

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

SİDERİTİS STRICTA BOİSS. & HELDR BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Asuman KÖSEDAĞ

169052

Balıkesir, Ekim – 2005

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

SİDERİTİS STRICTA BOİSS & HELDR BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Asuman KÖSEDAĞ

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Turgut KILIÇ

Sınav Tarihi : 21.10.2005

Jüri Üyeleri : Doç. Dr. Ahmet Ceyhan GÖREN (TÜBİTAK)

Yrd. Doç. Dr. Turgut KILIÇ (Danışman) (BAÜ)

Yrd. Doç. Dr. Halil İbrahim UĞRAŞ (BAÜ)



Balıkesir, Ekim, 2005

ÖZ

***SIDERİTİS STRICTA BOİSS. & HELDR* BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZİ**

Asuman KÖSEDAĞ

Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

(Yüksek Lisans Tezi/ Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Turgut KILIÇ)

Balıkesir, 2005

Ülkemizdeki bitki örtüsü incelendiğinde endemik türler bakımından oldukça zengin bir yapıya sahip olduğu görülmektedir (endemizm oranı %30). Türkiye de yetişen bütün *Sideritis* türleri halk arasında bazı hastalıkların tedavisinde (soğuk algınlığında , tansiyon düşürmede, şeker hastalığında ve mide ağrılarında) çay olarak kullanılmaktadır. Dünyada yapılan araştırmalar incelendiğinde bu türlerin antibakteriyel, antifungal, antikanserojen gibi aktivitelere sahip oldukları tespit edilmiştir. Halk arasında ilaç olarak kullanılan bu türlerin kimyasal bileşenlerinin araştırılması ve bu bileşenlerin biyolojik aktivitelerinin incelenmesi gerekmektedir.

Ülkemizde bu türlerin uçucu bileşenleri ile ilgili çalışmalar yapılmış olmasına rağmen, uçucu olmayan bileşenleri ile ilgili çalışma sayısı oldukça azdır. Bu çalışmada *Sideritis stricta* bitkisinin diterpen bileşiklerinin izolasyonu ve yapılarının tayini ile biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan çalışmada *Sideritis stricta* bitkisinden çeşitli kromatografik yöntemlerle beş tane bilinen diterpen bileşiği elde edilmiştir. Elde edilen maddelerin yapı tayinleri; IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve kütle spektroskopisinden yararlanılarak belirlenmiştir. Elde edilen maddelerin yapıları; B1: Linearol (*ent*-3 β ,7 α -dihidroksi,18-asetoksi-kaur-16-ene), B2: *Ent*-7 α ,15 β ,18 β ,trihidroksikaur-16-en, B3: 7-Asetil Sideroxol (*ent*-7 α -asetoksi -18-hidroksi-15 β ,16 β epksikauran), B4: Sideroxol(*ent*-7 α -18-dihidroksi-

15 β ,16 β epksikauran), B5: Athanolone(*ent-7 α -17,18-trihidroksi-9,(11)-en-12-on*) olarak belirlendi.

Sideritis stricta bitkisinin aseton ve metanol ekstresi ile Fraksiyon 1-7 arası ve saf maddelerden linearol mikroorganizmalara karşı test edildi.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: *Sideritis stricta* / *Labiatae* / *diterpen*



ABSTRACT

PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF *SDERİTİS STRICTA* BOİSS. & HELDR

Asuman KÖSEDAĞ

Balikesir University, Institute of Science Department of Chemistry

(Master Degree Thesis / Supervisor: Assist. Prof. Dr. Turgut KILIÇ)

Balikesir, 2005

When the plant cover of Turkey were examined, it has been determined that 78% of these species are endemic from the recent studies done with 47 *Sideritis* species. In our country and europe, they have been used as a tea antidiabetic, antihypertansion and stomach aches. Although the essential oils of these species are studied widely, the diterpen activities are only studied by few authors [1-5]. When examining the world wide studies on these species, their antibacterial, antifungal and anticarsinogenic activities can easily be identified [6, 9-10]. Having high endemic richnes relative to the rest of the world, it is important economically and scientifically to study the chemical compounds of Turkish species.

Although the studies related with volatile compounds of *Sideritis* species are rich in the literature, non-volatile compounds of these species are not studied well and there are few studies in the literature. Hence, diterpene compounds of *Sideritis stricta* plant were aimed to isolate, characterize and determine their biological activity in this work. Five diterpene compounds were separated by using various chromatographic tehniques. The structural determination of obtained compounds were done by using IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ and mass spectroscopy. From the spectroscopic results, these compounds are B1: Linearol (*ent-3 β ,7 α -dihidroksi,18-asetoksi-kaur-16-ene*), B2: *Ent-7 α ,15 β ,18 β ,trihidroksikaur-16-en*, B3: 7-Asetil Sideroxol (*ent-7 α -asetoksi -18-hidroksi-15 β ,16 β epksikauran*), B4: Sideroxol(*ent-7 α -18-dihidroksi-15 β ,16 β epksikauran*), B5: Athanolone(*ent-7 α -17,18-trihidroksi-9,(11)-en-12-on*).

The TLC fractions of *Sideritis stricta* plants between 1 and 7 in methanol and acetone, and pure linearole were tested against to microorganisms to determine their biological activities.

Keywords: *Sideritis*, diterpene, biological activity



İÇİNDEKİLER	Adı	Sayfa No
ÖZ		iii
ABSTRACT		v
İÇİNDEKİLER		vii
ŞEKİL LİSTESİ		ix
ÇİZELGE LİSTESİ		x
SEMBOL LİSTESİ		xi
ÖNSÖZ		xii
GİRİŞ		1
1.1	BİTKİLERİN ÖZELLİKLERİ	2
1.1.1.	Labiata (Lamiaceae) Familyası	2
1.1.2.	<i>Sideritis</i> Cinsi	2
1.1.3.	<i>Sideritis stricta</i> Boiss & Heldr.	3
1.2.	<i>Sideritis</i> Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı	3
1.3.	Terpenler	5
1.3.1.	Terpenlerin Sınıflandırılması ve Biyosentezi	7
1.3.1.1.	İzopentil pirofosfatın Oluşumu	8
1.4	Terpenlerin Sınıflandırılması	11
1.4.1	Monoterpenler	11
1.4.2	Seskiterpenler	12
1.4.3	Diterpenler	13
1.4.3.1	Asiklik Diterpenler	17
1.4.3.2	Monosiklik Diterpenler	17
1.4.3.3	Bisiklik Diterpenler	18
1.4.3.4	Trisiklik Diterpenler	18
1.4.3.5	Tetrasiklik Diterpenler	18
1.4.3.5.1	Kaurenler	19
1.4.4	Triterpenler	21
1.4.4.1	Tetrasiklik Triterpenler	22
1.4.4.2	Pentasiklik Triterpenler	23
2.	DENEYSEL BÖLÜM	24

2.1.	Materyal	24
2.1.1.	Bitkisel Materyal	24
2.1.2.	Kimyasal Materyal	24
2.2.	Yöntem	24
2.2.1.	Ekstraksiyon	25
2.2.2.	Kromotografi	25
2.2.2.1.	Kolon Kromotografisi	25
2.2.2.2.	İnce Tabaka Kromotografisi	26
2.2.2.3.	Preparatif İnce Tabaka Kromotografisi	26
2.3.	Spekroskopik Yöntemler	26
2.3.1.	NMR Spektroskopisi	26
2.3.2.	Kütle Spektroskopisi	26
2.4.	Kullanılan Belirteçler	27
2.4.1.	Serik Sülfat Çözeltisinin Hazırlanması	27
2.5.	Biyolojik Aktivite	27
2.6.	Bulgular	27
2.6.1.	Biyolojik Aktivite Çalışmaları	27
2.6.2.	<i>Sideritis stricta</i> ' dan Elde Edilen Bileşikler	29
2.6.2.1	Linearol	34
2.6.2.3.	<i>Ent-7α,15β,18-trihidroksi kaur-16-en</i>	37
2.6.2.4.	<i>Ent-7α-asetoksi,18-hidroksi 15β,16β- epoksikauran</i>	39
2.6.2.5.	<i>Ent-7α,18-dihidroksi 15β,16β- epoksikauran</i>	45
2.6.2.6	<i>Ent-7α-17,18-trihidroksi-9,(11)-en-12-on</i>	49
3.	SONUÇ ve TARTIŞMA	51
	LİTERATÜRLER	54

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil Numarası	Adı	Sayfa
Şekil 1.1	İsopentil Pirofosfatın Biyosentezi	10
Şekil 1.2	Diterpenlerin Biyosentezi için önerilen mekanizmalar	15
Şekil 1.3	Labdan, pimarın, abiatan, kauren ve beyeren diterpenlerin numaralandırılması	16
Şekil 1.4	Bazı Tetrasiklik Diterpenler	19
Şekil 1.5	Kauren ve <i>ent</i> -kauren İskeletleri	20
Şekil 1.6	Linearol'ün <i>ent</i> -kauren ve kauren gösterilişi	20
Şekil 2.1	Linearol Bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu (CDCl ₃)	35
Şekil 2.2	Linearol Bileşiğinin ¹³ C NMR Spektrumu (CDCl ₃)	36
Şekil.2.3	Ent-7 α -15 β ,18 trihidroksi kaur-16-en Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	38
Şekil.2.4	7-asetoksi Sideroxol Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrumu	40
Şekil 2.5	7-asetoksi Sideroxol Bileşiğinin ¹³ C NMR Spektrumu	41
Şekil 2.6	7-asetoksi Sideroxol Bileşiğinin HMQC Spektrumu	42
Şekil 2.7	7-asetoksi Sideroxol Bileşiğinin HMBC Spektrumu	43
Şekil 2.8	7-asetoksi Sideroxol Bileşiğinin COSY Spektrumu	44
Şekil 2.9	Ent-7 α -18 dihidroksi, 15 β ,16 β - epoksikauran Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrumu	46
Şekil.2.10	Ent-7 α -18 dihidroksi, 15 β ,16 β - epoksikauran Bileşiğinin EI/MS Spektrumu	47
Şekil.2.11	Ent-7 α -18 dihidroksi, 15 β ,16 β - epoksikauran Bileşiğinin X-ray Spektrumu	48
Şekil.2. 12	<i>Ent</i> -7 α -17,18-trihidroksi-9,(11)-en-12-on Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	50

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge Numarası	Adı	Sayfa
Çizelge 1.1	Halk arasında kullanılan <i>Sideritis</i> türlerinin mahalli adları	4
Çizelge 1.2	Terpenlerin Sınıflandırılması	7
Çizelge 3.1	<i>Sideritis stricta</i> ' dan Elde Edilen Bileşiklerin formülleri	52
Çizelge 3.2	Antimikrobiyal Aktivite Testleri Sonuçları	53



SEMBOL LİSTESİ

Simge	Adı	Tanım Değeri	Birimi
α	Alfa	-	-
β	Beta	-	-
ppm	Ppm	1×10^{-6}	
m/z	kütle / elektron	-	g
Hz	Hertz	
μ	Mikro	$\mu = 1 \times 10^{-9}$	-
t	Triplet		
s	Singlet		
d	Dublet		
m	Multiplet		

ÖNSÖZ

TUBİTAK Temel Bilimler Araştırma Grubu tarafından desteklenen ve Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından uygun görülen bu Yüksek Lisans çalışmasıyla Türkiye’de yetişen ve halk arasında bitkisel ilaç olarak kullanılan *Sideritis stricta* bitkisinin kimyasal bileşenler açısından incelemesi amaçlanmış ve bu doğrultuda çalışmalarımızı tamamlamanın mutluluğu içerisindeyim.

Bu çalışma süresince bana her türlü desteği sağlayan ve değerli bilgilerini benimle paylaşan saygıdeğer hocalarım Yard. Doç. Dr. Turgut KILIÇ ve Prof. Dr. Gülendım TÜMEN’ e teşekkürlerimi sunarım.

Maddi manevi desteklerini esirgemeyen beni bu günlere getiren babam SALİH KÖSEDAĞ ve annem GÜLDANE KÖSEDAĞ ‘a ayrıca çok değerli eşim BEKİR ŞAMİL DOLU ‘ya sonsuz teşekkürler...

Asuman KÖSEDAĞ
Balıkesir,2005

1. GİRİŞ

Türkiye’de, son yapılan çalışmalarla tür sayısı 47’ye ulaşan *Sideritis* cinsinin %78’i endemiktir. Bu türler anti-inflammatory, antirheumatic, digestive ve antimikrobiyal aktivite özelliklerinden dolayı ülkemizde ve avrupa da bazı hastalıkların tedavisinde çay olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde bu türlerin uçucu bileşenleri ile ilgili çalışmalar yapılmış olmasına rağmen çok önemli aktiviteye sahip olan terpen bileşenleri açısından yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır [1-5]. Dünyada yapılan araştırmalar incelendiğinde bu türlerin antibakteriyel, antifungal, antikanserojen, insecticidal activite gibi aktivitelere sahip oldukları tespit edilmiştir[6,9-10].

Labiata (Lamiaceae) familyası, başta Akdeniz havzası olmak üzere yeryüzünün bütün bölgelerinde yayılmış, yaklaşık 170-250 cins ve 3000-3500 tür ile temsil edilmektedir [11-13]. *Sideritis* (Labiata) türlerinin gerek Türkiye gerekse Avrupa folklorik tıbbında ağrı kesici, antiromatizmal, sindirim kolaylaştırıcı, antimikrobial ve ağrı kesici etki gösterdikleri belirlenmiştir [14]. Bu etkilerinden dolayı Anadolu’da bu tür yaygın olarak bitkisel çay olarak tüketilmektedir. Son 3 yılda belirlenen 7 tür ile birlikte Türkiye florasındaki *Sideritis* türlerinin sayısı 10 alt türü ve iki varyetesi ile 46 ya ulaşmıştır. Bunlardan 34 türü, 4 alt türü ve 2 varyetesi endemiktir [15,16]. *Sideritis* türlerinin morfolojik ve anatomik araştırmaları üzerinde yurdumuzda çeşitli çalışmalar yapılmıştır [17 -19]. Son yıllarda Türkiye’de bazı *Sideritis* türlerinin sulu ekstreleri üzerinde yapılan çalışmalar, bu türlerin farelerde sinir sistemi stimulanı ve antistres aktivitesine sahip olduklarını göstermiştir [20 -22].

Türkiye’de *Sideritis* türlerinin uçucu bileşenlerinin aydınlatılması amacıyla pek çok çalışma yapılmış olmasına rağmen [23 -25], uçucu olmayan bileşenlerin aydınlatılması için yapılan çalışmalar azdır [26 -28]. Diğer taraftan *Sideritis* türlerinin diterpenlerinin morfolojik, anatomik ve aktivite araştırmaları üzerinde yapılan çalışmalar da son yıllarda ivme kazanmıştır [29].

Bu çalışmanın amacı Türkiye için endemik bir bitki olan ve halk arasında “Dağ Çayı” veya “Eşek Çayı” olarak bilinen *Sideritis stricta* Boiss. et Heldr. bitkisini diterpen bileşikleri bakımından incelemek ve yapılarının tayini ile biyolojik aktivitelerinin belirlenmesidir.

Çalışmalar bu yönde yürütülmüş ve bitkiden çeşitli kromatografik yöntemlerle elde edilen bileşiklerin bazılarının aktivite incelemeleri bu amaç doğrultusunda yapılmıştır.

1.1 Bitkinin Özellikleri

1.1.1 Labiatae (Lamiaceae) Familyası

Angiospermlilerin en önemli familyalarından birisi olan Labiatae, adaçayı, kekik, nane gibi birçok faydalı bitkileri içine alan yaklaşık 200 cins ve 3000 türle temsil edilen geniş bir ailedir. Labiatae familyası dünyanın birkaç bölgesinin dışında tüm habitat ve yüksekliklerde yetişmekte olup, Kuzey Kutbu'ndan Himalayalar'a kadar, Güneydoğu Asya'dan Hawai'ye kadar, ayrıca Avustralya'da, tüm Afrika'da ve Amerika'nın kuzeyi ve güneyi boyunca yayılış göstermektedir[30].

Güneybatı Asya'da, Yunanistan dışında Labiatae (Lamiaceae) familyasının yaklaşık 66 cins ve 1100 türü bulunmaktadır. Bu rakam dünya toplamının 1/3'üne karşılık gelir. Familyanın bölgedeki endemizm oranı % 70 in üzerindedir. Güneybatı Asya'da yetişen 66 cinsin 9'u Yeni Dünya'da (Amerika ve Avustralya kıtaları) bulunmaktadır. Bunlardan *Scutellaria* ve *Teucrium* en yaygın örnekleri oluşturmaktadır[30].

Ülkemizde ise bu familyanın 45 cinsi, 546 türü ve 730 taksonu var olup, bunlar kayıtlıdır. Bunlardan 28 tür yaygın, 2470 tür endemik olup endemizm oranı % 42.2'dir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, yeni ilavelerle ise sayısı 558'e takson sayısı ise 742'ye çıkmıştır[30].

Tıbbi ve aromatik bitkiler bakımından Akdeniz ve Ege bölgesi çok zengindir. Özellikle *Micromeria*, *Origanum*, *Salvia*, *Sideritis*, *Thymus* ve *Thymbra* bu bölgelerde yetişen aromatik Labiatae üyeleri deniz seviyesinden 4400 m'ye kadar çeşitli yüksekliklerde tespit edilmiştir.

1.1.2. *Sideritis* cinsi

Sideritisler; tek ya da çok yıllık otlar veya küçük çalılar yapısında olan, gövdeleri dik ve yükseltici, dört köşe, pilos ya da tomentos tüylü nadiren tüysüz, salgı bezli ya da salgı bezine sahip olmayan, yapraklar basit parçalı, kenarları tam ya da krenat – dentat, saplı ve ya sapsız cinslerdir. Vertasillastrum (4-) 6 (-10) çiçekli, seyrek ya da yoğun dizilişli. Brakteoller eksik. Brakteler yaprağa benzer, geniş kaliks tübünü saklayıcı, kaliks tubular – çan şekilli bazen bilabiata, 5 – 10 damarlı, 5 dikensi dişli, dişler eşit ya da üstteki alttaki dört dişten daha geniş, korolla genellikle sarı, bazen beyaz ya da kırmızı. Korolla tübü kaliks içinde, bilabiata,

üst dudak hemen hemen dik, tam ya da iki parçalı (trifit) ortadaki daha geniş ve daha derin, stamenler 4 didinam, korolla tübü içinde, alt stamenler üst stamenlerden daha uzundur. Anterler 2 gözlü ve çoğunlukla şekli bozulmuştur. Stilus korolla tübü içinde, silindirik, ginobazik bifit, üst lob uçta küt, alt lob geniş ve üst lobu sarar. Ovaryum üst durumlu 4 gözlü nuks ovat tepede küt yuvarlak ve tüsüzdür [31].

Sideritis cinsinin Türkiye’de rastlanan bölümleri için tayin anahtarı;

1) Bitkiler tek yıllık. Brakteler az çok tam, yaprak gibi. Kaliks az çok 2 dudaklı, üst dış alttaki dört dişten daha geniş ve daha büyük. Sect. Hesiodia Bentham.

2) Tabanda odunsu çok yıllık otlar. Brakteler tam (nadiren en aşağıda serulat. *S. congesta*), sarıcı, yaprak gibi değil. Kaliks hemen hemen eşit dişli. Sect. Empedoclia (Rafin.) Bentham [31].

1.1.2 *Sideritis stricta* Boiss & Heldr.

Çok yıllık, gövde 55-65 cm boyunda, basit dallanmış, sarımsı veya sarımsı yeşil gövdenin tüyleri basık, gövdenin üst kısmında ise dağınık örtü tüyleri var. Gövdenin alt kısmında bulunan yapraklar beyaz-ipeksi basık tüylü, ortadaki yapraklar yeşil, pilos tüylü, yoğun bir şekilde retikulum damarlı, yaprak şekli linear-lanseolattan, lamseolata kadar, yaprak ucu akut (sivri) veya muronat(tepesivri), kenarlar küçük dişli sapsız, 3-5 X 0.5-1 cm boyutlarında. Vertisillatlar 10-18 tane, en altta bulunanlar diğerlerinden 1-3 cm uzaklıkta, orta ve üsttekileri sık ve yoğun dizilmiş, Ortadaki brakteler orbikulattan-kordata kadar değişen şekillerde bazen reniform(böbreksi), 1-1.5 X 1-2 cm, uçları sarı akumen(iğnemi) üzeri pilosdan tüsüze kadar değişik tüylenme tipinde, kenarları siliat tüylü 2-3 mm, kaliks 10-11 mm boyunda, diş linear-lanseolate 3-4.5 mm, orta tüylü, korolla sarı 12-15 mm boyutlarında, tüylü ve korolla boğazından kahverengi çizgili. Çiçeklenme zamanı 5-8. aylar, Meşe makaleirnde deniz kenarlarındaki kayalıklarda 915 m yükseklikte yeğirir. [31].

1.2 *Sideritis* Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı

Sideritis türleri hoş aromalarından dolayı Türkiye’de yaygın şekilde bitki çayı olarak kullanılmaktadır[32]. Halk tıbbında *Sideritis* türlerinin sinir sistemi uyarıcısı, yatıştırıcısı, antitusif, sindirim sistemi düzenleyici ve antienflamatuar etkileri olduğu bilinmektedir[33-34]. Son çalışmalar Türkiye’deki beş *Sideritis* türünün sulu ekstraktlarının farelerde sinir sistemi uyarıcısı veya anti-stress aktiviteleri olduğunu göstermiştir[35]. Bazı *Sideritis* türlerinin

antienflamatuar etkileri olduğu ve romatizma tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Yine bazı *Sideritis* türlerinin antibakteryel etki gösterdiği, *S. mugronensis*'in ise arteriyel kan basıncını düşürdüğü ve otonom sinir sistemi üzerinde etkileri olduğu bildirilmiştir. Ayrıca *S. congesta* ve *S. arguta*'nın antispazmotik etkileri olduğu açıklanmıştır [36].

Sideritis stricta Boiss. et Heldr. Antalya civarında yetişen, Türkiye için endemik olan bir bitkidir[32].

Diğer *Sideritis* türlerinin yetiştikleri bölgeler ve kullanıldıkları bölgelerde verilen isimler Çizelge 1.1'de görülmektedir [17].

Çizelge 1.1 Sideritis Türlerinin Halk Arasında Kullanılan Yöresel Adları [7]

TÜRLER	KULLANILDIĞI BÖLGE	MAHALLİ ADI
<i>S. congesta</i>	Antalya, Alanya	Yayla çayı, Dağ çayı
<i>S. condensata</i>	Antalya, Isparta	Dağ çayı, Eşek çayı
<i>S. arguta</i>	Antalya, Gündoğmuş	Yayla çayı, Dağ çayı
<i>S. argyrea</i>	Antalya, Gündoğmuş	Eşek çayı
<i>S. perfoliata</i>	Antalya, Alanya	Dağ çayı
<i>S. perfoliata</i>	Balıkesir, Bergama	Kandil çayı
<i>S. libanotica</i> ssp. <i>libanotica</i>	Hatay, İskenderun	Dağ çayı, Ada çayı
<i>S. libanotica</i> ssp. <i>linearis</i>	Muğla	Bozlan çayı
<i>S. libanotica</i> ssp. <i>linearis</i>	Konya	Altınbaş, Acem arpası
<i>S. libanotica</i> ssp. <i>linearis</i>	Afyon	Düğümlü çay
<i>S. libanotica</i> ssp. <i>curdica</i>	Maraş	Dağ çayı
<i>S. syriaca</i> ssp. <i>nusariensis</i>	Mersin, Anamur	Boz kekik
<i>S. syriaca</i> ssp. <i>violascens</i>	Antalya, Alanya	Topuklu çay
<i>S. athoa</i>	Balıkesir, Kazdağı	Kedikuyruğu çayı
<i>S. dichotoma</i>	Balıkesir, Kazdağı	Sarıköz çayı
<i>S. trojana</i>	Çanakkale, Bayramiç	Kazdağı çayı
<i>S. tmolea</i>	İzmir, Ödemiş	Sivri çay
<i>S. amasiaca</i>	Çorum	Dağ çayı
<i>S. germanicopolitana</i>	Amasya	Tosbağa çayı
<i>S. sipylea</i>	İzmir, Ödemiş	Sivri çay
<i>S. hispida</i>	Kayseri	Dağ çayı
<i>S. albiflora</i>	Muğla	Dağ çayı
<i>S. Lycia</i>	Antalya, Burdur	Dağ çayı
<i>S. scardica</i> ssp. <i>scardica</i>	Kırklareli	Dağ çayı

1.3 TERPENLER

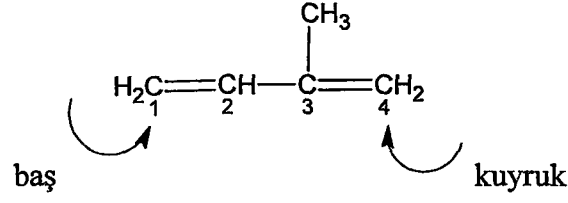
İnsanlar, geçmişten bu güne, bitkilerden organik bileşikler elde etmektedirler. Belirli bir bitki malzemesi yavaşça ısıtıldığında ya da buhar destilasyonuna tabi tutulduğunda, *uçucu yağlar* olarak bilinen kokulu bileşiklerin bir karışımı elde edilir[1]. Uçucu yağlar eskiden beri parfümeride kullanılmaktadır. Uçucu yağların yapısı aydınlatıldığında ise en önemli bileşenler olan *Terpenler* elde edilmiştir.

Terpenoidler olarakta bilinen bu maddeler yaygın olarak bitkiler aleminde bulunan bileşik grubudur [32]. 5 karbonlu izopren moleküllerinden oluşmuşlardır[33]. Uçucu yağlarda bulunan C ve H içeren oksijensiz terpenik maddelere hidrokarbür denilmektedir. Ayrıca doğal olarak bulunan her tür terpenin oksijen içeren türleride vardır ve bu yapılar temelde alkol, aldehit veya ketonlardır. Bunlar ya dallanmış zincir biçimindedir, ya da siklik yapı (halka yapısı) da bulunurlar [34]. Bugün gerek açık zincirli gerekse halkalı yapıda olan çeşitli fonksiyonel gruplara sahip 20.000 den fazla terpen yapıları bilinmektedir [37].

Hemen hemen tüm terpenlerin termal bozunmaları izopren molekülünü vermiştir ve bu da doğal olarak bulunan bütün terpenlerin iskelet yapısının izopren ünitesinden oluştuğu fikrine götürmüştür. Bu izopren kuralı olarak bilinir ve ilk Leopold Ruzicka* tarafından gösterilmiştir. Ayrıca, Ingold (1925) doğal terpenlerin içindeki izopren ünitelerinin “baştan kuyruğa” birbirine katıldığını söylemiştir. Bununla birlikte, bu kuralın oldukça kullanışlı olduğu kanıtlanırsa da, sabit bir kural olarak değil de yol gösterici bir prensip olarak gösterilebilir. Çeşitli istisnalar vardır; karotenler merkezlerinden kuyruk kuyruğa bağlanır, ayrıca bazı terpenlerin içerdikleri karbon beşin katı değildir ve karbon sayısı beşin katı olupta izopren moleküllerine bölünemeyen terpenler vardır [32].

(C₅H₈)_n formülüne uyan terpenler ve oksijenli türevleri bitkisel uçucu yağların belli başlı bileşiklerini oluştururlar. Terpen iki izopren (2-metil-1,3-bütadien) (1) molekülünün baş – kuyruk kondenzasyonu sonucu meydana gelmiştir.

* Leopold Ruzicka (1887 – 1976); b. Vukovar (Yugoslavya); PH. D, 1910 Karlsruhe; Profesör, İsveç Federal Enstitüsü (ETH), Zürih, (1923- 1926 ve 1929- 1957), Nobel ödülü, 1939

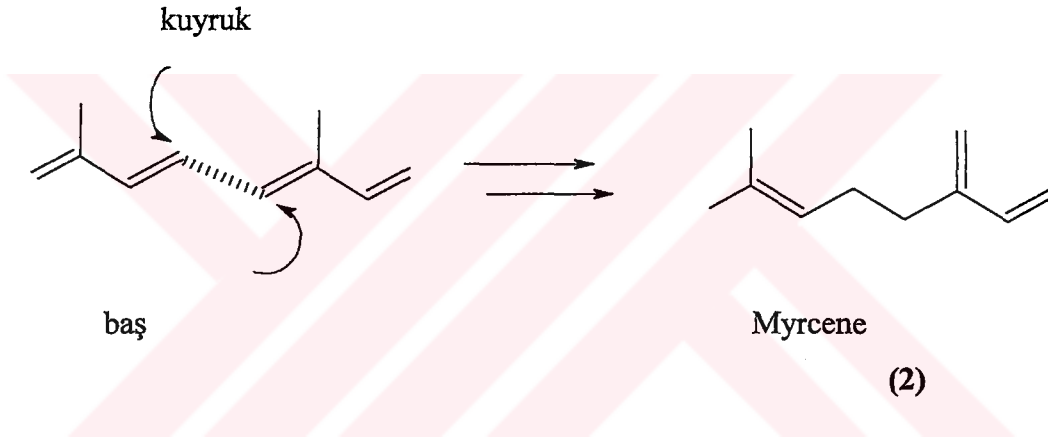


izopren (2-metil-1,3-bütadien)

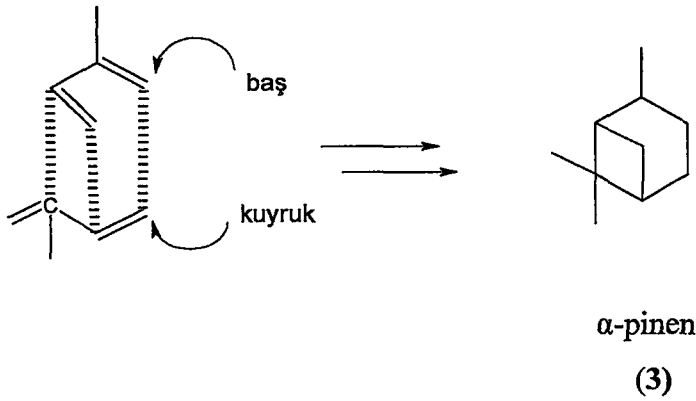
(1)

Bu kurala göre izopren ünitelerindeki 1 nolu karbon (dallanmış taraftaki) baş olarak adlandırılırken, 4 nolu karbon (dallanmanın olmadığı taraftaki) kuyruk olarak adlandırılır.

Örnek olarak, myrcene (2) iki izopren ünitesinin baş – kuyruk kondenzasyonu ile oluşmuştur.



Yine α -pinen (3) de benzer şekilde oluşmuştur.



1.3.1. Terpenlerin Sınıflandırılması ve Biyosentezi

Terpenler içerdikleri karbon atomu sayısına göre sınıflandırılırlar. Bundan dolayı iki izopren ünitesinin biyosentezi yoluyla oluşan 10 karbonlu moleküller monoterpenler, 15 karbonlu moleküller seskiterpenler ve 20 karbonlu moleküller ise diterpenler olarak adlandırılırlar. (Çizelge1.2)

Çizelge 1.2 Terpenlerin Sınıflandırılması

İzopren sayısı	Sınıfı	Karbon Sayısı
1	Hemiterpenler	5
2	Monoterpenler	10
3	Seskiterpenler	15
4	Diterpenler	20
5	Sesterpenler	25
6	Triterpenler	30
8	Tetraterpenler (karotenoidler)	40
N	Politerpenler	(5) _n

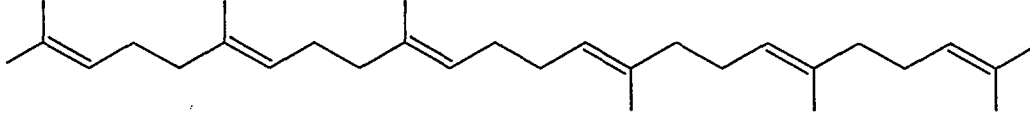
Terpenler fiziksel özelliklerine göre iki grupta incelenir.

Uçucu Terpenler: Su buharı destilasyonu ile sürüklenebilen küçük molekülü monoterpenler ve bazı seskiterpenlerdir.

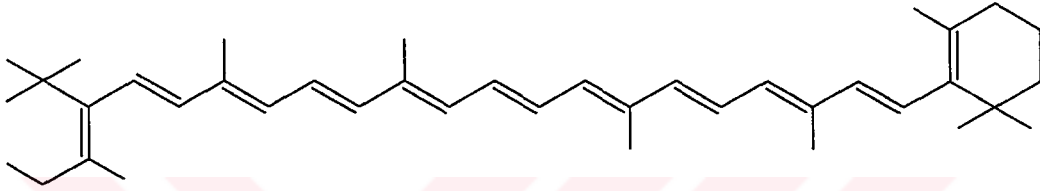
Uçucu Olmayan Terpenler: Büyük molekülü seskiterpenler, diterpenler, sesterpenler, triterpenler ve politerpenlerdir.

Uçucu yağlarda monoterpen yapısında olan maddelerle, bazı seskiterpenik maddelere rastlanmaktadır. Bunlar uçucu yağların öz suyunda ve bazı bitkilerin dokularında bulunmaktadır. Seskiterpenlerin bir kısmı ile diterpen, triterpen ve politerpenler ise uçucu olmayan bileşiklerdir. Bu yüzden uçucu yağların içinde erimiş olarak bulunurlar, ancak su buharı ile sürüklenemediklerinden, elde etme sırasında uçucu yağa geçemezler. Di ve triterpenler bitki ve ağaç sakız ve reçinelerinden elde edilir. Tetraterpenler -karotenler- düzenlenmiş bir gruptur ve bu grup bir ayırıcı grup olarak davranabilir. Kauçuk en çok bilinen politerpendir [32].

Mono ve seskiterpenler bitkilerde bulunurken, daha yüksek karbonlu Terpenler hem bitkilerde hem de hayvanlarda bulunurlar ve her iki canlı türlerinde de çok büyük biyolojik öneme sahiptirler. Örneğin, bir triterpen olan squalene (4) steroid ve hormonların yapımında temel taş iken bir tetraterpen olan β - karoten (5) ise A vitaminin temel kaynağıdır.



Squalene
(4)

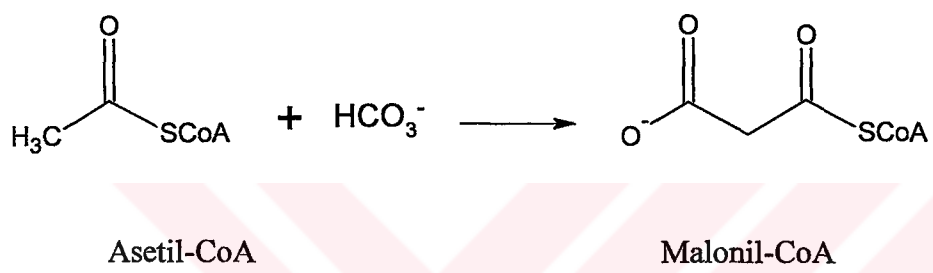
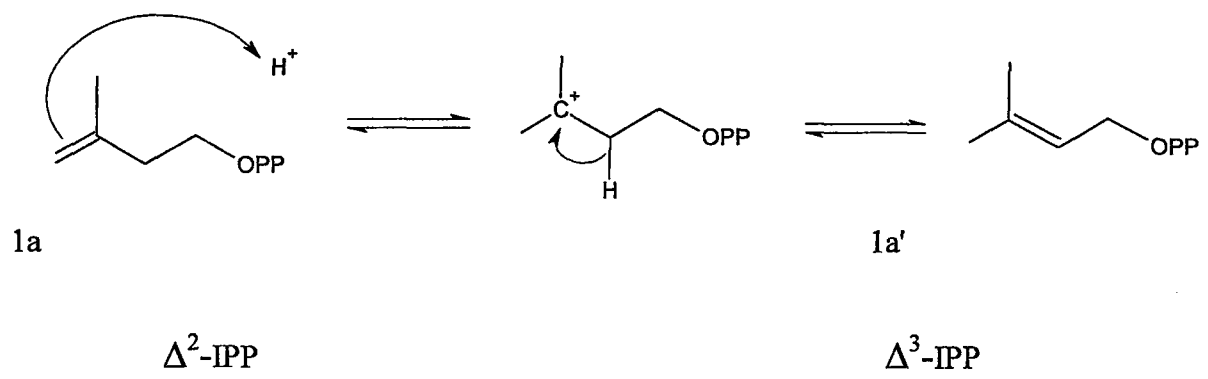


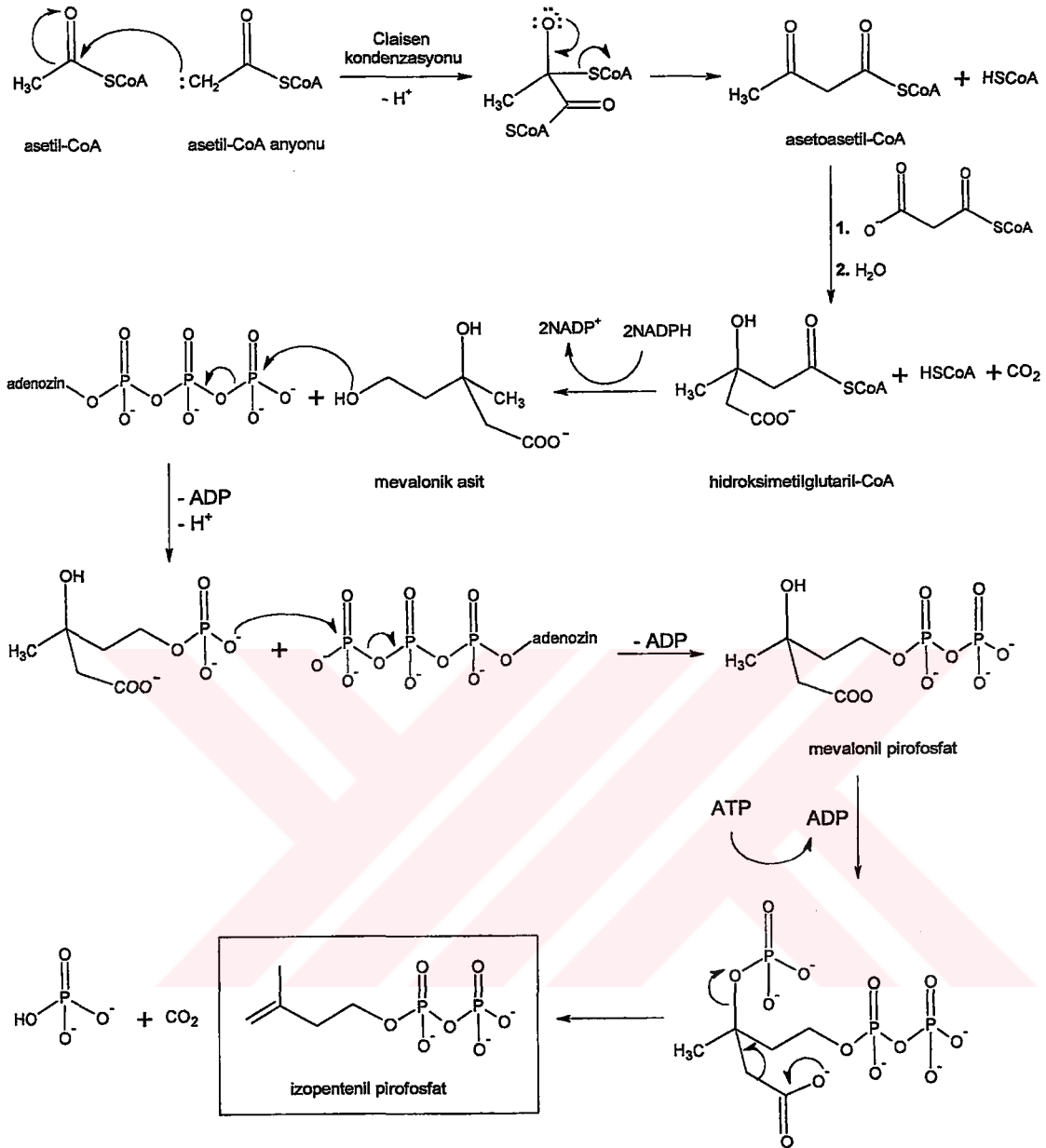
β -carotene
(5)

1.3.1.1. İzopentenil pirofosfatın Oluşumu

Terpenlerin oluşumunda izopren birimleri tek başına yeterli değildir. Bundan dolayı izopren molekülü terpenlerin yapısını oluşturabilecek reaksiyon aktivitesine sahip olan izopentenil pirofosfat halinde biyosenteze katılmaktadır. Bu olayda öncelikle asetil-CoA bikarbonat anyonu ile Malonil-CoA'yı oluştururken, iki asetil-CoA molekülü de birbiriyle kondenzasyona uğrayarak asetoasetil-CoA molekülünü oluştururlar. Böylelikle asetoasetil-CoA ve malonil-CoA birbiri ile kondenzasyona uğrayarak ATP eşliğinde izopentenil pirofosfat'ı (1a) meydana getirirler (Şekil 1.1). Elde edilen bu izopentenil pirofosfat terpenlerin oluşumunda rol oynar [38].

İzopentenil pirofosfat bu haliyle de terpenlerin biyosentezine katılmak için hazır değildir. Bunun için izopentenil pirofosfat bir enzim yardımıyla izomerizasyona uğrayarak dimetil alil ester ile bir denge oluşturur. İzomerizasyon izopentenil pirofosfata Markownikoff kuralına göre proton katılmasıyla ve oluşan karbokatyon ara ürününün Zaitseff kuralına göre düzenlenmesi ile gerçekleşir [39]





Şekil 1.1 İzopentenil Pirofosfatın Biyosentezi

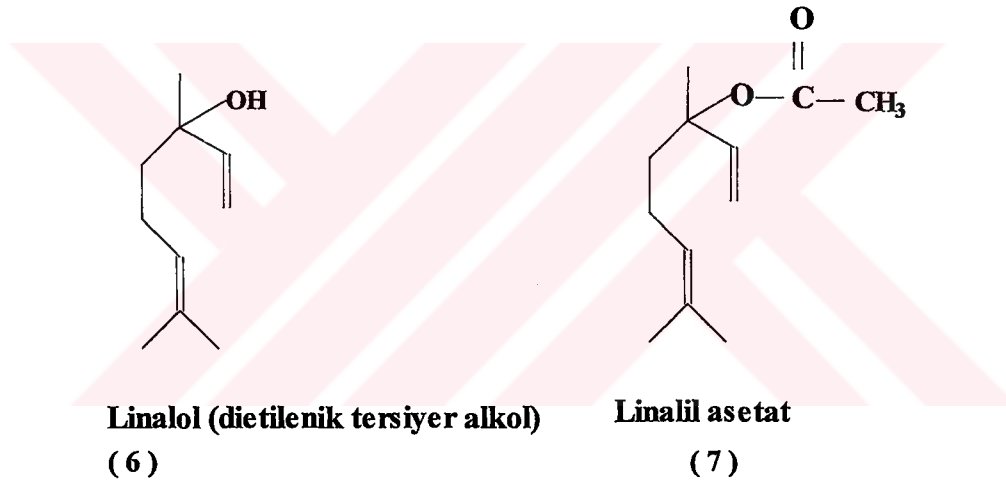
1. 4. Terpenlerin Sınıflandırılması

1.4.1 Monoterpenler

a)Asiklik Monoterpenler

Asiklik monoterpenler 2,6-dimetiloktan iskeletini taşır ve üç çifte bağı vardır. Oksijenli türevleri farmakognozi yönünden daha önemlidir. Bu türevler primer alkol, tersiyer alkol, ester ve aldehit grupları taşıyabilir, monoetilenik ya da dietilenik olabilir.

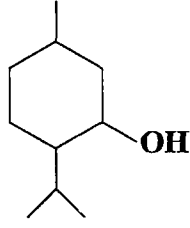
ÖRNEK: *Lavandula officinalis* 'in (Labiatae) taze çiçekli dal uçlarından su buharı distilasyonu ile elde edilen lavanta esansında (oleum lavanduale) asiklik monoterpen olan *linalol* (%30-40) ve *linalil asetat* (%35-55) içerir. Parfümeri ve kozmetikte kullanılır[40,41].



b) Monosiklik monoterpenler

Çoğunlukla p-mentan iskeleti taşırlar. Çifte bağı iki tanedir. Oksijenli türevleri sekonder ya da tersiyer alkol , ester, keton, epoksit ve peroksit grupları taşıyabilir. Bu bileşikler dietilenik, monoetilenik veya doymuş yapıda olabilir.

ÖRNEK: *Mentha piperita* 'nın (Labiatae) çiçekli dal uçlarından su buharı distilasyonu ile elde edilen nane yağının (oleum menthae) %50 si monosiklik monoterpen olan mentol' dür. Eczacılıkta, diş macunlarında, şeker ve ciklet yapımında kullanılır[41].

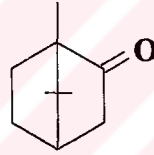


Mentol
(8)

c) Bisiklik Monoterpenler

Bisiklik monoterpenler ya sabinon , ya karan, ya pinon, ya da kamfon iskeletinden türemişlerdir. Bir çifte bağ taşırlar. Oksijenli türevleri sekonder alkol, ester ya da keton grupları taşırlar. Bu bileşikler monoetilenik veya doymuş olabilirler.

ÖRNEK: *Cinnamomum camphora*'nın (Lauraceae) odunundan elde edilen bir üründür. Kalp ve solunum analeptiği olarak sulu çözeltisi, buğu şeklinde akciğer ve solunum antiseptiği olarak etanollü çözeltisi kullanılır[41].



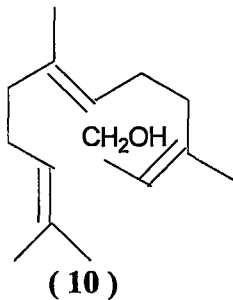
Kafur
(9)

1.4.2 Seskiterpenler

15 karbonlu bileşiklerdir. Bunlarında asiklik, monosiklik, bisiklik yapıları ve oksijenli türevleri bulunur[41].

a) Asiklik Seskiterpenler

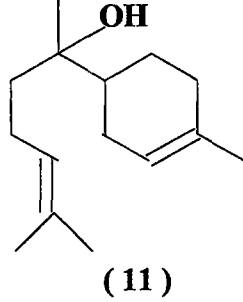
ÖRNEK: Farnesol



(10)

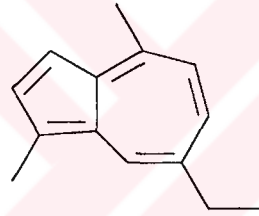
b) Monosiklik Seskiterpenler

ÖRNEK: Bizabolol



c) Bisiklik Seskiterpenler

ÖRNEK: Kamazulen. Mayıs papatyası olarak bilinen bitkiden elde edilen ve boğaz ağrılarında gargara olarak kullanılan bisiklik seskiterpendir[41].



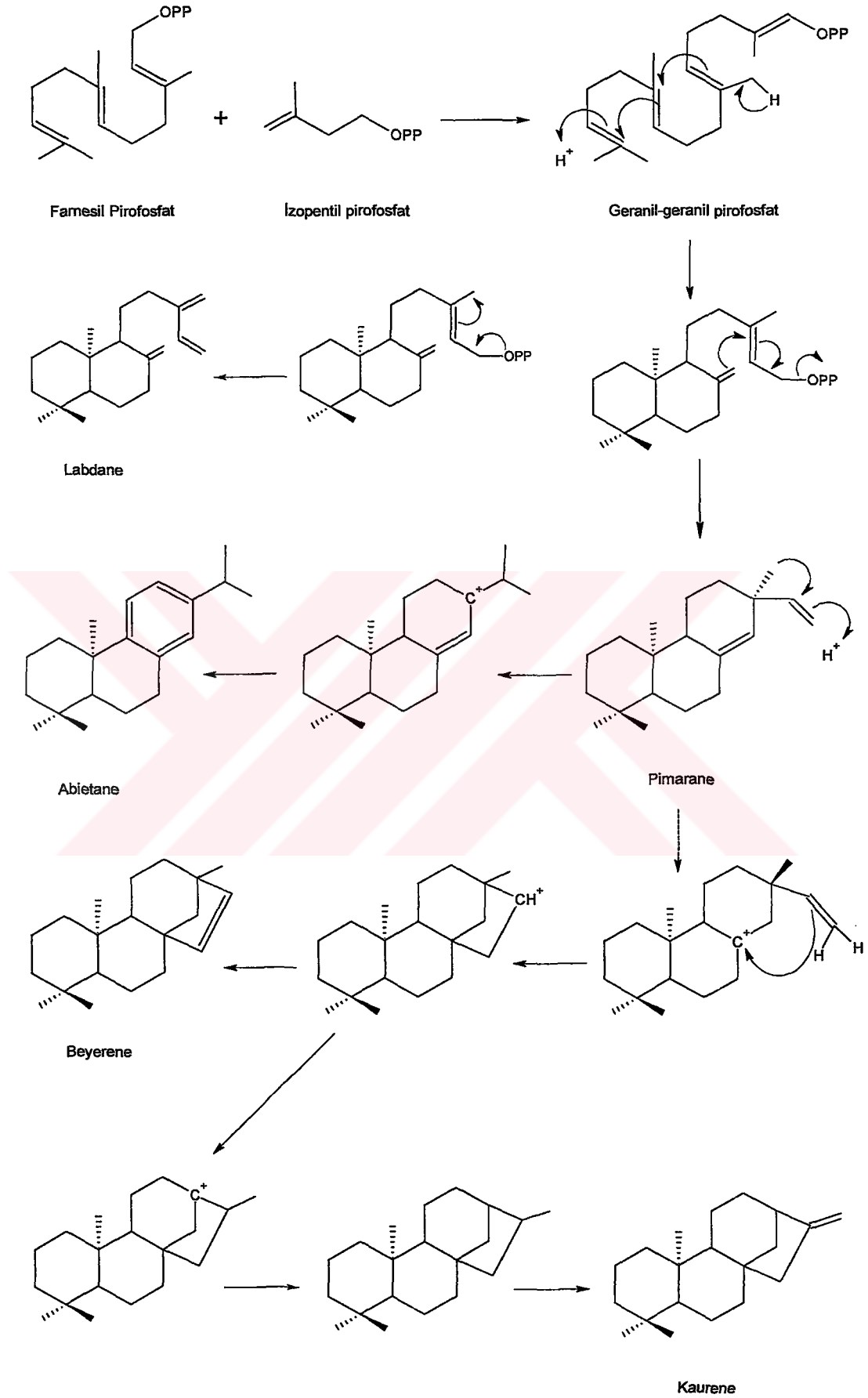
1.4.3 Diterpenler

Diterpenler 2E,6E,10E geranil geranil pirofosfattan türemiş doğal izoprenoid ürünler ailesinin en çok bulunan üyeleridir. Esas olarak bitki ve mantar orijinli olmalarına rağmen deniz ve böcek dünyasında da bulunmaktadır. Triterpen ve steroidlerden farklı olarak diterpenlerde kolay oksitlenme görülür. Bu nedenle diterpenlerde komşu grup desteğinden dolayı yapısal reaksiyonlarda birçok farklılık gözlenir ve bu yüzden önemlidirler. Ayrıca bunlardaki gruplar arasında bağ yapmayan iç etkileşmeler, özellikle 1,3 diaxial etkileşmeler bulunmaktadır. Köprülü halka sistemlerinin bulunuşu, özellikle tetrasiklik diterpenlerde non-klasik karbokasyon oluşumunu destekler ve Wagner- Meerwein düzenlenmesi gözlenir.

Doğal ürünler içerisinde, diterpenler, en geniş biyolojik aktiviteye sahip bileşiklerdir. Diterpenler hormonları geliştiren bitkilerde bulunmaktadır. Örneğin, Gibberalin; bitki

büyüme hormonu, Podolacton; bitki büyüme inhibitörü, cloradane; acı maddeler, anti-feedantlar böcekleri; anti tümör kanser etkisi ve bazı antibiyotiklere benzer özellikleri, bunun yanısıra yüksek tansiyonu düşürücü etkisi olduğu gibi solerol ürünlerinin parfümeri endüstrisinde kullanıldığı da görülmektedir[38]. Diterpenler arasında bulunan yapı türülülüğünün farklılığı fitokimyanın gelişmesini de kolaylaştırmaktadır. Gerçekte diterpenlerin birçoğu kimyasal ayrımlar, incelemeler sonucu bulunmuşlardır. Ayrıca kompleks diterpen karışımının izole edilmesi değişik ekstraksiyon sistemleri ve ayırma yöntemlerinin gelişmelerine yol açmıştır. Ayrıca biyolojik aktivite siklik diterpenlerde daha fazla gözlenir. Ourisson, Bonthorpe ve Charlwood bu sınıfın kaynaklarının Fabales ve Geraniles olduklarını belirlemişlerdir. Şekil 1.6'da diterpenlerin biyosentezi için muhtemel mekanizmalar önerilmiştir [41].

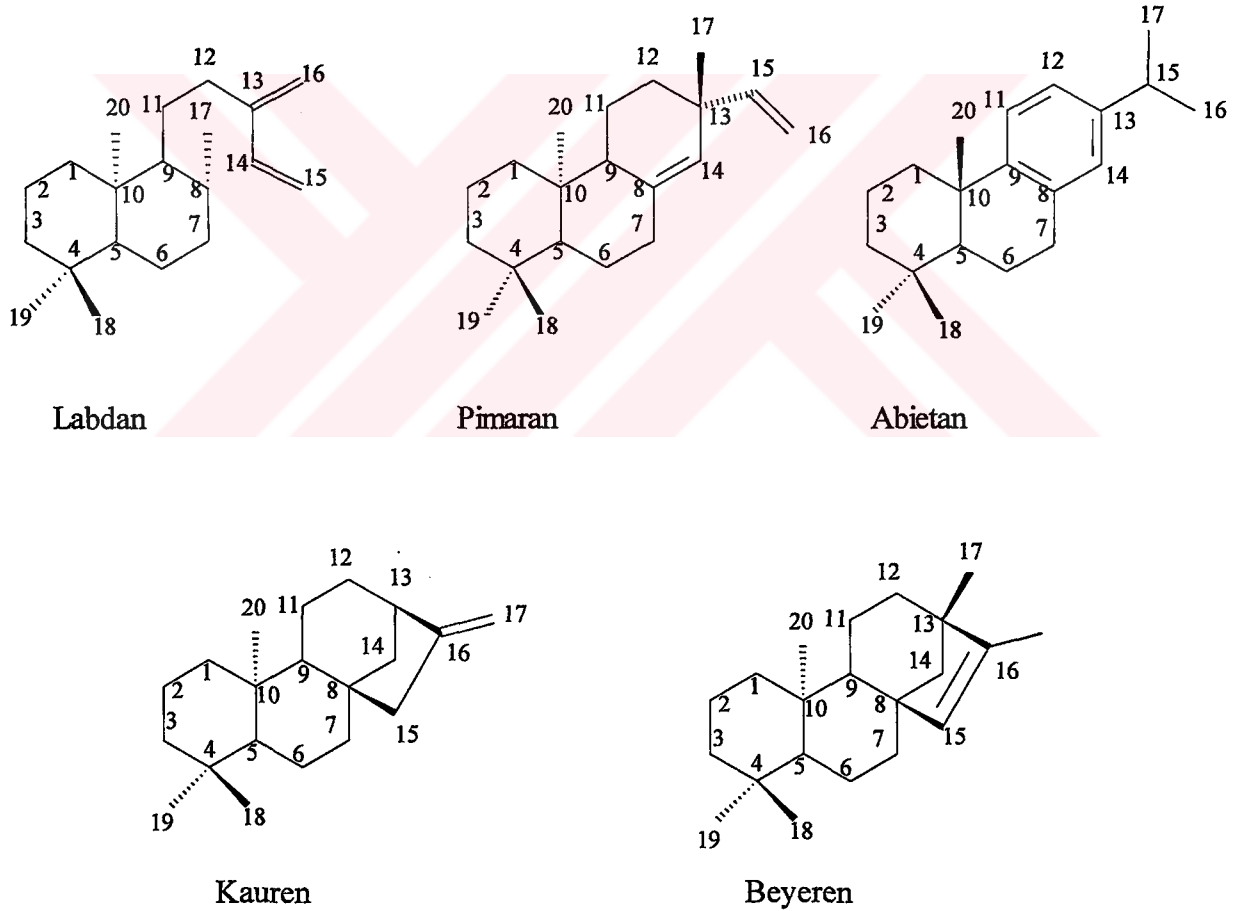




Şekil 1.2 Diterpenlerin Biyosentezi İçin Önerilen Mekanizmalar

Biyogenetik çeşlilik diterpenler için de sözkonusudur. Literatürde 70 farklı diterpen iskeleti rapor edilmiştir. Bunların 20 tanesi ana diterpen iskeletleri geri kalan 50 tanesi ise yaygın olmayan diterpen iskeletleri olarak sınıflandırılmışlardır. Yaygın diterpen iskeletleri lineer, totarol, labdan, kauren, pimarın, kasan, Abietan, Rozan, beyeren, kaurene alkaloids (aconitum alkaloids), Gibbera, Taksan, Trachyloban, Cembran, Atisen, Kolevan, Ericacan, Fujinan ve Tiglian olarak adlandırılmıştır[42].

Sideritis türlerinde genellikle kauren diterpenler yaygın olarak bulunmaktadır. Fakat kauren diterpenlerin yanında labdan, pimarın ve beyeren diterpenler de nadir de olsa bulunmaktadır. Ülkemizde mevcut olan bir diğer labiatae familyası üyesi *Salvia* türlerinde abietanlar [43], *Teucrium* ve *Inula* türlerinde ise kloredan ve neokloredanlar yaygın olarak bulunmaktadır [44].

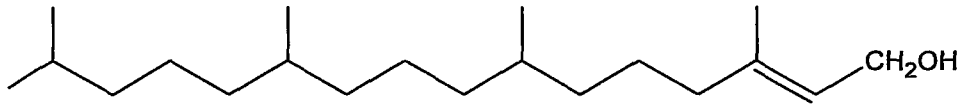


Şekil 1.3 Labdan, pimarın, abietan, kauren ve beyeren diterpenlerinin numaralandırılması

Bu numaralandırma yapılırken 20 no'lu metilin önde ya da arkada olması önemlidir. Eğer 20 no' lu karbon arka pozisyonda ise numaralandırmaya şekillerde görüldüğü gibi A halkasından başlanır.

1.4.3.1 Asiklik Diterpenler

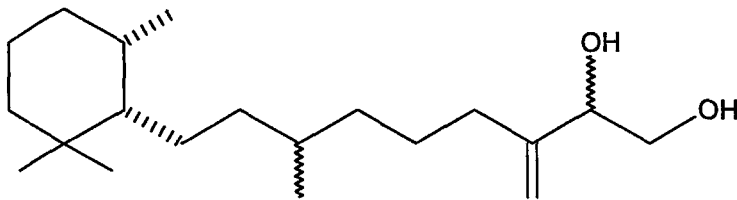
Halkalı olmayan bu diterpen yapıları yirmi karbon ve bağlı süstitüentlere göre yirminin üzerinde karbona sahip olan doymuş ya da doymamış yapılardır. Örnek olarak Phytol (13) verilebilir[41].



Phytol
(13)

1.4.3.2 Monosiklik Diterpenler

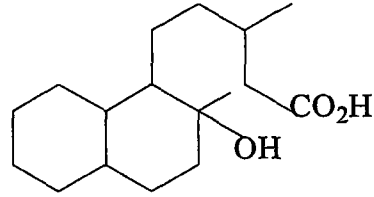
Karasal bitkilerde çok yaygın olmamakla birlikte bu tür diterpenler özellikle deniz yosunlarından elde edilmişlerdir. Nadir gözlenen bu yapılara örnek olarak bir kırmızı alg olan *Laurencia viridis*'den elde edilen epimerik moleküller Viridolis A (14) [41] ve Viridolis B verilebilir.



Viridolis A
(14)

1.4.3.3 Bisiklik Diterpenler

Resin asitleri bisiklik diterpenlerdir. Örnek olarak Labdanoik asit verilebilir[41].

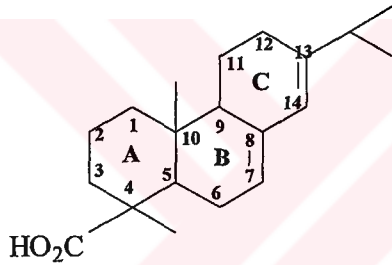


Labdanoik asit

(15)

1.4.3.4 Trisiklik Diterpenler

Örnek olarak Abietik asit verilebilir[41].



Abietik asit

(16)

1.4.3.5 Tetrasiklik Diterpenler

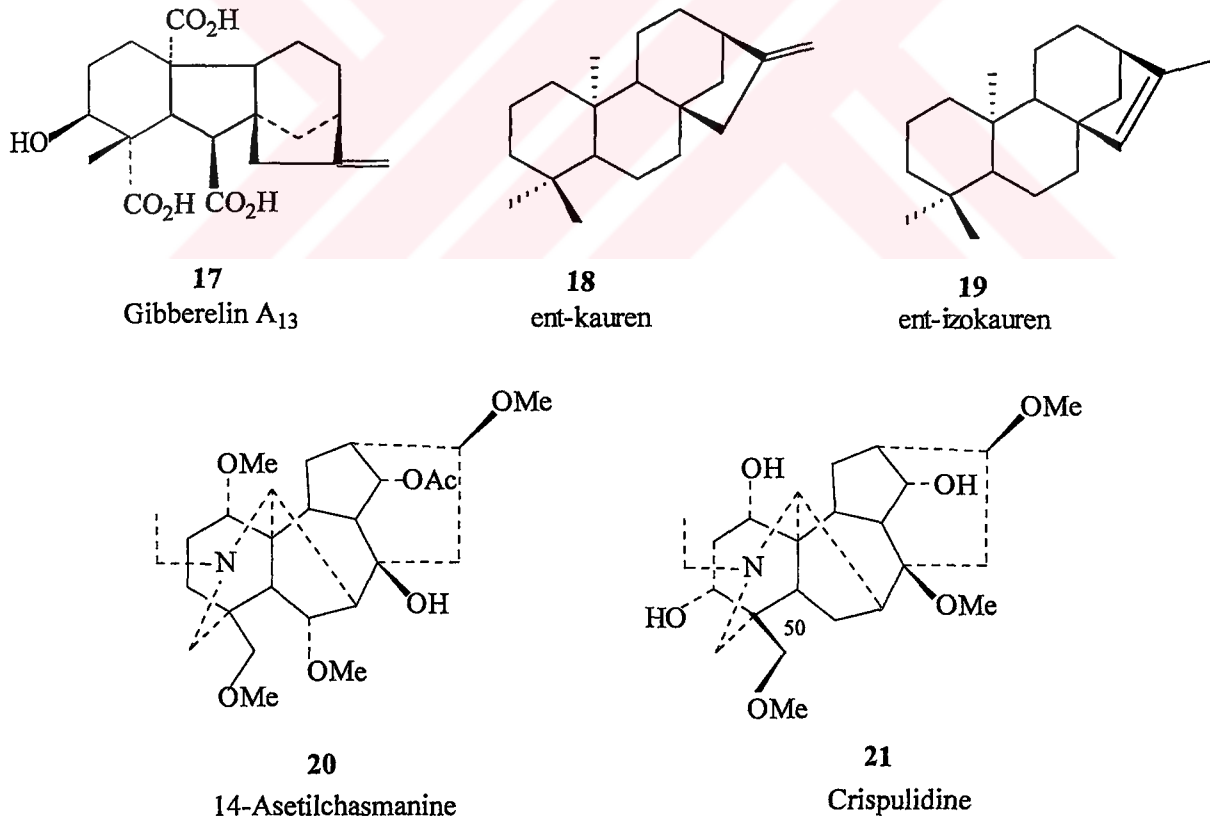
Tetrasiklik diterpenler ilk olarak uygun yönlendirilmiş pimaradienlerin karbokasyon ara ürünü üzerinden kauren, atisen veya beyerene serisi bileşikleri veya beş halkalı pentasiklik siklokauren diterpenlerini oluşturacak şekilde düzenlenebilir. Fakat bu iyon veya eşdeğer ürün doğrudan bisiklik diterpenler serisinden oluşturulmaktadır. Bu serinin daha yüksek derecede oksitlenmiş üyelerinin daha sonraki modifikasyonu gibberellic asit gibi gibberellin (17) [41] bitkisinin büyüme hormonlarıyla ilgili bir moleküldür.

Sideritis türlerinde en yaygın bulunan diterpen olan kauren diterpenler bir tetrasiklik diterpendir. Kauren (18) diterpenler A.B. C ve D halkalarından oluşan ve genellikle 16 nolu karbon üzerinde ekzosiklik çifte bağ taşıyan yapılardır. Kauren iskeletinde çifte bağın 15-16 nolu karbonlar arasında yerleştiği de çok görülmüştür. Böyle kauren yapılarına izokaurenler (19) denir.

Ayrıca özellikle *Delphinium* ve *Aconitum* türlerinde yaygın olarak bulunan ve iskeletleri genel olarak Kauren alkaloidleri ya da Aconitum Alkaloidleri olarak adlandırılan kauren diterpenler de vardır. *Delphinium uncatum*'dan elde edilen 14-asetilchasmanine (20) [45], *Delphinium crispulum*'dan elde edilen crispulidine (21) [45] bunlara örnek olarak verilebilir. Şekil 1.4 de tetrasiklik diterpenlere bazı örnekler verilmiştir.

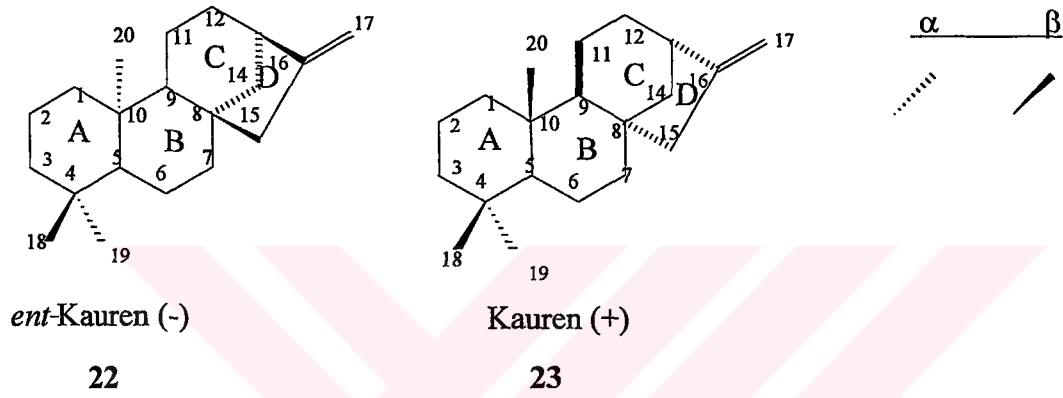
1.4.3.5.1 Kaurenler

Kauren diterpenlerin bitki içerisinde nasıl meydana geldiği konusunda ortaya atılan düşünceler şöyledir. Daha önce de belirtildiği gibi geranil-geranil pirofosfat kendi arasında düzenlenmeye uğrayarak diterpenleri oluşturabilir. Geranil-geranil pirofosfatın oluşturabileceği bir diterpen türü de tetrasiklik yapıdaki bir kauren iskeletidir (Şekil. 1.16). Kaurenler, tetrasiklik yapıda olan diterpenlerdir. Diğer diterpenler gibi onlar da 20 karbondan oluşmaktadırlar. Fakat kendilerine bağlı olan süstitüentlere göre içerdikleri karbon sayıları biraz artabilir. Diterpenler genellikle 1-3 arasında değişen sayılarda metil grupları içerirler.

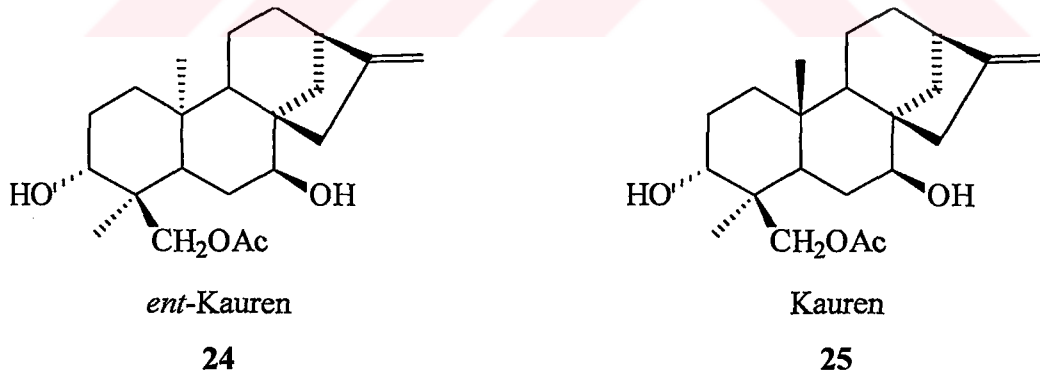


Şekil.1.4 Bazı Tetra siklik diterpenler

Bir kauren iskeleti üzerinde adlandırmayı ve sübstitüentlerini inceleyelim. Tetra siklik bir molekül olan kauren iskeletinde numaralandırmaya Şekil. 1.5'de görüldüğü gibi A halkasından başlanır, sonra B halkası bitirilir, C ve D halkaları ile devam edilir. Metil grupları 18, 19 ve 20 nolu olacak şekilde numaralandırılır. Burada en önemli nokta 20 nolu karbonun önde veya arkada olmasıdır. Eğer 20 nolu metil karbonu arkada ise bu bileşik *ent*-Kauren, önde ise kauren olarak isimlendirilir.



Şekil.1.5 Kauren ve *ent*-Kauren iskeletleri



Şekil.1.6 Linearol'un *ent*-kauren ve kauren gösterilişi.

İki örnek üzerinde Kaurenlerin adlandırılmasına bakalım olursak (Şekil 1.6). (24) nolu molekülün *ent*-3 β ,7 α dihidroksi,18-asetoksikaur-16-en, (25) nolu molekülün ise 3 α ,7 β -dihidroksi,18-asetoksikaur-16-ene olarak adlandırıldığını görürüz. Bu iki yapı arasındaki farkı incelediğimizde (24) nolu yapıdaki 20 nolu karbonun arkada, yani α pozisyonundadır. (25)

nolu yapıda ise bu karbon β konumundadır. Dikkatlice bakılırsa (24) nolu yapıda 3 nolu karbondaki hidroksil grubu β , 7 nolu karbondaki hidroksil grubu ise α olarak okunmuştur. Halbuki, formüle bakıldığında bunun böyle olmadığı 3 nolu karbondaki hidroksilin gerçekte α , 7 nolu karbondaki hidroksilin ise β olduğu kolaylıkla görülebilir. (25) nolu yapıya bakılırsa okunuşunda aynen gerçekte olduğu pozisyonunda olduğu görülür.

Eğer bir kauren iskeletinde 20 nolu karbon α konumunda ise o kauren yapısına *ent*-kauren adı verilir. β konumunda ise yapı kauren olarak adlandırılır. *ent*-kauren yapıda halka üzerindeki sübstitüentler her zaman bulunduğu konumun tersi konumla okunur.

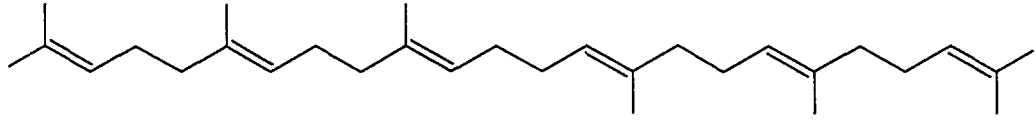
Yine (24) nolu yapıya baktığımızda molekülde 2 adet metil grubu olduğu görülebilir. Aslında metil grubu 3'tür ama 18 nolu metil grubu yükseltgenerek hidroksi metilen haline dönüşmüştür. Yine literatürde kauren iskeletleri incelendiğinde görülmüştür ki, sübstitüe gruplar genellikle 3,7 ve 18 nolu karbonlar üzerine yerleşir. Fakat bazı yapılarda 1, 13, 15 ve 17 nolu karbonlarda da sübstitüe gruplara rastlanmıştır.

Aynı adlandırma kuralı labdane, pimarane ve beyerene yapıları için de

1.4.4 Triterpenler

Triterpenler altı izopren ünitesinden biyosentetik olarak elde edilebilir ve ilk asiklik 30 karbonlu üye squalendir. Squalende çeşitli şekilde halka kapanması triterpenlerin çeşitli iskelet yapılarında olmalarına neden olur. Gerçekte, 4 000 doğal triterpen izole edilmiştir ve 40'dan fazla iskelet tipi belirlenmiştir. Triterpenler iki ana sınıfa ayrılabilir: Tetrasiklik triterpenler ve Pentasiklik triterpenler [41].

Squalene ($C_{30}H_{50}$) köpekbalığının karaciğer yağından izole edilmiştir. Diğer kaynakları bitkisel yağlar ve zeytinyağıdır. Nikel ile katalitik hidrojenasyon squaleni perhidrosqualene ($C_{30}H_{62}$) dönüştürür, bu yüzden squalenin 6 tane çift bağı vardır ve asiklidir. Squalenin ozonolizi, laevulik asidi verir, bu da squalende izopren ünitesinin varlığını gösterir. Squalen sodyum ve amil alkollerle indirgenmediğinden molekülde konjuge çift bağ yoktur. Squalenein molekül yapısına bakıldığında, molekülün merkez bölümünde birbirine kuyruk kuyruğa bağlı iki izopren molekülü olduğuna dikkat edilmelidir [41].

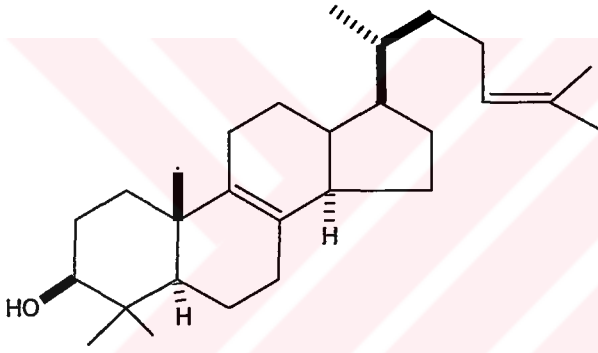


Squalene
(26)

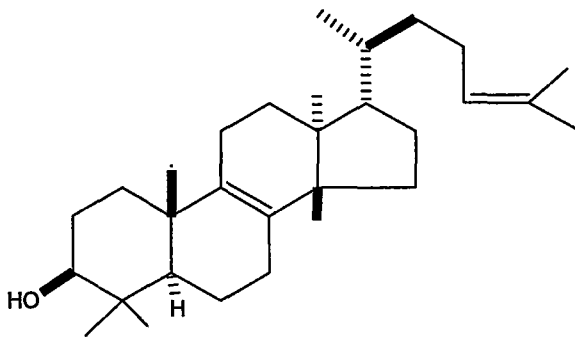
1.4.4.1 Tetrasiklik Triterpenler

1.4.4.2

Steroid karbon iskeleti içeren önemli bir bileşik sınıfıdır. Bu sınıf temelde iki grupta incelenir; Lanosterol (27) ve Eufol (28) grubu [41].



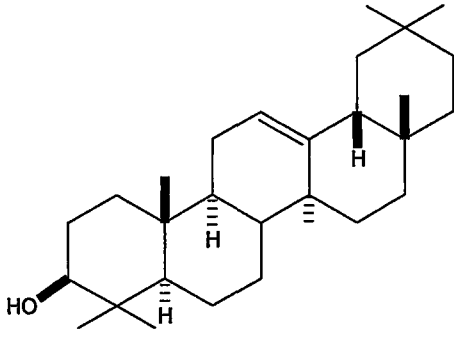
Lanosterol
(27)



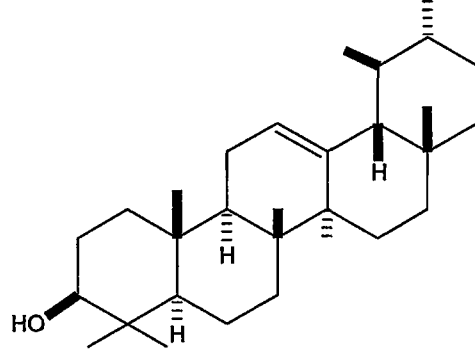
Euphol
(28)

1.4.4.3 Pentasiklik Triterpenler

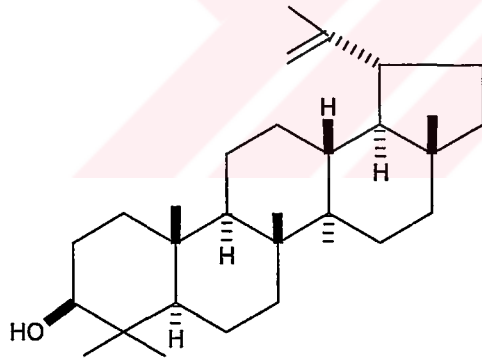
Bunlar da çeşitli alt gruplarda incelenebilir. Ör: Oleanane (β -amyrin) (29) grubu, Ursane (α -amyrin) (30) grubu, Lupane (lupeol) (31) grubu[41].



β -amyrin
(29)



α -amyrin
(30)



Lupeol
(31)

2.DENEYSEL BÖLÜM

2.1. Materyal

2.1.1. Bitkisel Materyal

Sideritis stricta bitkisi Antalya Termesos milli parkı mevkiinden 8 Temmuz 2004 tarihinde yaş olarak 5 kilo toplandı. Gölgede kurutulmuş bitkiden 2.5 kilo kuru bitki elde edildi. Aseton ve Metanol ekstraktları hazırlandı.

Bitkiler Prof.Dr. Güleendam TÜMEN ve Yard. Doç. Dr. Tuncay DİRMENCİ tarafından teşhis edildi.

2.1.2. Kimyasal Materyal

Kolon kromatografisi için; silikajel 60G (Kieselgel 60G 0.063-0.200, Merck). İTK ve Preparatif İTK için silikajel kaplı Alüminyum plaklar (DC alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄, Merck) ve plaklar için Silikajel 60G ile Silikajel 60 HF₂₅₄ (Merck) kullanıldı.

Saflaştırma ve ayırma işlemlerinde; Hekzan, Kloroform, Diklorometan, Eter, Benzen, Aseton, Etil Asetat ve Metanol kullanıldı.

2.2 YÖNTEM

Bitki kimyası çalışmalarında izlenen yöntem aşağıdaki gibi özetlenebilir.

- Bitkilerin çiçeklenme döneminde toplanması ve teşhisi.
- Bitkilerin gölgede kurutulması ve toz edilmesi.
- Bitkilerin uygun çözücülerle ekstraksiyonu.
- Hazırlanan ekstraktlardan çeşitli kromatografik (kolon, ince tabaka ve preparatif ince tabaka, HPLC) yöntemlerle kimyasal organik maddelerin izolasyonu.
- Elde edilen maddelerin çeşitli spektroskopik yöntemlerle (IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, MS, X-ışınları) yapılarının tayini.
- Gerek bitki ekstraktlarının gerekse ekstraktlardan elde edilen saf maddelerin aktivite (antibakteriyel, antiviral, antifungal, sitotoksik, antitümer v.b.) tayini.

2.2.1. Ekstraksiyon

Sideritis stricta bitkisinin gövde kısımları gölgede kurutulduktan sonra toz haline getirildiler. Büyük cam kavanozlarda üç günde bir süzölmek koşuluyla uygun çözücülerde iki hafta masere edildi. Birleştirilerek kuruluğa kadar yoğunlaştırılan ekstrelerden ham ekstraktlar elde edildi. 2.5 kilo kuru bitkiden önce aseton sonra da metanol ekstresi hazırlandı. 55 gram aseton ekstresi elde edildi.

2.2.2. Kromatografi

2.2.2.1. Kolon Kromatografisi

Kolon kromatografisi, elde edilen ekstreleri fraksiyonlarına ayırmak için kullanıldı.

Elde edilen her bir ekstre bir miktar hekzan-kloroform karışımında çözüldü ve 0.040-0.060 (230-400 mesh E. Merck) parçacık büyüklüğüne sahip silikajel 60G (Merck 9385) çözeltilere ilave edildi. Karışımların çözücüsü uçurulduktan sonra homojenliği sağlamak amacı ile ekstre ile karıştırılmış silikajel iyice kurutuldu. Ekstrelerin miktarlarına bağlı olarak seçilen kolonların 2/3' si aynı tip silikajelle doldurulduktan sonra hazırlanan ekstreler kolonların üst kısmına ilave edildi. Kolon kromatografisine Hekzan ile başlandı ve kolona 250 mL Hekzan(H) ilave edildi daha sonra sırsıyla 250 mL 1H:1 Diklormetan(DM), 250 mL DM, 250 mL 7 DM:3 Aseton(Ac), 250 mL 1DM:1Ac, 250 mL Ac, 250 mL 1Ac: 1Metanol ve 250 mL Metanol çözücüsü tatbik edilerek fraksiyonlar alındı. Daha sonra madde miktarına göre seçilen yeni kolon yardımıyla fraksiyonlar kolonun üst kısmına ilave edilerek tekrar kolon kuruldu.. Yıkamaya hekzan ile başlandı ve giderek artan oranlarda kloroform ilave edildi. Kloroform miktarı %100'e ulaştıktan sonra aseton ilave edilmeye başlandı, aynı şekilde aseton miktarı %100'e ulaşınca da metanol ilave edildi. Metanol mikarı %100'e ulaşınca kadar yıkama işlemine devam edildi. Elde edilen fraksiyonların miktarına göre gerektiğinde daha küçük boyuttaki kolonlardan yararlanılarak sabit faz sisteminde yeniden kolon yapıldı.. R_f değerleri nedeniyle ayrılmasında zorluk çekilen fraksiyonların daha kolay ayrılabilmesi amacıyla da Sephadex kolon kullanıldı.

2.2.2.2. İnce Tabaka Kromatografisi

Kolon kromatografisinden elde edilen fraksiyonlar miktarlarına göre silikajel kaplı hazır alüminyum plakalara (DC -Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄ Merck) tatbik edilerek uygun çözücü sistemlerinde yürütüldü. Maddelere ait lekeler UV(254 nm) ışık altında incelendi. Plaklara serik sülfat belirteci püskürtülüp 105 °C' lik etüvde ısıtılarak oluşan lekeler incelendi, benzer olan fraksiyonlar birleştirildi ve kolon kromatografisinden alınan fraksiyonların tamamı inceleninceye kadar bu işlem devam etti, benzer fraksiyonlar birleştirildi.

2.2.2.3. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi

Silikajel kaplı alüminyum plaklar miktarı az olan fraksiyonları ayırmak için kullanıldı. Miktarı fazla olan (30 mg'dan fazla) fraksiyonları ayırmak için preparatif ince tabaka kromatografisi (prep İTK) kullanıldı. Bunları hazırlamak için 100g silikajel 60 G ve 50g silikajel 60 HF₂₅₄ absorbanları bir balon içerisinde 300 mL distile su ile homojen oluncaya kadar karıştırıldı. Karışım iyice homojen olduktan sonra CAMAG cam plak çekme aleti ile 0.5 mm'lik 20 cm x 20 cm ebatındaki camlara 0.5mm kalınlığında kaplandı. Oda sıcaklığında kurutulan cam plaklar 1 saat süre ile etüvde 105 °C'de aktive edildi. Karışım halde bulunan fraksiyonlar miktarlarına göre (1 cam plağa ortalama 15-20 mg) cam plaklara tatbik edildiler ve uygun çözücü sistemleri ile bileşenlerine ayrıldılar. Uygun çözücü sistemi farklı denemeler sonucunda bulundu. Her farklı fraksiyon için gerektiğinde farklı denemeler yapılarak her birinin en iyi ayrıldığı sistem bulundu. UV (254 nm) ışık altında maddelere ait bantlar işaretlendi ve kazınarak erlenlere aktarıldı. Uygun çözücü ile erlende 15-30 dakika bekletilen maddeler süzülerek alındı ve çözücüleri uçurularak saflaştırıldılar. Bu işleme tüm maddeler saflaştırılana kadar devam edilecek. Saf olarak elde edilen maddelerin yapısını belirlemek için spektroskopik yöntemlerden yararlanıldı.

2.3. Spektroskopik Yöntemler

2.3.1. NMR (¹H-NMR, ¹³C-NMR, COSY, HMQC, HMBC)

Tüm spektrumlar saf olarak elde edilen maddelerin dötoro kloroform (CDCl₃)'daki çözeltilerinden TÜBİTAK Enstrümental Analiz Laboratuvar'ındaki Bruker 500 MHZ NMR cihazında alınmış olup referans madde olarak tetrametilsilan kullanıldı.

2.3.2. Kütle Spektroskopisi (MS)

Maddelerin kütle spektrumları Thermo Polaris Q Ion Trap Mass Spectrometry aletinde alındı.

2.4. Kullanılan Belirteçler

Terpenleri belirlemek amacı ile serik sülfat çözeltisi kullanıldı.

2.4.1. Serik Sülfat Çözeltisinin Hazırlanması

10g Seryum (IV) sülfat 50 mL %98'lik sülfirik asit çözeltisinde çözülerek distile su ile 500 mL' ye tamamlandı.

Serik sülfat belirteci plakalara püskürtüldükten sonra 105 °C lik etüvde yaklaşık beş dakika kadar (lekeler oluşana kadar) bekletildi.

2.5. Biyolojik Aktivite

Aseton, metanol ekstresi ve diğer fraksiyonlar önce çok az kloroformda çözüldü ve alkol ile 1:10 oranında seyreltildi. Daha fazla seyreltmeler için steril saf su kullanıldı. *E.coli*, *S.aureus*, *M. Smegmatis* ve *C.albicans*'a karşı ekstreler ve maddeler test edildi. Besiyeri içindeki mikroorganizmalar yaklaşık olarak 10⁶ c.f.u/mL konsantrasyonuna ulaşınca bu mikroorganizmalar, hazır olarak petri kaplarında satılan Salubris marka besiyerlerine ekildi. 37 °C'de bir gece bekletildikten sonra mikroorganizmaların ölümünün gerçekleştiği bölgenin yarıçapları ölçüldü[6]. Kontrol için etanol ve ampisilin kullanıldı.

2.6 Bulgular

2.6.1. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Sideritis stricta bitkilerinin aseton ve metanol ekstreleri ile, bitkinin Fraksiyon 1-7 arası ve saf maddelerden linearol mikroorganizmalara karşı test edildi. Elde edilen sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları MIC değerlerini bulmak için devam etmektedir.

Tablo 1: Antimikrobiyal Aktivite Test Sonuçları

S.stricta

Aseton ekstresi	18	21	14	16
Metanol Ekstresi	14	23	9	12
Fr.1	5	1	0	0
Fr.2	4	0	0	0
Fr.3	11	17	5	10
Fr.4	24	19	12	24
Fr.5	23	18	18	17
Fr.6	18	20	13	15
Fr.7	10	15	12	14
Linearol	18	14	9	19
	18	14	6	20
Etanol				
Ampisilin (10 µg)	11	30	20	0

2.6.2 *Sideritis stricta*'dan Elde Edilen Bileşikler

B1: Linearol (*ent-3 β ,7 α -dihidroksi,18-asetoksi-kaur-16-ene*)

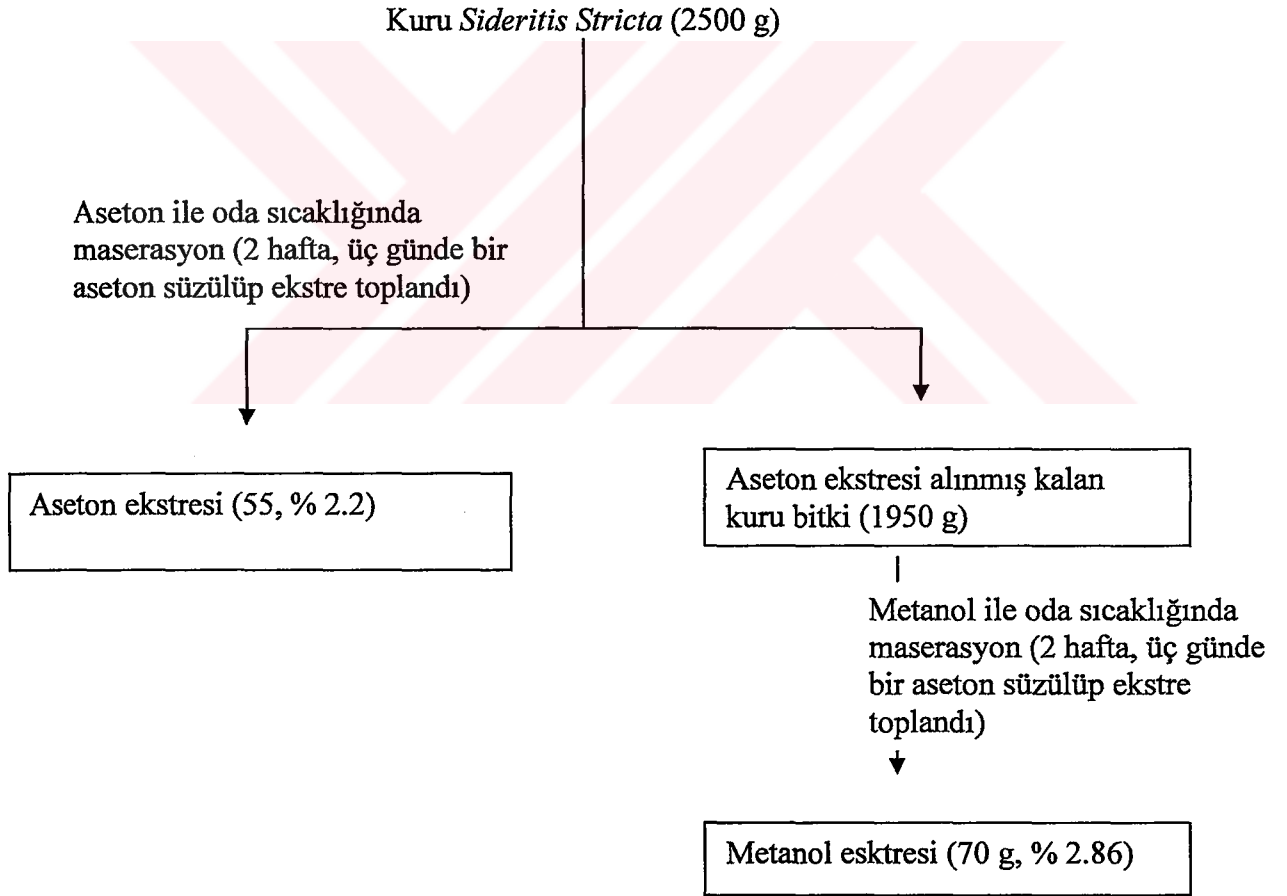
B2: *ent-7 α ,15 β ,18 β ,trihidroksikaur-16-en*

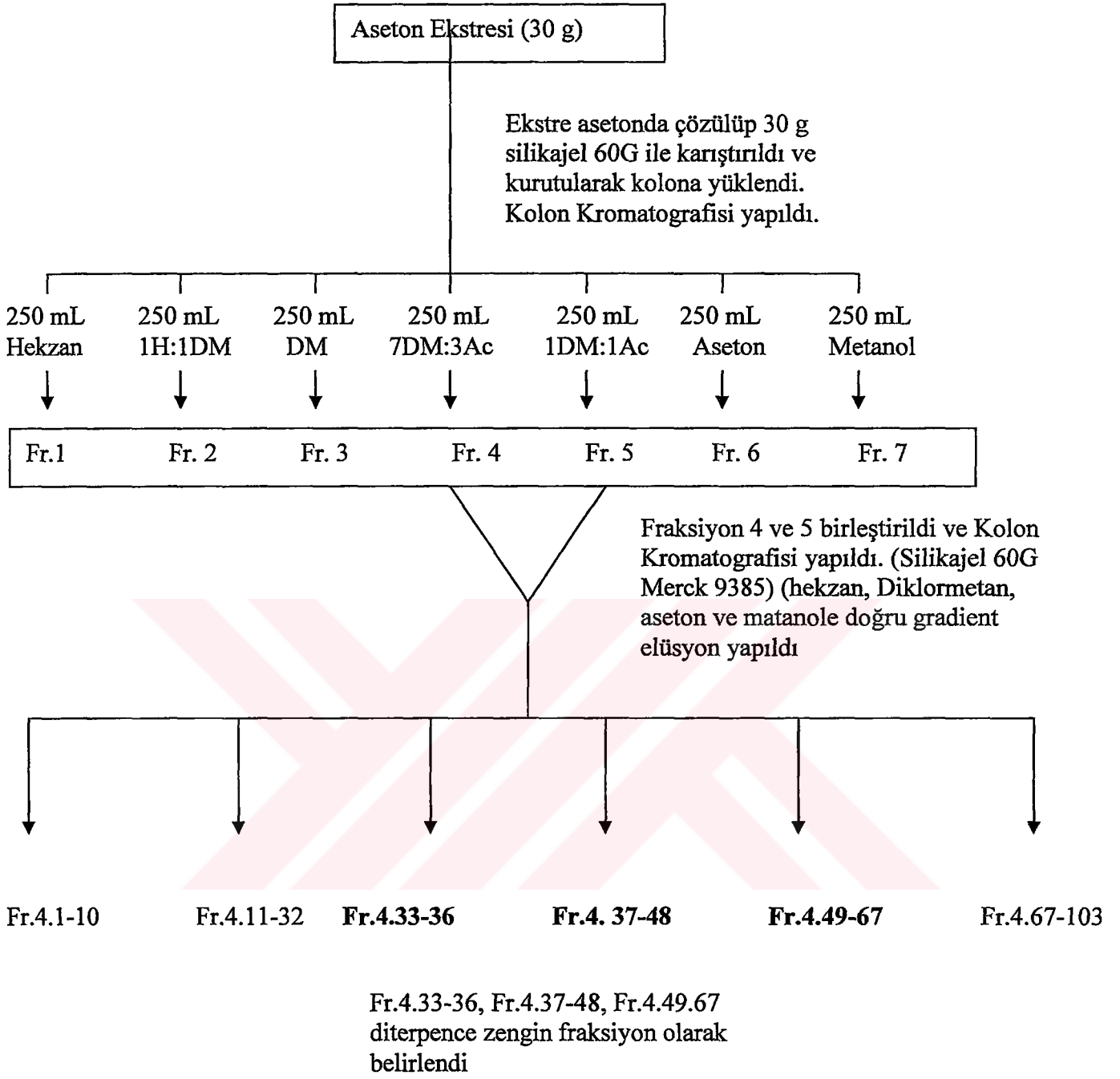
B3: 7-Asetil Sideroxol (*ent-7 α -asetoksi –18-hidroksi-15 β ,16 β epksikauran*)

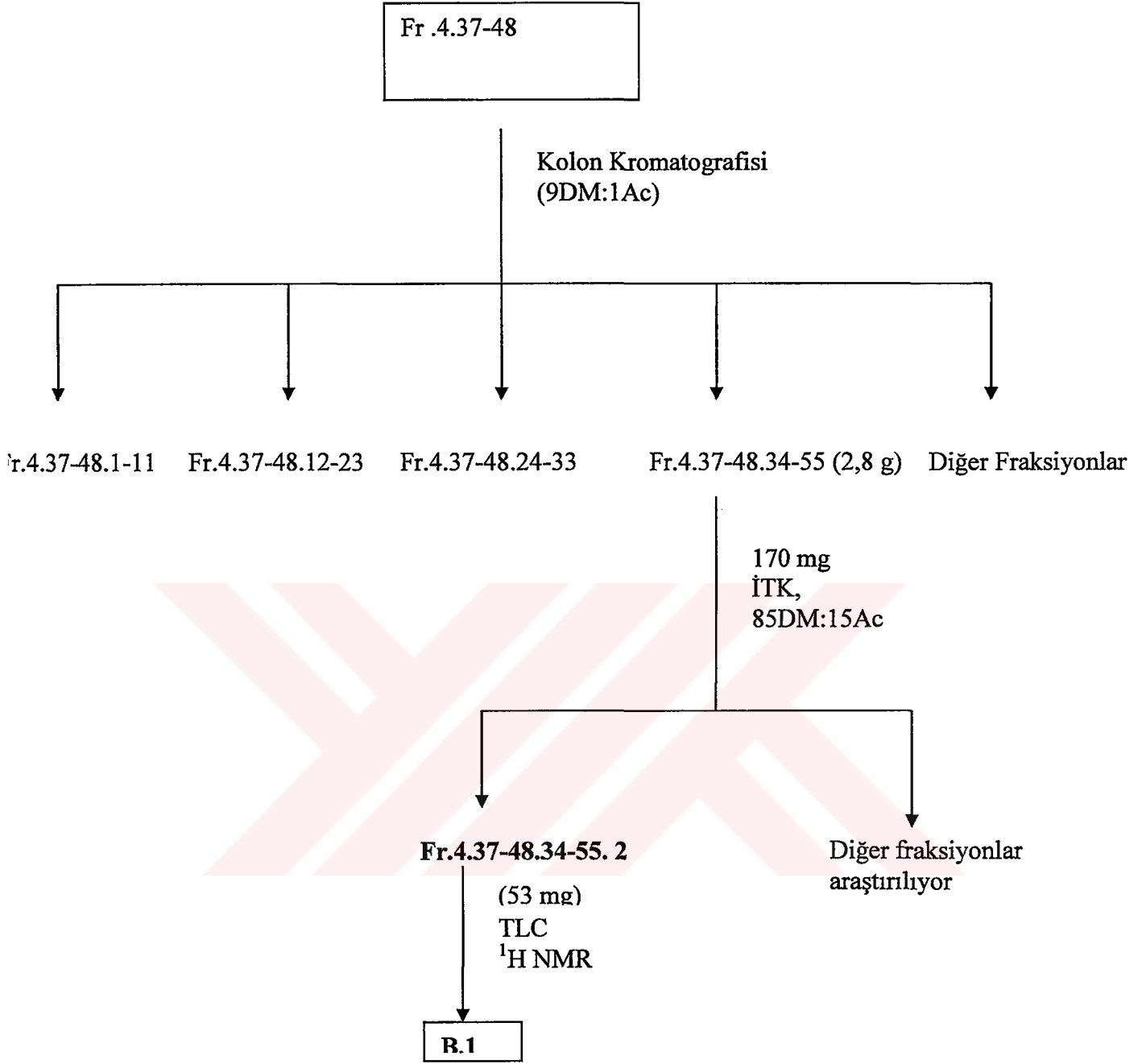
B4: Sideroxol(*ent-7 α -18-dihidroksi-15 β ,16 β epksikauran*)

B5: Athanolone(*ent-7 α -17,18-trihidroksi-9,(11)-en-12-on*)

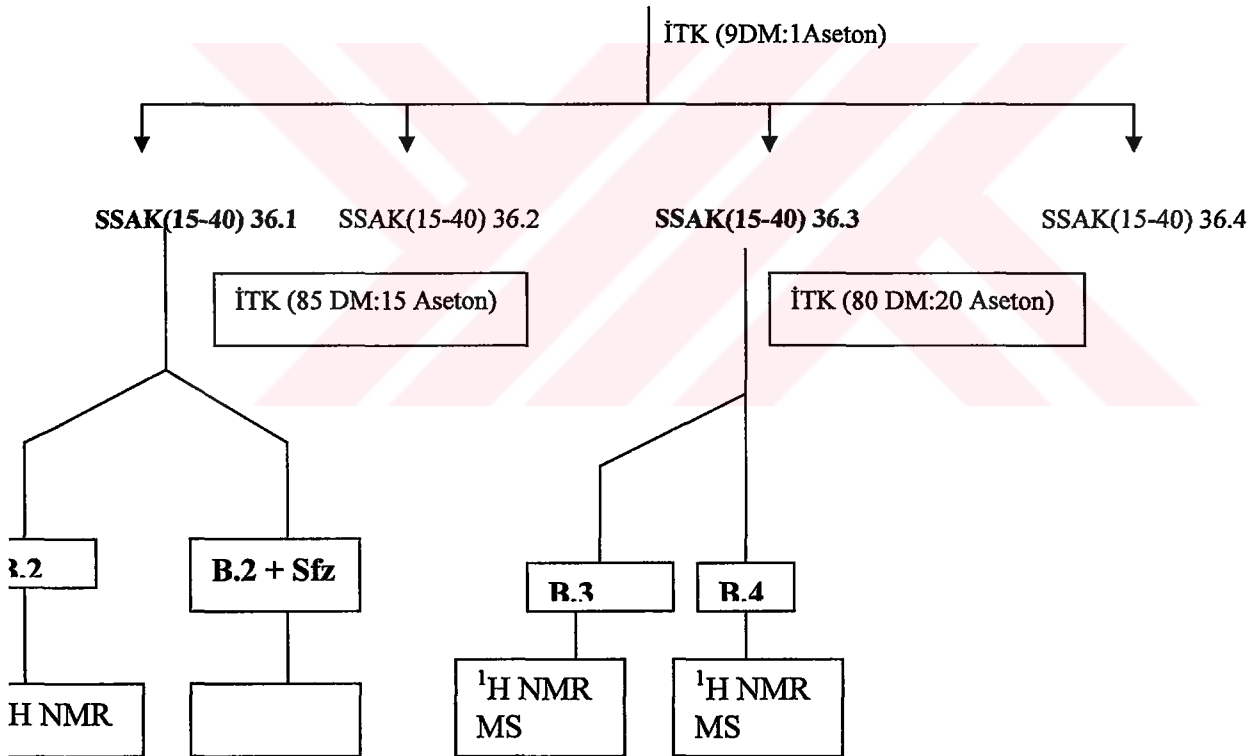
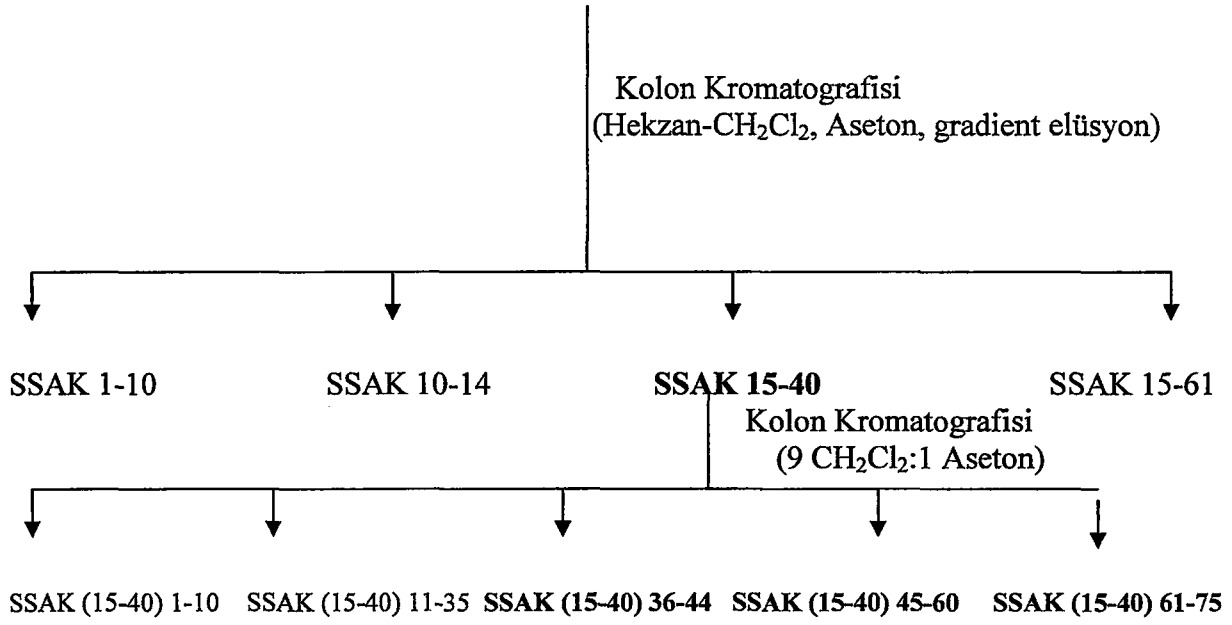
S. stricta bitkisinin diterpen bileşiklerini izole etmek ve yapıları tayin etmek için yapılan çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.



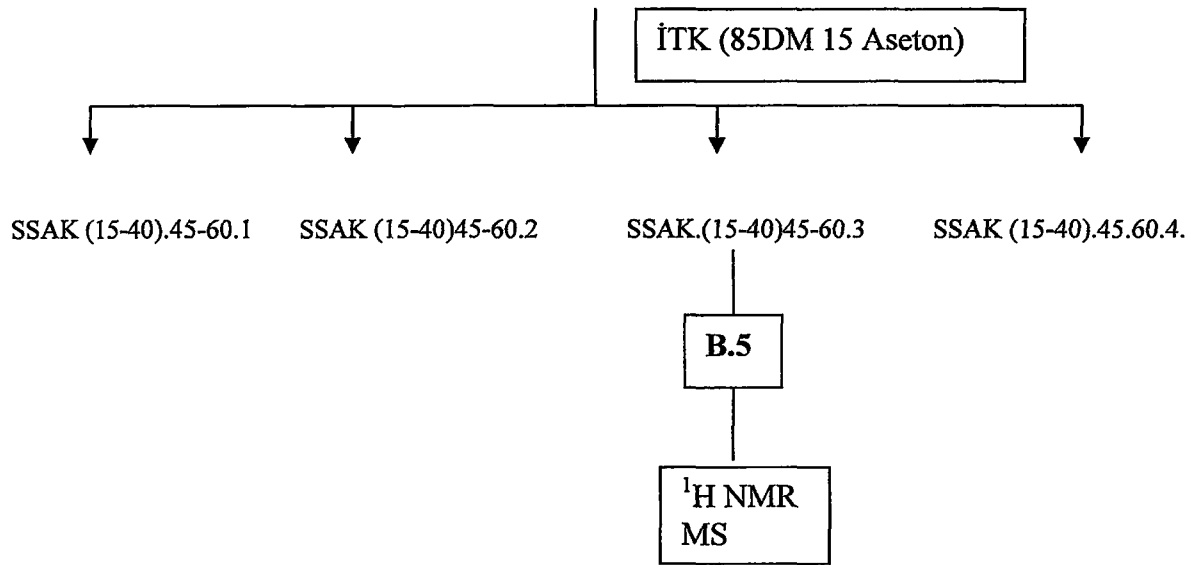




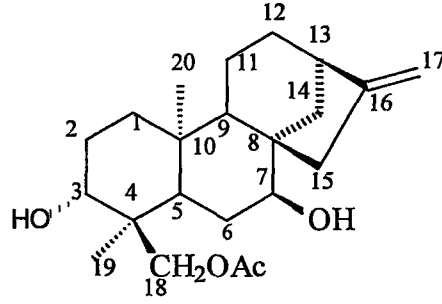
Fr.4.37-48.34-55 (2,5 g) ve diğer fraksiyonlar birleştirildi. Fraksiyonuna SSAK adı verildi ve Kolon Kromatografisi yapıldı.



SSAK (15-40) 45-60



B.1 (Linearol) (*ent*-3 β ,7 α -dihidroksi,18-asetoksi-kaur-16-ene)



B.1 bileşiği *Sideritis stricta* bitkisinin aseton ekstresinden 90DM:10Ac sisteminde 53 mg olarak izole edilmiştir. Bileşiğin Spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapısının *ent*-3 β ,7 α -dihidroksi,18-asetoksi-kaur-16-ene (Linearol) olduğu belirlendi [46-51].

IR (cm⁻¹): 3445-3400 (OH), 1717 (C=O), 1655 ve 875 (C=C); **¹H NMR (500 MHz, CDCl₃):** δ : 4.81 (2H, br s H₂-17), 3.99-4.07 (2H, dd, J =11.5 Hz., H₂-18), 3.67 (1H, t, J = 2.5 Hz, H-7), 3.53 (dd, 1H, J = 7.5 Hz ve 9 Hz, H-3), 2.72 (1H, m, H-13), 2.09 (3H, s, OAc), 1.05 (3H, s, Me-20), 0.77(3H, s, Me-19). **¹³C- NMR (125 MHz, CDCl₃):** δ : 38.37(C-1), 27.28 (C-2), 72.21 (C-3), 38.76 (C-4), 38.37 (C-5), 26.44 (C-6), 76.84 (C-7), 47.93 (C-8), 50.22 (C-9), 38.27 (C-10), 17.81 (C-11), 33.51(C-12), 43.62 (C-13), 38.14 (C-14), 44.01 (C-15), 154.95 (C-16), 103.55 (C-17), 66.01 (C-18), 11.91(C-19), 17.93 (C-20), 21.15 (O-COCH₃), 171.82(O-COCH₃). **EIMS (rel.int.):** m/z : 362.2 [M]⁺ (12) (C₂₂H₃₄O₄), 344.2 [M-H₂O]⁺(43), 326.2 [M-2H₂O]⁺ (98), 302.2 [M-OAc]⁺ (36).

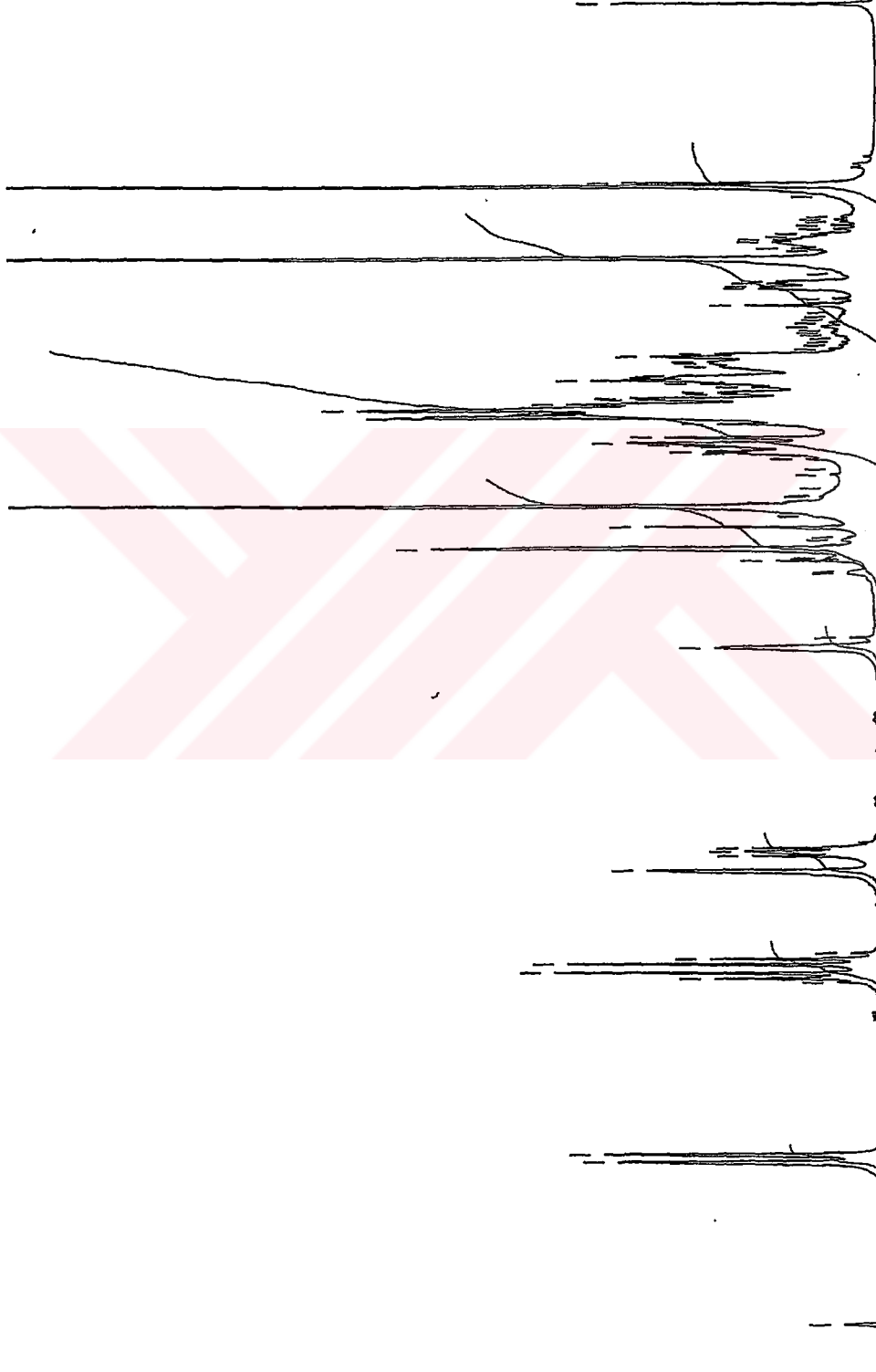


Current Data Parameters
 NAME SCA.1 1H T.KILIC
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20050117
 Time 10.01
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm BBI LH-BB
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 256
 DS 2
 SWH 10964.912 Hz
 FIDRES 0.167311 Hz
 AQ 2.9885373 sec
 RG 114
 DW 45.600 usec
 DE 6.00 usec
 TE 291.6 K
 D1 1.00000000 sec
 MCREST 0.00000000 sec
 MCWRK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 7.90 usec
 PL1 0.00 dB
 SFO1 500.1347512 MHz
 F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 500.1300068 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00

3.55
 3.52
 3.52
 2.68
 2.64
 2.37
 2.36
 2.32
 2.32
 2.34
 2.30
 2.27
 2.23
 2.22
 2.18
 2.13
 2.09
 2.07
 2.05
 2.04
 2.01
 1.96
 1.94
 1.89
 1.87
 1.87
 1.86
 1.85
 1.84
 1.83
 1.81
 1.75
 1.73
 1.72
 1.72
 1.71
 1.71
 1.71
 1.69
 1.67
 1.65
 1.64
 1.63
 1.62
 1.60
 1.58



5.80
 13.10
 26.45
 12.49
 1.66
 3.69
 3.53
 2.99
 0.17

Şekil 2. 1 Linearol Bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃)



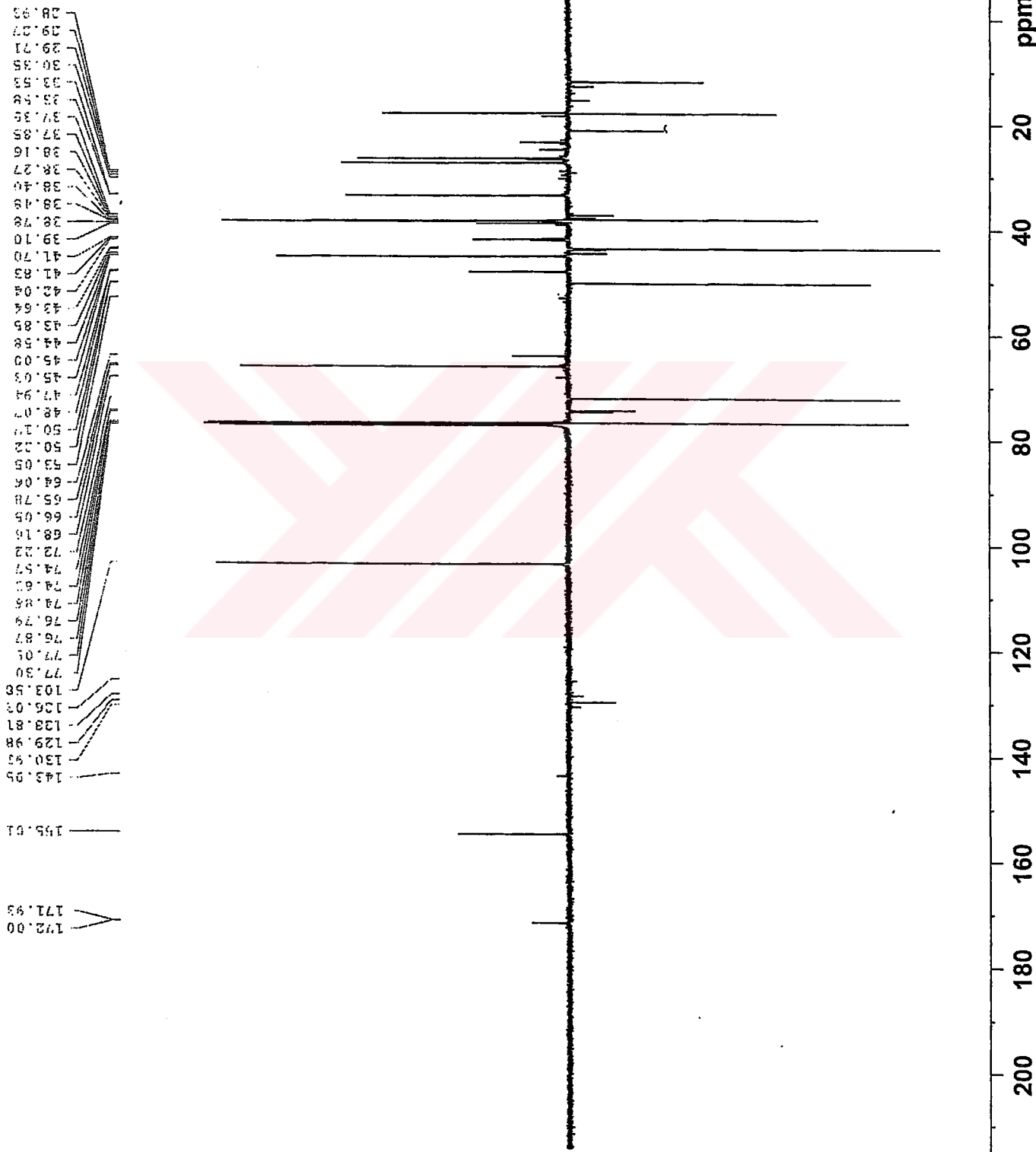
Current Data Parameters
 NAME SCA.1 13C APT T.K
 EXPNO 5
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20050126
 Time_ 14.55
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm BBI LH-BB
 PULPROG jmod
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 30720
 DS 4
 SWH 30030.029 Hz
 FIDRES 0.458222 Hz
 AQ 1.0912410 sec
 RG 16384
 DW 16.650 usec
 DE 6.00 usec
 TE 293.5 K
 CNST2 145.0000000
 CNST11 1.0000000
 D1 1.0000000 sec
 d20 0.00689655 sec
 DELTA 0.00001783 sec
 MCREST 0.0000000 sec
 MCWRK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 13C
 P1 14.00 usec
 P2 28.00 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 125.7703643 MHz

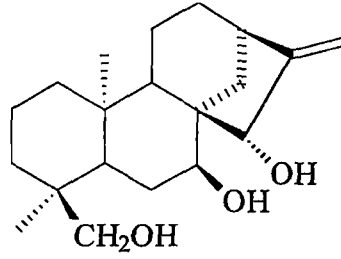
===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 1H
 PCPD2 82.00 usec
 PL2 0.00 dB
 PL12 19.00 dB
 SFO2 500.1320005 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 125.7577890 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



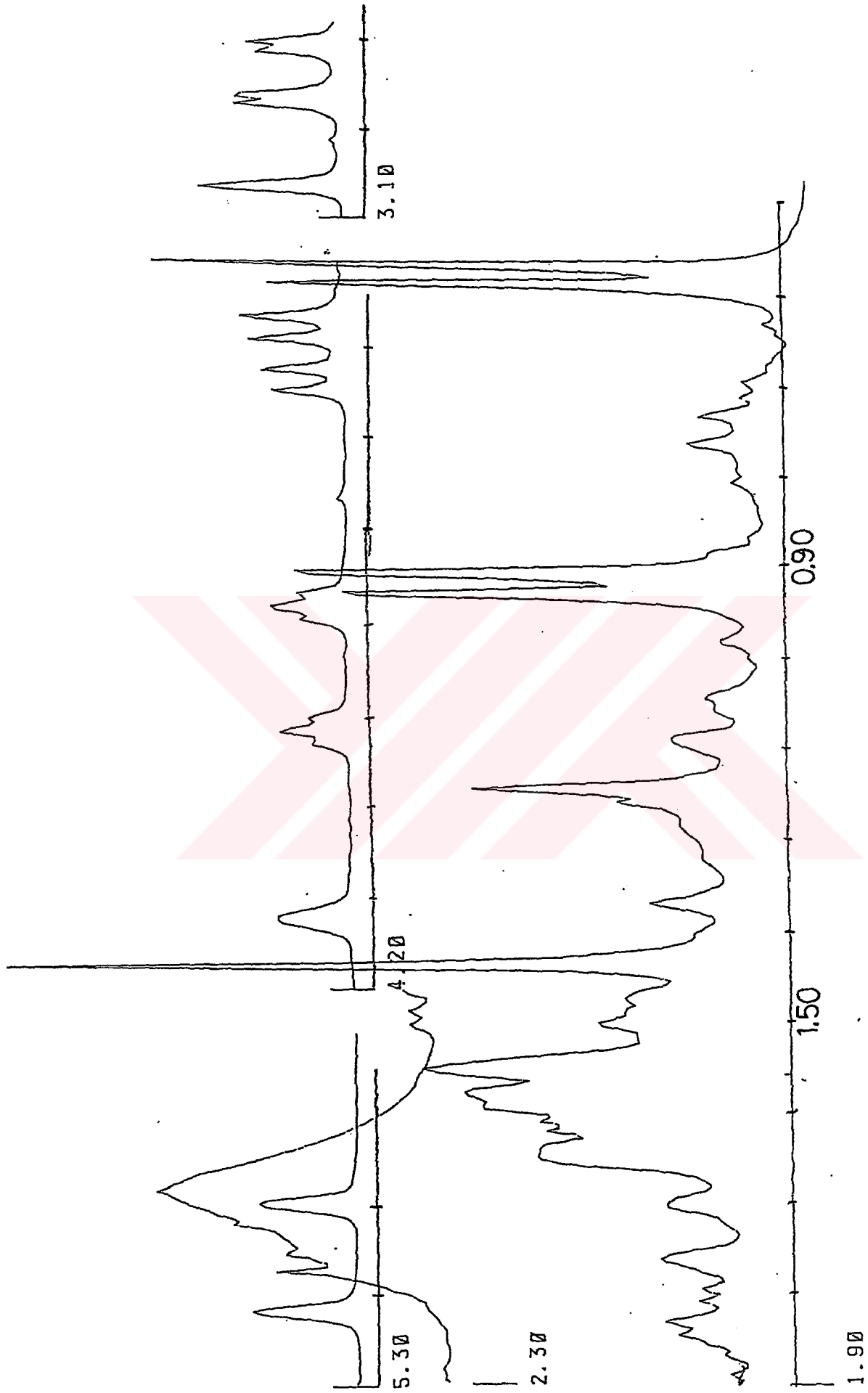
Şekil 2.2 Linearol Bileşiğinin ¹³C NMR Spektrumu (CDCl₃)

B.2 *Ent-7 α ,15 β ,18 β ,trihidroksikaur-16-en*



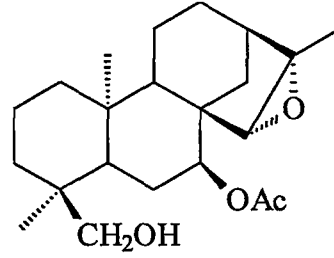
B.2 bileşiği *Sideritis stricta* bitkisinin aseton ekstresinden 85DM:15Ac sisteminde 15 mg olarak izole edilmiştir. Bileşiğin Spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapısının *ent-7 α ,15 β ,18 β ,trihidroksikaur-16-en* olduğubelirlendi[52].

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ : 5.23 (1H, s H₁-17), 5.08 (1H, s, H-17b), 4.13 (1H, 1H, br s, H-15), 3.91 (1H, t, J =2.5 Hz.,H-7), 2.97(1H, d, J =12Hz H-18a), 3.52 (1H, dd, J = 12 Hz, H-18b), 1.03 (3H, s, Me-20), 0.71 (3H, s, Me-19).



Şekil.2.3 Ent-7α-15β,18 trihidroksi kaur-16-en Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu

B.3 (7-asetoksi sideroxol) (*ent*-7 α -asetil-18-hidroksi-15 β ,16 β epksikauran)



B.3 bileşiği *Sideritis stricta* bitkisinin aseton ekstresinden 80DM:20Ac sisteminde 57 mg olarak izole edilmiştir. Bileşiğin Spektrel verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapısının *ent*-7 α -asetoksi,18-hidroksi-15 β ,16 β -epksikauran (7-asetoksi sideroxol) olduğu belirlendi [53].

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ : 4.78 (1H, J = 3 Hz, H-7), 3.0 (1H, d, J = 12 Hz H-18a), 3.36 (1H, d, J = 12 Hz, H-18b), 2.07 (3H, s, OAc), 1.44 (3H, s, Me-17), 1.03 (3H, s, Me-19), 0.68 (3H, s, Me-20).

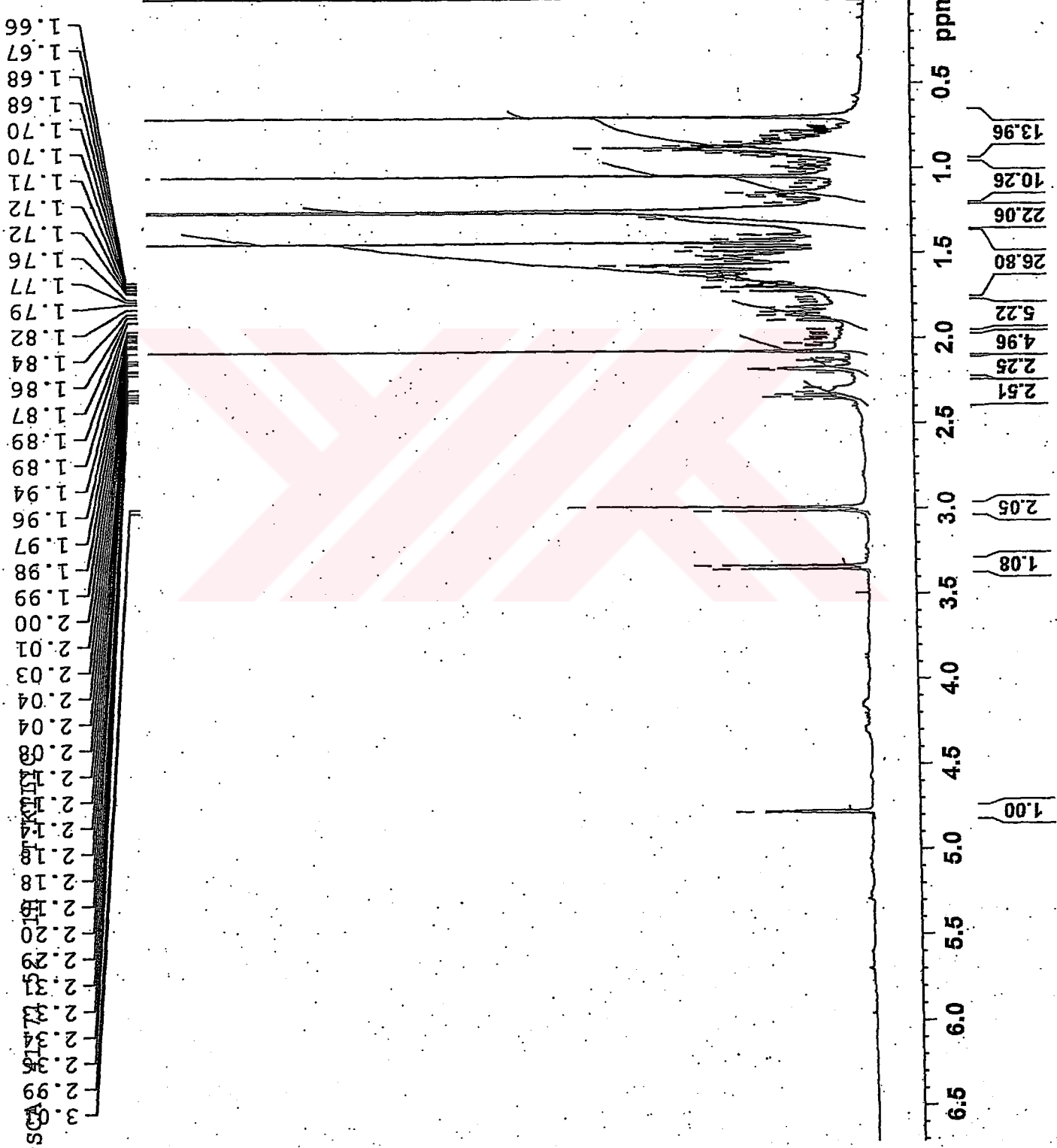


Current Data Parameters
 NAME SCA.41.71.52 1H T.
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20050117
 Time 11.56
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 256
 DS 2
 SWH 10964.912 Hz
 FIDRES 0.167311 Hz
 AQ 2.9885373 sec
 RG 228.1
 DW 45.600 usec
 DE 6.00 usec
 TE 292.0 K
 DI 1.0000000 sec
 MCREST 0.0000000 sec
 MCWRK 0.0150000 sec

CHANNEL f1
 NUC1 1H
 P1 7.90 usec
 PL1 0.00 dB
 SF01 500.1347512 MHz

F2 - Processing Parameters
 SI 32768
 SF 500.1300094 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00



Şekil.2.4 7-asetoksi Sideroxol Bileşiğinin ¹H NMR Spektrumu

Current Data Parameters
 NAME SCA.41.71.52 APT T.K
 EXPNO 4
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

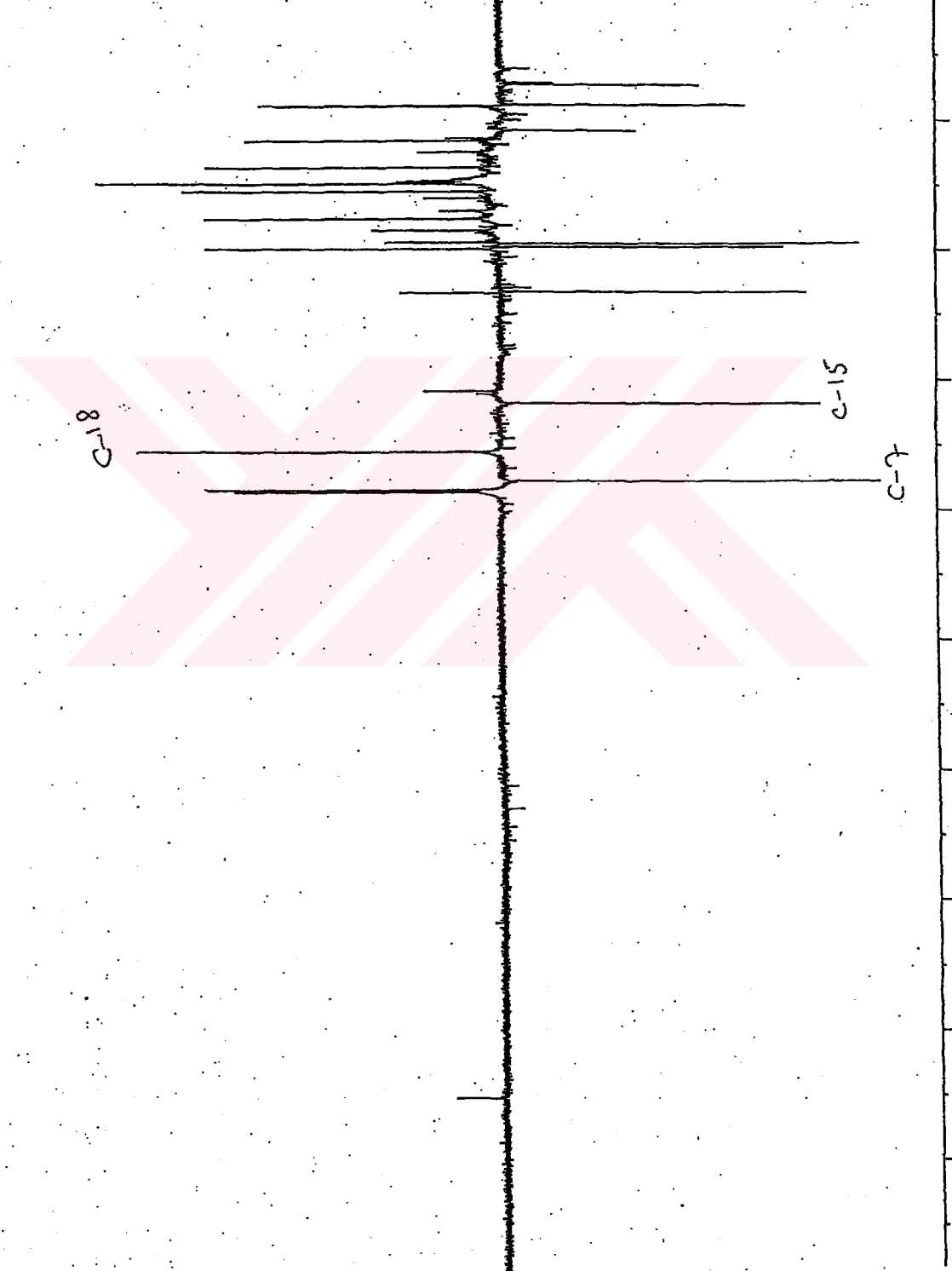
Date_ 20050125
 Time_ 14.30
 INSTRUM spect
 PROBD 5 mm BBI 1H-BB
 PULPROG jmod
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 30720
 DS 4
 SWH 30030.029 Hz
 FIDRES 0.458222 Hz
 AQ 1.0912410 sec
 RG 16384
 DW 16.650 usec
 DE 6.00 usec
 TE 293.5 K
 CNST2 145.000000
 CNST11 1.0000000
 D1 1.00000000 sec
 d20 0.00689655 sec
 DELTA 0.00001783 sec
 MCREST 0.00000000 sec
 MCWRK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 13C
 P1 14.00 usec
 P2 28.00 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 125.7703643 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 1H
 PCPD2 82.00 usec
 PL2 0.00 dB
 PL12 19.00 dB
 SFO2 500.1320005 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 125.7577890 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

177.51
170.64
143.81
130.91
128.80
126.00
122.50
110.40
108.70
80.59
80.16
79.03
77.33
77.08
76.82
75.77
75.45
73.53
73.20
71.02
70.43
68.89
68.16
65.65
65.05
63.53
62.11
61.71
56.01
55.13
54.61
51.21
49.91
49.51
47.81
47.51
47.11
46.61
45.71
45.31
45.11
41.71
41.61
41.01
40.61
39.71
39.41
39.31
38.81
38.71
38.61
37.71
37.61
35.51
35.41
35.31
35.21
35.11
35.01
34.91
34.81
34.71
34.61
34.51
34.41
34.31
34.21
34.11
34.01
33.91
33.81
33.71
33.61
33.51
33.41
33.31
33.21
33.11
33.01
32.91
32.81
32.71
32.61
32.51
32.41
32.31
32.21
32.11
32.01
31.91
31.81
31.71
31.61
31.51
31.41
31.31
31.21
31.11
31.01
30.91
30.81
30.71
30.61
30.51
30.41
30.31
30.21
30.11
30.01
29.91
29.81
29.71
29.61
29.51
29.41
29.31
29.21
29.11
29.01
28.91
28.81
28.71
28.61
28.51
28.41
28.31
28.21
28.11
28.01
27.91
27.81
27.71
27.61
27.51
27.41
27.31
27.21
27.11
27.01
26.91
26.81
26.71
26.61
26.51
26.41
26.31
26.21
26.11
26.01
25.91
25.81
25.71
25.61
25.51
25.41
25.31
25.21
25.11
25.01
24.91
24.81
24.71
24.61
24.51
24.41
24.31
24.21
24.11
24.01
23.91
23.81
23.71
23.61
23.51
23.41
23.31
23.21
23.11
23.01
22.91
22.81
22.71
22.61
22.51
22.41
22.31
22.21
22.11
22.01
21.91
21.81
21.71
21.61
21.51
21.41
21.31
21.21
21.11
21.01
20.91
20.81
20.71
20.61
20.51
20.41
20.31
20.21
20.11
20.01
19.91
19.81
19.71
19.61
19.51
19.41
19.31
19.21
19.11
19.01
18.91
18.81
18.71
18.61
18.51
18.41
18.31
18.21
18.11
18.01
17.91
17.81
17.71
17.61
17.51



Şekil 2.5 7-asetoksi Sideroxol Bilesiğinin ¹³C NMR Spektrumu



Current Data Parameters
 NAME: 7-asetoksi Sideroxol Bileşiminin
 SCA: 41.71.52 400C T.K
 PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters

Date: 20030123
 Time: 11:31
 PULPROG: zgpg30
 TO: 1024
 SOLVENT: CDCl3
 NS: 15
 DS: 4
 SWH: 3125.000 Hz
 FIDRES: 3.951789 Hz
 AQ: 0.1640500 sec
 RG: 18380.4
 DW: 180.000 usec
 DE: 282.4 N
 TE: 302.4 K
 CNSTZ: 145.0000000 sec
 D0: 0.0000000 sec
 D1: 1.23772184 sec
 D2: 0.0000000 sec
 D3: 0.0000000 sec
 D4: 0.0000000 sec
 D16: 0.00010000 sec
 DELTA1: 0.00232428 sec
 INO: 0.00005400 sec
 MCHRG1: 0.00000000 sec
 MCHRG2: 1.13774104 sec

CHANNEL F1
 NUC1: 1H
 P1: 7.50 usec
 PL1: 18.00 dB
 SFO1: 500.1315951 MHz

CHANNEL F2
 CPDPRG2: gssp
 NUC2: 13C
 P2: 13.00 usec
 PL2: 65.00 usec
 PL12: -3.00 dB
 PL13: 10.80 dB
 SFO2: 125.7672189 MHz

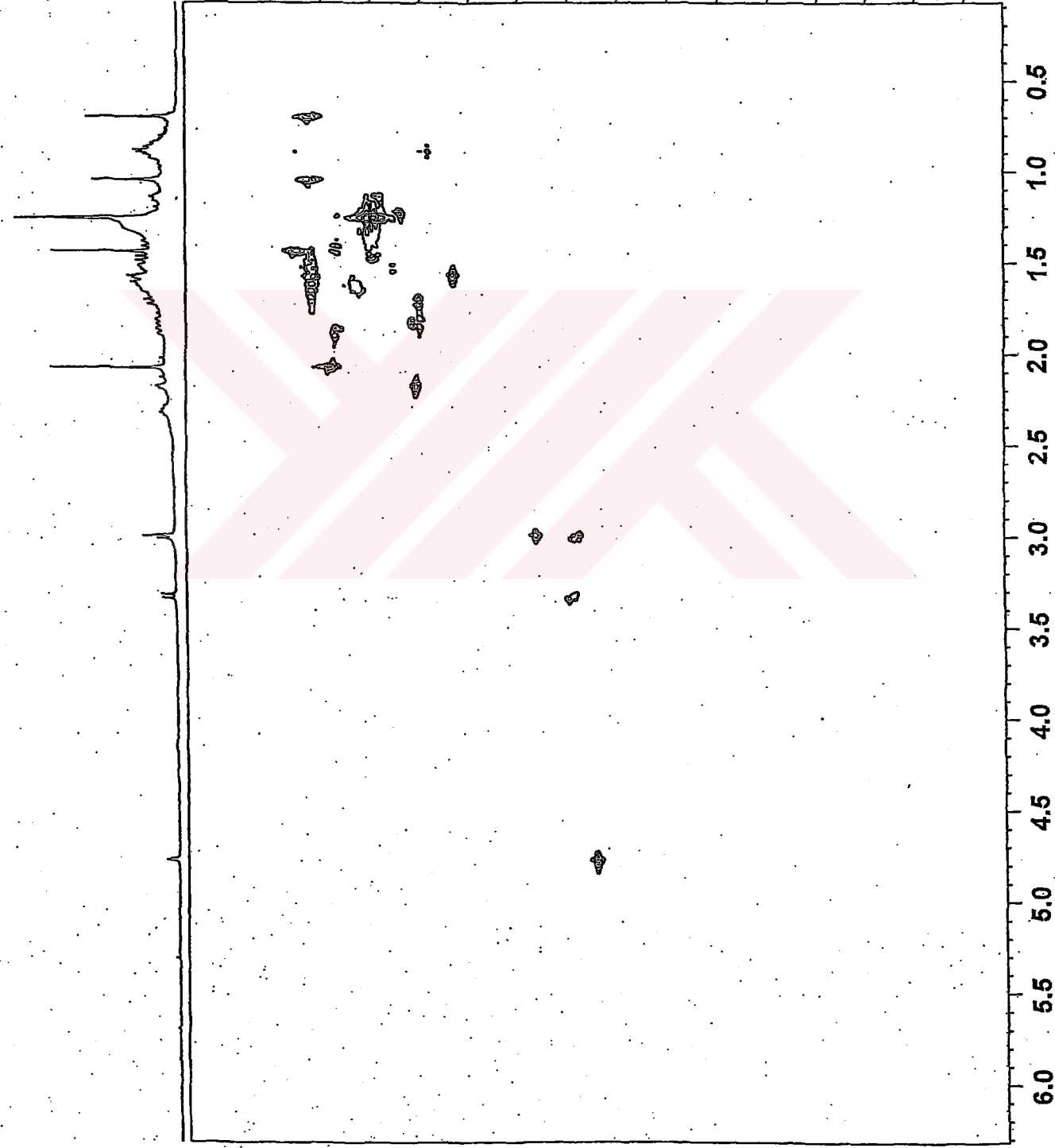
GRADIENT CHANNEL
 GPC1: 0.00 V
 GPC2: 0.00 V
 GPC3: 0.00 V
 GPC4: 0.00 V
 GPC5: 0.00 V
 GPC6: 0.00 V
 GPC7: 0.00 V
 GPC8: 0.00 V
 GPC9: 0.00 V
 GPC10: 0.00 V
 GPC11: 0.00 V
 GPC12: 0.00 V
 GPC13: 0.00 V
 GPC14: 0.00 V
 GPC15: 0.00 V
 GPC16: 0.00 V
 GPC17: 0.00 V
 GPC18: 0.00 V
 GPC19: 0.00 V
 GPC20: 0.00 V
 GPC21: 0.00 V
 GPC22: 0.00 V
 GPC23: 0.00 V
 GPC24: 0.00 V
 GPC25: 0.00 V
 GPC26: 0.00 V
 GPC27: 0.00 V
 GPC28: 0.00 V
 GPC29: 0.00 V
 GPC30: 0.00 V
 GPC31: 0.00 V
 GPC32: 0.00 V
 GPC33: 0.00 V
 GPC34: 0.00 V
 GPC35: 0.00 V
 GPC36: 0.00 V
 GPC37: 0.00 V
 GPC38: 0.00 V
 GPC39: 0.00 V
 GPC40: 0.00 V
 GPC41: 0.00 V
 GPC42: 0.00 V
 GPC43: 0.00 V
 GPC44: 0.00 V
 GPC45: 0.00 V
 GPC46: 0.00 V
 GPC47: 0.00 V
 GPC48: 0.00 V
 GPC49: 0.00 V
 GPC50: 0.00 V
 GPC51: 0.00 V
 GPC52: 0.00 V
 GPC53: 0.00 V
 GPC54: 0.00 V
 GPC55: 0.00 V
 GPC56: 0.00 V
 GPC57: 0.00 V
 GPC58: 0.00 V
 GPC59: 0.00 V
 GPC60: 0.00 V
 GPC61: 0.00 V
 GPC62: 0.00 V
 GPC63: 0.00 V
 GPC64: 0.00 V
 GPC65: 0.00 V
 GPC66: 0.00 V
 GPC67: 0.00 V
 GPC68: 0.00 V
 GPC69: 0.00 V
 GPC70: 0.00 V
 GPC71: 0.00 V
 GPC72: 0.00 V
 GPC73: 0.00 V
 GPC74: 0.00 V
 GPC75: 0.00 V
 GPC76: 0.00 V
 GPC77: 0.00 V
 GPC78: 0.00 V
 GPC79: 0.00 V
 GPC80: 0.00 V
 GPC81: 0.00 V
 GPC82: 0.00 V
 GPC83: 0.00 V
 GPC84: 0.00 V
 GPC85: 0.00 V
 GPC86: 0.00 V
 GPC87: 0.00 V
 GPC88: 0.00 V
 GPC89: 0.00 V
 GPC90: 0.00 V
 GPC91: 0.00 V
 GPC92: 0.00 V
 GPC93: 0.00 V
 GPC94: 0.00 V
 GPC95: 0.00 V
 GPC96: 0.00 V
 GPC97: 0.00 V
 GPC98: 0.00 V
 GPC99: 0.00 V
 GPC100: 0.00 V

F1 - Acquisition Parameters
 NDO: 2
 TO: 1024
 SFO1: 125.7672 MHz
 FIDRES: 182.6652 Hz
 SCA: 185.450 ppm
 ZANGRO: 0F

F2 - Processing parameters
 SI: 1024
 SF: 500.125000 MHz
 DS: 4
 SWH: 3125.000 Hz
 BBE: 0.00 Hz
 LB: 0.00 Hz
 GB: 0.00 Hz
 PC: 1.40

F1 - Processing parameters
 SI: 1024
 SF: 125.7577650 MHz
 DS: 4
 SWH: 3125.000 Hz
 BBE: 0.00 Hz
 LB: 0.00 Hz
 GB: 0.00 Hz
 PC: 0.00 Hz

ppm 0 20 40 60 80 100 120 140 ppm



Şekil 2.6 7-asetoksi Sideroxol Bileşiminin HMQC Spektrumu

Current Data Parameters
 NAME SCA-41.71.52 HMSC F.K
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Data 20050125
 Time 10.32
 INSTRUM spect
 PROBRD 9 mm BBI IH-BB
 PULPROG hbegprpgf
 TD 4096
 SOLVENT CDCl3
 NS 16
 DS 4
 SWH 3033.980 Hz
 FIDRES 0.740718 Hz
 AQ 0.6752356 sec
 RG 16394
 DW 164.800 usec
 DE 5.00 usec
 TE 291.8 K
 CNST13 9.000000 sec
 ZF 1.1254987 sec
 D6 0.0250000 sec
 D16 0.0001000 sec
 INO 0.0001790 sec
 MCHRG1 0.0000000 sec
 MCHRG2 1.13545597 sec

CHANNEL F1
 NUC1 1H
 P2 7.50 usec
 F2 15.80 usec
 PL1 0.00 dB
 SFO1 500.1316118 MHz

CHANNEL F2
 NUC2 13C
 P2 13.50 usec
 F2 125.7703443 MHz

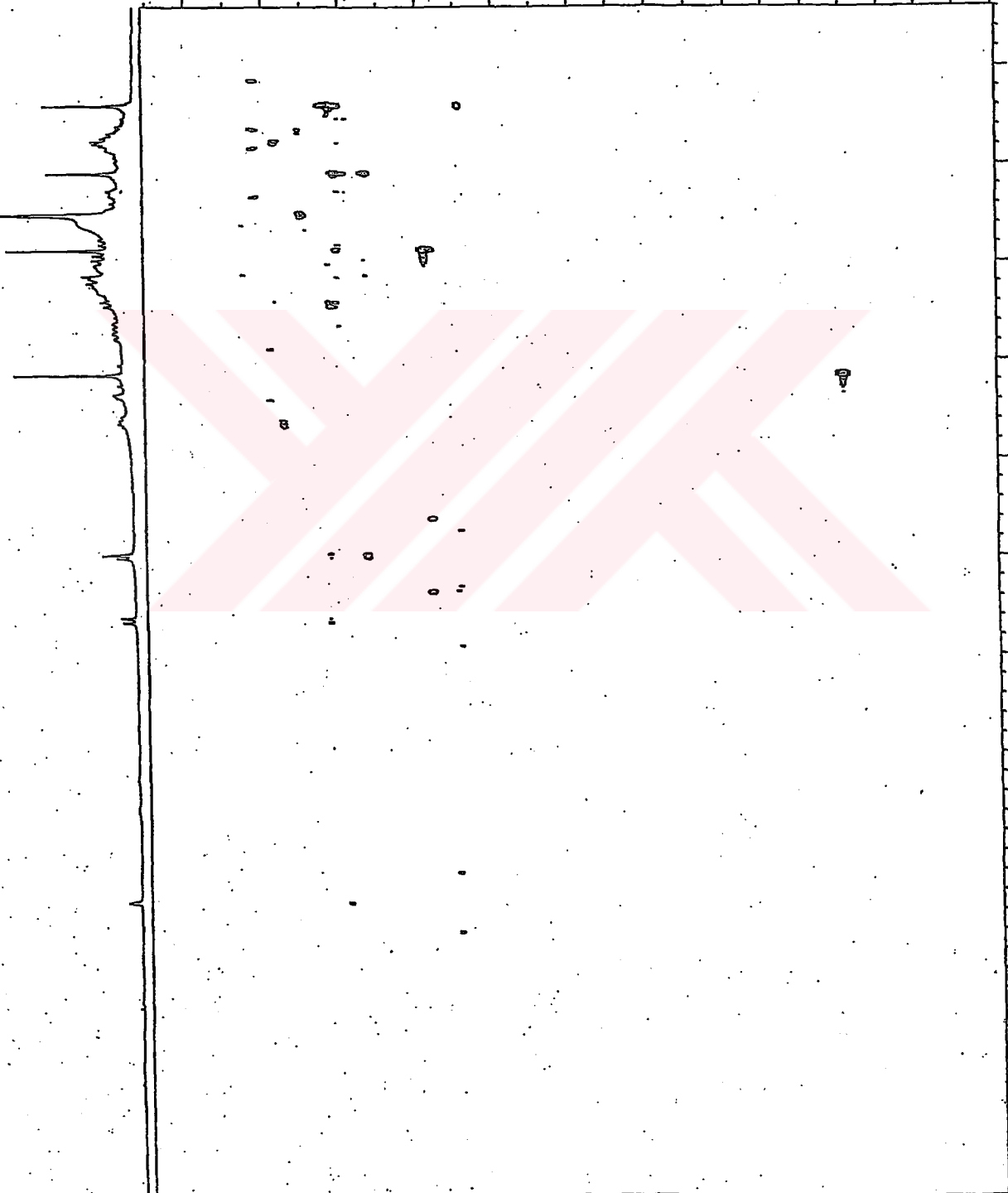
GRADIENT CHANNEL
 GPNM1 SINE.100
 GPNM2 SINE.100
 GPNM3 SINE.100
 GPN1 0.00 \$
 GPN2 0.00 \$
 GPN3 0.00 \$
 GPN4 0.00 \$
 GPN5 0.00 \$
 GPN6 50.00 \$
 GPN7 30.00 \$
 GPN8 40.10 \$
 GPN9 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
 NDO 2
 TD 128
 SFO1 125.7703443 MHz
 SFO2 218.226787 MHz
 FREQD5 224.055 PPM
 FREQD6 0

F2 - Processing parameters
 SI 1024
 SF 500.1299989 MHz
 SINE SINE
 WDW 0
 SSB 0
 GB 0
 PC 1.40

F1 - Processing parameters
 SI 1024
 MC2 0
 SF 125.7577890 MHz
 SINE SINE
 WDW 0
 SSB 0
 GB 0
 PC 1.40

ppm 0 20 40 60 80 100 120 140 160 180 200 ppm



Şekil 2.7 7-asetoksi Sideroxol Bileşiğinin HMBC Spektrumu

Current Data Parameters
 NAME SCR.41.71.52 P.KILIC
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date_ 20050125
 Time 9.59
 INSTRUM spect
 PROBRD 5 mm BBI 1H-BB
 PULPROG cosygprqf
 TD 2048
 SOLVENT CDC13
 NS 1
 DS 8
 SWH 3063.726 Hz
 FIDRES 1.495960 Hz
 AQ 0.3344468 sec
 RG 16
 DA 163.200 usec
 DE 6.00 usec
 TE 291.6 K
 AQ 0.0000300 sec
 D1 1.3066804 sec
 d12 0.0000000 sec
 D16 0.0001000 sec
 INO 0.00032640 sec
 MCREST 0.0000000 sec
 MCWRR 1.3066804 sec

CHANNEL f1

NUC1 IN
 P0 7.90 usec
 F1 7.90 usec
 FL1 0.00 dB
 SFOL 500.1316184 MHz

GRADIENT CHANNEL

GFNMN1 SINE.100
 GFNMN2 SINE.100
 GPX1 0.00 %
 GPX2 0.00 %
 GPY1 0.00 %
 GPY2 0.00 %
 GPZ1 10.00 %
 GPZ2 10.00 %
 P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters

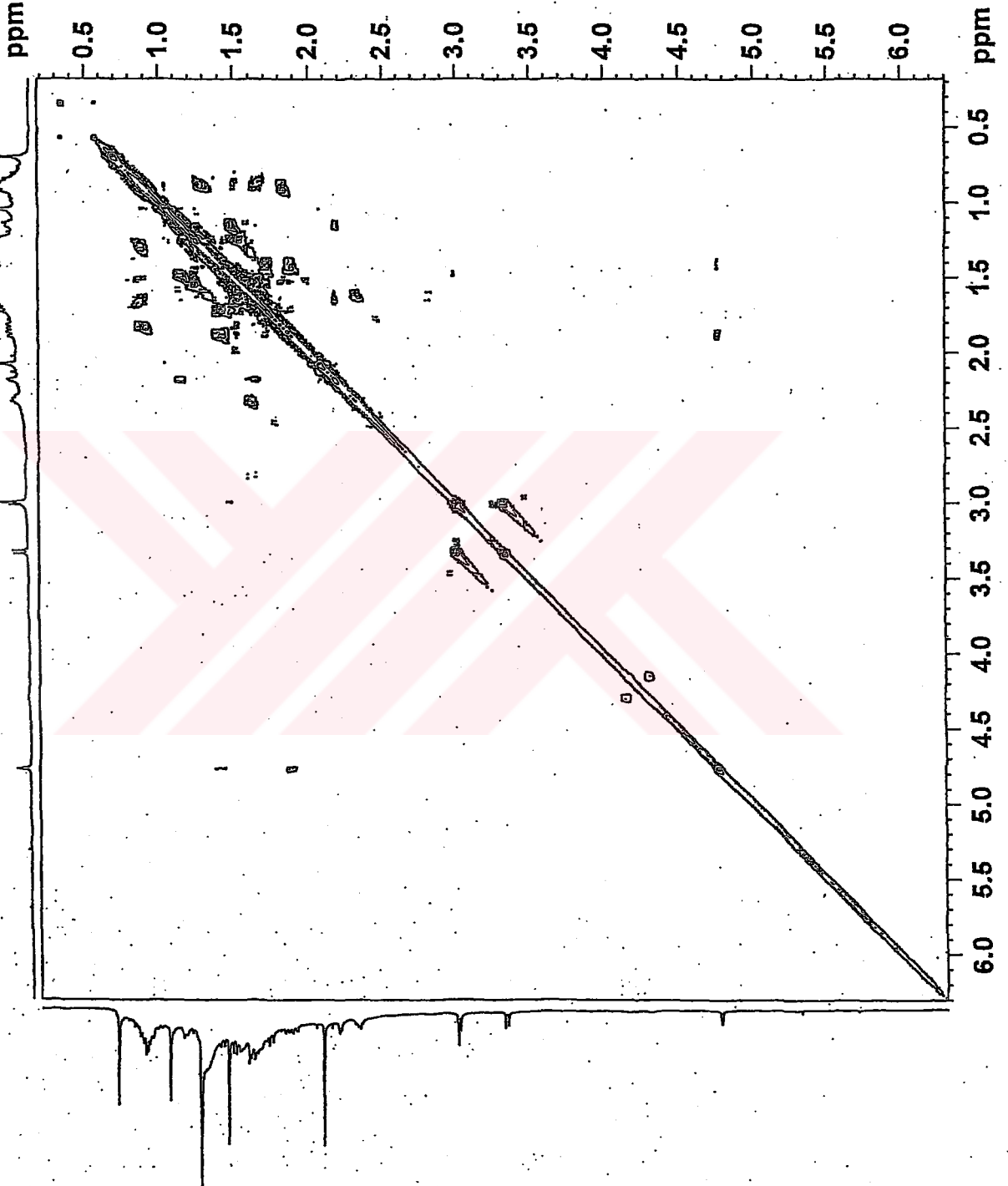
ND0 1
 TD 128
 SFOL 500.1316184 MHz
 FIDRES 23.935356 Hz
 SW 6.126 ppm
 FMODE QF

F2 - Processing parameters

SI 1024
 SF 500.1299987 MHz
 SINE
 SSB 0
 LB 0.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

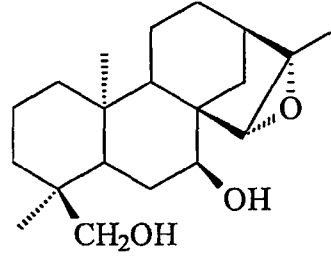
F1 - Processing parameters

SI 1024
 MCZ QF
 SF 500.1299987 MHz
 SINE
 SSB 0
 LB 0.00 Hz
 GB 0



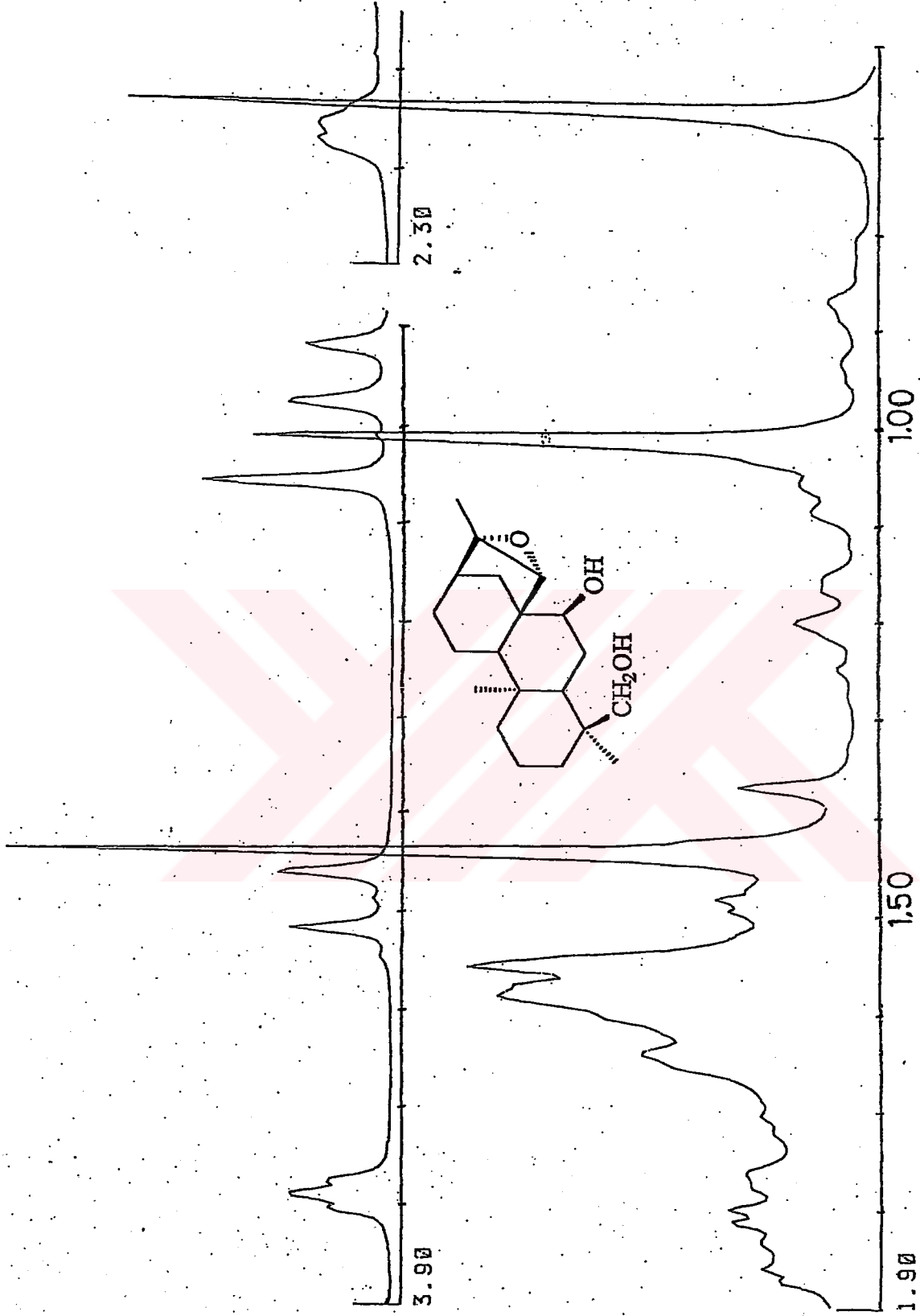
Şekil 2.8 7-asetoksi Sideroxol Bileşiğinin COSY Spektrumu

B.4 Sideroxol (*ent*-7 α -18-dihidroksi-15 β ,16 β epksikauran)



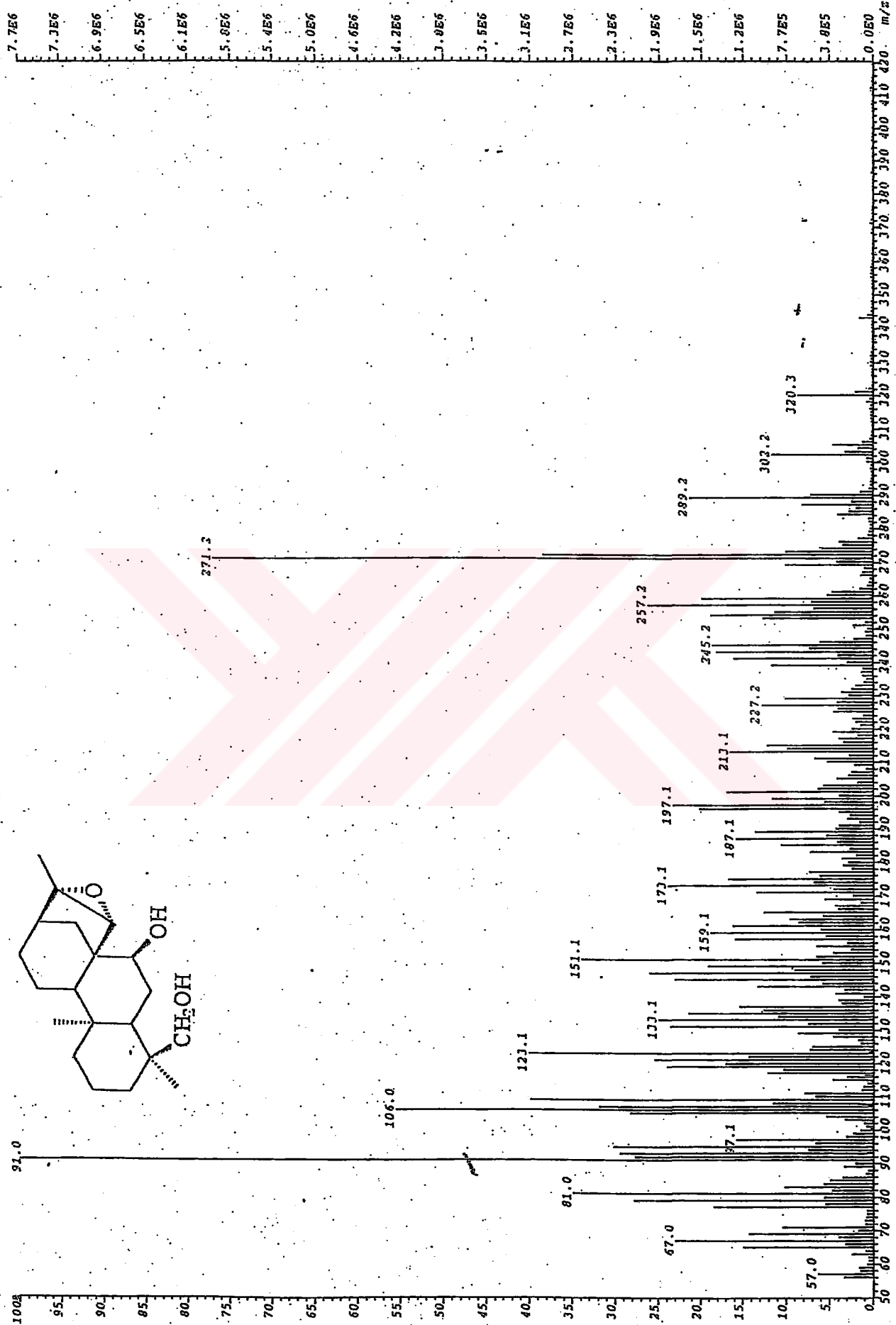
B.4 bileşiği *Sideritis stricta* bitkisinin aseton ekstresinden 80DM:20Ac sisteminde 24 mg olarak izole edilmiştir. Bileşiğin Spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapısının *ent*-7 α -18-dihidroksi-15 β ,16 β epksikauran (sideroxol) olduğu belirlendi [53].

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ : 4.79 (1H, J =3 Hz, H-7), 2.96 (1H, d, J =12 Hz H-18a), 3.49 (1H, d, J =12 Hz, H-18b), 1.40 (3H, s, Me-17), 1.04 (3H, s, Me-19), 0.69 (3H, s, Me-20). EIMS (rel.int.): m/z : 320.3 [M]⁺ (10), 302.2 [M-H₂O]⁺(13), 289.2 [M-CH₂OH]⁺ (22), 271.2 (7), 257.2 (28), 245.2(20).

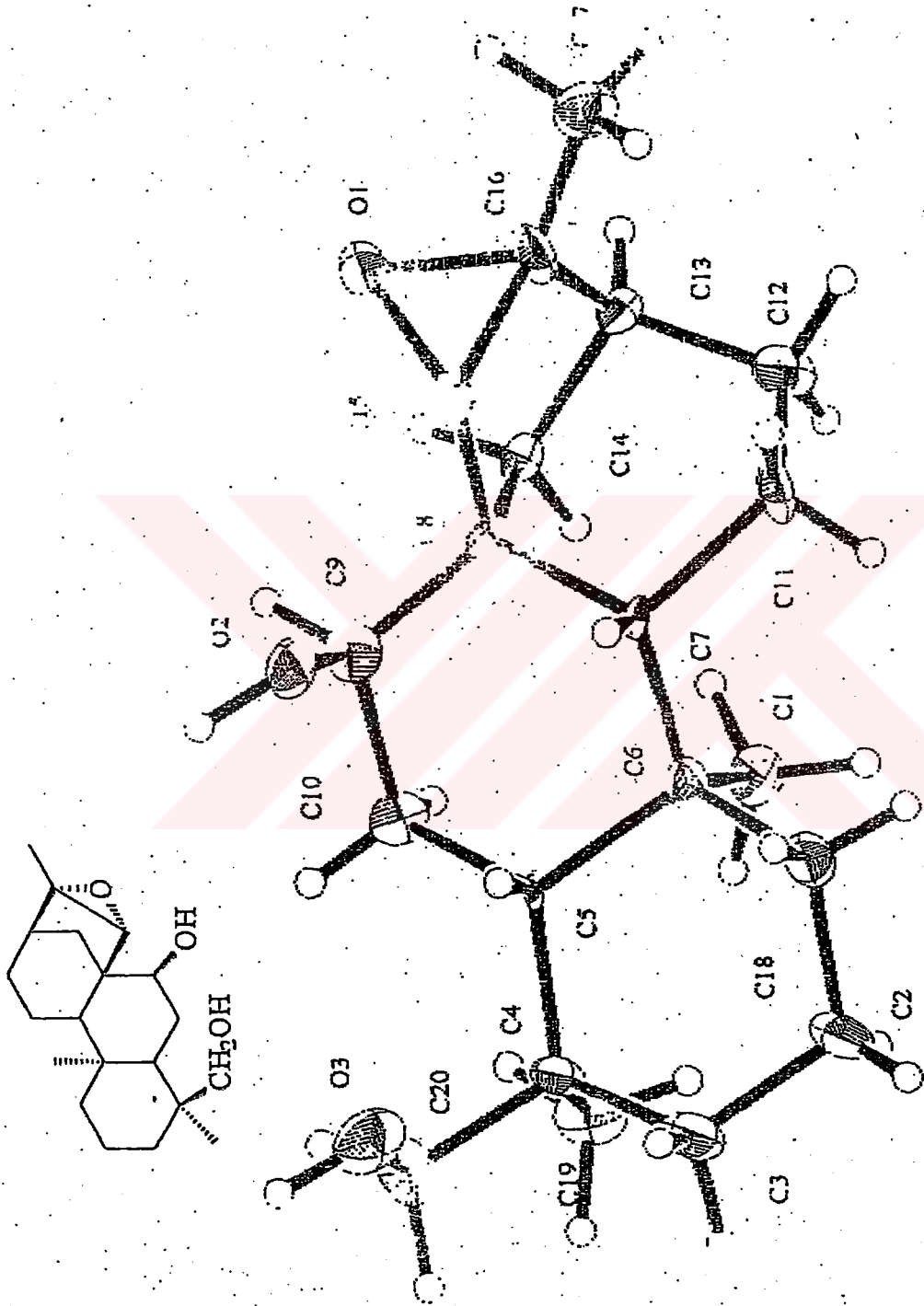


Şekil.2.9 Ent-7 α ,18 dihidroksi, 15 β ,16 β - epoksikauran Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu

File: JUL-SD-16-SP-CC Ident: 20_22-5_7 Min 1000PPM Acq: 9-JUL-1999 15:29:58 #1.02 Cal: JUL-9
 Zabspec EI+ Magnet BpM: 91 BpI: 767576 TIC: 168240864 Flags: HALB

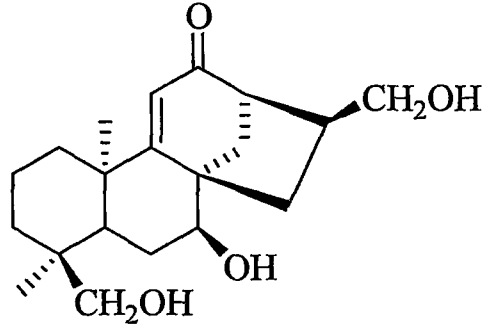


Sekil 2.10 Ent-7 α -18 dihidroksi, 15 β ,16 β - epoksikauran Bileşiginin EI/MS Spektrumu



Şekil.2.11 Ent-7 α -18 dihidroksi, 15 β ,16 β - epoksikauran Bileşiğinin X-ray Spektrumu

B.5 Athanolone (*ent*-7 α -17,18-trihidroksi-9,(11)-*en*-12-*on*)



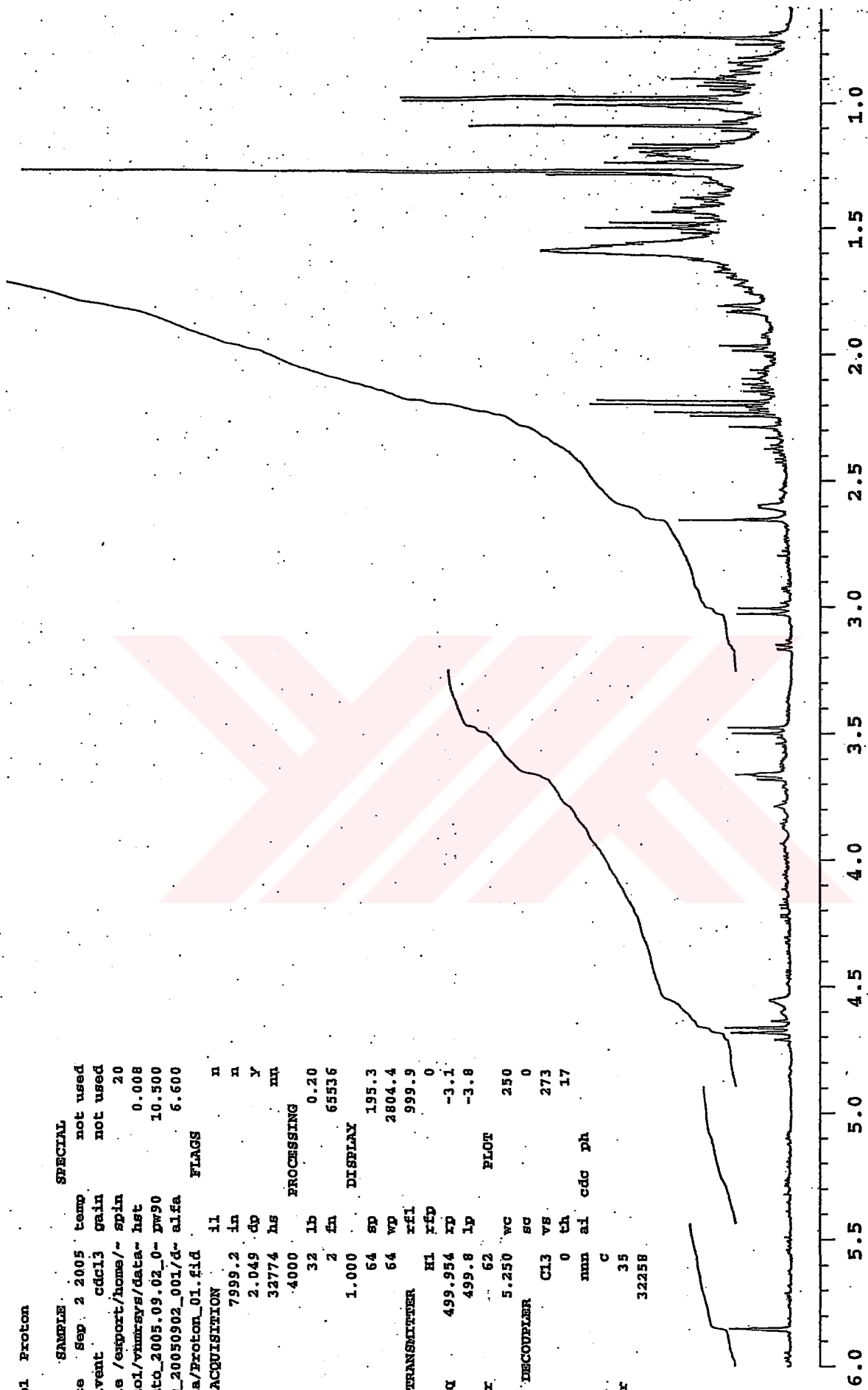
B.5 bileşiği *Sideritis stricta* bitkisinin aseton ekstresinden 85DM:15Ac sisteminde 20 mg olarak izole edilmiştir. Bileşiğin Spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapısının *ent*-7 α -17,18-trihidroksi-9,(11)-*en*-12-*on* (Athanolone) olduğu belirlendi [54].

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ : 3.65 (1H, J =3 Hz, H-7), 2.57 (1H, m, H-13), 2.98 (1H, d, J =12 Hz H-18a), 3.47 (1H, d, J = 12 Hz, H-18b), 4.65 (3H, s, Me-17), 1.06 (3H, s, Me-19), 0.69 (3H, s, Me-20). EIMS (rel.int.): m/z : 334.2 [M]⁺.

ACQD+0.3 LH TEST

exp1 Proton

date	sep 2 2005	temp	not used
solvent	cdcl3	gain	not used
file	/export/home/~spjn	20	
auto1/vnmrsvs/data-hst	0.008		
/auto_2005.09.02_0-pw90	10.500		
3/s_20050902_001/d-alfa	6.600		
ata/Proton_01.fid		FLAGS	
ACQUISITION	il		
sv	7999.2	in	x
at	2.049	cp	y
np	32774	hs	ni
fb	4000	PROCESSING	
bs	32	lb	0.20
ss	2	fn	65536
dl	1.000	DISPLAY	
nt	64	sd	195.3
ct	64	wp	2804.4
TRANSMITTER	zfl		999.9
tn	H1	rfd	0
sfreq	499.954	rp	-3.1
tof	499.8	lp	-3.8
tpwz	62	PLOT	
pw	5.250	wc	250
DECOUPLER	sc		0
dn	Cl3	vs	273
dof	0	th	17
dm	nuu	ai	cdg
dmm	c		ph
cpwr	35		
dmf	32358		



Şekil.2.12 Bileşiminin Ent-7α-17,18-trihidroksi-9,(11)-en-12-on ¹H-NMR Spektrumu

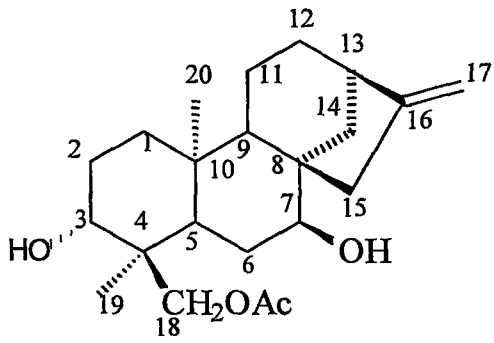
3. SONUÇ VE TARTIŞMA

Sideritis türleri genellikle kauren diterpenleri içerirler[55-61]. Bu çalışmada dünyada sadece Türkiye de yetişen endemik bir tür olan *Sideritis stricta* bitkisinin diterpen bileşikleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda 5 tane bilinen diterpen bileşiği izole edilmiştir. Elde edilen diterpenler de başlıca *ent*-kauren iskeletine sahip yapılar olup büyük ölçüde birbirlerine benzemektedirler.

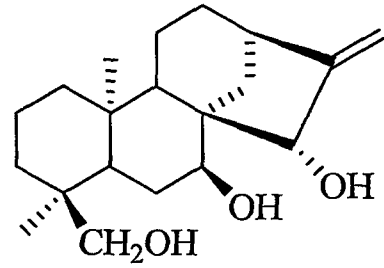
Saf olarak elde edilen bileşiklerin yapılarını belirlemek için spektroskopik yöntemlerden (IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve MS) yararlanılmıştır. Elde edilen maddelerin yapıları; **B1:** Linearol (*ent*-3β,7α-dihidroksi,18-asetoksi-kaur-16-ene), **B2:** *Ent*-7α,15β,18β, trihidroksikaur-16-en, **B3:** 7-Asetil Sideroxol (*ent*-7α-asetoksi –18-hidroksi-15β,16β epksikauran), **B4:** Sideroxol(*ent*-7α-18-dihidroksi-15β,16β epksikauran), **B5:** Athanolone(*ent*-7α-17,18-trihidroksi-9,(11)-en-12-on) olarak belirlendi (Şekil. 3.1).

Sideritis stricta bitkisinin aseton ve metanol ekstresi ile Fraksiyon 1-7 arası ve saf maddelerden linearol mikroorganizmalara karşı test edildi. Aseton ekstresinin referans madde olan Ampisilin'in değerlerine yakın derecede aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 3.1).

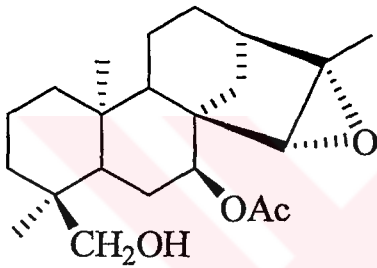
Bu çalışma neticesinde endemik bir tür olan ve sadece Türkiyede yetişen *Sideritis stricta* bitkisi fitokimyasal olarak incelenmiş ve sonuçlar ülkemizdeki ve dünyadaki bitki kimyası çalışanlarının kullanımına sunulmuştur.



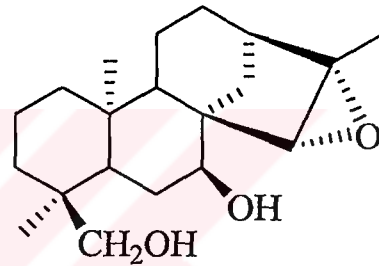
(1)



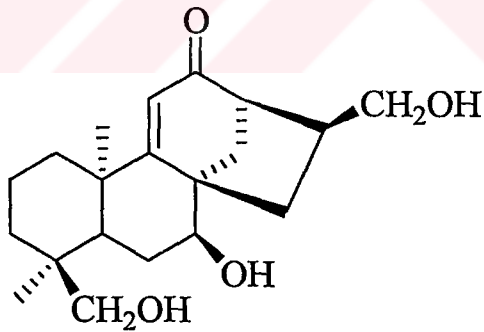
(2)



(3)



(4)



(5)

Çizelge 3.1 : Sideritis stricta bitkisinden elde edilen Maddeler

S.stricta

Aseton ekstresi	18	21	14	16
Metanol Ekstresi	14	23	9	12
Fr.1	5	1	0	0
Fr.2	4	0	0	0
Fr.3	11	17	5	10
Fr.4	24	19	12	24
Fr.5	23	18	18	17
Fr.6	18	20	13	15
Fr.7	10	15	12	14
Linearol	18	14	9	19
Etanol				
Ampisilin (10 µg)	11	30	20	0

Çizelge3.2 : Antimikrobiyal Aktivite Test Sonuçları

LİTERATÜRLER

- [1] Topçu, G., Gören, A.C., Kılıç, T., Yıldız, Y.K., Tümen, G. Diterpenes from *Sideritis argyrea*, *FITOTERAPIA*. 72, 1-4 (2001).
- [2] Topçu, G., Gören, A.C., Kılıç, T., Yıldız, Y.K., Tümen, G., Diterpenes From *Sideritis sipylea* and *Sideritis dichotoma*, *TURK. J. CHEM* 26, 189-194 (2002).
- [3] Topçu, G., Gören, A.C., Kılıç, T., Yıldız, Y.K., Tümen, G., Diterpenes From *Sideritis trojana*, *NATURAL PRODUCT LETTERS* 16/1, 33-37.(2002).
- [4] Kılıç, T., Yıldız, Y.K., Gören, A.C., Tümen, G., Topçu, G. Phytochemical analysis of some *Sideritis* species of Turkey *CHEM. OF NATURAL COMPOUNDS*, 39/5, 453-456 (2003).
- [5] T. Kılıç, Y.K. Yıldız, G., Topçu., A.C., Gören, M.Ay, S.G.Bodige, W.W.Watson. X-ray analysis of sideroxol from *Sideritis leptoclada*. *J.OF CHEM. CRYSTALLOGRAPHY*, vol 35. no.8. 655-660 (2005).
- [6] İ.Arslan, T. Kılıç, G., Topçu., A.C., Gören. Toxicity of Acetone extract of *Sideritis trojana* and 7-epicandicandiol, 7-epicandicandiol diacetate and 18-acetoxysideroxol against stored pests *Acanthoscelides obtectus* (Say), *Sitophilus granarius* (L.) and *Ephestia kuehniella* (Zell.) *INDUSTRIAL CROPS AND PRODUCT*, (baskıda).
- [7] Kılıç, T., “*Sideritis lycia* Ve *Sideritis leptoclada* Türlerinin Diterpen Bileşiklerinin İzolasyonu ve Karakterizasyonu”, Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir (2002).
- [8] Gören, AC., “Bazı *Sideritis* (*Sideritis Argyrea*, *Sideritis Dichotoma*, *Sideritis Trojana*) Türlerinin Diterpenik Bileşenlerinin İzolasyonu ve Yapılarının Tayini”, Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir (2002).

[9] Bondi, L. M., Bruno, M., Piozzi, F., Başer, K.H.C., Simmonds, S.J., Diversity and Antifeedant Activity of Diterpenes from Turkish Species of *Sideritis*, *Biochemical Systematics and Ecology*, **28**, 299-303 (2000).

[10] Akcos Y, Ezer N, Calis I, Demirdamar R, Tel B.C.“ Polyphenolic Compounds of *Sideritis lycia* and their anti-inflammatory activity“, *Pharmaceutical Biology*, **37/2**, 118-122 (1999).

[11] Feinburg-Dothan, N., Flora Palaestina, The Israel Academy of Sciences and Humanities, Jarussalem, Three Text, 155-156 (1978).

[12] Baytop,A., Farmasötik Botanik, İstanbul Üniv. Yay No. 3637, Ecz. Fak. Yay. No: **58**, İstanbul, 234-237 (1991).

[13] Heywood, V.H., *Flowering Plants of the World*, Oxford Üniv. Press. Londra,239, (1978).

[14] Ezer, N., Sezik, E., Erol, K., Özdemir, M., Bazı *Sideritis* Türlerinin Antispazmodik Etkileri, IX. Bitkisel İlaç Hammdeleri Toplantısı, Bildiriler, s: 371, 16 -19 Mayıs 1991, Ed. K. H. C. Başer

[15] Kırimer, N., Kürkçüoğlu, M., Özek, T., Başer, K.H.C. and Tümen, G., “Composition of The Essential Oil of *Sideritis Condensata* Boiss. et Heldr.” *Flavour and Fragrance Journal*, **11**, (1996), 315–317.

[16] Kırimer, N., Kürkçüoğlu, M., Başer, K.H.C. and Tümen, G., “A Review, 13th International Congress of *Flavours*” *Fragrances and Essential Oils*, 15-19 October, İstanbul, (1995).

[17] Başer, K.H.C., Tümen, G., Çakır, H., Kaya, A., “Balıkesir Kazdağ Yöresinde Çay Olarak Kullanılan Bitkiler Üzerine morfolojik, Anatomik ve Palijonik Çalışmalar” Fırat Üniversitesi, XI. Ulusal Biyoloji Kongresi, 24-27 Haziran, Botanik, Elazığ (1997), 53-71.

[18] Bařer, K.H.C., Koca, F., Tümen, G., Akyałçın, H., XII. Ulusal Biyoloji Kongresi, 6-8 Temmuz, Edirne (1994), 79-85.

[19] Kaya, A., "Sideritis germanocopolitana Türü zerine Morfolojik Anatomik Araştırmalar", Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir (1990)

[20] ztrk, Y., Aydın, S., ztrk, N. and Başer, K.H.C., Effects of Extracts from Certain Sideritis Species on Swimming Performance in Mice, *Phytotherapy Res.*,10, (1996), 70- 73.

[21] Yeşilada, E., Ezer, N., The Antiinflammatory Activity of Some Sideritis Species Growing in Turkey, *Int. J. Crude Drug Res.*,27, (1998), 38-40.

[22] Aydın, S., Öztürk, Y. and Başer, K.H.C., Investigation of *Origanium ornites*, *Sideritis congesta* and *Satureja cuneifolia* Essential Oils for Analgesic Activity, *Phytoterapy Res.*, 10, (1986), 342-344.

[23] zek, T., Başer, K.H.C. and Tmen, G., The Essential Oil of *Sideritis athoa* Papanikolau et Kokkini, *The Essent Oil Res.*, 5, (Nov / Dec 1993), 669- 670.

[24] Ezer, N., Vila, R., Canigueral, S. and Adzet, T., "Essential Oil Composition of Four Species of *Sideritis*", *Phytochemistry*, 41/1, (1996), 203- 205.

[25] Kırımer, N., Tabanca, Başer, K.H.C., and Tmen, G., Composition of The Essential Oils of *Sideritis congesta* p.H. Davis et Hub.-Mor. Proceeding of XII. International Symp. On Plant Originated Crude Drugs, Ankara, Turkey, May. 20-22, (1998), pp 164-167.

[26] Başer, K.H.C., Bondi, M.L., Bruno, M., Kırımer, N., Piozzi, F., Tmen,G. And Vasallo, N., An Ent- Kauren From *Sideritis* Hubber-Morathıı, *Phytochemistry*, 43(6), (1996), pp.1293-1295.

[27] Bondi, L. M., Bruno, M., Piozzi, F., Başer, K.H.C., Simmonds, S.J., Diversity and Antifedant Activity of Diterpenes from Turkish Species of *Sideritis*, *Biochemical Systematics and Ecology*, 28, (2000), 299- 303.

[28] Akcos, Y., Ezer, N., Calis, I., Demirdamar, R., Tel B.C., “Polyphenolic Compounds of *Sideritis lycia* and their anti-inflammatory activity”, *Pharmaceutical Biology*,37/2, (1999), 118-122.

[29] Akçay, Y., Ezer, N., Demirdamar, R., Tel B.C., 4-O-Metilhipoletin-7-Asetilglukopiranozit ve Antienflamatuar Aktivitesi, XI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı, Edit.,Çoşkun, M., Ankara Üniversitesi, Ankara, (1997), pp 555.

[30] P.H.Davis, *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*, Vol. 10, Univ. Press, Edinburg,(1998).

[31] P.H.Davis, *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*, Vol. 7, Univ. Press, Edinburg, (1982), 187.

[32] Baytop, A., *Farmasötik Botanik*, İstanbul Üniv. Yay No:3637, Ecz. Fak.Yay No:58, İstanbul, (1991), 234-237.

[33] Heywood, V.H., *Flowering Plants of The World*, Oxford Univ. Pres, Londra, (1978), 239.

[34] Ezer, N., Sezik, E., Erol, K., Özdemir, M., Bazı *Sideritis* Türlerinin Antispazmodik Etkileri, IX. Bitkisel laç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, 16- 19 Mayıs 1991, Ed. K. H. C. Başer, s: 371.

[35] Kırimer, N., Kürkçüoğlu, M., Özek, T., Başer, K.H.C. and Tümen, G., “Composition of The Essential Oil of *Sideritis Condensata* Boiss. et Heldr.” *Flavour and Fragrance Journal*, 11, (1996), 315–317.

[36] Öztürk, Y., Aydın, S., Öztürk, N. and Başer, K.H.C., *Phytother Res.*, 10, (1996),70.

[37] Yeşilada, E., Ezer, N., *Int. J. Crude Drug Res.*, 27, (1989), 38-40.

[38] Eight Peak Index of Mass Spectra, 3rd edn., Vols 1-7, Royal Society of Chemistry, London (1986).

[39] Bruce Yurkanis, P., *Organic Chemistry*, Second Edition, Prentice Hall, Chapter 23, (1998).

[40] Finar, J.L., D.Sc., Ph.D., ARIC, *Organic Chemistry*, Vol.2, Chp:8, "Stereochemistry and The Chemistry of Natural Products", Longman, Fifth Edition, (1975), p:354-358,440-441,451,459.

[41] Çarıkcı, S., *Sideritis condensata Boiss. & Heldr* Bitkisinin Fitokimyasal Analizi, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir (2005).

[42] Devon, T.K., Scott, A.I., *Handbook of Naturally Occuring Compounds*, Volume II, Terpenes, Academic Press, (1992).

[43] Ulubelen, A., Topçu, G., "Chemical and Biological Investigations of *Salvia* Species Growing in Turkey", *Studies in Natural Product Chemistry*, Vol. 20, Structure and Chemistry, Part F, Elsevier Science, (1998), 659-718.

[44] Ulubelen, A., Topçu, G. And Kolak, U., "Chemical and Biological Evaluation of Genus *Teucrium*" Bioactive Natural Products (part D) in "Studies in Natral Product Chemistry", Vol. 23,. Elsevier Science, (2000) p:591-648.

[45] Ulubelen A., Arfan, M., Sönmez, U., Meriçli, A.H., Meriçli, F., "Diterpenoid Alkaloids from *Delphinium uncinatum*" , *Phytochemistry*, 47/6, 1141-1144 (1998).

- [46] Gonzalez, A.G., Fraga, B.M., Hernandez, M.G. and Hanson, J.R., "The ^{13}C -NMR Spectra of Some *ent*-18-hydroxykaur-16-enes", *Phytochemistry*, **20**, 846-847 (1981).
- [47] Aljancic, I., Macura, S., Juranic, S., Andjelkovic, N., Randjelovic, N. and Milosavljevic, S. "Diterpenes from *Achillea clypeolata*", *Phytochemistry*, **43**, 169-172 (1996).
- [48] Breton, J.L., Gonzalez, A.G., Rocha, J.M., Panizo, F.M., Rodriguez, B. and Valverde, S., *Tetrahedron Letters*, 599 (1969).
- [49] Piozzi, F., Venturella, P., Bellino, A., Paternostro, M.P., Rodriguez, B. and Valverde, S., *Chem. Ind.*, 962 (1971).
- [50] Fraga, B.M., Hernandez, M.G., Fernandez, C. and Arteaga, J.M., "Diterpenes from *Sideritis dendrochahorra* and *S. cystosiphon*", *Phytochemistry*, **26/3**, 775-777 (1987).
- [51] Başer, K.H.C., Bondi, M.L., Bruno, M., Kırmıer, N., Piozzi, F., Tümen, G. and Vasollo, N. "An *ent*-kaurene from *Sideritis Huber-Morathi*", *Phytochemistry*, **43**, 1293-1296 (1996).
- [52] Lopez Gomez, M.A., Marquez, C., Rabanal, R.M. and Valver, S. *An. Quim.*, **75**, 911 (1979).
- [53] Venturella, P., Bellino, A., Piozzi F., "Diterpenes from *Sideritis theezans*" *Phytochemistry*, **14/5-6**, 1451-1452 (1975).
- [54] Topcu, G., Goren, A.C., Yildiz, Y.K., Tümen, G., Diterpenes from *Sideritis ahoa*. *Natural Product Letters*, **14 (1)** p:123-129 (1999)

- [55] Gonzalez A.G., Fraga, B.M., Hernandez M.G. and Luis, J.G., "Constituents Of Labiatae .17. New Diterpenes from *Sideritis candicans*", *Phytochemistry*, **12/11**, 2721-2723 (1973).
- [56] Fraga B.M., Hernandez, M.G., Santana J.M.H., Arteaga J.M., "Diterpenes From *Sideritis sventenii* and *Sideritis cystosiphon*" *Phytochemistry*, **29/2**, 591-593 (1990).
- [57] Cabrera, E., Garcia-Granados, A., Bruaga, A.S.D., Buruaga, J.M.S., "Diterpenoids from *Sideritis hirsuta* ssp. *nivalis*" *Phytochemistry*, **22/12**, 2779-2781 (1983).
- [58] Algarra, J., Garcia-Granadas, A., Buruaga, A.S.D., Buruaga, J.M.S., "Diterpenoids from *Sideritis varoi*", *Phytochemistry*, **22/8**, 1779-1782 (1983).
- [59] Quesada, G.D.T., Rodriguez, B. and Valverde, S., *An.Quim.*, **68**, 1467 (1972).
- [60] Carrascal, M.I., Rabanal, R.M., Marquez, C. and Valverde, S., *An. Quim.*, **74**, 1547 (1978).
- [61] Quesada T.G.D., Rodriguez, B, Valverde S., "Constituents of *Sideritis* 15 Diterpenes from *Sideritis lagascana* and *Sideritis valverdei*", *Phytochemistry*, **13/9**, 2008-2008 (1974).