

65990

YÜKSEK ARDIÇ (*Juniperus excelsa*) 'IN MEYVALARINDAKİ
BİLEŞİKLERİN İZOLASYONU, YAPI TAYİNİ VE AKTİVİTE TESTLERİ

Ramazan ERENLER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

1997-TOKAT

T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YÜKSEK ARDIÇ (Juniperus excelsa) IN MEYVALARINDAKİ
BİLEŞİKLERİN İZOLASYONU, YAPI TAYİNİ VE AKTİVİTE TESTLERİ**

Ramazan ERENLER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Bu tez,...../...../199.. tarihinde aşağıda belirtilen jüri tarafından Oybirliği /Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı ve Soyadı

İmza

Başkan : ..Doç..Dr.. Osman..... GAKMAK.....

Üye : ..Y..Doç..Dr.. Mustafa..... CEYLAN.....

Üye : ..Y..Doç..Dr.. Adem..... ÖNAL.....

ONAY :

Bu tez, 22./09/ 1997 tarih ve 21.....sayılı Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirtilen jüri üyelerince kabul edilmiştir.

1997
Enstitü Müdürü
Doç. Dr. Osman KARKACIER

ÖZET**YÜKSEK ARDIÇ (*Juniperus excelsa*)' IN MEYVALARINDAKİ BİLEŞİKLERİN
İZOLASYONU, YAPI TAYİNİ VE AKTİVİTE TESTLERİ****Ramazan ERENLER****Gaziosmanpaşa Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Ana Bilim Dalı****Yüksek Lisans Tezi****1997, 68 sayfa****Danışman : Doç. Dr. Osman ÇAKMAK****Jüri : Doç. Dr. Osman ÇAKMAK**

:

:

Bu çalışmada Türkçe adı yüksek ardıç olan, *Juniperus excelsa*'nın meyvaları, ekstraksiyona tabi tutularak diterpenoid yapıdaki bileşikler izole edildi. Yapıları spektroskopik metodlarla aydınlatılarak bazı aktivite testleri yapıldı.

Isparta ili Senirkent yöresinden toplanan meyvalar, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde teşhis edildi. Meyvalar havanda dövülüp toz haline getirildi. Toz haline getirilmiş meyvalar hekzan, etil asetat ve metanolde ekstre edildi. Hekzan ekstresi önce kolon kromatografisine tabi tutularak fraksiyonlar alındı. Adsorban olarak silika jel ve yürütücü olarak hekzan kullanıldı. Yürütücünün polaritesi kloroform ve metanol ile artırıldı. Safsızlık ihtiva eden ürünler için preparatif TLC yapıldı. Saf olarak elde edilen bileşiklerin yapı aydınlatılması için spektroskopik metodlar (¹H NMR, ¹³C NMR, Mass, UV, IR) kullanıldı. Bir yeni olmak üzere dört diterpenik ile bir seskiterpen yapılarındaki bileşikler izole edilip yapıları aydınlatıldı. Diterpenler: Sandrakopimarik asit, isopimarik asit, izokominik asit, (-)ent-trans kominik asit ve ilk kez izole edilen juniperekzelsik asit diye adlandırılan

12 asetoksi- 8(17),13(16),14-trien- 18-oik asit'tir. Seskiterpen yapısındaki bileşik ise α - sedrol'dür.

Hekzan ve metanol ekstralarının, juniperekzelsik asidin ve sandrakopimarik asidin *Mycobacterium tuberculosis* aktivite testleri pozitif netice verdi. Bir bütün olarak *Jupiperus excelsa* meyvalarının bazı tümör aktivite testleri ABD'de gerçekleştirildi. Bu testler, göğüs kanser hücresine, akciğer kanser hücresine, fare epidermoid kanser hücresine karşı aktivite göstermediği, bağırsak kanser hücresine karşı orta derece aktivite gösterdiği, insan ağız epidemoid kanser hücresine, hormon bağımlı insan prostat kanser hücresine ve merkezi sınır sisteminde gelişen tümöre karşı kuvvetli aktivite gösterdiği tespit edildi.

Anahtar Kelimeler

Juniperus excelsa, Cupressaceae, Diterpen, Seskiterpen, Sandrakopimarik asit, İzopimarik asit, Ent-trans kommunik asit, İzokomunik asit, α - Sedrol, Juniperekzelsik asit, Col2, KB, KB-V (+VLB), (-VLB), LNCaP, ASK.

ABSTRACT**THE ISOLATION, IDENTIFICATION AND ACTIVITY TESTS FROM THE
CONSTITUENTS OF *JUNIPERUS EXCELSA* BERRIES****Ramazan ERENLER**

Gaziosmanpaşa University
Graduate School of Natural and Applied Science
Department of Chemistry

Masters Thesis**1997,68 pages****Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Osman ÇAKMAK****Jury : Assoc.Prof. Dr. Osman ÇAKMAK**

:

:

In this study, the berries of *juniperus excelsa*'s compounds were isolated and its structures were elucidated and then some activity tests were done. The plant which was collected from Isparta- Senirkent side has been deposited in the Herbarium of Ankara University. Crushed plant material was extracted with hexane, ethyl acetate and methanol . The hexane extract was evaporated in vacuum , the latter was fractionated on a silica gel column and eluted with hexane followed by a gradient of chloroform up to % 100 and then EtOH. Four known and one new diterpenes were isolated besides a known sesquiterpene. The new compound has labdane skeleton and its structure was elucidated as 12 acetoxo-,8(17), 13(16), 14-triene 18- oic acid,named juniperexcelsic acid. The known diterpenes were determined as isocommunic acid, (-) ent- trans communic acid, sandracopimaric acid, isopimaric acid and the known sesquiterpene was cedrol by the spectral methods including IR, UV, MS, 1D,2D NMR techniques.

The methanol extract, hexane extract, juniperexcelsic and sandracopimarinic acid were tested against *Mycobacterium tuberculosis* and found to be active. In addition, hexane extract was tested against BC1(Human breast cancer), LU1(Human lung cancer), COL2 (Human colon cancer), KB (Human epidermoid carcinoma in the mouth), KB-V (+ VLB), KB-V(-VLB) , P₃₈₈ (Mouse epidermoid carcinoma), LNCaP(Hormone dependent human prostate cancer), ASK (Human astrocytoma) and found to be inactive to the BC1,LU1, P₃₈₈ while it was moderately active to the COL2 and very active to the KB, KB-V(+VLB), KB-V (-VLB).These activity tests were done at Chicago- Illinois University in USA.

Key words

Juniperus excelsa, Cupressaceae, Diterpenes, Sesquiterpene, Excelsic acid, Sandracopimarinic acid, Izopimarinic acid, Izocomunic acid, (-) Ent-trans comunic acid, α - Cedrol, COL2, KB, KB-V(+VLB), KB-V (-VLB), LNCaP, ASK.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma, Doç. Dr. Osman ÇAKMAK danışmanlığında yürütülmüş deneysel çalışmaların büyük bir kısmı TÜBİTAK - Marmara Araştırma Merkezi Kimya Bölümü Bitki Kimyası Araştırma Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığına (97/7) desteklenmiştir.

Çalışmamın her safhasında büyük desteğini gördüğüm hocam, sayın Doç. Dr. Osman ÇAKMAK'a;

Spektroskopik ölçümler ve deneysel çalışmalarımın TÜBİTAK - M.A.M. Kimya Bölümünde gerçekleştirilmesini sağlayan ve ayrıca çalışmamın her safhasındaki yardımlarını esirgemeyen MAM Kimya Bölüm Başkanı sayın Doç. Dr. Gülaçtı TOPÇU'ya;

Kimya Bölümü Öğretim üyeleri sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa CEYLAN'a ve sayın Yrd. Doç. Dr. Adem Önal'a;

Aktivite testlerindeki yardımlarından dolayı, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr. Canan Bozok JOHANNSON'a ve Chicago - Illinois Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr. John PEZZUTO'ya;

Optik çevirme açılarının belirlenmesinde yardımlarını esirgemeyen İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr. Ayhan Ulubelen'e;

Literatür temini konusundaki yardımlarından ötürü G.O.Ü. Ziraat Fak. Bitki Koruma Bölüm Başkanı sayın Prof. Dr. Zeki ÖZER'e;

Deneysel çalışmalar esnasındaki yardımlarından dolayı TÜBİTAK M.A.M. Kimya Bölümü teknisyeni sayın Hüseyin DEMİR'e;

Ardıç bitikisinin toplanmasındaki yardımlarından dolayı Isparta- Senirkent'te Ecz. sayın Gültekin TOLA ve sayın Orman Mühendisi A. İhsan TOLA'ya;

Bitkinin tanınmasında yardımlarından dolayı Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Arş. Gör. sayın Murat KARTAL'a;

Bilgisayar konusunda desteğini gördüğüm GOÜ Öğr.Gör. Bilgisayar Müh. Şerafettin ŞENER'e; ayrı ayrı teşekkür ederim.

Ramazan ERENLER
Ağustos 1997

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	x
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
1.1 <i>Juniperus</i> Türlerinin Genel Özellikleri.....	1
1.1.1. <i>Juniperus drupacea</i> (Arceuthos Drupacea, Andız).....	2
1.1.2. <i>Juniperus communis</i> (Adı ardıç).....	3
1.1.2.1. <i>Juniperus communis</i> subsp. <i>nana</i> (Cüce ardıç).....	3
1.1.3. <i>Juniperus oxycedrus</i> (Kızıl ardıç, Katran ardıcı).....	3
1.1.4. <i>Juniperus phonicea</i> (Finike ardıcı).....	4
1.1.5. <i>Juniperus foetidissima</i> (Kokar ardıç).....	4
1.1.6. <i>Juniperus sabina</i> (Sabin ardıcı).....	4
1.1.7. <i>Juniperus excelsa</i> (Yüksek ardıç).....	5
1.2. Türkiye'de Yetişen Türlerin Yaprak Uçucu Yağında Bulunan Monoterpenle ve sekiterpenler.....	6
1.3. <i>Juniperus</i> Türleri Alanında Yapılan Çalışmalar.....	8
1.4. <i>Juniperus</i> Türlerinin Halk İlacı Olarak Kullanıldığı Yerler.....	10
1.4.1. Ardıç Tohumu Çayı.....	11
1.4.2. Ardıç Şurubu.....	11
1.5. Terpenoid Bileşikler.....	11
1.5.1. Dağılımları.....	11
1.5.2. Oluşumları.....	12
1.5.3. Sınıflandırılmaları.....	19
1.5.4. Elde Edilmeleri.....	20
1.6. Diterpenler.....	20

1.6.1. Asiklik Diterpen.....	21
1.6.2. Monosiklik Diterpen.....	21
1.6.3. Bisiklik Diterpenler.....	21
1.6.4. Trisiklik Diterpenler.....	22
1.7. Konformasyonel ve Diğer Sterik Etkiler.....	23
1.7.1. Sterik Gerilim ve Moleköl Mekanikası.....	23
1.7.2. Sikloheksanın Konformasyonu.....	24
2. MATERYAL VE METOD.....	26
2.1. Bitkinin Toplanması.....	26
2.2. Ekstraksiyon İşlemleri.....	26
2.3. Saflaştırma İşlemleri.....	26
2.3.1. Kolon Kromatografisi.....	26
2.3.2. İnce Tabaka Kromatografisi.....	27
2.3.3. Belirteç.....	27
2.3.4. Çözücüler.....	28
2.3.5. Ultraviyole Spektrometresi.....	28
2.3.6. İnfrared Spektrometresi.....	28
2.3.7. ¹ H NMR ve ¹³ C NMR Spektrometresi.....	28
3. ARAŞTIRMA SONUÇLARI.....	29
3.1. Sandrakopimarik Asit.....	29
3.2. İzopimarik Asit.....	35
3.3. İzokomunik Asit.....	37
3.4. (-) Ent- Trans Komunik Asit.....	39
3.5. α -Sedrol.....	42
3.6. Juniperekzelsik Asit (12 Asetoksi-, 8(17), 13(16), 14 Trien -18- Oik Asit).....	47
3.7. Aktivite Testleri.....	61
3.7.1. Mycobacterium Tuberculosis.....	61
3.7.2. Hekzan Ekstersinin Değişik Kansere Hücrelerine Karşı Yapılan <i>İn vitro</i> Sitolitik Aktivite Testleri.....	61
4. TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	62
KAYNAKLAR.....	64
ÖZGEÇMİŞ.....	68

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. <i>Junperus excelsa</i> 'nın Türkiye'de yetiştiği alanlar.....	6
Şekil 2. Sikloheksanın halka dönüşüm enerji diyagramı.....	25
Şekil 3. Sandrakopimarik asit bileşiğinin ¹³ C spektrumu (CDCl ₃).....	26
Şekil 4. Sandrakopimarik asit bileşiğinin IR spektrumu (CHCl ₃).....	31
Şekil 5. Sandrakopimarik asit bileşiğinin 200 MHz ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	32
Şekil 6. Sandrakopimarik asit bileşiğinin Mass spektrumu.....	33
Şekil 7. İzopimarik asit bileşiğinin 200 MHz ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	36
Şekil 8. İzokomünik asit bileşiğinin 200 MHz ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	38
Şekil.9. (-)-Ent-trans komünik asidin 200 MHz ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	40
Şekil 10. α - Sedrol bileşiğinin Mass spektrumu.....	43
Şekil 11. α - Sedrol bileşiğinin ¹³ C spektrumu (CDCl ₃).....	44
Şekil 12. α - Sedrol bileşiğinin IR spektrumu (CHCl ₃).....	45
Şekil 13 α - Sedrol bileşiğinin 200 MHz ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	46
Şekil 14. Juniperekzelsik asit bileşiğinin Mass spektrumu.....	49
Şekil 15. Juniperekzelsik asit bileşiğinin UV spektrumu (MeOH).....	50
Şekil 16. Juniperekzelsik asit bileşiğinin IR spektrumu (CHCl ₃).....	51
Şekil 17. Juniperekzelsik asit bileşiğinin ¹³ C spektrumu (CDCl ₃).....	52
Şekil 18. Juniperekzelsik asit bileşiğinin 200 MHz ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	53
Şekil 19. Juniperekzelsik asit bileşiğinin spin- dekaplink deneyi.....	54

TABLolar LİSTESİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
1.Sandrakopimarik asid'in ¹³ C NMR değerleri.....	34
2. Izopimarik asid'in ¹³ C NMR değerleri.....	35
3. Ent-trans komünik asid'in ¹³ C NMR değerleri.....	41
4. α - Sedrol bileşiginin ¹³ C NMR değerleri.....	42
5. Juniperekzelsik asit bileşiginin ¹³ C NMR değerleri.....	48
6. Juniperekzelsik asit bileşiginin AM1 sonuçları.....	56
6.1. Atom yükleri.....	56
6.2. Atomlar arası uzaklık.....	57
6.3.Bağ açıları.....	58
6.4. Tetrahedral açılar.....	59

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ**Simgeler**

δ : Kimyasal kayma

j : Etkileşim sabiti

Kisaltmalar

APT : Attached proton test (beğli proton testi)

brs : geniş singlet

d : dublet

dd : dubletin dubleti

IR : İnfrared Spektrofotometre

NMR : Nükleer Manyetik Rezonans

NOE : Nükleer Overhauser Effect

ppm : Part per million

s : singlet

TLC : İnce Tabaka Kromotografi

TMS : Tetrametil silan

UV : Ultraviyole

1. GİRİŞ VE AMAÇ

1.1. *Juniperus* Türlerinin Genel Özellikleri

Türkçe adı ardıç olan *Juniperus* cinsinin 70 kadar türü dünya yüzeyinde yetiştiği belirlenmiştir. Ardıç türler kuzey yarımkürede daha geniş bir yayılışa sahiptirler. Yayılma alanları Japonya ve Doğu Asya'dan başlayarak Asya ve Avrupa'yı içine alır, Kuzey ve Doğu Afrika'dan geçerek Kuzey Amerika'ya kadar uzanır, hatta kuzey kutup bölgesine kadar ulaşır (Krüssmann, 1960)., Kuzey yarımküre bitkisi olan ardıç türleri, *juniperus procera* ile Kenya'da güney yarımküreye geçer (Adams ve Hagerman, 1976).

Türkiye'de 8 *Juniperus* türü yetişmektedir. Bunlar: *Juniperus drupacea*, *communis* (üç alttür), *oblanga*, *oxycedrus* (2 alttür), *phoenicea*, *foetidissima*, *sabina* ve *excelsa*'dır (Baytop ve Özocak, 1970; Benson, 1965).

Ülkemizde şifalı bitki olarak yaygın kullanılan *J. excelsa*'nın meyvalarındaki bileşikler, kromatografik metodlarla saflaştırılacak ve spektroskopik metodlarla yapıları aydınlatılıp bazı aktivite testlerine tabi tutulacaktır.

Bu cinsin genel özelliklerinden önce, dahil bulunduğu *cupressaceae* familyasının da özellikleri kısaca verilecektir. Her ne kadar ekstrenin ihtiva ettiği molekülleri izole ve teşhis amacımız olsa da *Juniperus* türleri ile ilgili bazı botanik bilgiler vermeyi uygun gördük.

Juniperus (ardıç) *cupressaceae* familyasından olup, ağaç, ağaççık veya çalı şeklinde monoik veya dioik bitkilerdir. Yapraklar kalıcı, küçük, subulat, asikular, veya pul şeklindedir. Bazan genç yapraklar ergin yapraklardan daha büyüktür. Erkek çiçekler küçük, sürgünlerin üstünde ve ucunda, tek tek veya 2-24 stamenin teşkil ettiği bir topluluk halinde bulunur. Dişi çiçekler sürgünlerin ucunda veya yaprakların koltuklarında yer alır. Kozalaklar küçük; bazı türlerde odunsu veya derimsi pulları olan kozalaklar şeklinde, bazı türlerde ise etli bakka tipindedir. Tohumlar kanatlı veya

kanatsızdır. Tohumlarda genellikle 2, nadiren 5-6 kotiledon bulunur. Bitkilerin odunu reçine kanalı taşımaz (Benson, 1965).

Ağaç, ağaççık veya çalı şeklinde, daima yeşil bitkilerdir. Kabukları incedir ve genellikle uzunlamasına lifler halinde gövdeden kolaylıkla ayrılabilir. Bazı türlerde ise kabuk levhalar halinde çatlar.

Yapraklar bazı türlerde bitkinin ömrü boyunca iğne yaprak şeklindedir. Bu yapraklar sürgünlerde üçlü vertisilatlar halinde dizilirler. Bazı türlerde ise genç yapraklar sert ve iğne şeklinde, ergin yapraklar ise ya imbrikat dizilişli pul yapraklar şeklinde veya nadiren, kısa ve tabanları birleşik olmayan iğne yapraklar şeklindedir. Aynı tür üzerinde hem iğne yaprakları hem de pul yaprakları görmek mümkündür.

Ardıçlar dioik veya monoik bitkilerdir. Erkek çiçekler yaprakların koltuklarında veya kısa bir sürgünün ucunda tek tek bulunur, sarı veya portakal kırmızısı renkte, oval veya silindir biçimindedir. Dişi çiçekler 3-8 puldan meydana gelmiş, tabanı küçük ve kalıcı braktelerle çevrilmiş çiçek durumları halinde ve yaprakların koltuklarında veya sürgünlerin ucunda bulunurlar. Kozalaklar yuvarlak ve etlidir, bakka tipi meyva olarak da kabul edilebilirler. Renk, büyüklük ve taşıdıkları tohum sayısı bakımından türlere göre farklılık gösterirler. Her kozalakta 1-10 tohum bulunur. Kozalakların olgunlaşma süresi bir veya iki yıldır. Tohum, derimsi veya kemik gibi sert kabukludur. Kanat taşımaz (Davis,1965; Elçin 1977).

İncelememize konu olan *juniperus excelsa*'ya geçmeden önce Türkiye'de yetişen *juniperus* türleri hakkında genel bilgiler verilecektir.

1.1.1. *Juniperus drupacea* (Arceuthos drupacea, Andız)

Güney Anadolu dağlarında yetişen, yaprak dökmeyen dioik bir ağaçtır. Yaprakları 1- 2.5 cm boyunda, subulat ve batıcı tepelidir. Kozalaklar toparlak, 2-2.5 cm çapında, pullar etli ve birleşiktir.

1.1.2. *Juniperus communis* (Adı Ardıç)

Kuzey yarım kürede yaygın olan, memleketimizin Trakya bölgesinde bulunan, dioik bir çalı veya küçük ağaçtır. Yaprak subulat ve batıcıdır. Yaprığın üst yüzeyinde geniş beyaz bir yol görülür. Bakka 6-9 mm çapında, mavimsi siyah renkli ve üç tohumludur. Bu meyvalar Fructus *Juniperi* T.K adı altında diüretik olarak kullanılır.

1.1.2.1. *Juniperus communis subsp.nana* (Cüce ardıç)

Kuzey Yarımkürenin yüksek dağlarında ve memleketimizin dağlarında, 1800 m. den daha yükseklerde yetişen, sık ve yaygın kümeler teşkil eden, 50 cm. kadar yükseklikte çalılardır. Yapraklar yassı, iğnemsî ve içe doğru hafifçe kıvrıktır. Uçta birden bire sivrilerek batıcı bir iğne ile nihayetlenir. Bakka 6-9 mm. çapında, mavimsi, siyah renkli, yenilebilir ve diüretiktir. göknar ve sarıçamlarla birlikte yayılış gösterir. Adeta Göknar'ın "refakatçısı" durumundadır. Park ve bahçelerde taş ve kaya bahçelerinde, alp bahçelerinde kullanılır.

1.1.3. *Juniperus oxycedrus* (Kızılardıç, Katran ardıcı)

Akdeniz kuşağında; Türkiye, Suriye, İran ve Kafkaslar'da yetişir; Ülkemizde - bozkırlar ile Karadeniz ve yüksek dağlık bölgeler hariç- hemen her bölgede yetişir. çamlar, meşeler, sedir ve diğer ardıç türleri yanında yer alır. 4-6 (-8) m. boy ve 30 cm. kadar gövde çapı ve piramit bir tepe yapar; ancak otlatmalar nedeniyle çalimsı bir formda kalır. İğne yaprakları 16 mm. uzun ve 1-2 mm. geniş, sürgünleri dik ve üçlü olarak bağlanır ve çevrel dizilir; uçları sivri ve batıcı , üst yüzü 2 beyaz stoma çizgili (bantlı), açık yeşil renklidir; 3-6 puldan oluşan kırmızı renkli kozalakları 5-11 mm. olup 2 yılda olgunlaşır ve 2-3 tohum ihtiva eder.

1.1.4. *Juniperus phoenicea* (Finike ardıcı)

Akdeniz havzasında ve memleketimizde Batı ve Güney Anadolu'da yetişen, dioik çalı veya alçak ağaçlardır. Gövde dik, dallar yuvarlakça olup genç dallardaki yapraklar iğne şeklinde ve imbrikat dizilişlidir. Alt yüzlerinde bir oluk mevcut olup meyva parlak, esmer kırmızı renkte, toparlak, 6-9 mm. çapta ve kısa saplıdır. Tohumlar 4-6 tane ve köşelidir. Kayalık ve taşlık yamaçlarda, ekseriya tek olarak bulunur.

1.1.5. *Juniperus foetidissima* (Kokar ardıç)

Doğu Akdeniz bölgesinin monoik bir ağacıdır. Memleketimizde Kuzey, Batı, Güney ve Orta Anadolu'da, dağlık yerlerde yetişir. Sürgünleri bariz 4 köşelidir, yaprakların sırtında çoğunlukla salgı gudesi yoktur. Bakka mevsimi siyah renkli, 12 mm. çapında ve 1-2 tohumludur. Yapraklar ezildiği zaman fena kokuludur. Meyva kızıl kahverengi-siyah, mavi çizgili, kürevi, dik, 6-8 mm. çaptadır. Dağlık mıntıkların kayalık ve kurak yamaçlarında, bazan ağaç hududunun üst taraflarında, alçak fundalıklarda, tek veya topluluklar halinde bulunur. Çam orman alanlarında 5000-6000m. de *j. excelsa* ile karışık olarak rastlanır.

1.1.6. *Juniperus sabina* (Sabin ardıcı)

Orta ve Güney Avrupa, Kuzey Amerika'da ve memleketimizin dağlarında da yetişen, fena kokulu bir çalıdır. Bakka 5-7 mm. çapında, mavimsi siyah renkli ve 2 tohumludur. Dal uçları, *Summitates sabinae* adı altında abortif olarak kullanılmıştır. Zehirlidir.

1.1.7. *Juniperus excelsa* (Yüksek ardıç)

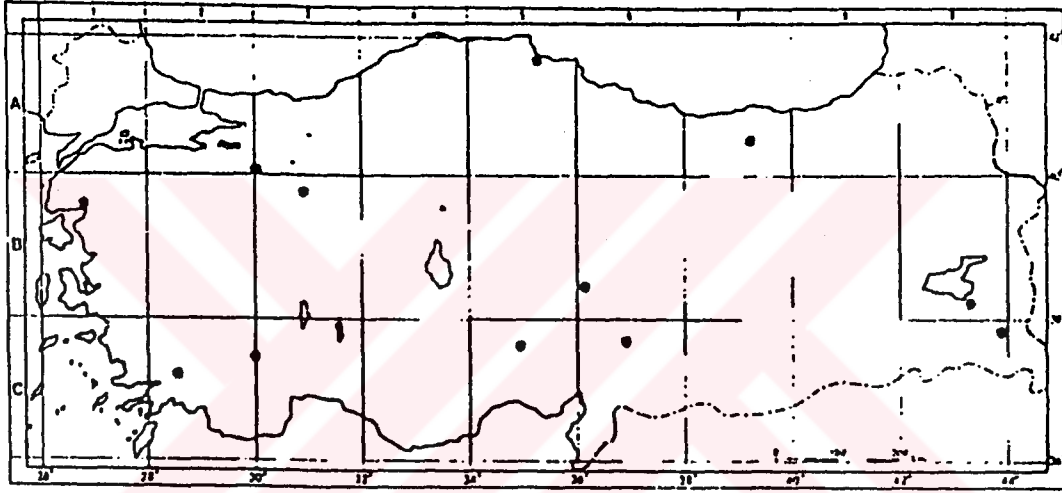
Türkiye, İran, Lübnan, Kafkasya, Yunanistan, ve Ege Adaları ile güneybatı Avrupa'da yetişir. Ülkemizde Karadeniz bölgesi hariç, hemen bütün bölgelerde, özellikle Orman- step (bozkır) kuşağında, 500-2000 m.'ler arasında sedir, çam-göknar ve meşe ormanlarında münferit yada küçük- büyük gruplar halinde yayılış gösterir. Ormanların tahribatından sonra, orman toprağını en son terkeden " artçı " bir ağaçtır. 15-20 m. boy, 30-50 cm. gövde çapı ve piramit yada topumsu bir tepe yapar. Gövde kabuğu kahve renkli olup şeritler halinde soyulur yada çatlaktır. Sürgünleri 1mm. çapta olup ince, pulsu ve karşılıklı, uçları serbest, sırtları yuvarlakça yağ bezelidir; mavi - gri yada gri - yeşil - boz renkleriyle (yapraklarıyla) uzaktan tanınır. ve *J. foetidissima* (Kara ardıç) dan kolayca ayrılır. 8-12 mm. çaplı, üzümü kozalakları 4-6 puldan oluşur, mavimsi-dumanlı siyah renklidir; ilkbahar ekiminde yillandığı, ama sonbahar ekiminden sonra, ilkbaharda çimlenip fide meydana getirdiği tespit edilmiştir. Üretimi tohumla yada çelikle yapılır. Çoğunlukla kara ikliminin ağacıdır, Akdeniz ikliminde de yetişir; kuru-taşlı, sığ ve kireçli topraklarda da gelişebilir. Gölgeye biraz dayanıklı olup çeşitleri vardır." *Stricta*" çeşidi, mavi-yeşil yapraklı, sık dallı ve sütun biçimlidir. "*Variegata*" çeşidinin sürgünleri alacalıdır ve iki çeşit de soliter kullanılır (Gülen, 1958).

Bu bitki, odun koruyucu madde ihtiva ettiği belirlenmiştir (Guenther, 1952). Tüberküloz ve sarılık hastalıklarında halk ilacı olarak kullanıldığı bilinmektedir. *Juniper* uçucu yağının deri lösyonuna katılması sonucu dezenfekte özelliğinin arttığı tespit edilmiştir (Karapet'yan ve grubu,1972). Dezenfekte özelliği dış macununa katılması ile de arttığı gözlenmiştir (Federov ve grubu,1978).

Ülkemizde bu bitkinin yayılışı şöyledir: **A 2 (A)** Bilecik : Osmaneli Bilecik arası, Paşalar yakını, 21.v.1966, A. Baytop ve B. Çubukçu, 9300! **A 5** Amasya : Çırçır vadisi, 16.V1.1956, M.Tanker, 5520! **B 3** Afyonkarahisar : Emir dağları, 11.V11.1959, M. Tanker, 5520! **B 5** Kayseri : Erciyes dağı, 2800m. H. Bağda,838! **C 2** Antalya : Korkuteli Fethiye arası, Korkuteli'den 94 km ileride, 1340 m, 5.VIII.1965, N. Tanker, 8256! **C 3** Antalya: Korkuteli Kepez arası, 21.II.1966, A. ve T. Baytop, N. Tanker, E. Sezik, 8492! Çubuk boğazı, 4.VIII.1965, N. ve M. Tanker, E. Sezik, 8267!

Manavgat Akseki arası, 26.III.1967, A.ve T. Baytop,10761! Cemerler köyü, Murdıçı Akseki arası, 26.III.1967, A. ve T. Baytop, 4362! C5 Adana : Toros Dağları, Bürücek yaylası, 17.VIII.1956, T. Baytop! Bürücek yakını, 19.V.1962, A. ve T. Baytop, 7103! (Baytop ve Özocak 1970; Pamay, 1981).

Juniperus excelsa'nın Türkiye'de yetiştiği alanlar şekil 1'de gösterilmektedir.



Şekil 1. *Juniperus excelsa*'nın Türkiye'de yayıldığı alanlar

1.2.Türkiye'de Yetişen Ardıç Türlerin Yaprak Uçucu Yağlarında Bulunan Monoterpenler ve Seskiterpenler

J. communis uçucu yağında borneol, bornil asetat, fenkon, geraniol, geraniil asetat, hidroksi keton, kafur, keto aldehit, linalol, mirtenol, mirtenal, mirtenil asetat, nerolidol, p-simenol, 1-4 sineol, 1-8 sineol, sitronellal, izositronellal, sitronellil asetat, sitronellol, izopulegol, α - terpineol, terpinen-4-ol, terpinil asetat, tuyon, izotuyon,

elemol, farnesol, ϵ -kadinen, δ -kadinen, karyofillen, β -karyofillen, ve 15 karbonlu bir hidrokarbon bulunmuştur (Jankov ve grubu 1969; von Rutloff, 1969; Horster, 1973).

J. communis ssp. *hibernica* (Banthorpe ve grubu, 1973), *J. communis* var. *oblonga* (Akimov ve grubu, 1976) ve *J. depressa* (Goryaev, 1959) uçucu yağları üzerindeki çalışmalarda oksijen taşıyan monoterpen olarak sadece sabinol tespit edilmiş; *J. macropoda* uçucu yağında ise terpinen -4-ol bulunduğu gösterilmiştir (Talvar ve grubu, 1973).

J. oxycedrus yağı üzerindeki araştırmalar sonucunda uçucu yağda başlıca linalil asetat, terpinil asetat, α -terpineol, humulen, karyofillen, varlığı tespit edilmiş (Hörster, 1973), *J. oxycedrus* ssp. *macrocarpa* uçucu yağında ise kafur, linalol, α -terpineol, karyofillen, β -karyofillen ve humulen bulunmuştur (Fretz, 1976).

J. drupacea uçucu yağında α -terpineol, terpinil asetat, ve karyofillen bulunmaktadır (Hörster, 1974).

J. sabina yaprak uçucu yağında bulunan maddeler ise şunlardır: Anetol, estragol, geraniol, kafur, linalol, cis-2-p-menten-1-ol, trans-2-p-menten-1-ol, sabinol, sabinil asetat, cis-sabinil hidrat trans-sabinil hidrat, sitronellol, Me-sitronellat, α -terpineol, terpinen-4-ol, 1-8 sineol, sitronellal, tuyon, izotuyon, elemol, kadinen izomeri bir madde, -kadinen, δ -kadinol, α -ödesmol, , β -ödesmol, ve sedrol (Booth, 1957; Bruno, 1961).

Juniperus excelsa yaprak uçucu yağında şu bileşikler tespit edilmiştir: Sabinene, limonene, menthene, β -phellandrene, terpinene, terpinen-4-ol, piperiton, thymol, kopaen, α -kubeben, α -sedren, muurolen, δ -kadinen, β -sedren, β -guaien, guaiazulen, (+)-sedrol (Kapahi ve Sarin, 1987).

1.3. *Juniperus* Türleri Alanında Yapılan Çalışmalar

Son zamanlarda *Juniperus* türleri üzerinde araştırmaların nispeten yoğunlaştığı görölmektedir. Bu türlerin ihtiva ettiği kimyasal bileşimlerin izole ve karakterizasyonları yanında, sağlık açısından incelemeler de geniş yer tutmaktadır. Bu çalışmalardan dikkat çeken birkaç örneği sunuyoruz.

Feliciano ve grubu (1989;1992), *J. thurifera*'dan iki yeni doğal lignan izole ederek yapılarını aydınlatmış ve *J.sabina*'dan elde edilen siklo lignan'ların tümöre, ve virüslere karşı aktivitelerini araştırmış ve olumlu sonuç elde etmiştir.

Agrawal ve grubu (1980), *J. communis* meyvalarının düşük yapmaya sebep olmasının etkilerini fareler üzerinde yaptığı deneylerle ortaya koymuştur.

Sethi ve grubu (1983), *J. macropoda*'nın yapraklarından üç yeni izoflavon glikozid izole edip yapılarını aydınlatmıştır.

Misara ve Chauhan (1984), *J. macropoda boiss* meyvalarının uçucu yağının anti bakterial aktivitesini incelemiştir.

Adams (1986), Yeni sedir yağı kaynakları elde etmek için Amerika'daki *juniperus* türlerini araştırmış, sedir yağının, bu türlerde var olduğunu ortaya koymuştur.

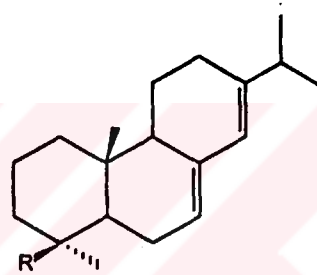
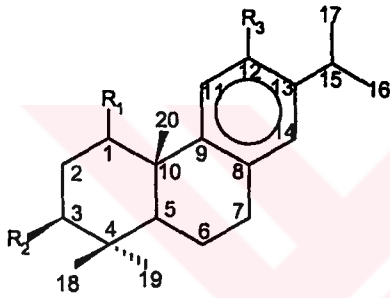
Veljkovi ve grubu (1987), *Juniper* meyva yağlarının, *juniper* meyvalarının etanol fermentasyonu üzerindeki inhibitor etkilerini araştırmış ve *juniper* meyvalarının etanol üretiminde verimi artırdığını tespit etmiştir.

Pages ve grubu (1989), *J.sabina* uçucu yağının, farelerde yaptığı deneylerde, düşük yapmaya sebep olduğunu tespit etmiştir.

Vernin ve grubu (1989), *J. communis* L. yapraklarının yağından GC(FID), GC-ElMS ve positif kimyasal iyonlaşma (PCI) tekniklerini kullanarak 64'ü seskiterpen olmak üzere 100'den fazla bileşik izole etmişlerdir.

Teresa ve grubu (1992), *J. thurifera*'nın yapraklarının asit extresinden 7 yeni diterpen asit, kloroform extresinden ise 3 bilinen diterpen ve bir seskiterpen izole etmişlerdir. Yapılar spektral analizlerle ve kimyasal korolasyonlarla aydınlatılmıştır.

Mossa ve grubu (1992), *Juniperus excelsa*'nın yapraklarından aşağıda formülleri verilen molekülleri izole etmiştir.



R1

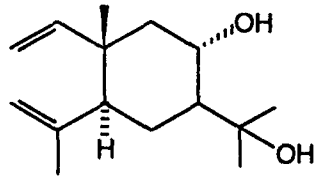
R2

R3

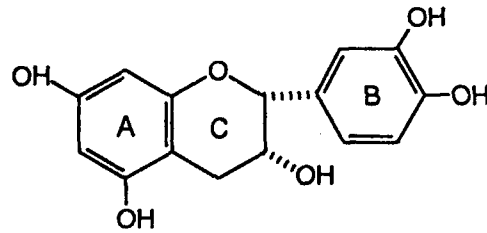
R

1	=O	OH	OH
7	α -OH	OH	OH
8	=O	OAC	OAC

2	—CHO
3	—COOH
4	—CH ₂ OH



5



6

1. 3 β ,12-dihidroksiabieta-8,11,13-trien-1on. 2. 4-*epi*-abietal. 3. 4-*epi*-abietik asit. 4. 4-*epi*-abietol. 5. (+)-8 α -hidroksielemol. 6. (-)-4-*epi*-katekhin.

1.4. *Juniperus* Türlerinin Halk İlacı Olarak Kullanıldığı Yerler

Tıbbın b g nk  seviyede olmadığı eski devirlerde bitkiler ile tedavi yaygın bir şekilde kullanılmaktaydı. Kayıtlar, ardıç türlerinin orta çağda her derde deva bir ilaç olarak kullanıldığını göstermektedir. İdrar arttırıcı, terletici ve antiseptik özellikleri bilinirdi. Değişik hastalıkların tedavisinde dahili olarak yaygın şekilde kullanıldığı gibi, harici olarak da cild üzerine uygulanırdı. Halen de halk ilacı olarak ülkemizde ve başka ülkelerde deri iltihapları, baş ağrıları, şeker hastalıkları, sindirim yolu hastalıkları, bronşit, astım, böbrek ve idrar yolu rahatsızlıkları, sarılık, siyatik, romatizma, nefes yolu rahatsızlıkları, sinüzit, karaciğer rahatsızlıkları, metobolizma bozukluklarına iyi geldiği bilinmekte ve kullanılmaktadır.

Ardıç ile ilgili şifalı bitkiler kitaplarına ve Avrupa'da neşrolunan bu husustaki kaynaklara göz attığımızda şifa etkileri konusunda şu bilgilere rastlıyoruz: Ardıç yağından ve seyreltilmiş ardıç tohumu ayından alındığında vücuttaki birikmiş olan laktik asidi giderdiği, ayrıca çocuklardaki böbrek iltihaplanmasına ve kronik mesane hastalıklarına iyi geldiği tespit edilmiştir. Kadınlarda kan dolaşımını arttırdığından düzenli alınan ardıç tohumu ayı, aybaşı rahatsızlıklarını azaltır. Ardıç yağının çeşitli ve şiddetli sinir bozukluklarında özellikle ilaçların etkisiz kaldığı durumlarda baş ağrısı, ense ağrısı, genel kırgınlık, mide krampı veya mide krampında artış, migren, ve sinirsel kalp rahatsızlıklarında etkili olduğu kanaati yaygındır. Mesane iltihabına bağlı ağrılarda özellikle migren vb. baş ağrılarında ardıç tohumu ayının sürekli kullanımı iyileşme sağlar. Hazım bozukluklarında ve buna bağlı olarak vücutta mide asidi salgısı bozukluğu ile ortaya çıkan olumsuzlukları giderir. Ardıç bağırsak rahatsızlıklarına da etkilidir. İğnelerin ve yeni sürgünlerin kaynatılması ile elde edilen su banyosu ayakların kan dolaşımını rahatlatır ve mantar türü deri bozukluklarını giderir. Bir bardak suya damlatılan ardıç yağı ile yapılan gargara kötü ağiz kokularını giderir. Karaciğer ve mide rahatsızlıklarında günde üç ile beş adet tohum kahvaltıdan bir saat önce alınır ve üzerine kahvaltı yapılır. Ardıç tohumunun direkt kullanıldığı gibi ayı da kullanılabilir.

1.4.1. Ardıç Tohumu Çayı

Bir çay kaşığı ardıç tohumu tozu bir fincanda kaynamış su ile 5-10 dakika üzeri kapatılarak bekletilir. Bu çay mide ve damar hastalıkları ile şeker hastalığında tatlandırılmadan içilir. Solunum yolu hastalıklarında ve vücudun direncini arttırmada ardıç tohumu çayı tatlandırılarak, özellikle bir çay kaşığı bal ile karıştırılarak sıcak içilir.

Ardıç tohumunun direkt kullanımı da bahsedilen şifa etkilerini gösterir. Ülkemizde yaygın olarak kullanılan şekli 4:6 oranında öğütülmüş ardıç (*J. excelsa* veya *J. foetidissima* tohumları) tohumları bal ile karıştırılır. yemeklerden önce 1'er tatlı kaşığı kullanılır. Karıştırılan bal, acı meyvaların kolayca alınmasını sağlarken şifa etkisini daha da artırır. Ayrıca bal da bulunan antioksidan maddeler, bozulmayı önler. Bu şekil kullanmada meyva tamamen kullanıldığından şifa etki ve sahasının daha büyük olduğu kabul edilir.

1.4.2. Ardıç Şurubu

500 g ardıç tohumu ezilir 3 litre su ile kaynatılır ve tüm miktar bir elekten geçirilerek soğutulur, bol miktarda bal ile şurup kıvamına gelinceye kadar kaynatılır. Elde edilen bu şurup, cam kapaklı cam kavanoza konularak çocuklara günde üç defa yemekten bir saat önce bir çay kaşığı verilir. Yetişkinlerde ise iki çay kaşığı alınır. İştahsızlığa, akciğer problemlerine, hatta akciğer tüberkülozuna karşı oldukça etkilidir (PAMUK, 1991; Baytop,1984).

1.5. Terpenoid Bileşikler

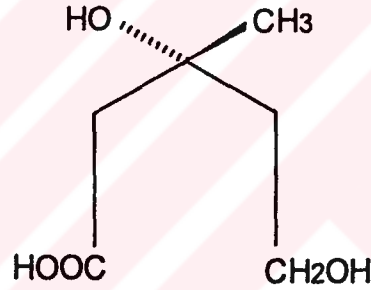
1.5.1. Dağılımları

Terpenoid bileşikler çeşitli yapısal özellikleriyle en yaygın ve biyolojik önemi olan doğal bileşikler sınıfını oluştururlar. Tüm canlı organizmalarında bulunmalarından dolayı üzerlerinde hayli araştırma yapılmıştır.

Terpenler bitki dokularında genellikle serbest olarak bulunurlar. Küçük moleküllü, yani on yada onbeş karbonlu olanları bitkilerden su buharı distilasyonu ile, daha yüksek karbon taşıyanlar ise ekstraksiyon yöntemleri ile izole edilebilirler.

1.5.2. Oluşumları

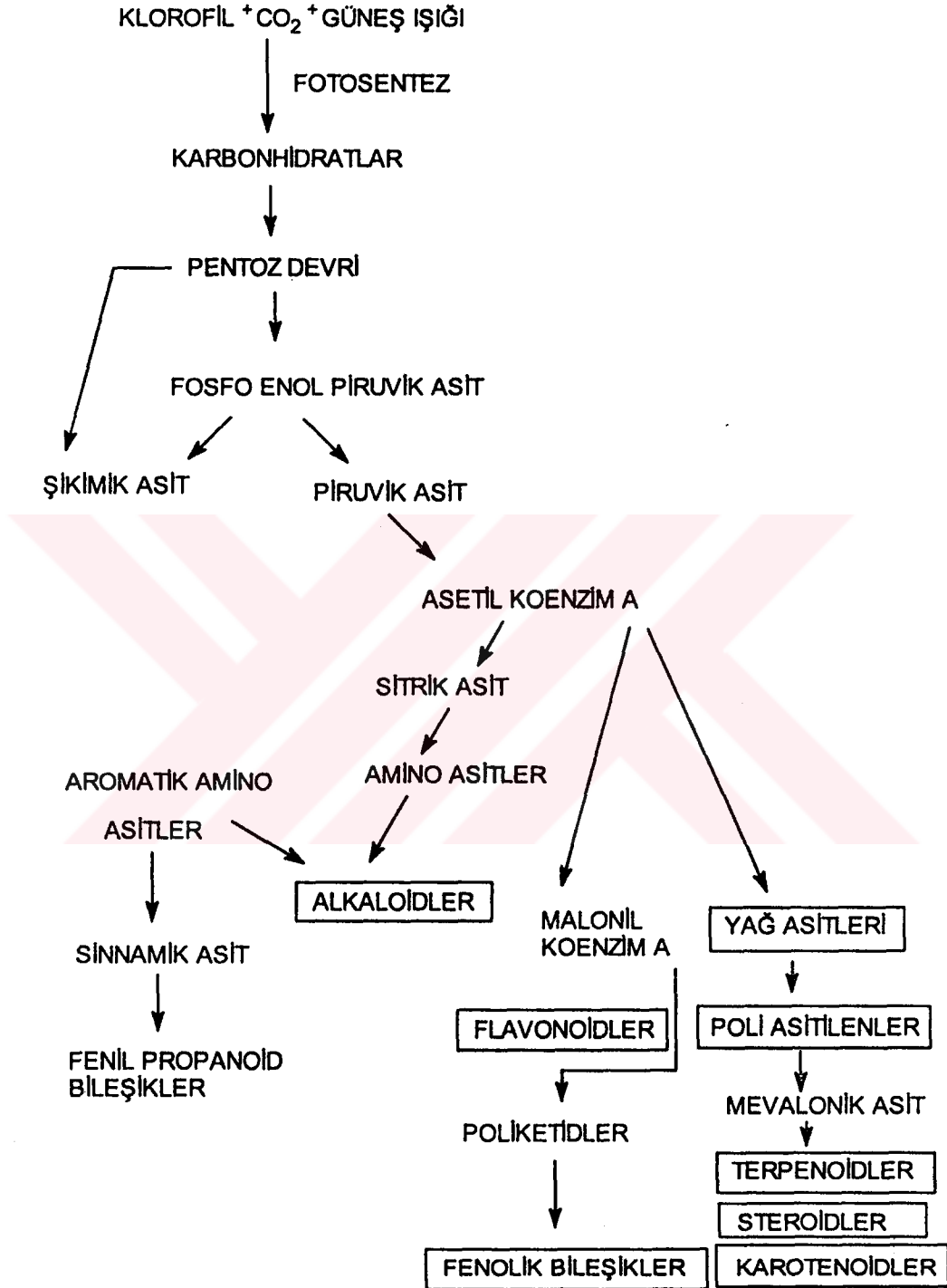
Terpenoid bileşiklerin ana iskeleti beş karbonlu izopren (2-metil-1,3-butadien) birimlerinden oluşur. Dolayısıyla yapısında izopren, " $\text{CH}_2 = \text{C}(\text{CH}_3)\text{-CH} = \text{CH}_2$ " birimi bulunan bileşiklere izoprene benzeyen anlamına gelen İzoprenoid veya Terpenoid ismi verilmiştir. Terpenoidlerin biyosentez mekanizması ile oluşumunda 3 mol CH_3COOH 'in kondensasyonu ile meydana gelen ve altı karbonlu bir bileşik olan mevalonik asit H_2O ve CO_2 kaybı ile izopren birimlerini oluşturur.



Mevalonik asit eldesinde başlangıç maddesi olan asetilkoenzim A ($\text{CH}_3\text{CO-SCoA}$) ise pek çok doğal bileşiğin sentezinde kullanılan temel bir madde olup şekerlerin oksidatif degradasyonundan oluşur ve karbondioksit okside olur. Asetil koenzim A'nın doğal bileşiklerin oluşumundaki rolü Şema1'de gösterilmiştir.

Mevalonik asit oluşturmak üzere önce iki molekül asetil koenzim A kondense olur, bunun bir mol daha asetil koenzim A molekülü ile kondenzasyonu ve bir enzimle hidrolitik olarak bölünmesi sonunda 3- hidroksi -3-metil glutaril koenzim A elde edilir (Şema 2).

İkinci metabolitlerin oluşumu

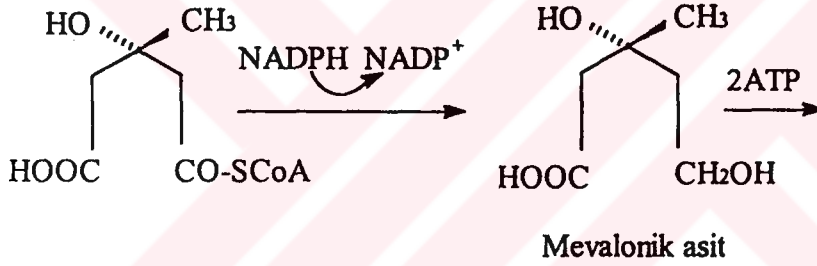
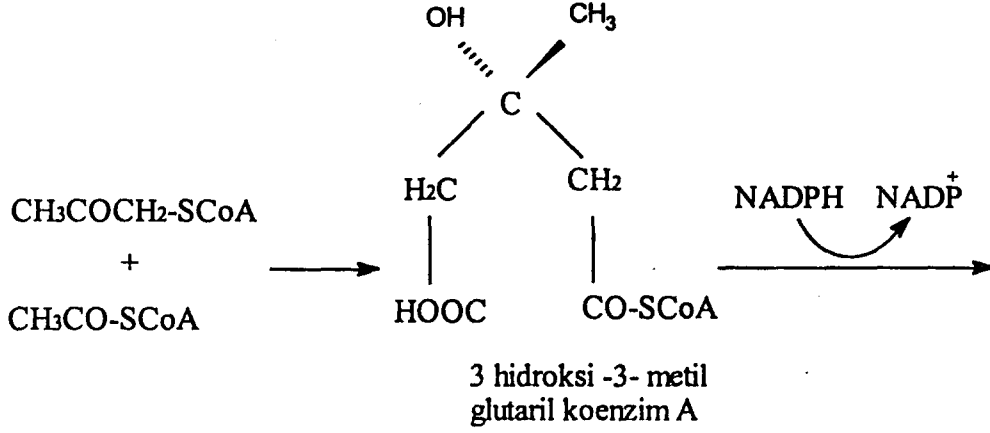


Şema 1.



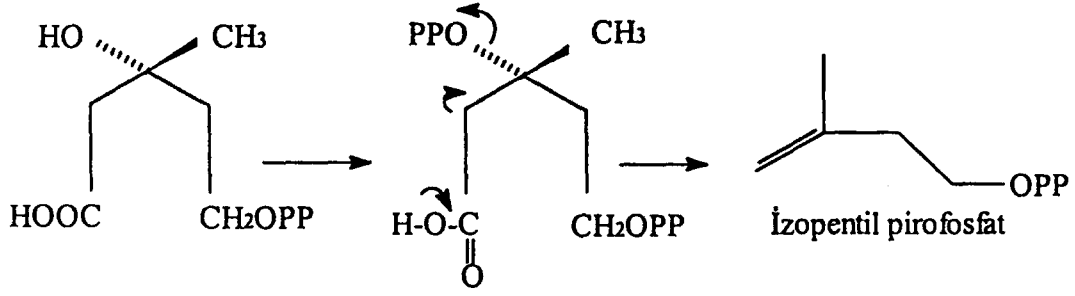
Asetil koenzim A

Asetil koenzim B



Şema 2.

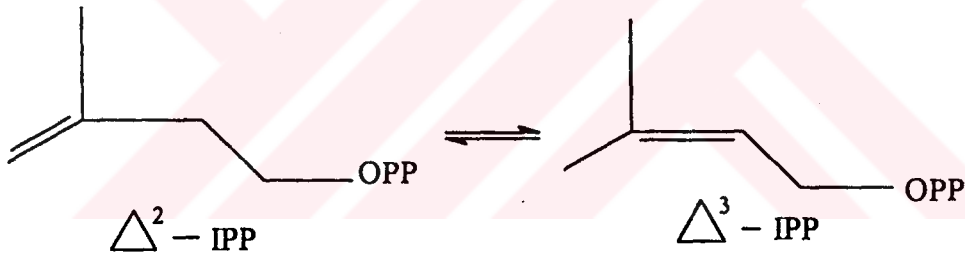
Mevalonik asidin iki molekül adenosin trifosfat (ATP) ile fosforlanması mevalonik asit 5-pirofosfatı verir. Bu bileşiğin tersiyer OH grubu, bir molekül ATP ile fosforlandıktan sonra kendiliğinden dekarboksilasyona ve dehidrasyona uğrar, sonuçta izopentil pirofosfatı meydana getirir (Şema 3).



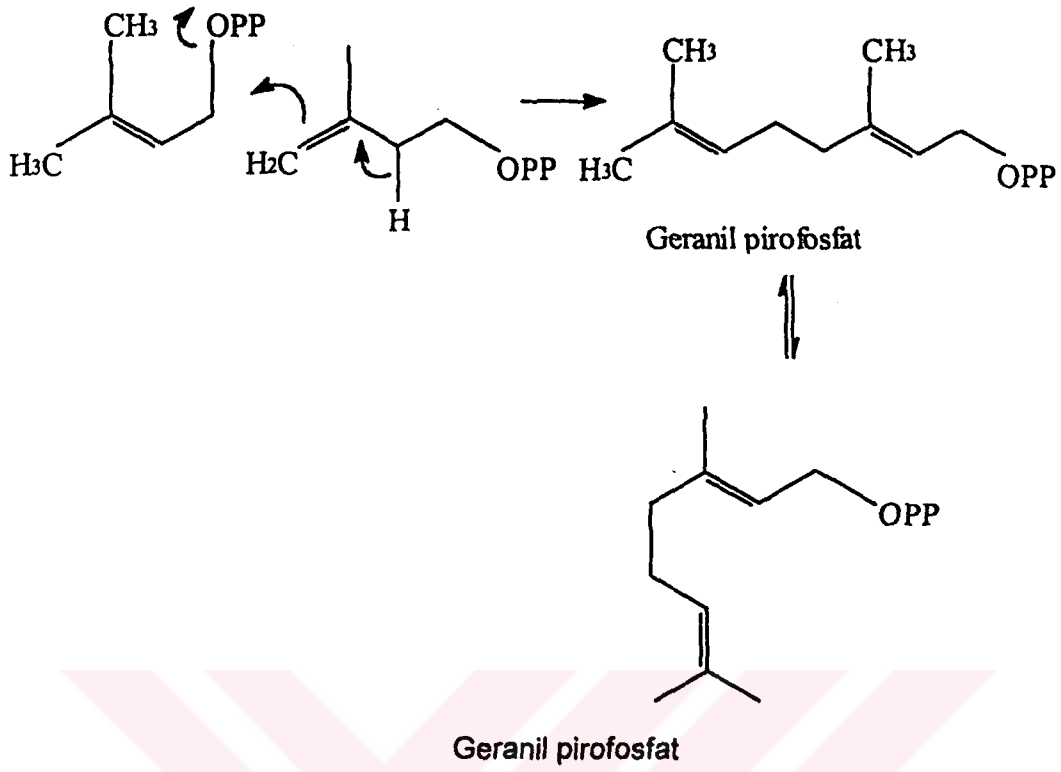
Mevalonik asit
5-pirofosfat

Şema 3.

Biyogenetik izopren birimi olan izopentil pirofosfat izoprenoid biyosentezine ancak bir enzim kanalı ile girer. İzopentil pirofosfatın enzim ile izomerizasyonu (prototropi) sonucu dimetilallil ester oluşur.

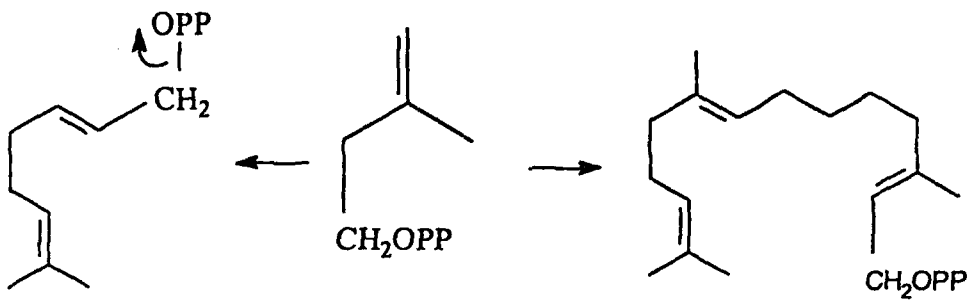


Bu iki izomerin kondansasyonu geraniil pirofosfatı oluşturur. Bu maddeden monoterpenler oluşur (Şema 4).



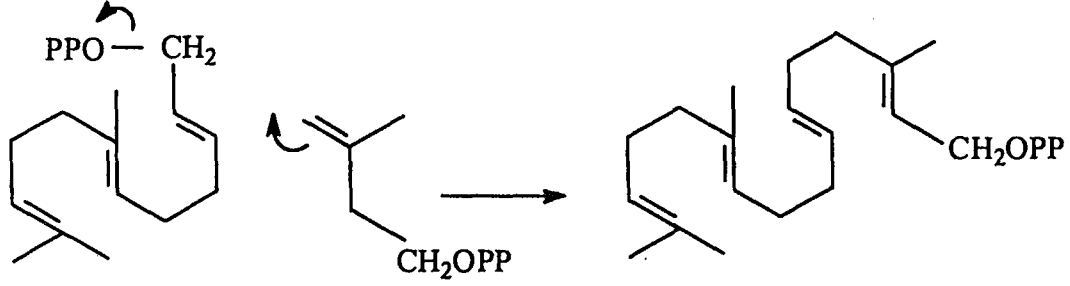
Şema 4.

Geranyl pirofosfatın izopentil pirofosfat ile kondensasyonu farnesil pirofosfatı oluşturur. Bu madde seskiterpenlerin geçiş bileşiğidir (Şema 5).



Şema 5.

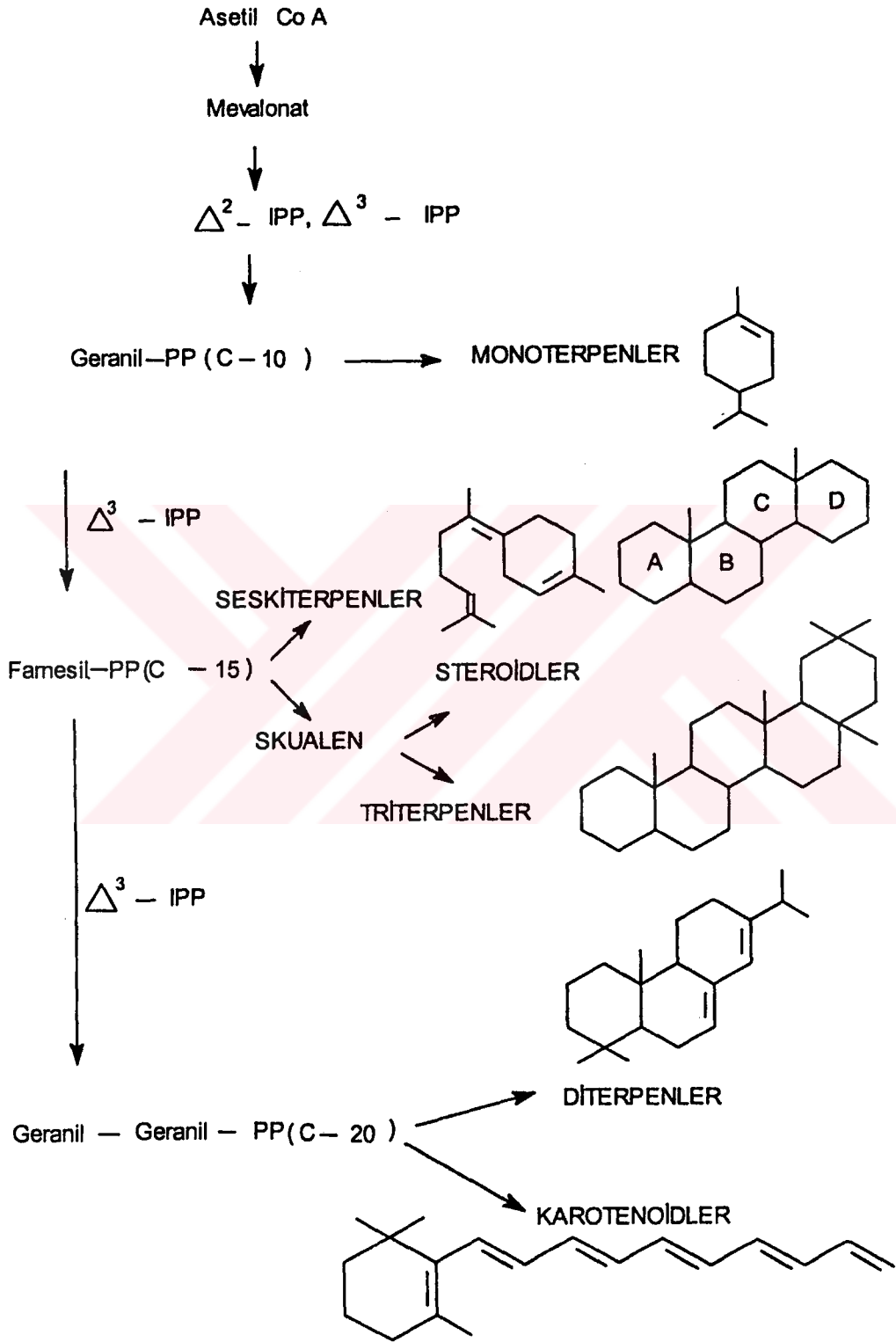
Bu maddenin tekrar izopentil pirofosfat ile kondensasyonu geranil - geranil pirofosfatı verir. Geranil - geranil pirofosfatdan diterpenler ve karotenoidler oluşur (Şema 6).



Şema 6.

Terpenoidlerin büyük bir kısmı bir ya da daha fazla sayıda fonksiyonel grup (hidroksil, karboksil vs.) taşır ve genellikle halkalı yapılara sahiptirler. Bu nedenle, izopentil birimleri biyosentez mekanizmasının son basamağında halka kapanması, yükseltgenme, indirgenme, açillenme ile değişik terpen yapılarını oluştururlar. Örneğin, triterpenler iki farnesil pirofosfatın, karotenoidler ise iki geranil-geranil pirofosfatın kondensasyonu ile teşekkül etmektedir. Şema 7' de Biyosentez yolu ile oluşan maddeler görülmektedir.

Terpenlerin Oluşumu



Şema 7.

1.5.3. Sınıflandırılmaları

İzopentil pirofosfat küçük konjuge bir molekül olduğundan aktif bir olefin bileşiğidir. Terpenoidlerin ana iskeleti 5 karbonlu izopren molekülünden oluştuğu için izopren birimlerinin sayısına göre sınıflandırılırlar.

Ruzicka'in "İzopren Kuralı" na göre bütün terpenik bileşiklerin karbon iskeletleri, iki ya da daha fazla izopren birimlerinin birleşmesiyle oluşmuştur.

<u>İzopren Sayısı</u>	<u>Sınıfı</u>	<u>Karbon Sayısı</u>
1	Hemiterpenler	5 C
2	Monoterpenler	10 C
3	Seskiterpenler	15 C
4	Diterpenler	20 C
5	Sesterpenler	25 C
6	Triterpenler	30 C
8	Tetraterpenler (Karotenoidler)	40 C
n	Politerpenler	(5 C) _n

Terpenler fiziksel özelliklerine göre iki gruba ayrılabilirler :

Uçucu Terpenler : Su buharı ile sürüklenebilen küçük moleküllü monoterpenler ve bazı seskiterpenler.

Uçucu Olmayan Terpenler : Büyük molekülü seskiterpenler, diterpenler, triterpenler ve politerpenler.

1.5.4. Elde Edilmeleri

Terpenler , toplanan bitkilerin kurutulup toz haline getirilmesinden sonra çeşitli çözücülerle edilen ekstraterlerinden kromatografik metodlarla izole edilebilirler. Genel olarak terpenik yapılar için apolar çözücüler tercih edilir, ancak terpenin çok sayıda hidroksil, karboksil gibi grupları taşıması, glikozidik yapıda olması hallerinde polar çözücüler kullanılır. Safılaştırmada en yaygın olarak kullanılan kromatografik yöntemler, sütun ve preparatif ince tabaka kromatografisi ve jel filtrasyondur. Vakum kromatografisi HPLC(yüksek vakumlu sıvı kromatografisi) ve kromatotron son yıllarda çok kullanılan diğer yöntemlerdir. Silika jel en çok kullanılan adsorbandır. Uçucu olan ya da uçucu türevleri haline getirilebilen ve miktarı az olan terpenlerin tanınmalarında gaz kromatografisi yöntemi de kullanılabilir. Karotenoid bileşikler ve bazı lakton yapısındaki terpenler, kolayca bozulduklarından yürütme ve safılaştırma çalışmaları özel şartlarda(soğukta, inert atmosferde, ışıktan korunarak) dikkatlice yapılmalıdır (Tan, 1992)

1.6. Diterpenler

Dört izopren molekülünden meydana gelen, çeşitli farmakolojik etkilere sahip olan diterpenler 20 C'lu olup, bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan bileşiklerdir. Bitkilerde bulunan ve bugüne kadar elde edilen, çeşitli biyolojik aktiviteye sahip diterpenlerin oksijenli türevleri kimyasal yapılarına göre şu şekilde gruplandırılabilirler :

Asiklik diterpenler

Monosiklik diterpenler

Bisiklik diterpenler

Trisiklik diterpenler

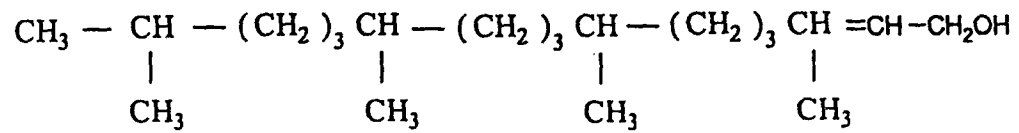
Tetrasiklik diterpenler

Pentasiklik diterpenler

Lakton ya da furan halkası içeren diterpenler

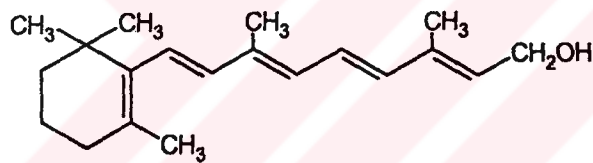
Makrosiklik diterpenler

1.6.1. Asiklik Diterpen



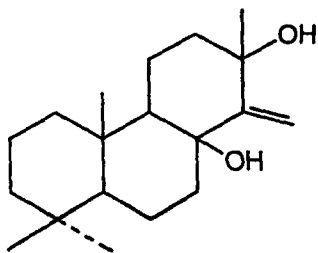
Phytol

1.6.2. Monosiklik Diterpen

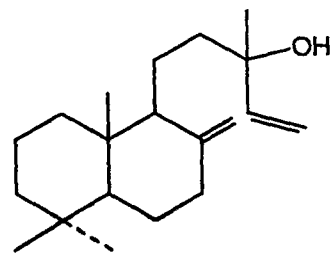


Vitamin A₁

1.6.3. Bisiklik Diterpenler

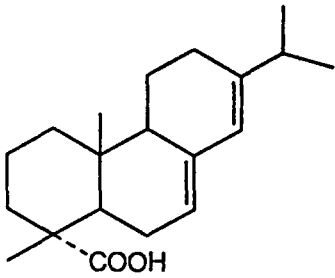


Sclareol

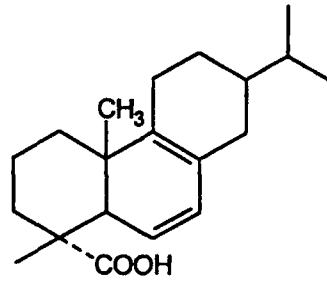


Manool

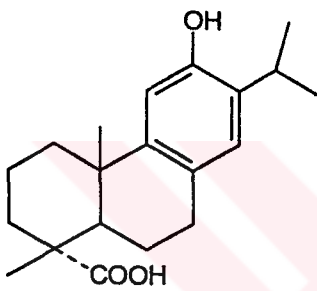
1.6.4. Trisiklik Diterpenler



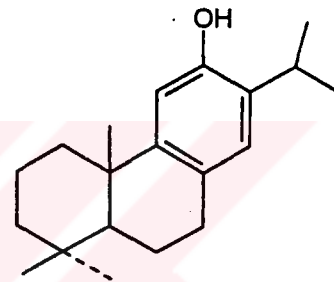
Abiatik asit



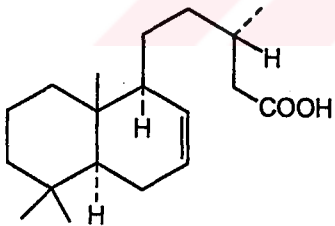
Levopimarik asid



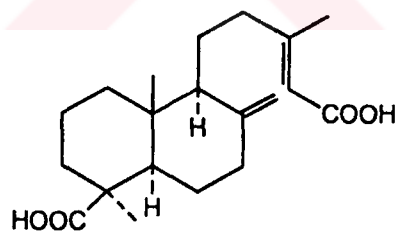
Podakarpik asit



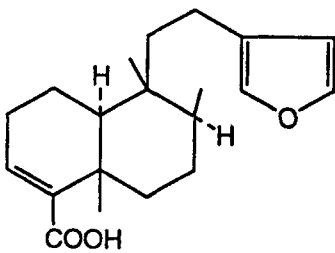
Ferruginol



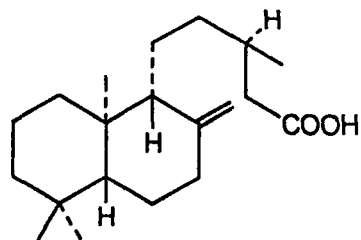
Kativik asit



Agathik asit



Hartvikik asit



Eperuik asit

1.7. Konformasyonel ve Diğer Sterik Etkiler

Molekülün toplam enerjisi, geometrisi ile doğrudan alakadardır. Molekülün toplam enerjisine bakılarak molekül geometrisi birkaç yönleri ile tanımlanabilir. Kısmen de olsa enerji bakımından ehemmiyeti anlaşılabilir ve özel yapısal özellikleri tanımlanabilir. Organik kimya da büyük öneme sahip bu özellikler, bağ oluşturmaya etkileşimler, çekim ve itim, en uygun değerden sapma gösteren bağ uzunluklarının ve açılarının distorsiyonu ile ortaya çıkan kararsızlıktır. Bir molekül tekli bağ etrafında dönmekle enerjisini minimum yapacaktır. Molekülün bağ dönmelerinden dolayı değişik konum kazanmalarına konformasyon denir. Konformasyonel dengenin analizi ve bağ dönmelerinin prensipleri Klasik Mekaniğin büyük bir kısmı kullanılarak geliştirildi. Ayrıca, molekül geometrisinin detaylı olarak yorumlanması problemi son zamanlarda kuantum mekaniği açısından da ele alınıp açıklığa kavuşturuldu. Bir çok molekül, ideal olmayan geometrisinden dolayı gerilim gösterir. Molekül, bağ açılarını ve uzunluklarını değiştirerek enerjisini minimum seviyeye indirir. Bu gibi moleküller, bağ enerjilerinin toplamı ile yapılan hesaplamadan daha az kararlıdır. Bu dengenin azalmasına, gerilim enerjisi denir.

1.7.1. Sterik Gerilim ve Molekül Mekanigi

Bu çalışmamız çerçevesinde elde ettiğimiz moleküllerin ile bazı yapısal özellikleri bilgisayar programları ile inceleneceğinden, molekül yapı ve geometrisi ile ilgili bazı hususlar aşağıda ele alınmıştır.

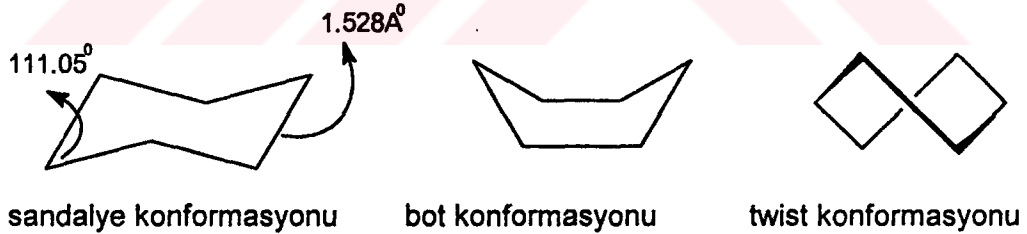
Bir molekül, toplam enerjisini minimum yapan geometriyi tercih eder. Molekülün minimum enerjili geometrisi belli bir dereceye kadar gerilir. Bu gerilim, yapısal parametrelerin ideal değerlerinden sapmasına bağlıdır. Distorsiyon enerjisi, distorsiyon miktarı ve üzerinde etkiyen kuvvetin çarpımı ile verilir. Toplam sterik enerji bazı katkıların toplamı olarak $E_{sterik} = E(r) + E(\theta) + E(\phi) + E(d)$ şeklinde formülendirilebilir. $E(r)$ tek bağların gerilmesi veya sıkışması ile ilgili enerji artışıdır. $E(\theta)$ bağ açılarının distorsiyonundan kaynaklanan enerji gerilimidir. $E(\phi)$ torsiyon gerilimidir. $E(d)$ ise atom veya gruplar arasındaki bağ oluşturmaya etkileşimden

kaynaklanan enerji artışıdır. Kuvvet alanları için matematiksel ifade, klasik mekanik potansiyel enerjisi fonksiyonlarından çıkartılır. Bağları germek veya açılarını bükmek için gerekli enerji distorsiyonun karesi ile artar. Bağ gerilmesi, $E(r) = 0.5 k_r (r-r_0)^2$ dir. k_r gerilme kuvvet sabiti, r bağ uzunluğu, r_0 normal bağ uzunluğudur.

Bağ açısı bükülmesi, $E(\theta) = 0.5 k_\theta (\Delta\theta)^2$ olup, k_θ bükülme kuvvet sabiti, ve $\Delta\theta$ bağ açısının normal değerinden sapmasıdır. Torsiyon gerilimi torsiyon açısının sinus fonksiyonudur. $E(\phi) = 0.5V_0 (1 + \cos 3\phi)$ Şeklinde ifade edilir. V_0 dönme enerji bariyeri ϕ ise torsiyon açısıdır.

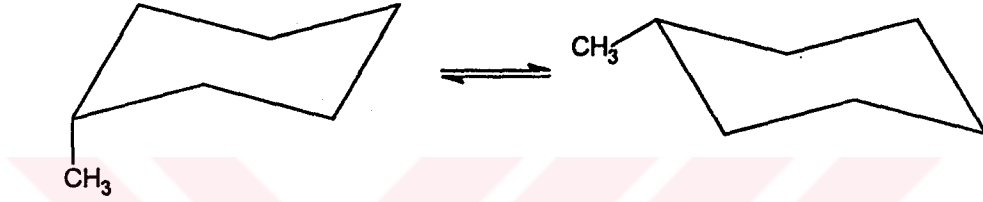
1.7.2. Sikloheksanın Konformasyonu

Terpen yapısındaki bileşiklerin çoğu sikloheksan yapısına sahiptir. Sikloheksan halkaları terpenoidlerde daha ziyade sandalye formunu tercih eder. Sikloheksanın en kararlı konformasyonu da sandalyedir. Torsiyon açısı 55.9° olup ideal sandalye konformasyonun ki ise 60° dir. Aksiyal C-H bağı tamamen paralel değildir. 7° lik bir sapma gösterir. C-C bağları 1.528 \AA , C-H bağları 1.119 \AA ve C-C-C açıları 111.05° dir.

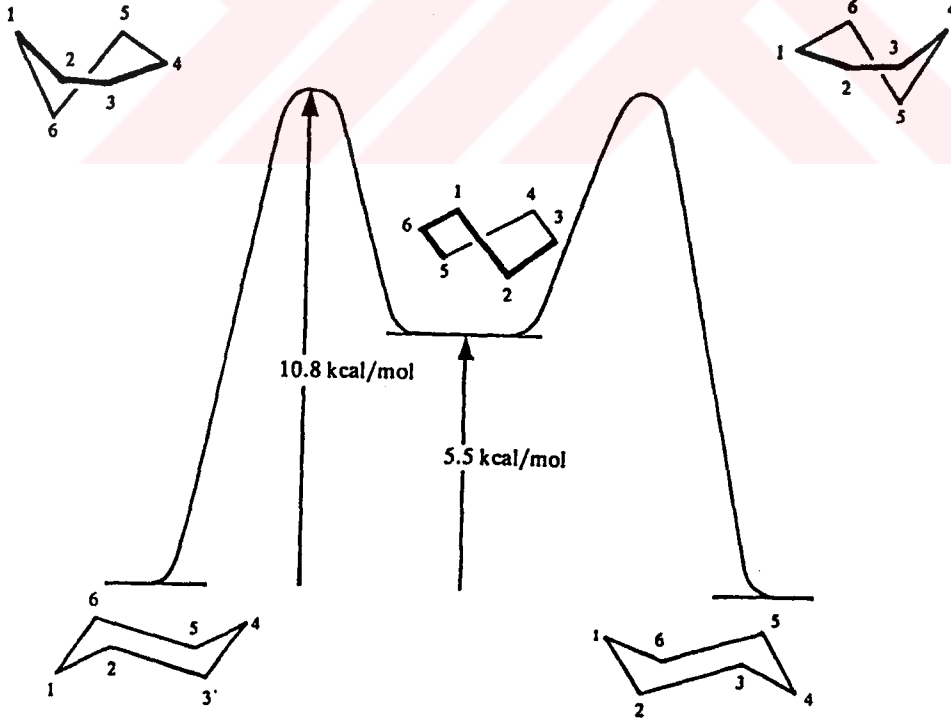


Sikloheksanın diğer sandalye olmayan konformasyonu twist ve bot'tur. Twist ve bot konformasyonları sandalye konformasyonundan daha az karardır. Gerilim enerji hesapları, twist'in 5 kcal/mol , bot'un 6.4 kcal/mol olduğunu göstermektedir. C-C bağlarının dönmesi ile sandalye konformasyonları birbirine dönüşebilir. Sikloheksan'da halka çevrimi için birinci mertebeden hız sabiti 300° de $10^4 - 10^5 \text{ s}^{-1}$ dir. Aktivasyon entalpisi 10.8 kcal/mol dur. Moleküler mekanik metodu ile yapılan geçiş halinin geometrik hesabı, yarı twist şeklinin sandalye şekline 12 kcal/mol daha fazla bir enerjiye sahip olduğunu belirtmektedir. Dönüşüm halinde, bağ

distorsiyonu ile 0.2 kcal/mol 'luk sıkışma enerjisi, 2 kcal/mol bağ açılı gerilimi, 4.4 kcal/mol van der Waals gerilimi ve 5.4 kcal/mol torsiyon gerilimi bir araya gelir. Şekil 2'de sikloheksanın bağ değişim enerjisi belirtilmektedir. Bot şekli şekilde belirtilmemiştir. Çünkü iki sandalye şekli birbirine dönüşürken bot şekline geçmemektedir. Bot, twist konformasyonunun 1-2 kcal/mol üzerindedir. Sikloheksan üzerindeki fonksiyonel grup konformasyonel değişim hızını etkilemez fakat değişik sandalye şekilleri arasındaki denge dağılımını etkiler. Bütün substitue gruplar bir sandalye konumunda aksiyal ise halka değişiminde ekvatoryal olur. Aynı şekilde ekvatoryal ise halka değişiminde aksiyal olur.



Denge durumunda metilsikloheksan için $\Delta G^0 = -1.8$ kcal/mol dur.



Şekil 2. Sikloheksanın halka dönüşüm enerji diyagramı

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Bitkinin Toplanması

İncelememize konu olan *J.excel/sa* bitkisinin meyvaları Eylül 1996 tarihinde Isparta ili Eğridir ilçesi Senirkent kasabasının dağlarından toplandı. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde teşhis edildi (AEF 19787). 350g kurutulmuş meyvalar hekzan, etil asetat ve metanol de ekstre edildi. çözünmenin hekzan da maksimum olduğu gözlemlendi ve çalışmada hekzan ekstresi kullanıldı.

2.2. Ekstraksiyon İşlemleri

Toplanan meyvalar, kurutulduktan sonra hekzan, etil asetat ve metanol de ekstre edildi. Havanda dövülen meyvalar erlene konuldu. Üzerine hekzan eklenerek 2 saat bekletildikten sonra süzülerek rotaevaporatörde çözücüsü uçurularak yoğunlaştırıldı. Aynı işlemler etil asetat ve metanol içinde tekrarlandı. Çözünmenin en çok hekzan da olduğu ince tabaka ile anlaşıldı ve saflaştırma işlemlerinde bu ekstre ile devam edildi.

2.3. Saflaştırma İşlemleri

2.3.1. Kolon Kromatografisi

175 g silika gel kolona yüklendi. Adsorban olarak merck silika gel 100 (0.063-0.200 mm, 70-230 mesh ASTM) kullanıldı. Silika gel beher içinde hekzan ile bulamaç haline getirildi ve alt kısmına az miktarda pamuk konulmuş cam kolona yüklendi. Kolonun üst kısmına 2 g. ekstre yüklenerek hekzan ile elue edildi ve 100'er ml halinde fraksiyonlar erlenelerde toplandı. 15. fraksiyondan sonra kloroform ile polaritesi arttırıldı. 65. fraksiyondan sonra madde akışının olmadığı, ince tabaka kromatografisi ile anlaşıldı. Daha sonra erlenlerin herbirinden kılcal tüple alınan numuneler spotlar halinde hazır TLC'ye tatbik edilerek hekzan ile yürütüldü. Saf

olarak ayrılan maddeler için spektroskopik ölçümler yapıldı. Saf olmayan fraksiyonlar için preparatif TLC işlemleri yapıldı.

2.3.2. İnce Tabaka Kromatografisi

İnce tabaka kromatografisi plakalarını hazırlamak için 35 g silika jel (Kiesel gel MerckTyp 60) adsorban 70 mL distile su ile çalkalanıp CAMAG plak kaplama aletiyle 20×20 cm boyutlarındaki cam plaklar 0.5 mm kalınlıkta kaplandı. Plakların oda ısısında kuruması sağlandıktan sonra 105 °C 'de 1 saat bekletilmesiyle de aktif hale getirildi. Böylece plaklar preparatif ayırma yapmak amacıyla kullanılmaya hazır hale getirildi. Bu plaklar, kolon kromatografisi ile saf olarak izole edilemeyen bileşikler saflaştırmak için kullanıldı. Saf olmayan fraksiyonların herbirisi için PTLC işlemi yapıldı. Fraksiyonların herbirisi az miktar heksanda çözülerek cam plaklara tatbik edildi. Herbir fraksiyon için 4 ile 7 arasında cam plak kullanıldı. 4 heksan 1 kloroform oranındaki çözücü de yürütüldü. Plakların bir tanesinin kenarına serik sülfat püskürtülerek etüvde yakılarak daha belirgin görme sağlandı. Bileşiklerde belirgin bir ayrılma var ise sınırları belirlenerek kazındı ve süzdürme ile de silika gel'den ayrıldı. Belirgin ayrılma olmadığı durumlarda ise tekrar yürütme işlemine devam edildi. TLC'sine bakmak suretiyle saf olup olmadığı tespit edildi. Saf olduğunda spektroskopik işlemlere geçildi. Saf olmadığı gözlemlendiği durum da ise tekrar PTLC işlemleri yapıldı.

2.3.3. Belirteç

İnce tabaka ve preparatif ince tabake işleminde alüminyum veya cam plaklarda yürütülen maddeleri çıplak gözle görmek için serik sülfat belirteci kullanıldı. 2 g Seryum (IV) sülfatın $Ce(SO_4)_2$ 100 ml % 10'luk sülfürik asit çözeltisinde çözülmesi ile hazırlandı. Belirteç püskürtüldükten sonra kromatografi plağı 110 °C'de 5-10 dakika lekeler oluşuncaya kadar bekletildi.

2.3.4. Çözücüler

Ekstraksiyon ve kolon kromatografisinde teknik çözücüler distillenerek kullanılmış, ince tabaka ve preparatif ince tabaka işlemlerinde Merck çözücüler, spektral analizler için spektroskopik çözücüler kullanılmıştır.

2.3.5. Ultraviyole Spektrometresi

Spektrumlar Varian Techtron 635 cihazında 1 cm' lik kuvars küvetlerde alındı. Ultraviyole ölçmeler bileşiklerin metanoldeki çözeltilerinde yapıldı.

2.3.6. Infrared Spektrometresi

KBr tabletleri haline getirilen numunelerin IR spektrumları Perkin Elmer 577 Grating Spectrophotometer ve Beckman cihazlarında alındı.

2.3.7. ^1H NMR ve ^{13}C NMR Spektrofotometresi

Nümunelerin ^1H NMR spektrumları 200 MHz, ^{13}C NMR spektrumları da 50.32 MHz de Bruker AC 200 L aletinde alınmıştır. Referans olarak TMS , çözücü olarak döterokloroform kullanıldı.

3. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

Dikkatli kromatografik ayırma çalışmaları sonucunda 6 molekül teşhis ve karakterize edildi. Bunlardan 4'ü saf olarak izole edilirken diğer 2'si 2'şer bileşikler halinde elde edildi. Bu bileşiklerin hepsi de terpenoid yapıda olup birisi ilk defa elde edilen bir bileşik olup "juniperekzelsik asit" olarak adlandırıldı ve sistematik adı "12 asetoksi-, 8(17), 13(16), 14 -trien 18- oik asit" dir.

Bilinen bileşikler ise şunlardır: Sandrakopimarik asit, İzopimarik asit, İzokomünik asit , (-) Ent-trans komünik asit ve α -sedrol'dür.

3.1. Sandrakopimarik Asit

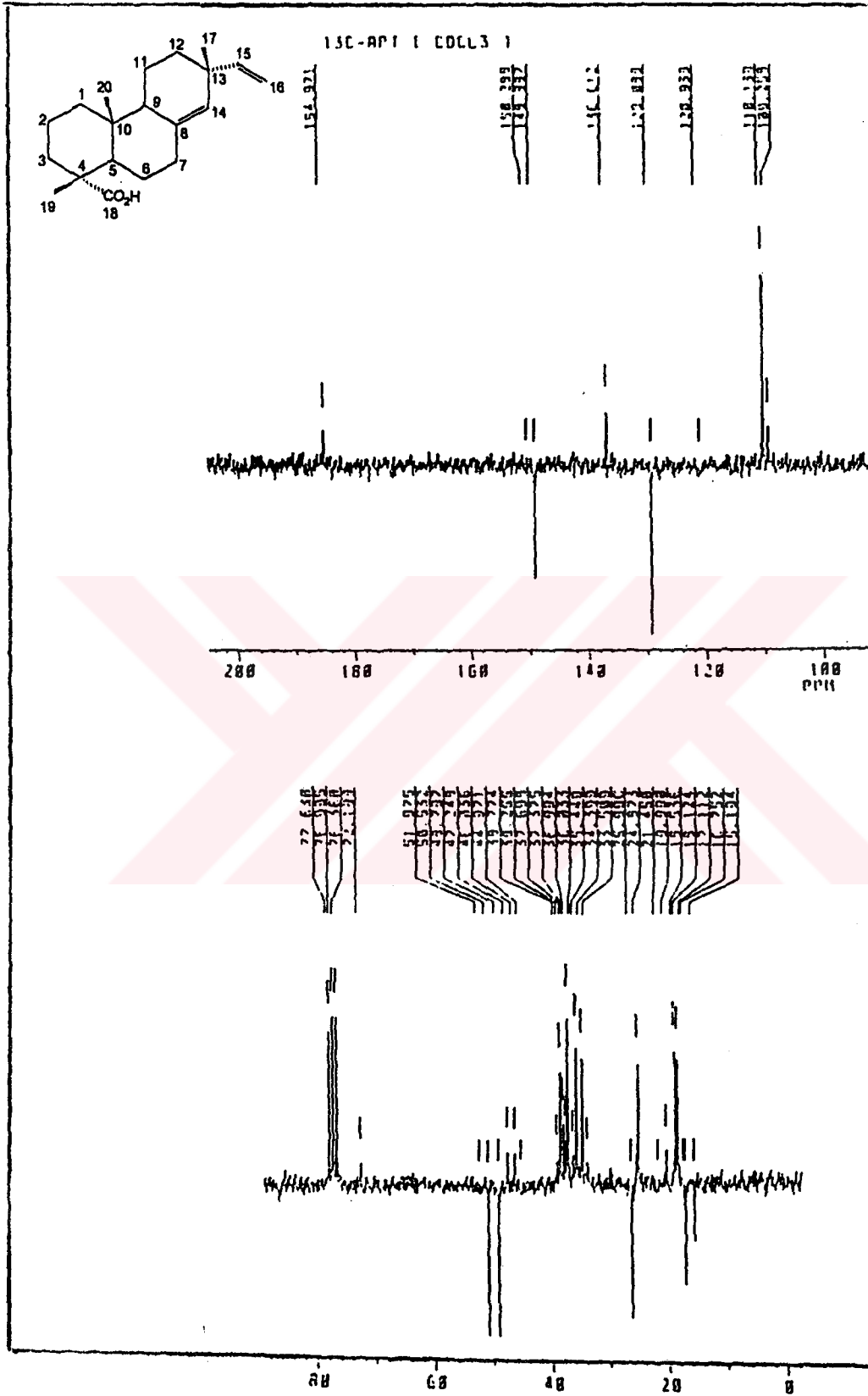
Sarı renkli bileşik olup kristallerin erime noktası 173-175 °C'dir. Optikçe çevirme açısı $[\alpha]_D^{20}$ -4,91° (CHCl₃; 1.1mL) olarak bulundu.

¹³C NMR (APT) spektrumu (Şekil 3), 20 karbonlu molekülde dört kuvaterner karbon singleti, dört metin dubleti, sekiz metilen tripleti, ve üç metil kuartetini ortaya koymaktadır (Tablo 1).

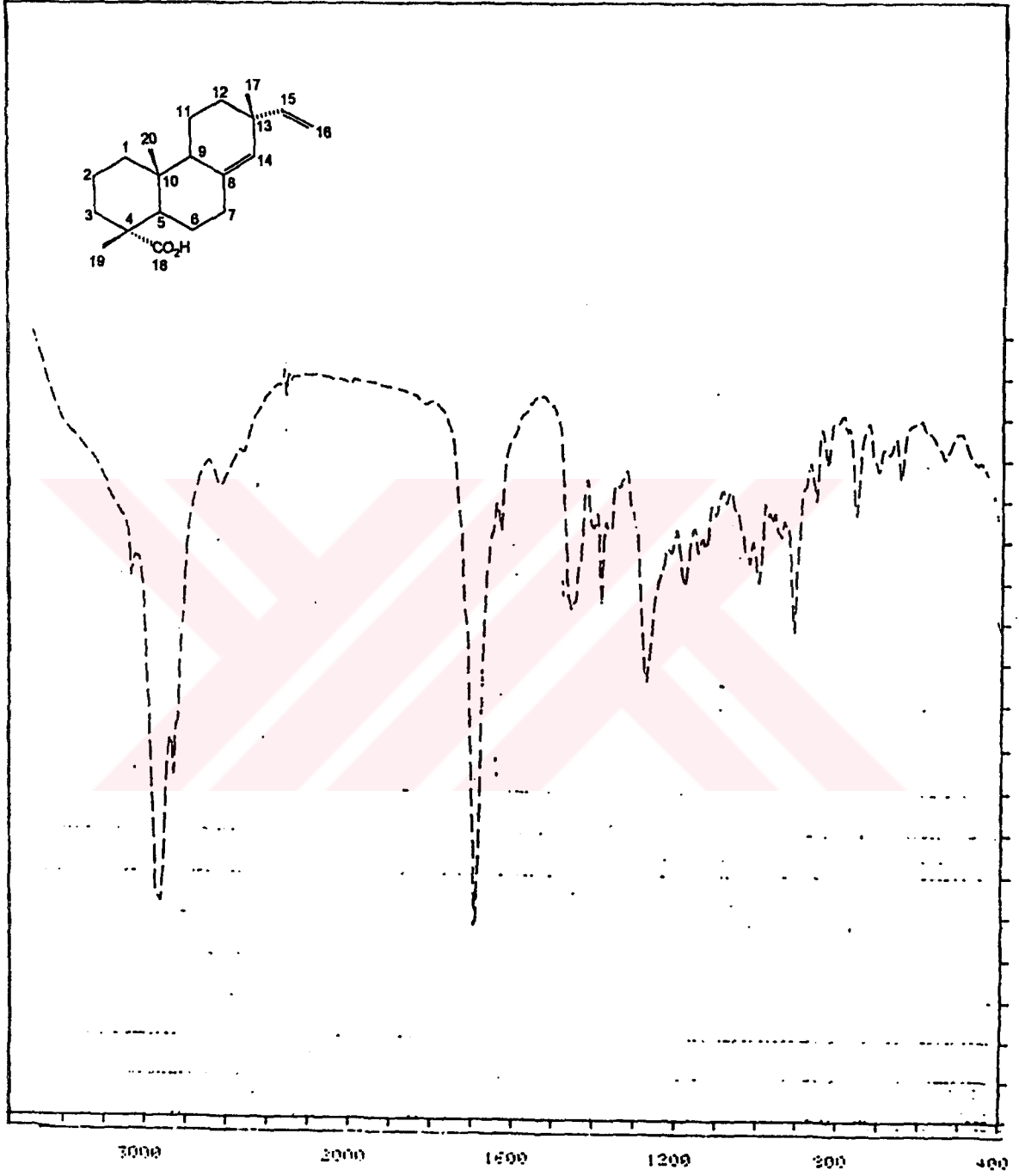
Kloroformda alınan IR spektrumu (Şekil 4) 1700 cm⁻¹ asit karbonili ve 910 , 760 cm⁻¹ 'lerde çift bağ bantlarını göstermektedir.

200 MHz ¹H NMR spektrumu (Şekil 5) δ_{ppm} 4.95 (1H, dd , J=10.5 ve 2 Hz, H-16) , δ_{ppm} 4.90 (1H, dd, J=17.5 ve 2 Hz, H-16') , δ_{ppm} 5.80 (1H, dd, J= 10.5 ve 17.5 Hz, H-15) , δ_{ppm} 5.22 (1H, brs, H-14) ve üç metil singletinin pikleri δ_{ppm} 0.85 (3H, s) , δ_{ppm} 1.05 (3H, s) , δ_{ppm} 1.21 (3H, s), (H-20, H-17, H-19) olup yapı ile uyum sağlamaktadır.

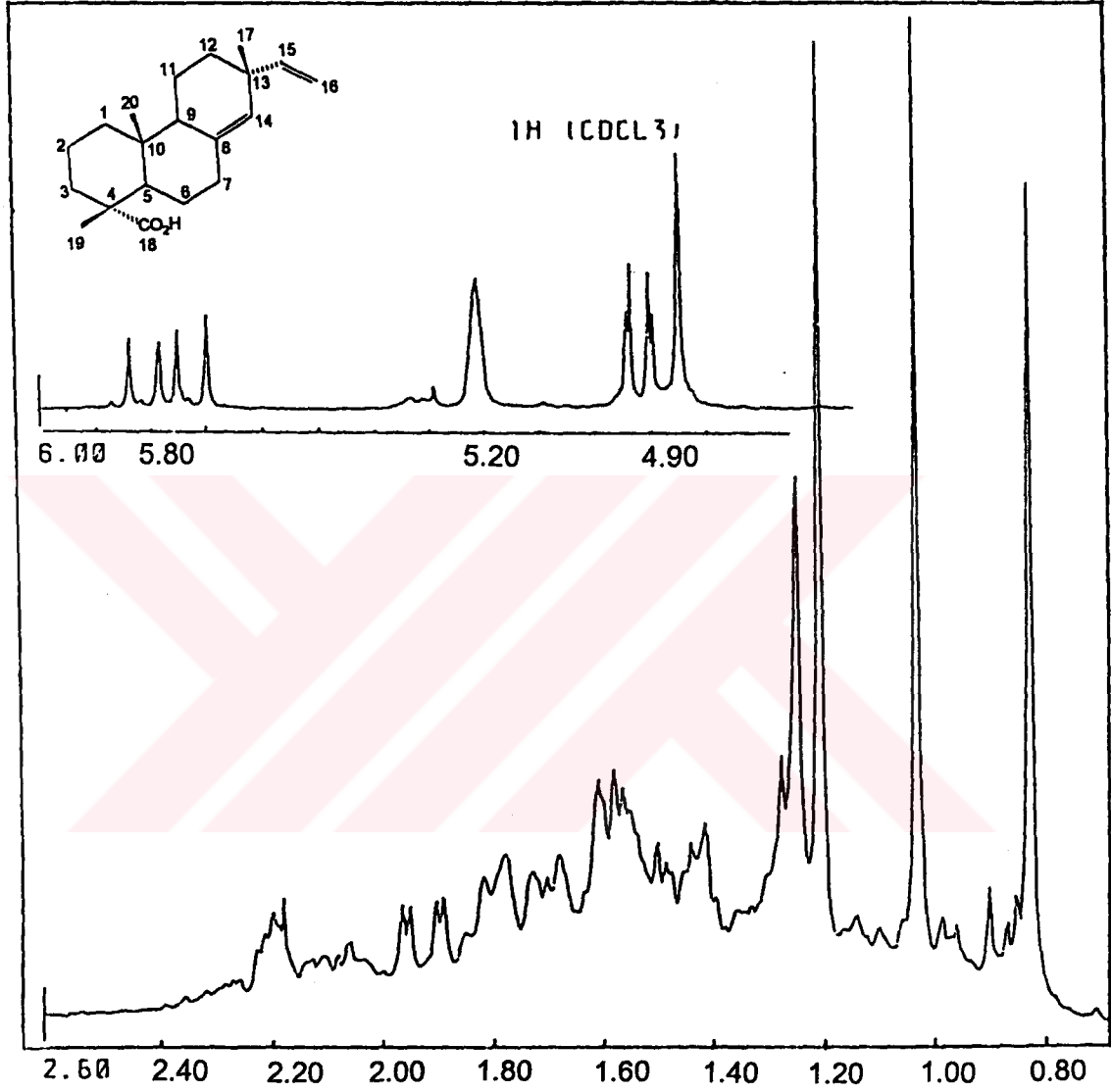
Elektron impact yöntemiyle alınan kütle spektrumunda moleküler pik m/z 302'de izlenmiş olup (C₂₀H₃₀O₂) kapalı formülünü vermektedir. Diğer pikler ise şöyledir: (31), 287.2 [M-Me]⁺ (34), 257.2 [M-COOH]⁺ (23), 241.2 (16), 220.1 (10),



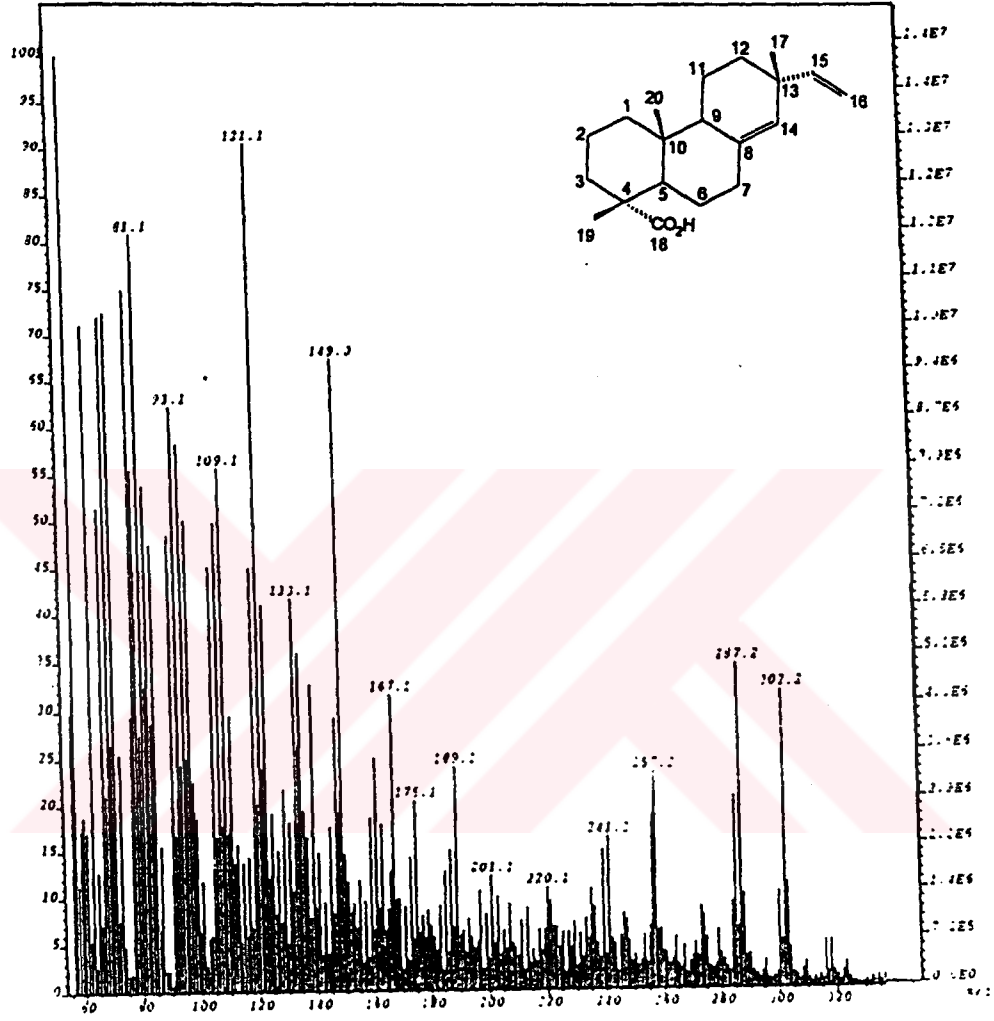
Şekil 3. Sandrakopimarik asit bileşiğinin ^{13}C spektrumu (CDCl_3)



Şekil 4. Sandrakopimarik asit bileşiğinin IR spektrumu (CHCl₃)



Şekil 5. Sandrakopimarik asit bileşiğinin 200 MHz ^1H NMR spektrumu (CDCl_3)

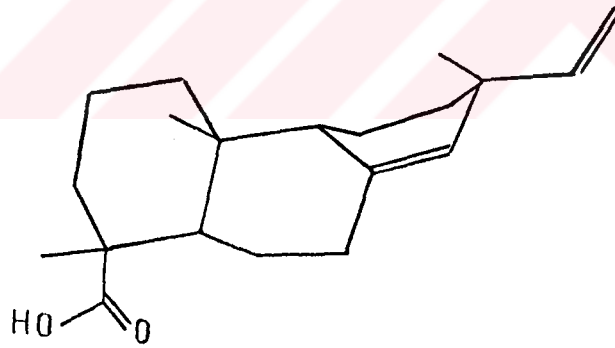


Şekil 6. Sandrakopimarik asit bileşiğinin Mass spektrumu

201.1 (12), 189.1 (23), 175.1 (20), 167.1 (30), 149.0 (67), 121.1 (90), 109.1 (56), 93.1 (62), 81.1 (82). (Şekil 6).

TABLO 1. Sandrakopimarik asidin ^{13}C NMR değerleri (CDCl_3 , 50.32 MHz, δ_{ppm})

C-1	38.3 t	C-11	18.6 t
C-2	18.1 t	C-12	34.4 t
C-3	37.0 t	C-13	37.4 s
C-4	47.3 s	C-14	129.1 d
C-5	48.8 d	C-15	148.9 d
C-6	24.7 t	C-16	110.1 t
C-7	35.5 t	C-17	26.0 q
C-8	136.6 s	C-18	185.0 s
C-9	50.5 d	C-19	16.8 q
C-10	37.7 s	C-20	15.2 q



Sandrakopimarik asidin MM2 Moleküler Mekanik Programına göre en kararlı konformasyonu ($E = 42,0 \text{ kcal/mol}$)

NMR (^1H ve ^{13}C) değerleri ve diğer spektroskopik değerler bu bileşimin sandrakopimarik asit olduğunu göstermektedir (Wenkert and Buckwalter, 1972; Chau and Chia-Li, 1987).

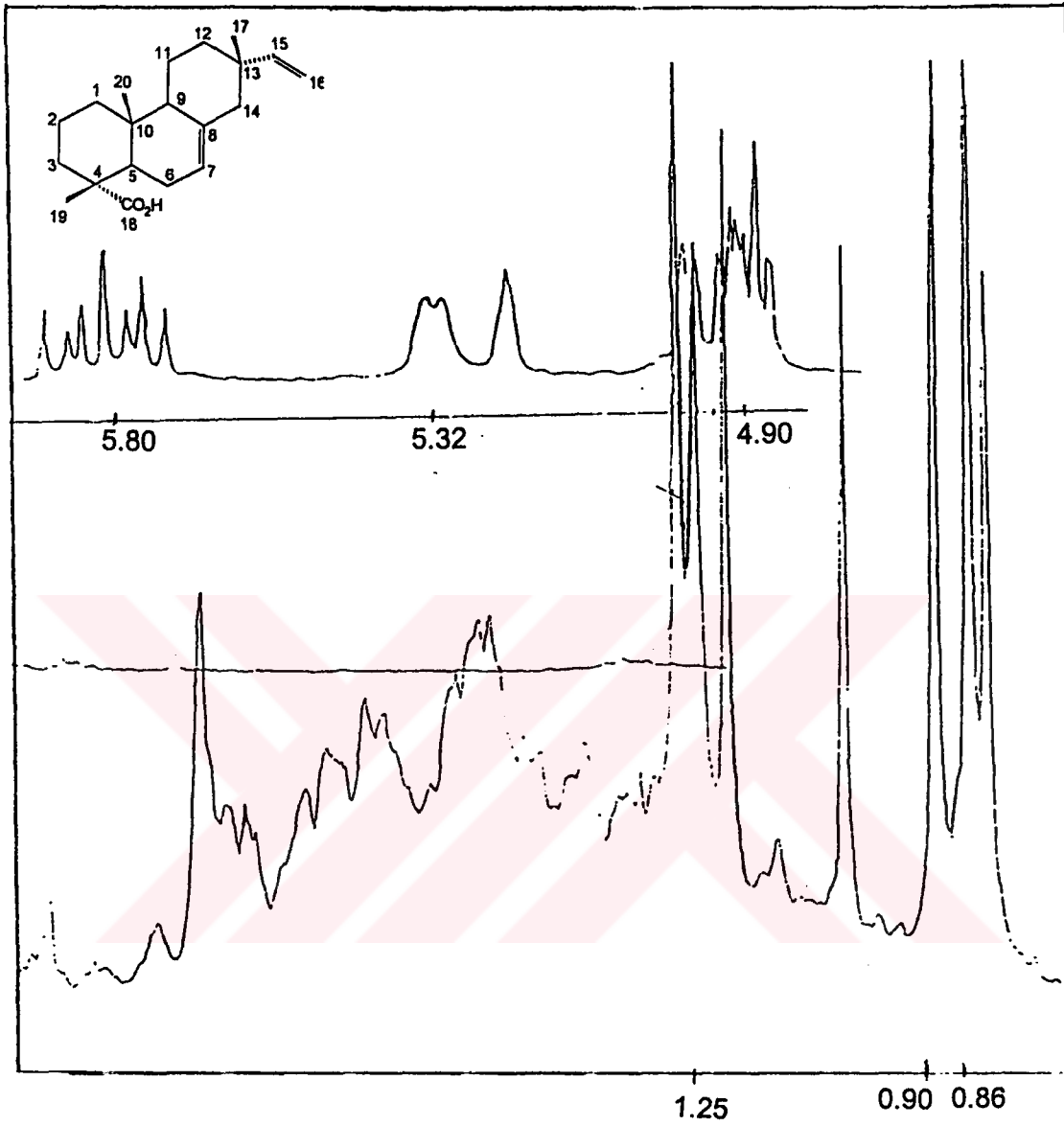
3. 2. İzopimarik Asit

Juniperus excelsa meyva ekstresinden izole edilen bileşiklerden biri izopimarik asittir. Bu bileşik sandrakopimarik asit ile birlikte izole edildi, sandrakopimarik asit ise saf olarak izole edildiğinden spektrum verilerinden bileşiğin yapısı aydınlatıldı. Bileşiğin ^1H NMR (CDCl_3) değerleri şekil 6'da görülmekte ve literatür değerleri ile uyum sağlamaktadır (Wenkert and Buckwalter, 1972).

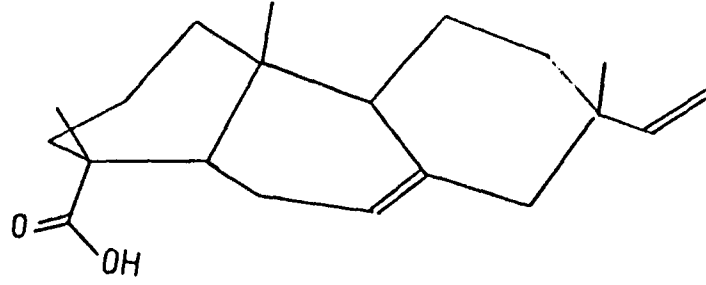
^1H NMR (CDCl_3) , δ_{ppm} 4.95 (1H, dd, J=10.5 ve 2 Hz, H-16), δ_{ppm} 4.90 (1H,d, J=17.5 ve 2 Hz, H-16') , δ_{ppm} 5.80 (1H, dd, J= 10.5 ve 17.5 Hz, H-15), δ_{ppm} 5.32 (1H, brs, H-7) ve üç metil singletinin pikleri δ_{ppm} 0.86 (3H, s), δ_{ppm} 0.90 (3H, s), δ_{ppm} 1.25 (3H, s) (H-20, H-17, H-19)' lerde görüldü (Şekil7). ^{13}C NMR değerleri Tablo 2.'de verilmiştir.

TABLO 2. İzopimarik asidin ^{13}C NMR değerleri. (CDCl_3 , 50.32 MHz , δ_{ppm})

C-1	39.2 t	C-11	20.5 t
C-2	17.9 t	C-12	36.0 t
C-3	37.2 t	C-13	37.5 s
C-4	46.4 s	C-14	46.5 t
C-5	45.4 d	C-15	150.7 d
C-6	25.7 t	C-16	109.7 t
C-7	121.5 d	C-17	21.9 q
C-8	136.0 s	C-18	183.9 s
C-9	52.4 d	C-19	17.5 q
C-10	35.5 s	C-20	15.7 q



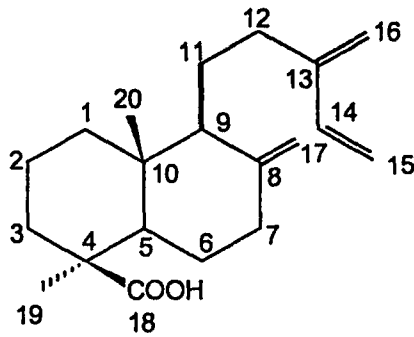
Şekil 7. İzopimarik asit bileşiğinin 200 MHz ¹H NMR spektrumu (CDCl₃)



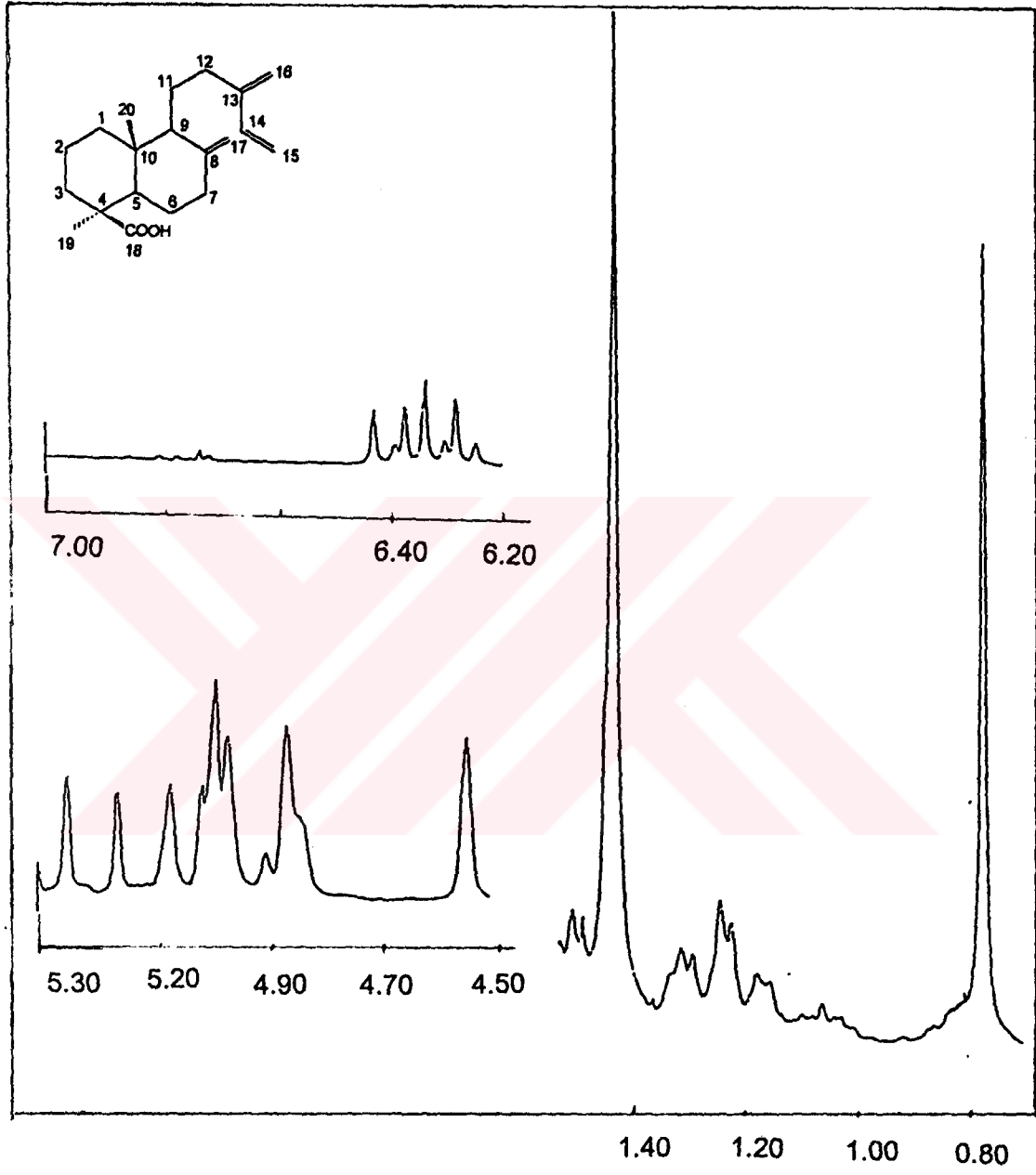
MM2 'ya göre İzopimarik asidin en kararlı konformasyonu ($E=31,7$ kcal/mol)

3. 3. İzokomünik Asit

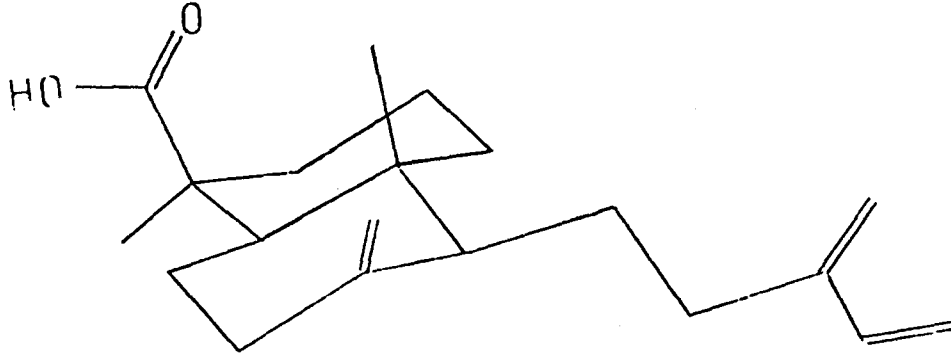
İzole edilen diğer bir bileşik ise izokomünik asit olarak belirlendi. Çevirme açısı $[\alpha]^{20}_D +10.2$ (CHCl_3 ; 1.1mL) olarak bulundu. ^1H NMR spektrumu (200 MHz) δ_{ppm} 6.36 (2H, dd, $J= 10.5$ ve 17.5 Hz, H-14), δ_{ppm} 5.20 (1H, brd, $J= 10.5$ Hz, H-15), δ_{ppm} 5.04 (1H, brd, $J=17.5$ Hz, H-15'), δ_{ppm} 5.0 (1H, brs, H-16), δ_{ppm} 4.97 (1H, brs, H-16'), δ_{ppm} 4.88 (1H, brs, H- 17), δ_{ppm} 4.57 (1H, brs, H- 17'), δ_{ppm} 1.22 (3H, s, H- 19), δ_{ppm} 0.60 (3H, s, H-20). (Şekil 8) olarak tespit edildi ve bu değerler literatür ile uyum içerisinde olduğu gözlemlendi (Teresa ve grubu, 1974).



İzokomünik asit



Şekil 8. Izokomunik asit bileşiğinin 200 MHz ¹H NMR spektrumu (CDCl₃)



İzokomunik asidin MM2'ya göre en düşük enerjili geometrisi (E= 29.0 kcal / mol)

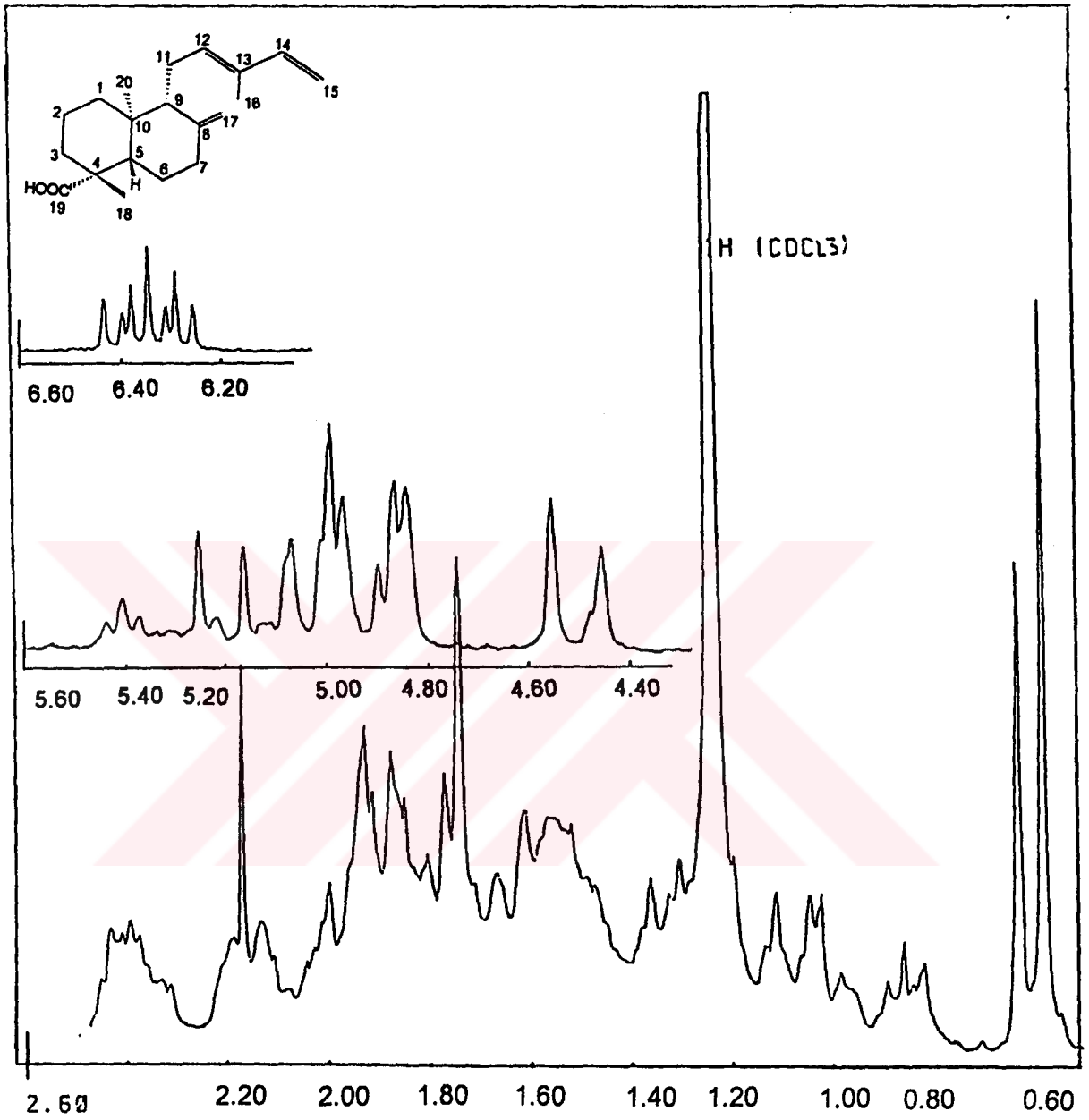
3.4. (-) Ent- Trans Komünik Asit

(-) Ent- trans komunik asit izokomunik asit ile birlikte izole edildi, izokomunik asit saf olarak izole edildiğinden spektrum sonuçlarından bileşiğin yapısı aydınlatıldı.

Çevirme açısı oil; $[\alpha]_D^{20} -22.5^\circ$ (c= 0.008), (EtOH) ; IR $\nu_{\max} \text{ cm}^{-1}$ 1695; EI-MS m/z (rel. int.) , ($C_{20} H_{30} O_2$) , $[M]^+$ 302 (100,0) , 287 (57.8) , 257 (20.5) , 175 (80.5). (Blechschmidt and Backer, 1992).

^1H NMR spektrumu (200 MHz) δ_{ppm} 5.40 (1H, brt, H-12) , δ_{ppm} 6.32 (2H, dd, J= 10.5 ve 17.5 Hz, H-14), δ_{ppm} 5.20 (1H, brd,J=10.5 Hz H-15), δ_{ppm} 5.0 (1H,brd,J=17.5 Hz, H-15') δ_{ppm} 1.74 (3H, s, H-16) , δ_{ppm} 4.83 (1H, brs, H- 17) , δ_{ppm} 4.46 (1H, brs, H- 17') , δ_{ppm} 1.23 (3H, s, H-18), δ_{ppm} 0.64 (3H, s, H-20) , sinyallerini vermiştir. Bu spektrum izokomünik asit ile (-) ent- trans komünik asidin bir karışımıdır. (Şekil 9).

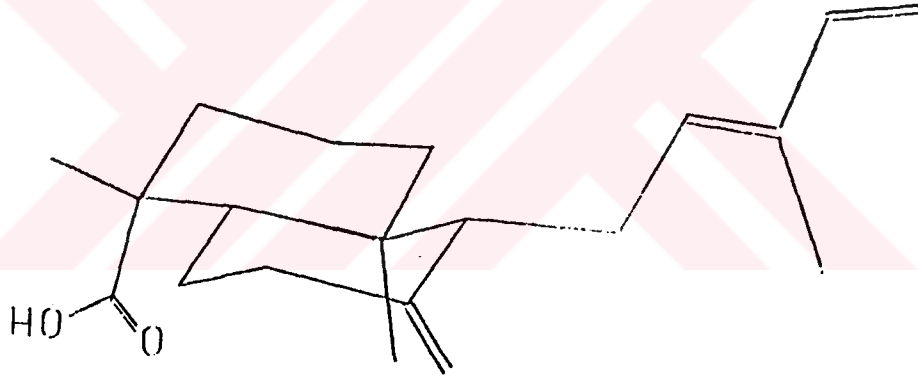
^{13}C NMR değerleri Tablo 3.'te, verilmektedir.



Şekil 9. (-)-Ent-trans komunik asit bileşiginin 200 MHz ^1H NMR spektrumu (CDCl_3)

TABLO 3 :(-) Ent-trans kominik asidin ^{13}C NMR değerleri (CDCl_3 , 50.32 MHz, δ_{ppm})

C-1	39.3 t	C-11	23.3 t
C-2	19.9 t	C-12	133.9 d
C-3	38.0 t	C-13	133.5 s
C-4	44.2 s	C-14	141.6 d
C-5	56.3 d	C-15	109.9 t
C-6	25.9 t	C-16	11.8 q
C-7	38.5 t	C-17	107.7 t
C-8	147.9 s	C-18	29.0 q
C-9	56.5 d	C-19	183.0 s
C-10	40.4 s	C-20	12.9 q



(-) Ent-trans kominik asidin Hyper Chem programına göre en kararlı yapısı
(E= 27,5 kcal/ mol)

3.5. α -SEDROL

İzole edilen moleküllerden birisi de seskiterpen yapısındaki α - Sedrol olup ergime noktası 85-86 °C'dir. Kütle spektrometresinde bu molekülün kütlesi m/z 222.2 olarak bulundu (Şekil 10). ve bu değer $C_{15}H_{26}O$ kapalı formülünü ile uyum sağlamıştır..

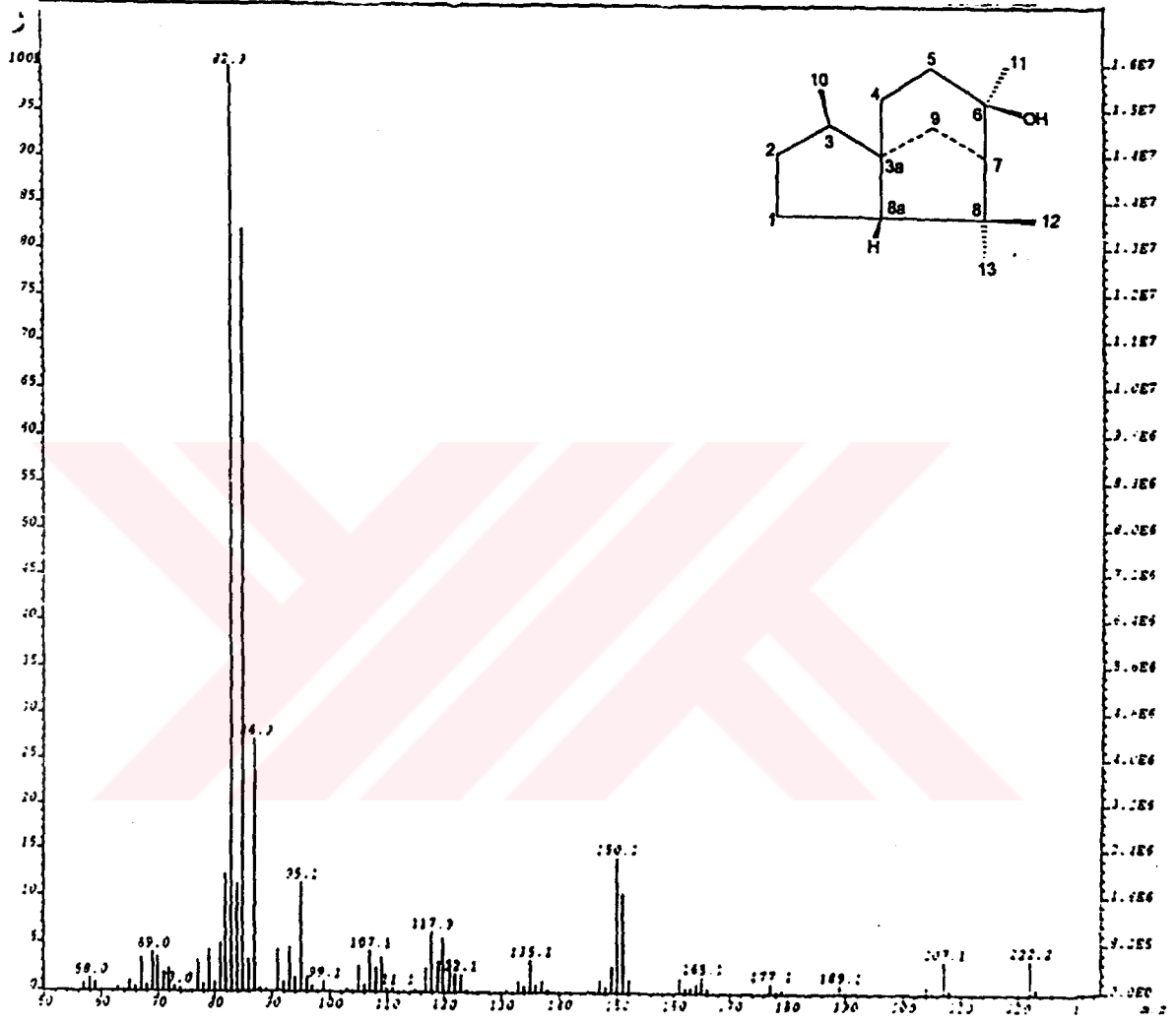
^{13}C NMR (APT) spektrumları (Tablo 4) molekülde 15 karbon atomundan, 3 kuvaterner karbon singleti 3 metin dubleti, 5 metilen tripleti, ve 4 metil kuarteti vermektedir. (Şekil 11)

Molekülün ihtiva ettiği hidroksil grubu IR spektrumunda ($CHCl_3$) 2880 cm^{-1} 'de gözlemlendi (Şekil 12).

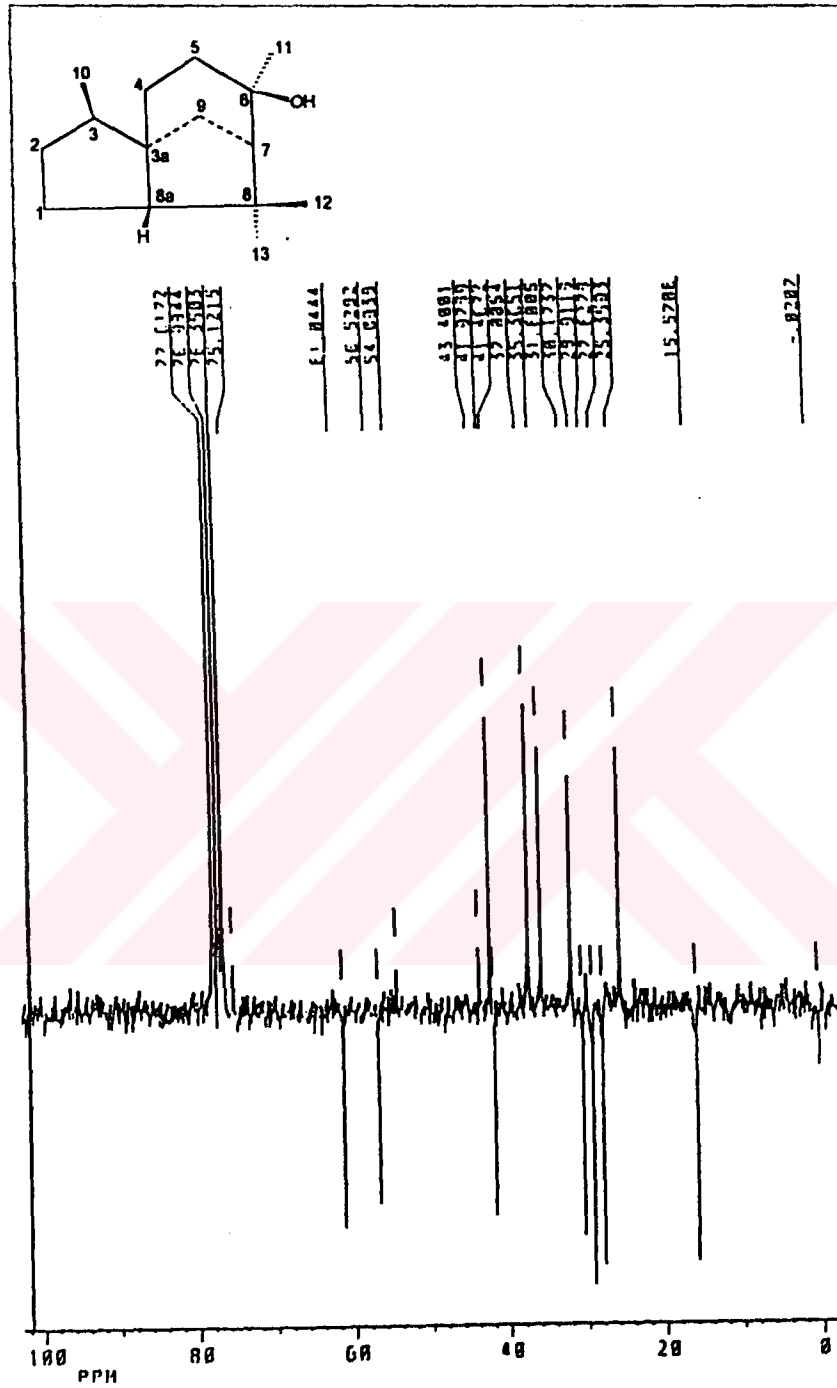
1H NMR ($CDCl_3$) spektrumu (Şekil 13) δ_{ppm} 0.82 (3H, d, J= 6.8 Hz, H-10) , δ_{ppm} 0.99 (3H, s, H-13), δ_{ppm} 1.23 (3H, s, H-12), δ_{ppm} 1.30 (3H, s, H-11) piklerini verdi.

TABLO 4. α - Sedrol'ün ^{13}C NMR değerleri ($CDCl_3$, 50.32 MHz, δ_{ppm})

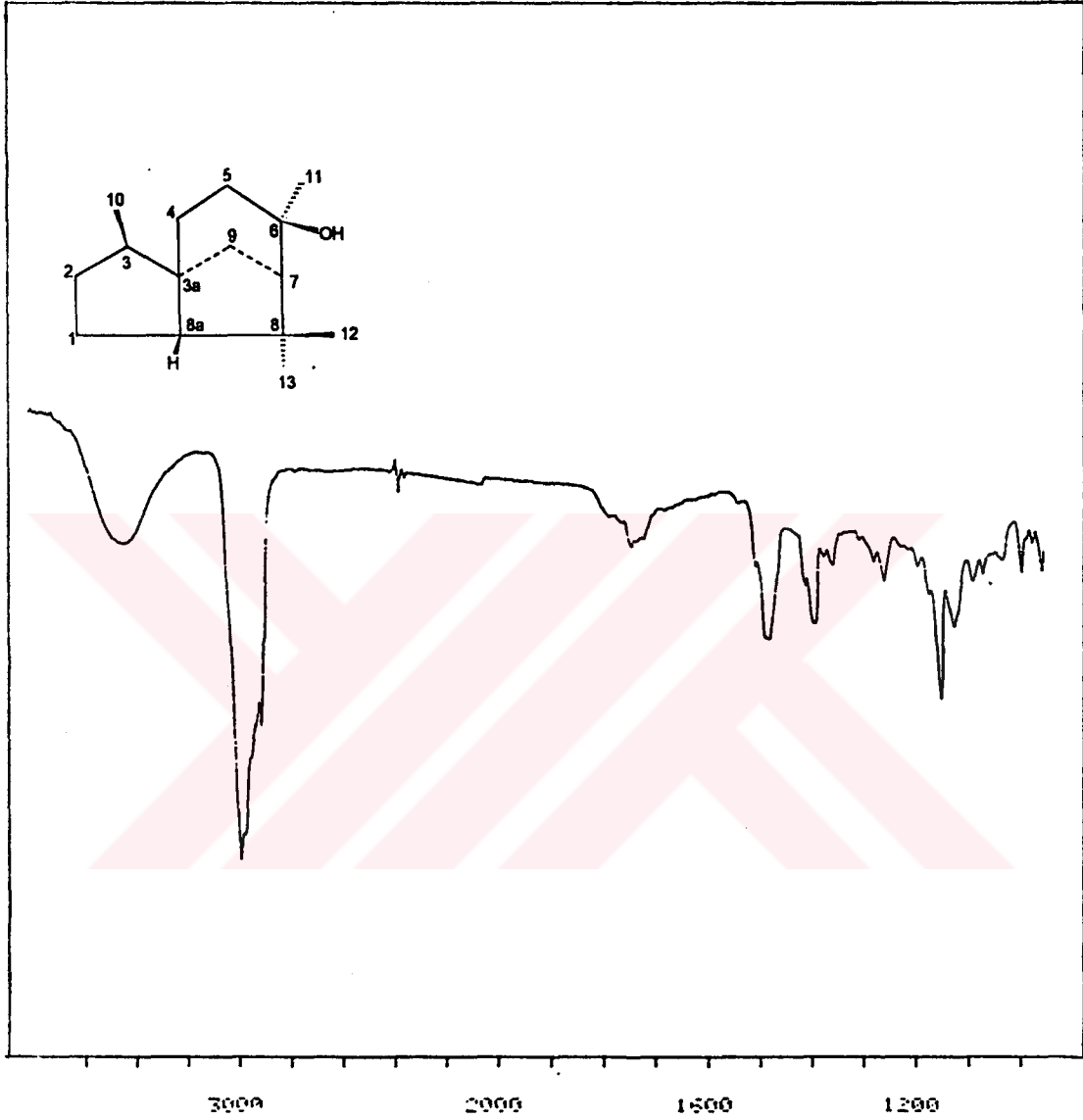
C-1	25.4 t	C-8	43.4 s
C-2	37.0 t	C-8a	56.5 d
C-3	41.5 d	C-9	42.0 t
C-3a	54.1 s	C-10	15.6 q
C-4	31.6 t	C-11	30.2 q
C-5	35.4 t	C-12	27.6 q
C-6	75.1 s	C-13	28.9 q
C-7	61.1 d		



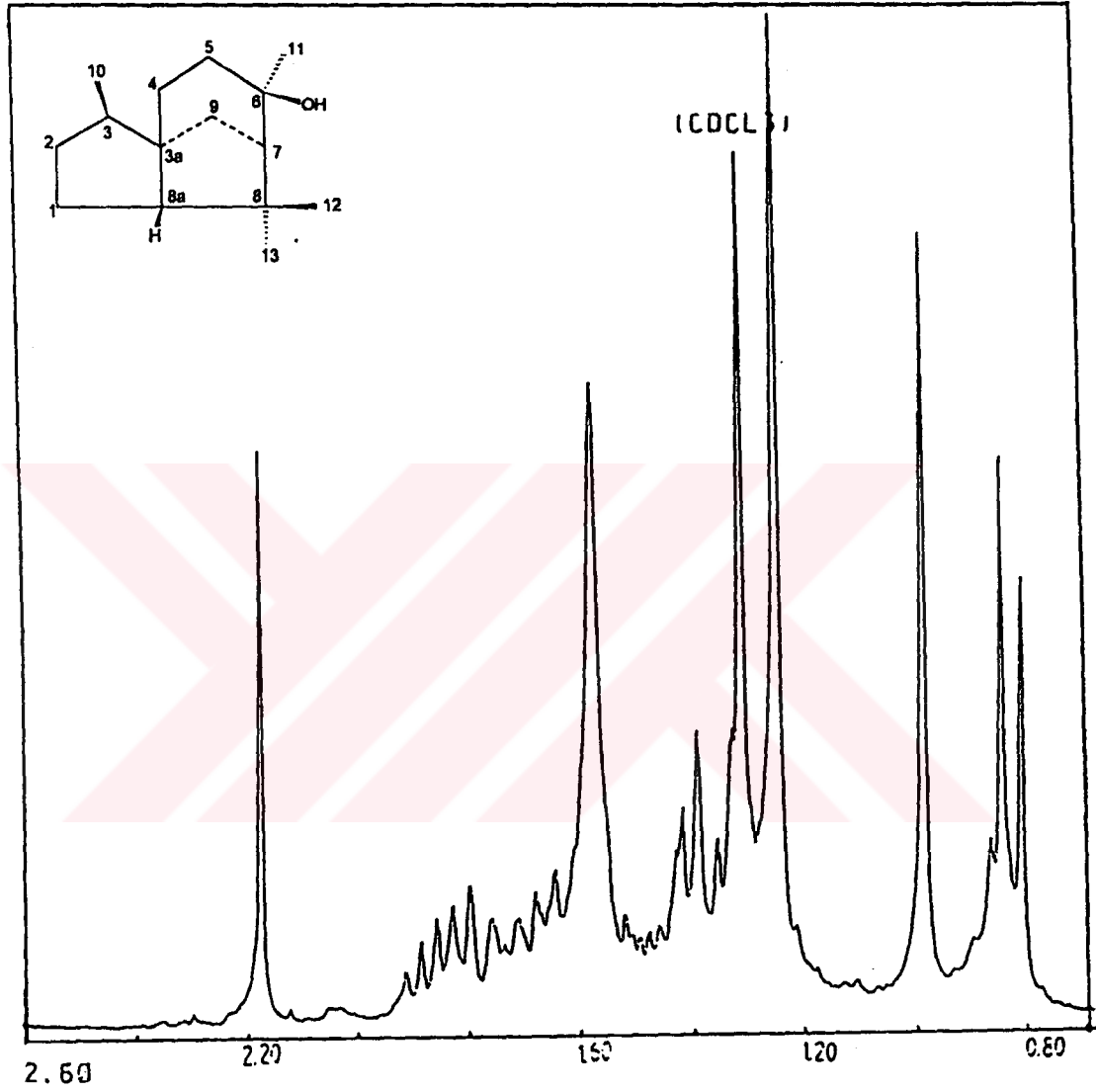
Şekil 10. α - Sedrol bileşiğinin Mass spektrumu



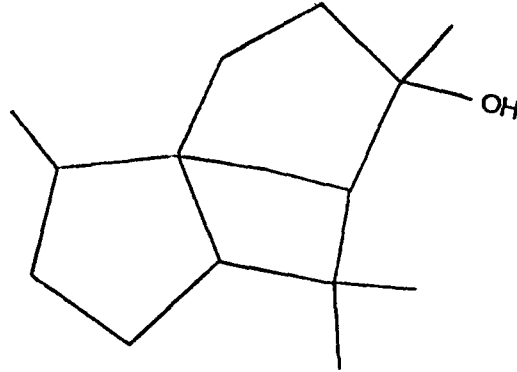
Şekil 11. α -Sedrol bileşiğinin ^{13}C spektrumu (CDCl_3)



Şekil 12. α - Sedrol bileşiğinin IR spektrumu (CHCl_3)



Şekil 13. α -Sedrol bileşiğinin 200 MHz ^1H NMR spektrumu (CDCl_3)



MM2 (Hyper Chem) Metotodu'na göre α -Sedrol'ün en kararlı geometrisi (E=47,92kcal/mol)

3.6. Juniperekzelsik Asit (12 Asetoksi-, 8(17), 13(16),14- Trilen- 18-Oik Asit)

İlk defa izole ve karakterize edilen molekül juniperekzelsik asit olarak isimlendirildi. Yüksek ayırmalı kütle spektrometresinde juniperekzelsik asidin kütlesi m/z 360.9933 değerini gösterdi ve bu da $C_{22}H_{32}O_4$ kapalı förmülüne tekabül etmektedir (Şekil 14).

Bileşiğin Metanol içinde alınan UV spektrumunun (Şekil 15) 243 nm'de maksimum absorpsiyonu, molekülde konjuge çift bağlarla uyum sağlamaktadır.

IR spektrumunda ($CHCl_3$) 1735 ve 1250 cm^{-1} 'de gözlenen sinyaller asetil grubunu; 1705 cm^{-1} ve 2500-2600 cm^{-1} 'lerde (omuz şeklinde pik) gözlenen sinyaller ise asit grubunu gösterdi (Şekil 16).

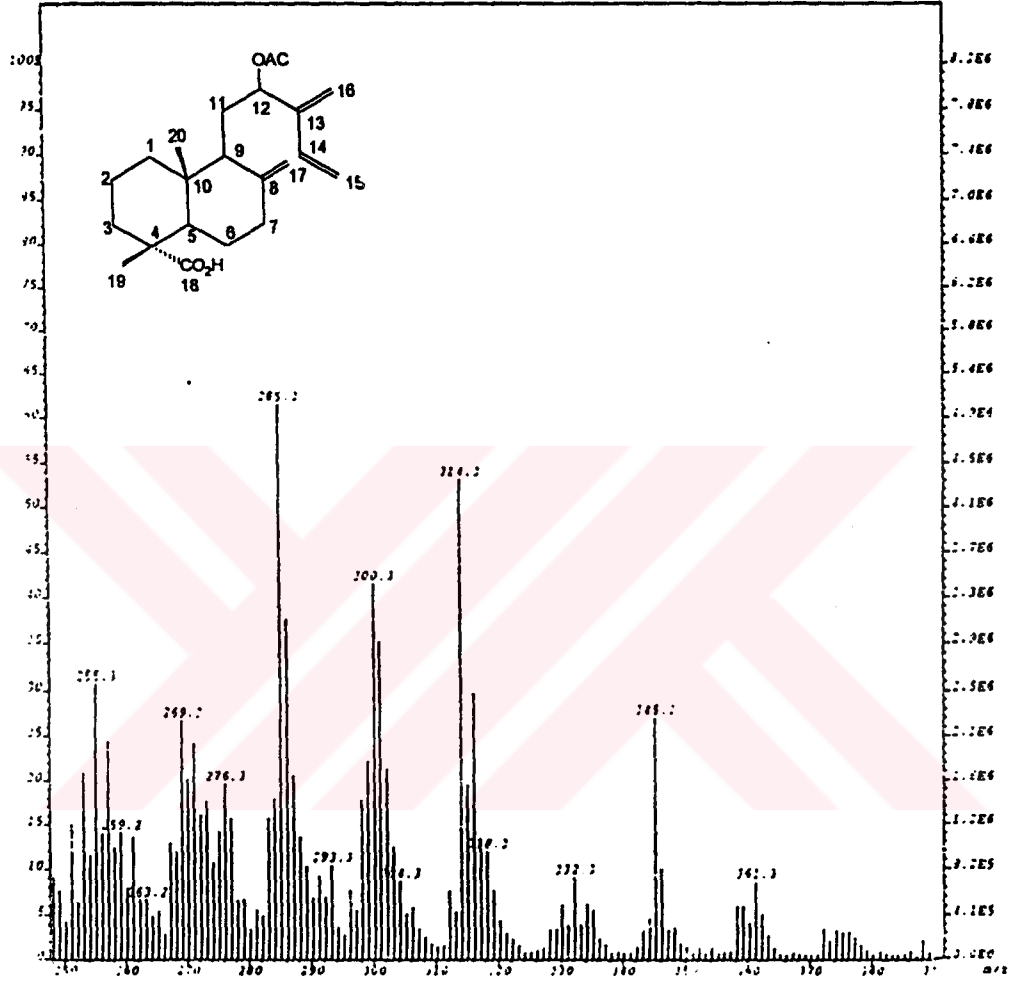
^{13}C NMR (APT) spektrumu (Şekil 17) sonuçlarının incelenmesi bu bileşiğin 4 metin, 9 metilen, 3 metil, 6 kuvaterner karbon bulunduran 22 karbonlu labdan türü bir diterpen yapısını ortaya koymaktadır (Tablo 5). δ_{ppm} 170.32 ve δ_{ppm} 182.02 gözlenen sinyaller asit ve asetil karbonil gruplarını göstermektedir. δ_{ppm} 115.49, δ_{ppm} 113.19 ve δ_{ppm} 106.79 ^{13}C NMR değerleri ön görülen yapıda üç adet exosiklik

metilen grupları ile uyum sağlamaktadır. Tablo 6, 6.1 6.2, 6.3, 6.4'de AM1 Metodu sonuçları verilmektedir.

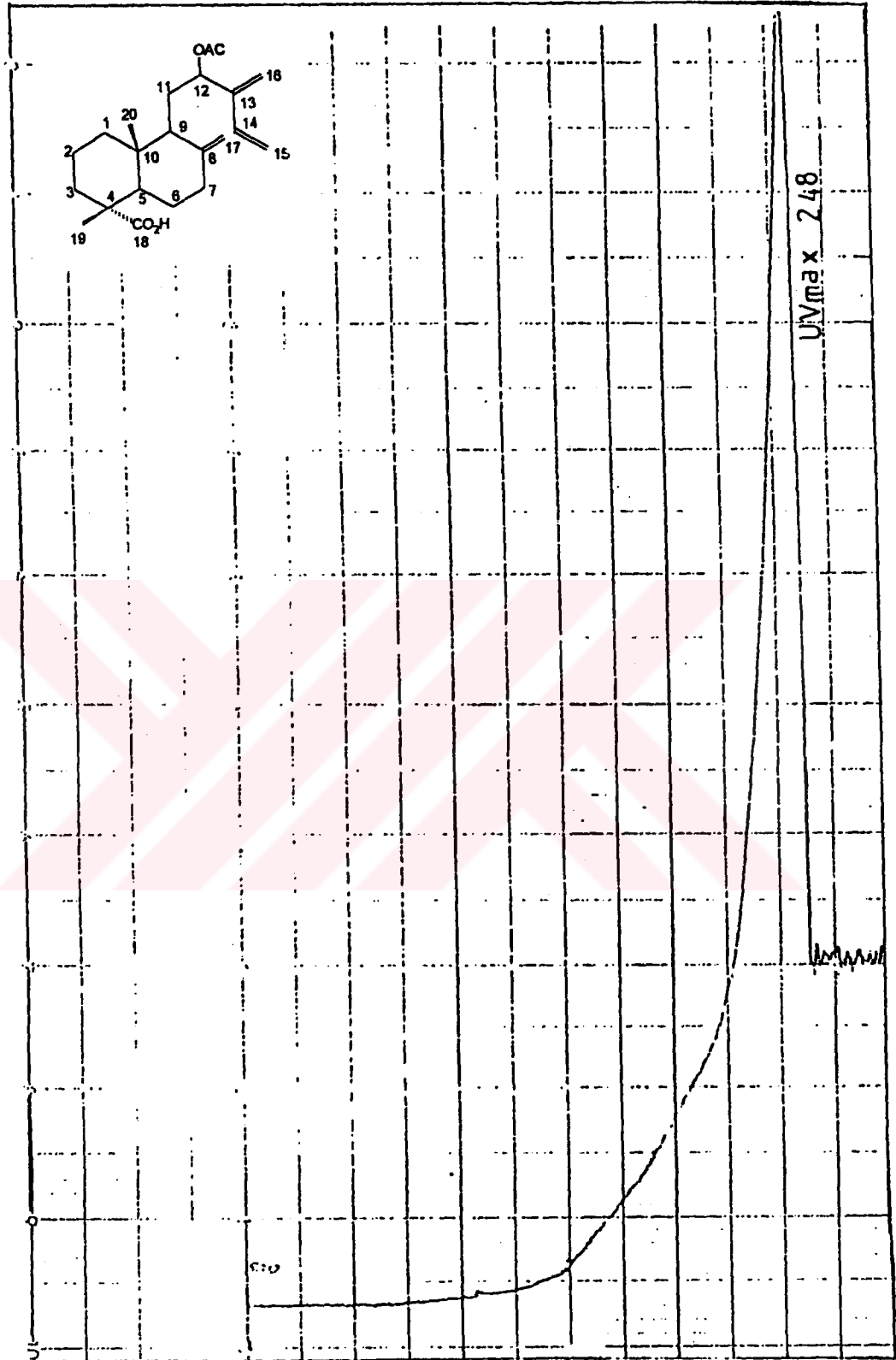
^1H NMR (CDCl_3) spektrumu (Şekil 18) incelendiğinde δ 4.59 ve 4.89 (2H, brs, H-17, H- 17'), δ 4.99 ve δ 5.00 (2H, brs, H-16, H- 16'), δ 5.06 (H, brd, J=10.5 Hz, H-15), δ 5.21 (H, brd, J=17.5 Hz, H- 15'), δ 6.36 (2H,dd, j= 17.5 Hz, 10.5 Hz, H-14) sinyalleri gözlemlendi. Metil sinyalleri ise, δ 0.60, δ 1.21, δ 2.09 'larda gözlemlendi, δ 2.09 sinyali asetil metil protonlarını belirtmektedir. Genelde asit grubu benzer diterpenlerde bölünme şekilleri göz önüne alındığında C-18'de bulunmakta, ayrıca metil grubunun kimyasal kayma değeri bunu desteklemektedir. Asetil grubun C-1, C-3, C-5 ve özellikle C-12 de olabileceği anlaşıldı. Kimyasal kayma ve Spin-dekapling deneyi (Şekil 19) protonlar arasındaki ilişkiyi, HETCOR deneyi protonlar ile karbonlar arasındaki direkt korelasyonu gösterdi. kimyasal etkileşme sabiti de asetil grubun β olarak yönlendiğini gösterdi.

TABLO 5. Juniperkezelsik asid'in ^{13}C NMR değerleri (CDCl_3 , 50.32 MHz, δ_{ppm})

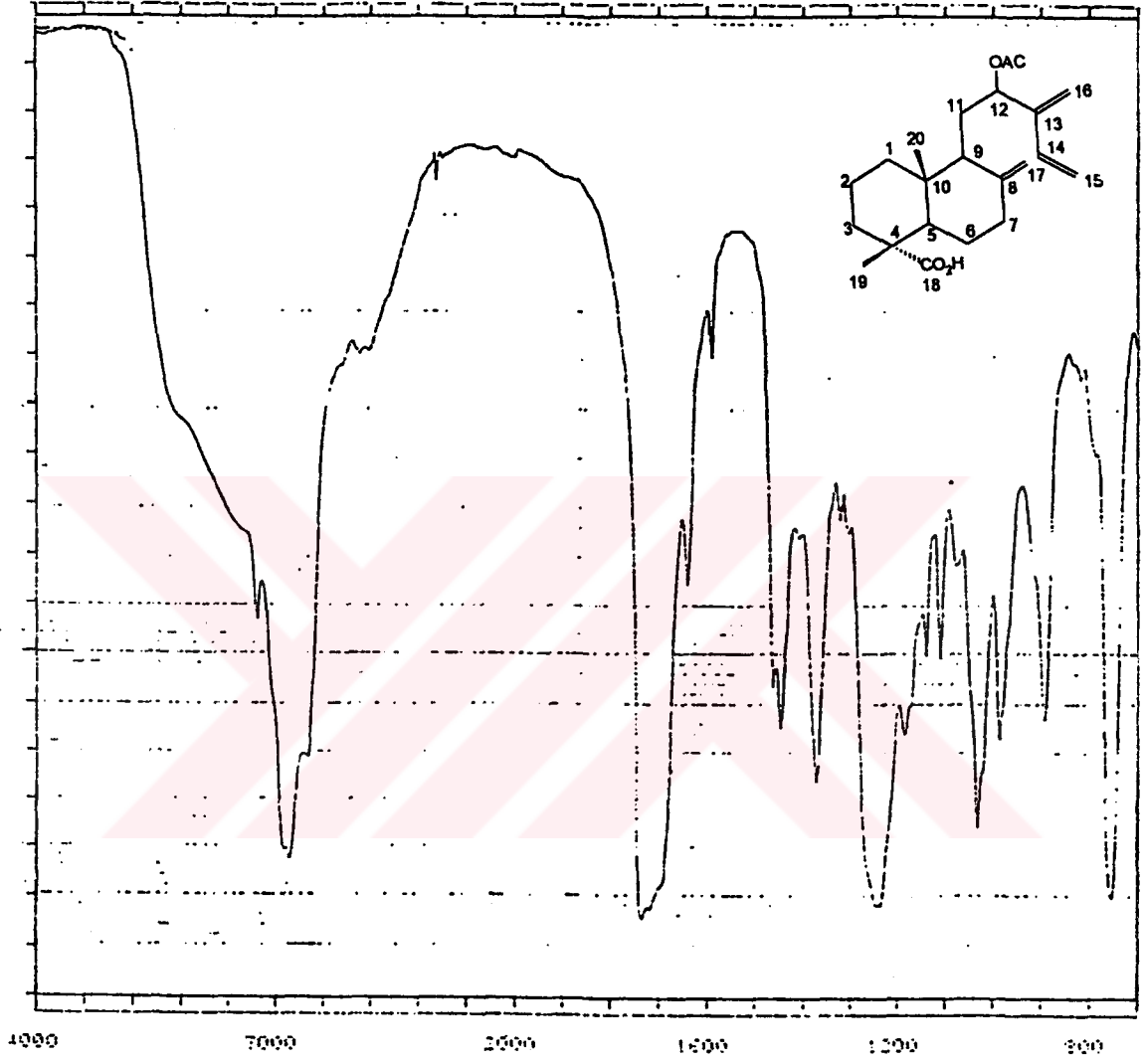
C-1	38.5 t	C-11	24.3 t
C-2	21.3 t	C-12	73.2 d
C-3	40.1 t	C-13	147.0 s
C-4	47.2 s	C-14	139.0 d
C-5	55.6 d	C-15	115.5 t
C-6	25.4 t	C-16	113.2 t
C-7	30.3 t	C-17	106.8 t
C-8	147.6 s	C-18	182.1 s
C-9	50.0 d	C-19	23.8 q
C-10	32.6 s	C-20	12.4 q
		C=O	170.3 s
		CH ₃	21.3 q



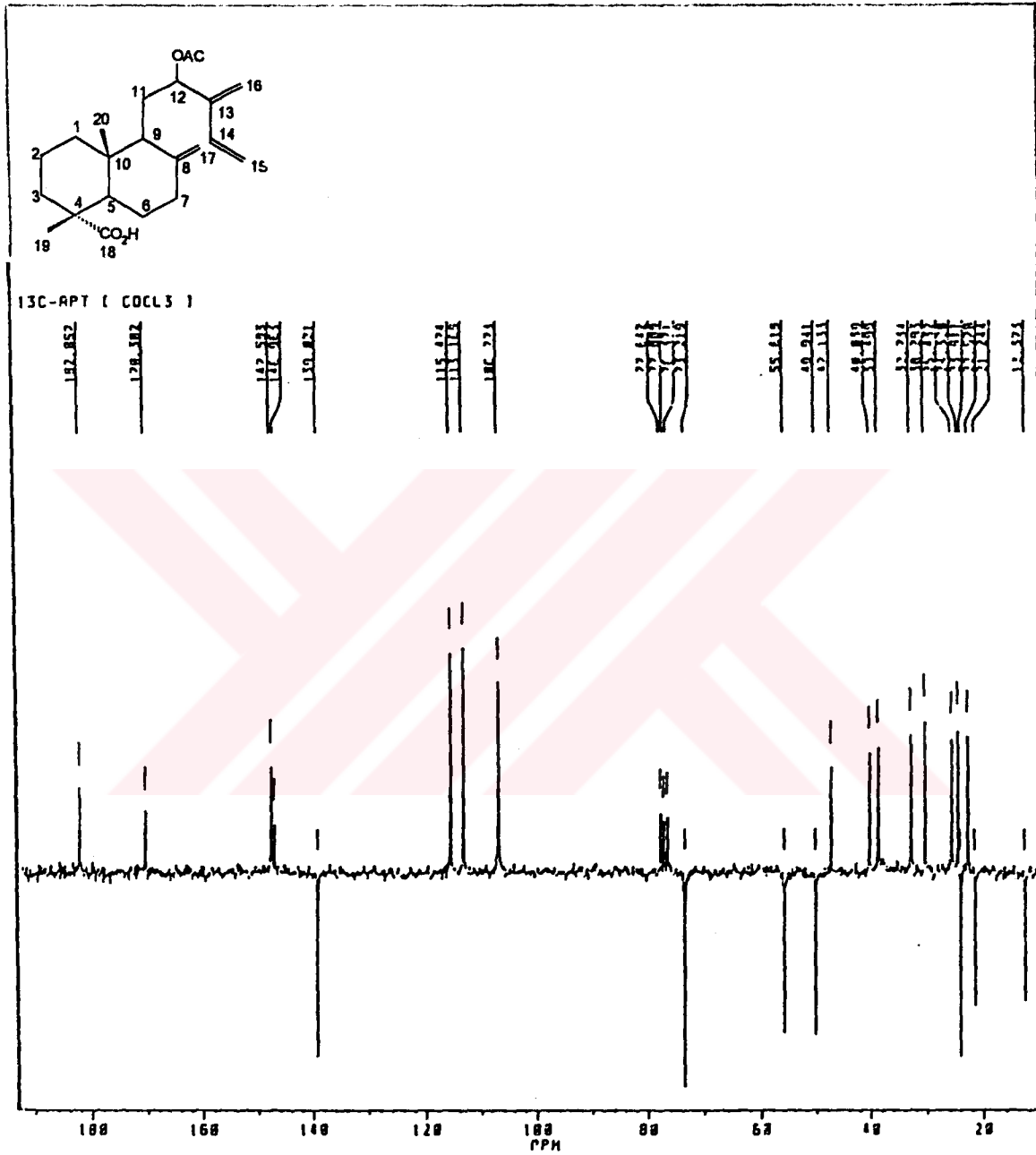
Şekil 14. Juniperikzelsik asit bileşiğinin Mass spektrumu



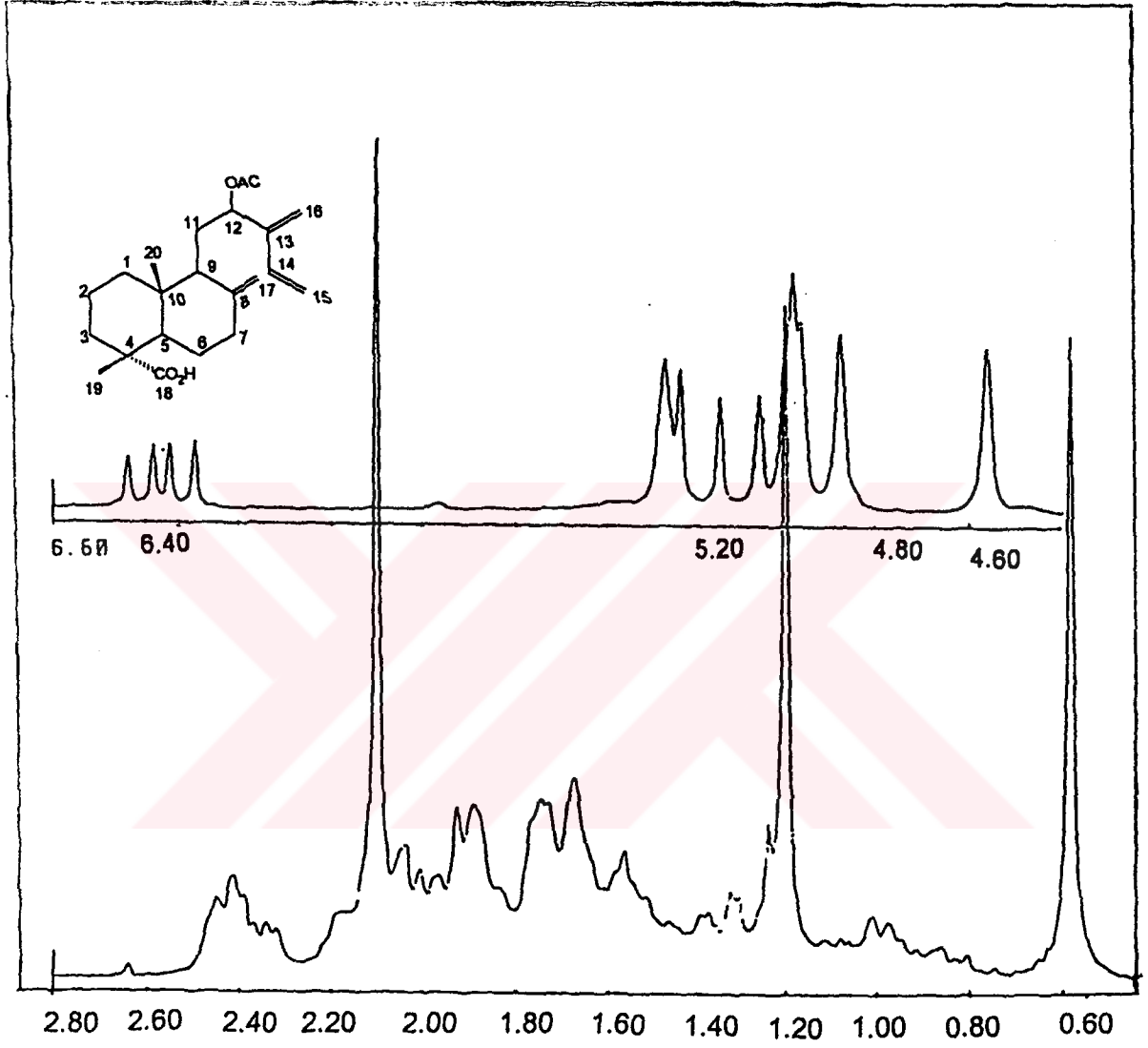
Şekil 15. Juniperikzelsik asit bileşiğinin UV spektrumu (MeOH)



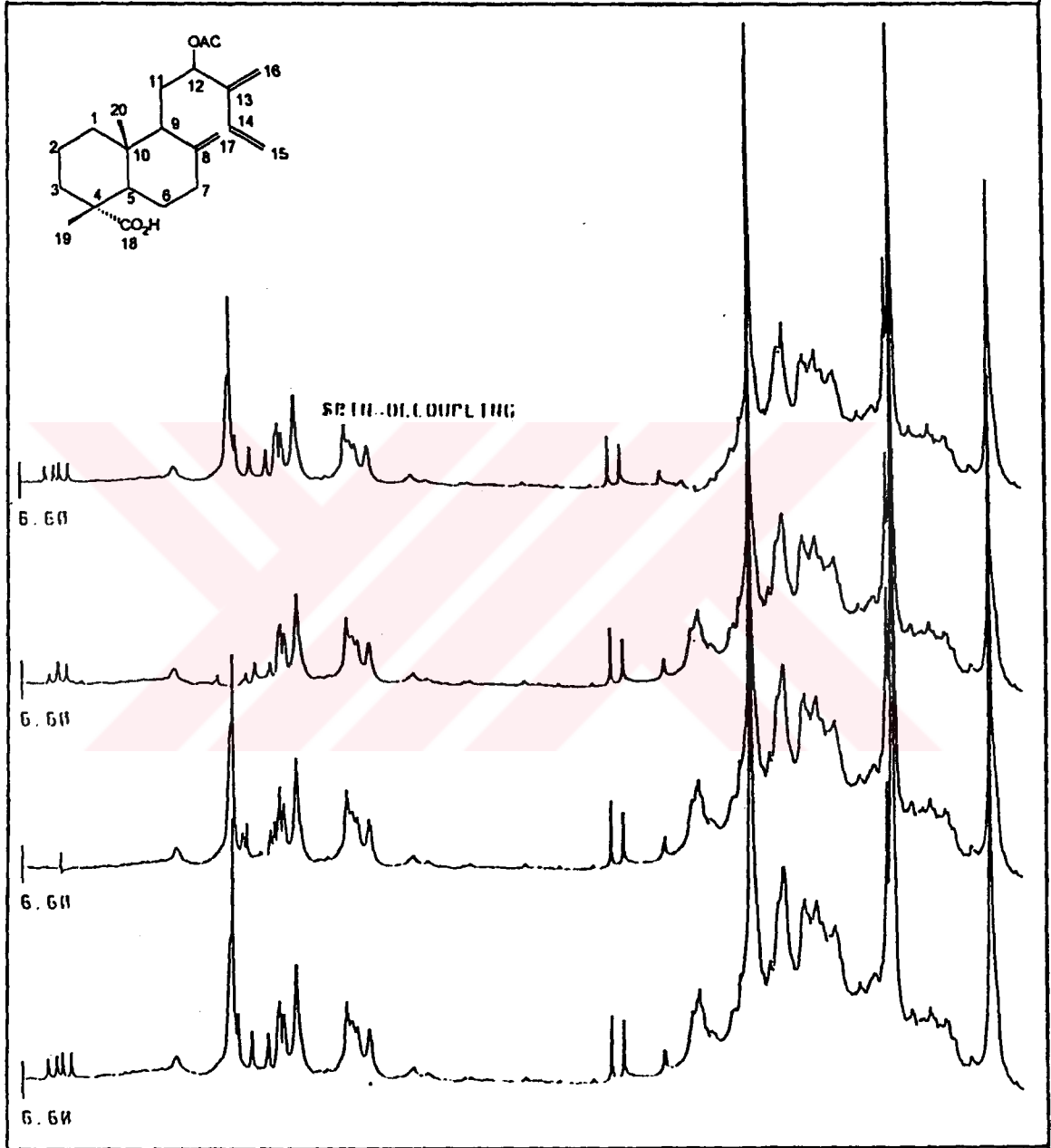
Şekil 16. Juniperekzelsik asit bileşiğinin IR spektrumu (CHCl_3)



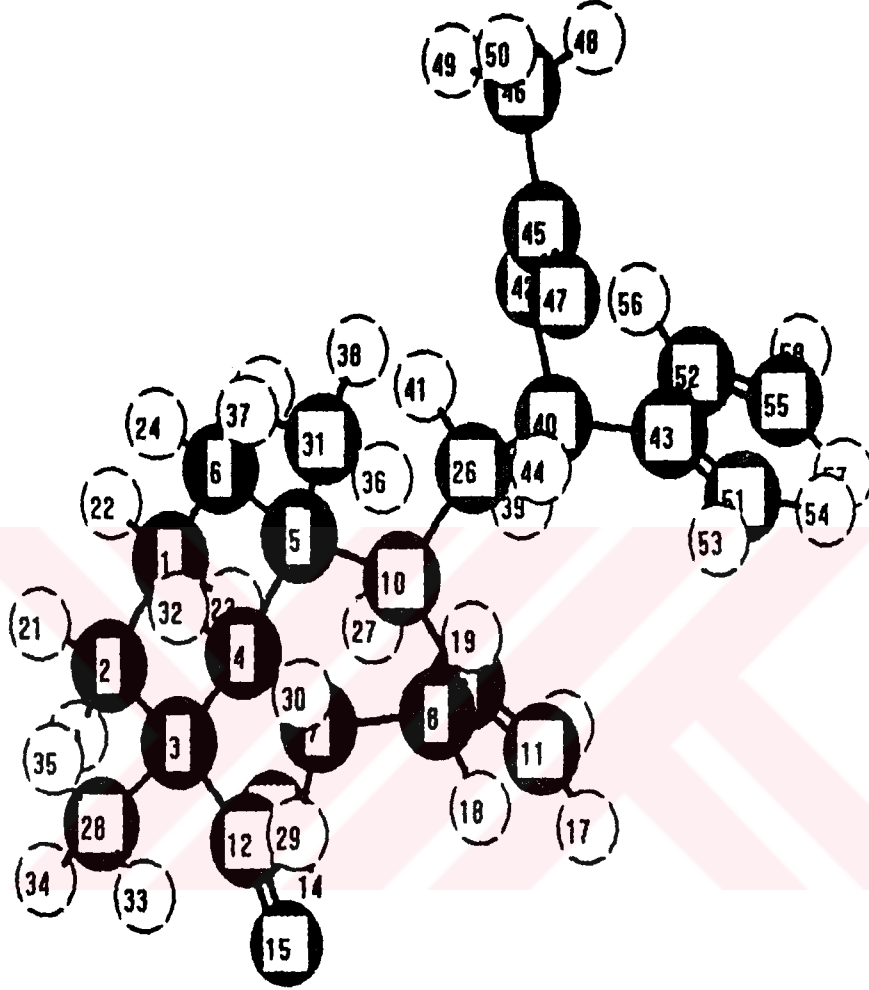
Şekil 17. Juniperikzelsik asit bileşiğinin ¹³C spektrumu (CDCl₃)



Şekil 18. Juniperikzelsik asit bileşiğinin 200 MHz ¹H NMR spektrumu (CDCl₃)



Şekil 19. Juniperekzelsik asit bileşiğinin spin- dekaplink deneyi



AM1 Metoduna göre Juniperekzelsik asidin konformasyonu ($E= 27.7$ kcal / mol)

Tablo 6. AM1 (Semiempirical method) Sonuçları

Oluşum ısı = -158.46820 kcal / mol, Simetri = C₁, İyonlaşma potansiyeli = 9.32482 eV, Dipol moment = 3.043 D, HOMO = -9.32482 eV, LUMO = 0.44869 eV, Molekül Kütlesi = 360.942 g /mol Dolu molekül orbital sayısı = 72

Tablo 6.1. Atom Yükleri

<u>Atom No</u>	<u>Atom</u>	<u>Yük</u>	<u>Atom no</u>	<u>Atom</u>	<u>Yük</u>
1	C	-0.1602	30	H	0.0798
2	C	-0.1430	31	C	-0.2160
3	C	-0.0257	32	H	0.0906
4	C	-0.0733	33	H	0.1011
5	C	-0.0269	34	H	0.0821
6	C	-0.1550	35	H	0.0830
7	C	-0.1596	36	H	0.0890
8	C	-0.1226	37	C	0.0701
9	C	-0.1004	38	H	0.0806
10	C	-0.0688	39	H	0.0950
11	C	-0.2256	40	C	0.0708
12	C	0.3174	41	H	0.1030
13	O	-0.3154	42	O	-0.2860
14	H	0.2397	43	C	-0.1085
15	O	-0.3686	44	H	0.1296
16	H	0.1112	45	C	0.3077
17	H	0.1163	46	C	-0.2194
18	H	0.0894	47	O	-0.3574
19	H	0.0904	48	H	0.1161
20	H	0.0907	49	H	0.1117
21	H	0.0837	50	H	0.1142
22	H	0.0800	51	C	-0.1779
23	H	0.1031	52	C	-0.1250
24	H	0.0781	53	H	0.1246

25	H	0.0842	54	H	0.1160
26	C	-0.1510	55	C	-0.2161
27	H	0.1085	56	H	0.1314
28	C	-0.21151	57	H	0.1118
29	H	0.1037	58	H	0.1129

Tablo 6.2. Atomlar Arası Uzaklık (Å)

<u>Bağ</u>	<u>Bağ Uzunluğu (Å)</u>	<u>Bağ</u>	<u>Bağ uzunluğu(Å)</u>
C1-C2	1.509	C10-H27	1.137
C2-C3	1.530	C6-H24	1.124
C3-C4	1.545	C6-H25	1.121
C4-C5	1.542	C5-C31	1.529
C5-C6	1.536	C31-H37	1.118
C7-C4	1.525	C31-H38	1.118
C7-C8	1.515	C-31H36	1.115
C8-C9	1.485	C10C26	1.528
C9-C10	1.499	C26-H41	1.122
C10-C5	1.538	C26-H39	1.124
C3-C28	1.537	C26-C40	1.531
C3-C12	1.514	C40-H44	1.127
C12-O15	1.236	C40-O42	1.449
C12-O13	1.365	O42-C45	1.366
O13-H14	0.972	C45-O47	1.233
C28-H35	1.116	C45-C46	1.491
C28-H34	1.117	C46-H49	1.117
C28-H33	1.116	C46-H48	1.118
C2-H21	1.123	C46-H50	1.117
C1-H22	1.123	C40-C43	1.509
C1-H23	1.122	C43-C52	1.456
C4-H32	1.135	C43-C51	1.340
C7-H30	1.124	C51-H53	1.098

C8-H18	1.125	C51-H54	1.098
C8-H19	1.125	C52-H56	1.106
C9-C11	1.339	C52-C55	1.334
C11-H17	1.097	C55-H58	1.098
C11-H16	1.097	C55-H57	1.098

Tablo 6.3. Bağ Açıları (Derece)

<u>Bağ</u>	<u>Bağ Açıı</u>	<u>Bağ</u>	<u>Bağ Açıı</u>
C3C2C1	113.863	H32C4C3	103.190
C4C3C2	111.505	H33C28C3	111.04
C5C4C3	116.689	H34C28C3	109.740
C6C2C1	110.905	H35C28C3	110.050
C7C4C3	112.270	H36C31C5	111.733
C8C7C4	116.682	H37C31C5	110.258
C9C8C7	113.673	H38C31C5	110.026
C10C5C4	111.695	H39C26C10	107.278
C11C9C8	121.152	C40C26C10	115.919
H17C11C9	122.383	H41C26C10	109.678
H16C11C9	122.383	O42C40C26	105.561
C12C3C2	111.153	C43C40C26	112.379
O15C12C3	127.965	H44C40C26	110.872
H14O13C12	109.256	C45O42C40	118.437
H18C8C7	108.289	C46C45O42	112.469
H19C8C7	110.063	O47C45O42	119.471
H20C2C1	109.328	H48C46C45	108.915
H21C2C1	109.008	H49C46C45	110.347
H22C1C2	108.953	H50C46C45	109.373
H23C1C2	109.956	C51C43C40	120.321
H24C6C1	108.636	C52C43C40	115.909
H25C6C1	109.338	H53C51C43	122.297

C26C10C5	114.710	H54C51C43	122.356
H27C10C5	105.176	C55C52C43	125.298
C28C3C2	106.643	H56C43C52	114.088
H29C7C4	109.357	H57C55C52	123.263
H30C7C4	108.020	H58C55C52	121.764
C31C5C4	107.542		

Tablo 6.4. Tetrahedral Açılar (Twist Angle, Derece)

Bağ	Bağ Derecesi	Bağ	Bağ Derecesi
C4C3C2C1	48.09	C3-C12	0.906
C8C7C4C3	111.320	C12-O15	1.793
O13C12C2C3	23.985	C12-O13	1.048
H17C11C9C8	0.051	O13-H14	0.909
H19C8C7C4	94.764	C28-H35	0.974
H21C2C1C6	65.645	C28-H34	0.975
H23C1C2C3	68.006	C28-H33	0.970
H27C10C5C4	76.694	C2-H20	0.965
C28C3C2C1	166.696	C2-H21	0.965
C31C5C4C3	160.750	C1-H22	0.965
H32C4C3C2	69.376	C1-H23	0.958
H33C28C3C2	170.722	C4-H32	0.957
H34C28C3C2	51.077	C7-H30	0.968
H36C31C5C4	64.239	C8-H18	0.964
C40C26C10C5	84.626	C8-H19	0.953
C43C40C26C10	119.323	C9-C11	1.930
C45C42C40C26	144.586	C11-H17	0.957
C46C45C42C40	176.210	C11-H16	0.958
H49C46C45O42	41.578	C10-H27	0.945
H50C46C45O42	162.579	C6-H24	0.966
C52C43C40C26	55.844	C6-H25	0.994
H54C51C43C40	179.795	C5-H31	0.979

H56C52C43C40	18.241	C31H37	0.975
H57C55C52C43	0.587	C31H38	0.972
C2-C1	0.990	C31H36	0.971
C3-C2	0.967	C10C26	0.968
C3-C4	0.947	C26H41	0.957
C4-C5	0.958	C26H39	0.962
C5-C6	0.967	C26C40	0.963
C7-C4	0.976	C40H44	0.939
C7-C8	0.982	C40O42	0.914
C8-C9	0.986	O42C45	1.797
C10-C5	0.958	C46H49	0.966
C3-C28	0.971	C46H48	0.959
C46H50	0.967	C45O42C40	118.437
C40C43	0.956	C46C45O42	112.469
C43C52	1.020	O47C45O42	119.471
C43C51	1.893	H48C46C45	108.915
C51H53	0.955	H49C46C45	110.347
C51H54	0.956	H50C46C45	109.373
C52H56	0.946	C51C43C40	120.321
C52C55	1.924	C52C43C40	115.909
C55H58	0.957	H53C51C43	122.297
C55H57	0.957	H54C51C43	122.356
H41C26C10	109.678	C55C52C43	125.298
O42C40C26	105.561	H56C43C52	114.088
C43C40C26	112.379	H57C55C52	123.263
H44C40C26	110.872	H58C55C52	121.764

3.7. Aktivite Testleri

3.7.1. Mycobacterium tuberculosis

Maddeler	MIC ($\mu\text{g/ml}$) değerleri
Hekzan ekstresi	15.5
Metanol ekstresi	17.03
Junipernanoik asit	14.4
Sandrakopimarik asit	15.06

3.7.2. Hekzan Ekstresinin Değişik Kanser Hücrelerine Karşı Yapılan İnvitro Sitotoksik Aktivite Testleri

<u>Hücre tipleri</u>	<u>Sonuçlar (mg/mL)</u>
BC1 (Human breast cancer) Göğüs kanseri	> 20
LU1 (Human lung cancer) Akciğer kanseri	> 20
COL2 (Human colon cancer) Bağırsak kanseri	5
KB (Human epidermoid carcinoma in the mouth)	
İnsan ağız epidermoid kanser hücresi	1.9
KB-V(+VLB) (Vinblastin resistant KB)	2.5
KB-V(-VLB)	2.5
P ₃₈₈ (Mouse epidermoid carcinoma) Fare epidermoid kanser hücresi	> 5
LNCaP (Hormone dependent human prostate cancer)	
Hormon bağımlı insan prostat kanser hücresi	1.3
ASK (Human astrocytoma) Merkezi sınır sisteminde gelişen tümör'e karşı	+

Yapılan aktivite testleri sonucunda, Hekzan ekstresinin BCL1, LU1, P₃₈₈, testlerine karşı aktif olmadığı ; COL2 testine karşı orta derecede aktif olduğu ; KB, KB-V(+VLB), KB-V(-VLB) ve ASK testlerine karşı oldukça aktif olduğu tespit edildi.

4. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Ülkemizde şıfa etkisi bilinen ve bu sebeple halk ilacı olarak yaygın kullanımı olan *Juniperus excelsa* (Yüksek Ardıç)'nın öğütölmüş meyvaları uygun çözücöülerle ekstraksiyona tabi tutulmuş ve ekstre kromatografik (kolon kromatofisi ve ince tabake kromatogrisi) metodlarla saf bileşikler halinde izole edilmiştir.

Bu çalışmada biri seskiterpen diğeri ise diterpen yapısında 6 adet molekül izole edilmiştir. İlk defa izolesi başarılı olan molekül 12 -asetoksi -, 8(17), 13(16), 14-trien -18- oik asit olup juniperekzelsik asit adı verilmiştir. Diğeri molekül ise herbiri kendi grubunda temel iskelet yapısına sahip terpenlerdir.

Bu çalışmaların büyük bir kısmı TÜBİTAK M.A.M. laboratuvarlarında gerçekleştirilmiş ve MS, ¹H NMR, ¹³C NMR, IR, UV, spektroskopik metodlar kullanılmıştır.

Ekstrenin antibakteriyel etkilerinin ortaya çıkarılması için Marmara Üniversitesi'nde gerçekleştirilen aktivite incelemelerinde, Hekzan ekstrelerinin, metanol ekstrelerinin, juniperekzelsik asidin, ve sandrakopimarik asidin, *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı oldukça aktivite gösterdiği gözlemlendi. ABD'de gerçekleştirilen *invitro aktivite* testleri sonucunda Hekzan ekstrelerinin, Göğüs kanser hücresine (BC1), Akciğer kanser hücresine (LU1), Fare epidermoid kanser hücresine (P₃₈₈) karşı aktivite göstermediği, Bağırsak kanser hücresine karşı (COL2) orta derece, İnsan ağız epidermoid kanser hücresine (KB), Hormon bağımlı insan prostat kanser hücresine (LNCaP), Merkezi sınır sisteminde gelişen tümöre karşı (ASK) yüksek aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, bu bitki meyvelerinin halk ilacı olarak kullanımında görölen etkinin bilimsel ve deneysel olarak ortaya çıkması bakımından son derece ilgi çekicidir.

İzole edilen moleküllerin az olmasından ötürü herbir molekül için bu testler yapılamadı. *Juniperus excelsa* bitkisinin yaprak, gövde ve kökleri ile yapılacak bir çalışmada daha fazla bileşik izole etmek ve aktivite testlerinde çok daha olumlu sonuçlar alınabileceği kanısı ağırlık kazanmaktadır.

MM2 (Hyper Chem) Moleküler mekanik Metodu ile moleküllerin en kararlı konformasyonları da belirlendi. Ayrıca AM1 (Semiempirical Method) metodu ile de juniperekzelsik asidin atom yükleri, atomlar arası uzaklık, bağ açıları, tetrahedral açılar detaylı olarak ortaya kondu.



KAYNAKLAR

- ADAMS, R.P., 1987.** Investigation of Juniperus species of the United States for New Sources of Cedarwood Oil. Economic Botany, 41(1): 48-54.
- AGRAWAL, O.P., BHARADWAJ, S., and MATHUR, R., 1980.** Antifertility Effects of fruits of Juniperus Communis. Planta Medica,98-101.
- AKIMOV, YU. A., NÍLOW,G.I., LITVINENKO, R. M., KUZNETSOV, S.I., CHIRKINA, N., KRITOVA, A.P., 1976.** EssentialOils of the Ancient Mediterranean Area. Composition, Proparties and Possible Uses, Tr. Nikitsk. Botan. Sad.,69-79.
- BANTHORPE, D.V., DAVIES, H.S., GATFORD,C., WILLIAMS,S.R., 1973.** Monoterpene Patterns in Juniperus and ThujaSpecies. Planta Med., 23,64.
- BAYTOP,A., ÖZOCAK, N., 1970.** İSTE Herbaryumundaki Türkiye Bitkileri İstanbul Üniv.Ecz.Fak. Mec.,6,73.
- BAYTOP, T.,1984.** Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, İstanbul Üniv. Ecz. Fak.,40,168.
- BENSON, L., 1965.** Plant Clasification, D.C. Heat and Company, Boston.
- BOOTH, A.B.,1957.** Examination of Savin Oil, Am. Perfumer Aromat.,69,45.
- BRUNO, S., 1961.** La Chromatografia in fase Vapore Nell'identificazona di Alcuni Oli Essenziali in Materilali Biologici, Farmaco (Pavia) Ed. Prat.,16,481.
- CHAU, P., and WU, C., 1987.** The Polar Constituents of Two Liwerwort Species Mastigophora diclados and M. Woodsii, Proc.Natl. Sci.Couc. ROC(A), 11(2), 124.

- DAVIS, P.H., 1965.** Flora of Turkey and East Aegean Islands, 1, 78. Edinburg.
- FANG, J.M., LEE, C.K. and CHENG, Y.S., 1992.** Lignans From Leaves of *Juniperus Chinensis*. *Phytochemistry*, 31, 3659.
- FELICIANO, A.S., MEDARDE, M., LOPEZ, J.L., PUEBLA, P., JOSE, M., BARRERO, A.F., 1989.** Lignans from *Juniperus Thurifera*. *Phytochemistry*, 28, 2863.
- FELICIANO, A.S., GORDALIZA, M., MIGUEL DEL CORRAL, J.M., CASTRO, M.A., GARCIA, M.D., LAZARO, P.R., 1992.** Antineoplastic and Antiviral Activities of Some Cylolignans. *Planta Med.* 59(3) : 246-249.
- FRETZ, T.A., SYNDOR, T.D., COBS, M.R., 1976.** Monoterpene Composition of Foliage of 9 *Juniperus* Species *Sci. Hortic.* 5, 85. Amsterdam.
- GÜLEN, N., 1958.** *Juniperus Nana* Willd. Bitkisi Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Doktora Tezi, İstanbul.
- HÖRSTER, H., 1973.** Variabilität der Öle Von *Juniperus Communis* 1. Die Zusammensetzung der Öle Verschieden Alter Blätter, *Planta Med.*, 23, 353.
- IDEM., 1973.** Variabilität der Öle Von *Juniperus Communis* II. Die Zusammensetzung der Öle Reifer und Unreifer Früchte, *Ibit.*, 25-73.
- JANKOV, L.K., TZUTZULOVA, A.M., STOJANOVA-IVANOVA, B., NIKOLOV, C., 1969.** On the Composition of Essential Oils from Concrates of the Needles of some Coniferous Trees, Grown in Bulgaria, *Riv. Ital. Eppos*, 51, 571.
- KAPAHİ, B.K., YU, M.T., 1993.** A new Lignan, Formasalactone, from the Bark of *Juniperus Formasana* Hay. Var. *Concolor* Hay. *Heterocycles*, 36(3), :529-535.
- PAMAY, B., 1981.** Bitki Materyalleri I., 58-61.

- PAMUK, A., 1991.** Şifalı Bitkiler Ansiklödbedisi.Pamuk Yayınları.
- SETHI, M.L., TANEJA, S.C., DHAR, K.L., ATAL, C.K., 1983.** Three Isoflavone Glycosides from *Juniperus Macropoda*, *Phytochemistry*, 22(1): 289-292.
- TALVAR, Y.P., SAHVER, R.K., HANDA, K.L., RAO, P.R., 1973.** Atherisches Öl aus den Nadeln Von *Juniperus Macropoda*, *Riechst., Aromen, Koeperpflegem*, 23, 146.
- TAN, N., 1992.** *Salvia Candidissima* Vahl Subsp. *Occidentalis* Hedge Köklerinde Bulunan Diterpenoid Bileşiklerin Yapı Tayını. I Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, İstanbul.
- TANKER, M., TANKER, N., 1990.** Farmakoknozi, A.Ü. Eczacılık Fakültesi Yayınları:65, Ders Kitabı: 394-398, Ankara.
- TERESA, D.P. FELICIANO, A.S., CORRAL, J.M., LOPEZ, J.L., 1992.** 8-Hydroxy-Labdanes from *Juniperus Thurifera*. *Phytochemistry*, 31(5): 1713-1717.
- TERESA, D.P. FELICIANO, A.S., CORRAL, J.M., 1974.** Componentes de los frutos de *juniperus oxycedrus* L. *An. Quim*, 70, 1015-1019.
- VELJKOVIC, V.B., LAZIK, M.L., RUTIC, D.J., STANKOVIC, M.Z., 1988.** Inhibitory Effects of Juniper Berry Oils on Ethanol Fermentation of Juniper berries. *Enzyme Microb. Technol*, 10, 440-441.
- VERNIN, G., METZGER, J., SOUN, K.N., FRAISSA, D., GHIGLIONE, C., HAMOUD, A., PARKANYI, C., 1990.** CG-MS (EI-PCI) Data Bank Analysis of Sesquiterpenic Compounds in Juniper Needle Oil- Application of the Mass Fragmentometry SIM Technique. Academic Press Limited, 25-33. New York

VON R.E., SOOD, V.K., 1969. Gas-Liquid Chromotography of Terpenes, XVIII. The Volatile Oil of Juniperus Communis, Can.J. Chem., 47,2081.

WENKERT, E., BUCKWALTER, B.L., 1972. Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Naturally Occurring Substance. X. Pimaradienes, J. Am. Chem. Soc.,94(12): 4367-4369.



ÖZGEÇMİŞ

1969 yılında Rize'nin Çayeli ilçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini burada tamamladı. Lise tahsilini İstanbul Beylerbeyi Lisesi'nde tamamladı. 1987 yılında Ortadoğu Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü kazandı ve 92 yılında mezun oldu. 2 yıl lise öğretmenliğinden sonra Gaziosmanpaşa Üniversitesi'nde öğretim görevlisi olarak göreve başladı ve halen aynı birimde görev yapmaktadır. Evli ve askerlik görevini tamamlamıştır.

