13	130,77	C
		C-14	133,66	CH
		C-15	113,57	CH <sub>2</sub>
		C-16	19,84	CH <sub>3</sub>
		C-17	24,45	CH <sub>3</sub>
		C-18	33,45	CH <sub>3</sub>
		C-19	21,56	CH <sub>3</sub>
		C-20	15,43	CH <sub>3</sub>

Tablo: 3 cis-Abienol'ün <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR Spektral Değerleri





Spektrum 9: cis-Abienol in <sup>13</sup>C-NMR (50,29 MHz, CDCl<sub>3</sub>) Spektrum

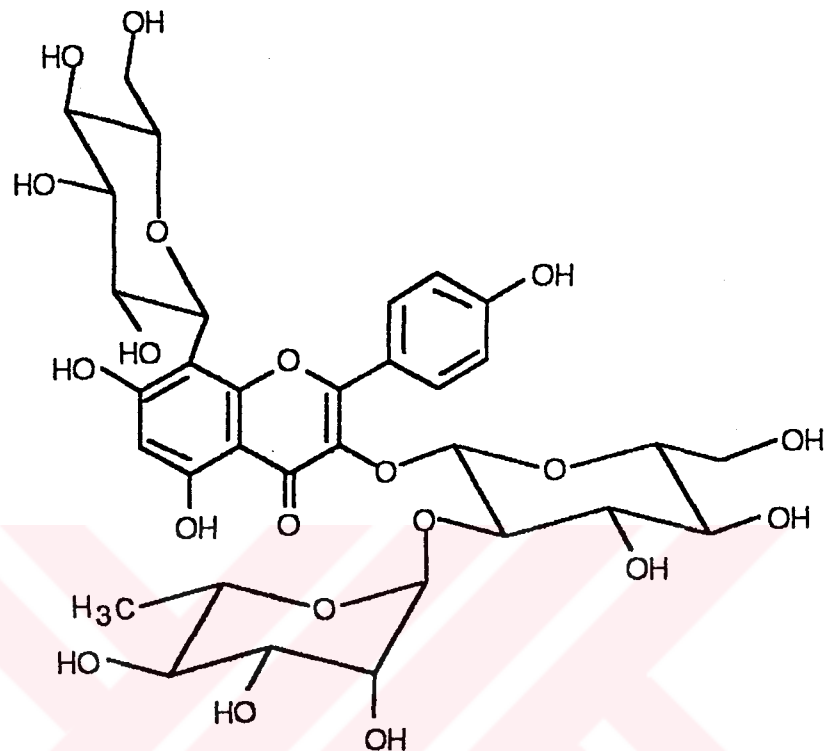
Reaktifler Bileşikler	$\lambda$ maks. ( nm )					
	MeOH	NaOMe	AlCl <sub>3</sub>	AlCl <sub>3</sub> + HCl	NaOAc	NaOAc + H <sub>2</sub> BO <sub>3</sub>
1	332,5 271,5	394,5 331 280	348,5 305,5 277	346 304,5 278	363,5 279,5	332 271,5
2	356 257,5	398 320 sh 266	430 270	401 310 272	370 328 sh 272	376,5 259,5
3	340,5 265,5	397 321,5 sh 275,5	388 348,5 303,5 270,5	393 348,5 302 274,5	368,5 273	346 265,5
4	314,5 269,5	364,5 348 313 sh 275,5	398 309,5 278	309,5 279	366 313,5 276,5	315 269
5	361 257	412,5 326,5 270,5	412,5 269	397,5 365 269	379,5 324 274,5	381,5 260,5
6	348,5 257,5	399 327,5 sh 271,5	395 270	397 364 271	371,5 272,5	367,5 260,5

Tablo: 4 Flavonoidlerin UV Spektrum Değerleri

Bileşikler

- 1 Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil (1 $\rightarrow$ 2) $\beta$ -D-glukopiranozit-8-C- $\beta$ -D-glukopiranozit
- 2 Mirsetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit (=Mirisitrin)
- 3 Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit (=Afzelin)
- 4 [ Kemferol 3-O-(6''-O-p-kumaroil)  $\beta$ -D-glukopiranozit] (=Tilirozit)
- 5 Kersetin 3-O- $\beta$ -D-galaktopiranozit (=Hiperozit)
- 6 Kersetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit (=Kersitrin)

**Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopyranozil (1 $\rightarrow$ 2)  $\beta$ -D-glukopiranozit-  
8-C- $\beta$ -D-glukopiranozit**



$C_{33}H_{40}O_{20}$

Mol. ağı: 756,65

UV  $\lambda$  maks. nm: Tablo 4

$^1H$ -NMR (200 MHz, DMSO- $d_6$ ) Spekt.: Spektrum 10; Tablo 5

$^{13}C$ -NMR (50,29 MHz, DMSO- $d_6$ ) Spekt.: Spektrum 11; Tablo 5



**Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil (1 $\rightarrow$ 2)  $\beta$ -D-glukopiranozit-8-C- $\beta$ -D-glukopiranozit**

Bileşigin metanol ile alınan UV spektrumunda Band 1 332,5 nm de Band 2 de 271,5 nm de görülmektedir. Band 1 in 332,5 nm de görülmesi bileşigin 3-hidroksil grubu süstitüe flavonol yapısında olduğunu göstermektedir. Zira C-3 de hidroksil grubu süstitüe flavonollerde Band 1 328-357 nm arasında görülmektedir (21).

Sodyum metilat ile alınan UV spektrumunda Band 1'in 394,5 nm de (Metanol spektrumuna göre intensite azalmadan 62 nm lik batokromik kayması) görülmesi serbest 4'-hidroksil grubunun varlığını göstermektedir (21).

Sodyum asetat spektrumunda Band 2'nin metanol spektrumuna göre 8 nm lik batokromik kayma göstererek 279,5 nm de görülmesi serbest C-7 hidroksi grubunun varlığını göstermektedir. Ayrıca sodyum metilat spektrumunda 331 nm de ortaya çıkan üçüncü pik C-7 deki hidroksil grubunun serbest olduğunu doğrulamaktadır (21).

Sodyum asetat + borik asit spektrumunda Band 1 de batokromik kayma olmadığı için 332 nm de görülmesi B halkasında orto dihidroksi grubun bulunmadığını göstermektedir (21).

Aluminyum klorür + hidroklorik asit UV spektrumunda Band 1 metanol spektrumuna göre 13,5 nm lik batokromik kayma ile 346 nm de pik vermektedir. Buda bileşigin C-5 de serbest hidroksil grubu taşıdığını göstermektedir (21).

Bileşigin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu incelendiğinde B halkasının para süstitüe olduğu AB sistemi görülmektedir. 7,76 ppm de H-2', 6' ne ait dublet J=8,5 Hz lik bir yarıma göstermektedir. 6,63 ppm de ise H-3', 5' ne ait sinyal J=8,5 Hz lik yarıma göstermektedir. 6,17 ppm deki singlet A halkasındaki H-6 protonuna aittir. C-6 ya ait proton singlet şeklinde olması ve C-8 e ait sinyalin bulunmaması flavonol'un C-8 den bağlı olduğunu göstermektedir. 10,93 ppm de geniş bir singlet C-5 deki hidroksil grubunun serbest olmasından dolayıdır.

5,47 ppm de geniş bir singlet ramnozün anomerik protonundan ve 0,57 ppm deki dublet ise ramnozün metil grubundan ileri gelmektedir. 0,57 ppm deki dublet ramnozün flavonol'ün C-3 deki hidroksil grubuna bağlı olduğunu göstermektedir. C-glukozün anomerik protonu ve neohesperidozitin (glukoz 2→1 ramnoz) glukozu birbiri üzerine çakışık olarak 4,9 ppm de gözlenmektedir. Yarılmanın  $J=7,2$  Hz olması ozların  $\beta$ -D-glukopiranoz şeklinde bağlı olduğunu göstermektedir.

Bileşiğin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumunda ramnozün metil grubunun 17,49 ppm de olması ramnozün C-8 den bağlı olmadığını, bağlı olsaydı düşük alana kayarak 18 ppm de olması gerekirdi (99).

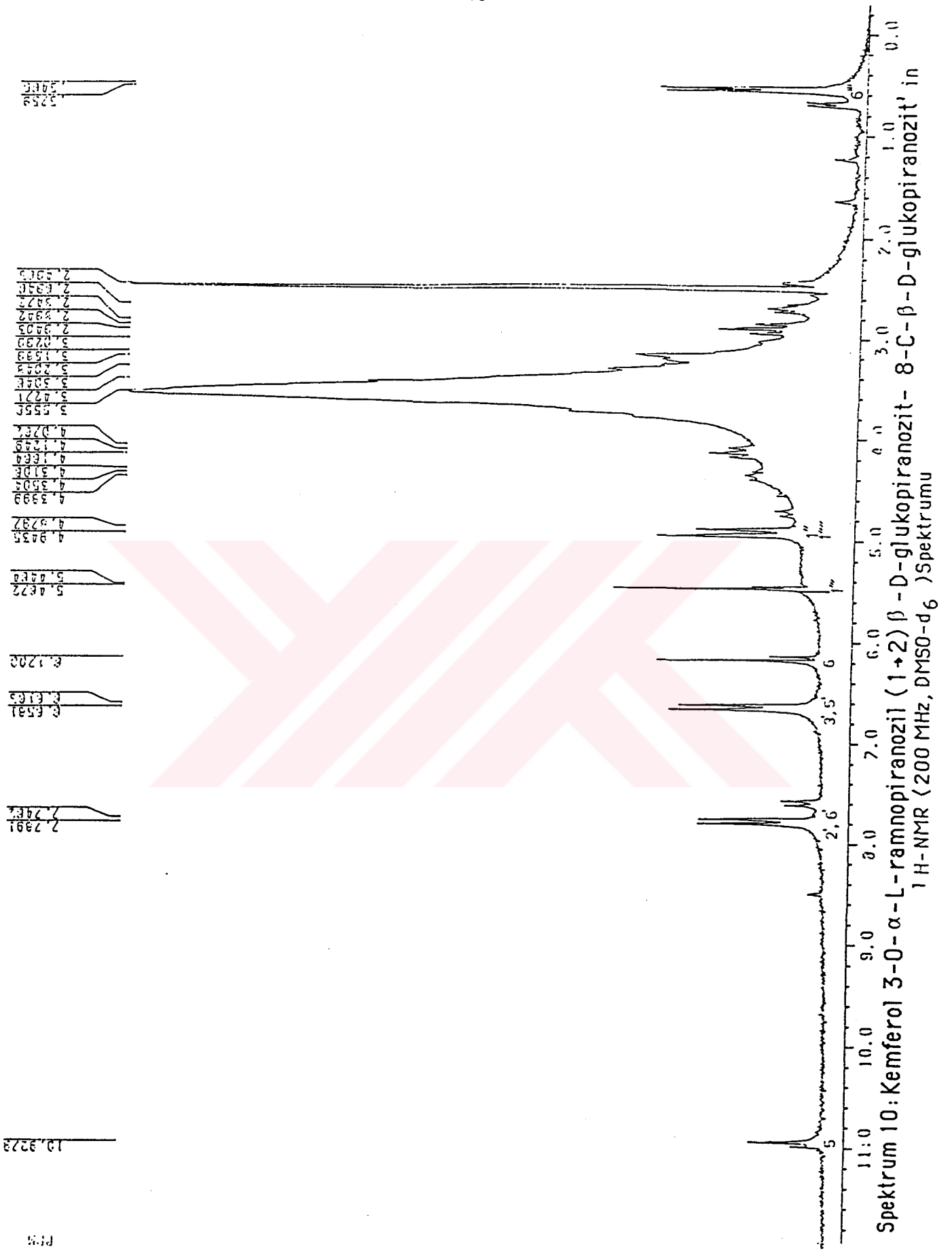
Glukozün C-6 karbonu ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ) sinyali 61,78 ppm dir. 80,10; 79,78 ppm ve diğer sinyaller C-3-O-glukoza aittir. Ramnoz glukozün 2 nolu karbonuna bağlıdır. Zira glukozün 2 nolu karbon atomu kimyasal kayması 71,5 ppm den daha düşük alana 80,10 ppm e kayması bunu göstermektedir. Diğer glukozün 1 nolu C- atomunun kimyasal kayması 72,11 ppm de olması C-5 in 80,91 ppm de ortaya çıkması bunun C-8 den bağlı  $\beta$ -D-glukopiranoz olduğunu göstermektedir. -C=O un 178,74 ppm de olması C-3 pozisyonunun süstitüe olduğunu göstermektedir. Aksi halde 2 ppm lik yukarı alana kayma olması gerekirdi.

Aglikonun C-8 in 94 ppm deki sinyali spektrumda bulunmamaktadır. Bu sinyal düşük alana kayarak 105 ppm de ortaya çıkmıştır (24). Buna karşılık C-6 ya ait 99,9 ppm deki sinyal spektrumda görülmektedir. Bu veriyi  $^1\text{H}$ -NMR spektrumunda 6,17 ppm deki (1H, s) sinyalde doğrulamaktadır. Bu veri  $\beta$ -D-glukozün C-8 den bağlandığını göstermektedir. Bütün bu değerler bileşiğin Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil (1→2)  $\beta$ -D-glukopiranozit- 8-C- $\beta$ -D-glukopiranozit (=kemferol- 8-C-glukopiranozil -3-O-neohesperozit) yapısında, doğadan ilk kez izole edilen yeni bir bileşik olduğunu göstermektedir.

H	$\delta$ ( ppm )
H-6	6,17 s
H-2',6'	7,76 d (8,5 Hz)
H-3',5'	6,63 d (8,5 Hz)
CH <sub>3</sub> (ramnoz)	0,56 d (6,0 Hz)
H-5(OH)	10,93 br.s
H-1 (ramnoz)	5,47 br.s
H-1 (glukoz)	4,9 d (7,2 Hz)

C-Atom	$\delta$ ( ppm )	C-Tipi
C-2	156,4	C
C-3	136,4	C
C-4	178,74	C
C-5	160,1	C
C-6	99,9	C
C-7	161,3	CH
C-8	105,0	C
C-9	156,4	C
C-10	105,0	C
C-1'	121,0	C
C-2'	127,7	CH
C-3'	116,22	CH
C-4'	160,11	C
C-5'	116,22	CH
C-6'	127,70	CH
C-1''	99,98	CH
C-2''	80,10	CH
C-3''	75,50	CH
C-4''	70,50	CH
C-5''	79,78	CH
C-6''	61,79	CH <sub>2</sub>
C-1'''	101,20	CH
C-2'''	70,54	CH
C-3'''	70,59	CH
C-4'''	72,11	CH
C-5'''	67,81	CH
C-6'''	17,49	CH <sub>3</sub>
C-1''''	72,11	CH
C-2''''	71,52	CH
C-3''''	79,78	CH
C-4''''	70,54	CH
C-5''''	80,91	CH
C-6''''	61,79	CH <sub>2</sub>

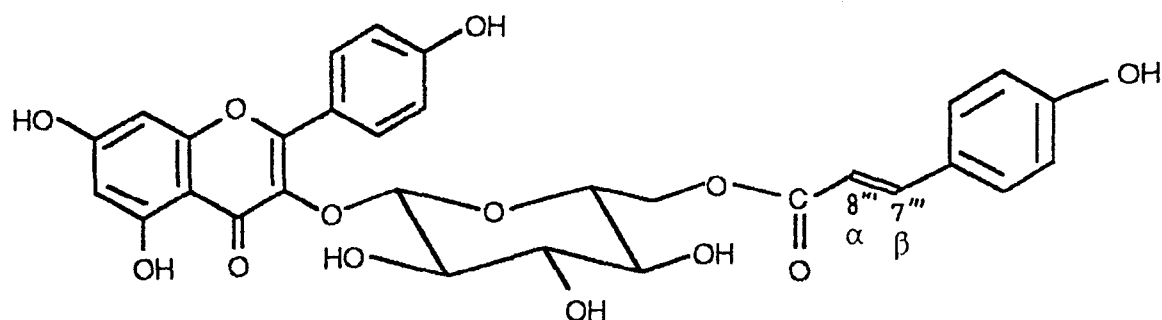
Tablo: 5 'Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil (1 $\rightarrow$ 2)  $\beta$ -D-glukopiranozit-8-C- $\beta$ -D-glukopiranozit <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR Spektral Değerleri



PM3



**Tilirozit [=Kemferol-3-O-(6''-O-p-kumaroil)  $\beta$ -D-glukopiranozit]**



$C_{30}H_{26}O_{13}$

Mol. ağı: 594,52

UV  $\lambda$  maks. nm: Tablo 4

IR  $\nu$  maks. ( %1 KBr)  $cm^{-1}$ : 3436 ( Ar O-H)  
 1258 ( Ar O-H)  
 1650 ( C=O)  
 1605-1455 ( Ar C=C) ( Ar halka)

$^1H$ -NMR ( 200 MHz, DMSO-  $d_6$ ) Spekt.: Spektrum 12; Tablo 6

$^{13}C$ -NMR ( 50,29 MHz, DMSO-  $d_6$ ) Spekt.: Spektrum 13; Tablo 6

## Tilirozit

Bileşimin metanolde çekilen UV spektrumunda Band 1 314,5 nm de Band 2 de 269,5 nm de ayrıca 269,5 nm de bir üçüncü absorpsiyon bandı görülmektedir. Bu veriler bileşimin flavanoit yapısında olduğunu göstermektedir.

Sodyum metilat spektrumunda Band 1 metanol spektrumuna göre 50 nm lik batokromik kayma göstererek 364,5 nm de görülmektedir. Bu şekilde intensite azalmadan görülen 40-65 nm arasında batokromik kayma 4'-OH grubu bulunduğunu ve serbest olduğunu göstermektedir. 313 nm de görülen üçüncü band C-7 OH grubunun mevcut ve serbest olduğunu göstermektedir.

Sodyum asetat spektrumunda Band 2 metanol spektrumuna göre 7 nm lik batokromik kayma göstererek 276,5 nm de ortaya çıkmaktadır. Band 2 nin 5-20 nm arası batokromik kayma göstermesi 7-OH grubunun serbest olduğunu göstermektedir.

Sodyum asetat + borik asit spektrumunda Band 1 metanol spektrumuna göre herhangi bir batokromik kayma göstermiyerek 315 nm de görülmesi bileşimin orto hidroksi grubu taşımadığını göstermektedir.

Bileşimin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu incelendiğinde C-6 ve C-8 protonlarına ait sinyaller 6,14 ve 6,38 ppm lerde (J=1,9 Hz) dublet şeklinde görülmektedir. B halkasına ait sinyaller incelendiğinde ise 7,99 ppm deki d (J=8,8 Hz) C-2'-6' ne, 6,85 ppm de d (J=8,8 Hz) ise C-3'-5' ne ait olan protonların sinyalleridir.

Spektrumda 5,46 ppm de dublet olarak (J=7 Hz) görülen proton glukozun anomerik protonudur. Ayrıca 3. karbona ait proton sinyalinin görülmemesi ve UV spektrumu 3. C da süstitüsyonun olduğunu göstermesi glukozun 3. C da bağlı olduğunu göstermektedir.

Aromatik sahada görülen (7,36 ve 6,78 ppm) de dubletler (J=8,2 Hz) maddenin yapısında p-pozisyonunda süstitüsyon taşıyan bir aromatik halka

daha bulunduğuna işaret etmektedir. 6,1 ve 7,34 ppm lerde ( $J = 17,4$  Hz) birer dublet şeklinde görülen sinyaller aromatik halkaya bağlı trans olefinik protonlara aittir. Bu bulgular sinnamik asit türevi bir açıl grubunun varlığını göstermektedir (100).

$^{13}\text{C}$ -NMR spektrumunda, C-3 sinyalinin 133 ppm de singlet şeklinde görülmesi, C-2 ve C-4 sinyallerinin ise düşük alanda sırası ile 156,3 ve 177,2 ppm lerde birer singlet vermesi, oz zincirinin yapıya C-3 pozisyonundan bağlı olduğunu göstermektedir. 98,6 ve 93,5 ppm de d şeklinde görülen sinyaller sırası ile C-6 ve C-8 'e aittir. C-5 ve C-7 sinyalleri ise süstitüsyon nedeniyle daha düşük alana kayarak sırası ile 161,0 ve 164,0 ppm lerde birer singlet halinde gözlenmektedir. B halkasına ait sinyallerin incelenmesi sonucunda C-2'-6' sinyalinin 130,5 ppm de C-3'-5' sinyalinin 114,9 ppm de yani yüksek alana kaymış olarak görülmesi C-4' nün 159,8 ppm de görülmesi C-4' de hidroksil grubunun bulunduğunu kanıtlamaktadır (100).

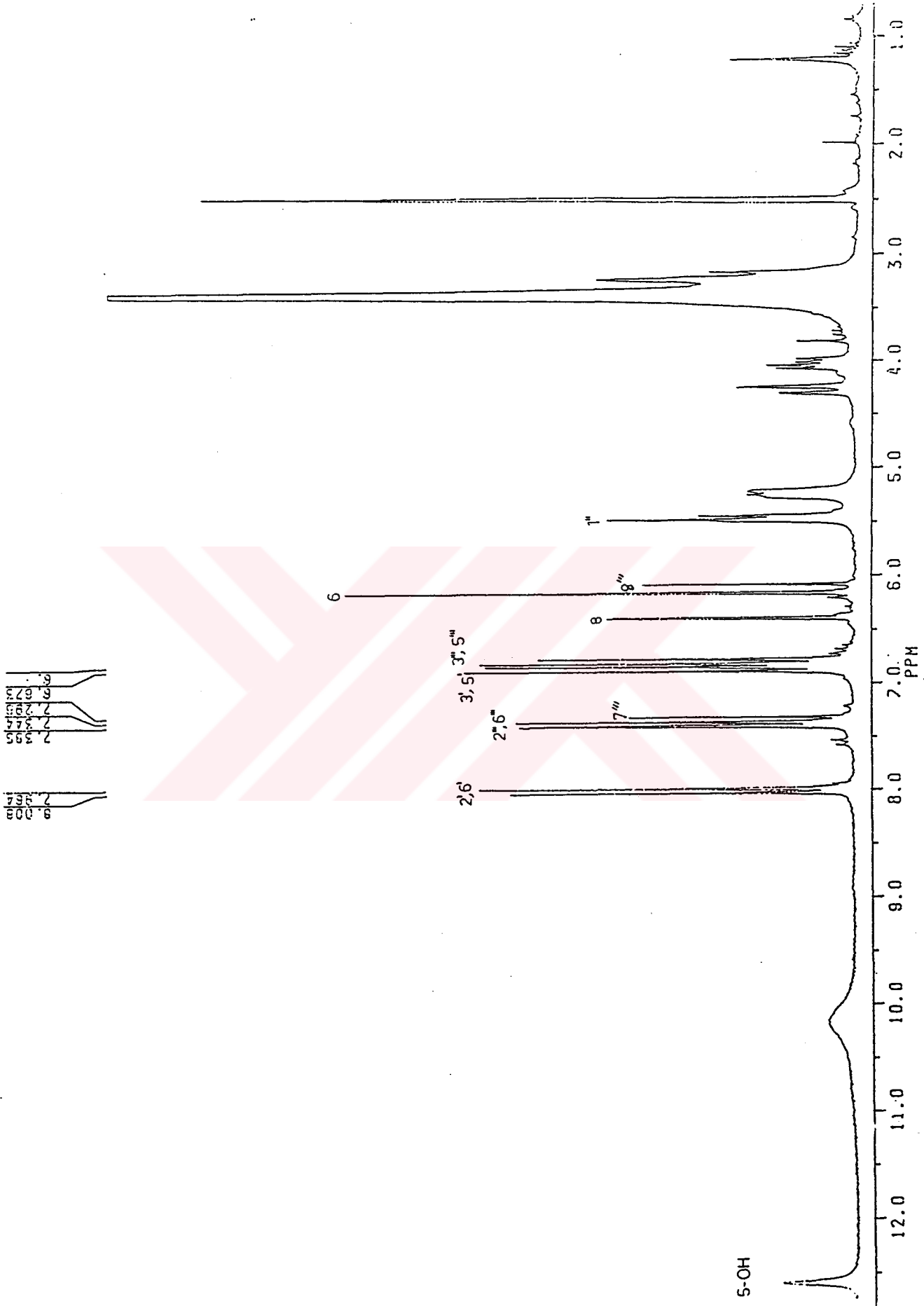
$^{13}\text{C}$ -NMR spektrumunda, ozun anomerik protonuna ait sinyal 101,0 ppm de görülmesi glukozun aglikonun C-3 grubundaki hidroksil grubuna bağlı olduğunu göstermektedir. 165,9 ppm de görülen sinyal ( $\text{C}=\text{O}$ ), aromatik bir asitin yapıya bağlı olduğunu doğrulamaktadır. 144,2 ve 113,6 ppm lerde birer dublet şeklinde görülen sinyaller ise , aromatik asitin olefinik protonlarına aittir. C-2'''/6''' protonları, C-3'''/5''' protonlarından farklı olarak daha düşük alanda (129,8 ppm) görülmektedir. Bulgular p-süstitüe bir sinnamoil türevini diğer bir deyişle C-4''' de bir OH grubunun varlığını göstermektedir. Bulgular aromatik asitin p-kumarik asit olduğunu göstermektedir (100).

Bileşiğin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumunda oza ait C-6'' sinyalinin ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ) 62,8 ppm de düşük alana kaymış olarak görülmesi açılasyonun bu bölgede olduğunu göstermektedir. Bu bulgular sonucunda bileşiğin Kemferol 3-O-(6''-O-p-kumaroil)  $\beta$ -D-glukopiranozit (=Tilirozit) olduğu saptanmıştır (100).

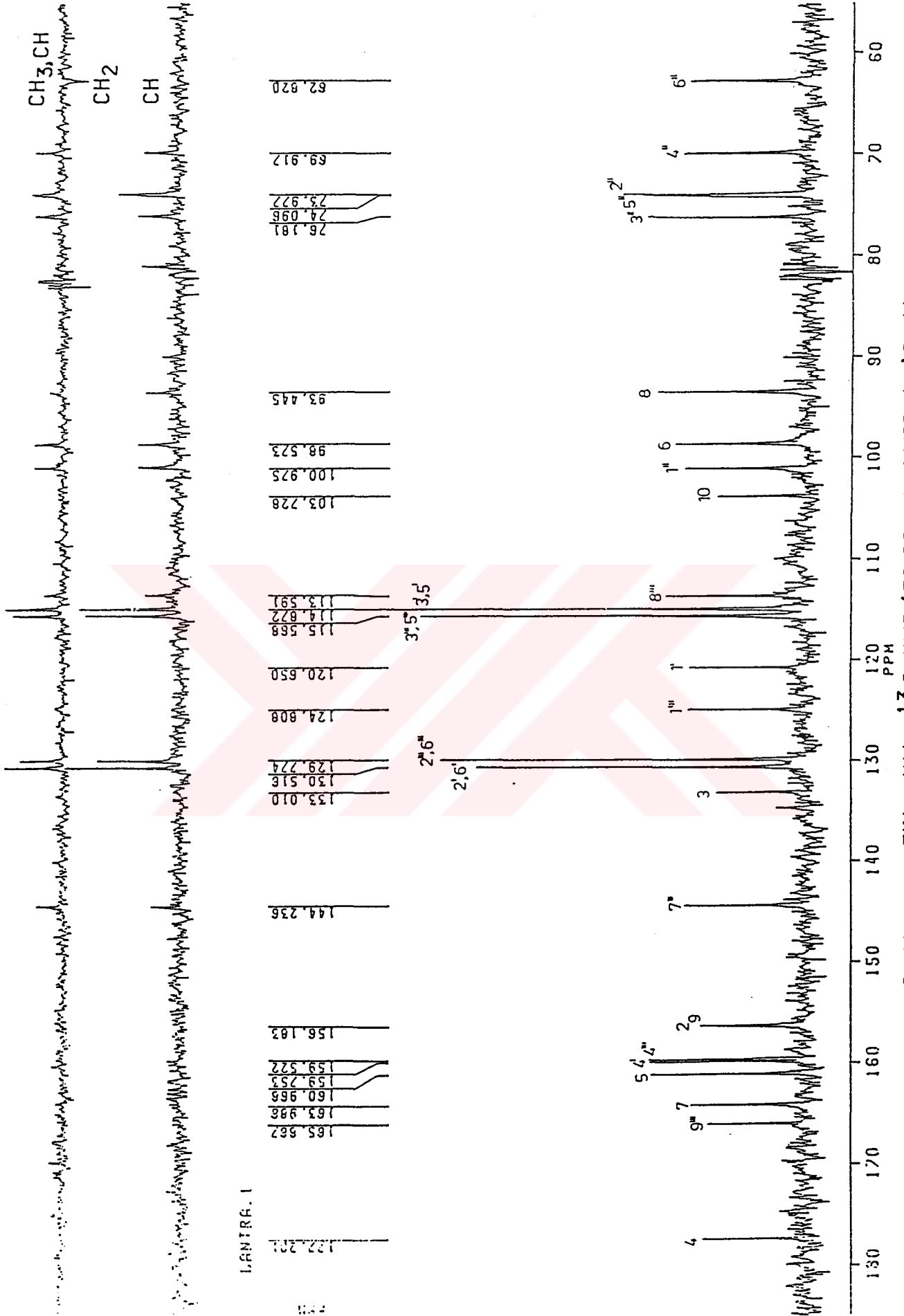


H	$\delta$ ( ppm )	C-Atom	$\delta$ ( ppm )	C-Tipi
H-6	6,14 d (1,9 Hz)	C-2	156,3	C
H-8	6,38 d (1,9 Hz)	C-3	133	C
H-2',6'	7,99 d (8,8 Hz)	C-4	177,2	C
H-3',5'	6,85 d (8,8 Hz)	C-5	161,0	C
H-1''	5,46 d (7 Hz)	C-6	98,6	CH
H-2''',6'''	7,36 d (8,2 Hz)	C-7	164,0	C
H-3''',5'''	6,78 d (8,2 Hz)	C-8	93,5	CH
H- $\alpha$	6,1 d (17,4 Hz)	C-9	156,2	C
H- $\beta$	7,34 d (17,4 Hz)	C-10	103,7	C
		C-1'	120,7	C
		C-2',6'	130,5	CH
		C-3'-5'	114,9	CH
		C-4'	159,8	C
		C-1''	101,0	CH
		C-2''	74,0	CH
		C-3''	76,2	CH
		C-4''	69,9	CH
		C-5''	74,1	CH
		C-6''	62,8	CH <sub>2</sub>
		C-1'''	124,8	C
		C-2''',6'''	129,8	CH
		C-3''',5'''	115,6	CH
		C-4'''	159,5	C
		C-7''' ( $\beta$ )	144,2	CH
		C-8''' ( $\alpha$ )	113,6	CH
		C-9''' (COO)	165,9	COO

Tablo: 6 Tirozitinin <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR Spektral Değerleri

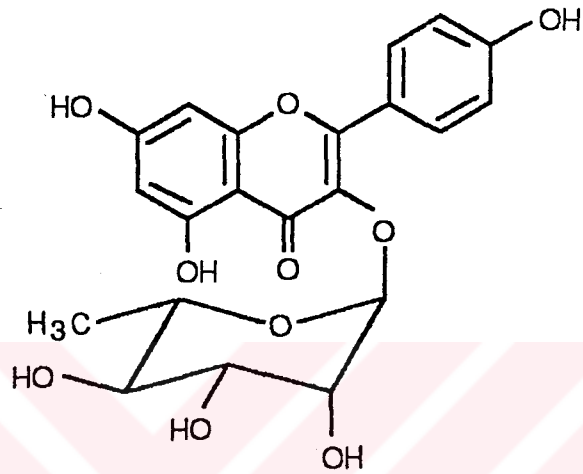


Spektrum 12: Tilirozin in  $^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) Spektrum



Spektrum 13: Tilirozit in <sup>13</sup>C-NMR (50,29 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) Spektrum

### Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit



$C_{21}H_{20}O_{10}$

Mol. ağı. : 432,38

UV  $\lambda$  maks. nm : Tablo 4

IR  $\nu$  maks. ( % 1 KBr )  $cm^{-1}$  : 3402 (Ar O-H)  
 1650 (C=O)  
 1607-1467 (Ar C=C) (Ar halka)

### **Kemferol 3-0- $\alpha$ -L-ramnopiranozit**

Bileşigin metanol ile çekilen UV spektrumunda Band 1 340,5 nm de Band 2 de 265,5 nm de görülmektedir. Band 1'in 340,5 nm de görülmesi bileşigin flavanol yapısında olduğunu göstermektedir.

Sodyum metilat ile çekilen UV spektrumunda Band 1'in 397 nm de (Metanol spektrumuna göre 57,5 nm lik batokromik kayması) görülmesi serbest 4'-hidroksil grubunun varlığını göstermektedir.

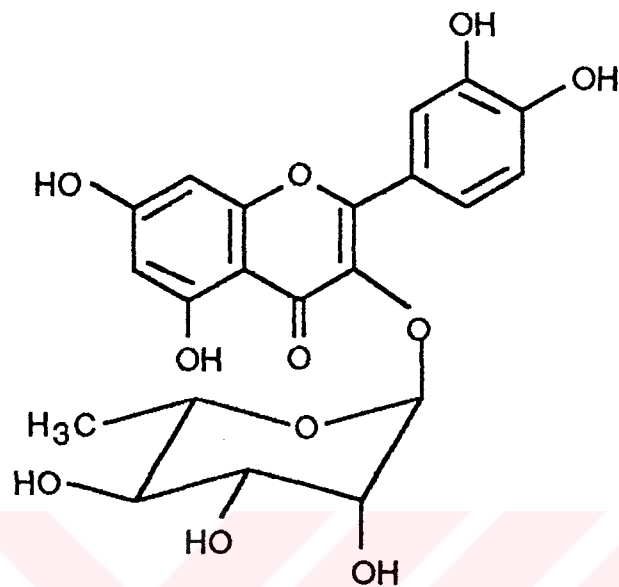
Sodyum asetat spektrumunda Band 2'nin metanol spektrumuna göre 7,5 nm lik batokromik kayma göstererek 273 nm de görülmesi serbest C-7 hidroksil grubunun varlığını göstermektedir. Ayrıca sodyum metilat spektrumunda 321,5 nm de üçüncü bir bandın görülmesi C-7 de serbest hidroksil bulunduğunu tekrar kanıtlamaktadır.

Sodyum asetat + borik asit spektrumuna göre Band 1'in batokromik kayma göstermemesi B halkasında orto hidroksil grubu bulunmadığını gösterir.

Aluminyum klorür + hidroklorik asit spektrumu metanol spektrumuna göre Band 1 iki pik halinde yarılarak Band 1a 52,5 nm kayarak 393 nm de görülmesi C-3 hidroksilin süstitüe olduğunu ve C-5 de serbest hidroksil grubu taşıdığını göstermektedir.

Bileşiğe uygulanan asit hidroliz sonucunda uzun standartlar ile birlikte kloroform : metanol : su ( 64: 36: 7 ) solvan sisteminde İTK sı ( Revalatör : Timol % 1 : der. sülfürik asit ) sonucu ramnoz olduğu belirlenmiştir. Bileşigin şahit bileşik olan Kemferol 3-0- $\alpha$ -L-ramnopiranozit ile İTK [ Solvan sistemi: toluen: aseton: formik asit (30: 30: 6): Revalatör: NA] da mukayesesi sonucu ve yukarıdaki bilgiler ışığında bileşigin Kemferol 3-0- $\alpha$ -L-ramnopiranozit olduğu tespit edilmiştir.

**Kersetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit**



$C_{21}H_{20}O_{11}$

Mol.ağ. : 448,38

UV  $\lambda$  maks. nm : Tablo 4

IR  $\nu$  maks. ( % 1 KBr )  $cm^{-1}$  : 3401 (Ar O-H )

1652 (C=O)

1608-1463 (Ar C=C) (Ar halka)

### **Kersetin 3-0- $\alpha$ -L-ramnopiranozit**

Bileşğin metanol ile çekilen UV spektrumunda Band 1' in 348,5 nm de Band 2de 257,5 nm de görülmektedir. Band 1'in 348,5 nm de görülmesi bileşğin flavonol yapısında olduğunu göstermektedir.

Sodyum metilat ile çekilen UV spektrumunda Band 1'in metanol spektrumuna göre 46,5 nm lik batokromik kayma göstererek 399 nm de görülmesi serbest 4'-hidroksil grubunun varlığını göstermektedir.

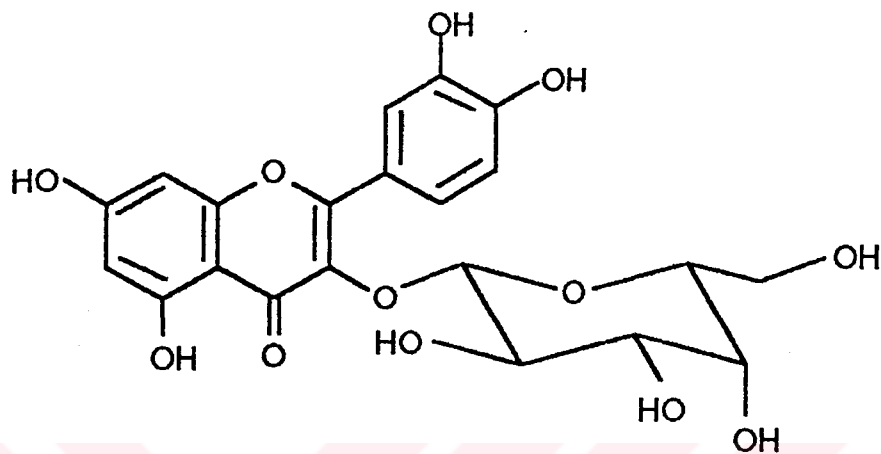
Sodyum asetat spektrumunda Band 2'nin metanol spektrumuna göre 15 nm lik batokromik kayma göstererek 272,5 nm de görülmesi serbest C-7 hidroksil grubunun varlığını göstermektedir. Ayrıca sodyum metilat spektrumunda 327,5 nm de üçüncü bir bandın görülmesi C-7 de serbest hidroksil bulunduğunu tekrar kanıtlamaktadır

Sodyum asetat + borik asit spektrumunun metanol spektrumuna göre Band 1'in 19 nm lik batokromik kayma göstererek 367,5 nm de görülmesi B halkasında orto hidroksi grubunun varlığını göstermektedir.

Aluminyum klorür + hidroklorik asit spektrumu metanol spektrumuna göre Band 1 iki pik halinde yarılarak Band 1a 49,5 nm kayarak 397 nm de görülmesi B halkasında orto hidroksi grubunun varlığını doğrulamaktadır ve aynı zamanda C-3 hidroksilin süstitüe olduğunu göstermektedir.

Bileşiğe uygulanan asit hidroliz sonucunda uzun standartlar ile birlikte kloroform : metanol : su ( 64: 36: 7 ) solvan sisteminde İTK sı ( Revalatör: Timol % 1 : der. sülfürik asit ) sonucu uzun ramnoz olduğu belirlenmiştir. Bileşğin şahit bileşik olan Kersetin 3-0- $\alpha$ -L-ramnopiranozit ile İTK [ Solvan sistemi: toluen: aseton: formik asit (30: 30: 6): Revalatör: NA] da mukayesesi sonucu ve yukarıdaki bilgiler ışığında bileşğin Kersetin 3-0- $\alpha$ -L-ramnopiranozit olduğu tespit edilmiştir.

### Kersetin 3-O- $\beta$ -D-galaktopiranozit



$C_{21}H_{20}O_{12}$

Mol. ağı. : 464,38

UV  $\lambda$  maks. nm : Tablo 4

IR  $\nu$  maks. ( % 1 KBr )  $cm^{-1}$  : 3400 (Ar O-H)

1658 (C=O)

1608-1503 (Ar C=C) (Ar halka)



### **Kersetin 3-O- $\beta$ -D-galaktopiranozit**

Bileşimin metanol ile çekilen UV spektrumunda Band 1 361 nm de Band 2 de 257 nm de görülmektedir. Band 1'in 361 nm de görülmesi bileşimin flavonol yapısında olduğunu göstermektedir.

Sodyum metilat ile çekilen UV spektrumunda Band 1'in metanol spektrumuna göre 51,5 nm lik batokromik kayma göstererek 412,5 nm görülmesi serbest 4'-hidroksil grubunun varlığını göstermektedir.

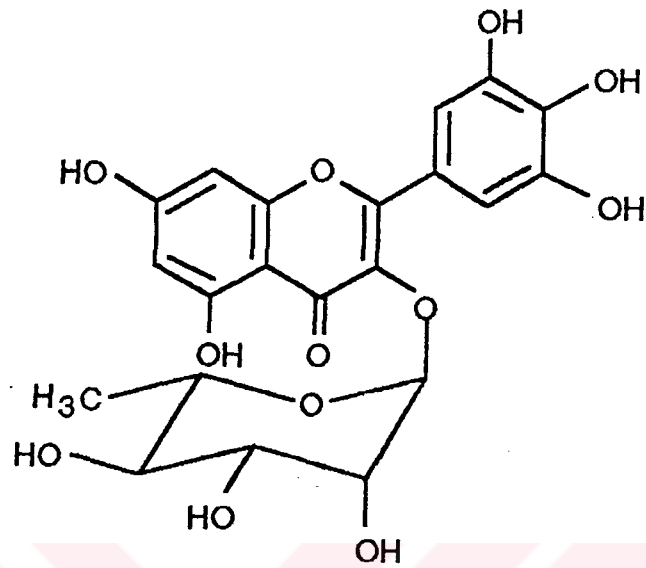
Sodyum asetat spektrumunda Band 2'nin metanol spektrumuna göre 17,5 nm lik batokromik kayma göstererek 274,5 nm de görülmesi serbest C-7 hidroksil grubunun varlığını göstermektedir. Ayrıca sodyum metilat spektrumunda 326,5 nm de üçüncü bir bandın görülmesi C-7 de serbest hidroksil bulunduğunu tekrar kanıtlamaktadır.

Sodyum asetat + borik asit spektrumunun metanol spektrumuna göre Band 1'in 20,5 nm lik batokromik kayma göstermesi B halkasında orto hidroksi grubunun varlığını göstermektedir.

Aluminyum klorür + hidroklorik asit spektrumu metanol spektrumuna göre Band 1 iki pik halinde yarılarak Band 1a 48,5 nm kayarak 397 nm de görülmesi B halkasında orto hidroksi grubunun varlığını doğrulamaktadır ve aynı zamanda C-3 hidroksilin süstitüe olduğunu göstermektedir.

Bileşiğe uygulanan asit hidroliz sonucunda uzun standartlar ile birlikte kloroform : metanol : su ( 64: 36: 7 ) solvan sisteminde İTK sı ( Revalatör: Timol % 1 : der. sülfürik asit ) sonucu galaktoz olduğu belirlenmiştir. Bileşimin şahit bileşik olan Kersetin 3-O- $\beta$ -D-galaktopiranozit ile İTK [ Solvan sistemi: toluen: aseton: formik asit ( 30: 30: 6 ): Revalatör: NA ] da mukayesesi sonucu ve yukarıdaki bilgiler ışığında bileşimin Kersetin 3-O- $\beta$ -D-galaktopiranozit olduğu tespit edilmiştir.

### Mirsetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnopyranozit



$C_{21}H_{20}O_{12}$

Mol.ağ. : 464,38

UV  $\lambda$  maks. nm : Tablo 4

IR  $\nu$  maks. ( % 1 KBr )  $cm^{-1}$  : 3401 (Ar O-H)  
 1658 (C=O)  
 1610-1452 (Ar C=C) (Ar halka)

### **Mirsetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit**

Bileşiğın IR spektrumundaki 1658  $\text{cm}^{-1}$  deki bir bant karbonil gruplarının C=O valens geriliminden, 3401  $\text{cm}^{-1}$  deki bant aromatik halkaya bağılı hidroksil gruplarından ileri gelmektedir.

Bileşiğın metanol ile çekilen UV spektrumunda Band 1 356 nm de Band 2 de 257,5 nm de görülmektedir. Band 1'in 356 nm de görülməsi bileşiğın flavanol yapısında olduğunu göstermektedir.

Sodyum metilat ile çekilen UV spektrumunda Band 1'in 398 nm de (Metanol spektrumuna göre 42 nm lik batokromik kayması) görülməsi serbest 4'-hidroksil grubunun varlığını göstermektedir.

Sodyum asetat spektrumunda Band 2'nin metanol spektrumuna göre 14,5 nm lik batokromik kayma göstererek 272 nm de görülməsi serbest C-7 hidroksil grubunun varlığını göstermektedir. Ayrıca sodyum metilat spektrumunda 320 nm de üçüncü bir bandın görülməsi C-7 de serbest hidroksil bulunduğunu tekrar kanıtlamaktadır.

Sodyum asetat + borik asit spektrumunun metanol spektrumuna göre Band 1'in 20,5 nm lik batokromik kayma göstererek 376,5 nm de görülməsi B halkasında orto hidroksi grubunun varlığını göstermektedir.

Aluminyum klorür spektrumu metanol spektrumuna göre Band 1 76 nm lik batokromik kayma göstererek 430 nm de görülməsi ve aluminyum klorür çözeltisine hidroklorik asit ilave edilince 29 nm lik hipsokromik kayma ile 401 nm de görülməsi B halkasında orto hidroksi grup ve/veya gruplarının varlığını göstermektedir.

Bileşiğe uygulanan Zirkonyum-sitrik asit reaksiyonu sonucu bileşiğin C-3 deki hidroksil grubunun bağlı olduğu, Wilson-Tauböck renk reaksiyonu sonucu ise 5-hidroksi grubu taşıdığı görölmektedir. Bileşiğe uygulanan asit hidroliz sonucunda ozun standartlar ile birlikte kloroform : metanol : su ( 64: 36: 7 ) solvan sisteminde İTK sı ( Revalatör : Timol % 1 : der. sülfürik asit ) sonucu ramnoz olduğu belirlenmiştir. Bileşiğin şahit bileşik olan Mirsetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit ile İTK [Solvan sistemi: toluen: aseton: formik asit (30: 30: 6); Revalatör: NA ] da mukayesesi sonucu ve yukarıdaki bilgiler ışığında bileşiğin Mirsetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit yapısında olduğu tespit edilmiştir.





### (+) - Kateşin pentaasetat

IR spektrumunda,  $1765\text{ cm}^{-1}$  deki şiddetli bir bant karbonil gruplarının  $\text{C}=\text{O}$  valens geriliminden,  $1205\text{ cm}^{-1}$  deki bant asetil gruplarının  $\text{C}-\text{O}$  valens geriliminden ileri gelmektedir.

Bileşğin aromatik karakteri ( $\text{C}=\text{C}$  valens gerilimi)  $1600-1500\text{ cm}^{-1}$  arasında üç bant halinde görülmektedir.

$900-750\text{ cm}^{-1}$  arasındaki bantlar süstitüe benzen halkasından ileri gelmektedir (101).

$^1\text{H}$ -NMR spektrumunda bu bileşğin 4 alifatik proton taşıdığı görülmektedir.  $5,14\text{ ppm}$  de dublet (Ha),  $5,25\text{ ppm}$  de ddd (Hb) ( $J_{\text{ab}}=6,1\text{ Hz}$ ) dir. Diğer iki protondan biri  $2,87\text{ ppm}$  de dd (1Hc) de ( $J=5,2/16,8\text{ Hz}$ ) diğeri ise  $2,66\text{ ppm}$  de dd (1Hc') ( $J=6,4/16,8\text{ Hz}$ )dir (102).

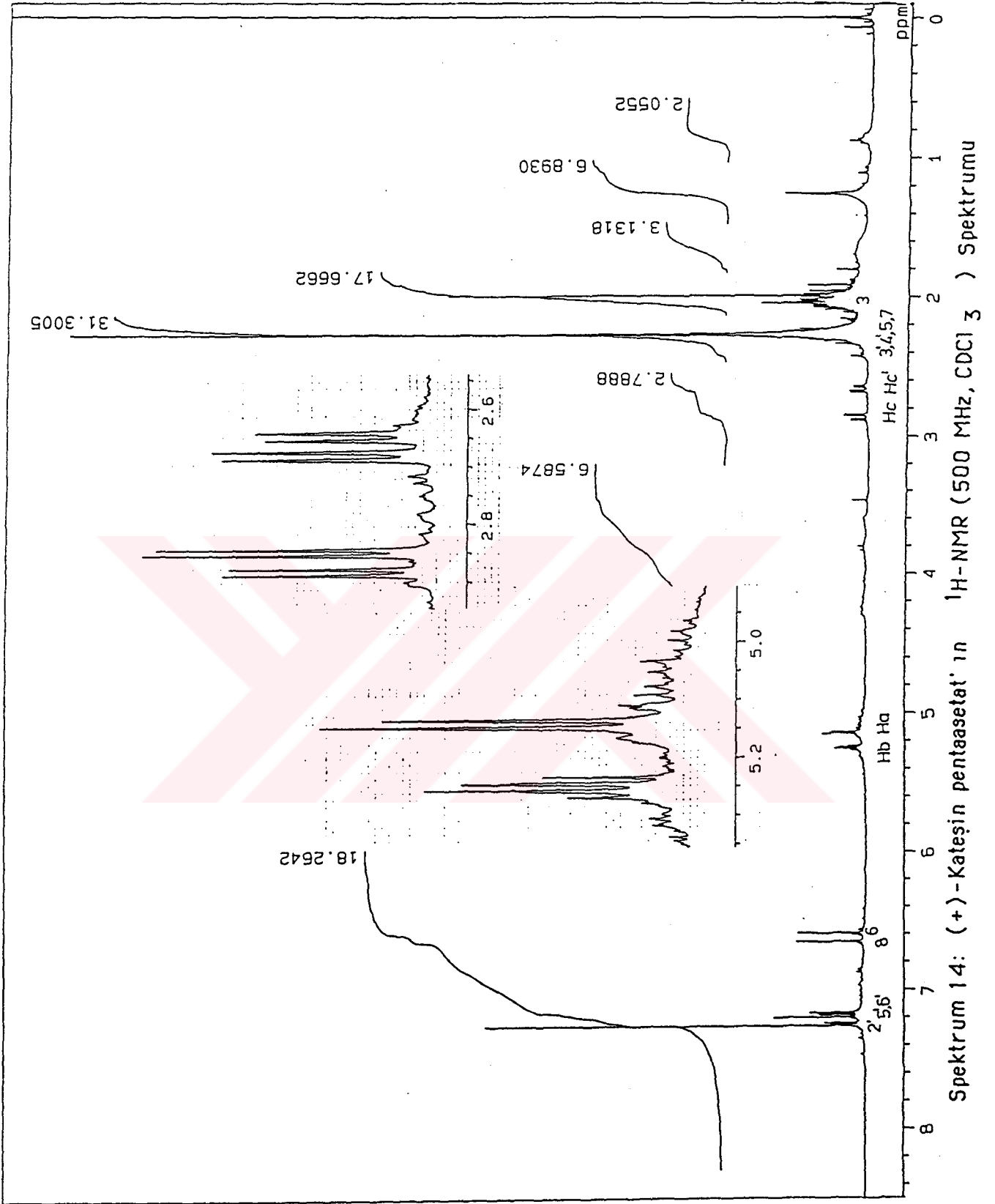
A halkasındaki proton sinyalleri komşu oksijen atomundan dolayı yüksek alanda görülmektedir. Bu sinyallerin  $6,60$  ve  $6,66\text{ ppm}$  de meta yarıılması ile ( $J=2,2\text{ Hz}$ ) kolayca C-6 ve C-8 deki protonlar olduğu tanımlanmaktadır. B halkasındaki protonlar düşük alanda  $7,17-7,21\text{ ppm}$  arasında 3H lik multipler şeklinde görülmektedir (102).

Kateşin pentaasetat'ın  $^1\text{H}$ -NMR spektrumunda alifatik asetil grubunun 3 protonluk singlet şeklinde  $1,99\text{ ppm}$  de diğeri 4 fenolik asetat grubunun 12 protonu  $2,28\text{ ppm}$  de singlet şeklinde görülmektedir (102).

$^{13}\text{C}$ -NMR spektrumunda C-3' ve C-4' sinyalinin  $142,1\text{ ppm}$  de, C-3'ün  $68,3$  de, C-5 sinyalinin  $149,4\text{ ppm}$  de, C-7 sinyalinin  $149,9\text{ ppm}$  de çıkması bu karbonlarda süstitüsyon olduğunu göstermektedir (103). Standart ile birlikte benzol: aseton (8:2) solvan sisteminde İTK sı [ Revalatör: Vanilin (%1): der. sülfürik asit] ve yukarıdaki bilgiler ışığında bileşik (+)-Kateşin pentaasetat olarak tanımlanmıştır.

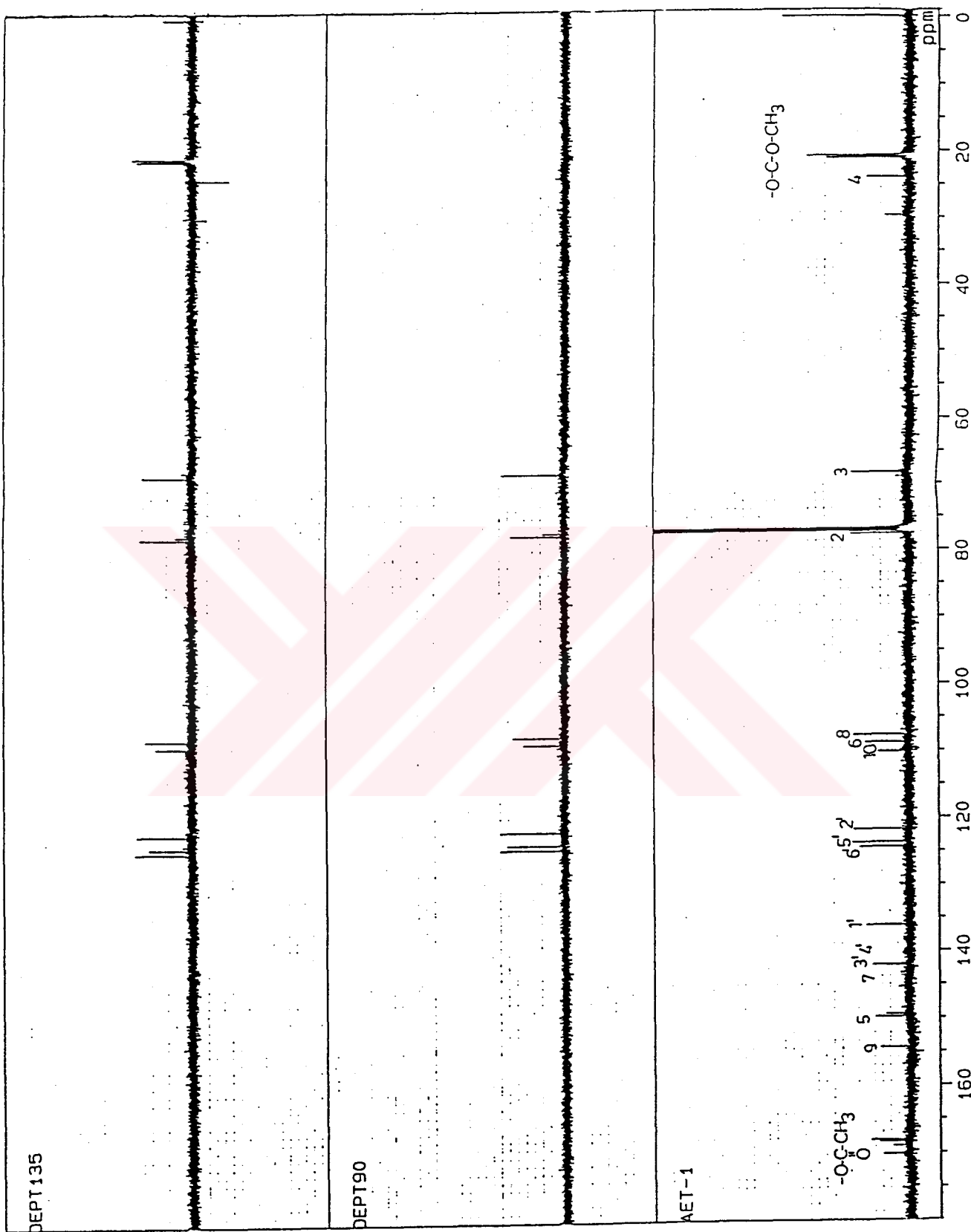
H	$\delta$ ( ppm ) J (Hz)	C-Atom	$\delta$ (ppm)	C-Tipi
Ha	5,14 d a,b: 6,1 Hz	C-2	77,6	CH
Hb	5,25 ddd	C-3	68,3	CH
Hc'	2,66 dd b,c': 6,4 Hz	C-4	23,9	CH <sub>2</sub>
		C-5	149,4	C
Hc	2,87 dd b,c: 5,2 Hz	C-6	108,8	C
		C-7	149,9	CH
H-6	6,60 d 2,2 Hz	C-8	107,7	C
H-8	6,66 d 2,2 Hz	C-9	154,4	CH
H-2'	7,24 d 1,9 Hz	C-10	110,2	C
H-5',6'	7,17-7,21 m	C-1'	136,1	C
H-3',4',5,7	2,28 s	C-2'	121,8	CH
OAc		C-3'	142,1	C
H-3 OAc	1,99 s	C-4'	142,1	C
		C-5'	123,7	CH
		C-6'	124,4	CH
		-O-C-CH <sub>3</sub>	170,2	
			169,0	
		O	168,4	
			168,1	
			168,1	
		-O-C-O-CH <sub>3</sub>	21,1	
			21,0	
			20,7	
			20,6	
			20,6	

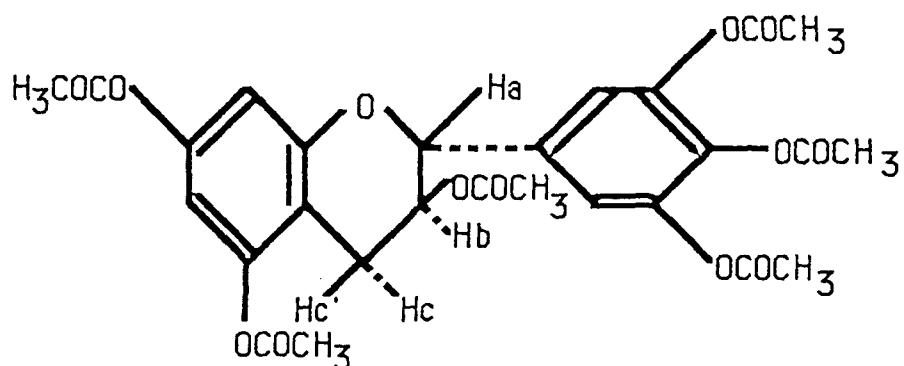
Tablo: 7 (+)-Kateşin pentaasetat'ın <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR Spektral Değerleri



Spektrum 14: (+)-Katesin pentasetat in  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) Spektrum





**(+)-Gallokatesin hekzaasetat**

$C_{27}H_{26}O_{13}$

Mol. ağı: 558,49

UV  $\lambda$  maks. ( MeOH ) nm: 279

IR  $\nu$  maks. ( % 1 KBr )  $cm^{-1}$ : 1769 ( C=O )  
 1195 ( C-O )  
 1600-1500 ( C=C; Aromatik halka )  
 900-750 ( Süstitüe benzen )

$^1H$  NMR ( 500 MHz,  $CDCl_3$  ) Spekt.: Spektrum 16; Tablo 8

### (+)-Gallokateşin hekzaasetat

IR spektrumunda,  $1769\text{ cm}^{-1}$  deki şiddetli bir bant karbonil gruplarının C=O valens geriliminden,  $1195\text{ cm}^{-1}$  deki bant asetil gruplarının C-O valens geriliminden ileri gelmektedir.

Bileşğin aromatik karakterinin C=C valens gerilimi  $1600-1500\text{ cm}^{-1}$  de üç bant halinde görülmektedir.  $900-750\text{ cm}^{-1}$  arasındaki bantlar ise süstitüe benzen halkasından ileri gelmektedir (101).

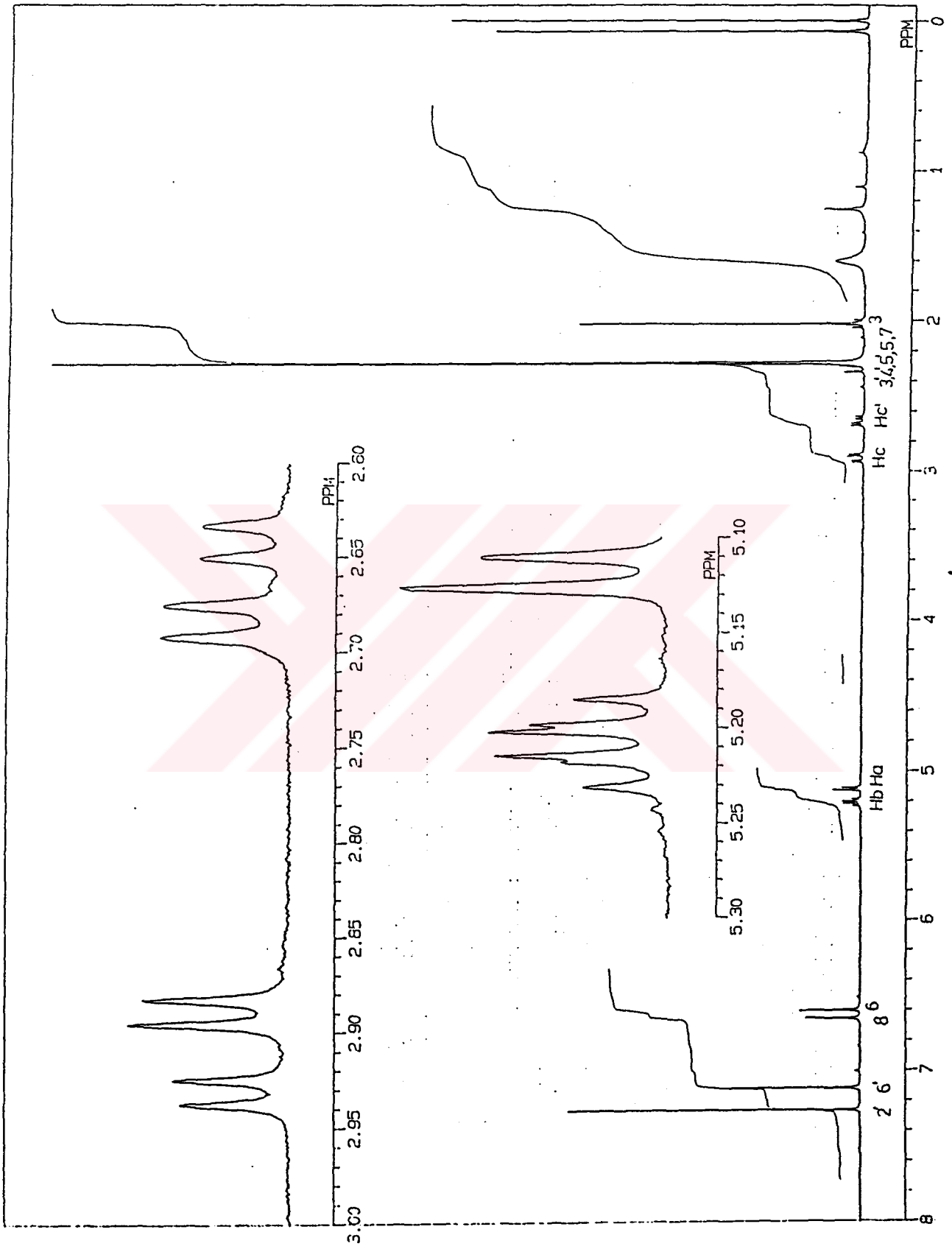
Bileşğin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumunda yine 4 alifatik proton sinyali gözlenmektedir. Bunlar  $5,12\text{ ppm}$  de dublet (Ha),  $5,21\text{ ppm}$  de ddd (Hb) ( $J_{ab}=6,4\text{ Hz}$ ) dir. Hb'nin Ha ile  $6,4\text{ Hz}$  lik bir yarıлма göstermesi Ha ve Hb protonlarının trans pozisyonda olduğunu göstermektedir. Diğer iki protondan biri  $2,91\text{ ppm}$  de dd (Hc) ( $J=5,1/16,8\text{ Hz}$ ) diğeri ise  $2,66\text{ ppm}$  de dd (1Hc') ( $J=6,6/16,8$ ) (102).

A halkasındaki protonların sinyalleri  $6,60\text{ ppm}$  (d,1H),  $6,65\text{ ppm}$  (d,1H) de meta yarıлма ile ( $J=2,2\text{ Hz}$ ) kolayca C-6 ve C-8 deki protonlar olduğu tanınmaktadır (102).

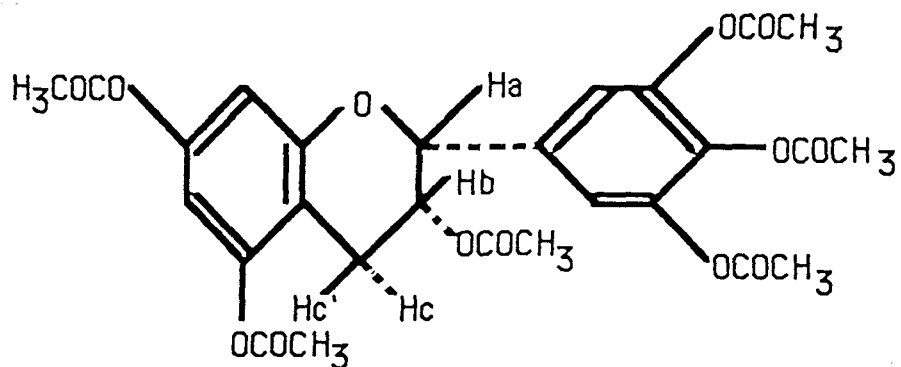
B halkasındaki protonlar  $7,12\text{ ppm}$  (s,1H) ppm de singlet şeklinde görülmektedir. Alifatik asetil grubu  $2,01\text{ ppm}$  de (3H), aromatik halkadaki asetil grubu singlet şeklinde  $2,28\text{ ppm}$  (s,3 OAc, C-3',4',5')  $2,28\text{ ppm}$  (s, 2 OAc, C-5, 7) şeklinde görülmektedir (102). Bu bilgiler ışığında bileşik (+)-Gallokateşin hekzaasetat olarak tanımlanmıştır.

H	$\delta$ ( ppm )	J (Hz)
Ha	5,12 d	a,b: 6,4
Hb	5,21 ddd	
Hc'	2,66 dd	b,c': 6,6 c,c': 16,8
Hc	2,91 dd	b,c: 5,1 c,c': 16,8
H-6	6,60 d	2,2
H-8	6,65 d	2,2
H-2',6'	7,12 s	
H-3',4',5',5,7	2,28 s	
OAc		
H-3 OAc	2,01 s	

Tablo: 8 (+)-Gallokateşin hekzaasetat'ın  $^1\text{H}$  NMR Spektral Değerleri



Spektrum 16: (+)-Gallocatechin hekzaasetat' in  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) Spektrumu

**(-)-Epigallokatesin hekzaasetat**

$$C_{27}H_{26}O_{13}$$

Mol. ağı: 558,49

UV  $\lambda$  maks. ( MeOH ) nm: 279

IR  $\nu$  maks. ( % 1 KBr )  $cm^{-1}$ : 1769 ( C=O )  
 1195 ( C-O )  
 1600-1500 ( C=C; Aromatik halka )  
 900-750 ( Süstitüe benzen )

$^1H$  NMR ( 500 MHz,  $CDCl_3$  ) Spekt.: Spektrum 17; Tablo 9

**(-)-Epigallokateşin hekzaasetat**

Bileşğin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumunda 4 alifatik proton sinyali gözlenmektedir. Bunlar 5,1 ppm de br.s (Ha), 5,38 ppm de m (Hb) dir. Ha'nın Hb ile küçük bir yarıma göstererek geniş bir singlet halinde görülmesi Ha ve Hb protonlarının cis pozisyonda olduğunu göstermektedir. Diğer iki protondan biri 2,96 ppm dd (Hc) ( $J=4,2/17,9$  Hz) diğeri ise 2,89 ppm dd (Hc') ( $J=2/17,9$  Hz) dir.

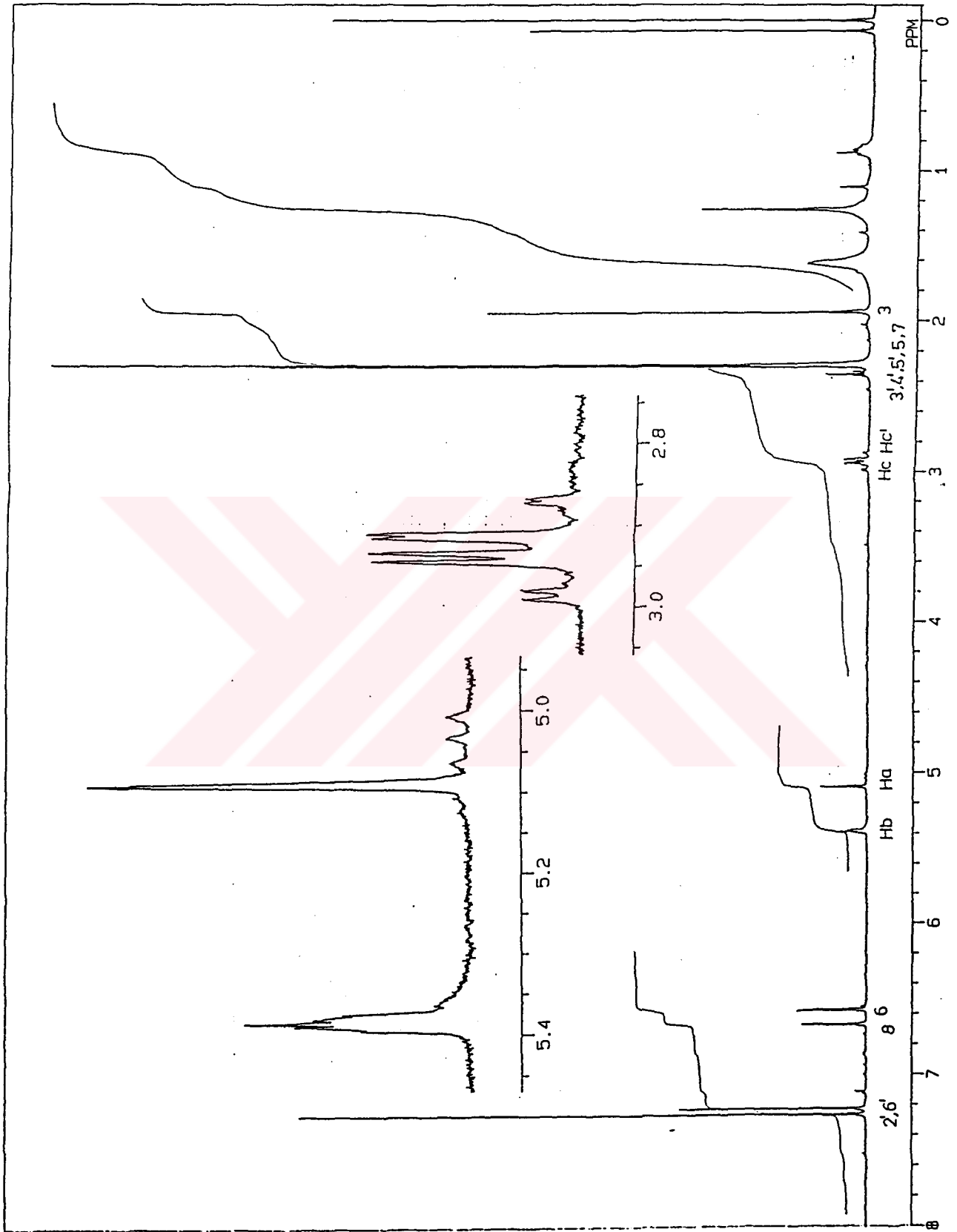
A halkasındaki protonların sinyalleri 6,57 ppm (d, 1H), 6,66 ppm (d,1H) de meta yarıma ile ( $J=2,3$  Hz) kolayca C-6 ve C-8 deki protonlar olduğu tanınmaktadır.

B halkasındaki protonlar 7,22 (H-2',6') ppm de iki protonluk singlet şeklinde görülmektedir. Alifatik asetil grubu 1,94 ppm de (3H), aromatik halkadaki asetil grubu singlet şeklinde 2,29 ppm (s,3 OAc, C-3', 4', 5'), 2,29 ppm (s,2 OAc, C-5, 7) şeklinde görülmektedir. Bu bilgiler ışığında bileşik (-)-Epigallokateşin hekzaasetat olarak tanımlanmıştır.

H	$\delta$ ( ppm )	J (Hz)
Ha	5,1 br.s	
Hb	5,38 m	
Hc'	2,89 dd	b,c': 2,0 c,c': 17,9
Hc	2,96 dd	b,c: 4,2 c,c': 17,9
H-6	6,57 d	2,3
H-8	6,66 d	2,3
H-2',6'	7,22 s	
H-3',4',5',5,7	2,29 s	
OAc		
H-3 OAc	1,94 s	

Tablo: 9 (-)-Epigallokateşin hekzaasetat'ın  $^1\text{H}$  NMR Spektral Değerleri





Spektrum 17: (-)-Epigallocatechin hexaacetat' in  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) Spektrum

## 5-SONUÇ ve TARTIŞMA

Bu araştırmada, Türkiye florasına kayıtlı iki *Abies* türünden *Abies nordmanniana* ' ya ait endemik olan *Abies nordmanniana* subsp. *equi-trojani* ve *A. nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana* ' nın kozalak, yaprak ve dal kabuklarının taşıdığı diterpenler, flavonoidler ve tanenler izole edilip yapıları aydınlatılmış ve bu iki endemik alttürün diterpenler, flavonoidler ve tanenler yönünden mukayesesi yapılmıştır.

Balıkesir, Kaz dağlarından toplanan *A. nordmanniana* subsp. *equi-trojani* bitkisinin kurutulmuş kozalak, yaprak ve dal kabukları üzerinde çalışılmıştır. Kozalaklar toz edildikten sonra petrol eteri ile maserasyona tabi tutulmuş ve petrol eteri uçurulduktan sonra % 5 lik  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ile alkalilendirildikten sonra petrol eteri ile tekrar ekstraksiyon yapılmış, % 5  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  lı ve petrol eterli (=Nötral faz) fazlar ayrılmıştır. % 5  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  lı faz % 10 luk HCl ile asitlendirildikten sonra petrol eteri ile ekstre edilmiş petrol eterli faz (=Asit faz) dan Silika jel kolon ( Petrol eteri:etilasetat) kromatografisi yardımı ile Abietik asit elde edilmiştir. Nötral faz' dan Silika jel kolon ( Petrol eteri: etilasetat ), Sephadex LH-20 kolon ( Petrol eteri: kloroform: metanol ) kromatografisi ve preparatif İTK ( Sikloheksan: etilasetat) ayırımı yardımı ile (-)-Abietinal elde edilmiştir.

Yapraklar toz edildikten sonra metanol ile ekstraksiyonu takiben yoğunlaştırılıp, petrol eteri ile ekstre edilmiştir. Petrol eteri ekstresinden Silika jel kolon ( n-Hekzan: eter ) kromatografisi sonucu cis- Abienol elde edilmiştir. Metanol ekstresinin Sephadex LH-20 kolon ( Etanol ) ve Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi (Su:metanol) sonucu Mirsetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit, Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit ve yeni bir bileşik olan Kemferol 3-O- $\alpha$ -L- ramnopiranozil (1 $\rightarrow$ 2)  $\beta$ -D-glukopiranozit- 8-C- $\beta$ -D-ramnopiranozit elde edilmistir.

Dal kabukları toz edildikten sonra % 90 lık metanol ile ekstraksiyonu takiben, sırası ile petrol eteri, etilasetat ve n-butanol ile ekstre edilmiştir. n-Butanol ekstresinin daha sonra Sephadex LH-20 ( Etanol ) kolon kromatografisine tabi tutulması, sonra asetik asit anhidrit ile asetilasyon yapılması ve preparatif İTK ile ( Kloroform: etilasetat ) ayırımları sonucu, (+)-Kateşin pentaasetat, (+)-Gallokateşin hekzaasetat, (-)-Epigallokateşin hekzaasetat elde edilmiştir.

Kızılcahamam- Bozalan' daki dere yatağından toplanan *Abies nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana*' nın kozalak ve yaprakları üzerinde çalışılmıştır. Toz edilmiş kozalaklar petrol eteri ile maserasyona tabi tutulduktan sonra elde edilen petrol eteri ekstresi Silika jel kolon ( Petrol eteri: etilasetat ) , ( Hekzan: eter ) kromatografisine tabi tutulmuş ve daha sonra preparatif İTK ( Sikloheksan: etilasetat ) ile maddeler temizlendikten sonra (-)-Abietinal ve Abietik asit elde edilmiştir.

Yaprak toz edildikten sonra sırası ile metanol, petrol eteri ve etilasetat ile ekstre edilmiştir. Etilasetat ekstresinin YSK (RP- 18) (Metanol:su) ve Sephadex LH-20 (Etanol) kolon kromatografisi sonucu Mirsetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit, Kersetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit, Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit, Kersetin 3-O- $\beta$ -D-galaktopiranozit ve Kemferol 3-O-(6"-O-p-kumaroil)  $\beta$ -D-glukopiranozit elde edilmiştir.

Elde edilen bileşiklerin kimyasal yapıları, kimyasal yöntemler ( asit hidroliz, asetilasyon ) yanında spektroskopik yöntemler ( UV, IR,  $^1\text{H}$ -NMR ve  $^{13}\text{C}$ -NMR ) yardımı ile aydınlatılmıştır.

Petrol eteri ekstresinden elde edilen bir bileşik olan Abietik asit ' in IR spektrumunda  $1697\text{ cm}^{-1}$  ve  $2400-3200\text{ cm}^{-1}$  arasındaki band bize COOH grubunun bulunduğunu göstermektedir. UV metanol spektrumunda  $241\text{ nm}$  deki absorpsiyon maksimumu,  $235,2\text{ nm}$  ve  $249,4\text{ nm}$  deki omuzla birlikte 7, 13-abietadienler için karakteristiktir.  $^1\text{H}$  NMR ve  $^{13}\text{C}$  NMR spektral bulguları 7,13- abietadienler için verilen literatür değerlerine uygunluk göstermektedir.  $9,85\text{ ppm}$  deki br.s C-4 bağlı karboksil grubunu göstermektedir, ayrıca  $^{13}\text{C}$  NMR da  $185\text{ ppm}$  deki pik C- 19 daki karboksil grubunu doğrulamaktadır ( 95).

Petrol eteri ekstresinden elde edilen (-)- Abietinal' in spektral değerleri abietik asite benzemektedir. Sadece IR spektrumunda  $1727\text{ cm}^{-1}$  ve  $2693\text{ cm}^{-1}$  de aldehit grubuna ait piki,  $^1\text{H}$  NMR spektrumunda görülen  $9,24\text{ ppm}$  deki H- 19 a ait aldehit grubu ve  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumunda görülen  $206,1\text{ ppm}$  deki C- 19 a bağlı aldehit sinyalini desteklemektedir. Ayrıca bileşik üzerinde  $\text{NaBH}_4$  ile

yapılan redüksiyon sonucu Abietinol elde edilmiştir. Bu yapıda aldehit grubunu doğrulamaktadır (95,96).

Petrol eteri ekstresinden elde edilen cis-Abienol IR spektrumunda 3372  $\text{cm}^{-1}$  deki bant hidroksil grubu varlığını, 1643  $\text{cm}^{-1}$  ve 1600  $\text{cm}^{-1}$  deki bant konjuge olmuş çifte bağın absorpsiyonunu göstermektedir. Bileşiğin  $^1\text{H}$  NMR spektrumunda 6,89 ppm de dd şeklinde görülen H-14 e ait pik bize Z tip konjuge dien sistemi olduğunu göstermektedir.  $^{13}\text{C}$  NMR Spektral verileri ile beraber  $^1\text{H}$  NMR spektral verileri literatür bulguları ile beraber 8-hidroksi 12, 14-labdadien yapısında olduğunu kanıtlamaktadır (97, 98).

Etilasetat ekstresinden elde edilen Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil (1 $\rightarrow$ 2)  $\beta$ -D-glukopiranozit-8-C- $\beta$ -D-glukopiranozit bileşiğinin UV metanol spektrumunda band 1'in 332,5 nm de çıkması C-3 de hidroksil grubu süstitüe flavonol yapısında olduğunu göstermektedir. C-5 ve C-7 deki hidroksilin serbest olduğu sodyum asetat ve alüminyum klorür+ hidroklorik asit reaktifleriyle yapılan kaydırmalar sonucu kanıtlanmaktadır. Bileşiğin  $^1\text{H}$  NMR spektrumunda B halkasında iki tane AB sistemi görülmektedir. 6,17 ppm de singlet şeklinde görülen H-6 sinyali ve H-8 sinyalinin görülmemesi C-8 de süstitüsyon olduğunu göstermektedir. 0,56 ppm de d olarak görülen ramnoz' a ait metil sinyali ve ramnoz'un anomerik protonuna ait 5,47 ppm deki br.s yapıda oz olarak bir ramnozun bulunduğunu ve ayrıca bu ozun aglikona değil diğer bir oza bağlı olduğunu göstermektedir. 4,9 ppm de d şeklinde (J= 7 Hz) görülen diğer anomerik glukoz protonu yapıda iki glukoz olduğunu, bir glukozun aglikona C-3 den glikozidik bağlı olduğunu ramnozun ise bu ozun 2. karbonundan bağlı olduğunu, diğer glukozun ise aglikonun 8. karbonundan karbon-karbon bağı oluşturduğu görülmüştür.  $^{13}\text{C}$  NMR spektral datalarında bu verileri doğrulamaktadır. O-bağı yapmış glukozu ait bir anomerik proton 99,98 ppm de görülürken diğer C-bağı yapmış glukozun anomerik protonu 72,11 ppm de görülmektedir. O-bağı yapmış glukozu ait C-2 sinyali düşük alana kaymış olarak 80,10 ppm de çıkması diğer oz olan ramnozun buradan bağlı olduğunu kanıtlamaktadır. Ayrıca glukozun anomerik protonlarının J değerleri 7,2 Hz dir. Buda glukozların  $\beta$  bağlı olduğunu göstermektedir. Ramnozun anomerik

protonuna ait br.s görölmesi J değerinin düşük olduğunu göstermektedir. Buda ramnozun  $\alpha$ -bağı yaptığını göstermektedir. Bütün bu veriler ışığında yapı Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil (1 $\rightarrow$ 2)  $\beta$ -D-glukopiranozit- 8-C- $\beta$ -D-glukopiranozit olarak kanıtlanmıştır.

Etilasetat ekstresinden elde edilen Tilirozit' in UV spektrumunun çeşitli kaydırma reaktifleri ile çekilmesi sonucu 3. karbondan sübstitüsyona sahip flavonol yapısında olduğu tesbit edilmiştir. Bileşiğin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu incelendiğinde 6,14 ve 6,38 ppm lerde H-6 ve H-8 dublet olarak görölmemektedir. B halkasının H-2', 6' ve H-3', 5' sinyalleri 7,99 ve 6,85 ppm lerde görölmemektedir. Oza ait anomerik 5,46 ppm de d ( J= 7 Hz) görölmesi 3. karbona  $\beta$ -bağlı glukozun varlığını kanıtlamaktadır. Ayrıca aromatik sahada görölmemektedir. 7,36 ve 6,85 ppm de dubletler ( J= 8,2 Hz) maddenin yapısında p- pozisyonda sübstitüsyon taşıyan yapıyı göstermektedir. Ayrıca 6,1 ve 7,34 ppm de ( J= 17,4 Hz ) lik dubletler aromatik halkaya bağlı trans olefinik protonlara aittir ve sinnamik asit türevi bir açıl grubunun varlığını göstermektedir. $^{13}\text{C}$  NMR spektrumunda C-3 sinyalinin 133 ppm de singlet şeklinde görölmesi ve C-2 ve C-3 sinyallerinin ise düşük alana kaymış olarak çıkmasında ozun C-3 pozisyonundan bağlı olduğunu kanıtlamaktadır. Diğer karbon sinyalleri Tilirozit' in sinyallerine uymaktadır. Ayrıca C-6'' sinyalinin düşük alana doğru kaymış olması açilasyonun da bu bölgede olduğunu kanıtlamaktadır. Bu bilgiler sonucu Kemferol 3-O-(6''-O-p-kumaroil )  $\beta$ -D-glukopiranozit ( =Tilirozit ) olduğu bulunmuştur ( 100 ).

Etilasetat ekstresinden elde edilen Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit, Kersetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit, Kersetin 3-O- $\beta$ -D-galaktopiranozit ve Mirsetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit bileşiklerinin UV spektrumunda kullanılan çeşitli kaydırma reaktifleri ile çekilmesi ve asit hidroliz sonucu standart ile ozların İTK ları ayrıca standart bileşikler ile beraber bileşiklerin İTK ları sonucu yapıları belirlenmiştir ( 21, 24, 99 ).

n-Butanol ekstresinden elde edilen monomer bileşiklerin selüloz plak'ta Su: Dioksan ( 10:1 ) solvan sistemi ile ve şahit maddelerle karşılaştırılarak, bileşiklerin (+)-kateşin, (+)-gallokateşin ve (-)-epigallokateşin olduğu gözlenmiştir Fakat (+)-gallokateşin ve (-)-epigallokateşin'in birbirlerinin diastereoizomeri oluşu nedeni ile ve kondanse tanenlerin labil bileşikler

olmaları nedeni ile her üç monomer bileşik asetillendikten sonra preparatif İTK yardımı ile asetillenmiş türevler temizlenmiş ve izomerler ayrılmıştır. (+)-Kateşin asetat ve (+)-gallokateşin asetatın Ha ve Hb protonlarının yarılama sabitleri  $J_{a,b}$  büyük, (-)-epigallokateşin asetat'ın  $J_{a,b}$  ise küçük olduğu görülmüştür. Asetilli bileşiklerin  $^1H$  NMR ve  $^{13}C$  NMR spektral değerleride (+)-kateşin pentaasetat, (+)-gallokateşin hekzaasetat ve (-)-epigallokateşin hekzaasetat'ın  $^1H$  NMR ve  $^{13}C$  NMR spektral değerleri ile uygunluk göstermektedir ( 101, 102, 103 ).

*A. nordmanniana* subsp. *equi-trojani* ve *A. nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana* morfolojik ve anatomik olarak alttür ayırımı yapılması oldukça güçtür. Türkiye Florası bu iki alttürü yaprak ucunun şekli, tomurcukların reçineli olup olmaması ve genç sürgünlerin tüylü olup olmamasına göre ayırmıştır fakat bu alttürlerin zamanla evrim geçirdiğini ve bu iki alttürü ayıran özelliklerin yer yer her iki alttürde , bazen de aynı ağacın değişik dallarında görüldüğü toplanan örnekler göstermektedir.

Yapılan çalışmada bu iki alttürün kozalak, yaprak ve genç dallarından elde edilen çeşitli ekstrelerini içerdiği kimyasal maddeler birbirine oldukça benzemektedir. Fakat bunların yoğunlukları *A. nordmanniana* subsp. *equi-trojani*'de daha az, *A. nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana*'da daha fazladır. Ayrıca major olarak bulunan bileşikler yönündende farklılıklar göstermektedir. Her iki türün kozalağında major olarak Abietik asit ve (-)-Abietinal bulunmaktadır. İki alttürün yapraklarının major flavonoid içerikleri yönündende farklılıkları vardır. *A. nordmanniana* subsp. *equi-trojani* yaprağında major olarak Mirsetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit, Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit ve yeni bir bileşik Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil (1 $\rightarrow$ 2)  $\beta$ -D-glukopiranozit-8-C- $\beta$ -D-glukopiranozit ve cis-Abienol elde edilirken diğer alttür olan *A. nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana* yapraklarından major olarak Mirsetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit, Kersetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit, Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit, Kersetin 3-O- $\beta$ -D-galaktopiranozit ve Kemferol-3-O-(6"-O-p-kumaroil)  $\beta$ -D-glukopiranozit elde edilmiştir. Bu bileşikler arasında yeni bir bileşik olan Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil (1 $\rightarrow$ 2)  $\beta$ -D-glukopiranozit-8-C- $\beta$ -D-glukopiranozit sadece *A. nordmanniana* subsp. *equi-trojani*'de bulunmasına

karşın Kemferol-3-O- (6"-O-p\_kumaroil)  $\beta$ -D- glukopiranozit ise sadece *A. nordmanniana subsp. bornmuelleriana*'da bulunmaktadır. Ayrıca *A. nordmanniana subsp. equi-trojani*'nin kabuklarından major bileşik olarak (+)-kateşin, (+)-gallokateşin ve (-)-epigallokateşin izole edilmiştir. *A. nordmanniana subsp. bornmuelleriana*'nin dal kabuklarının İTK ile kontrolü sonucu aynı bileşikleri major olarak taşıdığı görülmüştür. Bütün bu sonuçlar bu iki alttürün ayırımının kimyasal yönden yapılabileceğini göstermiştir.



## 6-ÖZET

Türkiye ' de endemik olarak yetişen *Abies nordmanniana* subsp. *equi-trojani* ve *Abies nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana* üzerinde çalışılmıştır. *A. nordmanniana* subsp. *equi-trojani* kozalaklarından hazırlanan petrol eteri ekstresinden Abietik asit ve (-)-Abietinal, yapraklarından hazırlanan metanol ekstresinden elde edilen; petrol eteri ekstresinden cis-Abienol, etil asetat ekstresinden Mirsetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit, Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit ve Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil (1 $\rightarrow$ 2)  $\beta$ -D-glukopiranozit- 8-C- $\beta$ -D- glukopiranozit, genç dal kabuklarından elde edilen n-butanol ekstresinden ise (+)-kateşin , (+)-gallokateşin ve (-)-epigallokateşin perasetat olarak elde edilmiştir. *A. nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana* 'nın kozalaklarından elde edilen petrol eteri ekstresinden (-)-Abietinal ve Abietik asit, yapraklarından elde edilen etilasetat ekstresinden ise Mirsetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit, Kersetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit, Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozit, Kersetin 3-O- $\beta$ -D-galaktopiranozit ve Tilirozit [= Kemferol 3-O-(6''-p- kumaroil) glukopiranozit ] elde edilmiştir.

Elde edilen bileşiklerin kimyasal yapıları, kimyasal yöntemler ( asit hidroliz, asetilasyon ) yanında spektroskopik yöntemler ( UV, IR,  $^1\text{H}$  NMR ve  $^{13}\text{C}$  NMR ) yardımı ile aydınlatılmıştır.

Bu iki alttürün morfolojik ve anatomik olarak ayırımı oldukça güçtür. Türlerin major olarak taşıdığı maddelerin miktarlarının farklılığı yanında *A. nordmanniana* subsp. *equi-trojani* ' de Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil (1 $\rightarrow$ 2)  $\beta$ -D-glukopiranozit- 8-C- $\beta$ -D-glukopiranozit 'in, *A. nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana* ' da ise Tilirozit 'in farklı olarak bulunmasının bu iki alttürün kimyasal olarak ayrımlarına destek oluşturacağı tespit edilmiştir.



## SUMMARY

*Abies nordmanniana* subsp. *equi-trojani* and *Abies nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana* growing endemically in Turkey, were studied. Abietic acid and (-)-Abietinal were obtained from the light petroleum (40-60 %C) extract of the cones of *A. nordmanniana* subsp. *equi-trojani*; cis-Abienol from light petroleum extract of the methanolic extract of its leaves; Myricetin 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside, Kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside and Kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (1 $\rightarrow$ 2)  $\beta$ -D-glucopyranoside-8-C- $\beta$ -D-glucopyranoside from ethyl acetate extract of the methanolic extract of its leaves; (+)-catechin, (+)-gallocatechin and (-)-epigallocatechin as peracetate from the n-buthanolic extract of its the young branch barks. (-)-Abietinal and Abietic acid were obtained from the light petroleum extract of the cones of *A. nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana* ; Myricetin 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside, Quercetin 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside, Kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside, Quercetin 3-O- $\beta$ -D-galactopyranoside and Tiliroside [=Kaempferol 3-O-(6"-p-coumaroyl)  $\beta$ -D-glycopyranoside] from the ethyl acetate extract of its leaves.

The chemical structures of the compounds that were obtained, identified using spectroscopic methods (UV, IR,  $^1\text{H}$  NMR and  $^{13}\text{C}$  NMR) besides chemical methods (acid hydrolysis, acetylation).

Morphological and anatomical differentiation of the subspecies were is difficult. Besides of the difference in the major compound content the subspecies, the presence of Kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)  $\beta$ -D-glucopyranoside 8-C- $\beta$ -D-glucopyranoside only in *A. nordmanniana* subsp. *equi-trojani* and Tiliroside only in *A. nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana* will be the basis for chemical differentiation of these two subspecies.

## 7- LİTERATÜR

- 1) Gökmen, H., Açıktohumlular ( Gymnospermae ), T.C. Orman Bakanlığı, Or. Gen. Md. Yay., 523/49, Alkan Matbaası, Ankara ( 1970 ).
- 2) Kayacık, H., Orman ve Park Ağaçlarının Özel Sistematiği, Cilt 1, 2. Baskı, Kurtuluş Matbaası, İstanbul ( 1965 ).
- 3) Hegnauer, R., Chemotaxonomie der Pflanzen, Cilt 1, Birkhauser Verlag Stuttgart ( 1962 ).
- 4) Davis, P.H., Flora of Turkey and the East Aegean Island, Cilt 1, University Press, Cambridge ( 1965 ).
- 5) Baytop, T., Türkiyede Bitkiler ile Tedavi, İstanbul Üniversitesi Yayınları, Eczacılık Fakültesi No. 40, İstanbul ( 1984 ).
- 6) Evans, W. C., Pharmacognosy Alden Press, London ( 1989 ).
- 7) Davis, P.H., Cullen, J., Coode, M.J.E., Hedge, I.C., Materials for a Flora of Turkey: X, Notes from the Royal Botanic Garden Edinburg, 26 ( 2 ), 165 ( 1965 ).
- 8) Krüssmann, G., Handbuch der Nadelgehölze, Paul Parey, Berlin ( 1972 ).
- 9) Ata, C., Kaz Dağı Gökmanı ( *Abies equi-trojani* Aschers et Sinten ) nın Türkiyedeki Yayılışı ve Silvikültürel Özellikleri, İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi, Doçentlik Tezi, İstanbul ( 1975 ).
- 10) Ata, C., Kaz Dağı Gökmanı ( *Abies equi-trojani* Ascher. et Sint. ) nın Botanik, Ekolojik ve Silvikültürel Özellikleri, Journal of the Forestry Faculty of the Karadeniz Technical University, 2, ( 1 ), 15 ( 1979 ).

- 11) Aslan, S., Kaz Dağı Gökürarı ( *Abies equi-trojani* Asche. et Sinten ) nın Fıdanlık Tekniği Üzerine Çalışmalar, Ormancılık Araştırma Enstitüsü Yayınları, No 157, (1986 ).
- 12) Yaltırık, F., A Review of the Chronological Variation in the Taxonomy of *Abies equi-trojani* Aschers. et Sint., İ.Ü. Orman Fakültesi Yayınları No 1921, Bozak Matbaası, İstanbul ( 1973 ).
- 13) Weissmann, G., The Distribution of Terpenoids; Swain, T., Comparative Phytochemistry, 97, Academic Press, London ( 1966 ).
- 14) Harborne, J. B., The Terpenoids, Harborne, J. B., Phytochemical Methods, 100, Chapman and Hall, London ( 1984 ).
- 15) Beale, M. H., The Biosynthesis of C 5- C 20 Terpenoid Compounds, Nat. Prod. Reports, 25-39 (1990 ).
- 16) Gözükar, M., Biyokimya, Ofset Repromat Ltd. şti., Ankara ( 1990 ).
- 17) Dev. S., Terpenoids, Rowe. J. W., Natural Products of Woody Plants II , 691, Springer- Verlag, Berlin ( 1989 ).
- 18 ) Hanson, J. R., Diterpenoids, Natural Product Reports, 8, 1-16 ( 1991 ).
- 19 ) Pfander, H., Stoll, H., Terpenoid Glycosides, Natural Products, 8, 69-95 ( 1991 ).
- 20 ) Harborne, J. B., Mabry, T. J., Mabry, H., The Flavonoids, Chapman and Hall, London ( 1975 ).
- 21 ) Mabry, T. J., Markham, K. R., Thomas, M. B., The Systematic Identification of Flavonoids, Springer- Verlag, Berlin (1970 ).
- 22 ) Schüttle, H. R., Biosynthese Niedermolekularer Naturstoffe, Gustav Fisher Verlag, Stuttgart ( 1982 ).
- 23 ) Hess, D., Pflanzenphysiologie, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart( 1988 ).

- 24 ) Harborne, J. B., Mabry, T. J., The Flavonoids : Advances in Research, Chapman and Hall, London ( 1982 ).
- 25 ) Hoppe, A. H., Drogenkunde, Handbuch der Pflanzlichen und Tierischen Rohstoffe, Cram de Gruyter und Co., Hamburg ( 1958 ).
- 26 ) Von, R. E., Hunt, R. S., Chemosystematic Studies in the Genus *Abies*. III. Leaf and Twig Oil Analysis of Amabilis Fir, Can. J. Bot., 55, 3087-3092 ( 1977 ).
- 27 ) Khan, V. A., Pankrushina, N. A., Shmidt, E. N., Dubovenko, Zh. V., Pentegova, V. A., Terpenoids of Resin from *Abies semenovii*, Khim. Prir. Soedin., (1), 115-116 ( 1986 ).
- 28 ) Gornostaeva, L. I., Repyakh, S. M., Levin, E. D., Monoterpenes of Essential Oils from Siberian Coniferous Species, Khim. Prir. Soedin., (6), 784-786 ( 1977 ).
- 29 ) Penka, M., Cermak, J., Tesarik, K., Chromatographic Determination of Monoterpene Hydrocarbons And Alcohols Contained in the Resin from *Abies alba* Mill. Seeds, Acta Univ. Agric., Ser C, 46 (1-4), 147-169 (1977). Ref. CA: 91 6684 b ( 1979 ).
- 30 ) Cermak, J., Monoterpene Hydrocarbon Contents of the Resin from Seeds of Silver Fir ( *Abies alba* Mill. ), Trees, 1 (2), 94-101 ( 1987 ). Ref. C A: 108 147160 j ( 1988 ).
- 31 ) Hunt, R. S., Von, R.E., Chemosystematic Studies in the Genus *Abies* . IV. Introgression in *Abies lasiocarpa* and *A. bifolia*, Taxon, 28 (4), 297-305 ( 1979 ). Ref. CA: 91 189828 u ( 1979 ).
- 32 ) Shmidt, E. N., Khan, V. A., Isaeva, Z. A., Drebuschak, T. D., Dubovenko, Zh. V., Kemertelidze, E.P., Pentegova, V. A., Terpenoids of Resins of *Picea orientalis* and *Abies nordmanniana* Growing in the Caucasus. Khim. Prir. Soedin., (2), 189-194 ( 1982 ). Ref. C A: 97 141693 t ( 1982 ).

- 33 ) Khan, Y. A., Pankrushina, N. A., Gatilov, Yu. V., Bagryanskaya, I. Yu., Dbovenko, Zh. V., Pentegova, V. A., Mono- and Sesquiterpenoids of Resin from *Abies nephrolepis*. Crystal Structure of (+)- $\beta$ -Cedrol, Khim. Prir. Soedin. (1), 41-45 ( 1985 ). Ref. C A: 103 37627 f ( 1985 ).
- 34 ) Wagner, M. R., Clancy, K. M., Tinus, R. W., Maturational Variation in Needle Essential Oils from *Pseudotsuga menziesii*, *Abies concolor* and *Picea engelmannii*, Phytochemistry, 28 (3), 765-770 ( 1989 ).
- 35 ) Kawai, K., Takahashi, C., Miyamoto, T., Numata, A., Iwabuchi, H., Yoshikura, M., Chemical Differences Between Two Populations of *Abies sachalinensis*, Phytochemistry 32 (2), 331-334 ( 1993 ).
- 36 ) Manville, J. F., Tracey, A. S., Chemical Differences Between Alpine Firs of British Columbia, Phytochemistry, 28 (10), 2681-2688 ( 1989 ).
- 37 ) Manville, J. F., Fraser, T., Tracey, A. S., Characterization of Lasiocarpenol and Conformation Four Sesquiterpenoids from Alpine Fir, Phytochemistry, 28 (11), 3073-3080 ( 1989 ).
- 38 ) Barrero, A. F., Sanchez, J. F., Alvarez-Manzaneda, E. J., Munoz Dorado, M., Munoz Dorado, R., Sesquiterpenoids Related to Juvabione in *Abies pinsapo*, Phytochemistry, 28 (10), 2617-2619 ( 1989 ).
- 39 ) Barrero, A. F., Sanchez, J. F., Alvarez-Manzaneda, E. J., Munoz, M., Haidour, A., Diterpenoids and Cyclolanostanolides from *Abies marocana*, Phytochemistry, 31 (2), 615-620 ( 1992 ).
- 40 ) Numata, A., Kawai, K., Takahashi, C., Miyamoto, T., Occurrence of Epijuvabione-type Sesquiterpenoids in *Abies sachalinensis*, Phytochemistry, 31 (11), 3773-3780 ( 1992 ).
- 41 ) Kawai, K., Takahashi, C., Takada, T., Numata, A., Juvabione Analogues from Two *Abies sachalinensis* Trees, Phytochemistry, 32 (5), 1163-1165 ( 1993 ).

- 42 ) Degtyanko, A. S., Buinova, E. F., Pertsovskii, A. L., Izotova, L. Y., Yagadin, Y. I., Acids in Products of the Processing of Wood Greens 109-11 ( 1988 ). Ref. C A: 108 206529 m ( 1988 ).
- 43 ) Shmidt, E. N., Saeva, Z. A., Dubovenko, Zh. Y., Pentagova, Y. A., Diterpenes of Far East *Abies* Resins, Khim. Prir. Soedin., (3), 395-396 ( 1981 ). Ref. C A: 95 183876 u ( 1981 ).
- 44 ) Leibyuk, T. Y., Shevtsov, S. A., Raldugin, V. A., Diterpene Endoperoxides from Needles of *Abies sibirica*, Khim. Prir. Soedin., (4), 556-557 (1990 ). Ref. C A: 114 139774 w ( 1991 ).
- 45 ) Chirkova, M. A., Dzizenko, A. K., Pentegova, Y. A., The Neutral Substances of the Oleoresin of *Abies sibirica* II. The Structure of the Diterpen Hydroxy Ketone, Khim. Prir. Soedin., 3 (2), 86-90 (1967 ).
- 46 ) Chirkova, M. A., Pentegova, Y. A., Neutral Substances in *Abies sibirica* Oleoresin. II. Structure of Neoabienol, Khim. Prir. Soedin., 5 (4), 247-251 ( 1969 ).
- 47 ) Bol'shakova, V. I., Demenkova, L. I., Shmidt, E. N., Pentogova, Y. A., Neutral Diterpenoids in Resin of Five Conifer Species, Khim. Prir. Soedin., (6), 812-816 ( 1988 ).
- 48 ) Ribo, J. M., Mitja, M. R., Ramentol, J., Diterpenoids in *Abies alba*, Phytochemistry, 13, 1614 ( 1974 ).
- 49 ) Kaneko, N., Hasegawa, S., Hirose, Y., Terpenoids from Seeds of *Abies firma*, Phytochemistry, 24 (1), 185-186 ( 1985 ).
- 50 ) Findlay, J. A., Li, G., Penner, P. E., Novel Diterpenoid Insect Toxins from a Conifer Endophyte, Journal of Natural Products, 58 (2), 197-200 ( 1995 ).
- 51 ) Barrero, A. F., Sanchez, J. F., Alvarez-Manzaneda, E. J., Munoz Dorado, M., Haidour, A., Endoperoxide Diterpenoids and Other Constituents from *Abies marocana*, Phytochemistry, 30 (2), 593-597 (1991 ).

- 52 ) Barrero, A. F., Sanchez, J. F., Alvarez-Manzaneda, E. J., Munoz Dorado, M., Haidour, A., Terpenoids and Sterols from the Wood of *Abies pinsapo*, *Phytochemistry*, 32 (5), 1261-1265 (1993).
- 53 ) Tanaka, R., Mizota, T., Matsunaga, S., Saturated Gammaceranes from the Stem Bark of *Abies mariesii*, *Journal of Natural Products*, 57 (6), 761-766 (1994).
- 54 ) Ohira, T., Yatagai, M., Extractives of *Abies mariesii* Masters. A New Triterpene from the Bark, *Mokuzai Gakkaishi*, 38 (2), 180-185 (1992). Ref. C A: 117 44547 x (1992).
- 55 ) Hasegawa, S., Miura, T., Hirose, Y., Iitaka, Y., A New Rearranged Lanostanoid, Mariesiic Acid A, from the Seed of *Abies mariesii*, *Chemistry Letters*, (10), 1589-1592 (1985).
- 56 ) Allen, F. H., Kutney, J. P., Trotter, J., Westcott, N. D., The Structures and Absolute Stereochemistry of Cyclograndisolide and Epicyclograndisolide, Novel Triterpene Lactones from *Abies grandis*, *Tetrahedron Letters*, (3), 283-286 (1971).
- 57 ) Tanaka, R., Matsunaga, S., Triterpene Lactones from the Stem Bark of *Abies firma*, *Phytochemistry*, 30 (6), 1983-1987 (1991).
- 58 ) Tanaka, R., Inosiri, A., Yaneda, M., Ishida, T., Numada, A., Matsunaga, S., A Tetracyclic Triterpene Lactone and Other Constituents from the Bark of *Abies firma*, *Phytochemistry*, 29 (10), 3263-3265 (1990).
- 59 ) Hasegawa, S., Kaneko, N., Hirose, Y., Triterpenes from the Seed of *Abies firma*, *Phytochemistry*, 26 (4), 1095-1099 (1987).
- 60 ) Tanaka, R., Matsunaga, S., Saturated Hopane and Gammacerane Triterpene-Diols from the Stem Bark of *Abies veitchii*, *Phytochemistry*, 31 (10), 3535-3539 (1992).



- 61 ) Tanaka, R., Matsunaga, S., Veitcholide, A Tetracyclic Triterpene Lactone from *Abies veitchii*, *Phytochemistry*, 29 (10), 3267-3269 ( 1990 ).
- 62 ) Muller, J. C., Ourisson, G., A New Relative of Grandisolide from the Needles of *Abies alba*, *Phytochemistry*, 13, 1615-1616 ( 1974 ).
- 63 ) Raldugin, V. A., Gatilov, Yu. V., Bagryanskaya, I. Yu., Yaroshenko, N. I., Triterpenoids of *Abies* Species. I. Abiesonic Acid, A Triterpenoid with A Novel Carbon Skeleton from *Abies sibirica* Resin, *Khim. Prir. Soedin*, (5), 584-588 ( 1986 ). Ref. CA: 106 135235 h ( 1987 ).
- 64 ) Yaroshenko, N. I., Raldugin, V. A., Triterpenoids from *Abies* Species. IV. Triterpene Lactones from Bark of *Abies sibirica*, *Khim. Prir. Soedin.*, (2), 220-225 ( 1989 ). Ref. CA: 111 171118 j ( 1989 ).
- 65 ) Shevtsov, S. A., Raldugin, V. A., Triterpenoids of *Abies* Species. V. Structure and Spectral Properties of the Major 9  $\beta$  H-Lanostane. Acids of Siberian Fir Needles, *Khim. Prir. Soedin*, (3), 364-371 ( 1988 ). Ref. CA: 109 226733 x ( 1988 ).
- 66 ) Raldugin, V. A., Shevtsov, S. A., Shakirov, M. M., Roshchin, V. I., Pentegova, V. A., Triterpenoids of *Abies* Species. VIII. New Lanostane Lactones from Needles of Siberian Fir, *Khim. Prir. Soedin.*, (2), 207-212 ( 1989 ). Ref. CA: 111 191441 ( 1989 ).
- 67 ) Shevtsov, S. A., Raldugin, V. A., Triterpenoids of *Abies* Species. VIII. A New Methoxymariesianoid and Two 3,4-Secomariesianoids from Needles of *Abies sibirica*, *Khim. Prir. Soedin.*, (2), 212-219 ( 1989 ). Ref. CA: 111 191442 p ( 1989 ).
- 68 ) Raldugin, V. A., Shevtsov, S. A., Roshchin, V. A., Triterpenoids from *Abies* Species. VI. Isofirmanoic and (24 E)-Lanosta-8,24-dien-3,23-dion-26 oic acid from Needles of Siberian Fir. *Khim. Prir. Soedin.*, (6), 816-820 ( 1988 ). Ref. CA: 111 4245 s ( 1989 ).



- 69 ) Roshchin, V. I., Raldugin, V. A., Baranova, R. A., Pentegova, V. A., New Triterpene Acids from *Abies sibirica* Needles, *Khim. Prir. Soedin.*, (5), 648-649 ( 1986 ). Ref. CA: 106 153023 s ( 1987 ).
- 70 ) Strack, D., Heilmann, J., Momken, M., Wray, V., Cell Wall-Conjugated Phenolics from Coniferae Leaves, *Phytochemistry*, 27 (11), 3517-3521 ( 1988 ).
- 71 ) Niemann, G. J., Van Genderen, H. H., Chemical Relationships Between Pinaceae, *Biochemical Systematics and Ecology*, 8, 237-240 ( 1980 ).
- 72 ) Kowalska, M., Isolement et Identification des Flavonoides des Feuilles D' *Abies alba* Mill, et de *Picea exelsa* (Lam) Lk., *Plantes Medicinales et Phytotherapie*, 13 (2), 99-106 ( 1979 ).
- 73 ) Parker, W. H., Maze, J., McLachlan, D. G., Flavonoids of *Abies amabilis* Needles, *Phytochemistry*, 18, 508-510 ( 1979 ).
- 74 ) Harborne, J. B., Flavonoids ; Rowe, J. W., *Natural Products of Woody Plants I*, 533, Springer-Verlag, Berlin ( 1989 ).
- 75 ) Gromova, A.S., Lutskii, V.L., Ganenko, T.V., Flavonoids from the Bark of Some Fir, Spruce and Pine Species, *Khim. Drev.*, (4), 103-105 ( 1987 ). Ref. C.A: 89 160143q ( 1978 ).
- 76 ) Medvedeva, S. A., Tyukavkina, N. A., Ivanova, S. Z., Flavonoid Compounds from the Needles of *Abies sibirica* and *Abies nephrolepis*, *Izv. Sib. Otd. Akad. Nauk SSSr, Ser. Khim. Nauk*, (5), 111-114 ( 1974 ). Ref. CA: 82 54202 d ( 1975 ).
- 77 ) Chatterjee, A., Kotoky, J., Das, K. K., Banerji, J., Chakraborty, T., Abies, A Biflavonoids of *Abies webbiana*, *Phytochemistry*, 23 (3), 704-705 ( 1984 ).
- 78 ) Lebreton, P., Boutard, B., Thivend, S., Biochimie Vegetale Nouvelles Donnees sur la Presence de C-Glycosyl-flavones chez les Coniferes, *C. R. Acad.*

Sc. Paris, Serie D, 287, 1255-1258 ( 1978 ).

79 ) Samajima, M., Yoshimoto, T., High Performance Liquid Chromatography of Proanthocyanidins and Related Compounds , Mokuzaï Gakkaishi, 27 (8), 658-662 ( 1981 ).

80 ) Lebreton, Ph., Thivend, S., Boutard, B., Distribution des Pro-Anthocyanidines chez les Gymnospermes, Plantes Medicinales et Phytotherapia, 14(2), 105-129 ( 1980 ).

81 ) Tukvadze, E. D., Chubinidze, V. V., Catechin of the Bark of the Caucasian Fir, Soobshch. Akad. Nauk. Gruz. SSR, 81 (2), 473-476 ( 1976 ). Ref. CA: 84 161774e ( 1976 ).

82 ) Samejima, M., Yoshimoto, T., Systematic Studies on the Stereochemical Composition of Proanthocyanidins from Coniferous Bark, Mokuzaï Gakkaishi, 28 (1), 67-74 (1982 ).

83 ) Kelsey, R.G., Harmon, M. E., Distribution and Variation of Extractable Total Phenols and Tannins in the Logs of Four Conifers After 1 Years on the Ground, Canadian Journal of Forest Research, 19 (8), 1030-1036 ( 1989 ).

84 ) Ulubelen, A., Caldwell, M. E., Cole, J.R., Phytochemical Investigation of *Abies concolor*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 55 (11), 1308-1310 ( 1966 ).

85 ) Ozawa, S., Sasaya, T., Extractives of Todomatsu *Abies sachalinensis* Masters IV. New Cyclolignans Containing A Lactol Ring from the Wood of *Abies sachalinensis*, Mokuzaï Gakkaishi, 34(2)., 169-175 ( 1988 ).

86 ) Sasaya, T., Ozawa, S., Distrubution and Accumilation of Extractives in Tree Trunk. III. Lignans in the Wood of *Abies sachalinensis* Masters, Enshurin Kenkyu Hokaku, 48 (1), 247-257 ( 1991 ). Ref. CA: 117 44512 g ( 1992 ).

87 ) Ozawa, S., Sasaya, T., Extractives of Todomatsu *Abies sachalinensis*, Mokuzaï Gakkaishi 34(10), 851-857 ( 1988 ).

88 ) Leont'eva, V. G., Modonova, L. D., Tyukavkina, N. A., Lignans from *Abies sibirica* Wood, Izv. Sib. Otd. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim. Nauk. (4), 158-161 (1974). Ref. CA: 81 148518 t (1974).

89 ) Leont'eva, V. G., Modonova, L. D., Tyukavkina, N. A., Puntusova, E. G., O-Acyl Derivatives of Lignans from Wood of the Genus *Abies*, Khim. Prir. Soedin., (3), 337-341 (1977).

90 ) Leont'eva, V. G., Modonova, L. D., Tyukovkina, N. A., Lignans from *Abies nephrolepis* and *Picea ajanensis*, Khim. Prir. Soedin., (2), 268-269 (1973). Ref. CA: 82 74652 d (1975).

91 ) Tyukavkina, N.A., Medvedeva, S.A., Ivanova, S.Z., Lutskii, V.I., Lignan Compounds in the Needles of Some Species of the Pinaceae Family, Khim. Drev., (6), 94-96 (1977). Ref. C.A: 88 71443z (1978).

92 ) Barrero, A. F., Haidour, A., Dorado, M. M., Lignans from the Wood of *Abies pinsapo*, Journal of Natural Products, 57 (6), 713-719 (1994).

93 ) Niemann, G. J., Some Aspects of the Chemistry of Pinaceae Needles, Acta Bot. Neerl., 28 (1), 73-78 (1979).

94 ) Medvedeva, S.A., Ivanova, S.Z., Gorokhova, V.G., Yotintseva, S.K., Lignan Glycosides of Needles of Some Species of the Pinaceae Family, Khim. Drev., (3), 91-92 (1983). Ref. C.A: 99 85077x (1983).

95 ) Sakar, M.K., San Feliciano, A., Diterpenoids of *Juniperus foetidissima* Unripe Berries, Fitoterapia, 65 (4), 304-306 (1994).

96) Pascual-Teresa, J.D., San Feliciano, A., Tabernero, M.L., Barrero, A.F., Componentes de las Arcestdidos de *Juniperus phoenices* L., An. Quim., 74, 465-469 (1978).

97) Cabrera, E., Garcia-Granados, A., De Buruaga, A.S., De Buruaga, J.M.S., Diterpenoids from *Sideritis hirsuta* subsp. *nivalis*, Phytochemistry, 22 (12), 2779-2781 (1983).

- 98) San Feliciano, A., Del Corral, J.M.M., Lopez, J.L., De Pascual-Teresa, B., 8-Hydroxy-Labdanes from *Juniperus thurifera*, *Phytochemistry*, 31 (5), 1713-1717 (1992).
- 99) Markham, K.R., *Techniques of Flavonoid Identification*, Academic Press, London (1981).
- 100) Sezik, E., Akdemir, Z., Flavonoids of *Helichrysum pamphylicum* Davis-Kupleka, *Acta Pharmaceutica Turcica*, 28, 141-144 (1986).
- 101) Hesse, M., Mier, H., Zeeh, B., *Spektroskopische Methoden in der Organischen Chemie*, Georg Thieme, Verlag, Stuttgart (1979).
- 102) Sakar, M. K., Engelshove, R., Struktur der Gerbstoffvorstufen in der Rinde von *Thuja occidentalis* L., *Acta Pharmaceutica Turcica*, 29, 21-28 (1987)
- 103) Kolodziej, H., [2', 2']-(+)-Catechin-(+)-taxifolin from Commercial Willow Bark: Structure, Bonding Position and Oxidative Cleavage, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1*, (2), 219-226 (1988).
- 104) Schneider, G., *Pharmazeutische Biologie*, Wissenschaftsverlag, Zürich (1985).



**EKLER**

## TABLOLAR

Tablo	Sayfa No
1- Abietik asit'in $^1\text{H}$ ve $^{13}\text{C}$ NMR Spektral Değerleri-----	58
2- (-)-Abietinal'in $^1\text{H}$ ve $^{13}\text{C}$ NMR Spektral Değerleri-----	64
3- cis-Abienol'ün $^1\text{H}$ ve $^{13}\text{C}$ NMR Spektral Değerleri-----	70
4- Flavonoidlerin UV Spektrum Değerleri-----	73
5- Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil (1 $\rightarrow$ 2) $\beta$ -D-glukopiranozit-	
8-C- $\beta$ -D-glukopiranozit'in $^1\text{H}$ ve $^{13}\text{C}$ NMR Spektral Değerleri-----	77
6- Tirozitol'in $^1\text{H}$ ve $^{13}\text{C}$ NMR Spektral Değerleri-----	83
7- (+)-Katesin pentaasetat'ın $^1\text{H}$ ve $^{13}\text{C}$ NMR Spektral Değerleri-----	97
8- (+)-Gallokatesin hekzaasetat'ın $^1\text{H}$ NMR Spektral Değerleri-----	102
9- (-)-Epigallokatesin hekzaasetat'ın $^1\text{H}$ NMR Spektral Değerleri--	106

## SPEKTRUMLAR

Spektrum	Sayfa No
1- Abietik asit' in IR Spektrumu-----	57
2- Abietik asit' in $^1\text{H}$ -NMR (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) Spektrumu-----	59
3- Abietik asit' in $^{13}\text{C}$ -NMR (50,29 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) Spektrumu-----	60
4- (-)- Abietinal' in IR Spektrumu-----	63
5- (-)-Abietinal' in $^1\text{H}$ -NMR (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) Spektrumu-----	65
6- (-)-Abietinal' in $^{13}\text{C}$ -NMR (50,29 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) Spektrumu-----	66
7- cis-Abienol' ün IR Spektrumu-----	69
8- cis-Abienol' ün $^1\text{H}$ -NMR (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) Spektrumu-----	71
9- cis-Abienol' ün $^{13}\text{C}$ -NMR (50,29 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) Spektrumu-----	72
10- Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil (1 $\rightarrow$ 2) $\beta$ -D-glukopiranozit- 8-C- $\beta$ -D-glukopiranozit' in $^1\text{H}$ - NMR ( 200 MHz, $\text{DMSO-d}_6$ ) Spektrumu-----	78
11- Kemferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil (1 $\rightarrow$ 2) $\beta$ -D-glukopiranozit- 8-C- $\beta$ -D-glukopiranozit' in $^{13}\text{C}$ - NMR ( 50,29 MHz, $\text{DMSO-d}_6$ ) Spektrumu-----	79
12- Tilirozit' in $^1\text{H}$ -NMR ( 200 MHz, $\text{DMSO-d}_6$ ) Spektrumu-----	84
13- Tilirozit' in $^{13}\text{C}$ -NMR (50,29 MHz, $\text{DMSO-d}_6$ ) Spektrumu-----	85
14- (+)-Kateşin pentaasetat' in $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) Spektrumu-	98
15- (+)- Kateşin pentaasetat' in $^{13}\text{C}$ - NMR ( 125,65 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) Spektrumu-----	99
16- (+)-Gallokateşin hekzaasetat' in $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) Spektrumu-----	103
17- (-)-Epigallokateşin hekzaasetat' in $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) Spektrumu-----	107

## ÖZGEÇMİŞ

24-12-1964 tarihinde Ankara' da doğdum. İlk öğrenimimi Sarar İlkokulunda, orta ve lise öğrenimimi Ankara Atatürk Lisesinde yaptım. 1982 yılında Ankara Atatürk Lisesi' nden mezun oldum. Aynı yıl girdiğim Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesinden 1987 yılında mezun oldum.

1987 yılında Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi programına yüksek lisans öğrencisi olarak kaydoldum. 1988 yılında Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım.

1990 yılında " *Pinus halepensis* Mill. Kondanse Tanenleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar " isimli yüksek lisans tezimi tamamladım ve Farmakognozi programında doktora eğitimine başladım.

Halen H. Ü. Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak görev yapmaktayım.