

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



***SİDERİTİS BİLGERANA* P. H. DAVIS BİTKİSİNİN
FİTOKİMYASAL ANALİZLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SİNEM DERELİ

BALIKESİR, OCAK - 2016

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



***SİDERİTİS BILGERANA* P. H. DAVIS BİTKİSİNİN
FİTOKİMYASAL ANALİZLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SİNEM DERELİ

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Turgut KILIÇ (Tez Danışmanı)

Prof. Dr. Akın AZİZOĞLU

Prof. Dr. Halil İbrahim UĞRAŞ

BALIKESİR, OCAK - 2016

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sinem DERELİ tarafından hazırlanan “*SİDERİTİS BİLGERANA P. H. DAVİS BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZLERİ*” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 08.01.2016 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman

Prof. Dr. Turgut KILIÇ



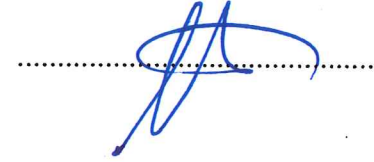
Üye

Prof. Dr. Akın AZİZOĞLU



Üye

Prof. Dr. Halil İbrahim UĞRAŞ



Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Doç. Dr. Necati ÖZDEMİR



Bu tez çalışması TÜBİTAK tarafından 113Z710 nolu proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

***SIDERİTİS BILGERANA* P. H. DAVIS BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL
ANALİZLERİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
SİNEM DERELİ
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. TURGUT KILIÇ)
BALIKESİR, OCAK - 2016**

TÜBİTAK 113Z710 nolu proje kapsamında desteklenen bu çalışmada, Türkiye için endemik olan *Sideritis bilgerana* P. H. Davis bitkisinin fitokimyasal yönden incelenmesi amaçlanmıştır.

Bitkinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağ GC/MS ile analiz edilmiş, ana bileşenler α -kadinol (%28.5), α -kadinen (%11.0), undekan (%8.5) olarak belirlenmiştir.

Bitkinin fenolik ve diterpenik bileşikler açısından incelenmesi için hekzan, aseton ve metanol ekstraktları hazırlanmış, LC/MS-MS ile fenolik bileşenler ve miktarları belirlenmiştir. Hekzan ekstresi için kuersetagetin-3,6-dimetiler (138,17±25,87) mg/kg, aseton ile metanol ekstraktları için ise klorojenik asit miktarca en yüksek fenolik bileşiktir (sırasıyla 1309,84±181,38, 2141,89±296,6, 1132,58±156,83, 1787,33±247,5 mg/kg). İnfüzyon ve dekoksasyon yöntemi ile hazırlanan su ekstraktlarının de fenolik bileşenleri analiz edilmiş ve her iki ekstre için de ana bileşenin fumarik asit olduğu ve miktarlarının sırasıyla 39,75±2,76 ve 554,65±38,46 mg/kg olduğu belirlenmiştir.

İzole edilen diterpenik bileşiklerin yapılarının aydınlatılması için NMR spektrumundan yararlanılmış olup bileşiklerin yapıları; Siderol (*ent-7 α -asetil-18-hidroksi-kaur-15-en*) (1), Sideridiol (*ent-7 α ,18-dihidroksikaur-15-en*) (2), 7-epikandikandiol (*ent-7 α -,18-dihidroksikaur-16-en*) (3), Sidol (*ent-3 β -asetil-7 α ,18-dihidroksikaur-16-en*) (4), Eubotriol (*ent-7 α ,15 β ,18-trihidroksikaur-16-en*) (5), Eubol (*ent-7 α -asetil-15 β ,18-dihidroksikaur-16-en*) (6), Athonolon (*ent-7 α -17,18-trihidroksi-9,(11)-en-12-on*) (7), Linearol (*ent-3 β -7 α -dihidroksi-18-asetilkaur-16-en*) (8) olarak 8 tane diterpen, ayrıca bir tane de steroid olan stigmasterol ((3*S*,8*S*,9*S*,10*R*,13*R*,14*S*,17*R*)-17-[(*E*,2*R*,5*S*)-5-etil-6-metilhept-3-en-2-il]-10,13-dimetil-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17 dodekahidro-1*H*-siklopenta[*a*] fenantren-3-ol) (9) olarak belirlenmiştir.

Hazırlanan ekstraktlar antimikrobiyal, antioksidan ve anti-Alzheimer aktivite yönünden incelenmiştir. Ekstreler herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermezken, β -karoten linoleik asit, CUPRAC ve DPPH yöntemine göre en aktif ekstre hekzan sonrası aseton ve metanol ile doğrudan hazırlanan metanol ekstraktları olarak bulunmuştur. Ekstrelerden hiçbiri AChE enzimini inhibe etmezken her iki yöntemle hazırlanmış aseton ekstresi orta derecede BChE inhibisyonuna sahiptir.

ANAHTAR KELİMELER: *Sideritis bilgerana* P. H. Davis, Uçucu yağ, Fenolik bileşik, Diterpen, Antimikrobiyal aktivite, Antioksidan aktivite, Anti-alzheimer aktivite.

ABSTRACT

PHYTOCHEMICALS ANALYSIS OF *SIDERITIS BILGERANA* P. H. DAVIS
MSC THESIS
SİNEM DERELİ
BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
CHEMISTRY
(SUPERVISOR: PROF. DR. TURGUT KILIÇ)
BALIKESİR, JANUARY 2016

In this study, which was supported by TÜBİTAK project number 113Z710, aimed to investigate *Sideritis bilgerana* P. H. Davis endemic to Turkey for the phytochemical purposes.

The essential oil of the plant was obtained from the aerial parts of the plant and analyzed by GC / MS, α -cadinol (28.5%), α -cadinene (11.0%) and undecane (8.5%) were determined as main components.

For determine the phenolic and diterpenic components of the plant, hexan, acetone and methanol extract were prepared, and amount and composition of the phenolic components of the extract were analyzed by LC/MS-MS. While the main components of the hexan extract was determined as quercetageetin-3,6-dimethylether (138,17 \pm 25,87 mg/kg), for the acetone and methanol extract chlorogenic acid was the main compound (1309,84 \pm 181,38, 2141,89 \pm 296,6, 1132,58 \pm 156,83, 1787,33 \pm 247,5 mg/kg, respectively). The water extracts which were prepared infusion and decoction method also analyzed and fumaric acid was found to be main component of the both extracts and their amount were determined as 39,75 \pm 2,76 ve 554,65 \pm 38,46 mg/kg, respectively.

NMR spectrum was use to identify for the isolated compounds and their structure were determined as follow; Siderol (*ent*-7 α -acetyl-18-hydroxy-kaur-15-ene) (1), Sideridiol (*ent*-7 α ,18-dihydroxykaur-15-ene) (2), 7- epicandicandiol (*ent*-7 α ,18-dihydroxykaur-16-ene) (3), Sidol (*ent*- 3 β -acetyl-7 α ,18-dihydroxykaur-16-ene) (4), Eubotriol (*ent*-7 α ,15 β ,18-trihydroxykaur-16-ene) (5), Eubol (*ent*-7 α -acetyl-15 β ,18-dihydroxysikaur-16-ene) (6), Athonolone (*ent*-7 α -17,18-trihydroxy-9,(11)-ene-12-on) (7), Linearol (*ent*-3 β -7 α -dihydroxy-18-acetyl-kaur-16-ene) (8), besides eighth diterpenoids a steroid stigmaterol ((3*S*,8*S*,9*S*,10*R*,13*R*,14*S*,17*R*)-17-[(*E*,2*R*,5*S*)-5-ethyl-6-methylhept-3-ene-2-yl]-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17 dodekahydro-1*H*-cyclopenta[*a*] phenanthrene -3-ol) (9) was isolated and identified.

The extracts were investigated in account of antimicrobial, antioxidant and anti-Alzheimer activities. While the extracts have not showed any antimicrobial activity, for β -carotene-linoleic acid, CUPRAC and DPPH assay, acetone and methanol extracts that was prepared after hexane and directly prepared methanol extracts were found to be the most active. None of the extracts were inhibited AChE enzyme; whereas the acetone extracts prepared both methods were inhibited BChE enzyme moderately.

KEYWORDS: *Sideritis bilgerana* P. H. Davis, Essential oil, Phenolic component, Diterpene , Antimicrobial activity, Antioxidant activity, Anti-Alzheimer activity.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
TABLO LİSTESİ.....	ix
SEMBOL LİSTESİ.....	x
ÖNSÖZ.....	xi
1. GİRİŞ.....	12
1.1 Bitkinin Özellikleri.....	13
1.1.1 Labiatae (Lamiaceae) Familyası.....	13
1.1.2 Sideritis Cinsi.....	13
1.1.3 Sideritis bilgerana P.H. Davis.....	14
1.2 Sideritis Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı.....	16
1.3 Sideritis Cinsi Üzerine Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar.....	19
1.4 Uçucu Yağlar.....	20
1.4.1 Uçucu Yağların Sınıflandırılması.....	20
1.4.1.1 Oksijensiz (Hidrokarbon) Monoterpenler.....	21
1.4.1.2 Oksijenli Monoterpenler.....	21
1.4.1.3 Oksijensiz (Hidrokarbon) Seskiterpenler.....	22
1.4.1.4 Oksijenli Seskiterpenler.....	22
1.4.1.5 Diterpenler.....	23
1.4.1.6 Diğer Bileşenler.....	23
1.5 Terpenler.....	24
1.5.1 Terpenlerin Sınıflandırılması ve Biyosentezi.....	26
1.5.1.1 İzopentenil Pirofosfatın Oluşumu.....	27
1.5.1.2 Monoterpenler.....	30
1.5.1.2.1 Asiklik Monoterpenler.....	32
1.5.1.2.2 Monosiklik Monoterpenler.....	32
1.5.1.2.3 Bisiklik Monoterpenler.....	33
1.5.1.3 Seskiterpenler.....	34
1.5.1.3.1 Asiklik Seskiterpenler.....	35
1.5.1.3.2 Monosiklik Seskiterpenler.....	35
1.5.1.3.3 Bisiklik Seskiterpenler.....	35
1.5.1.3.4 Trisiklik Seskiterpenler.....	36
1.5.1.4 Diterpenler.....	36
1.5.1.4.1 Biyogenetik Sınıflandırma.....	39
1.5.1.4.2 Asiklik Diterpenler.....	39
1.5.1.4.3 Monosiklik Diterpenler.....	40
1.5.1.4.4 Bisiklik Diterpenler.....	40
1.5.1.4.4.1 Labdanlar.....	40
1.5.1.4.4.2 Klerodanlar.....	41
1.5.1.4.5 Trisiklik Diterpenler.....	42
1.5.1.4.5.1 Pimaranlar.....	43
1.5.1.4.5.2 Abietanlar.....	43
1.5.1.4.5.3 Kassarlar.....	44

1.5.1.4.5.4	Rosanlar	45
1.5.1.4.6	Tetrasiklik Diterpenler	45
1.5.1.4.6.1	Kaurenler	48
1.5.1.4.6.2	Beyerenler	50
1.5.1.5	Sesterpenler	51
1.5.1.6	Triterpenler	51
1.5.1.7	Tetraterpenler	52
1.5.1.8	Politerpenler	54
1.6	Fenolik Bileşikler	55
1.6.1	Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması	55
1.6.1.1	Fenolik Asitler (Flavonoid Olmayanlar)	55
1.6.1.2	Flavonoidler	56
1.6.1.2.1	Antosiyanidinler	57
1.6.1.2.2	Flavonlar ve Flavonollar	58
1.6.1.2.3	Flavanonlar	58
1.6.1.2.4	Kateşinler	59
1.6.1.2.5	Proantosiyanidinler	59
2. DENEYSEL BÖLÜM	61
2.1	Materyal	61
2.1.1	Bitkisel Materyal	61
2.1.2	Kimyasal Materyal	61
2.2	Yöntem	61
2.2.1	Ekstraksiyon	62
2.2.2	Kromatografi	62
2.2.2.1	Kolon Kromatografisi	62
2.2.2.2	İnce Tabaka Kromatografisi	62
2.2.2.3	Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi	63
2.3	Spektroskopik Yöntemler	63
2.3.1	NMR (¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, COSY, HMQC, HMBC)	63
2.4	Kullanılan Belirteçler	63
2.4.1	Seryum (IV) Sülfat Çözeltilisinin Hazırlanması	64
2.5	Uçucu Yağların Elde Edilmesi ve Analizi	64
2.6	Fenolik Bileşiklerin Elde Edilmesi ve Analizi	64
2.6.1	Test Çözeltilerinin Hazırlanması	65
2.6.2	Kromatografik Koşullar	65
2.6.3	HPLC Metodu ve LC-MS/MS Prosedürünün Optimizasyonu	66
2.6.4	Deneylelerin Validasyonu ve Belirsizliğin Değerlendirmesi	68
2.7	Biyolojik Aktivite	70
2.7.1	DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi	70
2.7.2	Lipid Peroksidasyonu İnhibisyonu Aktivitesi (β-Karoten- Linoleik Asit Yöntemi)	71
2.7.3	Cu ⁺² İndirgeme Kapasitesi (CUPRAC)	72
2.7.4	Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi	73
2.7.5	Antimikrobiyal Aktivite	74
3. BULGULAR	75
3.1	Sideritis bilgerana Bitkisinden Elde Edilen Uçucu Yağ Bileşenleri	75
3.2	Sideritis bilgerana Bitkisinden Elde Edilen Terpen Bileşenleri	78
3.2.1	Siderol (ent-7α-asetil-18-hidroksi-kaur-15-en) (1)	78
3.2.2	Sideridiol (ent-7α,18-dihidroksikaur-15-en) (2)	92
3.2.3	7- epikandikandiol (ent-7α-,18-dihidroksikaur-16-en) (3)	96

3.2.4	Sidol (ent- 3 β -asetil-7 α ,18-dihidroksikaur-16-en) (4)	100
3.2.5	Eubotriol (ent-7 α ,15 β ,18-trihidroksikaur-16-en) (5)	104
3.2.6	Eubol (ent-7 α -asetil-15 β ,18-dihidroksikaur-16-en) (6)	112
3.2.7	Athonolon (ent-7 α -17,18-trihidroksi-9,(11)-en-12-on) (7)	116
3.2.8	Linearol (ent-3 β -7 α -dihidroksi-18-asetilkaur-16-en) (8).....	118
3.3	Diğer Bileşenler	123
3.4	Sideritis bilgerana Bitkisinden Elde Edilen Fenolik Bileşikler.....	123
3.5	Biyolojik Aktivite Sonuçları	126
3.5.1	DPPH Serbest Radikalı Giderim Aktivitesi Sonuçları.....	126
3.5.2	β -Karoten Renk Açılım Yöntemi Sonuçları.....	127
3.5.3	Cu ⁺² İndirgeme Kapasitesi (CUPRAC) Sonuçları	128
3.5.4	Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları	129
3.5.5	Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	130
4.	SONUÇ VE ÖNERİLER	131
5.	KAYNAKLAR	135

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1:	<i>Sideritis bilgerana</i> P. H. Davis.....	16
Şekil 1.2:	Bazı oksijensiz monotерpenler	21
Şekil 1.3:	Bazı oksijenli monotерpenler.....	22
Şekil 1.4:	β -karyofilen	22
Şekil 1.5:	α -bisabolol.....	23
Şekil 1.6:	Gerasimen.....	23
Şekil 1.7:	Aromatik kurkumen	23
Şekil 1.8:	İzopren (2-metilbüt-1,3-dien)	24
Şekil 1.9:	Mirsen molekülünün oluşumu.....	25
Şekil 1.10:	α -pinen molekülünün oluşumu.....	25
Şekil 1.11:	Adenozintrifosfat (ATP)	27
Şekil 1.12:	Koenzim A	28
Şekil 1.13:	Malonil-CoA oluşumu.....	28
Şekil 1.14:	İzopentenil pirofosfat oluşumu.....	29
Şekil 1.15:	izopentenil pirofosfat denge reaksiyonu	30
Şekil 1.16:	Bazı monotерpenler	31
Şekil 1.17:	2,6-dimetiloktan	32
Şekil 1.18:	Bazı asiklik monotерpenler.....	32
Şekil 1.19:	Bazı monosiklik monotерpenler	33
Şekil 1.20:	Kafur.....	34
Şekil 1.21:	Bazı seskiterpenler	34
Şekil 1.22:	Farnesol	35
Şekil 1.23:	Zinciberen.....	35
Şekil 1.24:	Kamazulen.....	36
Şekil 1.25:	Bazı trisiklik seskiterpenler.....	36
Şekil 1.26:	Diterpenlerin biyosentezi için önerilen mekanizmalar.....	38
Şekil 1.27:	Diterpenlerin pirofosfat grubunun ayrılmasıyla siklizasyonu	39
Şekil 1.28:	Fitol	39
Şekil 1.29:	Retinol	40
Şekil 1.30:	Bazı labdanlar.....	41
Şekil 1.31:	Backbone ve Friedo düzenlenmesi ile klerodanların oluşumu.....	42
Şekil 1.32:	Bisiklik diterpenler	42
Şekil 1.33:	Pimaranların oluşumu	43
Şekil 1.34:	Bazı pimaranlar	43
Şekil 1.35:	Abietanların oluşumu	44
Şekil 1.36:	Bazı abietanlar.....	44
Şekil 1.37:	Kassan türevleri.....	45
Şekil 1.38:	Rosan türevleri	45
Şekil 1.39:	Karbokasyon ara ürününden; <i>ent</i> -beyeren, <i>ent</i> -atisen, <i>ent</i> -trakiloban, <i>ent</i> -kauren oluşumları.....	47
Şekil 1.40:	Bazı tetrasiklik diterpenler	48
Şekil 1.41:	Kauren ve <i>ent</i> -kauren iskeletleri	49
Şekil 1.42:	Lİnearol'un kauren ve <i>ent</i> -kauren gösterilişi.....	49
Şekil 1.43:	Bazı diterpenlerin numaralandırılması	50
Şekil 1.44:	Staken	50

Şekil 1.45: Bazı sesterpenler	51
Şekil 1.46: Skualen molekülünün oluşumu	52
Şekil 1.47: Bazı tetraterpenler	53
Şekil 1.48: A vitamini.....	53
Şekil 1.49: Kauçuk (<i>cis</i> -1,4-poliizopren)	54
Şekil 1.50: Flavonoidlerin genel yapısı	57
Şekil 1.51: Flavanonun yapısı	58
Şekil 1.52: Kateşinlerin kimyasal yapıları.....	59
Şekil 1.53: Proantosiyanidinlerin kimyasal yapısı	60
Şekil 2.1: Galantamin	73
Şekil 3.1: Uçucu yağ GC-MS analiz sonuçları.....	75
Şekil 3.2: Sideritis bilgerana uçucu yağında bulunan üç bileşen	76
Şekil 3.3: Siderol bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	80
Şekil 3.4: Siderol bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	81
Şekil 3.5: Siderol bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu (APT).....	82
Şekil 3.6: Siderol bileşiğinin COSY spektrumu-1	83
Şekil 3.7: Siderol bileşiğinin COSY spektrumu-2	84
Şekil 3.8: Siderol bileşiğinin COSY spektrumu-3	85
Şekil 3.9: Siderol bileşiğinin COSY spektrumu-4	86
Şekil 3.10: Siderol bileşiğinin HMBC spektrumu-1	87
Şekil 3.11: Siderol bileşiğinin HMBC spektrumu-2	88
Şekil 3.12: Siderol bileşiğinin HMBC spektrumu-3	89
Şekil 3.13: Siderol bileşiğinin HMQC spektrumu-1	90
Şekil 3.14: Siderol bileşiğinin HMQC spektrumu-2	91
Şekil 3.15: Sideridiol bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	94
Şekil 3.16: Sideridiol bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu (APT).....	95
Şekil 3.17: 7-Epikandikandiol bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	98
Şekil 3.18: 7-Epikandikandiol bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu.....	99
Şekil 3.19: Sidol bileşiğinin ¹ HNMR spektrumu	102
Şekil 3.20: Sidol bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu (APT).....	103
Şekil 3.21: Eubotriol bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	106
Şekil 3.22: Eubotriol bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu.....	107
Şekil 3.23: Eubotriol bileşiğinin HMBC spektrumu	108
Şekil 3.24: Eubotriol bileşiğinin HMQC spektrumu-1.....	109
Şekil 3.25: Eubotriol bileşiğinin HMQC spektrumu-2.....	110
Şekil 3.26: Eubotriol bileşiğinin HMQC spektrumu-3.....	111
Şekil 3.27: Eubol bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	114
Şekil 3.28: Eubol bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	115
Şekil 3.29: Athonolon bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	117
Şekil 3.30: Linearol bileşiğini ¹ H NMR spektrumu-1	120
Şekil 3.31: Linearol bileşiğini ¹ H NMR spektrumu-2.....	121
Şekil 3.32: Linearol bileşiğini ¹³ C NMR spektrumu	122
Şekil 3.33: Stigmasterol.....	123
Şekil 3.34: Kuersetagetin-3,6-dimetileter ve klorojenik asit.....	124
Şekil 3.35: Ekstrelerin fenolik bileşik içerikler	124
Şekil 3.36: Fumarik asit.....	126
Şekil 3.37: Ekstrelerin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi sonuçları (% İnhibisyon)	127
Şekil 3.38: Ekstrelerinin lipid peroksidasyon % inhibisyonu.....	128
Şekil 3.39: Ekstrelerin Cu ⁺² indirgeme kapasitesi (CUPRAC) sonuçları	129

Şekil 3.40: Ekstrelerin antikolinesteraz AChE ve BChE aktivite sonuçları (% İnhibisyon)	130
Şekil 4.1: <i>S. bilgerana</i> 'dan elde edilen diterpen bileşikleri.....	132

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: <i>Sideritis</i> türlerinin halk arasındaki yöresel adları.....	17
Tablo 1.2: Terpenlerin sınıflandırılması.....	26
Tablo 1.3: Fenolik asitlerin kimyasal yapıları	56
Tablo 1.4: Antosiyanidinlerin yapısı	57
Tablo 1.5: Flavon ve flavonol yapıları	58
Tablo 2.1: Seçilen bileşiklerin LC-MS/MS parametreleri.....	67
Tablo 2.2: Validasyon ve belirsizlik parametreleri.....	69
Tablo 3.1: Uçucu yağ bileşenlerinin sınıflandırılması.....	75
Tablo 3.2: Uçucu yağ GC-MS analiz sonuçları.....	77
Tablo 3.3: Ekstrelerin içerdiği fenolik bileşik grupları	123
Tablo 3.4: Ekstrelerin içerdiği fenolik bileşikler	125
Tablo 3.5: Su ekstralarının içerdiği fenolik bileşikler	126
Tablo 3.6: Ekstrelerin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi sonuçları (% İnhibisyon)	127
Tablo 3.7: Ekstrelerin lipid peroksidasyon % inhibisyon sonuçları.....	128
Tablo 3.8: Ekstrelerin Cu ⁺² indirgeme kapasitesi (CUPRAC) sonuçları	129
Tablo 3.9: Ekstrelerin antikolinesteraz AChE ve BChE aktivite sonuçları (% İnhibisyon)	130

SEMBOL LİSTESİ

α	: Alfa
β	: Beta
Ψ	: Psi
γ	: Gama
Δ, δ	: Delta
mm	: Milimetre
nm	: Nanometre
μm	: Mikrometre
mg	: Miligram
kg	: Kilogram
μg	: Mikrogram
mmol	: Milimol
M	: Molar
mM	: MiliMolar
mTorr	: MiliTorr
ppm	: Part Per Million
mHz	: MegaHertz
Hz	: Hertz
mL	: Mililitre
μL	: Mikrolitre
t	: Triplet
d	: Doublet
s	: Singlet
m	: Multiplet

ÖNSÖZ

TÜBİTAK Kimya ve Biyoloji Araştırma Destek Grubu tarafından desteklenen 113Z710 no'lu proje kapsamında bulunan Yüksek Lisans çalışmamı tamamlamamın mutluluğu içerisindeyim. Projeye sağlamış olduğu katkılarından dolayı TÜBİTAK Kimya ve Biyoloji Araştırma Destek Grubu'na

Bu çalışma süresince bana desteği esirgemeyen ve değerli bilgilerini benimle paylaşan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Turgut KILIÇ' a

Daha Yüksek Lisansa başlamadan önce de bana her konuda yardımcı olan, vaktini ve bilgilerini benimle paylaşan Dr. Sema ÇARIKÇI'ya

Üniversiteye başladığım ilk günden itibaren hep yanımda olan, her türlü derdime ve sevincime ortak olan dostum Demet AÇAR'a

Her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini hiç esirgemeyen babam Engin DERELİ'ye, annem Güler DERELİ'ye ve kardeşim Selin DERELİ'ye

Sonsuz teşekkürler.

1. GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre yaklaşık olarak 4 milyar insanın sağlık sorunlarını çözmek için ilk başvurdukları yöntem bitkisel ilaçlar olmaktadır ve gelişmiş ülkelerde dahi reçeteli ilaçların %25'inin kökeni bitkiseldir [1]. Özellikle son yıllarda bitkiler üzerine yapılan araştırmaların artması doğal ürünlere olan talebin de artmasını sağlamıştır [2].

Türkiye farklı iklim kuşakları üzerinde bulunması, geniş yüzölçümüne sahip olması ve coğrafi konumu nedeniyle tıbbi ve aromatik bitkiler yönünden zengin topraklara sahip bir ülkedir. 3000 kadarının endemik olduğu ve toplamda 10000 civarında bitkinin yetiştiği ülkemizde bu bitkilerden yaklaşık 1000-2000 kadarı tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır [3].

Ülkemiz toprakları için önemli bir gen merkezi olan Labiatae familyası 565 tür, 45 cins olmak üzere toplamda 735 takson ile temsil edilmektedir [4]. Bu familyaya ait bitkilerin çoğu da çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmalarının yanı sıra, gıda endüstrisinde, parfümeri ve kozmetikte kullanılan bitkilerdir [5].

Labiatae familyasına ait üyelerden bir tanesi olan *Sideritis* L. cinsi 46 tür, 12 alt tür ve 2 varyete ile temsil edilmektedir ve Türkiye'de yetişen bitkiler arasında %78 gibi bir oranla en yüksek endemizmeye sahip cinslerden birisidir [4,6,7]. Halk arasında adaçayı, dağçayı isimleriyle anılan *Sideritis* türleri sinir sistemi düzenleyici, antienflamatuar, antispazmodik, karminatif, sedatif, analjezik ve gastrointestinal etkilerinden dolayı çay olarak tüketilmektedir [8].

Sideritis türleriyle ilgili biyolojik açıdan morfolojik, anatomik ve palinolojik çalışmalar [9-12] mevcut olup, kimyasal açıdan ise uçucu yağlarıyla ilgili [13-15], terpenler ve fenolik bileşikleriyle ilgili çalışmalar yapılmıştır [16-17].

Bu çalışmayla Türkiye için endemik olan *Sideritis bilgerana* P. H. Davis bitkisinin fitokimyasal açısından incelenmesini hedeflenmiştir.

1.1 Bitkinin Özellikleri

1.1.1 Labiatae (Lamiaceae) Familyası

Labiatae, angiospermlilerin en önemli familyalarından birisi olup, adaçayı, kekik, nane gibi birçok faydalı bitkileri içeren 200'den fazla cins ve 3000'den fazla türle temsil edilen geniş bir ailedir. Dünyanın birkaç bölgesinin dışında tüm habitat ve yüksekliklerde yetişen Labiatae familyası, Kuzey Kutbu'ndan Himalayalar'a, Güneydoğu Asya'dan Hawai'ye kadar uzanıp, ayrıca Avusturalya'da, tüm Afrika'da ve Amerika'nın hem kuzeyi hem de güneyi boyunca yayılış göstermektedir [11].

Labiatae (Lamiaceae) familyasının Güneybatı Asya'da, Yunanistan dışında yaklaşık 66 cins ve 1100 türü bulunmakta olup bu rakam dünya toplamının 1/3'üne karşılık gelmektedir. Familyanın bölgedeki endemizm oranı % 70'in üzerindedir. Güneybatı Asya'da yetişen 66 cinsin 9'u Yeni Dünya'da (Amerika ve Avustralya kıtaları) bulunmaktadır ve en yaygın örnekleri *Scutellaria* ve *Teucrium* dur [11].

Ülkemizde ise bu familyanın 45 cinsi, 546 türü ve 730 taksonu var olmakla beraber bunlar kayıtlıdır. 28 türü yaygın, 2470 türü ise endemik olup endemizm oranı % 42.2'dir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, yeni ilavelerle birlikte tür sayısı 558'e takson sayısı ise 742'ye çıkmıştır [11].

Tıbbi ve aromatik bitkiler bakımından zengin olan Akdeniz ve Ege bölgesi özellikle *Micromeria*, *Origanum*, *Salvia*, *Sideritis*, *Thymus* ve *Thymbra* gibi aromatik Labiatae üyelerine ev sahipliği yapmaktadır ve bunlar deniz seviyesinden 4400 m'ye kadar çeşitli yüksekliklerde tespit edilmişlerdir.

1.1.2 Sideritis Cinsi

Sideritis L. cinsi özellikle Akdeniz havzasında yayılış göstermekle beraber dünyada geniş bir alanda yetişmekte olup 150'den fazla tür ile temsil edilmektedir [18]. Dünyada ikisi çok yıllık, ikisi tek yıllık olmak üzere 4 seksiyonu bulunan *Sideritis* cinsi, ülkemizde *Empedoclia*, *Burgsdorfia* ve *Hesiodia* olmak üzere 3 seksiyonla temsil edilmektedir [19]. Türkiye Florası'nın 7. cildinde 38 [6], 10. cildinde 40 [7], 11. cildinde ise 45 türü bulunmaktadır [20]. Son olarak *S. ozturkii* Z. Aytaç & Aksoy ilavesi ile bu cins 46 tür, 12 alt tür ve 2 varyete ile takson sayısı

toplamda 54'e ulaşmıştır [21]. Toplamdaki 46 türün 42 tanesi *Empedoclia*, 3 tanesi *Burgsdorfia*, 1 tanesinde *Hesiodia* seksiyonuna aittir [19]. *Empedoclia* seksiyonunun gen merkezi ise % 80'lik endemizm oranı ile Türkiye'dir.

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 bilabiat, 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, bilabiat, 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 tüysüzdür.

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* Benth.
- 2) Tabanda odunsu çok yıllık otlar. Brakteler tam (nadiren en aşağıda serulat), sarıcı, yaprak gibi değil. Kaliks hemen hemen eşit dişli. Sect. *Empedoclia* (Rafin) Benth [7].

1.1.3 *Sideritis bilgerana* P.H. Davis

Çok yıllık otsu, tabanda odunsu. Gövde dik, 25-110 cm, basit veya nadiren dallanmış, gövdenin alt kısmı yoğun uzun basık tomentoz örtü tüylü, üst kısımları ise hemen hemen örtü tüysüz veya kısa dik salgı ve örtü tüylü. Yaprakların her iki yüzü yoğun uzun basık örtü ve seyrek küçük salgı tüylü, belirgin ağsı damarlı; alt yapraklar saplı, sap 1(-1,5) cm, lamina eliptikten lineara kadar 2-7 x 0,4-0,9 cm, tepesi akut, kenarı tam, tabanı attenuat; orta gövde yaprakları sapsız, lamina linear,

linear-lanseolat, bazen falkat, 3-8,5 x 0,3-1 cm tepesi akut 0,5-1(-2) mm sarımsı baticı mukrolu, kenarı tam, tabanı + amplexikaul; üst yapraklar sapsız, lamina lanseolat, bazen falkat, 1,5-3,5 x 0,4-0,5 cm, tepesi akut, 0,5-1(-1,5) mm sarımsı baticı mukrolu, kenarı tam, tabanı + amplexikaul; yapraklar altta yoğunlaşmış ve alttan çiçek durumuna doğru kademeli olarak küçülür. Internodyumlar 2-7,5 cm boyunda, alttakiler daha kısa. Çiçek durumu basit veya dallanmış. Vertisillatlar 2-8, her vertisillat 6 çiçekli, vertisillatlar arası (1-)3-5(-7,5) cm. Brakteler siliat, dış yüzü orta damar boyunca uzun basık örtü tüylü, diğer kısımlarda kısa salgı ve örtü tüylü, iç yüzü kısa salgı ve örtü tüylü, belirgin ağsı damarlı; orbikulat, orbikulat-reniform; alt brakteler akumenle birlikte 1,3-1,9 x 1-1,9 cm, akumen 3-6 mm, orta brakteler akumenle birlikte 0,9-1,4(-1,6) x 1,3-1,5 cm, akumen 1-5(-6) mm, üst brakteler 0,9-1,3 x 0,8-1 cm, akumen 2-4 mm . Kaliks (-6)8-10 mm; dişler lanseolat, 2-3 x 1-1,5 mm, dış yüzü uzun basık örtü ve kısa dik salgı örtü tüylü, dişlerin ucu 1-1,5 mm boyunda, tüysüz sarı renkli mukrolu, iç yüzü seyrek örtü ve salgı tüylü; tüp 4-7 mm, dış yüzü yoğun salgı tüylü, iç yüzü boğaz kısmında halka şeklinde uzun örtü tüylü. Korolla sarı, 10-13 mm, kaliksten uzun; tüpün üst kısmı ve loplara dış yüzü yoğun basık örtü tüylü; üst dudacağın iç yüzü seyrek kısa örtü tüylü; tüpün iç kısmında filamentlerin alt bölgedeki tüyler tam halka şeklinde değil, üst dudacağın iç kısmı kahverengi çizgili. Fındıkçık, ovat, 3 köşeli, 2-2,5 mm, kahverengi.

Çiçeklenme Dönemi: Haziran-Ağustos

Habitat ve Yetiştirme Yüksekliği: Tebeşirli yamaçlar, Pinus nigra ağaçlıkları, Quercus makiliği, step; 200-1400 m.

Türkiye Yayılışı: Orta Toroslar

Fitocoğrafik Bölgesi: Doğu Akdeniz Elementi

Endemizm: Endemik



Şekil 1.1: *Sideritis bilgerana* P. H. Davis.

1.2 *Sideritis* Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı

Tıbbi ve aromatik bitkiler tarihte MÖ 5000-3000 yıllarına kadar uzanmaktadır ve asırlardan beri gıda, çeşni, ilaç ve kozmetik ürünü olarak kullanılmaktadırlar. 20. yüzyılın başlarında kullanılan ilaçların % 40'ından fazlasının bitkisel orijinli olmasına rağmen 1970'li yılların ortasında bu oran % 5'ten daha aşağıya düşmüş, ancak 1990'lı yıllardan sonra yeni kullanım alanlarının bulunması, doğal ürünlere olan talebin artması; bu bitkilerin kullanım hacmini her geçen gün arttırmaktadır [2,22]. Yapılan araştırmalarla bitki çaylarının tedavi edici özelliklerinin anlaşılması ile birlikte birçok insanın, tıbbi ve aromatik bitkilerle tedaviye olumlu bakmaları sağlanmıştır [23].

Sideritis türleri Anadolu'da hem tıbbi amaçlı hem de aromalarından dolayı çay olarak kullanılıp “dağ çayı” veya “yayla çayı” isimleriyle bilinmektedirler [24]. Halk tıbbında yatıştırıcı, sinir sistemi düzenleyici, antienflamatuvar, antispazmodik, diüretik, bağırsak düzenleyici etkileriyle kullanılmaktadırlar [25,26]. Antalya bölgesinde yetişen *Sideritis condensata* Boiss. & Heldr. bitkisi mide ve kalp problemlerinin giderilmesinde kullanılmaktadır [27]. Ayrıca *S. mugronensis*'in arteriyel kan basıncını düşürdüğü ve otonom sinir sistemi üzerinde etkili olduğu açıklanmıştır [28]. *Sideritis* türlerinin yetiştikleri bölgeler ile bu bölgelerdeki yöresel adları Tablo 1.1'de görülmektedir [12,29].

Tablo 1.1: *Sideritis* türlerinin halk arasındaki yöresel adları.

TÜR	MAHALLİ ADI	KULLANILDIĞI BÖLGE
<i>S. albiflora</i>	Dağ çayı, Bozlan	Muğla, Marmaris, Köyceğiz, Dalaman
<i>S. amasiaca</i>	Tosbağa otu, Dağ çayı	Çorum
<i>S. arguta</i>	Yayla çayı, Dağ çayı, Kara çay	Antalya, Gündoğmuş
<i>S. argyrea</i>	Eşek çayı, Acı çay	Antalya, Gündoğmuş, Alanya
<i>S. athoa</i>	Kedi kuyruğu çayı	Balıkesir, Kazdağı, Eybek Dağı
<i>S. brevibracteata</i>	Dağ çayı	Alanya
<i>S. brevidens</i>	Adaçayı, Özel çay	İçel, Gülnar
<i>S. caeseria</i>	Dağ çayı	Sivas, Kayseri, Sarız
<i>S. condensata</i>	Dağ çayı, Kozalı kekik, Kozalı çay, Eşek çayı	Antalya, Manavgat, Akseki, Isparta
<i>S. congesta</i>	Anamur adaçayı, Yayla çayı, Dağ çayı	Antalya, Alanya
<i>S. dichotoma</i>	Sarıköz çayı	Balıkesir, Kazdağı
<i>S. erythrantha</i> var. <i>erythrantha</i>	Boz ot	Isparta
	Dağ çayı	Antalya, Serik
<i>S. erythrantha</i> var. <i>cedretorum</i>	Yayla çayı	Antalya, Alanya
<i>S. germanicopolitana</i>	Tosbağa çayı	Amasya
<i>S. hispida</i>	Dağ çayı	Kayseri
<i>S. huber-morathii</i>	Dağ çayı	Hatay, Yayla dağ
<i>S. lanata</i>	Dağ çayı	Manisa, Kula
<i>S. leptoclada</i>	Kızlan çayı	Muğla, Marmaris, Köyceğiz, Dalaman
	Kırtıl çayı	Denizli, Eskere
	Dağ çayı	Denizli, Acıpayam
<i>S. libanotica</i>	Bozla çayı, Dağ çayı, Yayla çayı	Antalya, Elmalı
	Altınbaş, Ada çayı	Mersin
	Yara otu	Van, Bitlis, Siirt, Hakkâri, Urfa
<i>S. libanotica</i> ssp. <i>curdica</i>	Dağ çayı	Maraş
<i>S. libanotica</i> ssp. <i>libanotica</i>	Altınbaş, Adaçayı, Dağ çayı	Hatay, İskenderun, Arsuz

Tablo 1.1: (devam) *Sideritis* türlerinin halk arasındaki yöresel adları.

TÜR	MAHALLİ ADI	KULLANILDIĞI BÖLGE
<i>S. libanotica</i> ssp. <i>linearis</i>	Altınbaş	Kayseri, Maraş, Konya
	Acem arpası, Çalı çayı, Bozlan çayı	Muğla, Köyceğiz, Fethiye
	Çay otu, Akdağ çayı	Konya, Akdağ
	Düğümlü çay	Afyon
	İnce çay	Antalya, Elmalı, Alanya, Akseki
	Yayla çayı, Acem arpası	Mersin, Erdemli
	Çay otu	Denizli, Çivril, Baklan; Konya, Ermenek; Afyon, Çay
<i>S. lycia</i>	Dağ çayı	Antalya, Burdur
<i>S. montana</i> ssp. <i>montana</i>	Ballı ot, Dağ çayı, Kuyruk çayı	Kırklareli
<i>S. niveotomentosa</i>	Dokuz düğmeli	İçel, Gülnar
<i>S. ozturkii</i>	Kızıl çay, Ada çayı	Konya, Çamlık Kasabası, Kızıldağ
<i>S. perfoliata</i>	Dağ çayı, Yayla çayı, Cazık çayı	Antalya, Alanya; Bornova
	Elduran otu, Kandil çayı	Balıkesir, Bergama
<i>S. Phrygia</i>	Çay otu	Afyon, Çay
<i>S. pisidica</i>	Dağ çayı, Eldiven çayı, Eldivan çayı	Antalya, Elmalı
	Çay çalbası	Muğla, Antalya
	Hava otu, Dallı adaçayı	Konya, Beyşehir
	Yayla çayı, Akdağ çayı	Fethiye
<i>S. rubiflora</i>	Dağ çayı	İçel, Anamur
<i>S. scardica</i> ssp. <i>scardica</i>	Dağ çayı	Kırklareli
<i>S. sipylea</i>	Adaçayı, Sivri çay	İzmir, Ödemiş, Kemalpaşa; Manisa
<i>S. stricta</i>	Dağ çayı	Antalya, Selge
	Tilki kuyruğu, Dokuz donlu	Kepez, Korkuteli
<i>S. syriaca</i> ssp. <i>nusariensis</i>	Boz kekik	Mersin, Anamur
<i>S. syriaca</i> ssp. <i>violascens</i>	Topuklu çay	Antalya, Alanya
<i>S. tmolea</i>	Balbaşı, Sivri çayı	İzmir, Ödemiş, Bozdağ
<i>S. trojana</i>	Kazdağı çayı	Çanakkale, Bayramiç
	Sarıköz çayı	İzmir, Ödemiş, Bozdağ
<i>S. vulcanica</i>	Nezle çayı	Elazığ
<i>S. vuralii</i>	Boz çay	İçel, Anamur

1.3 *Sideritis* Cinsi Üzerine Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Bitkiler, dünyada ve ülkemizde yüzyıllardan beri çay, baharat, parfüm olarak ya da hastalıkları tedavi amaçlı ilaç yapımında kullanılmaktadır. Bu özellikleriyle son yüzyılda araştırmacıların dikkatini çekmekte olup halen çalışmalar devam etmektedir [30]. Ülkemiz zengin bir bitki örtüsüne sahip olup Labiatae familyasının bir çok türüyle beraber özellikle İspanya, Fas, Suriye, Yunanistan, İtalya ile beraber *Sideritis* cinsini de barındırmaktadır [27-31]. *Sideritis* türleri açısından oldukça zengin bir ülke olan İspanya'da da bu bitki türleri üzerindeki çalışmalar oldukça yoğunudur [32-39].

Ülkemizde yapılan çalışmalarda 1995 yılında *S. akmanii* Z. Aytaç, M. Ekici & A. Dönmez ve *S. gülendamiæ* H. Duman & F. A. Karavelioğulları yeni tür olarak tanımlanmış, Kırklareli'den toplanan *S. scardica* Griseb. subsp. *scardica*'nın ise yeni bir takson olduğu bildirilmiştir. 1998 yılında *S. caesarea* H. Duman, Z. Aytaç & Başer ile *S. vuralii* H. Duman & Başer türleri tanımlanmıştır. 2000 yılında ise *S. ozturkii* Z. Aytaç & A. Aksoy türleri tanımlanarak *Sideritis* türlerinin ülkemizdeki tür sayısı toplamda 46'ya ulaşmıştır [21,40-42].

Türkiye'de *Sideritis* türleri üzerine ilk kez Sezik ve arkadaşları 1985 yılında çalışmış, bu çalışmada manoiloksit bileşiği bulunmuştur [43]. *Sideritis* türlerinin içerdiği uçucu bileşenlerin aydınlatılması maksadıyla birçok çalışma yapılmış [44-51], ayrıca fenolik ve terpenik maddelerle ilgili çalışmalar ise artmaktadır [52-64].

Biyolojik aktiviteleri açısından *Sideritis* türleri araştırıldığında sinir sistemi düzenleyici, antispazmodik, antienflamatuar, karminatif, sedadif, analjezik, stomaşık, antikonvülsan, antioksidan, antifeedant, antistres etkilerinin olduğu ayrıca gastrointestinal rahatsızlıklara karşı ve soğuk algınlığına karşı etkilerinin olduğu belirlenmiştir [8,54,65-70].

1.4 Uçucu Yağlar

Uçucu yağlar, bitkilerin yaprak, meyve, kabuk veya kök kısımlarından su veya su buharı destilasyonu yöntemiyle elde edilen, oda sıcaklığında sıvı halde, renksiz veya açık sarı-turuncu renkli olan, kolaylıkla kristalleşebilen, kuvvetli kokulu yağimsı karışımlardır [71,72]. Bu yağlar açıkta bırakıldıklarında buharlaşmaları ve leke bırakmamaları yönünden sabit yağlardan farklıdırlar [73].

Kötü kokuya sahip olan uçucu yağların repellent (itici) özelliğinden dolayı bitkileri hastalık, zararlı ve otobur hayvanlara karşı koruduğu, hoş kokulu uçucu yağların ise atraktif (çekici) özelliği ile başta bal arıları olmak üzere pek çok böceği çekerek tozlaşmayı sağladıkları bilinmektedir [73].

Birçok farklı maddeyi içeren kompleks karışımlar olmalarından dolayı uçucu yağlar biyolojik aktivite açısından da birbirlerinden farklı etki göstermektedirler. Bununla birlikte pek çok uçucu yağ antimikrobiyal, karminatif, sedatif, antispazmodik, diüretik etkilere sahiptir [74-77].

Uçucu yağların içerdiği maddeler ve bunların miktarları; bitkinin cinsine ve hangi kısımdan elde edildiğine, üretim şekline, bulunduğu bölgenin iklimine ve bu bölgenin coğrafik yapısına bağlı olarak değişmektedir [78, 79-83].

Uçucu yağlar kimyasal açıdan incelendiğinde en büyük grubu terpenler oluşturmaktadır ve az miktarda alkol, aldehit, ester, fenol, azot ve kükürt içeren bileşikler de bulunmaktadır [84].

Lamiaceae familyasına ait bitkilerin uçucu yağ bakımından zengin olmasına rağmen yapılan çalışmalar *Sideritis* türlerinin yağ içeriğinin familyanın diğer üyelerine göre zayıf olduğunu göstermiştir [20].

1.4.1 Uçucu Yağların Sınıflandırılması

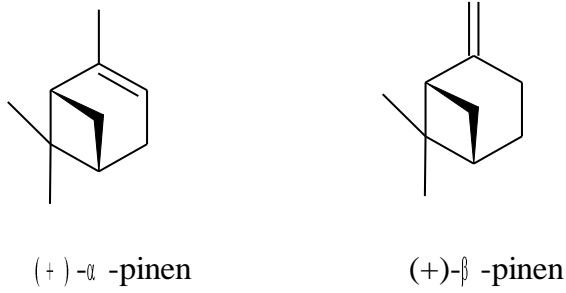
K. H. C. Başer tarafından 2002 yılında *Empedoclia* seksiyonuna ait *Sideritis* türlerinin uçucu yağları üzerine yapılan çalışmada, bu türleri uçucu yağ bileşimine göre; monoterpenlerce zengin, oksijenlenmiş monoterpenlerce zengin, seskiterpenlerce zengin, oksijenlenmiş seskiterpenlerce zengin, diterpenlerce zengin

ve diğeri olmak üzere 6 gruba ayırdığı görülmektedir [46]. Ayrıca yağ verimi yüksek bulunan bitkilerin uçucu yağ bileşimi monoterpen zengin bulunurken, düşük yağ verimine sahip bitkilerin de seskiterpen bileşikleri açısından zengin olduğu belirlenmiştir [13].

1.4.1.1 Oksijensiz (Hidrokarbon) Monoterpenler

İki izopren (C_5H_8) ünitesinden oluşup yapılarında sadece C ile H barındıran, hidrokarbür adı verilen oksijensiz terpenik maddelerdir [85].

Sideritis hispida, *S. gulendamii*, *S. trojana* gibi bitkiler oksijen barındırmayan monoterpenlerce zengin *Sideritis* türlerindedir ve uçucu yağlarının içerisinde ana bileşen olarak α -pinen ve β -pinen (Şekil 1.2) bulundurmaktadırlar [13,86-87].

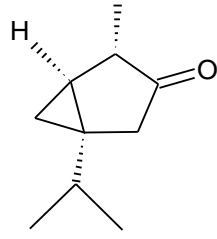


Şekil 1.2: Bazı oksijensiz monoterpenler.

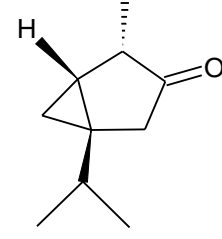
1.4.1.2 Oksijenli Monoterpenler

Terpenler ve oksijenli türevleri uçucu yağların belli başlı bileşenlerini oluşturup alkol, keton, aldehit ya da asit grubu taşıyan türevleri ise terpenoidler adını almaktadır [85,88].

α -thujon ve β -thujon (Şekil 1.3), *Sideritis arguta* içeriğinde bulunan oksijenli monoterpenlerdendir [46,89].



(+)- α -thujon



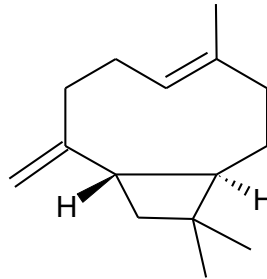
(+)- β -thujon

Şekil 1.3: Bazı oksijenli monotерpenler.

1.4.1.3 Oksijensiz (Hidrokarbon) Seskiterpenler

Monoterpenler gibi çeşitlilik gösteren yapılara sahip olan seskiterpenler, üç izopren ünitesinin birbirine bağlanmasıyla oluşmaktadır [29].

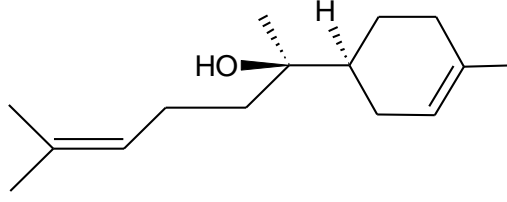
S. brevibracteata bitkisinin uçucu yağı β -karyofilen (Şekil 1.4) açısından zengindir [13].



Şekil 1.4: β -karyofilen.

1.4.1.4 Oksijenli Seskiterpenler

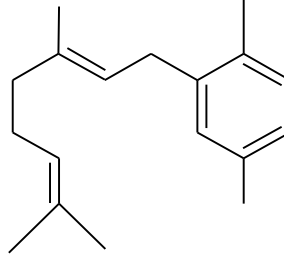
Oksijenli bir seskiterpen olan α -bisabolol (Şekil 1.5) *S. taurica* bitkisinin uçucu yağının ana bileşeni olarak bulunmaktadır [13].



Şekil 1.5: α -bisabolol.

1.4.1.5 Diterpenler

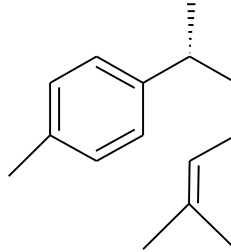
Dört izopren ünitesinden oluşup en basit hali ile $C_{20}H_{32}$ molekül formülüne sahip yapılardır [88]. Gerasimen (Şekil 1.6), *S. dichotoma* içeriğinde bulunan diterpenlere örnek olarak verilebilir [13].



Şekil 1.6: Gerasimen.

1.4.1.6 Diğer Bileşenler

Uçucu yağlar içerisinde az miktarda bulunan maddelerdir. Genellikle aromatik bileşikler ile kükürt ve azot içeren bileşikler bu sınıfa dahildir [90]. Ar-kurkumen (Şekil 1.7), *S. athoa* içinde bulunan bileşiklerdendir [13].

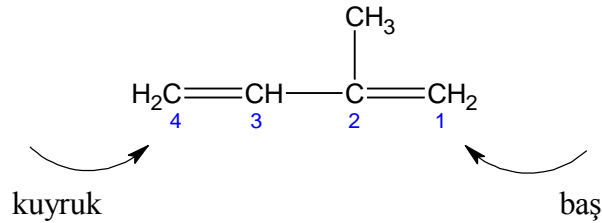


Şekil 1.7: Aromatik kurkumen.

1.5 Terpenler

Yapısal özellikleri açısından değişiklik gösterebilen terpenler, yaygın olarak bulunan, hem biyolojik öneme sahip hem de çoğu bitki orijinli olan en geniş doğal bileşik sınıfıdır [91]. Bitkilerden, özellikle de kozalaklı çam ağacından elde edilebildikleri gibi aynı zamanda bazı böceklerin osmeterium'larından da elde edilebilmektedirler. Bu bileşikler gerçekte "terpen" ismini reçineden elde edilen "turpentin" bileşiğinden almaktadırlar [92,93]. Gerek açık zincirli gerekse halkalı yapıya ve çeşitli fonksiyonel gruplara sahip 20.000'den fazla terpen bileşiği bilinmektedir [94]. Bunlar yalnızca hidrokarbon içeriğine sahip terpenler olabildiği gibi oksijen içeren ve terpenoid denilen alkol, keton, aldehit ya da asit grubu barındıran terpenler de olabilmektedir [95].

Bitkilerden elde edilen ilk terpenlerin $C_{10}H_{16}$ kapalı formülüne sahip olması bu yapıların iki izopren (C_5H_8), 2-metilbüta-1,3-dien (Şekil 1.8), molekülünden oluştuğu fikrinin doğmasına sebep olmuştur [96]. İlk kez Leopold Ruzicka¹ tarafından 1921 yılında öne sürülen bu görüş *izopren kuralı* olarak adlandırılmıştır. İzopren ünitelerindeki 1 nolu karbon baş, 4 nolu karbon kuyruk olarak adlandırılmaktadır.

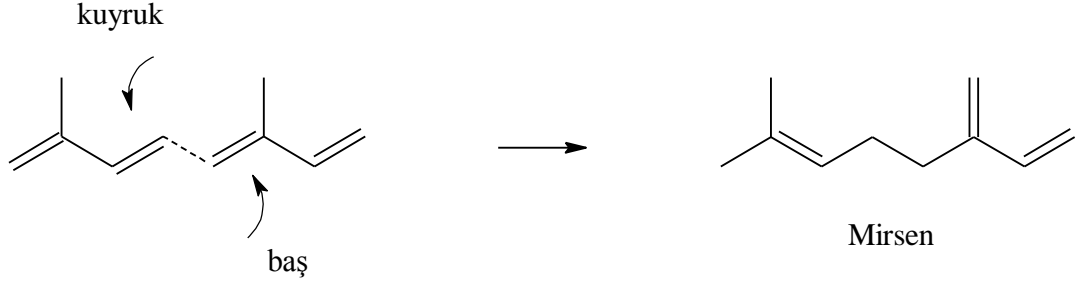


Şekil 1.8: İzopren (2-metilbüta-1,3-dien).

¹Leopold Ruzicka (1887 – 1976); b. Vukovar (Yugoslavya); PH. D, 1910 Karlsruhe; Profesör, İsveç Federal Enstitüsü (ETH), Zürih, (1923- 1926 ve 1929- 1957), Nobel ödülü, 1939

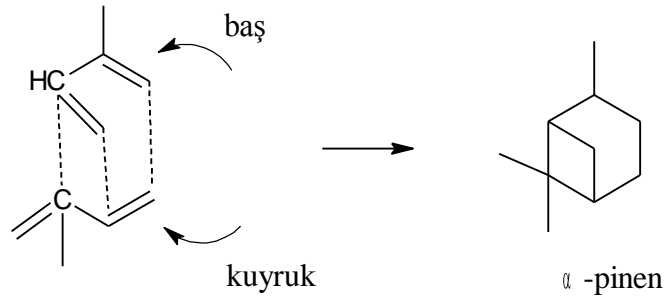
İzopren kuralına göre iki izopren ünitesi birbirine baş-baş, baş-kuyruk veya kuyruk-kuyruk şeklinde katılabilir ve en yaygın olanı ise baş-kuyruk kondenzasyonudur.

Şekil 1.9'da mirsen'in oluşması, iki izopren ünitesinin baş-kuyruk kondenzasyonuna örnek olarak gösterilebilir.



Şekil 1.9: Mirsen molekülünün oluşumu.

Yine Şekil 1.10' da görüldüğü gibi α -pinen molekülü de benzer şekilde oluşmaktadır [43].



Şekil 1.10: α -pinen molekülünün oluşumu.

Bu kuralın oldukça kullanışlı olduğu kanıtlanırsa da, sabit bir kural değil de yol gösterici bir prensip olarak gösterilebilir. Bazı durumlarda çeşitli istisnalar gözlenmektedir; karotenler merkezlerinden kuyruk kuyruğa bağlanır, ayrıca bazı terpenlerin biyosentezi esnasında yükseltgenme reaksiyonlarında karbonlarını kaybettiğinden beşin katları şeklinde karbon içermemeleri ve karbon sayısı beşin katı olup izopren moleküllerine bölünemeyen terpenlerin varlığı da bu tür istisnai durumlara birer örnektir [93,96].

1.5.1 Terpenlerin Sınıflandırılması ve Biyosentezi

Terpenler içerdığı temel ünite izopren yapısı (C_5H_8) olan ve bu molekülün biyosentezi ile oluşup yapılarında buldukları izopren birimlerinin sayısına göre sınıflandırılan bileşiklerdir. Buna göre içerdikleri izopren ünitelerinin büyüklüğüne göre hemiterpenler, monoterpenler, seskiterpenler, diterpenler, sesterpenler, triterpenler ve tetraterpenler şeklinde sınıflandırılmaktadırlar. 10 karbon bulunduran moleküllere monoterpenler, 15 karbonlulara seskiterpenler ve 20 karbonlulara diterpenler örnek olarak verilmektedir (Tablo 1.2).

Tablo 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 incelenmektedir [97].

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

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

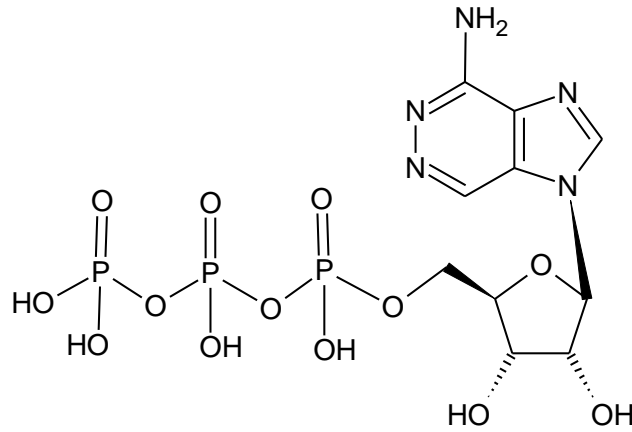
Uçucu yağlarda bulunan maddeler genellikle monoterpen ve seskiterpenik yapıda olan bileşiklerdir ve uçucu yağların özsuyu ile bazı bitkilerin dokularında bulunmaktadırlar.

Uçucu olmayan bileşikler ise seskiterpenlerin bir kısmı ile diterpen, triterpen ve politerpenlerdir. Uçucu yağların içerisinde bulunmalarına rağmen su buharıyla sürüklenemedikleri için uçucu yağa geçemezler. Bunlardan di ve triterpenler bitkilerin sakız ve reçinelerinden elde edilmektedirler.

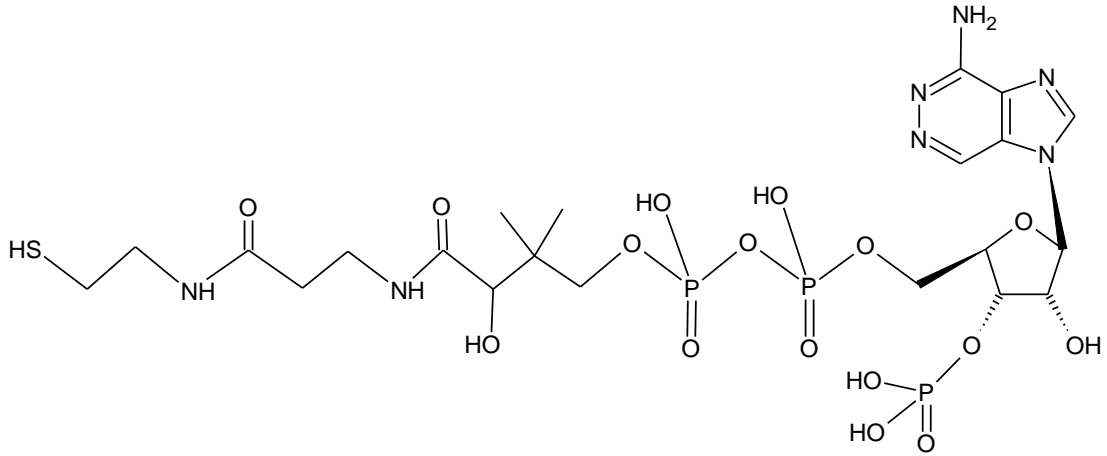
Tetraterpenler (karotenler) ayırıcı bir grup olarak da davranabilen düzenlenmiş bir gruptur. Politerpenlerin en çok bilinen üyesi ise kauçuktur [96].

1.5.1.1 İzopentenil Pirofosfatın Oluşumu

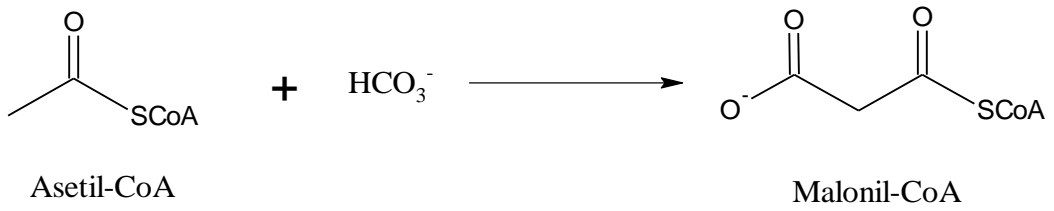
Terpenlerin oluşumunda tek başına yeterli olmayan izopren birimleri terpen yapısını oluşturabilecek reaksiyon aktivitesine sahip izopentenil pirofosfat halinde biyosenteze katılmaktadır. Reaksiyonda ilk aşama olarak asetil-CoA bikarbonat anyonu ile Malonil-CoA'yı (Şekil 1.13) oluştururken, iki asetil-CoA molekülü de kondenzasyona uğrayarak asetoasetil-CoA molekülünü oluşturmaktadırlar. Asetoasetil-CoA ve malonil-CoA molekülleri de birbiriyle kondenzasyona uğrayarak Adenozintrifosfat (ATP) (Şekil 1.11) eşliğinde izopentenil pirofosfat'ı (Şekil 1.14) meydana getirmektedirler. Oluşan izopentenil pirofosfat yapısı da terpenlerin oluşumunda rol oynamaktadır [94,97,98].



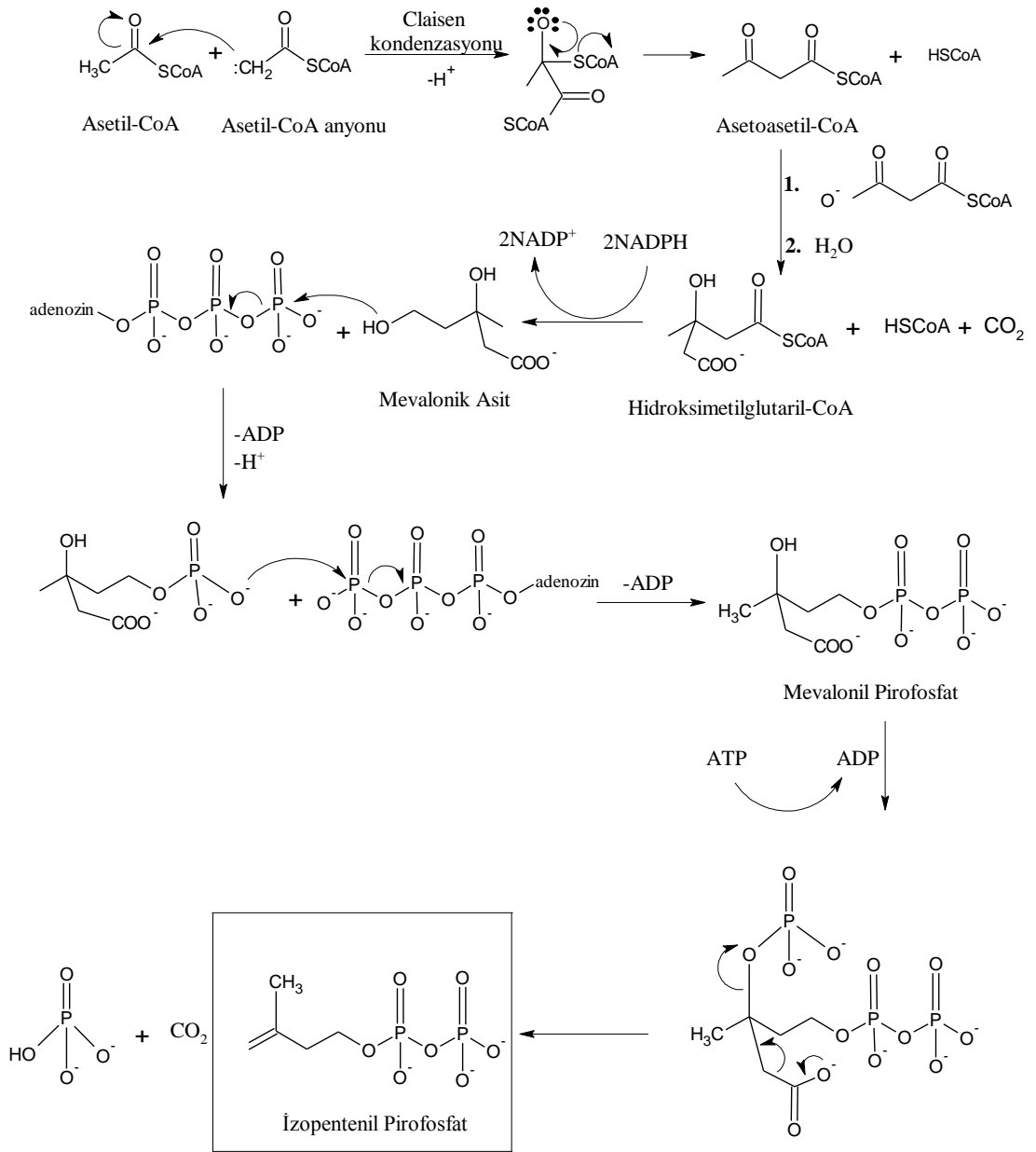
Şekil 1.11: Adenozintrifosfat (ATP).



Şekil 1.12: Koenzim A.

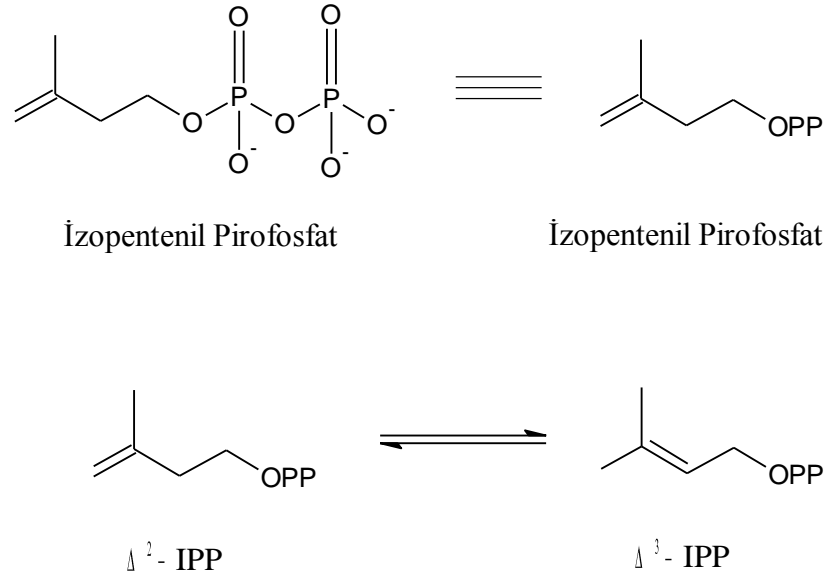


Şekil 1.13: Malonil-CoA oluşumu.



Şekil 1.14: İzopentenil pirofosfat oluşumu.

Oluşan izopentenil pirofosfat bu haliyle terpenlerin biyosentezine katılmak için yeterli değildir. Bu yüzden Şekil 1.15’de görüldüğü gibi izopentenil pirofosfat bir enzim yardımıyla izomerizasyona uğrayarak dimetil alil ester ile bir denge oluşturmaktadır. İzomerizasyon izopentenil pirofosfata protonun Markownikoff kuralına göre katılmasıyla ve oluşan karbokatyon ara ürününün de Zaitseff kuralına göre düzenlenmesi ile gerçekleşmektedir [95].



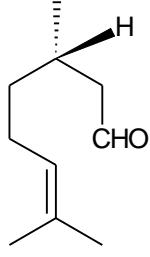
Şekil 1.15: izopentenil pirofosfat denge reaksiyonu.

1.5.1.2 Monoterpenler

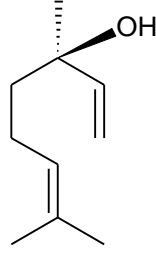
Monoterpenler iki izopren ünitesi içeren $C_{10}H_{16}$ molekül formülüne sahip bileşiklerdir. Bitkilerde ve baharatlardaki uçucu bileşenler olarak bilindikleri gibi bazı böceklerde ve deniz organizmalarının bünyelerinde de varlıkları saptanmıştır [99-100].

Yapısal olarak birbirlerinden farklı olan monoterpenler (Şekil 1.16), yapı tipleri açısından asiklik mirsen, monosiklik p-mentan, bisiklik bornan, karan, fençan, pinan ve tujan’ı içermektedirler [99].

Mirsan sınıfı

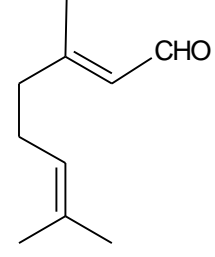


(+)-Sitronelal



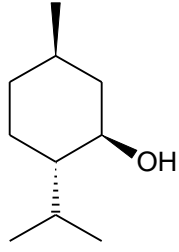
(+)-Linalool

Geranial sınıfı

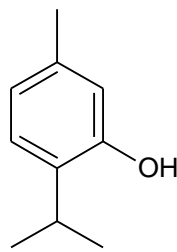


Geranial

Mentan sınıfı

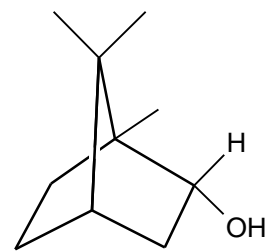


Mentol



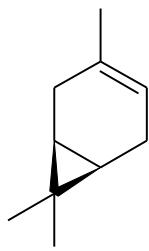
Timol

Bornan sınıfı



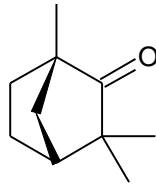
(+)-Borneol

Karan sınıfı



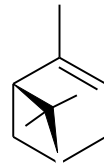
(-)-Kar-3-en

Fençan sınıfı



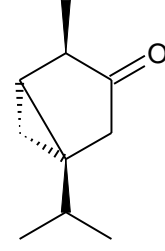
(-)-Fençon

Pinan sınıfı



(+)- α -Pinen

Tujon sınıfı

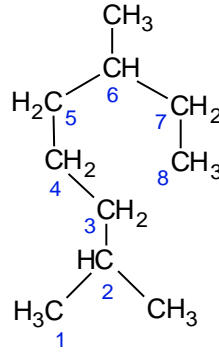


(-)-Tujon

Şekil 1.16: Bazı monoterpenler.

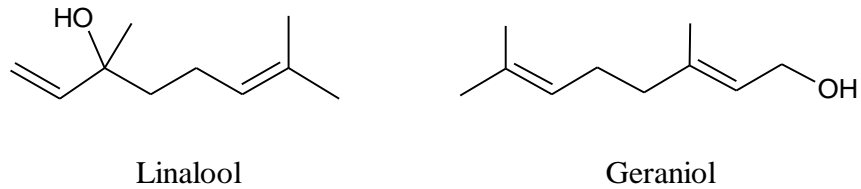
1.5.1.2.1 Asiklik Monoterpenler

Asiklik monoterpener 2,6-dimetiloktan (Şekil 1.17) iskeletini taşıyıp üç çifte bağ bulundurmaktadırlar. Oksijenli türevleri farmakognozi yönünden daha önemli olan bu yapılar primer alkol, tersiyer alkol, ester ve aldehit grupları taşıyabilir, monoetilenik ya da dietilenik olabilir [101].



Şekil 1.17: 2,6-dimetiloktan.

Örneğin *Rosa damascena* Mill. (Rosaceae) bitkisinden elde edilen gül yağının GC/MS ile yapılan analizlerinde önemli koku bileşenlerinin linalool ve geraniol (Şekil 1.18) gibi asiklik monoterpener alkoller olduğu bulunmuştur [102].

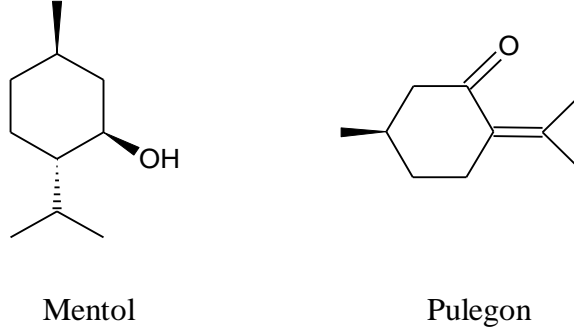


Şekil 1.18: Bazı asiklik monoterpenerler.

1.5.1.2.2 Monosiklik Monoterpenler

Monosiklik monoterpener çoğunlukla p-mentan iskeleti taşıyıp iki tane çifte bağ içermektedirler. Oksijen içeren türevleri sekonder ya da tersiyer alkol, ester, keton, epoksit ve peroksit grupları taşıyabilir. Bu bileşikler dietilenik, monoetilenik veya doymuş yapıda olabilir. Mentol, pulegon (Şekil 1.19) önemli monosiklik monoterpenerlere örnek olarak verilebilir.

Örneğin *Mentha piperita* (Labiatae) bitkisinden su buharı distilasyonu ile elde edilen nane yağının %50 sini monosiklik monoterpen olan mentol oluşturmaktadır. Türkiye’ de doğal olarak yetişen *Mentha* türlerinden birisi olan *Mentha pulegium* (yarpuz) ise mentol içermeyip keton grubunu bulunduran pulegon adında monosiklik bir monoterpen içermektedir. Pulegon nane kokusunda bir maddedir ancak etki bakımından birbirlerinden farklı oldukları için mentol yerine kullanılamamaktadır [85].

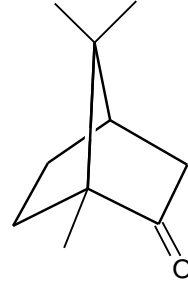


Şekil 1.19: Bazı monosiklik monoterpenler.

1.5.1.2.3 Bisiklik Monoterpenler

Bisiklik monoterpenler genellikle bir çifte bağ taşımakla birlikte sabinen, karen, pinen, ya da kamfen iskeletinden türemiş yapılardır. Oksijenli türevleri sekonder alkol, ester ya da keton grupları taşırlar ve monoetilenik veya doymuş yapıda olabilirler [103].

Örneğin *cinnamomum camphora* (Lauraceae) ağacının odunundan elde edilen uçucu yağ içerisinde bulunan bisiklik bi monoterpen olan kafur (Şekil 1.20), keton grubu taşıyan bir bileşiktir. Kalp ve solunum analeptiği olarak enjeksiyon halinde kullanılırken, akciğer ve solunum yollarındaki antiseptik etkisinden dolayı buğu şeklinde yada göğüs ve sırtta sürülen pomat şeklinde kullanılmaktadır [85].

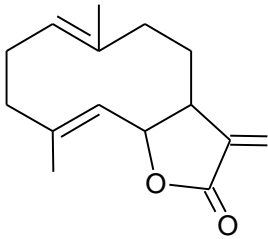


Şekil 1.20: Kafur.

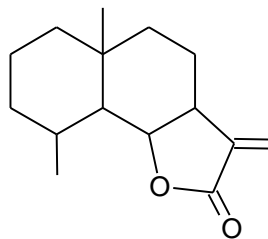
1.5.1.3 Seskiterpenler

Seskiterpenler üç izopren biriminden oluşup, $C_{15}H_{24}$ molekül formülüne sahiptirler ve doğada geniş bir dağılım göstermeleriyle terpenlerin en geniş sınıfını oluştururlar. Özellikle *Compositae* familyasında bulunan bitkilerin içerisinde seskiterpenler aktif bileşen olarak bulunmaktadır [92,99,104].

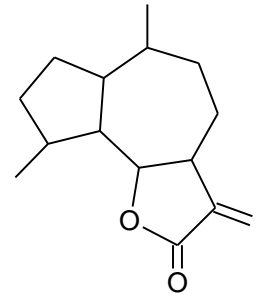
Seskiterpen laktonları içerdikleri karbosiklik iskelet yapısına bağlı olarak; 10 üyeli halka germacranolidler, birbirine bağlanmış iki altılı halka bulunduran eudesmanolidler ve yedi üyeli halkaya bağlı beşli bir halka guaianolidler olmak üzere üç grupta incelenir [99]. Şekil 1.21’de germacranolidler, ödesmanolidler, guaianolidler verilmiştir [99].



Germacranolid



Ödesmanolid

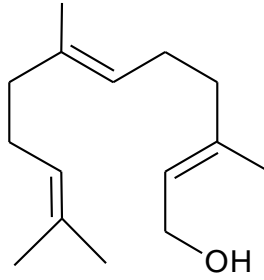


Guaianolid

Şekil 1.21: Bazı seskiterpenler.

1.5.1.3.1 Asiklik Seskiterpenler

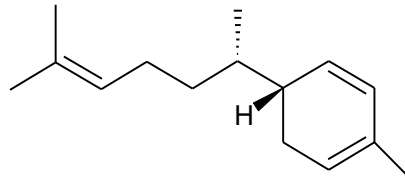
Asiklik seskiterpenlere farnesol (Şekil 1.22) örnek olarak verilebilir. Doğal olarak ambrette tohumlarının yağında bulunan bu bileşik renksiz, suda çözünmeyen ancak yağlarla karışabilen bir maddedir. Leylak kokusunda olan farnesol kozmetik ve parfümeride kullanılıp bazı böceklerde de hormon işlevi görerek kurtçuk şeklinden güve haline dönüşmesini sağlamaktadır [96,105].



Şekil 1.22: Farnesol.

1.5.1.3.2 Monosiklik Seskiterpenler

Zingiber officinale (zencefil) bitkisinden elde edilen yağın ana bileşeni olan zenciberen (Şekil 1.23), hidrokarbon yapısında olan monosiklik seskiterpenlere bir örnektir. Gıda ve ilaç endüstrisinde önemli bir yere sahip olan zenciberen antiviral, antiülser ve antifertilite etkileriyle dikkate değer bir biyolojik spektruma sahiptir [29,106,107].

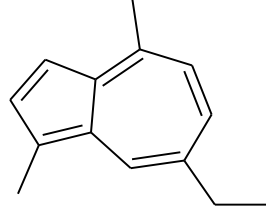


Şekil 1.23: Zenciberen.

1.5.1.3.3 Bisiklik Seskiterpenler

Türkiye’de mayıs papatyası olarak bilinen *Matricaria chamomilla* bitkisinin çiçeklerinden su buharı destilasyonu ile elde edilen mavi-yeşil renkli uçucu yağ

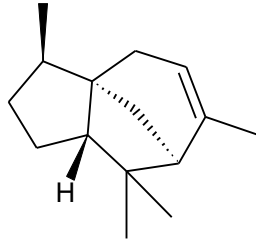
içerisinde bulunan kamazulen (Şekil 1.24), oksijensiz bisiklik bir seskiterpendir. Antienflamatuar etkiye sahip olan bu madde boğaz ağrılarına karşı gargara olarak ayrıca kozmetikte de saç rengini açmak için kullanılmaktadır [85].



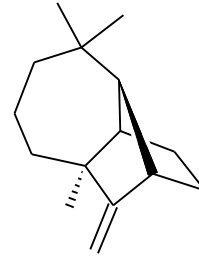
Şekil 1.24: Kamazulen.

1.5.1.3.4 Trisiklik Seskiterpenler

Trisiklik seskiterpenler Sedren ve Longifolen (Şekil 1.25) olmak üzere iki grupta incelenmektedir [108].



Sedren



Longifolen

Şekil 1.25: Bazı trisiklik seskiterpenler.

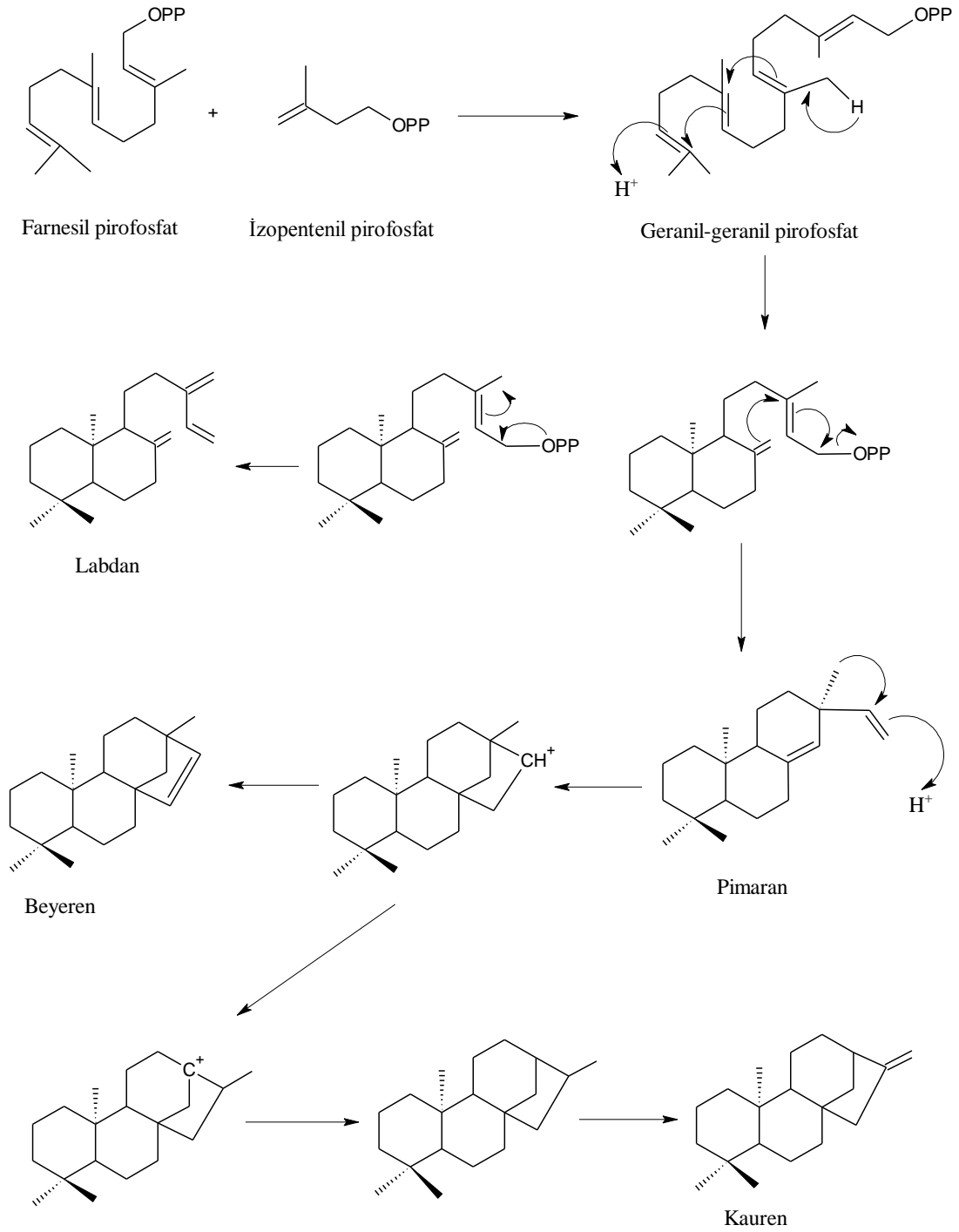
1.5.1.4 Diterpenler

Dört izopren ünitesinden oluşan diterpenler, basitçe $C_{20}H_{32}$ molekül formülüne sahiptirler ve bitki ya da mantar orijinli olmalarına rağmen deniz ve böcek dünyasında da bulunmaktadır [88]. Diterpenleri çalışmak amacıyla edinilen ilk örnekler çam ağacı reçineleriydi ancak uzun zamandır üzerinde çalışılmasına rağmen kromatografik tekniklerin, Nükleer Magnetik Rezonans (NMR) spektroskopisi ve X-Ray kristallografi metodlarının yaygınlaşması yapılarının özellikle son yıllarda hızlı bir şekilde aydınlatılmasına yardımcı olmuştur. Sınıflandırılmaları ise biogenetik prensiplerine bağlıdır [94].

Diterpenler 2E, 6E, 10E geranil-geranil pirofosfattan türemiş doğal izoprenoid ürünler ailesinin en çok bulunan üyeleridir ve doğal ürünler içerisinde, en geniş biyolojik aktiviteye sahip bileşiklerdir. Hormonları geliştiren bitkilerde bulunmaktadır. Örneğin, giberallin; bitki büyüme hormonu, podolakton; bitki büyüme inhibitörü gibi işlevlere sahiptir.

Klerodan ise acı madde olup anti tümör etkisi ve bazı antibiyotiklere benzer özellikleri olduğu ve bunun yanı sıra yüksek tansiyonu düşürücü etkiye sahip olduğu, solerol ürünlerinin parfümeri endüstrisinde kullanıldığı da görülmektedir [94].

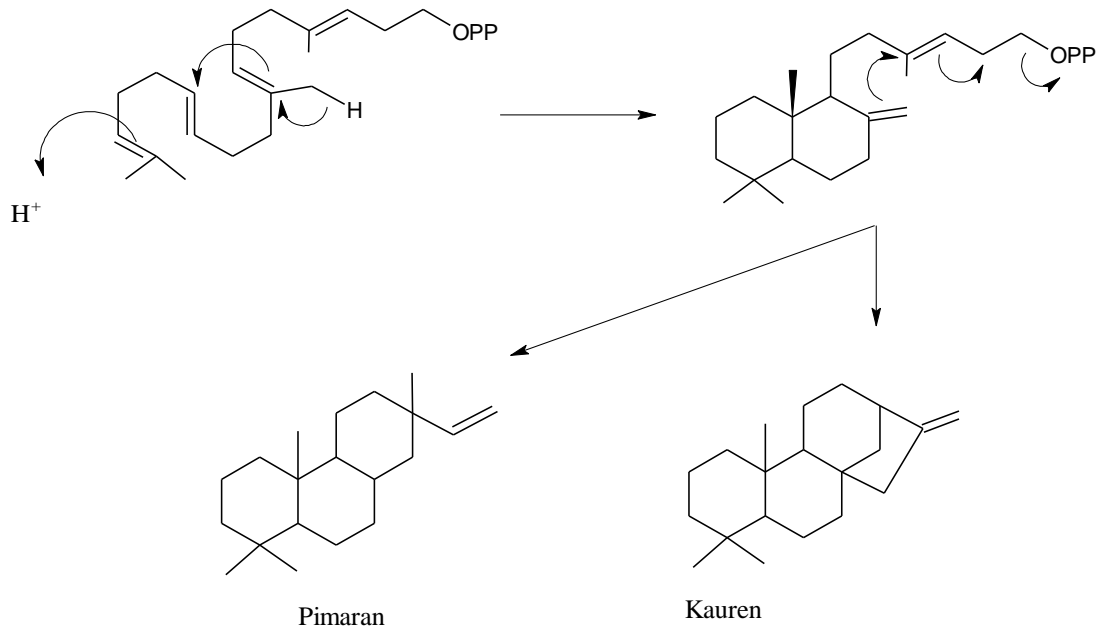
Diterpen ailesinin bir üyesi olan kauren diterpenler *Sideritis* türlerinde genellikle yaygın olarak bulunmaktadır. Kauren diterpenlerin yanında labdan, pimaran ve beyeren diterpenleri de az da olsa içermektedirler. Ülkemizde mevcut olan bir diğer Labiatae familyası üyesi olan *Salvia* türlerinde abietanlar [109], *Teucrium* ve *Ajuga* türlerinde ise kloredan ve neokloredanlar yaygın olarak bulunmaktadır [110]. Şekil 1.26' da diterpenlerin biyosentezi için olası mekanizmalar önerilmiştir [98].



Şekil 1.26: Diterpenlerin biyosentezi için önerilen mekanizmalar.

1.5.1.4.1 Biyogenetik Sınıflandırma

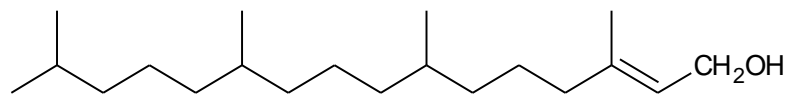
Siklik yapıya sahip diterpenlerin sınıflandırılması biyogenetik yaklaşımlar temel alınarak yapılmaktadır. Halkalanma izopropil ünitesinde, asidik ortamda enzim sayesinde oluşan karbokatyona çifte bağ elektronlarının saldırması ile başlamakta ve bisiklik perhidronaftalin türevlerinin oluşumu sağlanmaktadır. Daha sonra gerçekleşen basamaklarda -OPP grubunun ayrılmasıyla ardışık siklizasyonlar başlayıp bunları çeşitli düzenlemeler takip ederek daha az gerilimli yapılar oluşmaktadır ve bu oluşumlar Şekil 1.27’ de bir örnekte gösterilmiştir [111].



Şekil 1.27: Diterpenlerin pirofosfat grubunun ayrılmasıyla siklizasyonu.

1.5.1.4.2 Asiklik Diterpenler

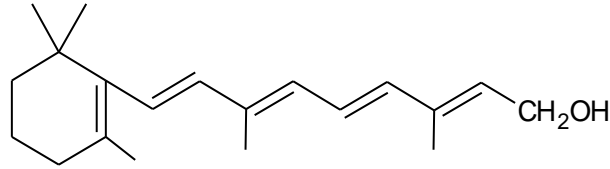
Yapılarında halka bulunmayan bu diterpen yapıları yirmi karbon ve bağlı sübstitüentlere göre yirminin üzerinde karbona sahip olan doymuş ya da doymamış yapılardır. Örnek olarak fitol (Şekil 1.28) verilebilir [96].



Şekil 1.28: Fitol.

1.5.1.4.3 Monosiklik Diterpenler

En çok bilinen monosiklik diterpen, retinol (Şekil 1.29) olarak da bilinen A1 vitamindir. Bitkilerde bulunmayan retinol, omurgalı hayvan organizmasında C₄₀-karotenoitlerin ikiye bölünmesi ile oluşan bir bileşiktir [112].



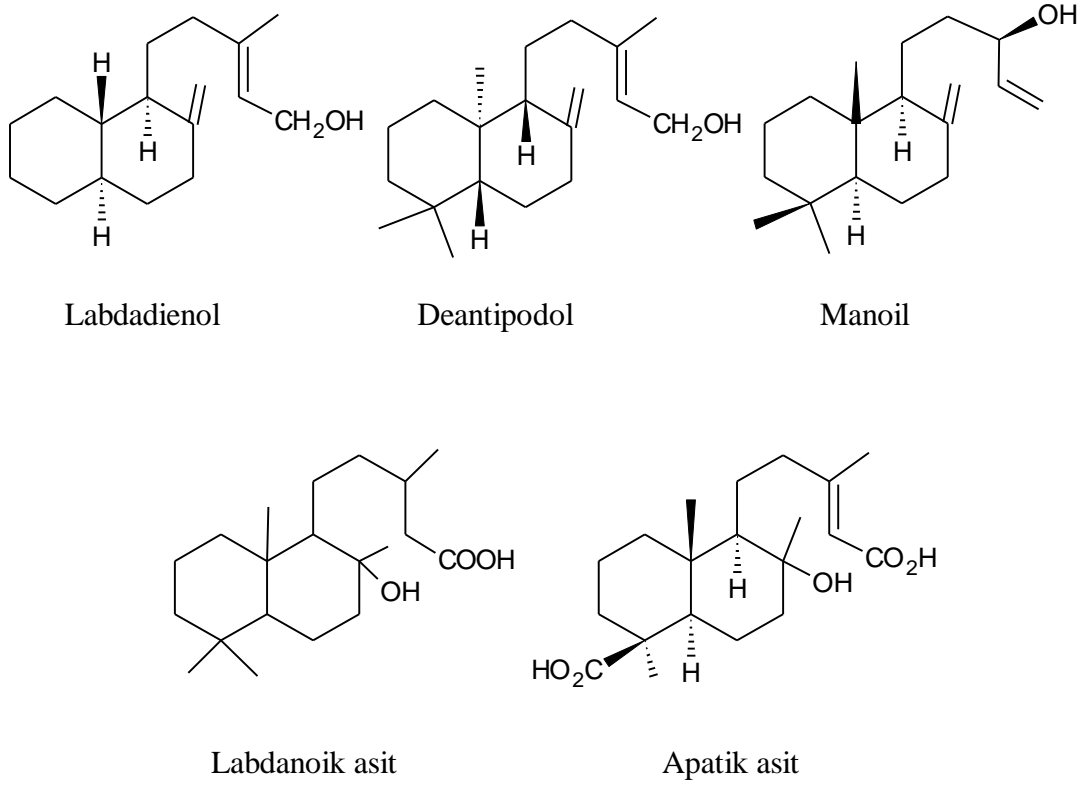
Şekil 1.29: Retinol.

1.5.1.4.4 Bisiklik Diterpenler

Bisiklik diterpenler Labdanlar (Labdanes) ve Kloredanlar (Kloredans) olmak üzere iki iskelet yapısında incelenmektedir.

1.5.1.4.4.1 Labdanlar

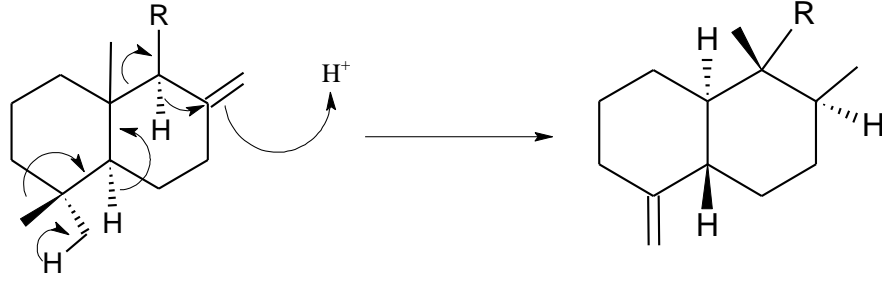
Geranil-geranil pirofosfatın başlangıçta enzimatik halkalanması bisiklik bir labdan ara ürününü vermektedir (bkz. Şekil 1.27). Triterpenler ve steroidlerin farklı bir şekilde diterpenlerin karakteristik bir özelliği bu aşamada ortaya çıkmaktadır. Bunlar hem normal (labdadienol) hem de anti-podal A/B halka kaynaşmasıdır ve bu durum siklaz enzim yüzeyi üzerinde zincir çıkış bileşiğinin farklı sarılma modları üzerinden oluşmaktadır. Her iki serinin örnekleri de yaygın bir şekilde görülmektedir. Aynı bitkide birbiri yanında her iki serinin de gerçekleştiği bilinmektedir. Bundan başka diterpenlerin büyük çoğunluğunun H-9 ile C-10 metil grubu arasında bir trans ilişkisi göstermesine rağmen, H-9 ve C-10 metil grubu arasında bir cis ilişkisi gösteren bir bisiklik çıkış bileşiği üzerinden türetilmiş bileşik örnekleri de bulunmaktadır. Plöromutilin ve afidicolin örnek olarak verilebilir. Labdadienol'un daha sonraki modifikasyonları bir yandan manoil benzeri bileşiklere ve de diğer yandan labdanoik asit ve apatik asit türevlerine dönüşebilmektedir. Bu seride C-13'te yeni bir optikçe aktif merkez haline dönüşmektedir [94]. Şekil 1.30'da bu bileşikler gösterilmektedir.



Şekil 1.30: Bazı labdanlar.

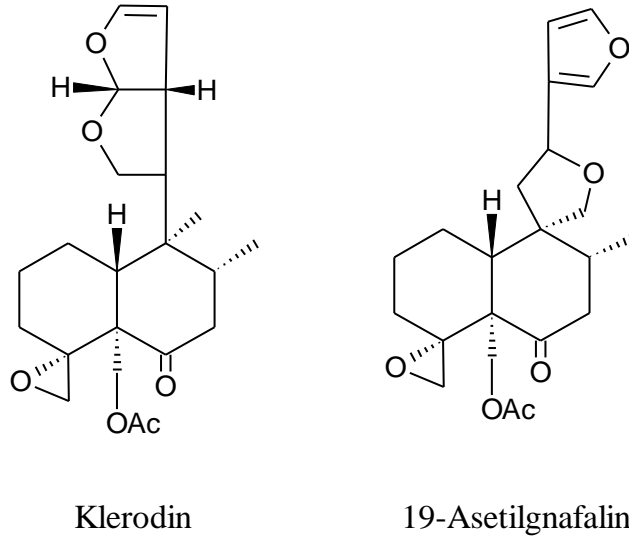
1.5.1.4.4.2 Klerodanlar

Klerodanlar Şekil 1.31’de görüldüğü gibi bir seri backbone veya Friedo düzenlenmeleri ile elde edilirler ve düzenlenmeler C-8 çift bağının protonlanması ve C-9’dan C-8’e hidrür kayması ile başlayıp arkasından C-10’dan C-9’a bir metil grubunun kayması ile gerçekleşmektedir. C-5’den C-10’a daha ileri bir hidrür kayması ve C-4’den C-5’e bir metil kayması sonucu düzenlenme tamamlanır. Bu iskelet tipi içinde birçok stereokimyasal varyasyonlar barındırmaktadır. Fakat her iki enantiomerik seri gerçekleşmekle kalmaz, H-8 ve C-9 süstitüenti arasında hem cis hem de trans ilişkisi bulunduran bileşiklere de rastlanmaktadır [94].



Şekil 1.31: Backbone ve Friedo düzenlenmesi ile klerodanların oluşumu.

A/B halkasının cis ve trans birleşmesinin örnekleri de bulunmaktadır. Bu seride, stereokimyanın dikkatli bir şekilde belirlenmesi yapısal çalışmanın önemli bir bölümüdür. X-Ray analizine göre orijinal yapı klerodin olarak bulunmuştur ancak tam stereokimyası Şekil 1.32'deki gibi olmalıdır, 400'ü aşkın klerodan ve neo-klerodan türevi bilinmektedir, bunların çoğu *Teucrium* türlerinden elde edilen yapılardır [111].



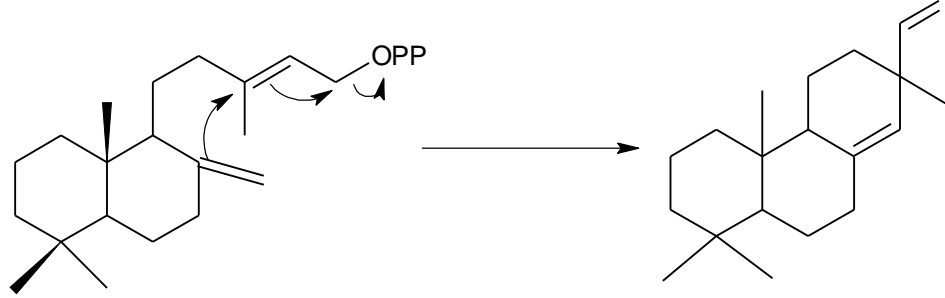
Şekil 1.32: Bisiklik diterpenler.

1.5.1.4.5 Trisiklik Diterpenler

Trisiklik diterpenler Pimaranlar (Pimarenes), Abietanlar (Abietans), Kasanlar (Cassanes), Rosanlar (Rosanes) olmak üzere dört iskelet yapısında incelenmektedir.

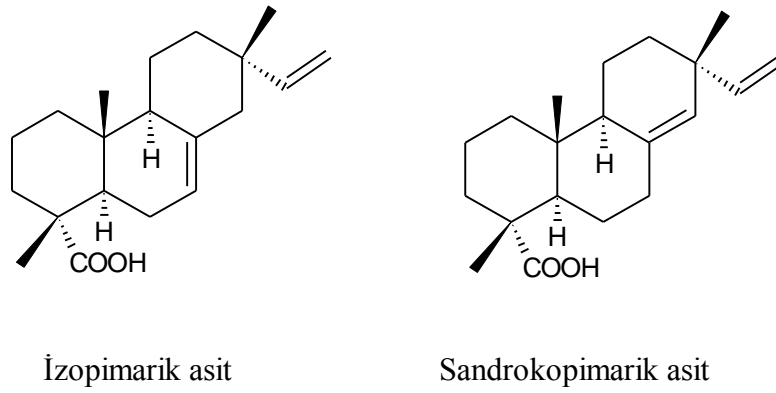
1.5.1.4.5.1 Pimaranlar

Pimaradienler, ayrılan grup pirofosfatın aktivasyonu sonucu oluşurlar ve merkezi çift bağın son pozisyonu da değişik şekillerde olabilmektedir. Şekil 1.33'de pimaranların oluşumu gösterilmiştir [29].



Şekil 1.33: Pimaranların oluşumu.

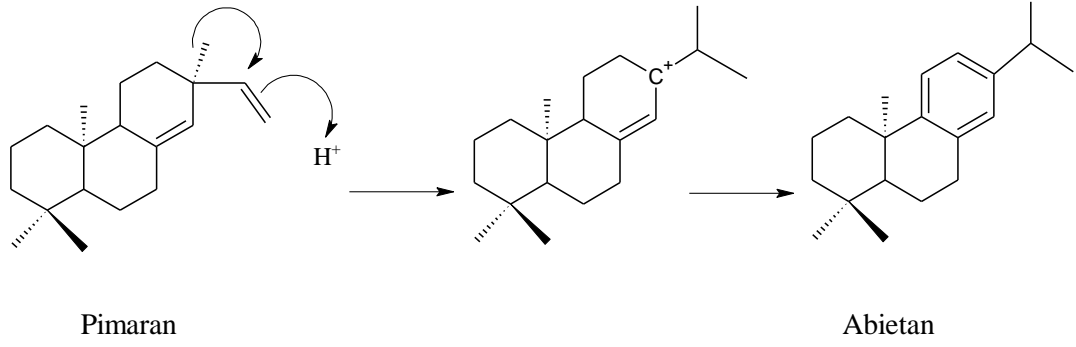
En yaygın pimaradien iskeletine sahip izopimarik asit ve sandrakopimarik asit Şekil 1.34'de örnek olarak gösterilmektedir [29].



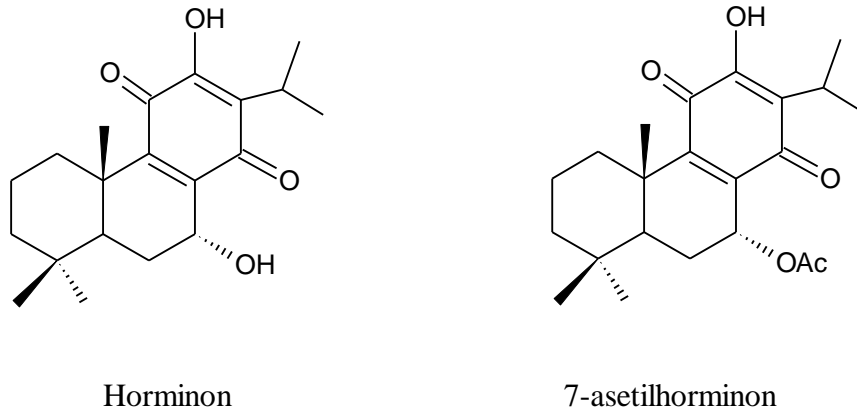
Şekil 1.34: Bazı pimaranlar.

1.5.1.4.5.2 Abietanlar

Trisiklik pimaradienlerde bulunan metil grubunun göçüyle abietanlar oluşmaktadır (Şekil 1.35). Özellikle *Salvia* cinsi abietan diterpenler açısından oldukça zengindir [94]. *Salvia multicaulis* [113] ve *Salvia blepharochlaena* [114] bitkilerinden elde edilen normal trisiklik yapıda abietan diterpenlerden olan horminon ve 7-asetil horminon örnek olarak verilebilir (Şekil 1.36). Bu yapıların antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir [94].



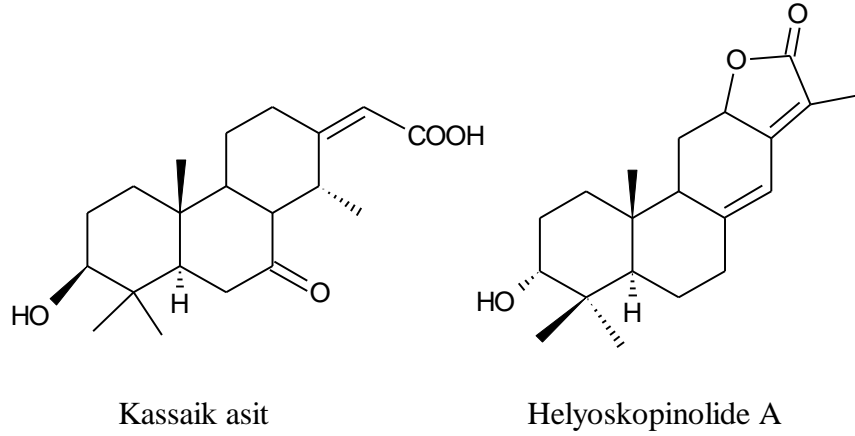
Şekil 1.35: Abietanların oluşumu.



Şekil 1.36: Bazı abietanlar.

1.5.1.4.5.3 Kassanlar

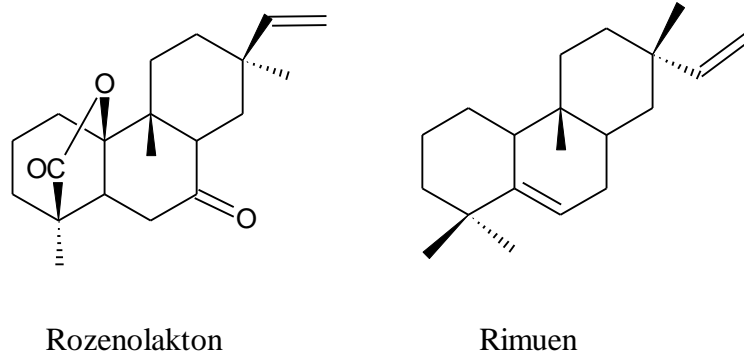
Kassanlar C-13' deki metil grubu C-14' e göçmesiyle oluşan diterpenlerdir. Bu tip yapılara *Erithrophleum* alkaloidlerinden elde edilen kassaik asit ve helyoskopinolid A örnek olarak verilebilir (Şekil 1.37) [111].



Şekil 1.37: Kassan türevleri.

1.5.1.4.5.4 Rosanlar

Rosanlar, Friedo veya Backbone düzenlenmesi içeren alternatif bir halkalaşma reaksiyonu ile oluşmaktadır. Örneğin Rozenalakton gibi rosan diterpenler *Trichothecium roseum*'dan elde edilirken, *Erythoxylon*'da da bazı yükseltgenme ürünleri ile beraber Rimuen yapısı belirlenmiştir (Şekil 1.38) [94].



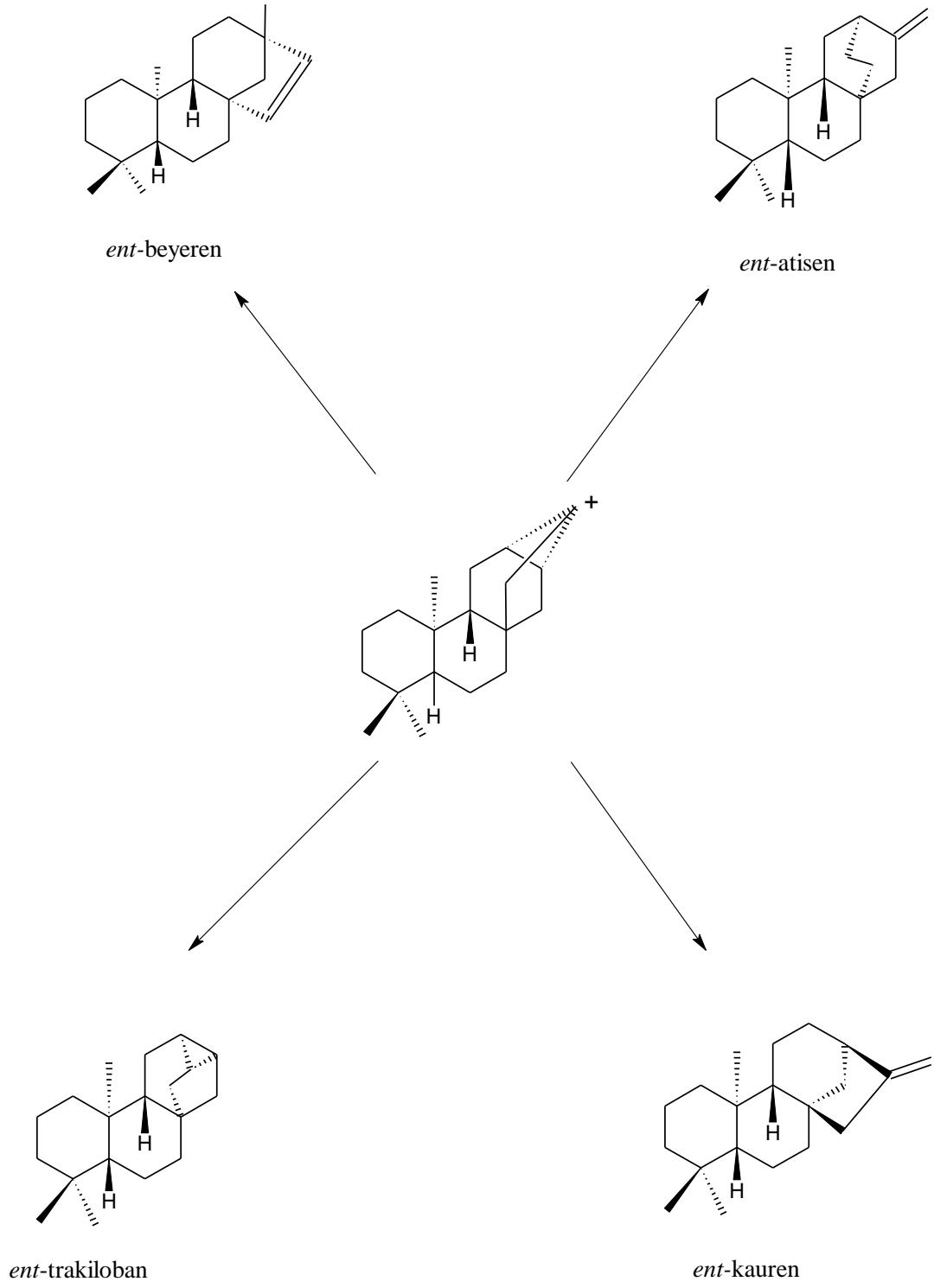
Şekil 1.38: Rosan türevleri.

1.5.1.4.6 Tetrasiklik Diterpenler

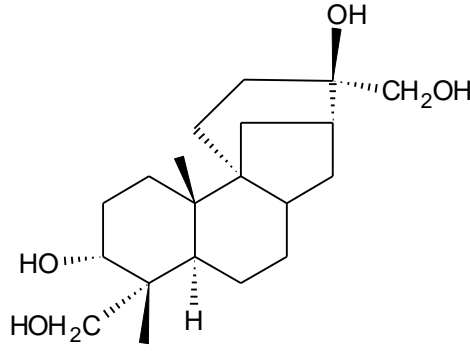
Pimaradienlerin klasik olmayan bir karbokasyon ara ürününe siklizasyonu ile tetrasiklik diterpenlerin oluştuğu varsayılmaktaydı. (Şekil 1.39). Bu düşünceye göre karbokasyon, kauren, atiseren veya beyeren serisi bileşikler veya beş halkalı pentasiklik siklokauren diterpenlerini oluşturmak üzere düzenlenebilir.

Fakat bu iyon ya da eşdeğer ürünü doğrudan bisiklik diterpenler serisinden oluşturulmaktadır ve bu serinin daha yüksek derecede oksitlenmiş üyelerini gibberellik asit, gibberellin gibi büyüme hormonları ile enmein ve grayanotoksin serisi bileşikler oluşturmaktadır. Gibberelin bitki hormonunun sentezi üzerinde çok çalışılmış olmasına rağmen serinin diğer biyosentetik bileşikleri hakkında daha az bilgi bulunmaktadır. Gibberellin bitki hormonları iki grupta sınıflandırılmaktadır; Gibberellin A₁₃ gibi yirmi karbon atomlu normal diterpenler ile gibberellik asitte olduğu gibi C-20'nin kaybolup A halkasının 19→10 γ lakton halkası ile köprülendiği tetrasiklik diterpenler de bulunmaktadır. Ayrıca çok sayıda hidroksillenmiş kaurenler de mevcuttur ve bir çoğu *ent*- kaur -16-en- 19-oik asitin türevleri şeklindedir. Daha kompleks yapıda ve yüksek düzeyde oksijenlenmiş bir grup abonit alkaloidlerini oluşturur ve bu alkaloidler *Delphinium* ve *Aconitum* türlerinde bulunmaktadır.

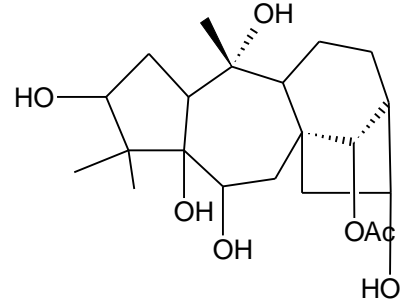
Bu bileşiklerde C-17 karbon atomu kaybolmakta ve *atisene* iskeletinde ise C-7, C-9 ve C-14'e göç ederek yedi üyeli bir halka oluşmaktadır. 10- β -metil ve 9- β hidrojenine sahip bisiklik bir pirofosfatın değişik bir siklizasyonu sonucu H-9'dan H-8'e düzenlenmesi üzerinden afidokolin serisi bileşikler oluşmaktadır ve bu bileşikler spesifik DNA polimeri inhibitörleri olarak bilinmektedirler [111]. Tetrasiklik diterpenler Şekil 1.40'da gösterilmektedir.



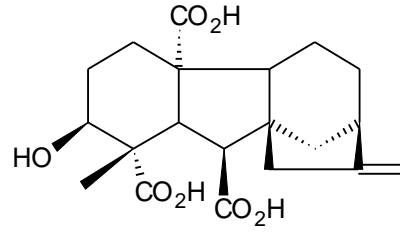
Şekil 1.39: Karbokasyon ara ürününden; *ent*-beyeren, *ent*-atisen, *ent*-trakiloban, *ent*-kauren oluşumları.



Afidokolin



Grayanotoksin



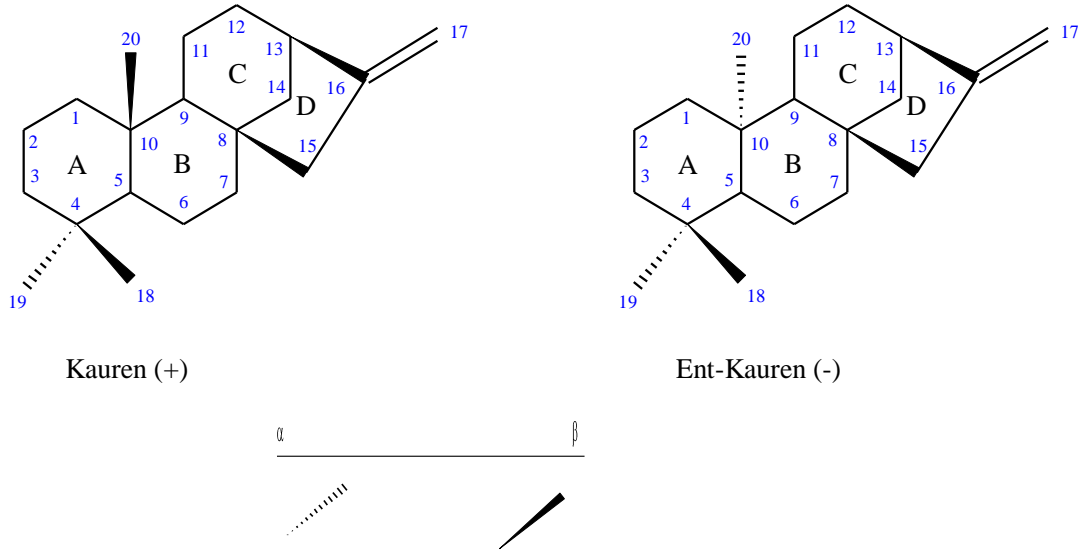
Giberellin A₁₃

Şekil 1.40: Bazı tetrasiklik diterpenler.

1.5.1.4.6.1 Kaurenler

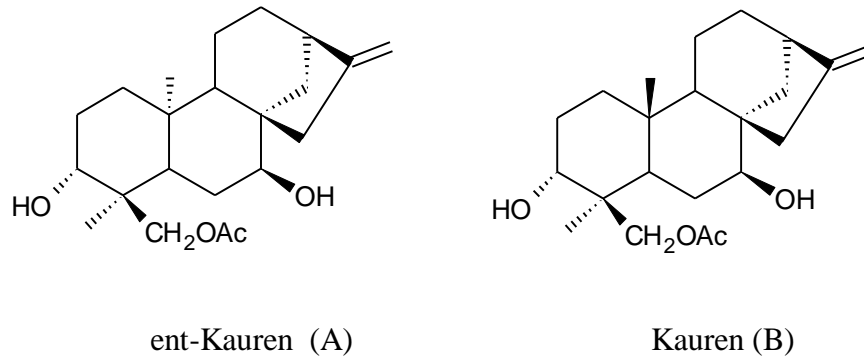
Kaurenler, geranil-geranil pirofosfatın kendi arasında düzenlenmeye uğrayarak oluşturduğu tetrasiklik yapıya sahip diterpenlerdir. 20 karbona sahip olmakla beraber içerdikleri süstitüentlere göre karbon sayıları değişkenlik gösterebilmektedir.

Kauren iskeletleri süstitüentleri ile beraber incelenip adlandırıldığında A halkasından başlanır, B halkası, C ve D halkaları ile devam edilir. Metil grupları ise 18, 19 ve 20 nolu olacak şekilde numaralandırılır. Bu aşamada önemli olan husus 20 nolu metilin önde (β) veya arkada (α) olmasıdır. 20 nolu metilin arkada bulunması durumunda bileşik *ent*-Kauren, önde bulunması durumunda ise kauren olarak isimlendirilir (Şekil 1.41) [97].



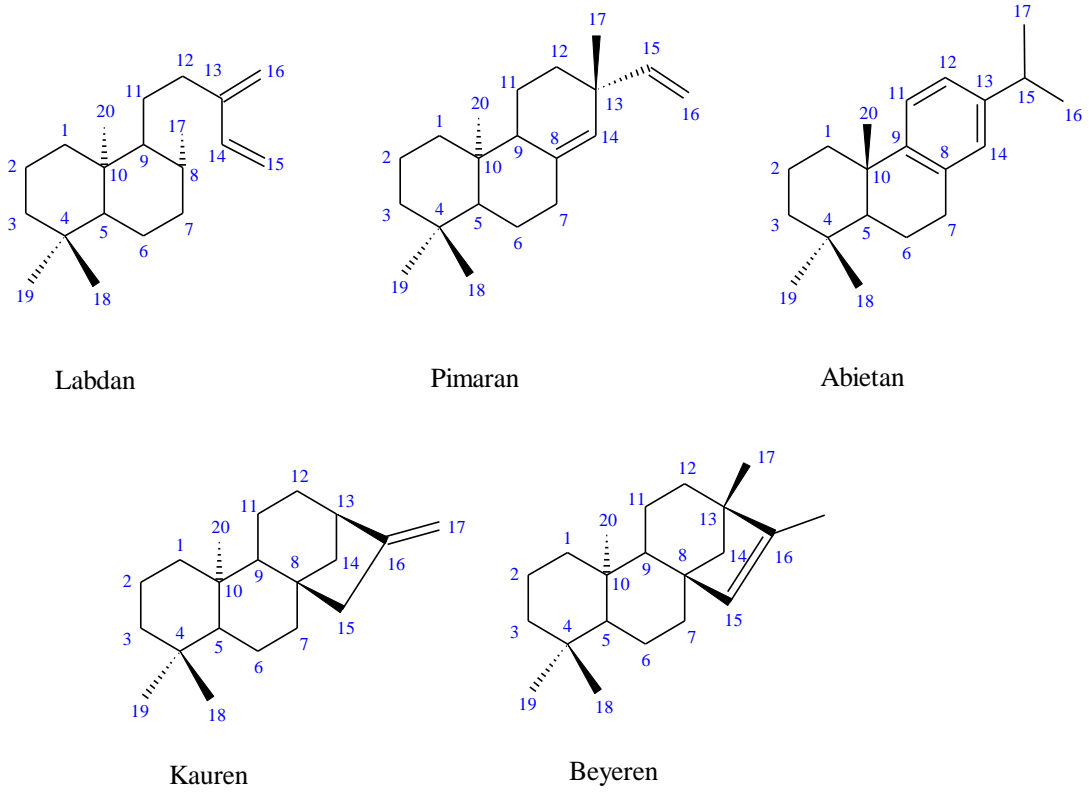
Şekil 1.41: Kauren ve *ent*-kauren iskeletleri.

Linearol'un *ent*-kauren ve kauren gösterimleri incelendiğinde; **A** bileşiği *ent*-3 β ,7 α -dihidroksi-18-asetilkaur-16-en, **B** bileşiği ise 3 α ,7 β -dihidroksi-18-asetilkaur-16-ene olarak adlandırılır. **A** yapısında 20 nolu karbon arkada yani α pozisyonunda bulunmaktadır. Bu bileşikte bulunan 3 nolu karbondaki hidroksil grubu β , 7 nolu karbondaki hidroksil grubu ise α olarak adlandırılır. Ancak molekül yapısı incelendiğinde de 3 nolu hidroksilin gerçekte α , 7 nolu hidroksilin ise β olduğu görülür. Buna göre *ent*-kauren yapısındaki bileşiklerin adlandırılmasında halka üzerinde bulunan süstitüentler her zaman bulunduğu konumun tersi konumla okunur. **B** yapısının okunuşunda ise süstitüentlerin gerçekte olduğu konumda adlandırıldığı görülmektedir (Şekil 1.42) [97].



Şekil 1.42: Linearol'un *ent*-kauren ve kauren gösterilişi.

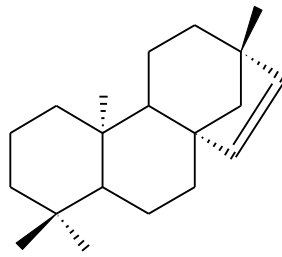
Aynı adlandırma kuralı labdan, pimaren ve beyeren yapıları için de geçerlidir (Şekil 1.43).



Şekil 1.43: Bazı diterpenlerin numaralandırılması.

1.5.1.4.6.2 Beyerenler

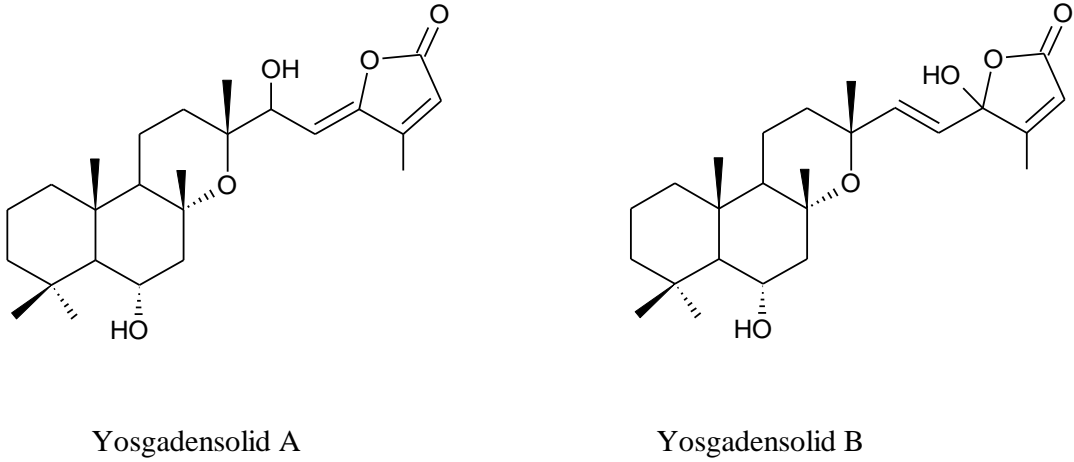
Beyerenlerde kaurenlerden farklı olarak 17 nolu metil grubu C-15'e değilde C-13'e bağlıdır. Çift bağ ise genellikle C-14 ile C-15 arasında bulunmaktadır. Beyeren diterpen yapılarının adlandırılmasında kaurenlerdeki adlandırma kuralları geçerlidir. Örnek olarak ise staken (Şekil 1.44) verilebilir [94].



Şekil 1.44: Staken.

1.5.1.5 Sesterpenler

Geranil-geranil pirofosfata bir izopren birimi daha eklenmesiyle oluşup beş izopren ünitesi yani 25 karbon içeren terpenik yapılardır [94]. Yaygın bir şekilde görülmeseler de Türkiye 'de yetişen *Salvia yosgadensis* türünden yosgadensolid A ve B Şekil 1.45'de yapıları izole edilmiştir [113].

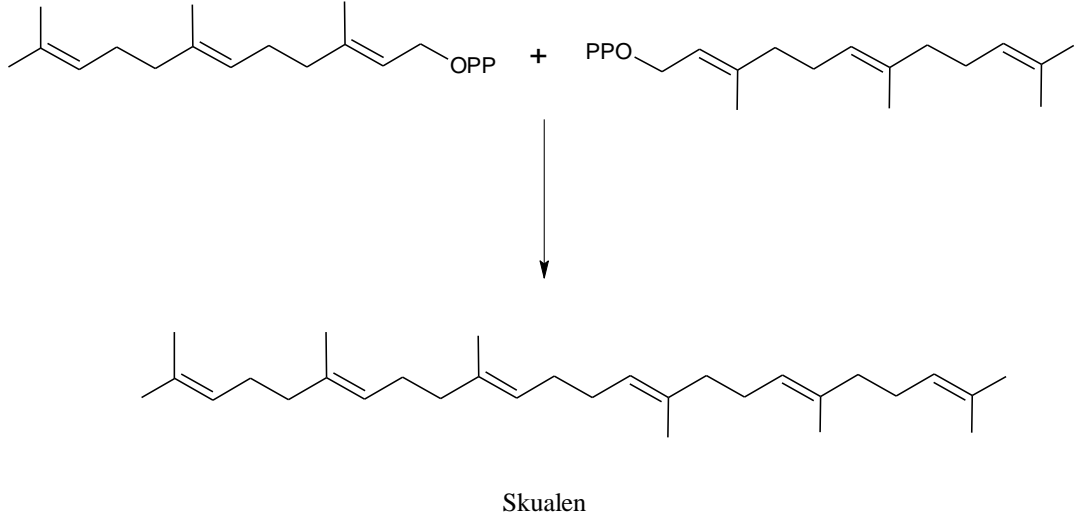


Şekil 1.45: Bazı sesterpenler.

1.5.1.6 Triterpenler

Triterpenler altı izopren ünitesinin bağlanmasıyla oluşup, $C_{30}H_{48}$ molekül formülüne sahiptirler ve düz zincirli bir triterpen olan skualen, köpekbalığının karaciğerinden elde edilen yağın ana bileşeni olup ayrıca kepekli pirinç, buğday filizi, zeytin gibi bitkisel kaynaklardan da elde edilebilmektedir [29,96].

İki çift farnesil pirofosfat molekülünün indirgenmesi ile oluşan skualen, nikel ile katalitik hidrojenasyonu sonucu perhidroskualen ($C_{30}H_{62}$) dönüşür (Şekil 1.46), bu sebeple squalenin 6 tane çift bağı vardır ve asiklidir. Molekül yapısına baktığımızda, yapının merkezinde birbirine kuyruk kuyruğa bağlı iki izopren molekülü olduğuna dikkat edilmelidir [96].



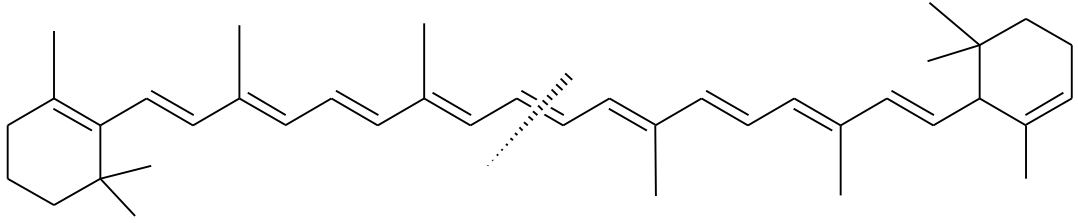
Şekil 1.46: Skualen molekülünün oluşumu.

1.5.1.7 Tetraterpenler

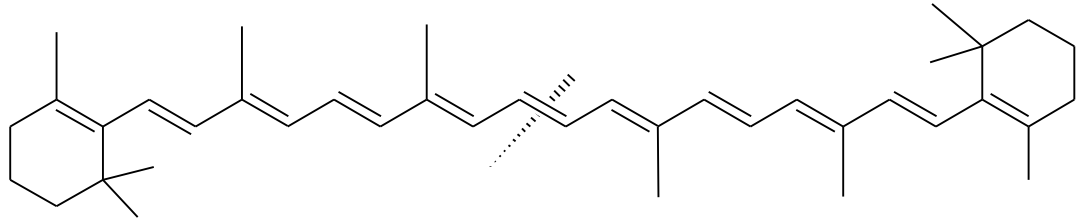
Tetraterpenler sekiz izopren ünitesi içerip, $C_{40}H_{56}$ molekül formülüne sahiptirler. Monosiklik gama-karoten, bisiklik alfa ve beta-karoten (Şekil 1.47) gibi bileşikler biyolojik olarak öneme sahip tetraterpenlerdir [29].

Karotenoidler fotosentez yapabilen organizmalarda sentezlenip ayrıca hayvanlardaki karotenoidlerin kaynağını oluşturmaktadır [114-116]. Renk özellikleri ise yapılarında bulunan konjuge çift bağlardan kaynaklanmaktadır [117].

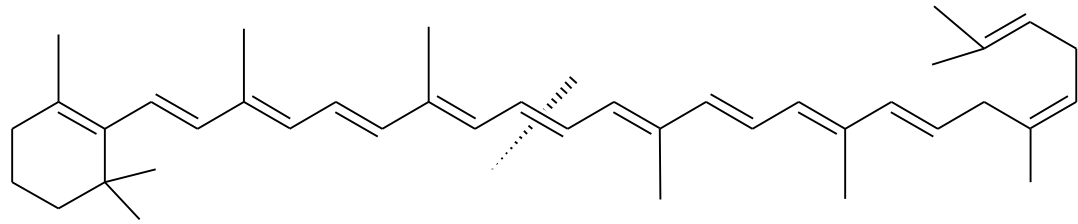
α , β ve γ -karotenler A vitamininin (Şekil 1.48) öncü maddesi olarak kullanılırlar ve karaciğer enzimleri tarafından A vitaminine dönüştürülürler. Bu dönüşümde bir molekül β -karoten iki A vitamini molekülünü oluştururken α ve γ -karotenler ise sadece bir A vitamini molekülüne dönüşmektedir [99].



α -Karoten

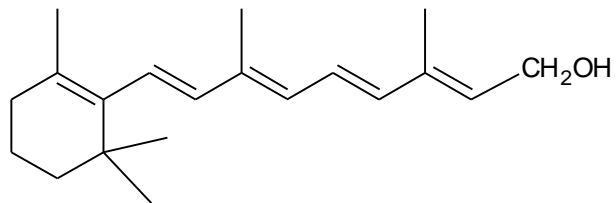


β -Karoten



γ -Karoten

Şekil 1.47: Bazı tetraterpenler.



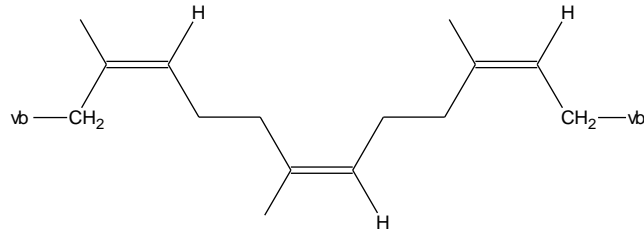
Şekil 1.48: A vitamin.

1.5.1.8 Politerpenler

Birçok izopren ünitesinin bağlanarak uzun zincir oluşturması ile politerpen adı verilen yapılar meydana gelmektedir.

Politerpenlerin en bilinen üyesi olan ve lateks adıyla da bilinen kauçuk (*cis*-1,4-poliizopren) (Şekil 1.49), daha çok tropik bölgelerde yetişen ağaçlardan elde edilir. Ağacın gövdesinde bir kesik açılarak lateksin sızması sağlanır ve asetik asit ilavesi kauçuğu çözeltiden ayrılabilir şekilde pıhtılaştırır, yapraklara sarılıp veya bloklara bastırılıp şekil verilen kauçuk, son olarak ılık hava akımında kurutulur veya tütsülenir.

Kauçuğun yıkıcı destilasyonu ana ürün olarak izopreni verir ve bu gözlem kauçuğun izopren yapısının polimerleşmesi ile oluştuğu fikrine neden olmuştur. Moleküler formülün, saf kauçuğun analizleri ile (C₅H₈)_n doğrulanmıştır. İzoprenin 1,4 katılma polimeri olan doğal kauçuğun oluşumunda, izopren birimleri başkuyruğa bağlanır ve tüm ikili bağlar *cis*'tir [103].



Şekil 1.49: Kauçuk (*cis*-1,4-poliizopren).

1.6 Fenolik Bileşikler

Bitkiler, metabolizmalarında sekonder metabolit olarak bulunan ve kendilerini zararlılara karşı korumada rolleri olduğu düşünölen çok sayıda farklı nitelik ve miktarlarda çeşitli fenolik bileşikler bulundurmaktadır [118]. Fenolik bileşikler de bu kaynaklardan elde edilip yapılarında benzen halkasına bağılı olan en az bir hidroksil grubu içeren maddelerdir [119] ve bitkilerin meyve, sebze, tohum, çiçek, yaprak, dal ve gövdelerinde bulunabilirler [120-122].

Bitkilerde en yaygın bulunan maddeler olan fenolik bileşiklerin, günümüze kadar binlerce yapısı tanımlanmıştır [123]. Uzun yıllardır üzerinde çalışılan fenolik bileşiklerin antienflamatuar, antiviral, antialerjik, antitrombotik etkileriyle beraber en çok antioksidan özellikleri göze çarpmaktadır [124-126].

Yaşamsal faaliyetler sırasında solunum, enzim reaksiyonları, otooksidasyon reaksiyonları gibi endojen kaynaklar ile hava kirliliğı, UV ışınları, sigara dumanı gibi çevresel kaynaklar etkisiyle meydana gelen ve yüksek aktiviteye sahip olan serbest radikaller, kanser, kalp hastalıkları, akciğer hastalıkları, katarakt gibi pek çok hastalığa neden olmaktadır. Antioksidan maddeler, serbest radikallerin neden olduğu reaksiyonu durdurarak oksijeni ve metalleri bağlamaktadır. Böylece oksidasyonun sebep olduğu zararları engellemiş olmaktadır [127-129].

Fenolik bileşikler, yapılarında bulunan fenol halkalarının sayısına ve bu halkaların birbirlerine bağlanma durumlarına göre sınıflandırılırlar [119]. Bu temele dayanarak fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki grupta incelenirler [130].

1.6.1 Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması

1.6.1.1 Fenolik Asitler (Flavonoid Olmayanlar)

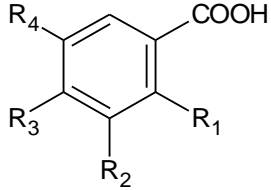
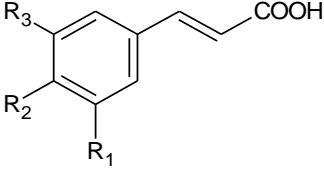
Fenolik asitler, kimyasal yönden hidroksisinnamik (sinamik) ve hidroksibenzoik (benzoik) asitler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır [118,131].

Hidroksibenzoik asitler, C₆-C₁ (fenilmetan) yapısında olan ve bitkisel kaynaklı gıdalarda genellikle eser miktarda bulunan maddelerdir.

Benzoik asit türevlerine protokateşuik asit, p-hidroksibenzoik asit, vanilik asit, salisilik asit örnek olarak verilebilir [118,131].

Hidroksisinamik asitler ise C6-C3 (fenilpropan) yapısına sahip olup fenil propan halkasına bağlı olan hidroksil (OH) grubunun konumu ve yapısına göre farklı özellik göstermektedirler. Kafeik asit, ferulik asit ve sinapik asit ise bilinen sinamik asit türevlerindedir [118,131]. Tablo 1.3'de fenolik asitlerin kimyasal yapıları verilmektedir [132-133].

Tablo 1.3: Fenolik asitlerin kimyasal yapıları.

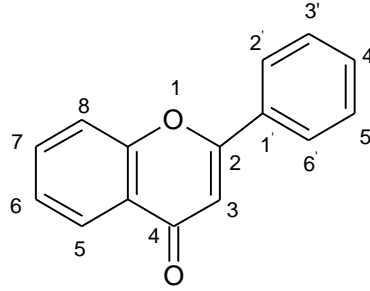
	Benzoik Asit	R₁	R₂	R₃	R₄
	<i>p</i> -hidroksibenzoik asit	H	H	OH	H
	Protokateşuik asit	H	OH	OH	H
	Vanilik asit	H	OCH ₃	OH	H
	Gallik asit	H	OH	OH	OH
	Şirincik asit	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
	Salisilik asit	OH	H	H	H
	Gentisik asit	OH	H	H	OH
		Hidroksisinamik Asit	R₁	R₂	R₃
		<i>p</i> -kumarik asit	H	OH	H
Kafeik asit		OH	OH	H	
Ferulik asit		OCH ₃	OH	H	
Sinapik asit		OCH ₃	OH	OCH ₃	

1.6.1.2 Flavonoidler

Karbon iskeleti, iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan ve 15 karbon atomu içeren flavonoidler, difenilpropan (C₆-C₃-C₆) yapısındadır. Yapılarındaki OH grupları, reaktif özelliklerinden dolayı flavonoidlerin kolaylıkla glikozitlenmelerine sebep olur [120].

Flavonoidler, flavan türevleri olan bileşiklerdir ve genel yapıları Şekil 1.50'de verilmektedir [134]. Yaklaşık 6500 farklı flavonoid bilinmektedir ve gıdalarda yaygın olarak bulunan polifenollerdir [118]. Yapısal olarak beş gruba ayrılırlar;

- 1- Antosiyanidinler
- 2- Flavonlar ve flavonollar
- 3- Flavanonlar
- 4- Kateşinler
- 5- Proantosiyanidinler



Şekil 1.50: Flavonoidlerin genel yapısı.

1.6.1.2.1 Antosiyanidinler

Antosiyanidinler, doğada serbest halde bulunmayıp şekerlerle, antosiyanin adı verilen glikozit formunda bulunmaktadır. Meyve sebzelerin pembeden kırmızı ve mora kadar değişen tonlardaki renklerine sebep olan, suda çözünebilir nitelikteki renk pigmentleridir [135]. Antosiyanidinlerin yapısı ise Tablo 1.4’verilmektedir [134, 135].

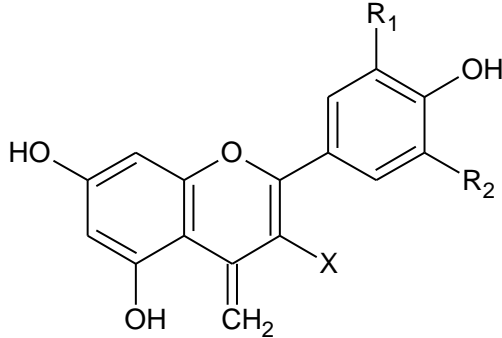
Tablo 1.4: Antosiyanidinlerin yapısı.

	Antosiyanidinler	R₃'	R₅'
		Pelargonidin(Pg)	H
	Siyanidin(Cy)	OH	H
	Peonidin(Pn)	OCH ₃	H
	Delfinidin(Dp)	OH	OH
	Petunidin(Pt)	OCH ₃	OH
	Malvinidin(Mv)	OCH ₃	OCH ₃

1.6.1.2.3 Flavonlar ve Flavonollar

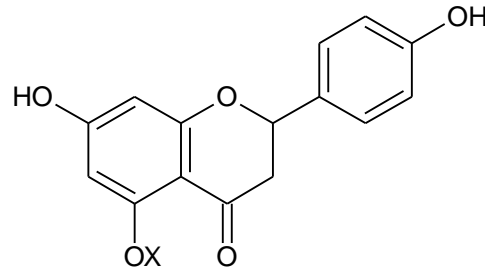
Flavonlarda orta halkanın 3. karbon atomuna (H), flavonollarda ise (OH) grubu bağlanmıştır (Tablo 1.5). Bu yapılar da antosiyanidinler gibi şekerlerle glikozit halinde bulunmaktadırlar [135].

Tablo 1.5: Flavon ve flavonol yapıları.

					
Flavonlar (X=H)	R ₁	R ₂	Flavonoller (X=OH)	R ₁	R ₂
Apigenin	H	H	Kamferol	H	H
Luteolin	OH	H	Kuersetin	OH	H
Krisoeriol	OCH ₃	H	Mirisetin	OH	OH
Trisin	OCH ₃	OCH ₃	İzorhamnetin	OCH ₃	H

1.6.1.2.4 Flavanonlar

Flavanon yapısı, flavonlardan farklı olarak Şekil 2'de görüldüğü gibi ortasındaki halkada çifte bağ içermez ve Şekil 1.51'de flavanonun yapısı görülmektedir [130].

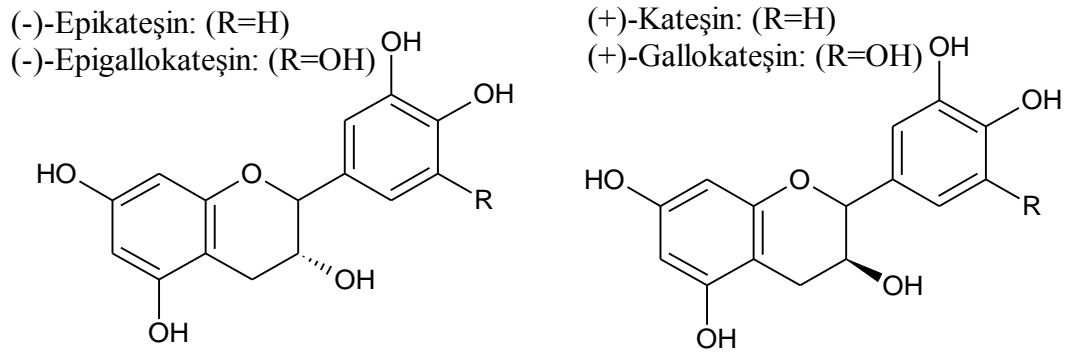


Şekil 1.51: Flavanonun yapısı.

Glikozit formundaki flavanonlar turunçgillerde yaygın olarak bulunmaktadır. Örneğin; greyfurtlarda acı tadı veren naringin bir flavanon glikozittir [118,130].

1.6.1.2.5 Kateşinler

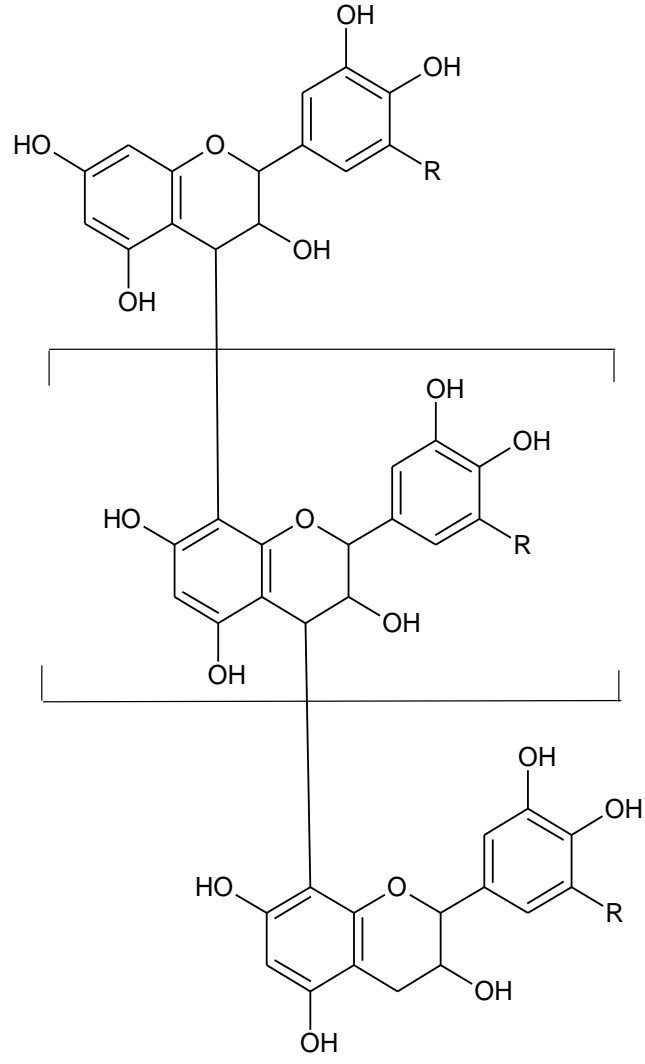
Kateşinler, bitkilerde yaygın halde bulunan, renksiz ve çoğunlukla serbest halde olan flavonoidlerdir. Kimyasal yapıları flavan 3- ol'lerdir ve en sık bulunanları, (+)-kateşin, (-)-epikateşin, (+)-gallokateşin, (-)- epigallokateşindir. Kateşinler, iki asimetrik karbona ve bundan dolayı da dört olası izomere sahiplerdir; C₂ ve C₃ atomuna bağlı hidrojenler trans ise (+)-kateşin ve (+)-gallokateşinden, cis ise (-)-epikateşin ve (-)- epigallokateşinden söz edilmektedir [138]. Şekil 1.52'de yaygın bulunan kateşinlerin kimyasal yapıları gösterilmektedir [134].



Şekil 1.52: Kateşinlerin kimyasal yapıları.

1.6.1.2.6 Proantosiyanidinler

Kateşinlerin oluşturduğu polimerik yapılara proantosiyanidinler adı verilir. Sadece epikateşin/kateşin kondensasyonu ile oluşuyorsa prosiyanidin, kateşin/gallokateşin kondensasyonu ile oluşuyorsa prodelfinidin denir [134]. Bitkilerde yaygın olarak bulunan proantosiyanidinler; (-)-epikateşin ve (+)-kateşin kombinasyonlarından oluşan yapılardır [118,134]. Şekil 1.53'de proantosiyanidinlerin kimyasal yapısı gösterilmektedir [134].



R=H : Prosiyanidin
R=OH : Prodelfinidin

Şekil 1.53: Proantosiyandinlerin kimyasal yapısı.

2. DENEYSEL BÖLÜM

2.1 Materyal

2.1.1 Bitkisel Materyal

Sideritis bilgerana P. H. Davis bitkisi Karaman – Mut arası 6. km’de P. brutia altı, dere yataklarında 09.07.2015 tarihinde yaş olarak toplandı.

Bitki Doç. Dr. Tuncay DİRMENCİ tarafından teşhis edildi ve bir örneği Balıkesir Üniversitesi NEF Botanik Laboratuvarı’na konuldu.

2.1.2 Kimyasal Materyal

Kolon kromatografisi için; silikajel 60G (Kieselgel 60G 0.063-0.200 Merck), ince tabaka ve preparatif ince tabaka kromatografisi için silikajel kaplı Alüminyum plaklar (DC alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄, Merck), plaklar için ise Silikajel 60G ile Silikajel 60 F₂₅₄ (Merck) kullanıldı.

Ayırma ve saflaştırma işlemleri esnasında; Hekzan (C₆H₁₄), Diklorometan (CH₂Cl₂), Kloroform (CHCl₃), Etil Asetat (CH₃CO₂C₂H₅), Aseton ((CH₃)₂CO) ve Metanol (CH₃OH) çözücüleri kullanıldı.

2.2 Yöntem

Bitki kimyası çalışmaları ele alındığında;

- Bitkilerin çiçeklenme döneminde toplanması ve teşhisi,
- Bitkilerin gölgede kurutulması ve toz haline getirilmesi,
- Bitkilerin uygun çözücülerle ekstraksiyonu,
- Hazırlanan ekstrelerden çeşitli kromatografik (kolon, ince tabaka ve preparatif ince tabaka, HPLC) yöntemlerle organik maddelerin izole edilmesi,
- Elde edilen maddelerin çeşitli spektroskopik yöntemlerle (IR, ¹H NMR, ¹³C-NMR, MS) yapılarının tayin edilmesi,

- Gerek bitki ekstralarının gerekse ekstralardan elde edilen saf maddelerin aktivite (antibakteriyel, antiviral, antifungal, sitotoksik, anti tümör v.b.) tayini, şeklinde bir yol izlenmektedir.

2.2.1 Ekstraksiyon

Sideritis bilgerana P. H. Davis bitkisi gölgede kurutulup çözücüyle daha iyi etkileşmesi amacıyla kesilerek küçük parçalar haline getirildi. 2,000 g bitki sırasıyla hekzan, aseton ve metanol içerisinde 30 gün süreyle masere edildi. Süzülen çözeltiler kuruluğa kadar yoğunlaştırılarak miktarları hekzan 12 g (verim % 0,6), aseton 35 g (verim % 1,75), metanol 35 g (verim % 1,75) olan ham ekstraktlar elde edildi.

2.2.2 Kromatografi

2.2.2.1 Kolon Kromatografisi

Kolon kromatografisi, bitki ekstralarını fraksiyonlandırmak için kullanıldı. Elde edilen ekstralar bir miktar kloroformda çözüldü ve çözeltilerin üzerine 0.040-0.060 (230-400 mesh E. Merck) parçacık büyüklüğüne sahip olan silikajel 60G (Merck) ilave edildi. Ekstre ile silikajelin homojenliğini sağlamak amacıyla sık sık karıştırıldı ve tamamen çözücüsü uçurularak kurutuldu. Bu işlem bitkiden elde edilen üç ekstreye de aynı şekilde uygulandı. Bu ekstraktlar, dibine az miktarda cam pamuğu yerleştirilmiş, ekstre miktarına uygun olarak seçilmiş ve boyunun 2/3'ü aynı tip silikajelle doldurulmuş kolonun üst kısmına paketleme yöntemiyle homojen olarak konuldu. Kolon kromatografisine hekzan ile başlandı ve artan polariteye göre sırasıyla diklorometan, kloroform, aseton, metanolla yıkanılır ve yıkamaya metanolla devam edilerek kolon sonlandırıldı. Elde edilen fraksiyonların miktarlarına göre gerektiğinde daha küçük boyuttaki kolonlar kullanılarak uygun çözücü sistemlerinde yeniden kolon yapıldı.

2.2.2.2 İnce Tabaka Kromatografisi

Kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar silikajel kaplı hazır alüminyum plaklara (DC – Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄ Merck) tatbik edilerek uygun çözücü sistemlerinde yürütüldü. Maddelere ait lekeler UV(254 nm) ışık altında

incelendi. Seryum (IV) sülfat belirteci püskürtülüp 105°C'lik etüvde yakılarak renk değişimleri gözlenerek benzer R_f değerine sahip olan fraksiyonlar birleştirilerek kolon kromatografisinden elde edilen bütün fraksiyonlar inceleninceye kadar bu işleme devam edildi.

2.2.2.3 Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi

Miktarı az olan fraksiyonları ayırmak için silikajel kaplı plaklar kullanılırken, miktarı fazla olan (30 mg'dan fazla) fraksiyonları ayırmak için ise preparatif ince tabaka kromatografisi (prep İTK) kullanıldı. Preparatif ince tabaka kromatografisi plaklarını hazırlamak için bir balon içerisinde 100 g silikajel 60G ve 50 g silikajel 60 HF₂₅₄ adsorbanları 300 ml distile su ile homojen oluncaya kadar çalkalandı. Karışım sonra CAMAG cam plak çekme aleti ile 20 cm x 20 cm ebatlarındaki cam plaklara 0.5 mm kalınlığında çekildi. Cam plaklar ilk olarak oda sıcaklığında kurutuldu sonrasında ise 1 saat süre ile etüvde 105°C'de aktive edildi. Fraksiyonlar miktarlarına göre bir cam plağa ortalama 15-20 mg olması koşuluyla tatbik edildiler ve uygun çözücü sistemleriyle yürütülüp bileşenlerine ayrıldılar. Maddelere ait bantlar UV (254nm) ışık altında işaretlenip kazındı ve erlenlere aktarılarak uygun çözücüsüyle birlikte 1-3 saat bekletildi. Süzülen karışımın çözücüsü uçurularak saflaştırıldı. Bu işleme tüm maddeler saflaştırılincaya kadar devam edildi.

2.3 Spektroskopik Yöntemler

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

Saf olarak elde edilen maddelerin spektrumları, TÜBİTAK UME, Kimya Grubu Laboratuvarları Varian 600 MHz NMR cihazında alındı. Referans bileşik olarak tetrametilsilan (TMS) kullanılmış olup CDCl₃, C₃D₆O, CD₃OD çözücülerinden uygun olanı seçilmiştir.

2.4 Kullanılan Belirteçler

Terpen bileşiklerini belirlemek amacıyla kullanılan belirteç Seryum (IV) sülfat çözeltisidir.

2.4.1 Seryum (IV) Sülfat Çözeltisinin Hazırlanması

10 g seryum (IV) sülfata 100 ml distile su eklenip karıştırılarak çözünmesi sağlandı. Karışıma yavaşça 50 ml derişik sülfürik asit eklendi, soğuduktan sonra son hacmi 500 ml'ye tamamlandı.

2.5 Uçucu Yağların Elde Edilmesi ve Analizi

S. bilgerana P. H. Davis bitkisinin uçucu yağı su buharı destilasyonu düzeneğine Clevenger aparatı takılarak elde edildi. Bitkiden yaklaşık 150 g alınarak su ile düzeneğin balon kısmında 2-8 saat kaynatıldı. Elde edilen yağlar analiz edilene kadar soğukta saklandı ve GC-MS ile analiz edildi.

GC-MS cihazında helyum dakikada 1 ml(1ml/dk) sabit akış hızında olması koşuluyla 1 µL örnek enjekte edildi. Gaz kromatografisinde sıcaklık ayarı 5 dakika boyunca 50 °C'de tutulup, 5 dakikada 250 °C'ye çıkarılıp 10 dakika boyunca bu sıcaklıkta tutuldu, kütle spektroskopisinde ise transfer hattı 220 °C'ye ayarlandı. Analizler DB-5 30 m x 0.25mmID x 0.25 µm kolonu barındıran Thermo Scientific TSQ GC-MS/MS cihazı ile yapıldı.

2.6 Fenolik Bileşiklerin Elde Edilmesi ve Analizi

Fenolik bileşiklerin belirlenmesi için önce öğütülen bitkiden 100g alınıp 2L hekzan içerisine konulup 15 gün maserasyona bırakıldıktan sonra süzülerek çözücüsü buharlaştırıldı ve kuru ekstre elde edildi (Sbr 1.1). Bu işlemde sonra geriye kalan bitkiye sırasıyla aseton (Sbr 1.2) ve metanol (Sbr 1.3) koyularak 15 gün maserasyondan sonra aynı uygulamalar yapıldı. Ayrıca iki adet 100 g 'lık hazırlanan bitkiye doğrudan aseton (Sbr 2) ve doğrudan metanol (Sbr 3) eklenerek ekstreler elde edildi.

LC-MS/MS cihazı ile yapılan analizlerde standart olarak kullanılan bileşikler; Fumarik asit (99%, Sigma- Aldrich), Pirogallol (98%, Sigma- Aldrich), Rutin (94%, Sigma- Aldrich), Klorojenik asit (95%, Sigma- Aldrich), Gallik asit (99%, Merck), Siringik asit (95%, Sigma- Aldrich), t-ferulik asit (99%, Sigma- Aldrich), Kafeik asit(98%, Sigma- Aldrich), Pelargonin klorür (98%, Sigma- Aldrich), Kuersitrin (97%, Sigma- Aldrich), Salisilik asit (99%, Sigma- Aldrich), p-kumarik asit (98%,

Sigma- Aldrich), Luteolin-7-O-glu (99%, Applichem), Rosmarinik asit (96%, Sigma- Aldrich), Siderol (98%, Sigma- Aldrich), Apigenin (95%, Sigma- Aldrich), Kamferol (96%, Sigma- Aldrich), Linearol (98%, Sigma- Aldrich), İsorhamnetin (98%, ExtraSynthese, Genay-France)'dir.

Stok çözeltiler sırasıyla 10 mg/L, 0.1 mg/L, 5 mg/L olması şartıyla metanol (Merck) ile HPLC saflıkta hazırlandı ve yine aynı şekilde metanol ile kalibrasyon çözeltileri de doğrusal bir aralıkta hazırlandı. Seyreltme işlemlerinde ise otomatik pipet ve A sınıfı cam volümetrik şişeler kullanıldı ve çözeltiler cam kaplarda -20°C'de saklandı. Bütün deneylerde 100 mg/L yeni hazırlanmış kurkumin çözeltilerinden 50 µL iç standart (IS) olarak kullanıldı.

2.6.1 Test Çözeltilerinin Hazırlanması

50 mg ekstre, 5 ml etanol-su (50:50 v/v) karışımı ile cam şişe içerisinde çözüldü ve aynı karışım ile geri soğutucu altında 1 saat süreyle kaynatıldı. Karışımından 1 ml alınarak 5 ml'lik volümetrik şişeye aktarıldı ve üzerine 50 µL kurkumin çözeltileri eklenip metanol ile tamamlandı. Son olarak elde edilen çözeltilerden 1 ml alınıp kapaklı örnek şişesine aktarılarak 10 µL örnek LC'ye enjekte edildi. Bu örnekler 15°C'de deney süresince saklandı.

2.6.2 Kromatografik Koşullar

Deneyler Synergy Max C18 kolon (250 x 2 mm i.d., 5µm parçacık büyüklüğü) donanımlı Zivak® HPLC ve Zivak® Tandem Gold üçlü kuadropol (İstanbul, Türkiye) cihazı ile yapıldı. Taşıyıcı faz su (A, 0.1 % formik asit) ve metanol (B, 0.1 % formik asit) olmak üzere akış hızı 0.25 ml/dk olacak şekilde ayarlandı.

Kolon sıcaklığı 30°C ve örneğin enjeksiyon hacmi 10 µL olmak üzere gradiyent sistem 0-1.00 dk 55% A ve 45% B, 1.01-20.00 dk 100% B son olarak da 20.01-23.00 dk 'da 55% A ve 45% B oranlarında ayarlanıp deneyler gerçekleştirildi.

2.6.3 HPLC Metodu ve LC-MS/MS Prosedürünün Optimizasyonu

En iyi taşıyıcı faz sistemi olarak asitlendirilmiş gradiyent metanol ve su sistemi belirlendi. Bu sistemin iyonizasyon miktarı ve bileşiklerin ayrılması için yeterli bir sistem olduğu belirlendi. Küçük ve nispeten polar antioksidanların iyonlaşması Elektrosprey İyonizasyonu (ESI) ile elde edilmiş olup iyonizasyon tekniği ve çarpışma enerjileri nicel kütle spektrometresi analizleri için en önemli parametrelerdir. Üçlü kuadropol kütle spektrometresi yaygın olarak parçalanmış iyonun stabilizasyonuna bağlı olarak kullanılan bir sistem olduğundan tercih edilmiştir [139]. Optimum ESI parametreleri 2.40 mTorr CID gaz basıncı, 5000.00 V ESI iğne voltajı, 600.00 V ESI koruma voltajı, 300.00 °C kurutucu gaz sıcaklığı, 50.00 °C API kolon fırını sıcaklığı, 55 Ψ nebulizatör gaz basıncı ve 40.00 psi kurutucu gaz basıncı olarak belirlenmiş ve Tablo 2.1’de verilmiştir.

Tablo 2.1: Seçilen bileşiklerin LC-MS/MS parametreleri.

Bileşikler	Ana İyon	Parçalanma İyonu	Çarpışma enerjisi (V)
Gallik asit	168,6	124	13
Kamferol	287	152,3	30
Salvigenin	329	295,8	15
Eubotriol	343	343	13
Penduletin	345,2	311	25
Kuersitrin	471,9	309,9	16
Fumarik asit	115	71	8
Pirogallol	125	80	16
Salisilik asit	136,7	92,5	10
p-OH benzoik asit	136,7	92,6	12
Vanilin	150,7	135,4	12
p-Kumarik asit	163,2	118,7	14
Kafeik asit	179	135	10
t-ferulik asit	193	133	15
Siringik asit	196,7	181,4	12
Isorhamnetin	315	300	15
Kuersetagetin-3,6-dimetileter	345,1	329,5	16
Klorojenik asit	353	191	14
Rozmarinik asit	359,2	160,5	15
Luteolin-7-glukozid	447	284,5	14
Luteolin-5-glukozid	447	289,5	20
Ursolik asit	455,6	455,1	10
Izokuersetin	463,3	300	25
7-asetil sideroksol	385,4	325	16
Linearol	385	385	30
1-okso-salvibretol	313	295	14
Rutin	609	301	16
Liriodendrine	766	603	35
Siderol	369	309	18
Pelargonin Klorür	595	271	30
Pelargonin	271,2	121	34
Apigenin	269	151	22
Saponarin	595	415	18
Kurkumin*	369,3	176,9	20
* İç standart olarak kullanılmıştır.			

2.6.4 Deneylerin Validasyonu ve Belirsizliğin Değerlendirmesi

Bileşiklerin validasyonu için kurkumin iç standart olarak kullanılmıştır. Validasyon parametreleri doğrusallık, tekrar edilebilirlik, belirleme limiti (BL) kuantifikasyon limiti (KL) olarak belirlendi.

Her bir bileşik için yöntemin doğrusallığı standart çözeltinin analizi ile belirlenmiştir. Her bileşiğin doğrusallık aralıkları verilmiştir. Korelasyon katsayısı $r^2 \geq 0.99$ olarak bulunmuştur. Ayrıca rapor edilen bileşikler için Lineer regresyon eşitliği x derişim, y ise pik alanını göstermek üzere Tablo 2.2’de belirtilmiştir. Yöntemin doğruluğu her bileşiğin üç derişimi için tekrarlanmasıyla değerlendirilmiş ve iyi bir kesinlik ve sonuçlar gereksiz tekrardan kaçınılarak sağlanmıştır.

Yukarıdaki bileşikler için LC-MS/MS metodunda BL ve KL 0.5-50 mg/L olarak hesaplanmıştır. BL değerini standart sapmadan 3 kat daha büyükken, KL değerinin ise 10 kat büyük olduğu belirlendi.

Lineer aralıktaki her bir analitin ve rapor edilen metodun derişimi kalibrasyon eğrisi ile bulunmuştur. Son olarak, hesaplanan derişim aşağıdaki eşitlikle mg/kg ham örnek olarak çevrilmiştir.

$$Miktar (mg/kg) = \frac{C_a}{m} \times \frac{V_{son}}{V_{ilk}} \times 1000 \quad (2.1)$$

C_a ; mg/L olarak kalibrasyon eğrisi ile bulunan analit konsantrasyonu,

V_{son} ; Analizden önce seyreltilen son hacim,

m ; Ekstrenin g cinsinden miktarı,

V_{ilk} ; Örneğin ilk hacmi

LC-MS / MS metodunun kuantifikasyon belirsizliği ve kaynaklarının değerlendirilmesi için EURACHEM/CITAC kılavuzu kullanılmıştır [140]. En fazla katkı kalibrasyon eğrisinden gelmektedir. Belirsizliğin değerlendirilmesinin detaylı açıklaması literatürde açıklanmıştır [141].

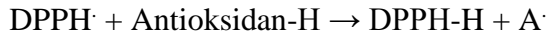
Tablo 2.2: Validasyon ve belirsizlik parametreleri.

	Bileşikler	Linear Regresyon Eşitlikleri	R ²	BL (mg/L)	KL (mg/L)	RSD (%)
1	Gallik asit	$y=(8,15E+15)x+(4,32E+14)$	0,9848	0,002	0,008	4,85
2	Kamferol	$y=(8,11E+15)x+(4,07E+14)$	0,9841	0,002	0,008	5,47
3	Salvigenin	$y=(3,55E+16)x+(8,62E+14)$	0,9912	0,036	0,119	5,21
4	Eubotriol	$y=(4,37E+16)x+(5,50E+16)$	0,9917	0,310	1,035	3,33
5	Penduletin	$y=(5,15E+16)x+(1,55E+16)$	0,9915	0,089	0,297	9,47
6	Kuersitrin	$y=(1,01E+16)x+(1,92E+15)$	0,9918	0,001	0,002	4,28
7	Fumarik acit	$y=(2,02E+16)x+(6,21E+15)$	0,9912	0,003	0,01	5,44
8	Pirogallol	$y=(1,33E+15)x+(5,24E+15)$	0,9803	0,001	0,002	5,47
9	Salisilik asit	$y=(1,03E+15)x+(6,76E+16)$	0,9917	0,211	0,704	0,21
10	p-OH benzoik asit	$y=(4,35E+16)x+(9,83E+15)$	0,9939	0,002	0,007	4,78
11	Vanilin	$y=(3,47E+16)x+(5,62E+15)$	0,9982	0,019	0,064	6,57
12	p-Kumarik asit	$y=(1,02E+17)x+(5,48E+16)$	0,9917	0,006	0,021	6,39
13	Kafeik asit	$y=(1,17E+17)x+(1,15E+15)$	0,9923	0,028	0,093	8,04
14	t-Ferulik asit	$y=(2,52E+15)x+(9,15E+15)$	0,9822	0,047	0,158	5,21
15	Siringik asit	$y=(1,09E+16)x+(3,93E+15)$	0,9917	0,022	0,073	8,39
16	İzorhamnetin	$y=(7,39E+16)x+(5,10E+16)$	0,9608	0,088	0,294	3,67
17	Kuersetağetin-3,6-Dimetiler	$y=(6,82E+15)x+(4,85E+14)$	0,9873	0,022	0,074	0,10
18	Klorojenik asit	$y=(1,00E+17)x+(8,21E+15)$	0,9894	0,445	1,483	5,45
19	Rosmarinik asit	$y=(6,29E+16)x+(4,94E+15)$	0,9933	0,022	0,072	3,73
20	Luteolin-7-glukozid	$y=(4,49E+16)x+(1,14E+16)$	0,9899	0,022	0,072	8,56
21	Luteolin-5-glukozid	$y=(6,96E+16)x+(3,39E+16)$	0,9792	0,010	0,034	1,12
22	Ursolik asit	$y=(4,78E+14)x+(2,26E+15)$	0,9861	0,008	0,027	0,30
23	İzokuersetin	$y=(1,15E+17)x+(2,15E+16)$	0,9959	0,199	0,665	9,42
24	7-asetil sideroksol	$y=(5,61E+15)x+(1,69E+16)$	0,9917	0,070	0,234	5,44
25	Linearol	$y=(5,10E+16)x+(7,39E+16)$	0,9912	0,003	0,010	0,54
26	1-okso-salvibretol	$y=(1,69E+16)x+(5,61E+15)$	0,9942	0,002	0,008	1,04
27	Rutin	$y=(7,72E+15)x+(8,79E+07)$	0,9901	0,010	0,034	7,90
28	Liriodendrin	$y=(5,50E+16)x+(4,37E+16)$	0,9806	0,088	0,294	3,67
29	Siderol	$y=(5,54E+16)x+(4,67E+16)$	0,9917	0,310	1,035	3,33
30	Pelorganin Klorür	$y=(1,14E+16)x+(4,49E+16)$	0,9899	0,022	0,072	8,56
31	Pelargonin	$y=(1,14E+16)x+(4,49E+16)$	0,9900	0,022	0,072	2,56
32	Apigenin	$y=(5,54E+16)x+(3,79E+16)$	0,9803	0,150	0,501	4,01
33	Saponarin	$y=(5,24E+15)x+(1,33E+15)$	0,9971	0,044	0,148	2,45

2.7 Biyolojik Aktivite

2.7.1 DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi

Antioksidanların işleyiş mekanizması radikallere proton vererek absorpsiyonu azaltmasına dayanmaktadır ve bu çalışmada serbest radikal giderim aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak belirlenmiştir. Bitki ekstraktlarının, serbest radikali giderim aktiviteleri DPPH serbest radikali kullanılarak belirlendi. DPPH, 517 nm’de karakteristik absorpsiyona sahip kararlı serbest bir radikaldir. DPPH’ın 517 nm’deki soğurum pikininin şiddetindeki azalmayla orantılı şekilde antioksidan aktivitenin varlığı nitel ve nicel olarak belirlenir. Tepkime mekanizması aşağıdaki gibidir.



Belirli bir inkübasyon süresinden sonra kalan DPPH[·] derişimi spektrofotometrik olarak ölçülür. DPPH radikalinin rengindeki açılma antioksidan maddenin radikal giderim aktivitesi olarak gösterilir [142].

DPPH radikal giderim aktivitesinin belirlenmesi amacıyla öncelikle derişimi 0.1 mM olacak şekilde metanol içerisinde hazırlandı ve bu çözeltiden 4 ml, 1 ml örnek çözeltisine eklendi. Oda sıcaklığında 30 dk inkübasyondan sonra 517 nm’de absorbansları ölçüldü. Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\text{DPPH Giderim Aktivitesi (\% inhibisyon)} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100 \quad (2.2)$$

A_{kontrol} : Kontrolün Absorbansı

$A_{\text{örnek}}$: Örneğin Absorbansı

DPPH’ın rengi açıldığı için absorpsiyonda azalma olur. Reaksiyon karışımının düşük absorpsiyon göstermesi serbest radikal giderim aktivitesinin yüksek olduğunu belirtir.

2.7.2 Lipid Peroksidasyonu İnhibisyonu Aktivitesi (β -Karoten-Linoleik Asit Yöntemi)

Toplam antioksidan aktivite olarak da isimlendirilen lipit peroksidasyon inhibisyonu linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerinin inhibisyonunun ölçülmesine dayanan β -karoten-linoleik asit yöntemiyle belirlendi [143]. Bu yöntem, β -karotenin renginin açılmasına dayanan bir yöntemdir. Antioksidan maddenin varlığında bu tepkimenin oluşumu engellendiğinden veya oluşan bozunma ürünleri antioksidan tür tarafından temizlendiğinden β -karotenin alkol içindeki çözeltisinin sarı rengi değişmeden kalacaktır.

Linoleik asit + (O₂-H₂O) → Konjuge dienler ve diğer bozunma ürünleri

↓

β -karoten → renk açılımı

Linoleik asit + (O₂-H₂O) + β -karoten + antioksidan → rengin korunması

1 ml kloroform içerisinde bulunan 0.5 mg β -karotene 25 μ L linoleik asit ve 200 mg Tween 40 emülgatör karışımı eklendi. Kloroform vakum altında buharlaştırıldıktan sonra oksijenle doyurulmuş 100 ml su ile kuvvetli bir şekilde çalkalanmasıyla elde edilen karışımdan 4000 μ L farklı konsantrasyonlarda örnek çözeltisi içeren tüplere koyuldu. Emülsiyon, test tüplerine ilave edilir edilmez spektrofotometre kullanılarak başlangıç absorbansları 470 nm'de ölçüldü. Tüpler 50°C'de inkübasyona bırakıldı ve kontrol olarak kullanılan tüpteki β -karotenin rengi kayboluncaya kadar (yaklaşık 120 dk) inkübasyona devam edildi. BHT ve α -tokoferol standart olarak kullanıldı. Absorbans yine 470 nm'de ölçüldü. β -karoten renk açılım oranı (R), aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı:

$$R = \frac{\ln \frac{a}{b}}{t} \quad (2.3)$$

ln: Doğal Logaritma

a: Başlangıç Absorbansı

b: İnkübasyondan Sonraki Absorbans

t: İnkübasyon Süresi (dk)

Antioksidan aktivite (AA) aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı:

$$AA(\%inhibisyon) = \frac{R_{kontrol} - R_{örnek}}{R_{kontrol}} \times 100 \quad (2.4)$$

$R_{kontrol}$: Kontrolün Renginin Açılma Hızı

$R_{örnek}$: Örneğin Renginin Açılma Hızı

2.7.3 Cu^{+2} İndirgeme Kapasitesi (CUPRAC)

Cuprac deneyi küçük değişiklikler yapılarak 96 kuyucuklu plakalarda gerçekleştirildi. 1 mM DMF, 10 mM $CuCl_2$, 7,5 mM Neocuproine, 1 M NH_4CH_3COO (pH 7,0) çözeltileri ve distile su 1:1:1:0,6 oranlarında karıştırılıp etanol içindeki 25 ul bileşik çözeltisiyle (seyreltme oranı 1:20) plakalara koyuldu. 30 dk bekletilip 450 nm'de Beckman Coulter DTX 880 Multimode Detection System'e karşı ölçüldü. TEAC CUPRAC sonucu, referans olarak trolox (TR) üzerinden mmol TR g^{-1} olarak verilmiştir. Etanol negatif, kurkumin ise pozitif kontrol olarak kullanıldı. Kurkuminin TEAC_{CUPRAC} değeri 0,9 mmol TR g^{-1} olarak hesaplandı [144-146]. Bileşikleri TEAC_{CUPRAC} değerleri referanslar kullanılarak hesaplandı [145, 146].

Bitki ekstresinin TEAC değeri;

$$(\text{mmol TR } g^{-1}) = (\text{Absorbance} / \epsilon_{TR}) (205/25) (20/1) (2/0,02) \quad (2.5)$$

$\epsilon_{TR} = 16700^{[145]}$ (Cihaz kaynaklı absorbands)

(205) = Toplam hacim

(25) = Ortama eklenen bileşik hacmi

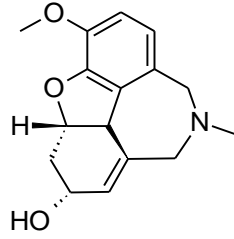
(20/1) = Seyreltme faktörü

(2) = Bitki ekstresindeki çözücü hacmi(ml)

(0,02) = Bitki ekstresinin ağırlığı(g)

2.7.4 Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi

Asetil- ve bütiril kolinesterazın inhibitör aktiviteleri Ellman, Courtney, Andres ve Featherston tarafından geliştirilen spektrofotometrik yöntemle ölçüldü [147]. Antikolinesteraz aktivitesinin DTNB metoduyla ölçüldüğü deneyde asetilkolin iyodür ve bütirilkolin iyodür reaksiyonda substrat olarak kullanıldı. 100 ve 50 mikrolitre 100 mM (ph 8.0) sodyum fosfat tamponu AChE ya da BChE ile karıştırılıp 15 dk 25°C inkübe edilip 0.5 mM DTNB eklendi. Reaksiyon asetiltiyokolin iyodür (0.71 mM) ya da bütiriltiyokolin klorür (0.2 mM) ilavesiyle başlatıldı. Sırasıyla asetilkolin iyodür veya bütirilkolin iyodürün enzimatik hidrolizi ile açığa çıkan tiyokolinin DTNB ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonu 412 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak izlendi. Kontrol olarak metanol kullanıldı. Standart olarak Şekil 2.1’de açık yapısı gösterilen, *Galanthus* bitkisinden izole edilen alkaloid tipi ilaç olan Galantamin kullanıldı [148].



Şekil 2.1: Galantamin.

Antikolinesteraz aktivitesi, kontrole göre % inhibisyon olarak aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\%inhibisyon = \frac{A_{kontrol} - A_{örnek}}{A_{kontrol}} \times 100 \quad (2.6)$$

A:Absorbans

2.7.5 Antimikrobiyal Aktivite

Bitkinin hekzan, asetonve metanol ekstreleri hazırlandı. Antibakteriyel aktiviteyi belirlemek için Disk Difüzyon Deneyi (Kirby – Bauer Metodu) uygulanırken [149,150] *Escherichia coli* DSMZ1103, *Staphylococcus aureus* DSMZ1104, *Mycobacterium smegmatis* ATCC14468 bakterileri ve *Candida albicans* DSMZ1386 mantarı kullanıldı. Dimetil sülfoksit (DMSO) negatif kontrol, ketokonazol, streptomisin, oksasilin, gentamisin ise pozitif kontrol olarak kullanıldı.

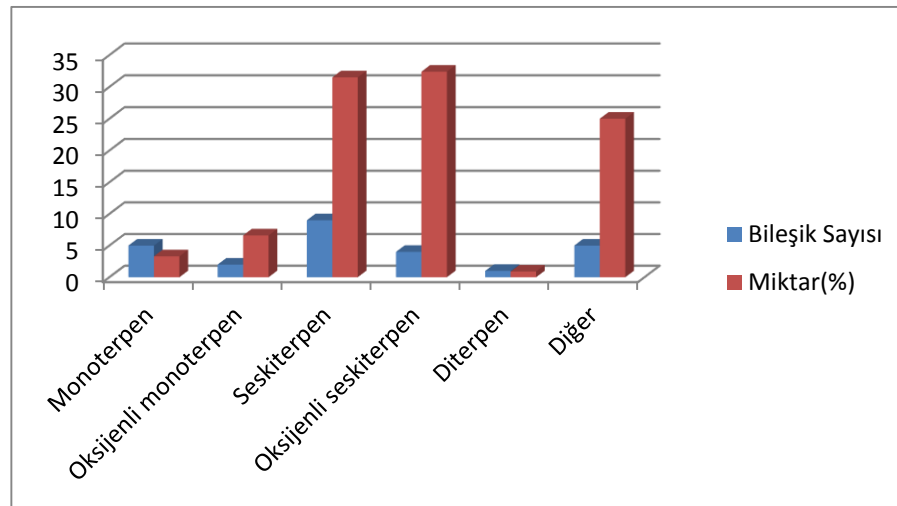
3. BULGULAR

3.1 *Sideritis bilgerana* Bitkisinden Elde Edilen Uçucu Yağ Bileşenleri

Sideritis bilgerana bitkisinden elde edilen uçucu yağın GC-MS ile yapılan analizlerinin sonucunda; % 3.8'inin monoterpen, % 6.6'sının oksijenli monoterpen, % 31.5'inin seskiterpen, % 32.4'ün oksijenli seskiterpen, % 0.9'unun diterpen, % 25'inin ise diğer gruba ait bileşikler olduğu bulunmuştur. Sonuçlar Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

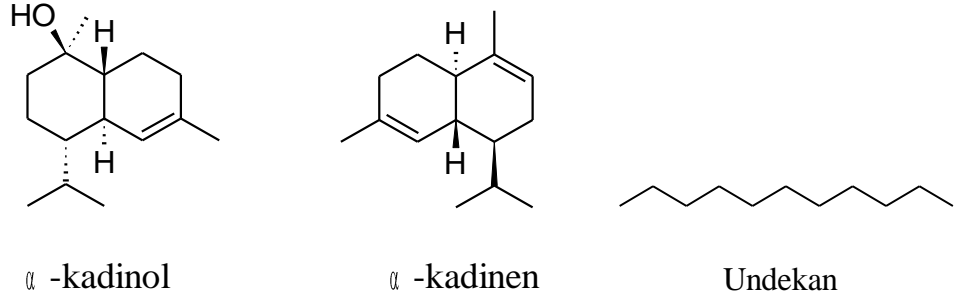
Tablo 3.1: Uçucu yağ bileşenlerinin sınıflandırılması.

Bileşik sınıfı	Bileşik Sayısı	Miktar(%)
Monoterpen	5	3.8
Oksijenli monoterpen	2	6.6
Seskiterpen	9	31.5
Oksijenli seskiterpen	4	32.4
Diterpen	1	0.9
Diğer	5	25
Toplam	26	100.2



Şekil 3.1: Uçucu yağ GC-MS analiz sonuçları.

En yüksek oranda bulunan üç bileşik α -kadinol (%28.5), α -kadinen (%11.0), undekan (%8.5) olarak belirlendi ve Şekil 3.2’de gösterilmiştir.



Şekil 3.2: *Sideritis bilgerana* uçucu yağında bulunan üç bileşen.

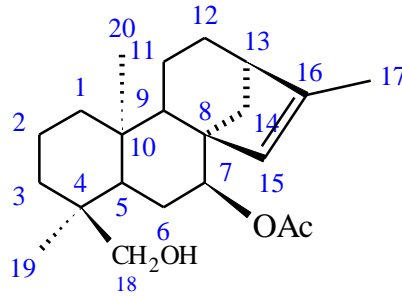
Tablo 3.2: Uçucu yağ GC-MS analiz sonuçları.

KI	RT	Monoterpenler	<i>S.bilgerana</i> (%)
939	5.44	α -pinen	1,3
979	7.55	β -pinen	0,1
1025	8.60	Simen	0,1
1029	8.75	Limonen	2,1
1089	10.81	Terpinolen	0,2
		Oksijenli Monoterpenler	
1177	13.51	4-terpineol	1,9
1189	13.89	α -terpineol	4,7
		Seskiterpenler	
1388	19.27	β -burbonen	2,2
1377	19.10	Kopaen	2,2
1410	19.89	α -gurjunen	1,1
1409	20.10	Karyofilen	6,6
1455	21.00	α -humulen	3,4
1457	21.15	β -farnesen	1,3
1464	21.22	Aromadendren	2,8
1514	22.52	gama-kadinen	0,9
1539	22.69	α -kadinen	11,0
		Oksijenli Seskiterpenler	
1583	24.03	Karyofilen oksit	1,9
1636	25.10	δ -kadinol	1,5
1660	25.36	α -kadinol	28,5
1686	26.30	α -bisabolol	0,5
		Diterpen	
1943	29.70	Fitol	0,9
		Diğer Bileşikler	
979	7.16	1-okten-3-ol	1,4
991	7.72	3-oktanol	0,2
971	6.87	3-metil nonan	7,2
1289	16.65	Bornil asetat	7,7
1100	11.28	Undekan	8,5

3.2 *Sideritis bilgerana* Bitkisinden Elde Edilen Terpen Bileşenleri

Sideritis bilgerana bitkisinden daha önce diğer *Sideritis* türlerindende izole edilip yapıları belirlenmiş olan kauren iskeletine sahip 8 bileşik elde edildi. Bu bileşiklerin yapıları Siderol (*ent-7 α -asetil-18-hidroksikaur-15-en*) (**1**), Sideridiol (*ent-7 α ,18-dihidroksikaur-15-en*) (**2**), 7-epikandikandiol (*ent-7 α ,18-dihidroksikaur-16-en*) (**3**), Sidol (*ent-3 β -asetil-7 α ,18-dihidroksikaur-16-en*) (**4**), Eubotriol (*ent-7 α ,15 β ,18-trihidroksikaur-16-en*) (**5**), Eubol (*ent-7 α -asetil-15 β ,18-dihidroksikaur-16-en*) (**6**), Athonolon (*ent-7 α ,17,18-trihidroksi-9,(11)-en-12-on*) (**7**) ve Linearol (*ent-3 β -7 α -dihidroksi-18-asetilkaur-16-en*) (**8**) olarak belirlendi.

3.2.1 Siderol (*ent-7 α -asetil-18-hidroksi-kaur-15-en*) (**1**)



Siderol bileşiği *Sideritis bilgerana* bitkisinin hekzan ve aseton ekstratlarından, toplam 110 mg beyaz toz halinde elde edilmiştir.

¹H-NMR spektrumunda (Şekil 3.3) singletler halinde dört adet metil gözlenmiştir. Bunlardan ikisi daha üst alanda δ 0.71 ve 1.07 ppm 'de görülen piklerdir. 2.07 ppm' de ise asetil metiline ait olan protonlar, 1.69 ppm' de ise vinilik metil sinyali gözlemlenmiştir. H-13 protonu ise 16-en kaurenlere kıyasla biraz daha üst alanda δ 2.30'de multipl olarak izlenirken 18 nolu karbondaki hidroksimetilen piki ise δ 2.99 ve 3.32'da ($J=11.5\text{Hz}$) dubletler halinde izlenmiştir. δ 4.69 ppm' de asetile komşu H-7 protonu triplet ($J=2.5\text{ Hz}$) olarak gözlenmiştir. 5.26 ppm' de izlenen singlet ise bir çifte bağın varlığına işaret etmektedir.

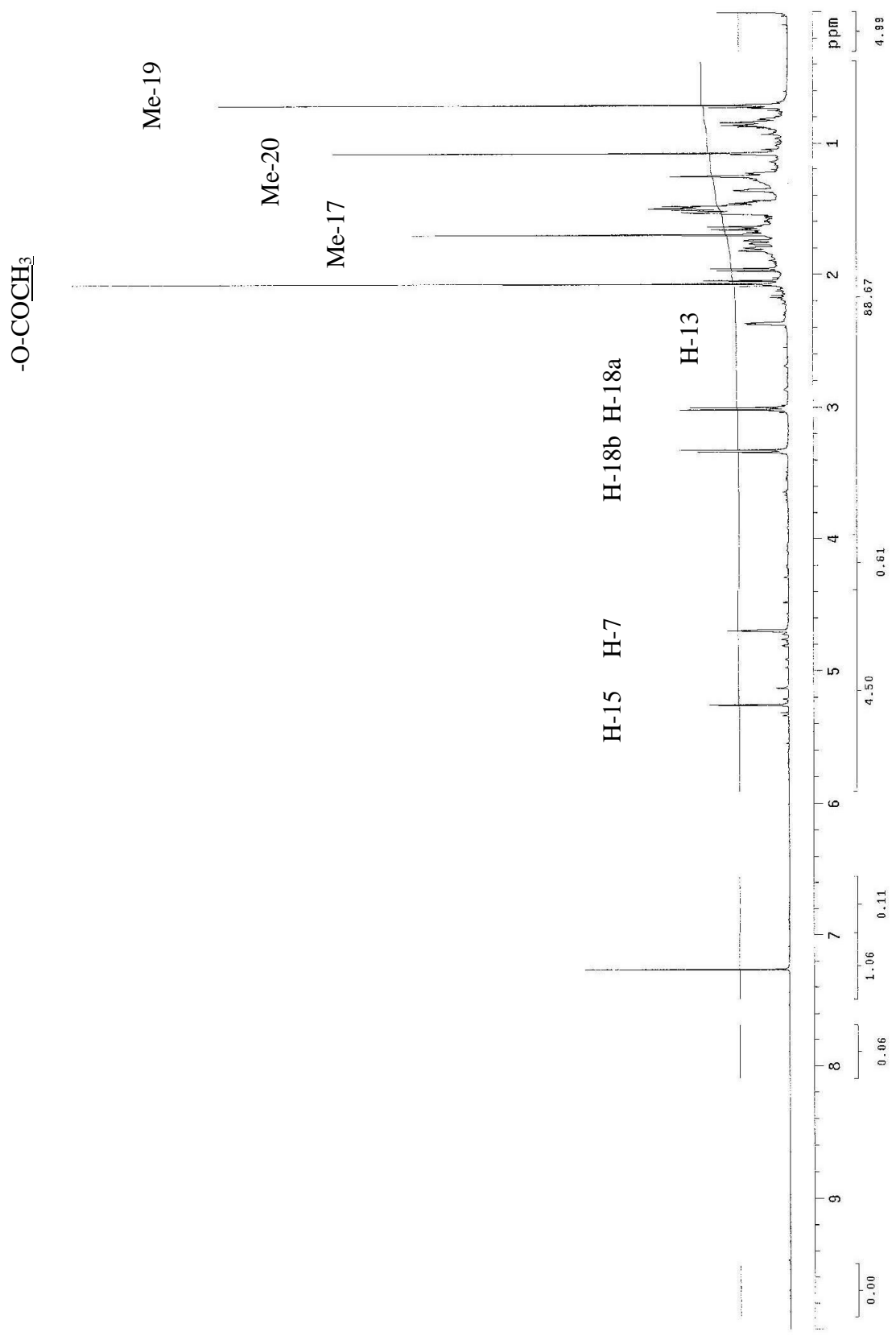
¹³C-NMR'ının APT tekniği ile alındığı spektrumda (Şekil 3.5) 4 metil, 8 metilen, 5 metin ve 5 kuaterner karbon olmak üzere toplamda 22 adet karbon piki izlenmiştir. Metil karbonları, δ 15.36, 17.35 ve 17.76' larda gözlemlenirken asetil metili 21.45'de gözlemlenmiştir. Karakteristik hidroksimetilen (C-18) karbonu ise

71.33' de gözlenmiştir. Yapıdaki çifte bağın ekzosiklik olmadığını gösteren en büyük delillerden biri 129.81' de izlenen C-15 karbonuna ait olan piktir. Çifte bağın kuarterner karbon (C-16) sinyali 143.74 ppm' de gözlenirken asetil grubun karbonil karbonun sinyali ise 170.82 ppm' de gözlemlenmiştir.

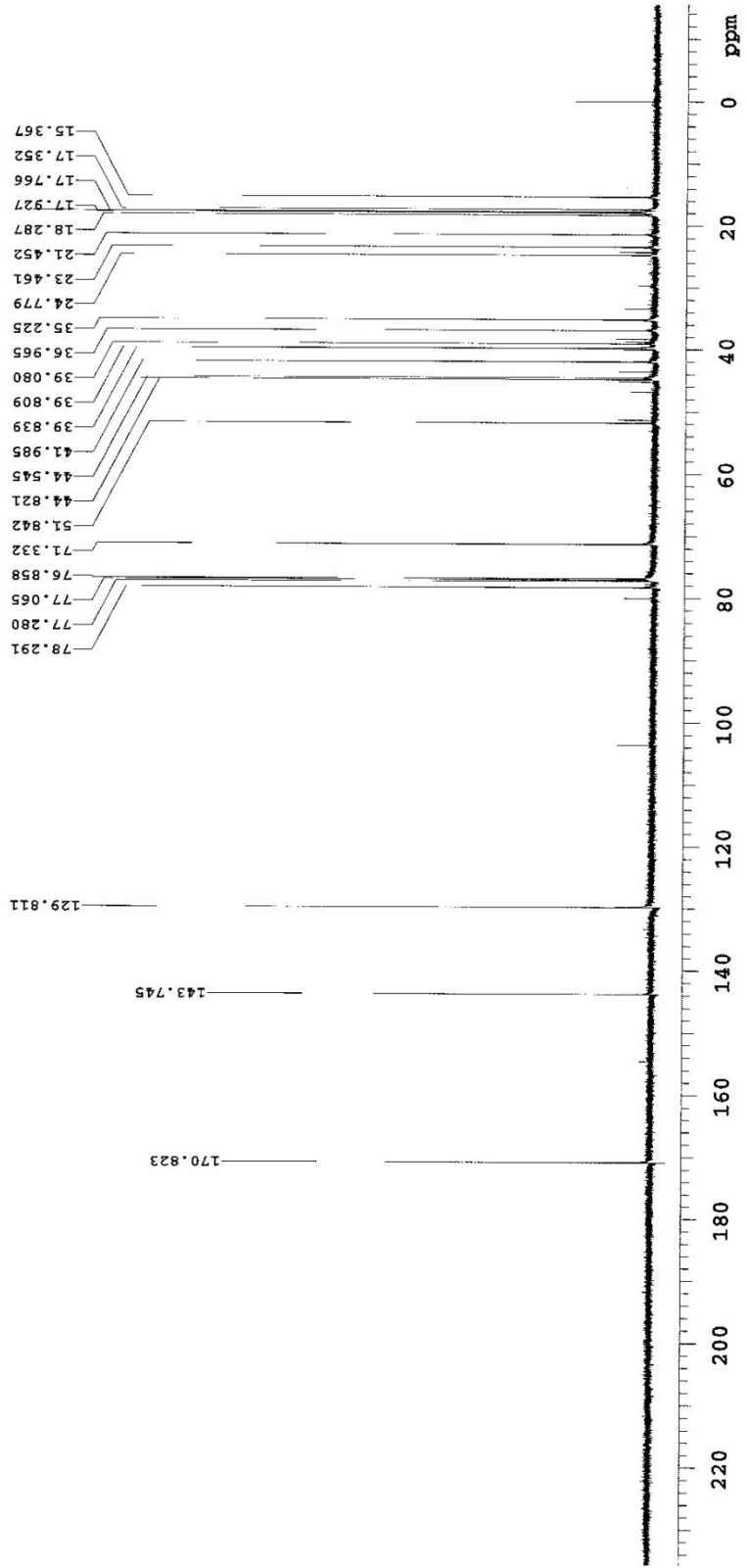
Elde edilen spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapının **ent-7 α -asetil-18-hidroksi-kaur-15-ene** olarak adlandırılan, daha önce *Sideritis* türü üzerinde yapılan çalışmalarda da izole edilmiş olan **Siderol** bileşiği olduğu belirlenmiştir [56, 57, 62, 63, 94, 97, 103, 108].

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 5.26 (1H, s, H-15), 4.69 (1H, t, $J=2.5$ Hz, H-7), 2.99 (1H, d, $J=11.5$ Hz, H-18a), 3.32 (1H, d, $J=11.5$ Hz, H-18b), 2.30 (1H, m, H-13), 2.07 (3H, s, OAc), 1.69 (3H, s, Me-17), 1.07 (3H, s, Me-20), 0.71 (3H, s, Me-19)

¹³C-NMR (150.82 MHz, CDCl₃): δ 44.54 (C-1), 18.28 (C-2), 35.22 (C-3), 36.96 (C-4), 44.54 (C-5), 23.46 (C-6), 78.29 (C-7), 51.84 (C-8), 44.82 (C-9), 39.08 (C-10), 17.92 (C-11), 24.77 (C-12), 39.80 (C-13), 39.83 (C-14), 129.81 (C-15), 143.75 (C-16), 15.36 (C-17), 71.33 (C-18), 17.35 (C-19), 17.76 (C-20), 21.45 (O-COCH₃), 170.83 (O-COCH₃)

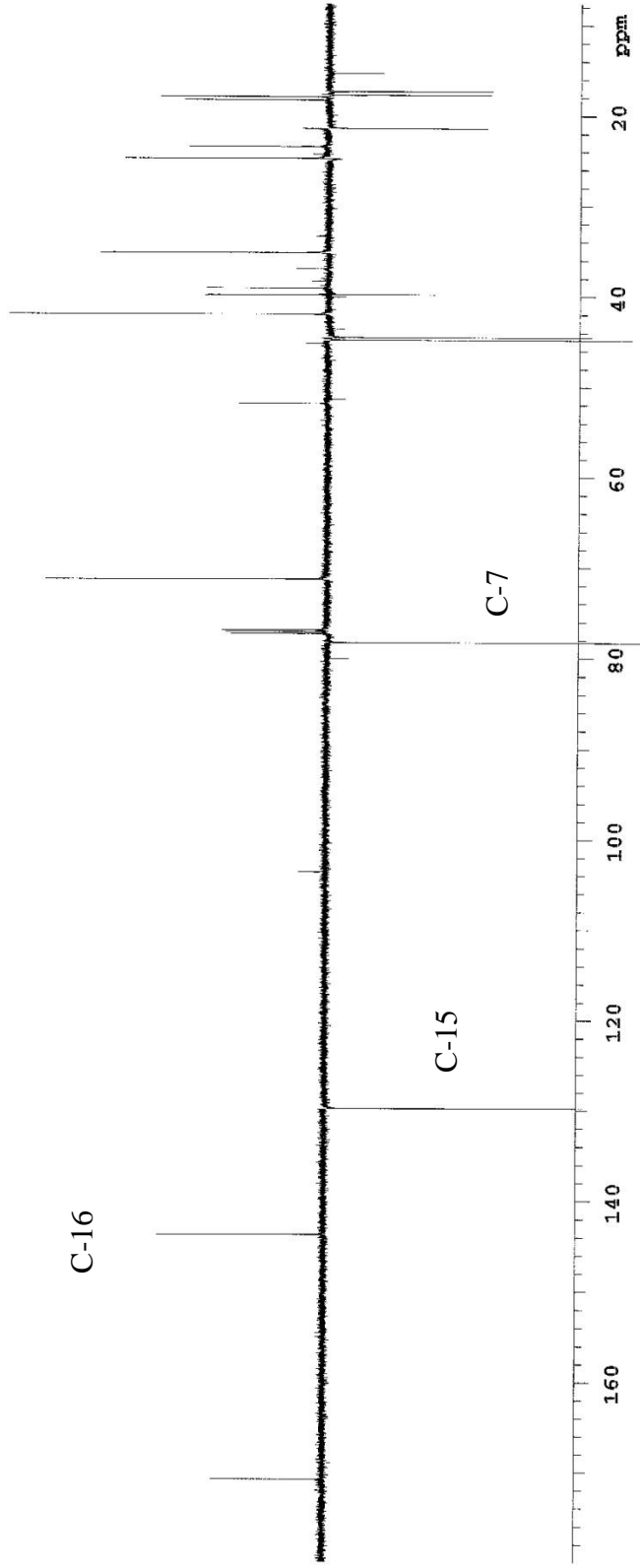


Şekil 3.3: Siderol bileşiğinin ¹H NMR spektrumu.

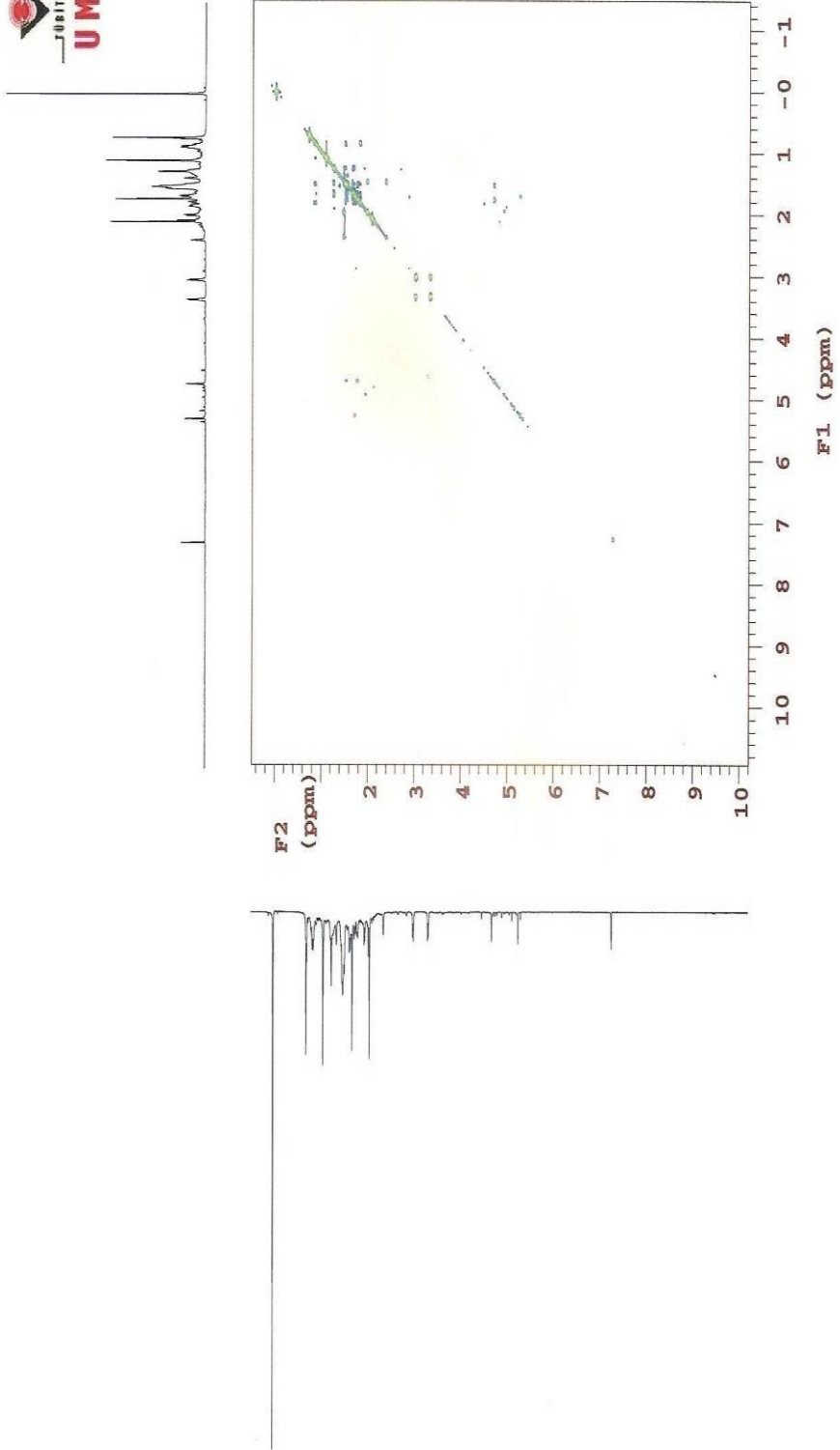


Şekil 3.4: Siderol bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu.

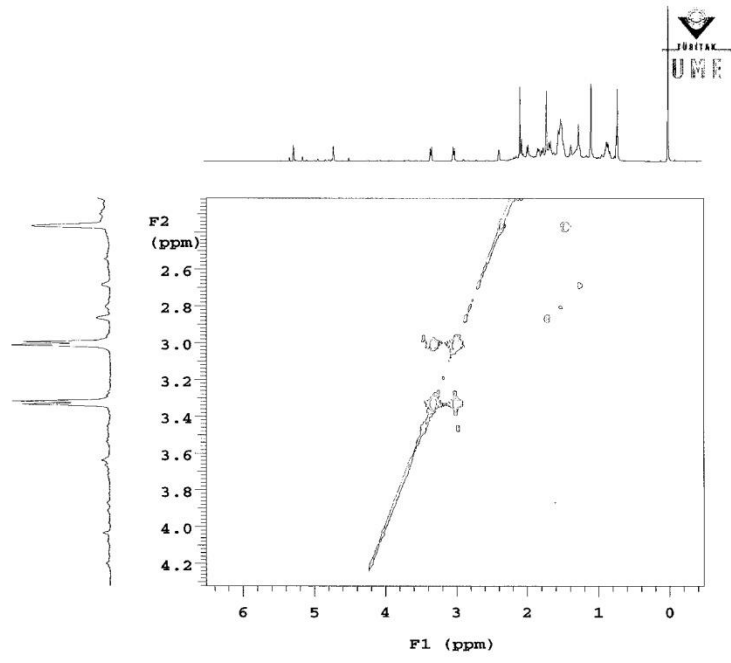
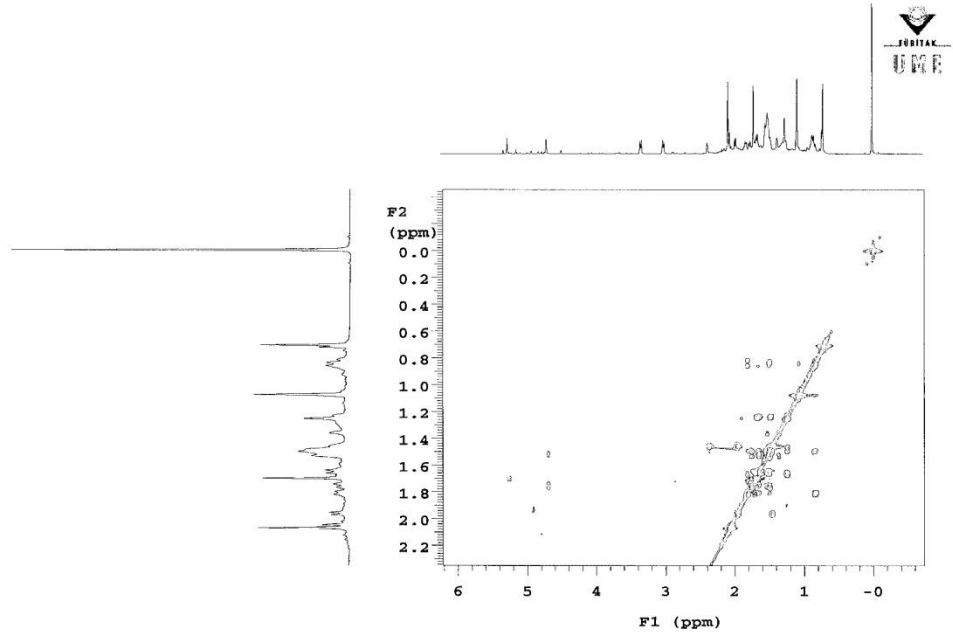
C-18



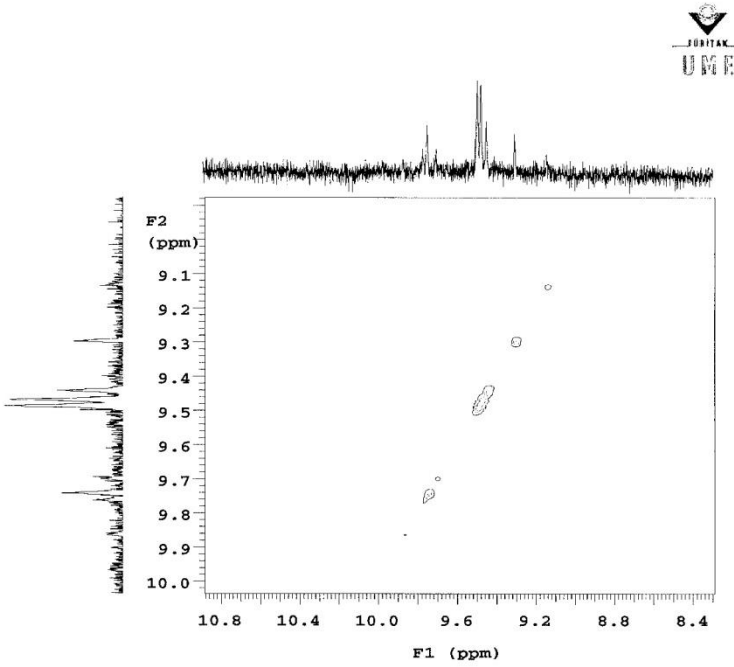
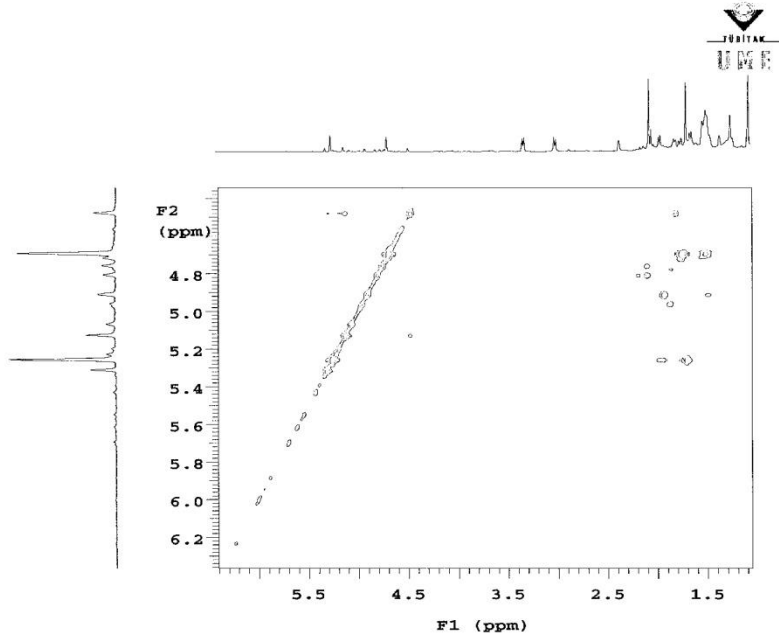
Şekil 3.5: Siderol bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu (APT).



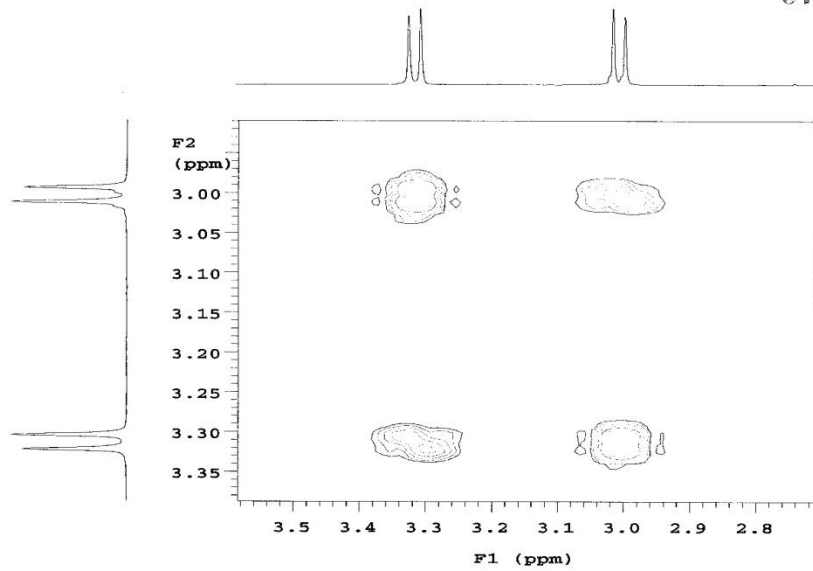
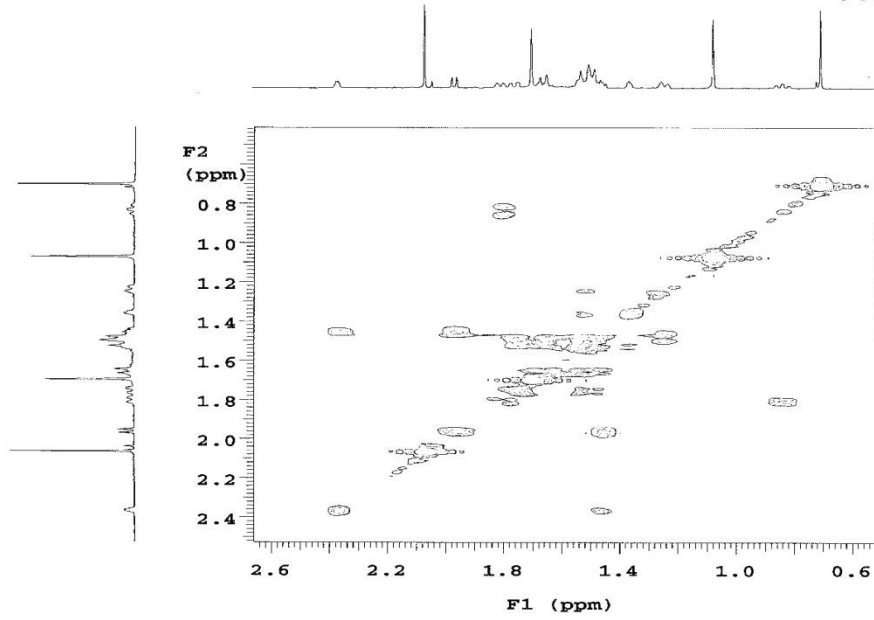
Şekil 3.6: Siderol bileşiğinin COSY spektrumu-1.



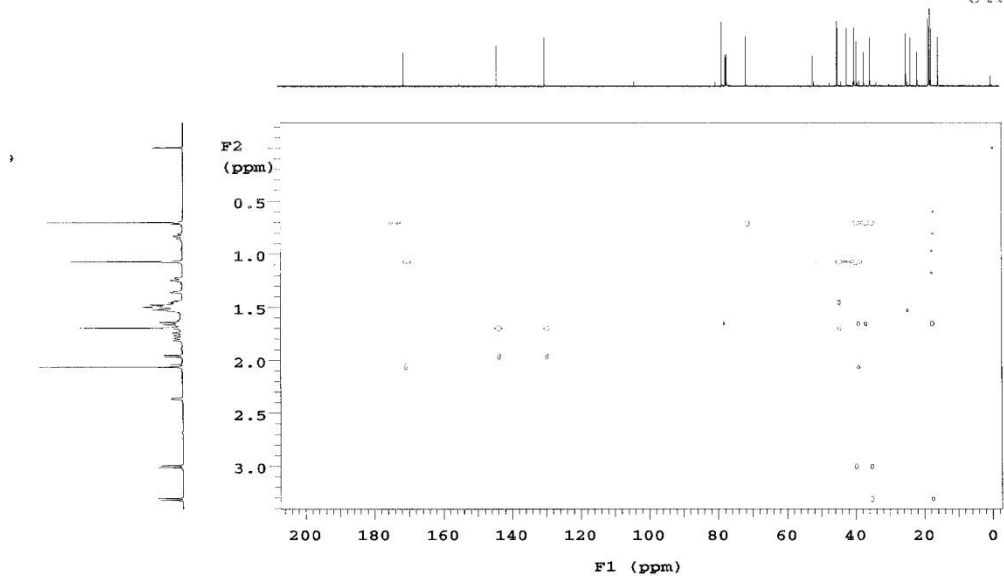
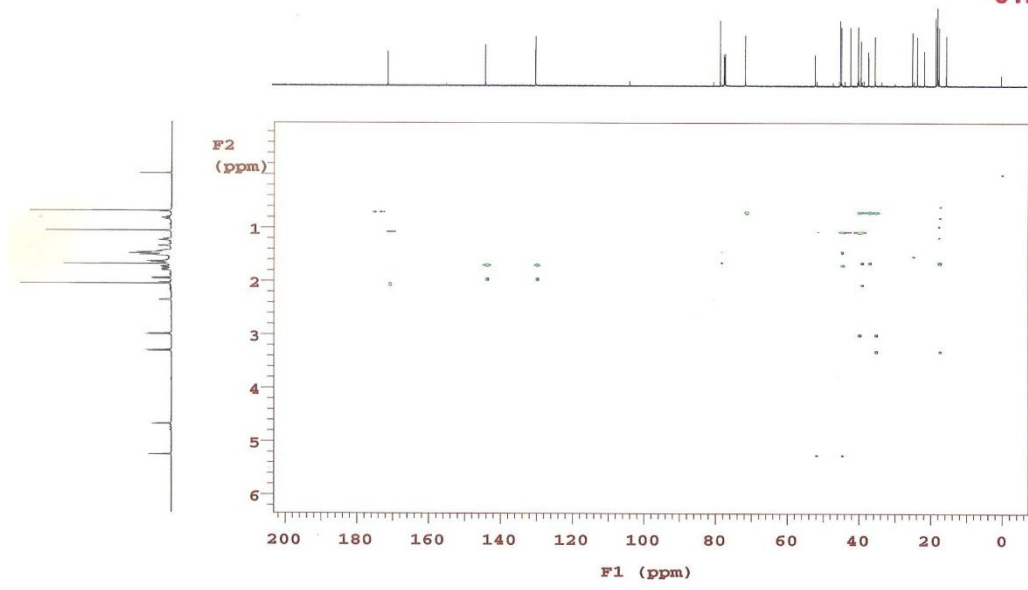
Şekil 3.7: Siderol bileşiminin COSY spektrumu-2.



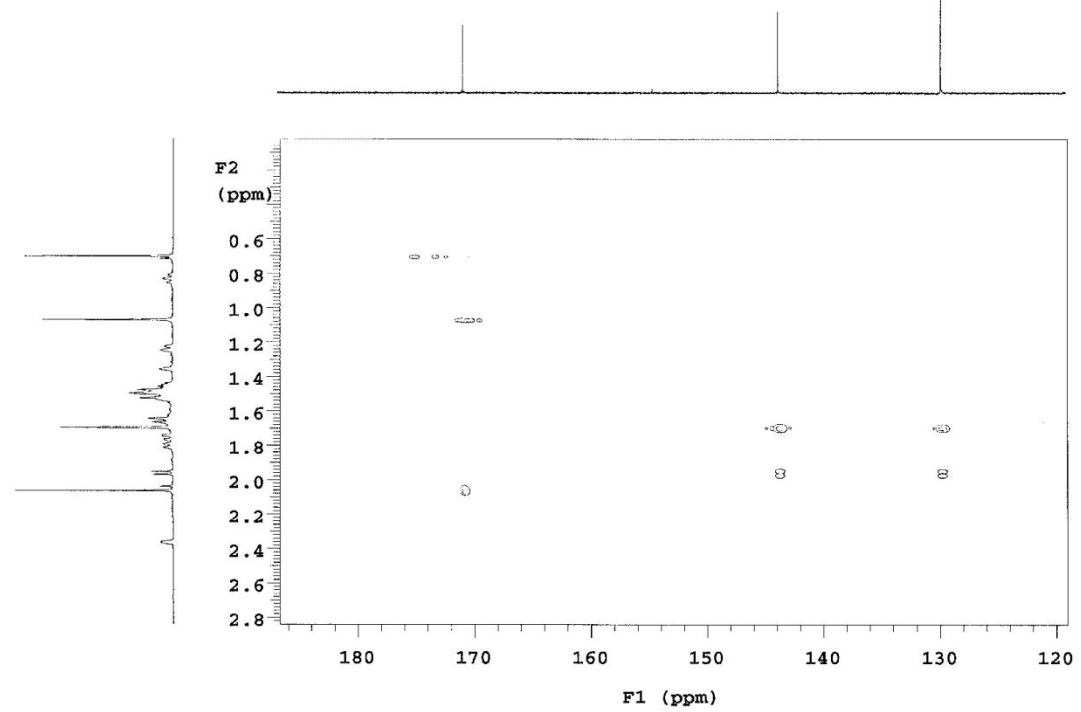
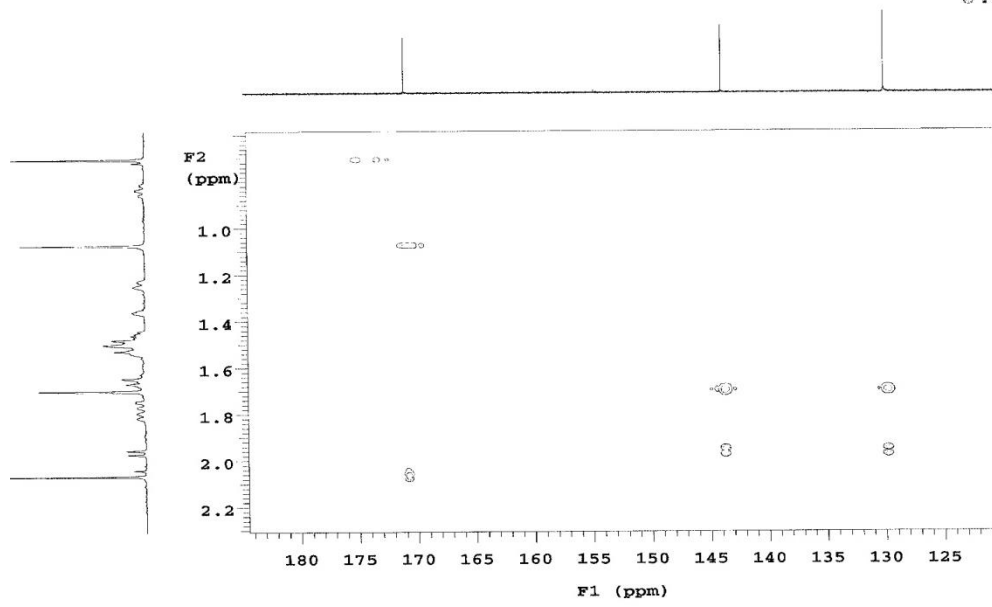
Şekil 3.8: Siderol bileşiğinin COSY spektrumu-3.



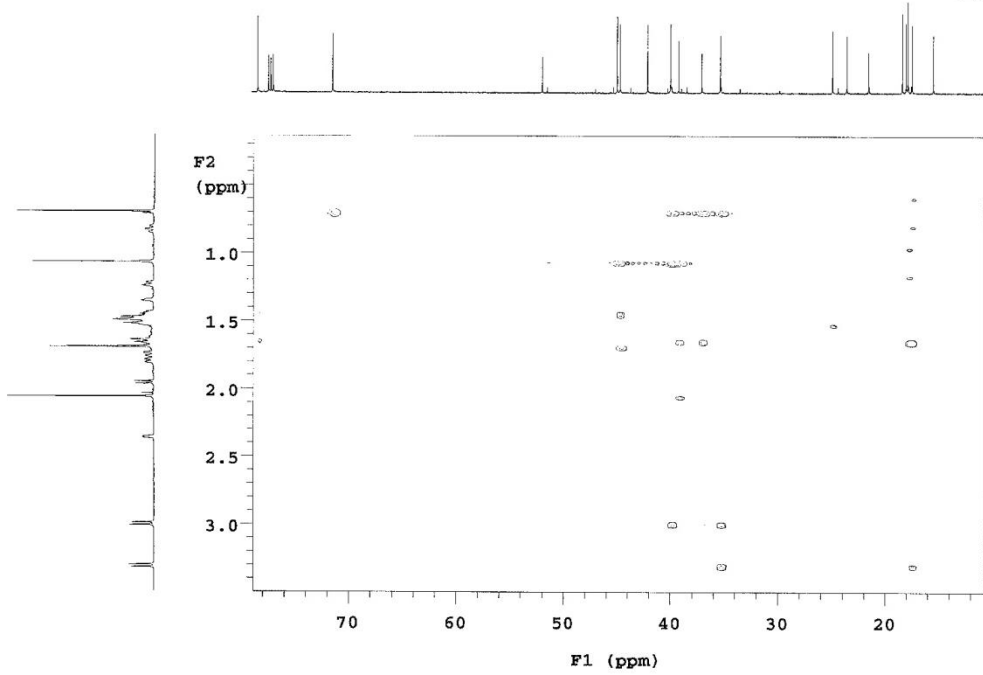
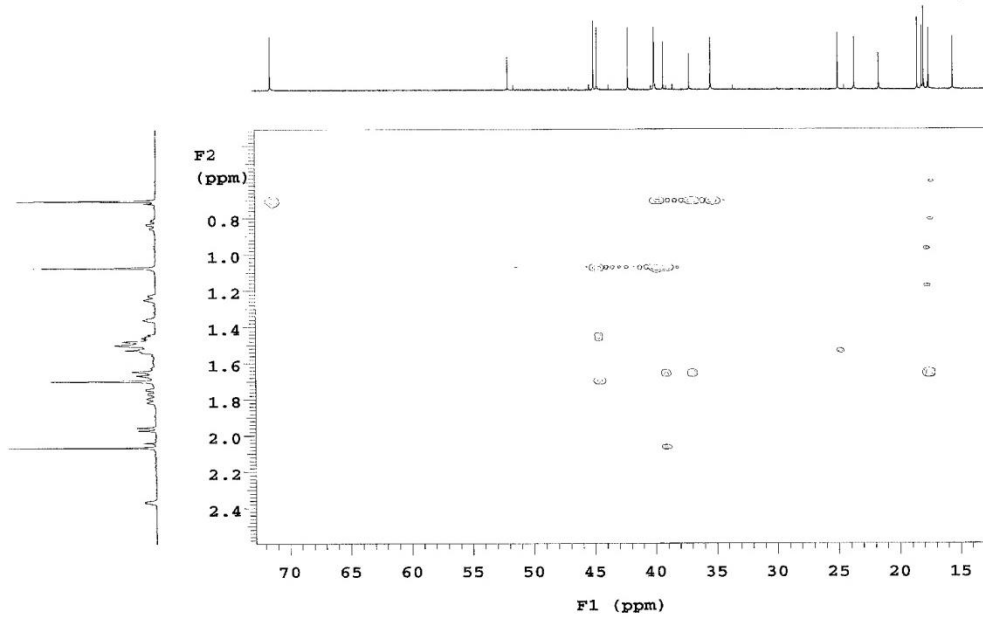
Şekil 3.9: Siderol bileşiğinin COSY spektrumu-4.



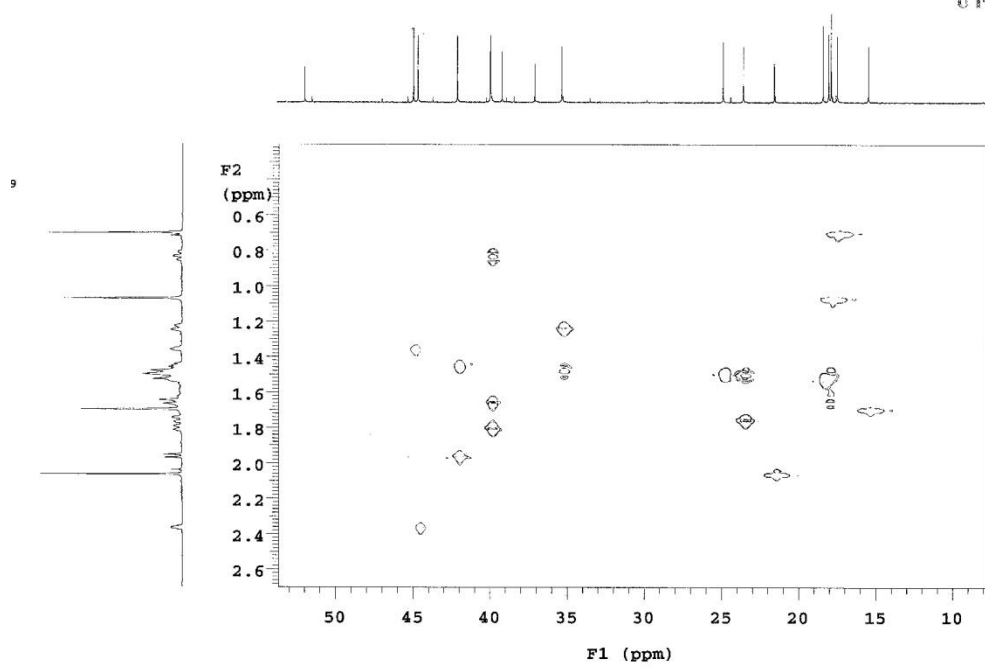
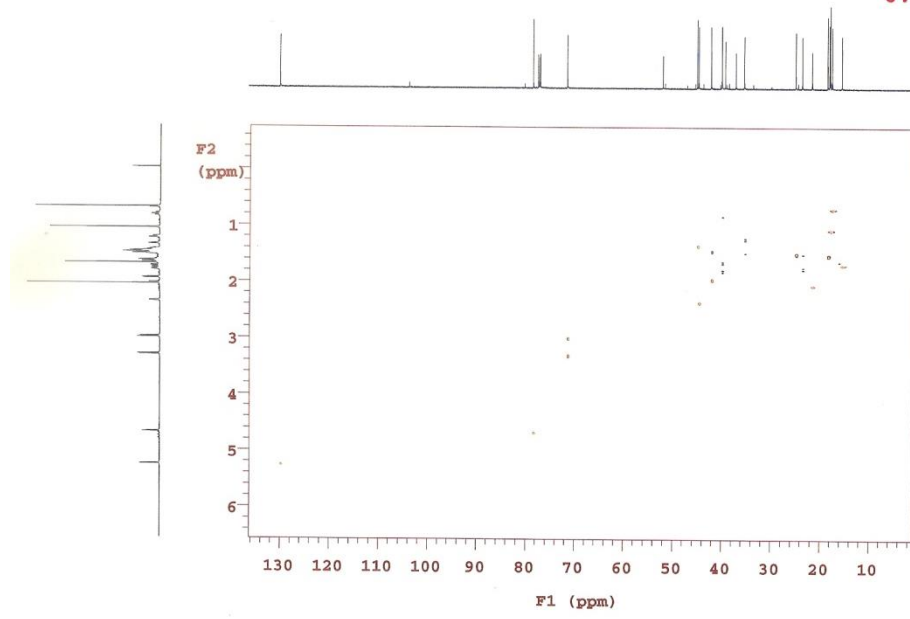
Şekil 3.10: Siderol bileşiğinin HMBC spektrumu-1.



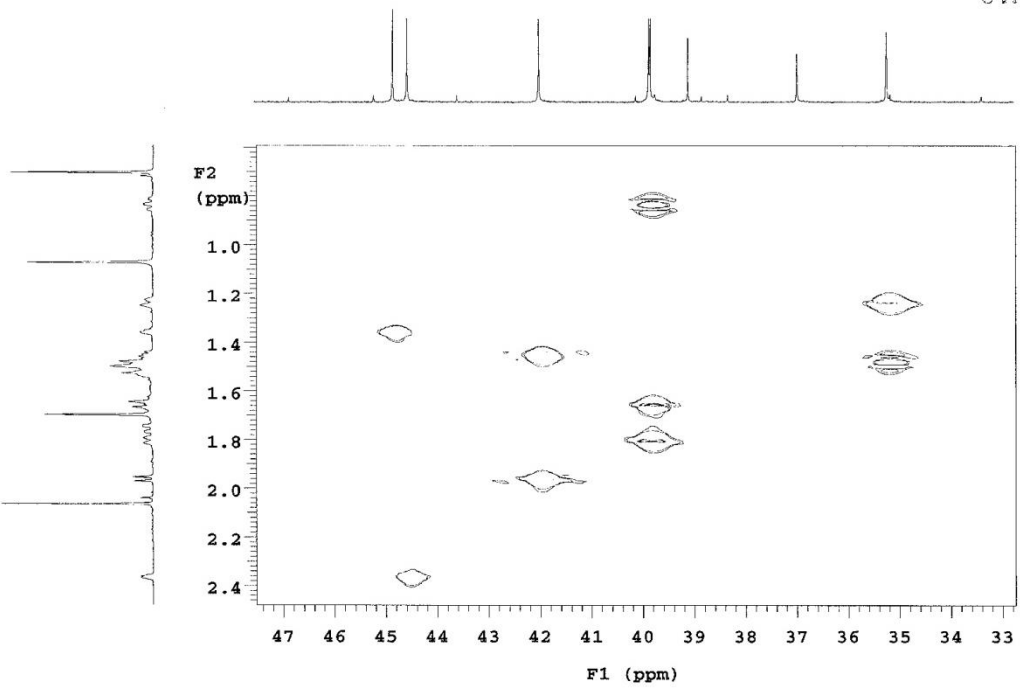
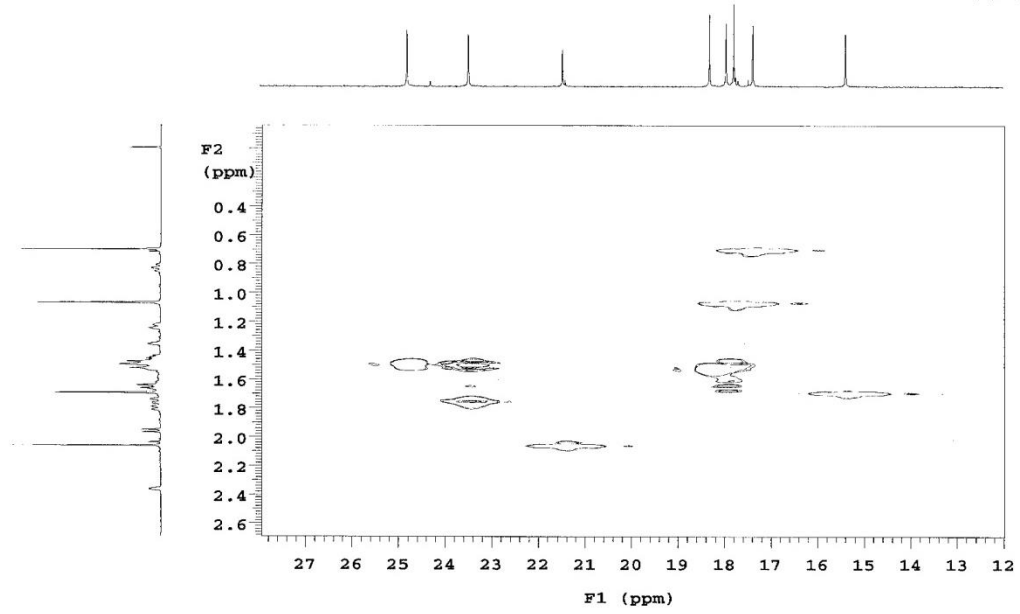
Şekil 3.11: Siderol bileşiğinin HMBC spektrumu-2.



Şekil 3.12: Siderol bileşiğinin HMBC spektrumu-3.

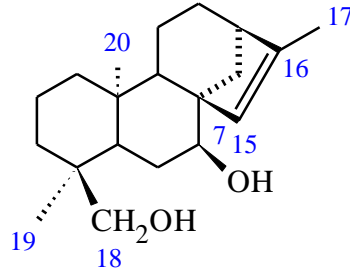


Şekil 3.13: Siderol bileşiğinin HMQC spektrumu-1.



Şekil 3.14: Siderol bileşiğinin HMQC spektrumu-2.

3.2.2 Sideridiol (*ent-7 α ,18*-dihidroksikaur-15-en) (2)



Sideridiol bileşiği *Sideritis bilgerana* bitkisinin aseton ekstresinden, toplam 1,5 mg elde edilmiştir.

¹H-NMR spektrumunda (Şekil 3.15) iki metil sinyali δ 0.68 ve 1.05'de singletler halinde gözlenmiştir. δ 1.73'de çıkan genişlemiş singlet çift bağa komşu bir metilin varlığına, δ 5.45'de gözlenen singlet ise olefinik bir protonun varlığına işaret etmiştir. δ 2.95 ve 3.45'de izlenen 12 Hz'lik AB sistemi dubletleri C-4'e bağlı bir hidroksimetilen grubunu, 3.58 ppm'de gözlemlenen triplet ($J=2.5$ Hz) ise bölünme şekli ve kimyasal kayması itibariyle kauren diterpenlerdeki oksijen içeren bir süstitüente, büyük olasılıkla hidroksile komşu H-7 protonunu göstermektedir.

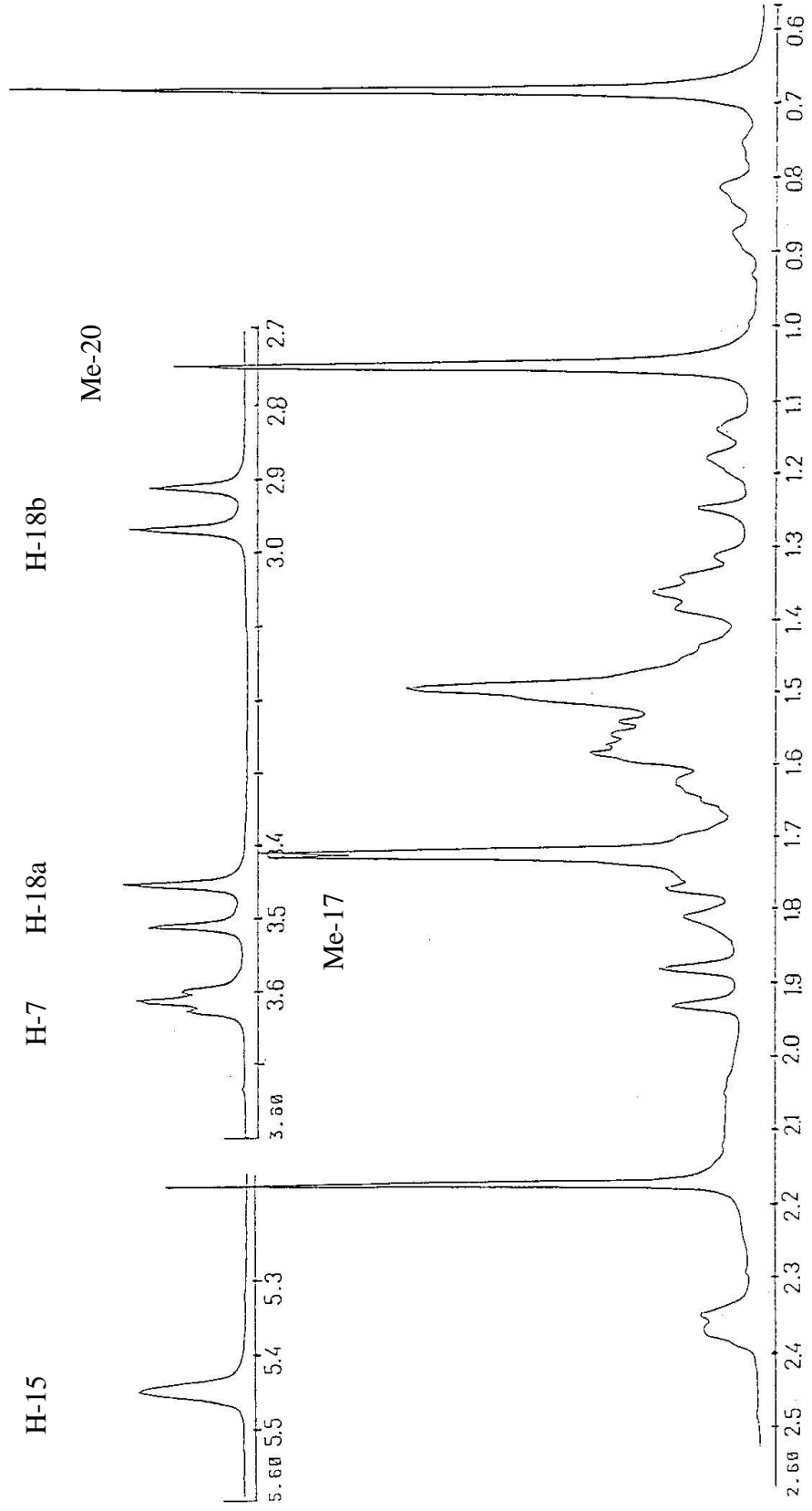
¹³C-NMR'ının APT tekniği ile alındığı spektrumda (Şekil 3.16) dört kuaterner, üç metil, beş metin ve sekiz metilen karbonu olmak üzere toplam yirmi adet karbon sinyali izlenmiştir. Metil karbonlarından birisi δ 15.53'de, diğer ikisi ise δ 17.72 'de, oksijene komşu karbonlardan C-7 karbonu δ 75.42'de, C-18 karbonu ise (hidroksi metilen karbonu) δ 71.08'de gözlenmiştir. Olefinik metin karbonu olan C-15, δ 129.65' de, kuaterner olefinik karbon ise δ 146.08'de izlenmiştir.

Elde edilen spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapının (*ent-7 α ,18*-dihidroksikaur-15-en olarak adlandırılan, daha önce *Sideritis* türü üzerinde yapılan çalışmalarda da izole edilmiş olan **sideridiol** bileşiği olduğu belirlenmiştir [12, 54-58, 94, 97, 103, 108].

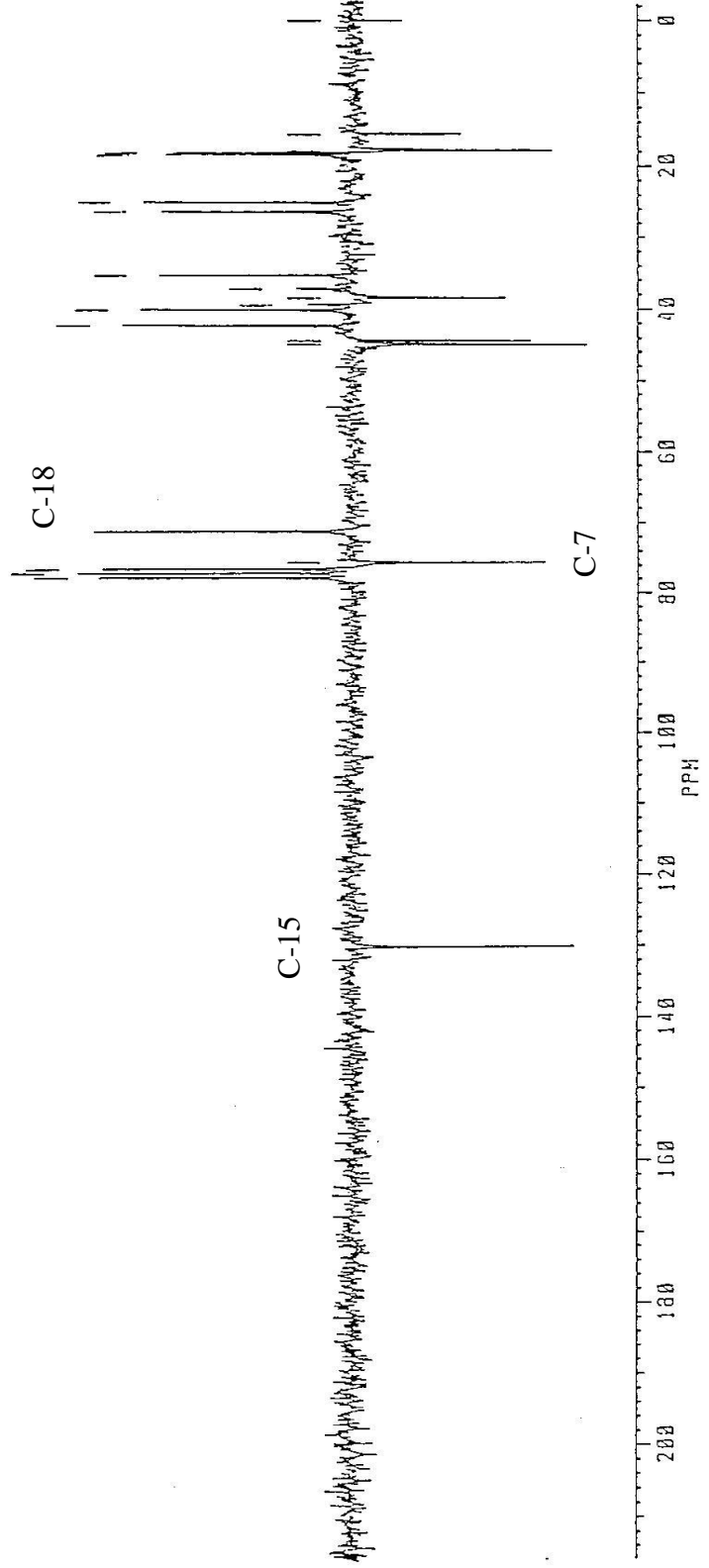
¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 5.45 (1H, s, H-15), 3.58 (1H, t, $J=2.5$ Hz, H-7), 3.45 (1H, d, $J=11.5$ Hz, H-18a), 2.95 (1H, d, $J=11.5$ Hz, H-18b), 2.35 (1H, m, H-13), 1.73 (3H, s, Me-17), 1.05 (3H, s, Me-20), 0.68 (3H, s, Me-19)

^{13}C -NMR (150.82 MHz, CDCl_3): δ 42.02 (C-1), 18.35 (C-2), 35.24 (C-3), 37.10 (C-4), 44.60 (C-5), 25.00 (C-6), 75.42 (C-7), 51.80 (C-8), 44.80 (C-9), 39.29 (C-10), 18.05 (C-11), 26.32 (C-12), 44.24 (C-13), 44.24 (C-14), 129.65 (C-15), 146.08 (C-16), 15.53 (C-17), 71.08 (C-18), 17.72 (C-19), 17.72 (C-20)

Me-19

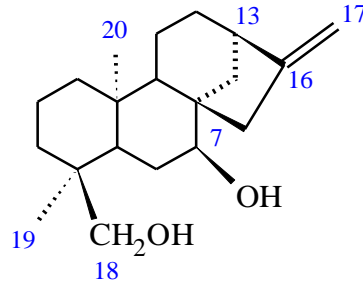


Şekil 3.15: Sideridiol bileşiminin ¹H NMR spektrumu.



Şekil 3.16: Sideridiol bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (APT).

3.2.3 7- epikandikandiol (*ent*-7 α -,18-dihidroksikaur-16-en) (3)



7-epikandikandiol bileşiği *Sideritis bilgerana* bitkisinin aseton ekstresinden, toplam 2 mg elde edilmiştir.

¹H-NMR spektrumunda (Şekil 3.17) iki metil sinyali δ 0.69 ve 1.05 de singletler halinde, δ 2.69'da ise H-13 protonu multipler halinde gözlenmiştir. δ 2.92 ve 3.47'ler de gözlemlenen dubletler ile ($J= 12$ Hz) oksijene komşu metilen grubu belirlenirken, δ 3.66'daki triplet ($J= 2.2$ Hz) C-7'deki protona ait ve δ 4.80'deki genişlemiş singletin ise kauren iskeletinin karakteristik piki olan C-17 protonuna ait olduğu belirlenmiştir.

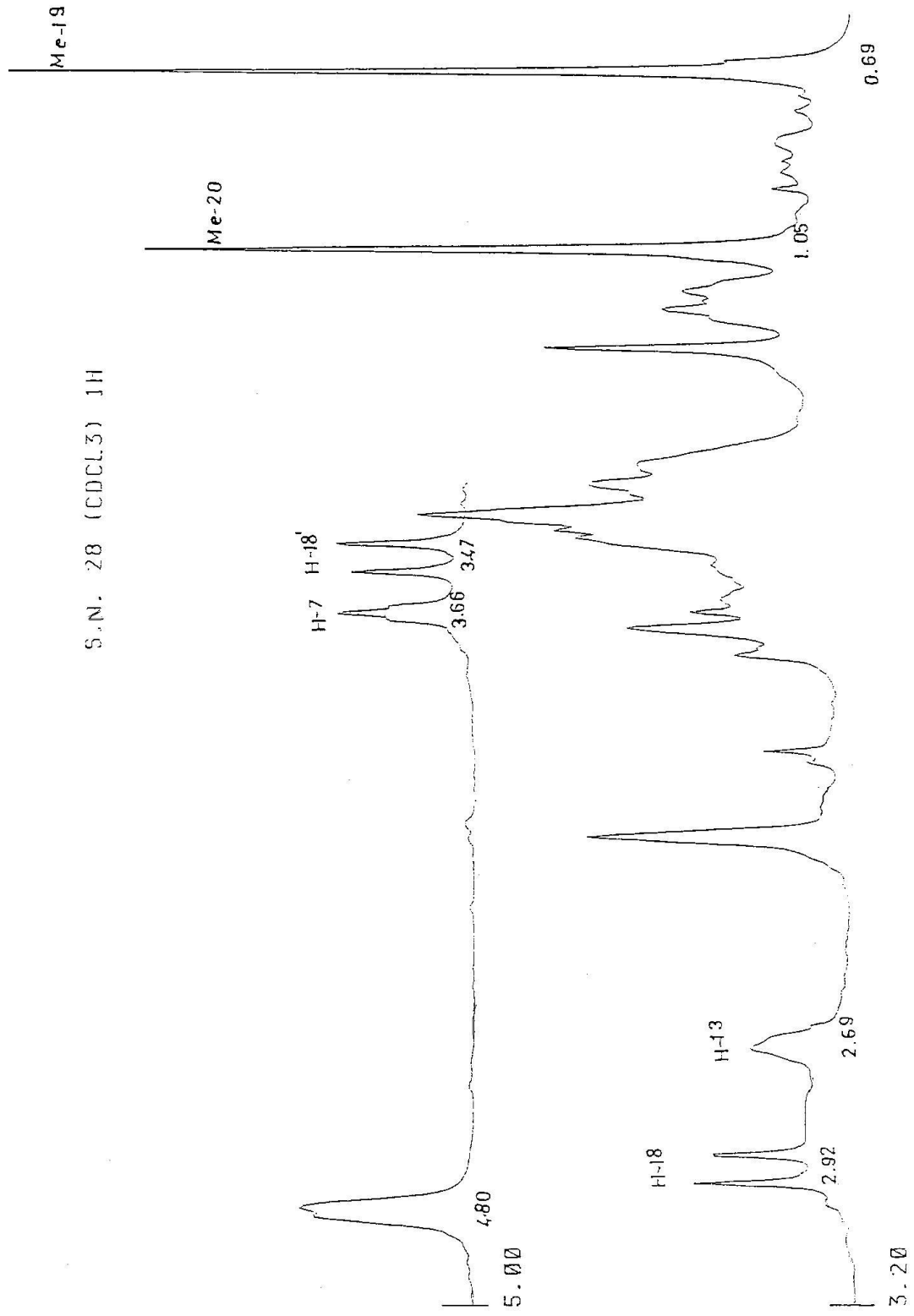
¹³C-NMR'ının APT tekniği ile alındığı spektrumda (Şekil 3.18) dört metin, on metilen, iki metil ve dört kuarterner karbon izlenmiştir. Metil karbonları δ 17.75 ve 17.93'de, C-7 karbonu δ 77.05'de, C-18 ise δ 70.50'de izlenmiştir. Kauren iskeletine ait ekzosiklik metilen karbonu δ 103.38 ve kuarterner çift bağ karbonunda δ 155.13'de gözlenmiştir.

Elde edilen spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapının (*ent*-7 α -,18-dihidroksikaur-16-en) olarak adlandırılan, daha önce *Sideritis* türü üzerinde yapılan çalışmalarda da izole edilmiş olan **7-epikandikandiol** bileşiği olduğu belirlenmiştir [12, 54, 56-58, 94, 97].

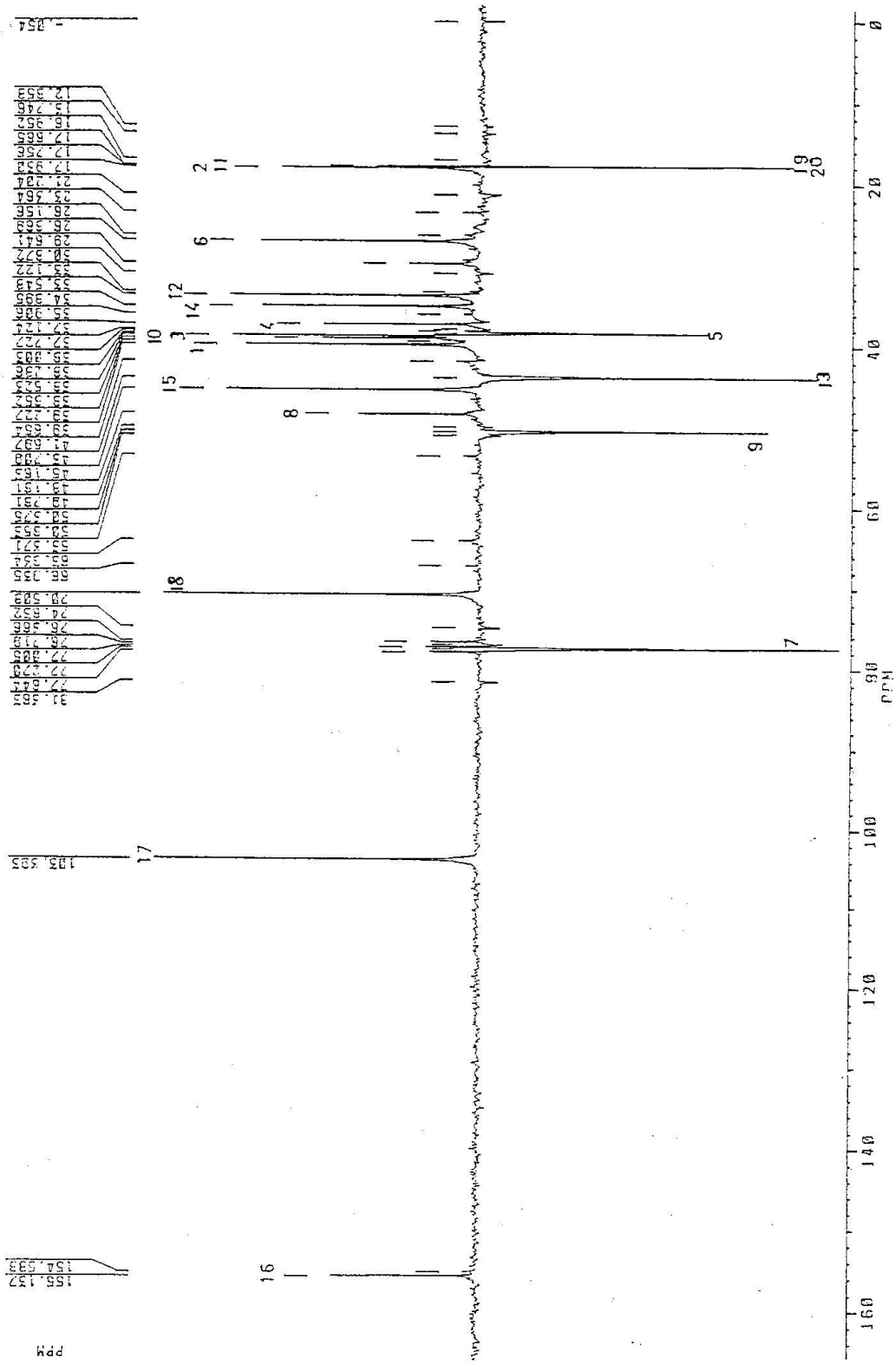
¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 4.80 (2H, s, H₂-17), 3.66 (1H, t, $J=2.2$ Hz, H-7), 3.47 (1H, d, $J=12$ Hz, H-18a), 2.92 (1H, d, $J=12$ Hz, H-18b), 2.69 (1H, m, H-13), 1.05 (3H, s, Me-20), 0.69 (3H, s, Me-19)

¹³C-NMR (150.82 MHz, CDCl₃): δ 39.65 (C-1), 17.93 (C-2), 38.29 (C-3), 37.77 (C-4), 37.12 (C-5), 26.57 (C-6), 77.05 (C-7), 48.18 (C-8), 50.37 (C-9), 39.65

(C-10), 17.93 (C-11), 33.54 (C-12), 43.78 (C-13), 34.39 (C-14), 45.16 (C-15), 155.13
(C-16), 103.38 (C-17), 70.50 (C-18), 17.93 (C-19), 17.75 (C-20)

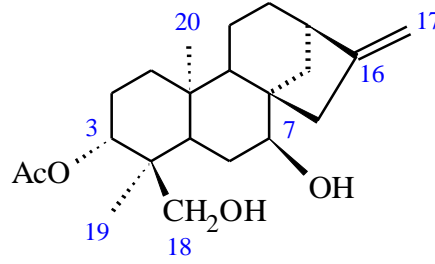


Şekil 3.17: 7-Epikandikandiol bileşiğinin ¹H NMR spektrumu.



Şekil 3.18: 7-Epikandikandiol bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu.

3.2.4 Sidol (*ent*- 3 β -asetil-7 α ,18-dihidroksikaur-16-en) (4)



Sidol bileşiği *Sideritis bilgerana* bitkisinin hekzan ekstresinden, toplam 1,8 mg elde edilmiştir.

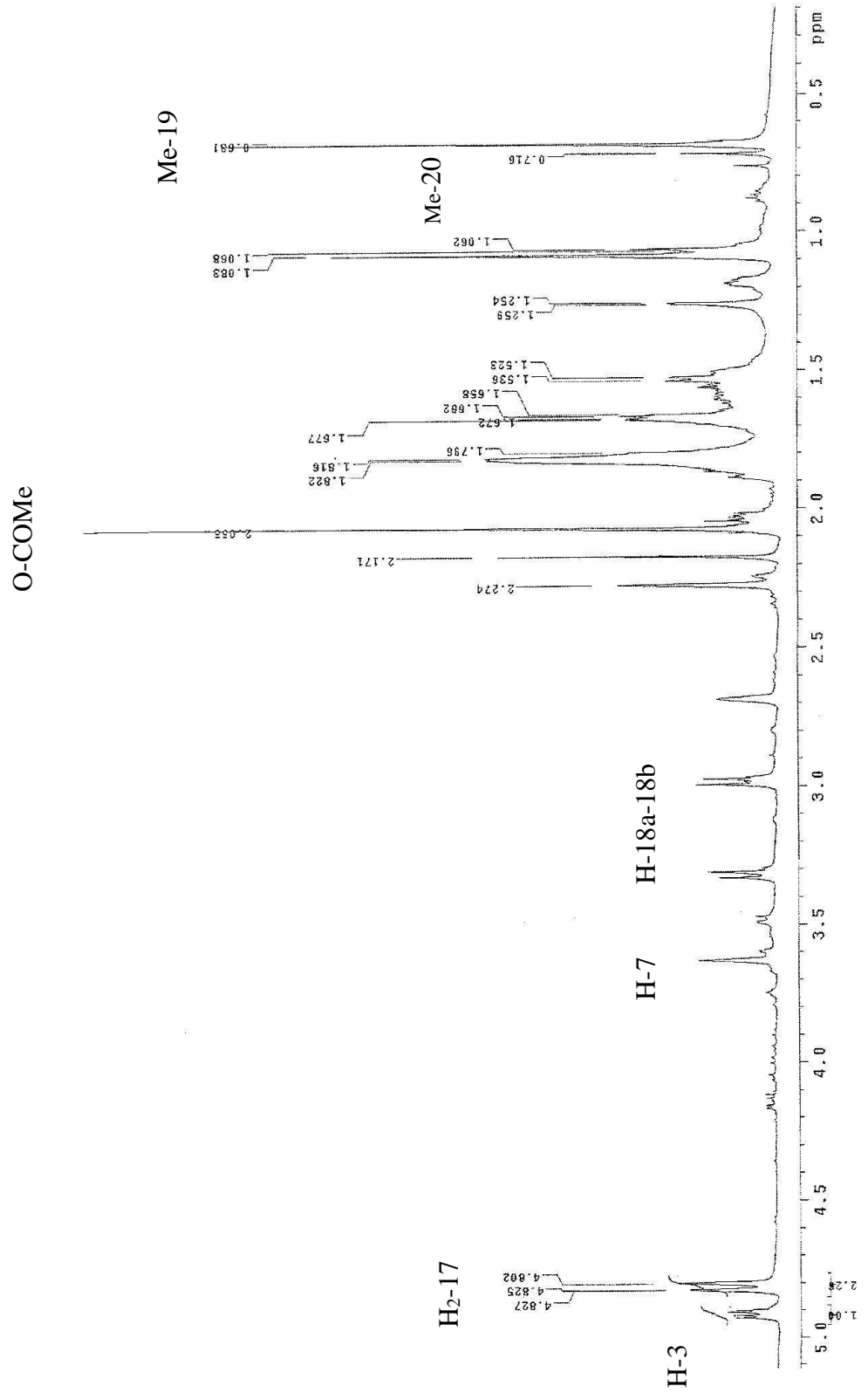
¹H-NMR spektrumunda (şekil 3.19) iki metil sinyali δ 0.68 ve 0.72'de ve bir asetil metili δ 2.06'da singletler halinde gözlenmiştir. Ekzosiklik metilen protonları δ 4.80 ve 4.82 de genişlemiş singletler halinde, bir hidroksimetin protonu ise δ 3.62'de triplet ($J=3$ Hz) halinde gözlenmiştir. Asetil grubuna komşu olduğu düşünölen metin protonu sinyali ise δ 4.90'da dubletin dubleti ($J=5$ Hz ve 11 Hz) şeklinde gözlenmiştir. Bir hidroksi metilen proton çifti ise δ 2.97 ve 3.32'de 12 Hz'lik dubletler halinde gözlenmiştir.

¹³C-NMR'ının APT tekniği ile alındığı spektrumda (şekil 3.20) ise beş metin, dokuz metilen, beş kuarterner karbon sinyali izlenmiştir. Metin karbonlarından δ 74.50 ve δ 76.90'da gözlenen ikisi moleküldeki mevcut sekonder hidroksil ve asetil gruplarının varlığını doğrularken, hidroksimetilen grubunun karbonu δ 64.14'de izlenmiştir. Kauren iskeleti için karakteristik olan ekzosiklik metilen grubunun karbonları ise δ 103.64 ve 153.90'da izlenmiştir.

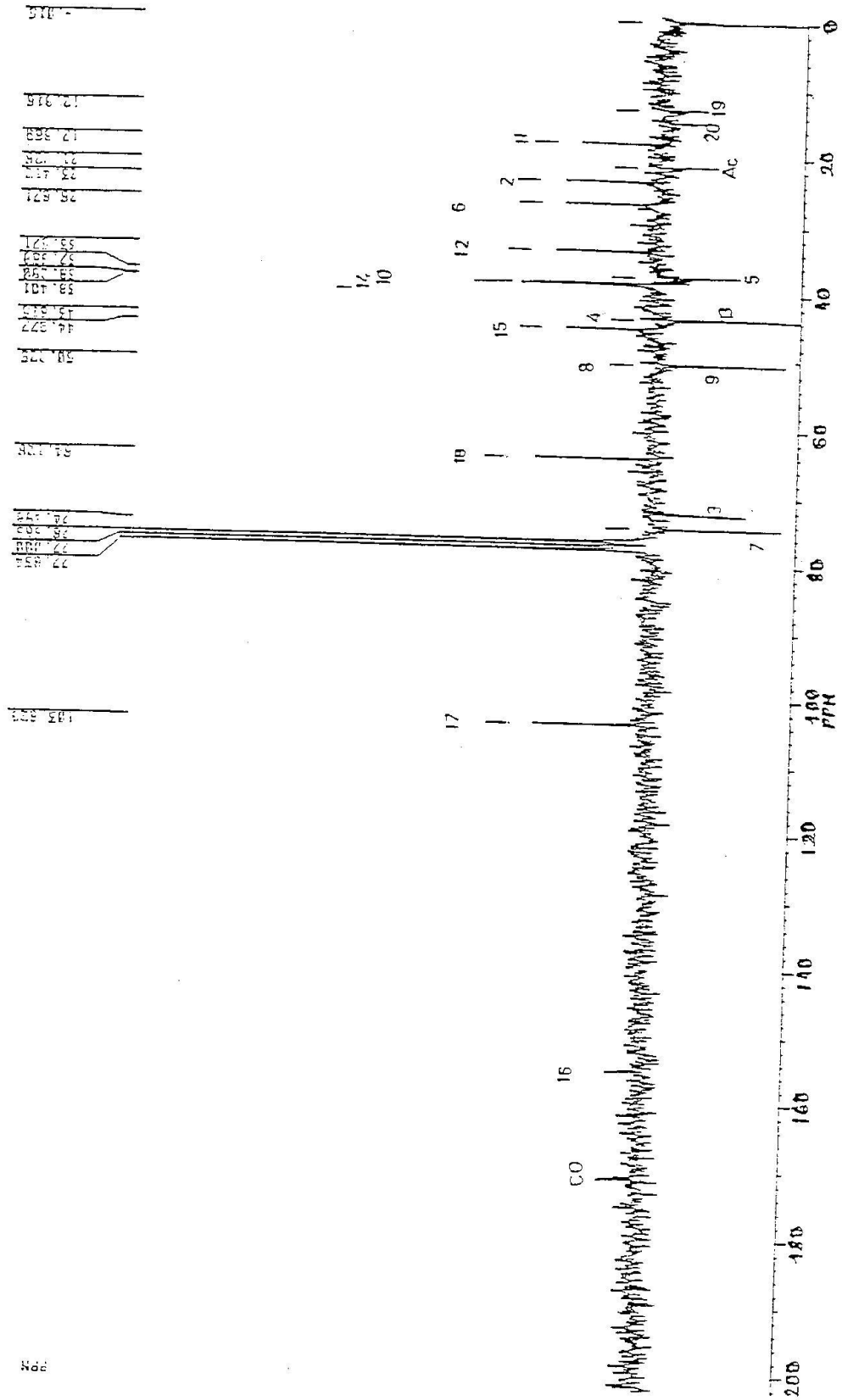
Elde edilen spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapının (*ent*-3 β -asetil-7 α ,18-dihidroksikaur-16-en) olarak adlandırılan, daha önce *Sideritis* türü üzerinde yapılan çalışmalarda da izole edilmiş olan **Sidol** bileşiği olduğu belirlenmiştir [12, 54-56, 60, 94, 97].

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 4.90 (1H, dd, $J=5$ ve 11 Hz, H-3), 4.80-4.82 (2H, br s, H₂-17), 3.62 (1H, t, $J=3$ Hz, H-7), 3.32 (1H, d, $J=12$ Hz, H-18a), 2.97 (1H, d, $J=12$ Hz, H-18b), 2.68 (1H, m, H-13), 2.06 (3H, s, OAc), 0.72 (3H, s, Me-20), 0.68 (3H, s, Me-19)

^{13}C -NMR (150.82 MHz, CDCl_3): δ 38.40 (C-1), 23.41 (C-2), 74.50 (C-3), 43.62 (C-4), 37.38 (C-5), 26.47 (C-6), 76.90 (C-7), 50.21 (C-8), 50.23 (C-9), 38.10 (C-10), 17.36 (C-11), 33.57 (C-12), 44.07 (C-13), 39.09 (C-14), 44.8 (C-15), 153.90 (C-16), 103.64 (C-17), 64.14 (C-18), 12.82 (C-19), 15.37 (C-20), 21.23 (O-COCH₃), 170.83 (O-COCH₃)

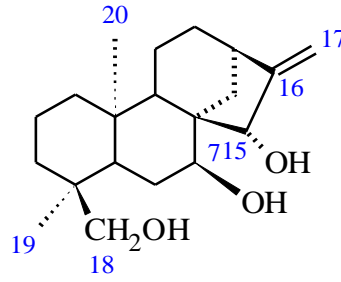


Şekil 3.19: Sidol bileşiğinin ¹H NMR spektrumu.



Şekil 3.20: Sidol bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu (APT).

3.2.5 Eubotriol (*ent-7 α ,15 β ,18*-trihidroksikaur-16-en) (5)



Eubotriol bileşiği *Sideritis bilgerana* bitkisinin hekzan ekstresinden, toplam 1,2 mg elde edilmiştir.

¹H-NMR spektrumunda (Şekil 3.21) iki metil sinyali 0.71 ve 1.04 ppm'de gözlenmiştir. 2.97 (J=12 Hz) ve 3.52 (J=12 Hz) ppm'lerde gözlenen AB sistemine ait protonlar karakteristik (C-18) hidroksimetilen grubunun varlığına işaret etmiştir. 3.92 ppm'de gözlenen triplet (J=2.5 Hz) H-7 protonuna, 4.12 ppm'de gözlenen genişlemiş singlet ise H-15 protonuna işaret etmiştir. 5.10 ve 5.23 ppm'lerde gözlenen singletler ise bize halka dışı metilen (H-17) protonlarının varlığını göstermiştir.

¹³C-NMR'ının spektrumunda (Şekil 3.22) oksijene komşu olan C-7 ve C-15 karbonlarına ait sinyaller 71.30 ve 71.31 ppm' lerde gözlenirken karakteristik C-18 karbonuna ait sinyal 63.70 ppm' de gözlenmiştir. Ekzosiklik metilen grubunun karbonları ise kauren iskeleti için karakteristik olarak 107.60 ve 157.80 ppm'lerde gözlenmiştir.

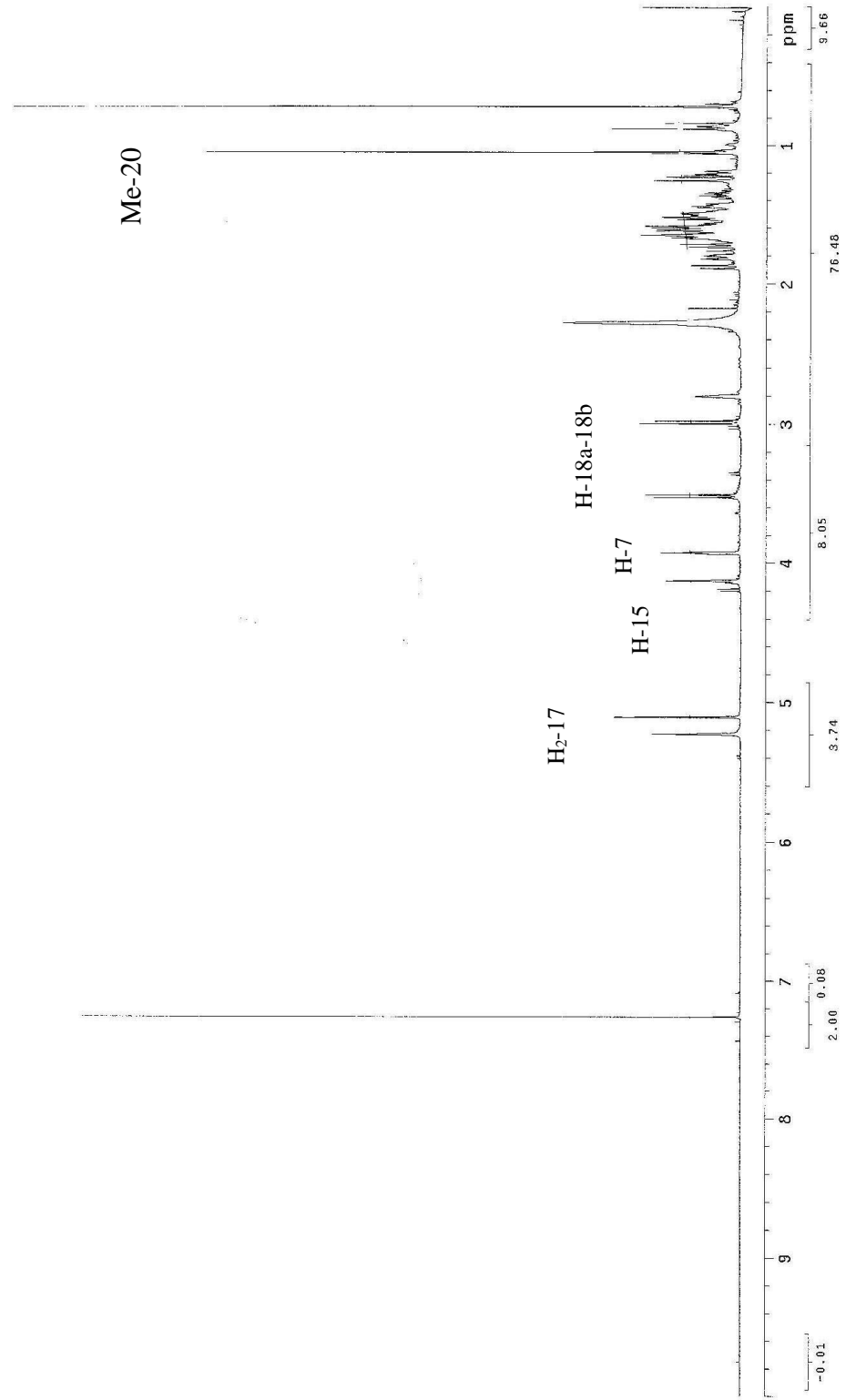
Elde edilen spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapının (*ent-7 α ,15 β ,18* trihidroksikaur-16-en) olarak adlandırılan, daha önce *Sideritis* türü üzerinde yapılan çalışmalarda da izole edilmiş olan **Eubotriol** bileşiği olduğu belirlenmiştir [12, 57, 60, 94, 97].

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 5.10-5.23 (2H, s, H₂-17), 4.12 (1H, s, H-15), 3.92 (1H, t, J=2.5 Hz, H-7), 3.52 (1H, d, J=12 Hz, H-18a), 2.97 (1H, d, J=12 Hz, H-18b), 1.04 (3H, s, Me-20), 0.71 (3H, s, Me-19)

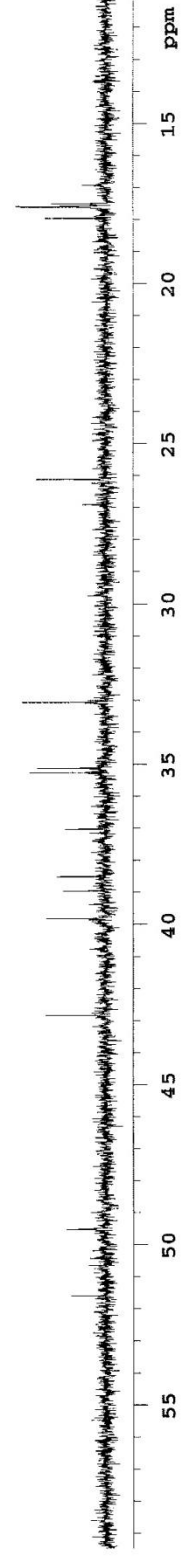
¹³C-NMR (150.82 MHz, CDCl₃): δ 42.79 (C-1), 18.18 (C-2), 35.05 (C-3), 36.95 (C-4), 44.54 (C-5), 26.16 (C-6), 71.30 (C-7), 51.74 (C-8), 44.82 (C-9), 38.50

(C-10), 17.60 (C-11), 27.01 (C-12), 39.90 (C-13), 39.14 (C-14), 71.31 (C-15), 157.80
(C-16), 107.60 (C-17), 63.70 (C-18), 17.00 (C-19), 17.60 (C-20)

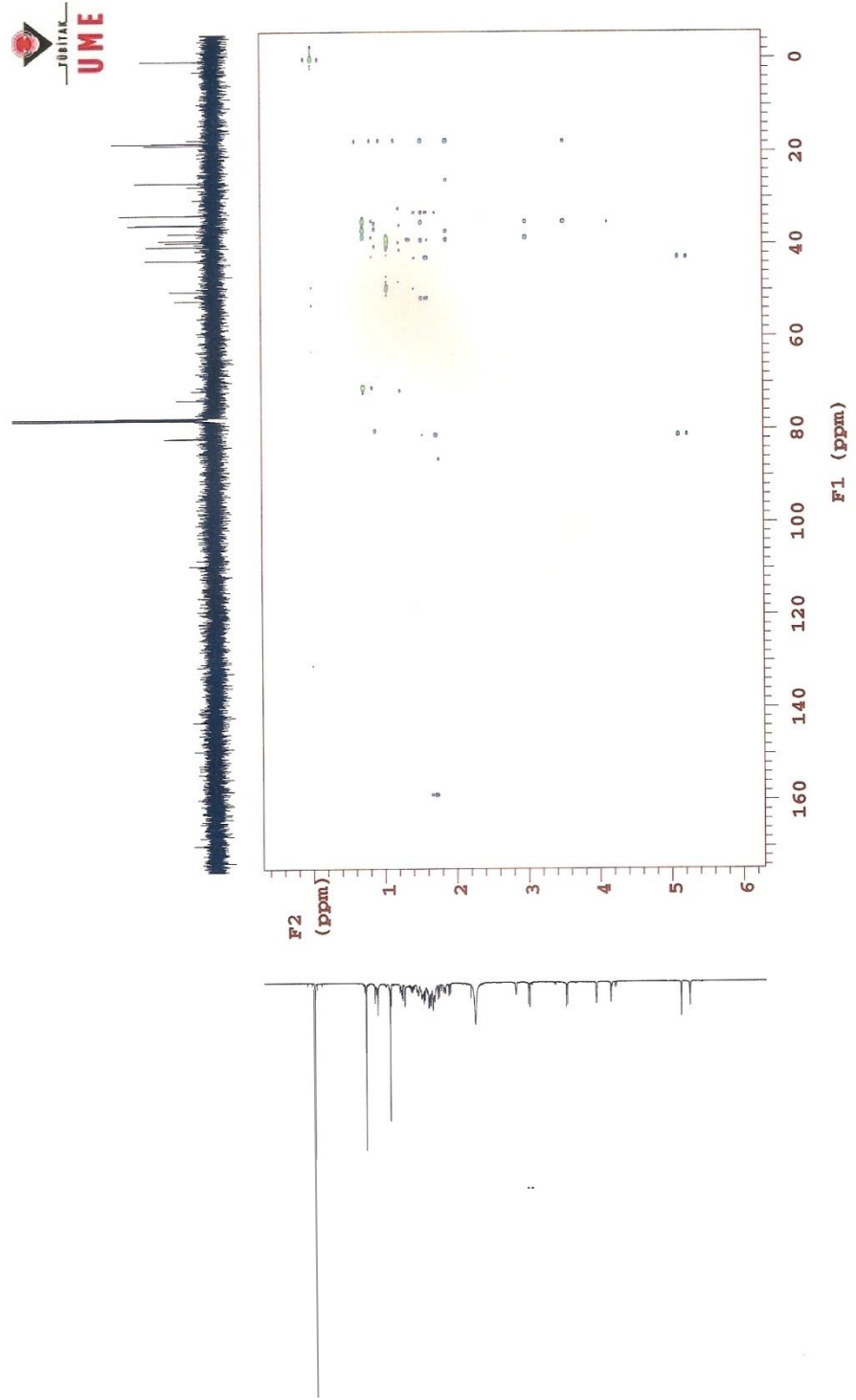
Me-19



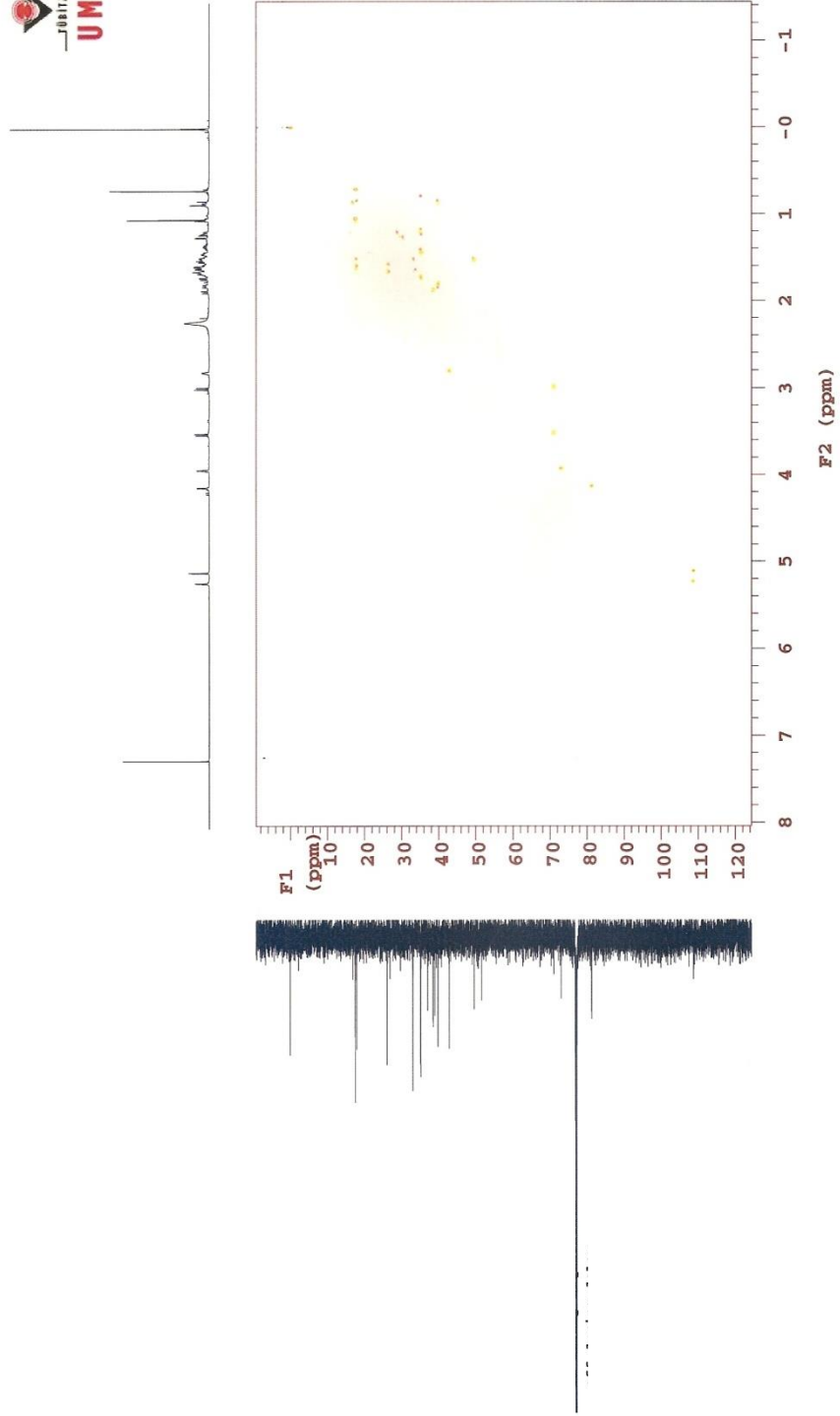
Şekil 3.21: Eubotriol bileşiğinin ¹H NMR spektrumu.



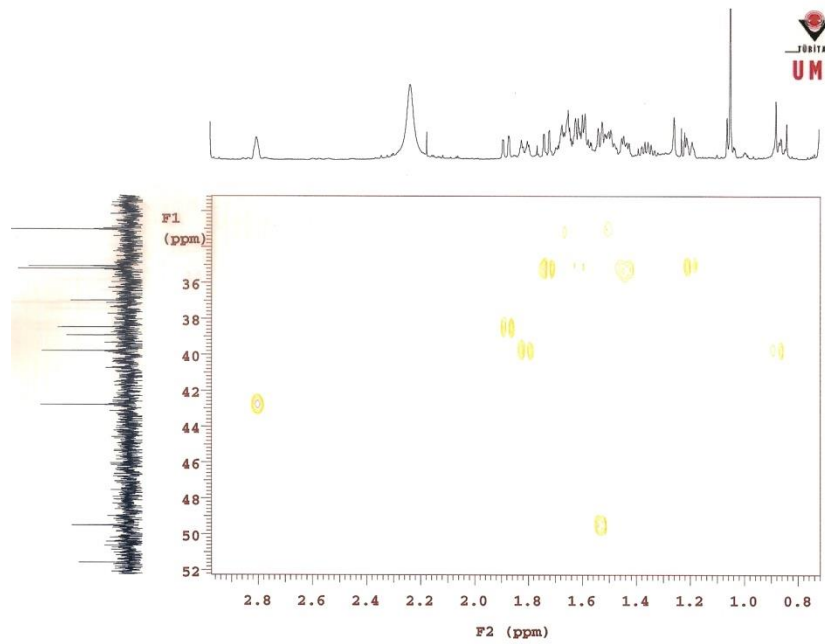
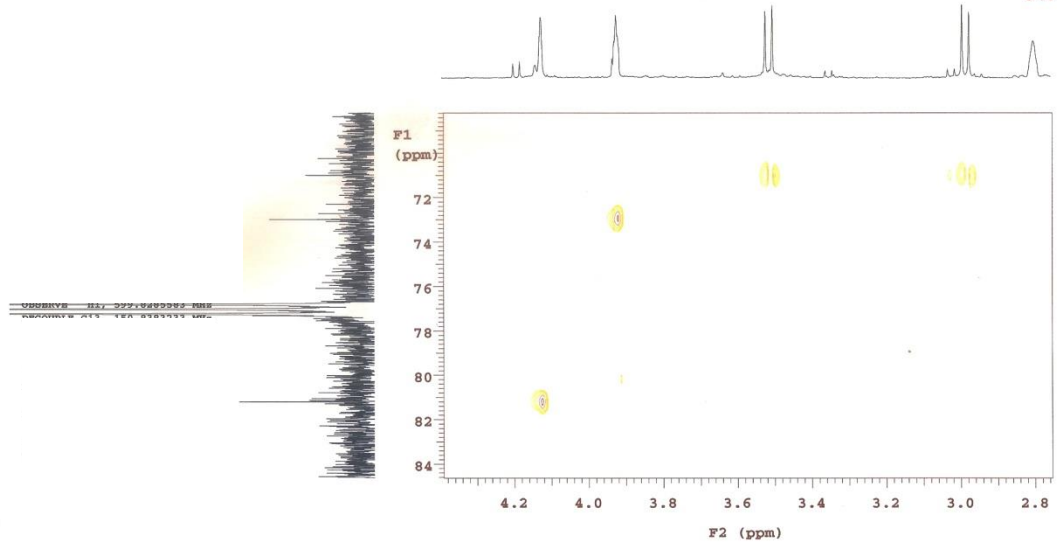
Şekil 3.22: Eubotriol bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu.



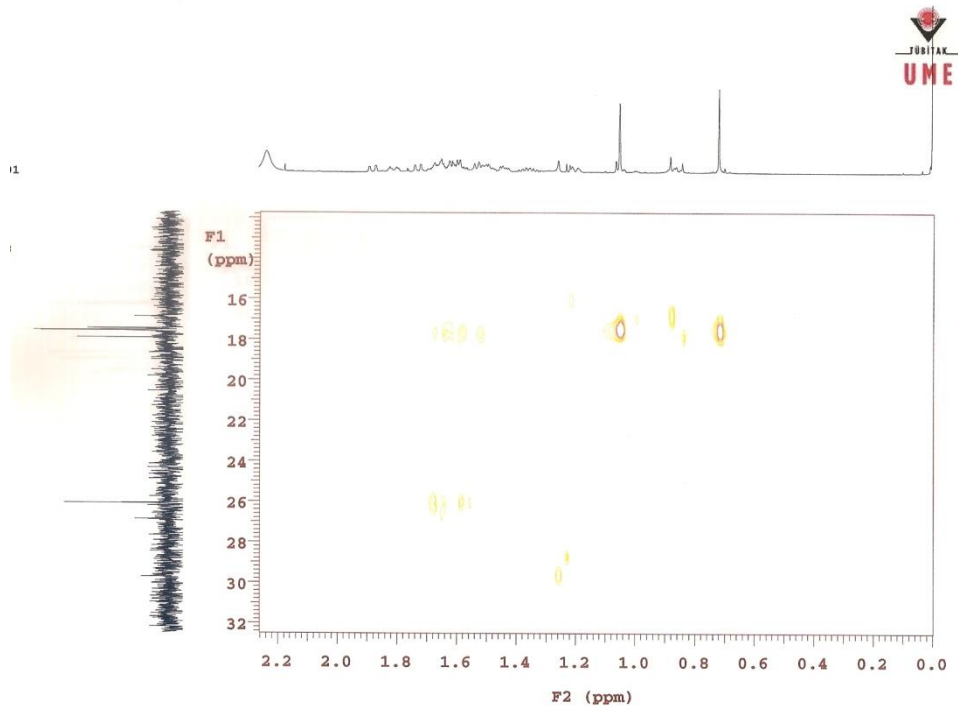
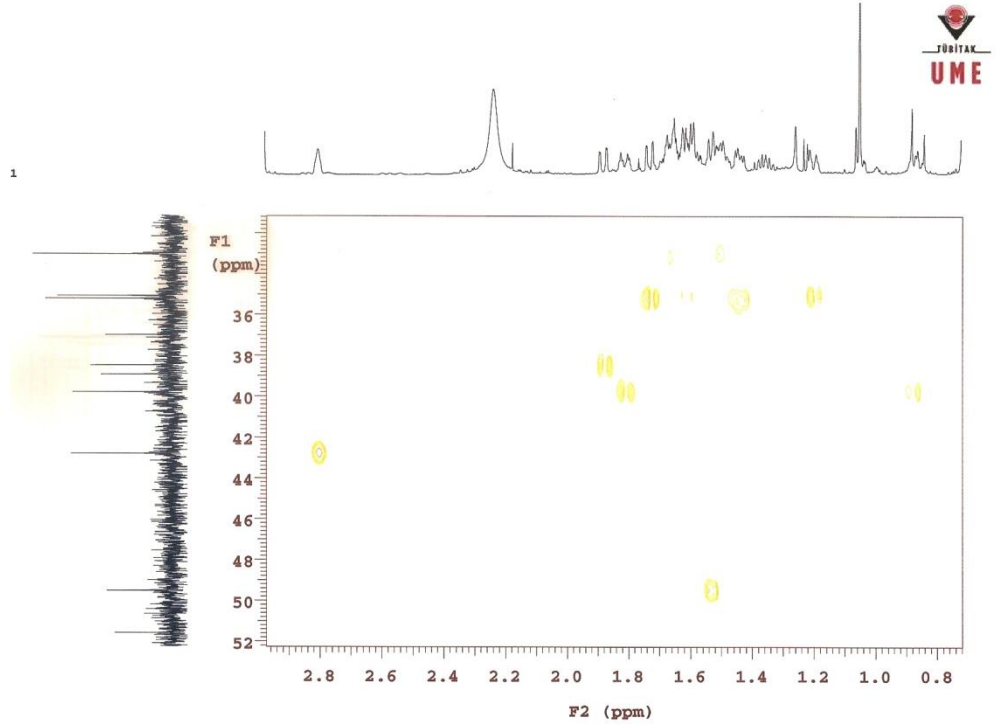
Şekil 3.23: Eubotriol bileşiğinin HMBC spektrumu.



Şekil 3.24: Eubotriol bileşiğinin HMQC spektrumu-1.

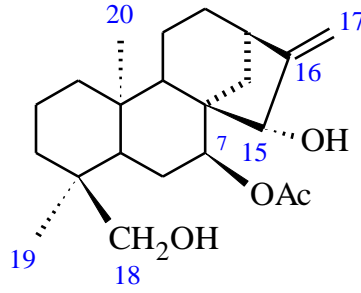


Şekil 3.25: Eubotriol bileşinin HMQC spektrumu-2.



Şekil 3.26: Eubotriol bileşiğinin HMQC spektrumu-3.

3.2.6 Eubol (*ent*-7 α -asetil-15 β ,18-dihidroksikaur-16-en) (6)



Eubol bileşiği *Sideritis bilgerana* bitkisinin hekzan ekstresinden, toplam 2,6 mg elde edilmiştir.

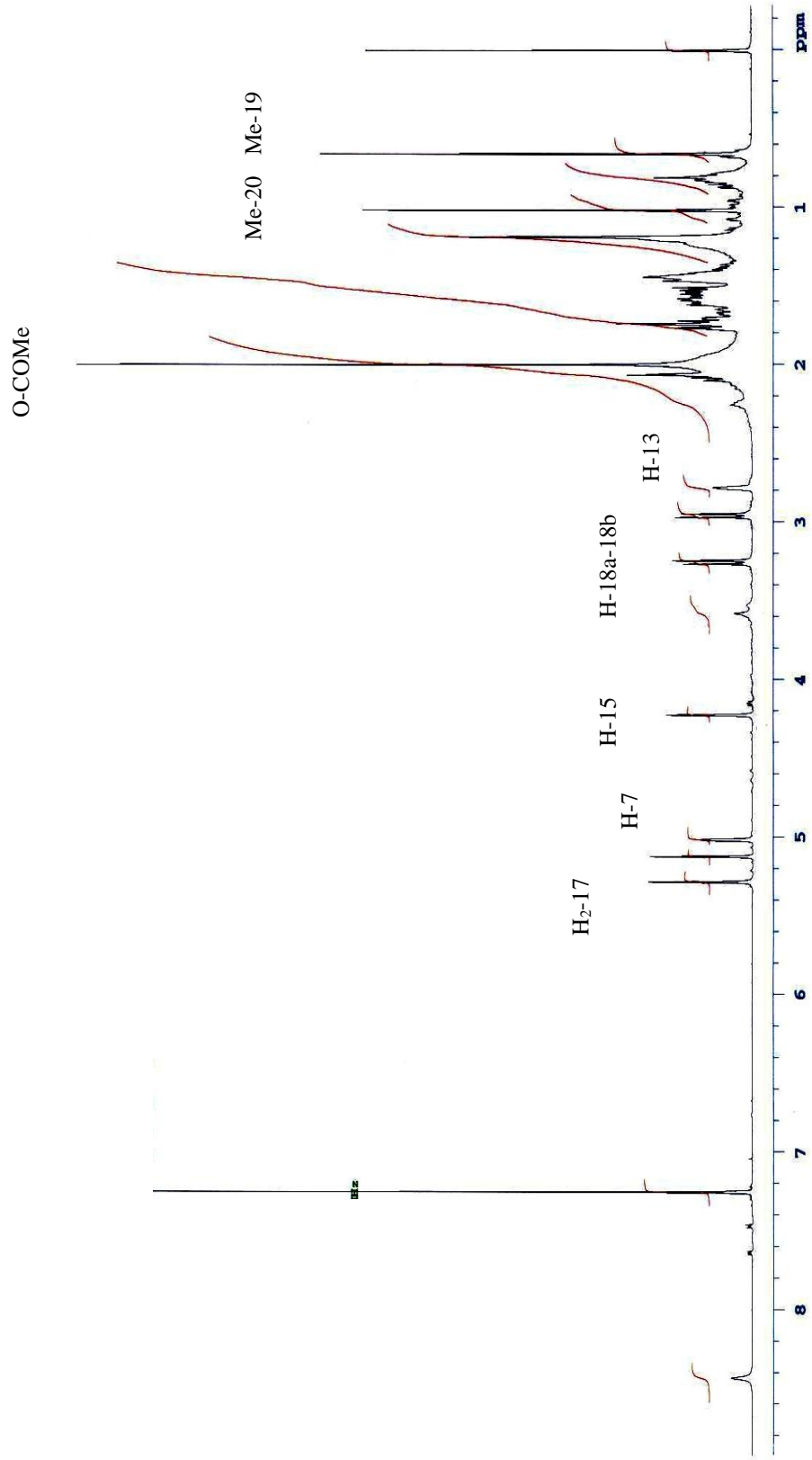
¹H-NMR spektrumunda (Şekil.3.27) iki metil sinyali δ 0.72 ve 1.02' de singletler halinde gözlenmiştir. δ 2.78'de kauren iskeletinin karakteristik H-13 protonu multipler halinde izlenirken δ 2.97 ve 3.25'de izlenen 12 Hz' lik dubletler C-18 hidroksimetilen grubuna ait AB protonları olarak belirlenmiştir. δ 5.01'de izlenen triplet (J=2 Hz) asetile komşu H-7 protonuna işaret etmiştir. δ 4.22'de gözlenen dar triplete benzeyen genişlemiş singlet H-15 protonuna işaret etmiştir. Ekzosiklik çift bağ protonları da δ 5.12 ve 5.28'de singletler halinde izlenmiştir. Bu piklerin H-17 protonlarına ait olduğu belirlenmiştir.

¹³C-NMR'ının APT tekniği ile alındığı spektrumda (Şekil 3.28) 3 metil, 9 metilen, 5 metin, 5 katerner karbon olmak üzere toplam 22 adet karbon piki gözlenmiştir. 71.02 ppm' de izlenen metin karbon sinyali bu karbonun oksijene komşu olan C-7 karbonuna işaret etmiştir. Metil karbonları 18.14 ve 18.72 ppmlerde gözlenirken asetil metili 21.8 ppm' de gözlenmiştir. Hidroksil taşıyan C-18 karbonu ve C-15 karbonu ise 71.21 ve 70.36 ppm'ler de gözlenmiştir. Kauren iskeleti için karakteristik olan ekzosiklik metilen grubunun karbonları ise 110.0 ve 156.13 ppm' de gözlenmiştir.

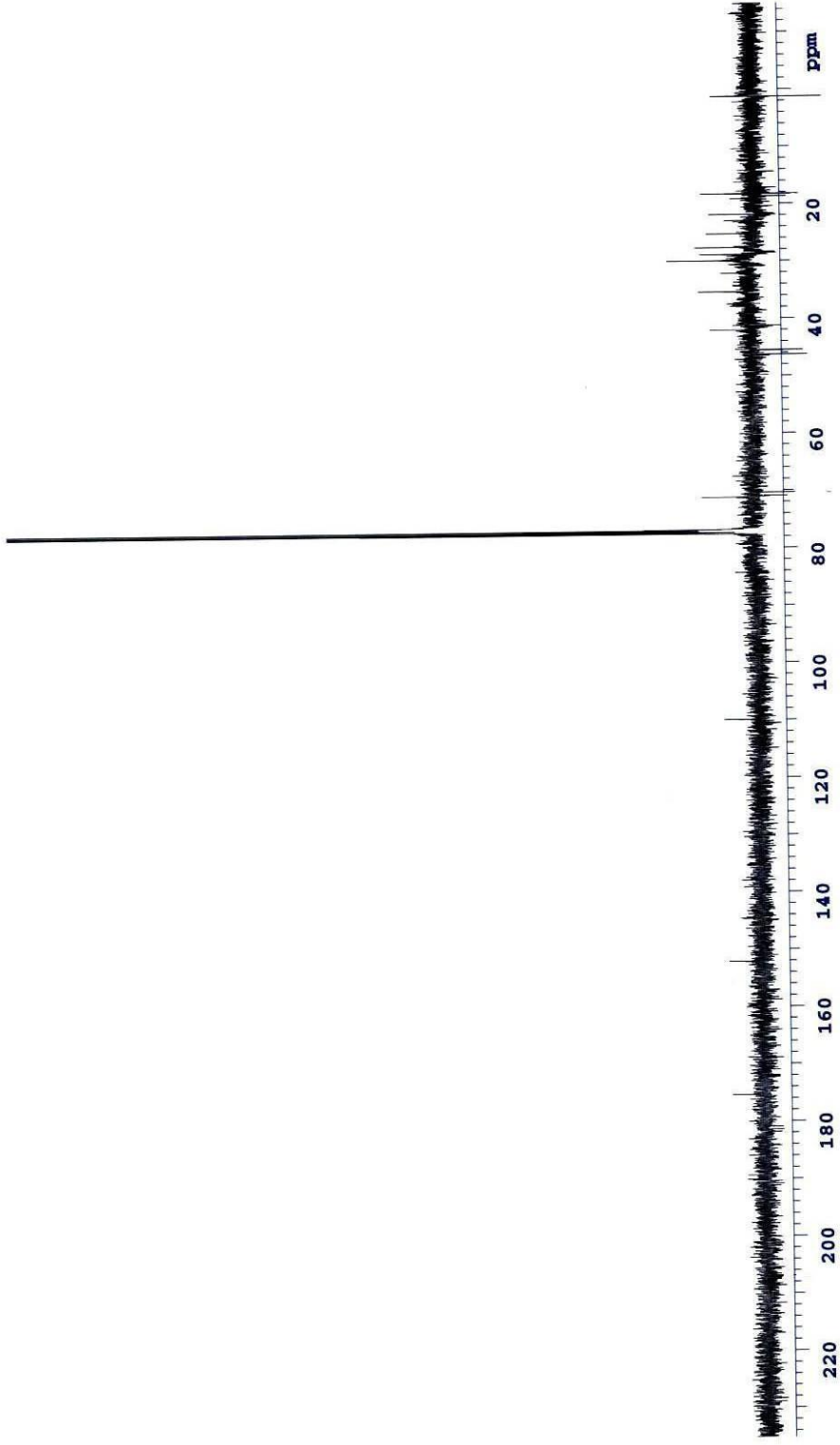
Elde edilen spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapının (*ent*-7 α -asetil-15 β ,18-dihidroksikaur-16-en) olarak adlandırılan, daha önce *Sideritis* türü üzerinde yapılan çalışmalarda da izole edilmiş olan **Eubol** bileşiği olduğu belirlenmiştir [57, 60, 94, 97].

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ 5.12-5.28 (2H, s, H₂-17), 5.01 (1H, t, $J=2$ Hz, H-7), 4.22 (1H, s, H-15), 3.25 (1H, d, $J=12$ Hz, H-18a), 2.97 (1H, d, $J=12$ Hz, H-18b), 2.78 (1H, m, H-13), 2.07 (3H, s, OAc), 1.02 (3H, s, Me-20), 0.72 (3H, s, Me-19)

$^{13}\text{C-NMR}$ (150.82 MHz, CDCl_3): δ 41.02 (C-1), 18.20 (C-2), 35.90 (C-3), 31.80 (C-4), 45.90 (C-5), 23.80 (C-6), 71.02 (C-7), 52.20 (C-8), 46.10 (C-9), 40.75 (C-10), 18.22 (C-11), 24.85 (C-12), 39.15 (C-13), 39.03 (C-14), 70.36 (C-15), 156.13 (C-16), 110.0 (C-17), 71.21 (C-18), 18.72 (C-19), 18.14 (C-20), 21.80 (O-COCH₃), 172.10 (O-COCH₃)

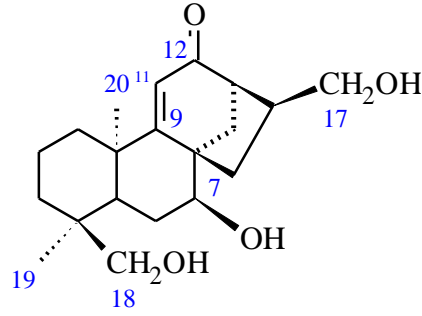


Şekil 3.27: Eubol bileşiğinin ^1H NMR spektrumu.



Şekil 3.28: Eubol bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu.

3.2.7 Athonolon (*ent-7 α -17,18-trihidroksi-9,(11)-en-12-on*) (7)



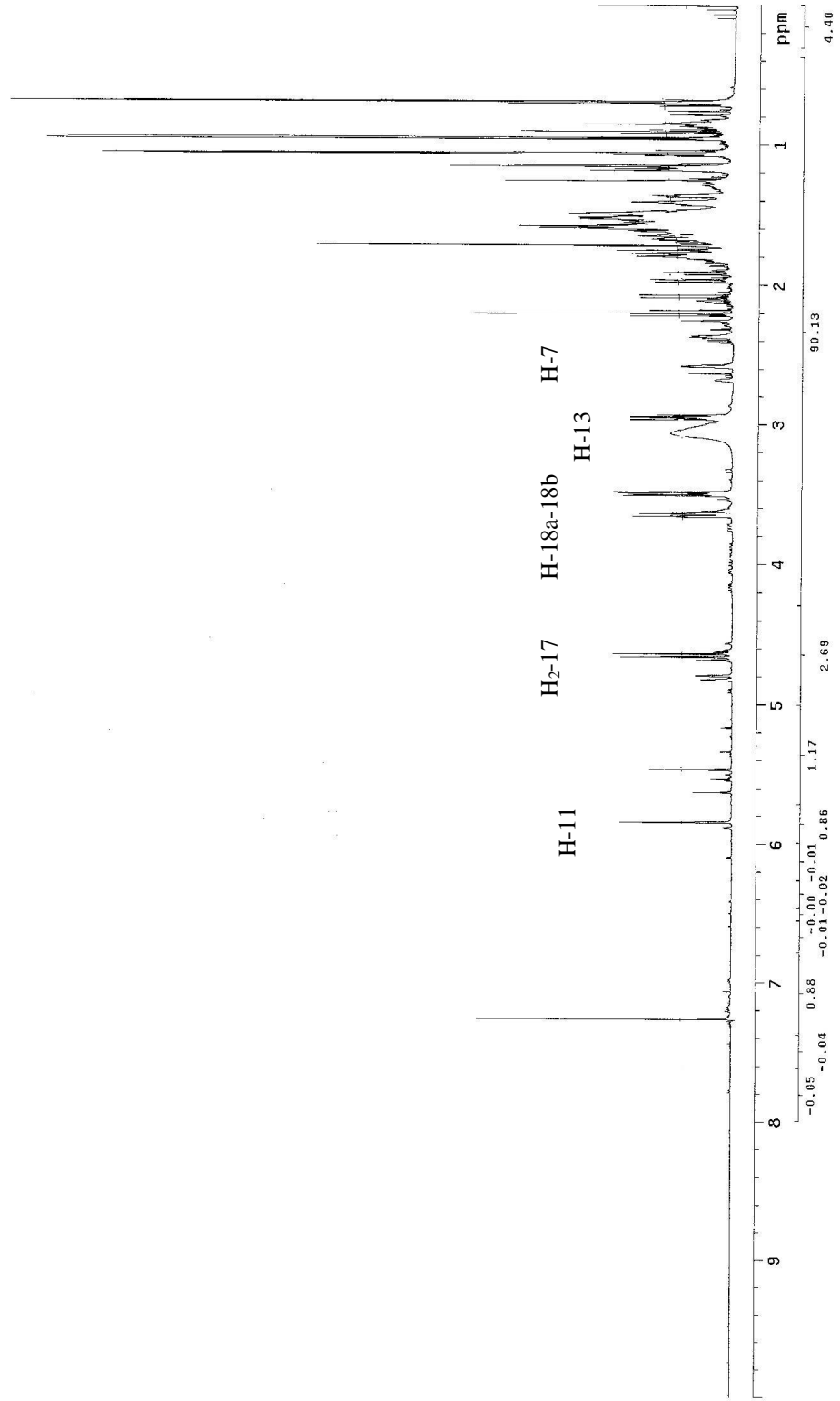
Athonolon bileşiği *Sideritis bilgerana* bitkisinin aseton ekstresinden, toplam 1,2 mg elde edilmiştir.

¹H NMR spektrumunda (şekil 3.29) iki metil sinyali δ 0.69 ppm ve δ 1.06 ppm'de singletler halinde gözlenmiştir. Kauren iskeletinin karakteristik H-13 protonu ise δ 2.57 ppm'de dublet olarak gözlenmiştir. δ 2.96 ve 3.49 de izlenen $J=12$ Hz lik dubletler ise H-18 hidrosimetilen grubuna ait AB protonları olarak belirlenmiştir. δ 3.06 ppm de gözlenen triplet ise bir hidroksil grubuna komşu H-7 protonunun varlığını göstermektedir. δ 4.82 ppm de gözlenen pikin ise H-17 protonlarına ait olduğu düşünölmüştür. Bileşikte karbonil grubuna komşu olefinik protonun varlığı δ 5.85 ppm de singlet halinde gözlenmiştir.

Elde edilen spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapının (*ent-7 α -17,18-trihidroksi-9,(11)-en-12-on*) olarak adlandırılan, daha önce *Sideritis* türü üzerinde yapılan çalışmalarda da izole edilmiş olan **Athonolon** bileşiği olduğu belirlenmiştir [29].

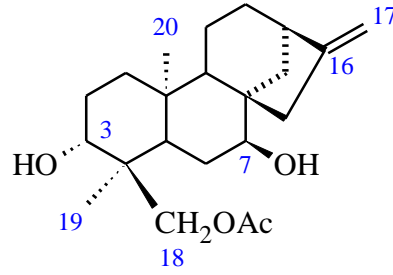
¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 5.85 (1H, s, H-11), 4.82 (2H, s, H₂-17), 3.06 (1H, t, $J=2.5$ Hz, H-7), 3.49 (1H, d, $J=11.5$ Hz, H-18a), 2.96 (1H, d, $J=11.5$ Hz, H-18b), 2.57 (1H, d, H-13), 1.06 (3H, s, Me-20), 0.69 (3H, s, Me-19)

Me-20 Me-19



Şekil 3.29 : Athonolon bileşiğinin ¹H NMR spektrumu.

3.2.8 Linearol (*ent*-3 β -7 α -dihidroksi-18-asetilkaur-16-en) (8)



Linearol bileşiği metanol ekstresinden beyaz iğne kristaller Şeklinde 102 mg izole edildi.

¹H-NMR spektrumunda (Şekil 3.30 ve 3.31) iki metil sinyali δ 0.76 ve 1.06 ppm'de singlet olarak, asetil grubunun metil sinyali δ 2.09 ppm'de yine singlet olarak gözlenmiştir. δ 2.68 ppm'deki multiplet pik H-13 protonuna, δ 4.79 ve 4.82 de genişlemiş singletler halinde gözlenen olenifinik proton çifti ise molekülde ekzosiklik bir çift bağ bulunduğuna işaret etmiştir. Ayrıca oksijene komşu bir metilen protonlarının varlığı δ 4.00 ve 4.04 $J=11.5$ Hz'lik AB sistemi ile belirlenmiştir. δ 3.53 ppm'de dubletin dubleti ve δ 3.61 ppm'de triplet ($J=2.5$ Hz) olarak izlenen protonların oksijene komşu olduğu dŐnlmŐtir. Literatür incelemelerinde δ 3.53 ppm'deki sinyalin H-3 β 'ya, δ 3.61 ppm'deki sinyalin ise H-7 α 'ya ait olduğuna karar verilmiştir.

¹³C-NMR'mın spektrumda δ 11.91 ve 17.93 ppm'de metil karbonları gözlenirken asetile bağlı metil karbonu δ 21.15 ppm, asetil karbonil karbonu ise δ 171.82 ppm'de gözlenmiştir. δ 76.84 ve 72.21 ppm'deki sinyaller, hidroksil taşıyan bir metin karbonlarına işaret ederken asetil grubunun metilen karbonu ise δ 66.00 ppm'de gözlenmiştir. Ekzosiklik metilen karbonu δ 103.55, bunun katerner karbonu ise δ 154.95 de izlenmiştir.

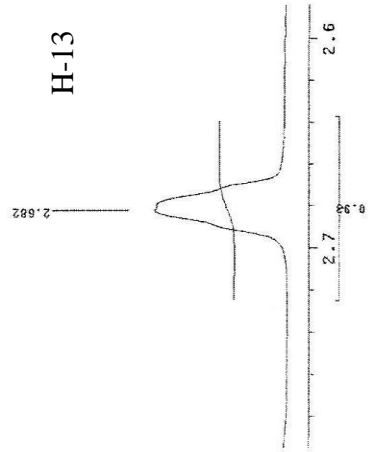
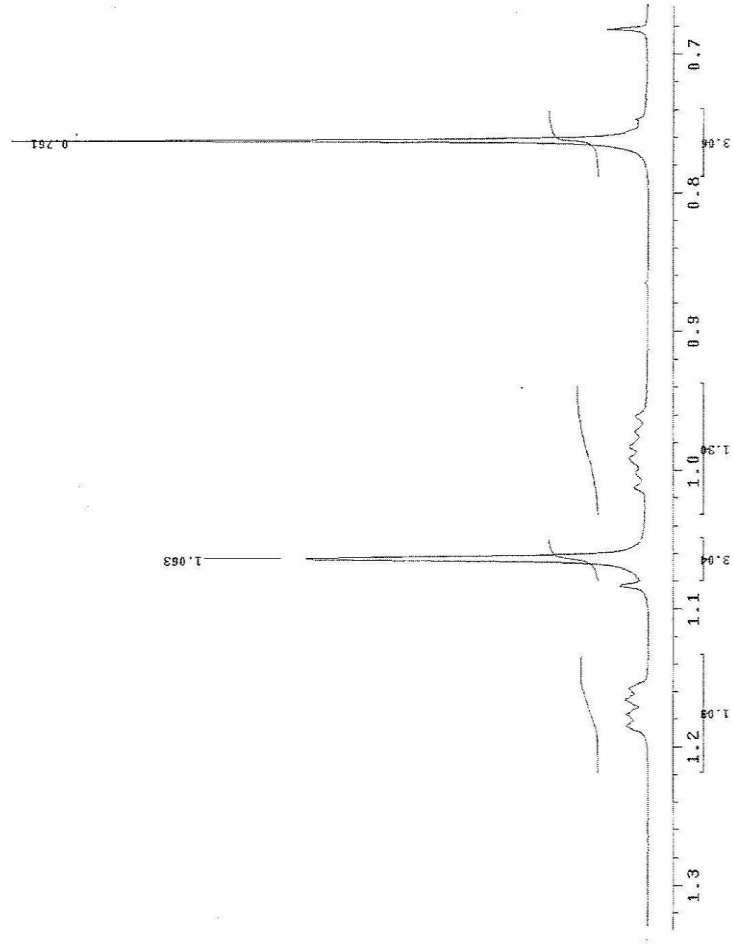
Elde edilen spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapının (*ent*-3 β -7 α -dihidroksi-18-asetilkaur-16-en) olarak adlandırılan, daha önce *Sideritis* türü üzerinde yapılan çalışmalarda da izole edilmiş olan **Linearol** bileşiği olduğu belirlenmiştir [12, 54-57, 94, 97,103, 108].

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ 4.82-4.78 (2H, s, H₂-17), 4.04 (1H, d, $J=11.5$ Hz, H-18a), 4.00 (1H, d, $J=11.5$ Hz, H-18b), 3.61 (1H, t, $J=2.5$ Hz, H-7 α), 3.53 (1H, dd, $J=7.5$ Hz ve 9 Hz, H-3 β) 2.68 (1H, m, H-13), 2.09 (3H, s, O-COCH₃), 1.06 (3H, s, Me-20), 0.76 (3H, s, Me-19)

$^{13}\text{C-NMR}$ (150.82 MHz, CDCl_3): δ 38.01 (C-1), 27.68 (C-2), 72.21 (C-3), 38.81 (C-4), 38.01 (C-5), 27.68 (C-6), 76.84 (C-7), 48.21 (C-8), 50.11 (C-9), 37.90 (C-10), 13.92 (C-11), 32.90 (C-12), 44.11 (C-13), 42.01 (C-14), 44.05 (C-15), 154.95 (C-16), 103.55 (C-17), 66.0 (C-18), 11.91 (C-19), 17.93 (C-20), 21.15 (O-COCH₃), 171.82 (O-COCH₃)

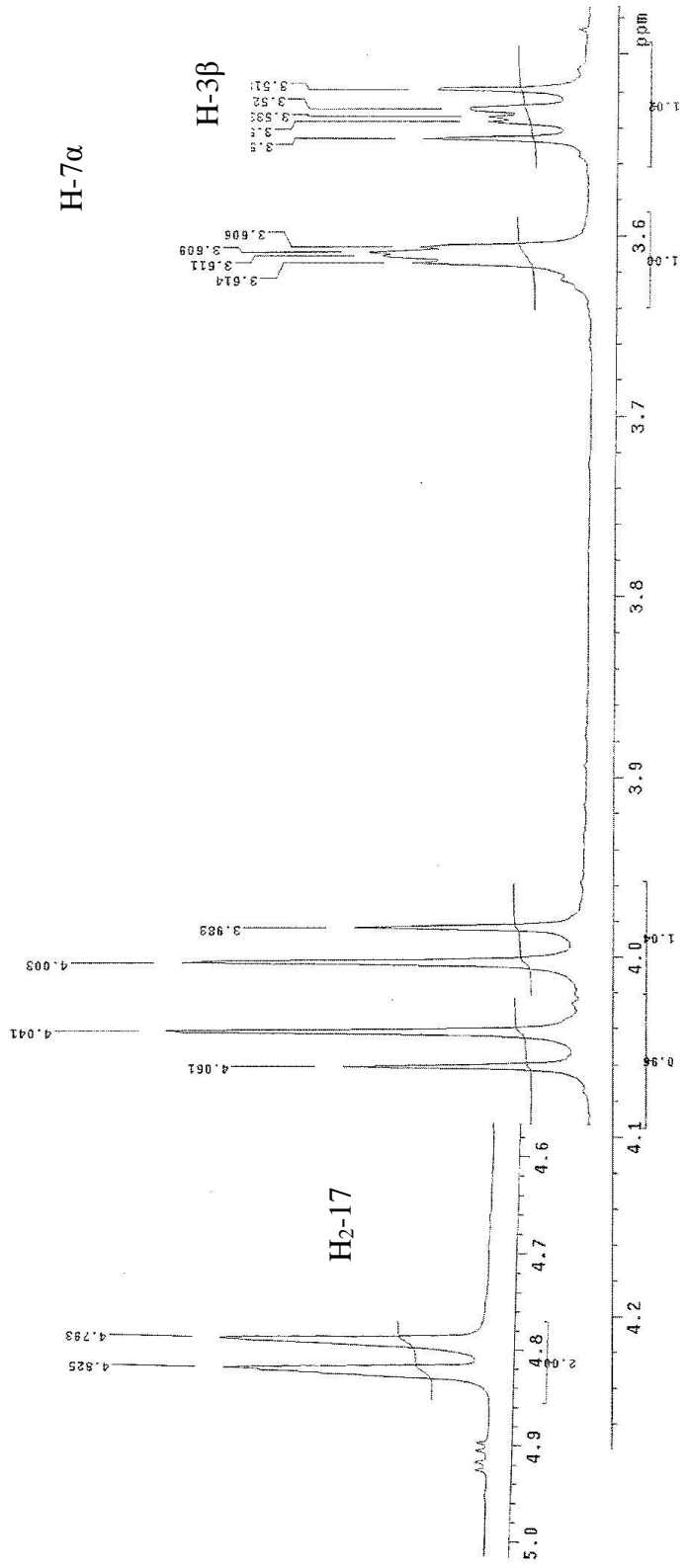
Me-19

Me-20

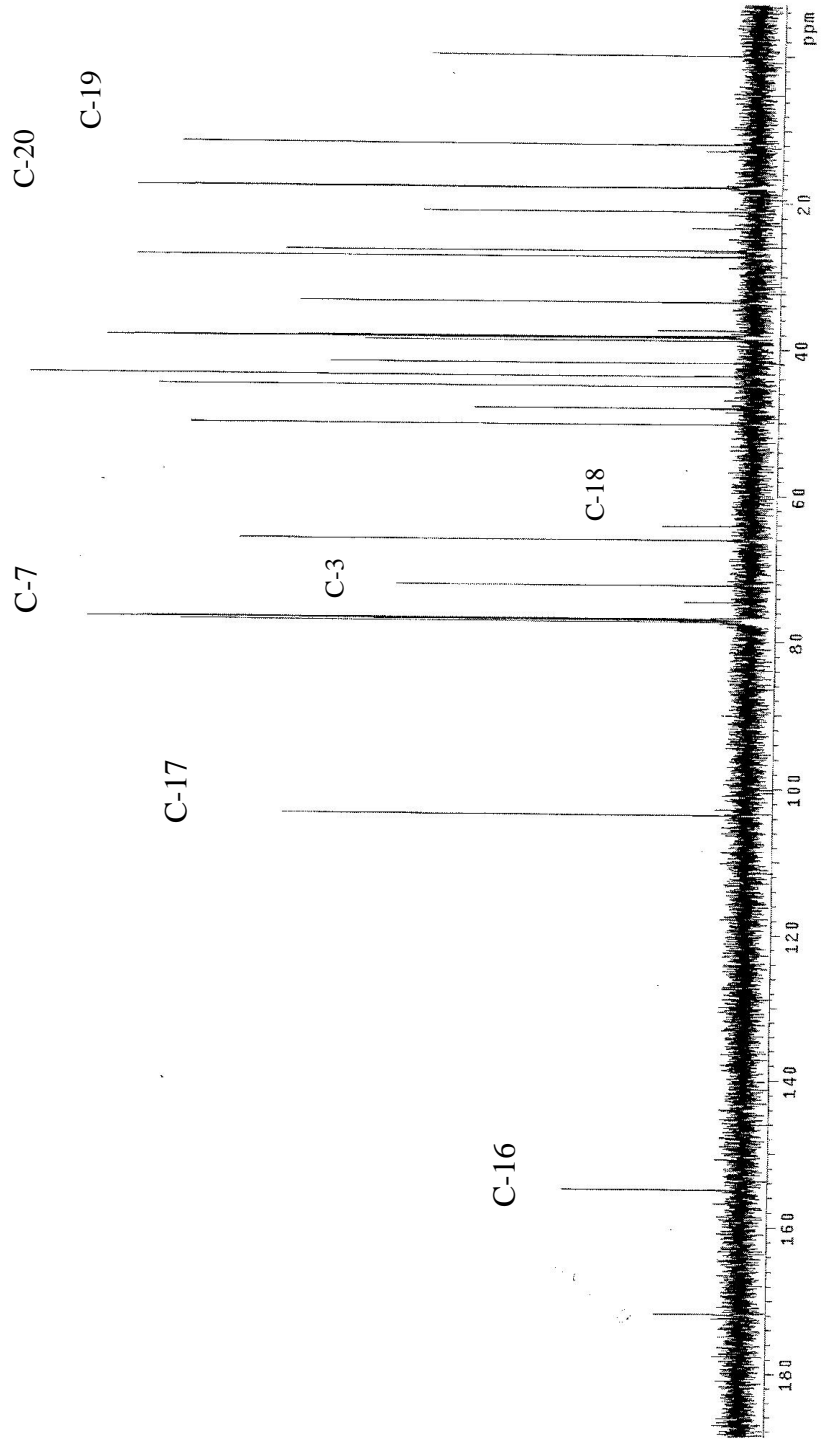


Şekil 3.30: Linearol bileşiğini ¹H NMR spektrumu-1.

H-18a H-18b



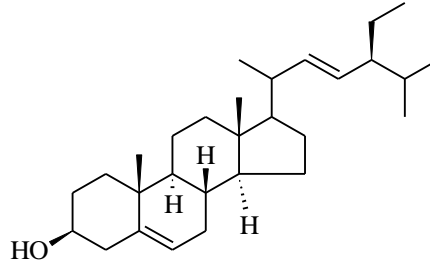
Şekil 3.31: Linearol bileşiğini ¹H NMR spektrumu-2.



Şekil 3.32: Linearol bileşiğini ¹³C NMR spektrumu.

3.3 Diğer Bileşenler

Bitkinin hekzan ekstresinden elde edilen **stigmasterol** ((3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[(E,2R,5S)-5-etil-6-metilhept-3-en-2-il]-10,13-dimetill-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodekahidro-1Hsiklopenta[a]fenantren-3-ol) (9), steroid yapısına sahip bir bileşik olup yapısı Şekil 3.33'de gösterilmiştir.



Şekil 3.33: Stigmasterol.

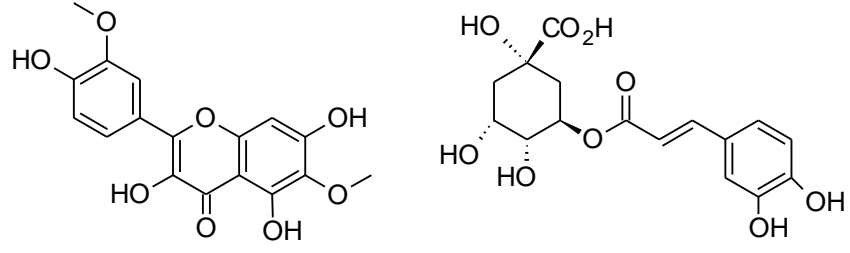
3.4 *Sideritis bilgerana* Bitkisinden Elde Edilen Fenolik Bileşikler

Sideritis bilgerana bitkisinden elde edilen ekstreler LC/MS-MS cihazı ile analiz edildiğinde ; 13 tane fenolik asit (flavonoid olmayan), 8 tane flavonoid, 2 tane de flavonoid glikozidi olmak üzere toplamda 23 bileşik belirlenmiştir. Ekstrelerin içerdiği bileşik grupları ise Tablo 3.3'de gösterilmiştir.

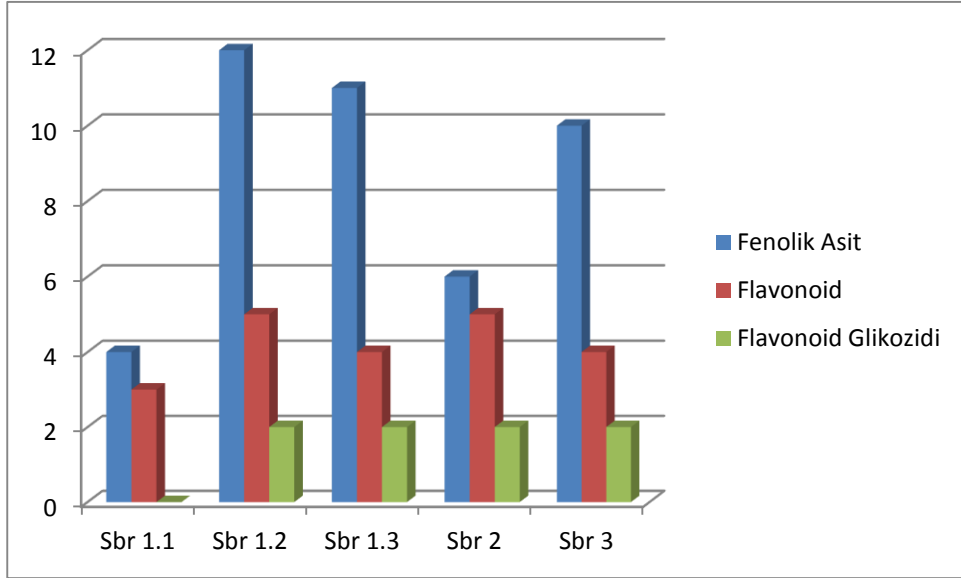
Tablo 3.3: Ekstrelerin içerdiği fenolik bileşik grupları.

Ekstre	Fenolik Asit	Flavonoid	Flavonoid Glikozid	Toplam
Sbr 1.1.	4	3	-	7
Sbr 1.2.	12	5	2	19
Sbr 1.3.	11	4	2	17
Sbr 2.	6	5	2	13
Sbr 3.	10	4	2	16

Hekzan ekstresi (Sbr 1.1.) için yüksek oranda bulunan madde kuersetagetin-3,6-dimetileter (138,17±25,87) mg/kg, hekzan sonrası aseton (Sbr 1.2.), aseton sonrası metanol (Sbr 1.3.) ve doğrudan aseton (Sbr 2.) ile metanol (Sbr 3.) ekstreleri için ise klorojenik asit olup miktarları sırasıyla (1309,84±181,38), (2141,89±296,6), (1132,58±156,83), (1787,33±247,5) mg/kg, 'dır ve yapıları Şekil 3.34' de verilmektedir.



Şekil 3.34: Kuersetagin-3,6-dimetiler ve klorojenik asit.



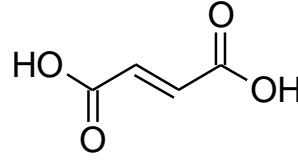
Şekil 3.35: Ekstrelerin fenolik bileşik içerikler.

Tablo 3.4: Ekstrelerin içerdiği fenolik bileşikler.

FENOLİK ASİTLER	Sbr 1.1	Sbr 1.2	Sbr 1.3	Sbr 2	Sbr 3
Gallik asit	4,59±0,32	5,74±0,4	5,35±0,37	5,49±0,38	4,6±0,32
Fumarik asit	-	35,08±2,43	253,56±17,58	38,24±2,65	384,13±26,64
Pirogallol	-	-	15,96±1,06	-	14,26±0,95
Salisilik asit	-	11,4±4,6	7,63±3,08	3,35±1,35	-
p-OH benzoik asit	-	20,7±1,64	21,63±1,72	-	41,11±3,27
Vanilin	5,29±0,48	22,08±2,02	18,37±1,68	-	37,53±3,43
p-kumarik asit	-	3,76±0,58	-	-	-
Kafeik asit	4,7±0,93	35,21±6,97	12,35±2,44	23,27±4,61	12,31±2,44
t-ferulik asit	-	5,51±0,39	54,54±3,81	-	116,93±8,17
Siringik asit	-	6,45±0,43	-	-	-
Klorojenik asit	8,21±1,14	1309,84±181,38	2141,89±296,6	1132,58±156,83	1787,33±247,5
Rosmarinik asit	3,38±0,26	8,59±0,66	19,16±1,47	8,78±0,67	28,3±2,17
Ursolik asit	-	168,08±11,66	73,2±5,08	-	164,11±11,39
FLAVONOİDLER	Sbr 1.1	Sbr 1.2	Sbr 1.3	Sbr 2	Sbr 3
Kamferol	-	10,26±0,72	-	1,63±0,11	-
Salvigenin	9,23±0,63	-	-	-	-
Penduletin	58,37±5,92	454,15±46,04	26,97±2,73	347,32±35,21	105,78±10,72
Kuersitrin	-	-	20,98±1,34	-	-
İzorhamnetin	-	8,57±0,76	-	4,68±0,41	-
Kuersetagetin-3,6-dimetileter	138,17±25,8	192,86±36,11	52,25±9,78	61,82±11,58	42,86±8,02
Izokuersetin	7	5,35±1,54	5,53±1,59	4,19±1,2	3,04±0,87
Pelargonin klorür	-	-	-	-	110,81±7,35
FLAVONOİD GLİKOZİDLERİ	Sbr 1.1	Sbr 1.2	Sbr 1.3	Sbr 2	Sbr 3
Luteolin-7-glukozid	-	30,37±3,09	17,2±1,75	25,17±2,56	13,92±1,42
Luteolin-5-glukozid	-	10,46±0,67	1,97±0,13	5,91±0,38	3,65±0,23

Bitkiden infüzyon ve dekoksasyon yöntemi ile elde edilen su ekstraları de LC/MS-MS cihazı ile analiz edildiğinde toplamda belirlenen 6 bileşiğin; infüzyon yöntemi için 3 tane fenolik asit, 1 tane flavonoid, dekoksasyon yöntemi için ise 5 tane fenolik asit olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.5).

En yüksek oranda bulunan maddelerin iki ekstre için de fumarik asit'tir (Şekil 3.36)ve miktarlarının sırasıyla 39,75±2,76 ve 554,65±38,46 mg/kg olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.36: Fumarik asit.

Tablo 3.5: Su ekstralarının içerdiği fenolik bileşikler.

BİLEŞİKLER	İNFÜZYON	DEKOKSİYON
Pelargonin klorür	5,2±0,53	-
Fumarik asit	39,75±2,76	554,65±38,46
Kafeik asit	9,96±1,97	10,54±2,09
t-ferulik asit	-	12,12±0,85
Siringik asit	-	10,64±0,72
Klorojenik asit	17,56±2,43	16,47±2,28

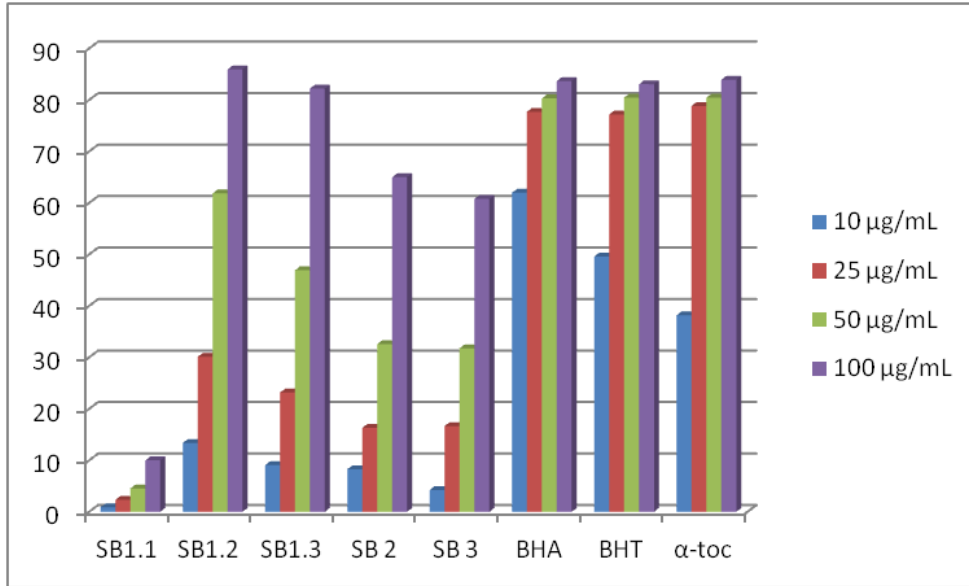
3.5 Biyolojik Aktivite Sonuçları

3.5.1 DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları

Ham ekstraların DPPH serbest radikali giderim aktivitesi dört farklı konsantrasyonda (10, 25, 50, 100 µg/mL) tayin edilmiştir. Standart olarak kullanılan BHT (Bütillenmiş hidroksi toluen), BHA (Bütillenmiş hidroksi anisol) ve α -toc'e (α -tokoferol) göre aktivite karşılaştırmaları yapılmıştır. Ekstrelerin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi % inhibisyon olarak Tablo 3.6'da verilmiştir.

Tablo 3.6: Ekstrelerin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi sonuçları (% İnhibisyon).

	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL
SB1.1	0,85±0,06	2,31±0,66	4,54±0,64	9,99±0,91
SB1.2	13,36±0,36	30,09±0,63	61,85±0,52	85,93±0,07
SB1.3	9,05±0,43	23,15±0,27	46,91±0,39	82,19±0,34
SB 2	8,25±0,55	16,30±0,51	32,55±0,08	64,98±0,96
SB 3	4,22±0,42	16,64±0,63	31,76±0,80	60,76±0,02
BHA	61,95±0,58	77,68±0,70	80,29±0,38	83,66±0,30
BHT	49,57±0,63	77,16±0,83	80,45±0,60	83,05±0,24
α-toc	38,15±0,32	78,81±0,53	80,43±0,16	83,92±0,23



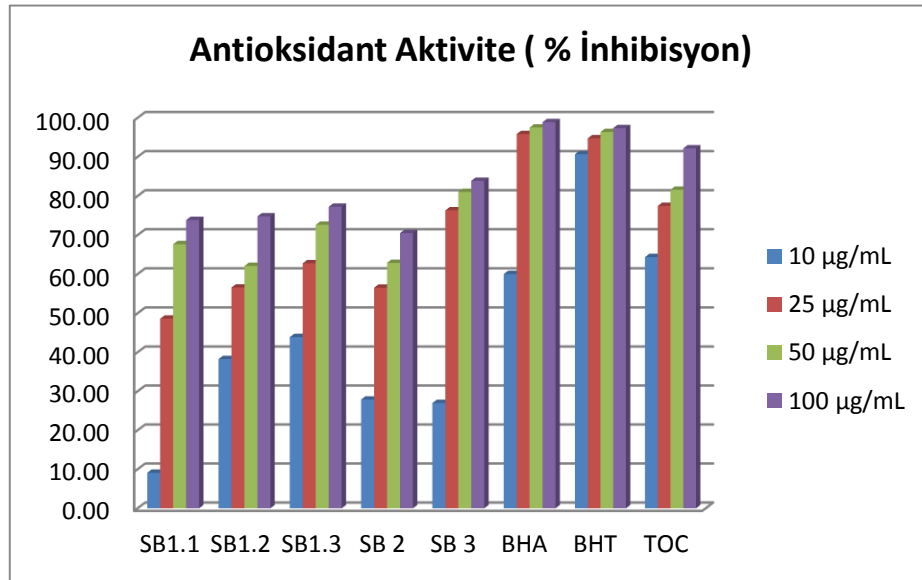
Şekil 3.37: Ekstrelerin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi sonuçları (% İnhibisyon).

3.5.2 β-Karoten Renk Açılım Yöntemi Sonuçları

Ham ekstrelerin toplam antioksidan aktiviteleri β-karoten renk açılım yöntemine göre dört farklı konsantrasyonda (10, 25, 50, 100 µg/mL) yapılmıştır. Antioksidan aktivite karşılaştırmalarında standart olarak BHT, BHA, α-toc kullanılmıştır. Sonuçlar ise Tablo 3.7’de gösterilmiştir.

Tablo 3.7: Ekstrelerin lipid peroksidasyon % inhibisyon sonuçları.

Ekstrelerin Lipid Peroksidasyon % İnhibisyon Sonuçları				
	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/MI
Sb 1.1	9,13±0,69	48,62±0,95	67,68±1,00	73,87±0,48
Sb 1.2	38,28±0,32	56,58±0,58	62,11±0,40	74,79±0,39
Sb 1.3	43,90±0,26	62,80±0,98	72,63±0,71	77,26±0,43
Sb 2	27,02±0,41	56,54±0,75	62,89±0,77	70,51±0,38
Sb 3	60,04±0,93	76,35±0,85	81,06±0,69	83,89±0,42
BHA	93,84±0,38	95,86±0,33	97,54±0,11	98,90±0,69
BTH	90,70±0,37	94,78±0,31	96,38±0,32	97,37±0,16
α-Toc	64,38±0,29	77,47±0,91	81,60±0,25	92,21±0,13



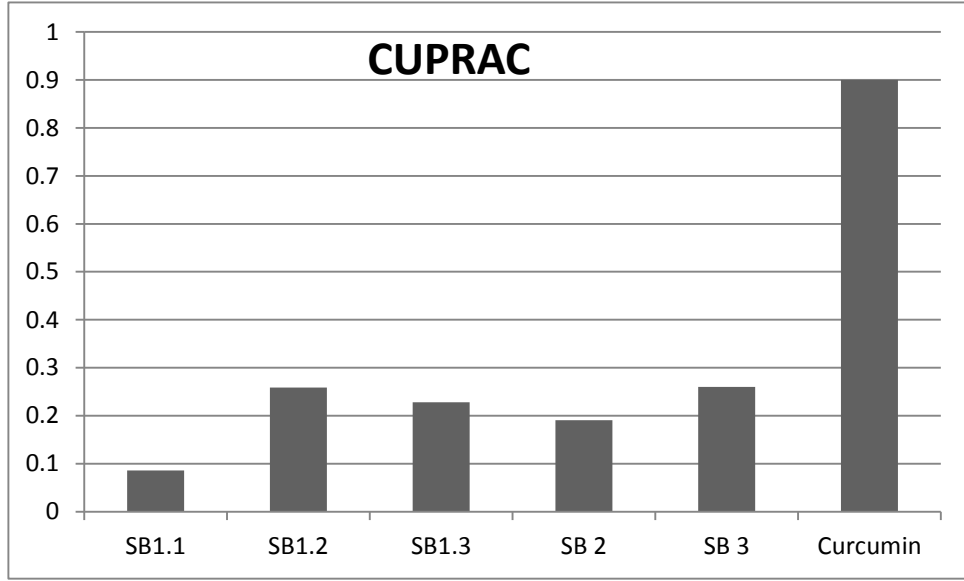
Şekil 3.38: Ekstrelerinin lipid peroksidasyon % inhibisyonu.

3.5.3 Cu⁺² İndirgeme Kapasitesi (CUPRAC) Sonuçları

Ham ekstrelerin antioksidan aktiviteleri Cu⁺² indirgeme kapasitesi yöntemine göre yapıp karşılaştırmalarında standart olarak kurkumin kullanılmıştır. Sonuçlar ise Tablo 3.8'de verilmiştir.

Tablo 3.8: Ekstrelerin Cu⁺² indirgeme kapasitesi (CUPRAC) sonuçları.

Ekstre	TEAC _{CUPRAC}
SB1.1	0,086±0,009
SB1.2	0,259±0,016
SB1.3	0,228±0,018
SB 2	0,191±0,052
SB 3	0,26±0,015



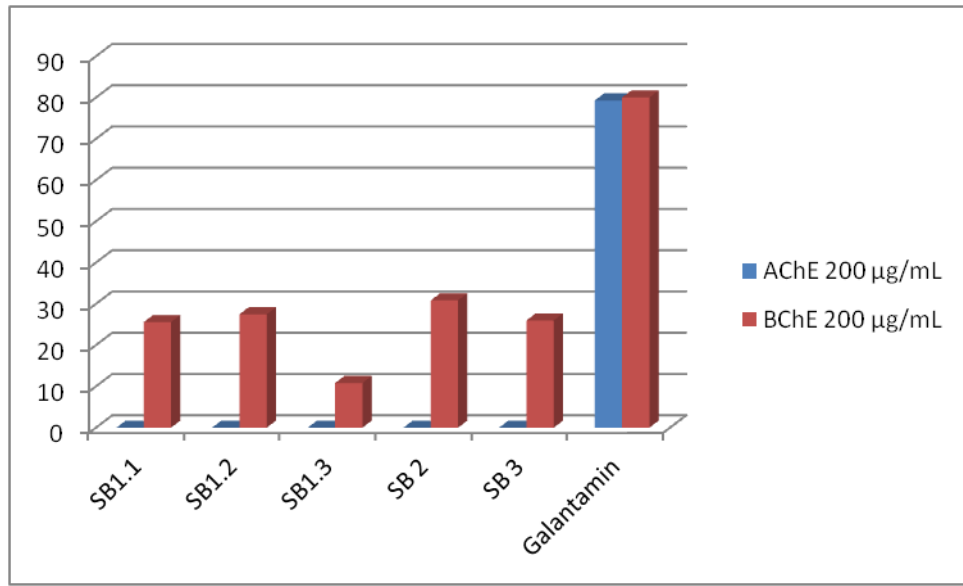
Şekil 3.39: Ekstrelerin Cu⁺² indirgeme kapasitesi (CUPRAC) sonuçları.

3.5.4 Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları

Ham ekstrelerin AChE ve BChE % inhibisyon değerleri 200 µg/mL derişimde ölçülmüş ve standart olarak Galantamin bileşığı kullanılmıştır. AChE % İnhibisyon değerleri ve BChE % İnhibisyon değerleri Tablo 3.9’da verilmiştir.

Tablo 3.9: Ekstrelerin antikolinesteraz AChE ve BChE aktivite sonuçları (% İnhibisyon).

	AChE 200µg/mL	BChE 200µg/mL
SB1.1	-	25,59±0,89
SB1.2	-	27,48±0,14
SB1.3	-	10,83±0,97
SB 2	-	30,84±0,74
SB 3	-	25,99±1,46
Galantamin	79,30±0,23	80,02±0,38



Şekil 3.40: Ekstrelerin antikolinesteraz AChE ve BChE aktivite sonuçları (% İnhibisyon).

3.5.5 Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Ham ekstrelerin antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için *Escherichia coli* DSMZ1103, *Staphylococcus aureus* DSMZ1104, *Candida albicans* DSMZ1386, *Mycobacterium smegmatis* ATCC14468 kullanılmıştır. Ancak ekstrelerde herhangi bir antimikrobiyal aktivite saptanmamıştır.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

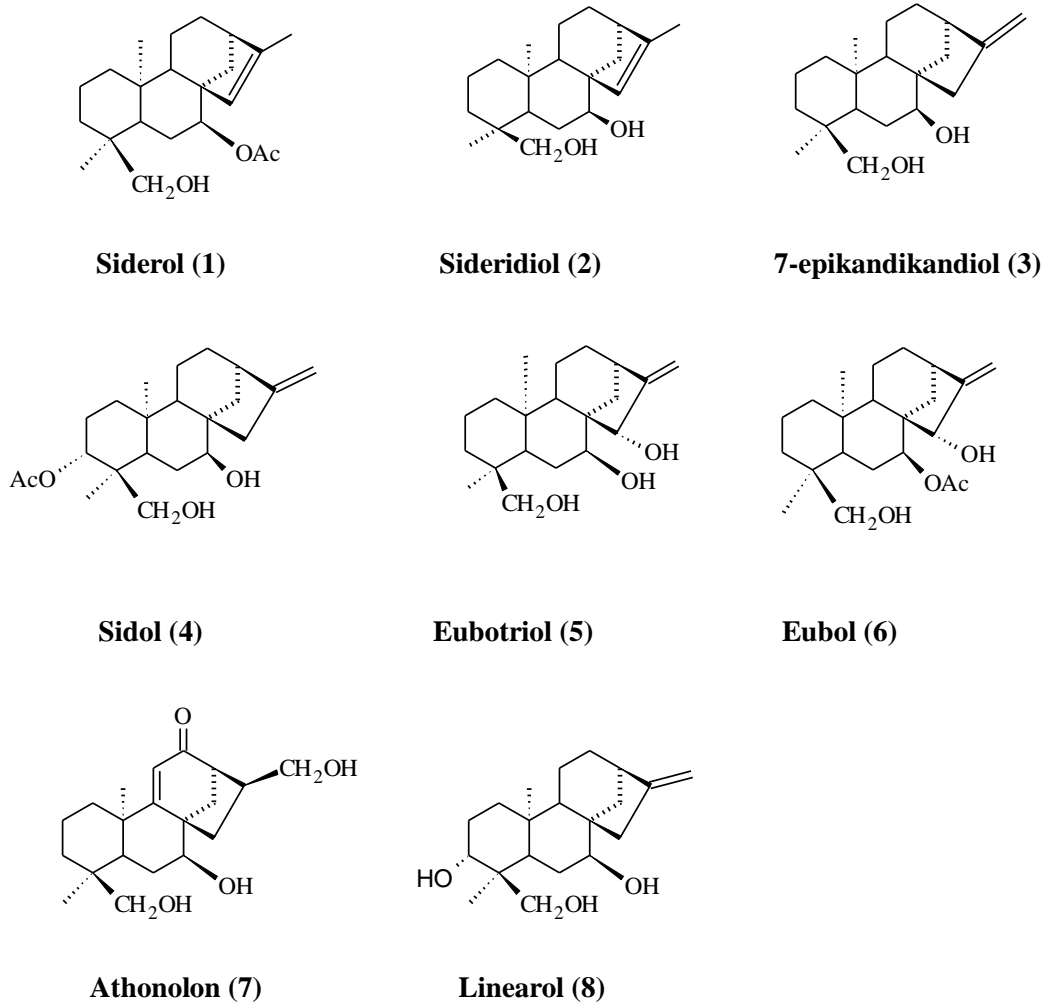
Labiatae familyasına ait üyelerden bir tanesi olan ve halk arasında yaygın kullanıma sahip olan *Sideritis* türleri “dağ çayı” veya “yayla çayı” isimleriyle bilinir. Türkiye’de yetişen bitkiler arasında %78 gibi bir oranla en yüksek endemizmeye sahip olan bu cins 46 tür, 12 alt tür ve 2 varyete ile temsil edilir [4,6,7,24]. Bu çalışmada ise Türkiye için endemik bir tür olan *Sideritis bilgerana* P. H. Davis bitkisi fitokimyasal açıdan incelenmiştir.

İlk olarak çiçeklenme döneminde toplanıp kurutulan bitkinin toprak üstü kısımlarından, Klevenger aparatı bulunduran su buharı destilasyonu düzeneğiyle uçucu yağ elde edilmiştir. Uçucu yağın GC/MS ile yapılan analizlerinde en yüksek oranda bulunan üç bileşiğin α -kadinol (%28.5), α -kadinen (%11.0), undekan (%8.5) olduğu belirlenmiştir (bkz. Şekil 3.2).

Bitkide bulunan terpenik maddelerin belirlenmesi amacıyla gölgede kurutulan bitkiler öğütülüp toz haline getirilmiş, ardından önce hekzan, sonra sırasıyla aseton ve metanol ekstraktları hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstraktlar kuruluğa kadar yoğunlaştırılarak ham ekstraktlar elde edilmiştir. Ham ekstraktlar, miktarlarına göre seçilen kolon kullanılarak kolon kromatografisi yardımıyla fraksiyonlandırılmıştır. Bu fraksiyonlar hazır silika kaplı alümina plaklar yardımıyla kontrol edilmiş, benzer fraksiyonlar birleştirilerek miktarına göre tekrar kolon kromatografisi ya da preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemiyle saflaştırılmıştır. İzole edilen saf maddelerin yapıları NMR spektroskopisi ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, APT, COSY, HMBC, HMQC) yardımıyla aydınlatılmıştır. Analizler sonucunda izole edilen bileşiklerin yapılarının: Siderol (*ent-7 α -asetil-18-hidroksikaur-15-en*) (**1**), Sideridiol (*ent-7 α ,18-dihidroksikaur-15-en*) (**2**), 7-epikandikandiol (*ent-7 α ,18-dihidroksikaur-16-en*) (**3**), Sidol (*ent-3 β -asetil-7 α ,18-dihidroksikaur-16-en*) (**4**), Eubotriol (*ent-7 α ,15 β ,18-trihidroksikaur-16-en*) (**5**), Eubol (*ent-7 α -asetil-15 β ,18-dihidroksikaur-16-en*) (**6**), Athonolon (*ent-7 α ,17,18-trihidroksi-9,(11)-en-12-on*) (**7**) ve Linearol (*ent-3 β -7 α -dihidroksi-18-asetilkaur-16-en*) (**8**) olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1). Ayrıca steroid yapıda olan bileşiğin Stigmasterol ((3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[(E,2R,5S)-5-

etil-6-metillhept-3-en-2-il]-10,13-dimetill-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodekahidro-1Hsikklopenta[a]fenantren-3-ol) (9) (bkz. Şekil 3.33) olduğu belirlenmiştir.

Akdeniz bölgesinde geniş yayılım gösteren *Sideritis* cinsine ait bitkilerden Batı Akdeniz bölgesinde yetişenleri kauren diterpenlerin yanı sıra labdan, atisen, beyeren ve trakiloban diterpenler [34, 39, 151] de içermelerine rağmen merkezi ve Doğu Akdeniz (İtalya, Yunanistan ve Türkiye) bölgesinde yetişen bitkilerden daha çok ent-kauren diterpenler [152-155] elde edilmektedir. Yapılan bu çalışma sonucunda da sadece ent-kauren diterpenlerin elde edilmesi bu görüşü desteklemektedir.



Şekil 4.1: *S. bilgerana*'dan elde edilen diterpen bileşikleri.

Bitki içerisinde bulunan fenolik bileşiklerin belirlenmesi amacıyla 100 g bitkiden maserasyon yöntemi ile sırasıyla hekzan (Sbr 1.1), hekzan sonrası aseton (Sbr 1.2), aseton sonrası metanol (Sbr 1.3) ile doğrudan aseton (Sbr 2) ve doğrudan metanol (Sbr 3) ekstraller elde edilmiştir. LC/MS-MS ile gerçekleştirilen analizlerde hekzan ekstresi (Sbr 1.1) için yüksek oranda bulunan madde kuersetagetin-3,6-dimetileter, hekzan sonrası aseton (Sbr 1.2), aseton sonrası metanol (Sbr 1.3) ve doğrudan aseton (Sbr 2) ile metanol ekstralleri (Sbr 3) için ise klorojenik asit olduğu belirlenmiştir (bkz. Şekil 3.34).

İnfüzyon ve dekoksasyon yöntemiyle elde edilen su ekstrallerinin yine LC/MS-MS ile yapılan analizlerinde ise yüksek oranda bulunan maddelerin iki ekstre için de fumarik asit olduğu belirlenmiştir (bkz. Şekil 3.36).

Bitkilerin toprak üstü kısımlarında hazırlanan hekzan, hekzan sonrası aseton, aseton sonrası metanol ekstralleri ve doğrudan aseton, doğrudan metanol ekstralleri için DPPH serbest radikal giderim aktivitesi, lipid peroksidasyon inhibisyonu, Cu^{+2} indirgeme kapasitesi (CUPRAC), antimikrobiyal aktivite ve antikolinesteraz aktiviteleri incelenmiştir.

Fenolik bileşik içeren ekstraller yüksek oranda antioksidan kapasitesine sahiptirler. Bu da fenolik bileşiklerin radikalleri yok etme özelliklerinden kaynaklanmaktadır [124-126].

Bitkinin apolar olan hekzan ekstresi DPPH ve CUPRAC yöntemine göre hemen hemen hiç aktivite göstermezken, β -karoten renk açılım yöntemine özellikle 100 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonunda iyi aktivite göstermiştir. Hekzan sonrasında hazırlanan aseton ve metanol ekstralleri DPPH ve CUPRAC yöntemine göre de en yüksek aktiviteye sahiptir. Özellikle DPPH yöntemine göre aseton ekstresi 100 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda standart olarak kullanılan bileşikler kadar aktivite göstermiştir. CUPRAC sonuçlarına bakıldığında ise ekstrallerin aktivite değerleri standart kurkumine göre oldukça düşük olup en iyi CUPRAC değerine hekzan sonrası aseton ekstresi sahiptir ve bu ekstrenin içeriğine bakıldığında daha çok fenolik asitler yönünden zengin olduğu görülmüş olup antioksidan aktivitenin kaynağının fenolik asitler olduğu düşünülmektedir.

Antikolinesteraz aktivite sonuçları, AChE ve BChE % inhibisyon değerleri incelendiğinde ekstrelerin asetilkolinesteraz enzimine karşı inhibisyon göstermediği ancak bütirilkolinesteraz enzimine her iki yöntemle de hazırlanan aseton ekstrelerin kısmi derecede inhibisyon gösterdiği belirlenmiştir.

Antimikrobiyal aktivite için yapılan testlerde ise *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *M.smegmatis* kullanılmış olup ekstrelerin herhangi bir aktivite göstermediği gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak Türkiye için endemik olan *S. bilgerana* P. H. Davis bitkisi içerdiği fitokimyasal bileşenleri açısından ve ham ekstrelerin aktiviteleri açısından incelenmiş olup, içerdiği fenolik bileşenler ve miktarları belirlenmiştir. Fenolik bileşence zengin olan ekstrelerin iyi derecede antioksidan aktivitesine sahip olduğu belirlenmiş böylelikle fenolik madde- antioksidan aktivite ilişkisi bu çalışma ile de desteklenmiştir. Halk arasında çeşitli hastalıklarda özellikle mide, kalp ve sinir sistemi rahatsızlıklarında kullanılan bu türlerin yaygın kullanımlarından dolayı içeriğinin ve aktivitelerinin belirlenmesi, bu bitkilerin doğru hastalıklarda doğru şekilde kullanılmasını sağlayacağı açıktır. *S. bilgerana* P. H. Davis için yapılan deneylerin sonuçları bitki kimyacılarının kullanımına bu çalışma ile sunulmuştur.

5. KAYNAKLAR

- [1] Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A.S., Soejarto, D. D. and Guo, Z., “Medicinal Plants in Therapy”, *The Bulletin of WHO.*, 63(6), 965-981, (1985).
- [2] Kumar, S.A., ‘Plants-based Medicines in India [online]’, (14 Kasım 2015), <http://pib.nic.in/feature/feyr2000/fmay2000/f240520006.html> , (2009).
- [3] Arslan, N., Yılmaz, G., Akınerdem, F., Özgüven, M., Kırıcı, S., Arıoğlu, H., Gümüşçü, A. ve Telci, İ., “Nişasta-şeker ve Tıbbi Aromatik Bitkilerin Tüketim Projeksiyonları ve Üretim Hedefleri”, *Türkiye Ziraat Müh. 5. Teknik Kongresi*, 1, Milli Kütüphane- Ankara., 453-483, (2000).
- [4] Duman, H., “*Sideritis L.*”, *Flora of Turkey and East Aegean Islands (Supplement II)*, (eds: Güner A., Özhatay, N., Ekim, T. and Baser, K.H.C.), 11, Edinburgh: University Press, 5-201, (2000).
- [5] Saleem M., “Chemical and Biological Screening of Some Relatives of Lamiaceae (Labiatae) Family and Marina Algae *Conidium iyengarii*”, P.H.D.Thesis, *University of Karachi*, Karachi, (2000).
- [6] Huber-Morath, H., “*Sideritis L.*”, *Flora of Turkey and East Aegean Islands*, (ed: Davis, P. H.), 7, Edinburgh: University Press, 193, (1982).
- [7] Davis, P.H., Mill, R.R. and Tan K., *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, 10, Edinburgh: University Press, 178-179, (1988).
- [8] Kirimer, N., Tabanca, N., Tumen, G., Duman, H. and Baser, K. H. C., “Composition of Essential Oils of Four Endemic *Sideritis* Species from Turkey”, *Flavour Fragr. J.*, 14, 421-425, (1999).

- [9] Sezik, E. ve Ezer, N., “Türkiye’de Halk İlacı ve Çay Olarak Kullanılan Bitkiler Üzerinde Morfolojik ve Anatomik Araştırmalar 1., *Sideritis congesta* Davis & Huber-Morath”, *Doğa Bilim Dergisi Tıp*, 7, 163, (1983).
- [10] Başer, K. H. C., Tümen, G., Çakır, H. ve Kaya, A., “Balıkesir Kazdağ Yöresinde Çay Olarak Kullanılan Bitkiler Üzerinde Morfolojik, Anatomik ve Palinolojik Çalışmalar”, *XI. Ulusal Biyoloji Kongresi*, Botanik, Fırat Üniversitesi, Elazığ, 53-57, (24-27 Haziran 1997).
- [11] Kaya, A., “Türkiyede Yetişen *Acinos* Miller Türleri Üzerinde Morfolojik Anatomik ve Kimyasal Araştırmalar”, Doktora Tezi, *Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, (Şubat 1997).
- [12] Şahin, F. P., “Bazı *Sideritis* L. Türleri Üzerinde Farmasötik Botanik ve Fitokimyasal Çalışmalar”, Doktora Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, (2003).
- [13] Kırırmer, N., Başer, K. H. C., Demirci, B. and Duman, B., “Essential Oils of *Sideritis* Species of Turkey Belonging to Section *Empedoclia*”, *Chem. Nat. Comp.*, 40(1), 53-57, (2004).
- [14] Karabörklü, S., “Chemical Characterization of *Sideritis perfoliata* L. Essential Oil its Fumigant Toxicity Against Two Pest Insects”, *J. Food, Agri. Environ.*, 12(2), 434-437, (2014).
- [15] Kılıç, Ö., “Essential Oil Composition of Two *Sideritis* L. Taxa from Turkey: A Chemotaxonomic Approach”, *Asian J. Chem.*, 26(8), 2466-2470, (2014).
- [16] Topçu, G., Ertaş, A., Öztürk, M., Dinçel, D., Kılıç, T. and Halfon, B., “Ent-kaurane Diterpenoids Isolated from *Sideritis congesta*”, *Phytochem. Lett.*, 4, 436-439, (2011).

- [17] Kırmızıbekmez, H., Arıburnu, E., Masullo, M., Festa, M., Capasso, A., Yeşilada, E. and Piacenta, S., “Iridoid, Phenylethanoid and Flavonoid Glycosides from *Sideritis trojana*”, *Fitoterapia*, 83, 130–136, (2012).
- [18] Obon de Castro, C. and Rivera-Nunez, D, *A Taxonomic Revision of the Section Sideritis (Genus Sideritis) (Labiatae)*, (ed: Cramer, J.), 21, Stuttgart: Science Publishers, (1994).
- [19] Duman, H., Kırimer, N. Ünal, F., Güvenç, A. ve Şahin, P., “Türkiye Sideritis L. Türlerinin Revizyonu”, Proje No: TBAG-1853(199T090), (2005).
- [20] Kırimer, N., Tabanca, N., Demirci, B., Başer, K. H. C., Duman, H. and Aytaç, Z., “The Essential Oil of A New *Sideritis* Species: *Sideritis ozturkii* Aytaç and Aksoy”, *Chemistry of Natural Compounds*, 37, 234-237, (2001).
- [21] Aytaç, Z. and Aksoy, A., “A New *Sideritis* Species (Labiatae) from Turkey”, *Flora Meditt*, 10, 181-184, (2000).
- [22] Baytop T., *Türkiye’de Bitkilerle Tedavi*, İstanbul Üniversitesi Yayınları No: 3255, Eczacılık Fakültesi No:40 , 240-376, (1984).
- [23] Özçelik, H. ve Balabanlı, C., “Burdur İlinin Tıbbi ve Aromatik Bitkileri”, *1.Burdur Sempozyumu*, 2, Burdur, 1127- 1136, (16 – 19 Kasım 2005).
- [24] Kırimer, N., T. Özek, H. Tanrıverdi, F. Koca, A. Kaya ve K. H. C. Başer, “*Sideritis germanicopolitana* Uçucu Yağlarının Bileşimi”, (ed: Başer, K.H.C.), *9. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Eskişehir, 371-381, (1992).
- [25] Ertan, A., Azcan, N., Demirci, B. and Baser, K. H. C., “Fatty Acid Composition Of *Sideritis* Species”, *Chemistry of Natural Compounds*, 37(4), (2001).
- [26] Özcan, M., Chachat, J. C. and Akgül, A. “Essential Oil Composition of Turkish Mountain Tea (*Sideritis* spp.)”, *Food Chemistry*, 75(4), 459-463, (2001).

- [27] Davis, P. H., *Flora of Turkey and East Eagean Island*, 7, Edinburgh: Edinburgh University Press, (1982).
- [28] Başer, K. H. C., Honda, G. and Miki, W., *Herb Drugs and Herbalists in Turkey*, 27, Tokyo: Institute for Study of Languages and Cultures of Asia and Africa, (1986).
- [29] Çöl, Ç., “*Sideritis tmolea* P. H. Davis Bitkisinin Diterpen Bileşenlerinin İzolasyonu ve Yapılarının Tayini”, Yüksek Lisans Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, (2007).
- [30] Toroğlu, S. ve Çenet, M., “Tedavi amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Metodlar”, *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9(2), 12-20, (2006).
- [31] Greuter, W., Burdet, H. M. and Long, G., *Med-Checklist: A Critical Inventory of Vascular Plants of the Circum-Mediterranean Countries, Dicotyledones (Convolvulaceae-Labiatae)*, 3, Genève & Berlin, 347-354, (1986).
- [32] Fraga, B. M., Guillermo, R., Hernandez, M. G., Mestres, T. and Artega, J. M., “Diterpenes from *Sideritis canariensis*”, *Phytochemistry*, 30 (10), 913-915, (1991).
- [33] Fraga, B. M., Hernandez, M. G., Santana, J. M. H. and Arteaga, J. M., “Diterpenes From *Sideritis sventenii* and *Sideritis cystosiphon*” *Phytochemistry*, 29(2), 591-593, (1990).
- [34] Algarra, J., Garcia-Granadas, A., Buruaga, A. S. D. and Buruaga, J. M. S., “Diterpenoids from *Sideritis varoi*”, *Phytochemistry*, 22(8), 1779-1782, (1983).
- [35] Lopez Gomez, M. A., Marquez, C., Rabanal, R. N. and Valverde, S., “Diterpenos de *S. Hirsuta*. Estudio Mediante RMN de C-13 de Derivados de ent-kaur-15-eno y ent-kaur-16-eno”, *An.Quim.*, 75(12), 911-915, (1979).

- [36] Garcia Granados, Martinez, A., Onorato, M. E. and Socorro, O., "Diterpenoids from *Sideritis pusilla* subsp. *flavovirens*", *Phytochem*, 23 (3), 607-610, (1984).
- [37] Likhitwitayawuid, K., Angerhofer, C. K., Cordell, G. A., Pezzuto J. M., and Ruangrunsi, N., "Cytotoxic and Antimalarial Bisbenzylisoquinoline Alkaloids from *Stephania erecta*", *J.Nat. Prod.*, 56, 30-38, (1993).
- [38] Fraga, B. M., Hernandez, M. G., Santana, J. M. H., Terrero, D. and Galvan, M. F., "A Chemotaxonomical Study of *Sideritis massoniana* taxa", *Biochem. Syst. Ecol.*, 23 (7-8), 835-842, (1995).
- [39] Fraga, B. M., Hernandez, M. G., Santana, J. M. H. and Artega, J. M., "Diterpenes from *Sideritis ferrensis*", *Phytochemistry*, 30 (3), 913-915, (1991).
- [40] Başer, H. C., Vural, M., Tümen, G., Akyalçın, H. and Satıl, F., "Two new records for Flora of Turkey", *Turkish, J. Botany*, 19(4), 489-490, (1995).
- [41] Duman, H., Aytaç, Z., Ekici, M., Karavelioğulları, F., Dönmez, A. A. and Duran, A., "Three New Species (Labiatae) from Turkey", *Fl. Medit.*, 5, 221-228, (1995).
- [42] Duman, H., Başer, H. C. and Aytaç, Z., "Two New Species and A New Hybrid from Anatolia", *Tr. J. of Botany*, 22(1), 51-57, (1998).
- [43] Sezik, E., Ezer, N., Hueso-Rodriguez, J. A. and Rodriguez, B., "Ent-2- α -Hydroxy-13-epimanoyloxide from *Sideritis perfoliata*", *Phytochemistry*, 24, 2739, (1985).
- [44] Iscan, G., Kirimer, N., Kurkcuoglu, M. and Baser, K. H. C., "Composition and Antimicrobial Activity of The Essential Oils of Two Endemic Species from Turkey: *Sideritis cilicica* and *Sideritis bilgerana*", *Chem of Nat. Comp.*, 41, 679-681, (2005).

- [45] Kirimer, N., Tabanca, N., Ozek, T., Baser, K. H. C., Tumen, G. and Duman, H., “Composition of the Essential Oils from Five Endemic *Sideritis* species”, *J. Essent. Oil Res.*, 15, 221-225, (2003).
- [46] Baser, K. H. C., “Aromatic Biodiversity Among the Flowering Plant Taxa of Turkey”, *Pure Appl. Chem.*, 74, 527 –545, (2002).
- [47] Baser, K. H. C. , Kirimer, N. and Tumen, G., “Essential Oil of *Sideritis scardica* Griseb. subsp. *scardica*”, *Journal of Essential Oil Research*, 9(2), 205-207, (1997).
- [48] Kirimer, N., Koca, F., Baser, K. H. C., Ozek, T., Tanriverdi, H. and Kaya, A., “Composition of the Essential Oils of Two Subspecies of *Sideritis germanicopolitana* Bornm”, *Journal of Essential Oil Research*, 7(2) , 183-185, (1992).
- [49] Tumen, G., Baser, K. H. C., Kirimer, N. and Ermin, N., “Essential oil of *Sideritis amasiaca* Bornm”, *Journal of Essential Oil Research*, . 7(6) , 699-700, (1995).
- [50] Ezer, N., Vila, R., Canigueral, S. and Adzet, T., “Essential Oil of *Sideritis lycia* Boiss. et Heldr”, *Journal of Essential Oil Research*, 7(2) , 183-185, (1995).
- [51] Özek, T., Başer, K. H. C., and Tümen, G., “The Essential Oil of *Sideritis athoa* Papanikolau et Kokkini”, *The Essent. Oil Res.*, 5, 669 – 670, (Nov / Dec 1993).
- [52] Kara, M., Sahin, H., Turumtay, H., Dinc, S. and Gumuscu, A., “The Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Tea With Different Parts of *Sideritis condensata* at Different Steeping Conditions”, *J. Food Nutr. Res.*, 2(5), 258-262, (2014).
- [53] Halfon, B., Çiftçi, E. and Topçu, G., “Flavonoid Constituents of *Sideritis caesarea*”, *Turk. J. Chem.*, 37, 464-472, (2013).

- [54] Bondi, L. M., Bruno, M., Piozzi, F., Başer, K. H. C. and Simmonds, S. J., “Diversity and Antifeedant Activity of Diterpenes from Turkish Species of *Sideritis*”, *Biochemical Systematics and Ecology*, 28, 299-303, (2000).
- [55] Başer, K. H. C., Bondi, M. L., Bruno, M., Kırimer, N., Piozzi, F., Tümen, G. and Vasallo, N., “An *Ent*- Kauren From *Sideritis* Huber-Morathii”, *Phytochemistry*, 43(6), 1293-1295, (1996).
- [56] Topcu, G., Goren, A. C., Kiliç, T., Yıldız, Y. K. and Tümen, G., “Diterpenes from *Sideritis argyre*”, *Fitoterapia*, 72 (1), 1-4, (2001).
- [57] Topçu, G., Goren, A. C., Kiliç, T., Yıldız, Y. K. and Tümen, G., “Diterpenes from *Sideritis sipylea* and *Sideritis dichotoma*”, *Turkish Journal of Chemistry*, 26(2), 189-194, (2002).
- [58] Topcu, G., Goren, A. C., Kiliç, T., Yıldız, Y. K. and Tümen, G., “Diterpenes from *Sideritis trojana*”, *Natural Product Letters*, 16(1), 33-37, (2002).
- [59] Kiliç, T., Yıldız, Y. K., Gören, A. C., Tümen, G. and Topçu, G., “Phytochemical Analysis of Some *Sideritis* Species of Turkey”, *Chemistry of Natural Compounds*, 39(5), 453-456, (2003).
- [60] Kiliç, T., Yıldız, Y. K., Topçu, G., Gören A. C., Ay, M., Bodige, S. G. and Watson, W. H., “Crystal Structure Sideroxol from *Sideritis leptoclada*”, *Journal of Chemical Crystallography*, 35(8), 647-650 (2005).
- [61] Aslan, İ., Kiliç, T., Gören, A. C. and Topçu, G., “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 Products*, 23(2), 171-176, (2006).
- [62] Çarıkçı, S., Çöl, Ç., Kılıç, T. and Azizoğlu, A., “Diterpenoids from *Sideritis tmolea* P.H. Davis” , *Rec. Nat. Prod.*, 1(4), 44-50, (2007).

- [63] Kılıç, T., Carikci, S., Topcu, G., Aslan, I. and Goren, A. C., “Diterpenoids from *Sideritis condensata*. Evaluation of Chemotaxonomy of *Sideritis* Species and Insecticidal activity”, *Chemistry of Natural Compounds*, 45 (6), 918-920, (2009).
- [64] Çarıkcı, S., Kılıç, T., Azizoğlu, A. and Topçu, G., “Chemical Constituents of Two Endemic *Sideritis* Species from Turkey with Antioxidant Activity”, *Rec. Nat. Prod.*, 6 (2), 101-109, (2012).
- [65] Ozturk, Y., Aydin, S., Ozturk, N. and Baser, K. H. C., “Effects of Extracts from Certain *Sideritis* Species on Swimming Performance in Mice”, *Phytotherapy Res.*, 10, 70-73, (1996).
- [66] Aydin, S., Ozturk, Y., Beis, R. and Baser, K. H. C., “Investigation of *Origanum onites*, *Sideritis congesta* and *Satureja cuneifolia* Essential Oils for Analgesic Activity”, *Phytotherapy Res.*, 10, 342-344, (1996).
- [67] Tunalier, Z., Ozturk, N., Kosar, M., Baser, K. H. C., Duman, H. ve Kirimer, N., “Bazı *Sideritis* Türlerinin Antioksidan Etki ve Fenolik Bileşikler Yönünden İncelenmesi”, (Eds: Başer, K. H. C. ve Kirimer, N.), *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Eskişehir, (29-31 Mayıs 2002).
- [68] Ezer, N., Usluer, G., Güneş, I. and Erol, K., “Antibacterial Activity of Some *Sideritis* Species”, *Fitoterapia*, 65, 549, (1994).
- [69] Ezer, N. and Abbasoğlu, U., “Antimicrobial Activity of Essential Oils of Some *Sideritis* Species Growing in Turkey”, *Fitoterapia*, 67, 474, (1996).
- [70] Yesilada, E. and Ezer, N., “The Antiinflammatory Activities Some *Sideritis* Species Growing in Turkey,” *Int. J. Crude Drug Res.*, 27, 38, (1989).
- [71] Ceylan, A., *Tıbbi bitkiler - II (Uçucu yağ bitkileri)*, Ege Üniv. Ziraat Fakültesi Yayını No: 481, 1-2, (1997).

- [72] Kılıç, A., “Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri”, *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 10, 13, (2008).
- [73] Baydar, H., *Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bilimi ve Teknolojisi (Genişletilmiş 4. Baskı)*, Süleyman Demirel Üniversitesi Yayın No: 51, (2013).
- [74] Bağcı, E. ve Dığrak, M., “Bazı Orman Ağaçlarının Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri”, *Tr. J. Of Biology*, 20, 191-198, (1996).
- [75] Bağcı, E. ve Dığrak, M., “Bazı Gökmar Türleri Uçucu Yağlarının İn Vitro Antimikrobiyal Etkileri”, *Tr. J. of Biology*, 21, 273-281, (1997).
- [76] Şarer, E., “Uçucu Yağların Biyolojik Etkileri ve Tedavide Kullanımları”, 9. *Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Bildiriler Kitapçığı, Eskişehir, (1991).
- [77] Leal- Cardoso, J. H. and Fonteles, M. C., “Pharmacological effects of Essential Oils of Plants of the Northeast of Brazil”, *An. Acad. Bras. Cienc.*, 71(2), 207-13, (1999).
- [78] Özgüven, M. ve Kırıcı, S., “Farklı Ekolojilerde Nane (*Mentha*) Türlerinin Verim ile Uçucu Yağ Oran ve Bileşenlerin Araştırılması”, *Tr. J. of Agriculture and Forestry*, 23, 465-472, (1999).
- [79] Baydar, H., “Yayla kekigi (*Origanum minutiflorum* O. Schwarz et. P. H.Davis)’nde Farklı Toplama Zamanlarının Uçucu Yağ İçeriği ve Uçucu Yağ Yileşenleri Üzerine Etkisi”, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(2), 175-178, (2005).
- [80] Burt, S., “Essential Oils: Their Antibacterial Properties and Potential Applications in Foods-A Review”, *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253, (2004).

- [81] Couladis, M., Özcan, M., Tzakou, O. ve Akgül, A., “Menengiç (*Pistacia terebinthus* L.) Ağacının Değişik Organlarında Uçucu Yağ Bileşimi”, *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Bildiriler, Eskisehir, 240-245, (2002).
- [82] İşcan, G., Demirci, F., Kırimer, N., Kürkçüoğlu, M., Baser, K. H. C. ve Kıvanç, M., “Bazı Umbelliferae Türlerinden Elde Edilen Uçucu Yağların Antimikrobiyel Etkileri”, *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Eskişehir (2002).
- [83] Başer, K. H. C., “Fonksiyonel Gıdalar ve Nutrasötikler”, (eds: Başer, K. H. C. ve Kırimer, N.), *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Bildiriler, Eskişehir, 31-44, (29-31 Mayıs 2002).
- [84] Linskens, H. F. and Jackson, J. F., *Plant Volatile Analysis (Modern Methods of Plant Analysis Series, Vol. 19)*, Germany: Springer, (1997).
- [85] Tanker, M. ve Tanker, N., *Farmakognozi*, 2, Ankara: Ankara Üniv. Eczacılık Fak. Yay. No:65, 282-284, 287, 300, 317, 332, 343-344, (1990).
- [86] Kırimer, N., Tabanca, N., Özek, T., Tümen, G. and Başer, K. H. C., “Essential Oils of Annual *Sideritis* Species Growing in Turkey,” *Pharm. Biol.*, 38(2), 106-111, (2000).
- [87] Tabanca, N., Kırimer, N. and Başer, K. H. C., “The Composition of Essential Oils from Two Varieties of *Sideritis erythrantha*: var. *erythrantha* and var. *Cedretorum*”, *Turk J. Chem*, 25, 201-208, (2001).
- [88] Çarıkçı, S., “Bazı *Sideritis* (*Sideritis niveotomentosa*, *Sideritis hololeuca*, *Sideritis brevidens*) Türlerinin Diterpenik Bileşiklerinin İzolasyonu ve Yapılarının Tayini”, Doktora Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Balıkesir, (2010).

- [89] Başer, K. H. C., Kırimer, N. and Özek, T., “Essential Oil Composition of Three Labiatae Endemic to Turkey (*Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *giresunica* P. H. Davis, *Sideritis lycia* Boiss. et Heldr. and *S. arguta* Boiss. et Heldr.)”, *J. Essent. Oil Res.*, 8, 699-701, (Nov/Dec 1996).
- [90] Grassmann, J. and Elstner, E.F., “Essential Oils/properties and uses”, *Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition*, Elsevier Science Ltd., 2177-2184, (2003).
- [91] Sönmez U. , “*Salvia Nemorosa* L.’nin Terpenoit ve Flavonoit Bileşikleri ile Kimyasal Araştırmalar”, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, 4, (1993).
- [92] Sell, C. S., *A Fragrant Introduction to Terpenoid Chemistry*, Cambridge UK: The Royal Society of Chemistry, 2, (2003).
- [93] Hornback, J. M. and Murugaverl, B., *Organic Chemistry 2nd Edition by Hornback*, USA: Thomson Brooks/Cole, 1184-1219, (2006).
- [94] Gören, A. C., “Bazı *Sideritis* (*Sideritis Argyrea*, *Sideritis Dichotoma*, *Sideritis Trojana*) Türlerinin Diterpenik Bileşenlerinin İzolasyonu ve Yapılarının Tayini”, Doktora Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Ana Bilim Dalı, Balıkesir, (2002).
- [95] Bruice Yurkanis, P., *Essential Organic Chemistry Second Edition*, New Jersey: Prentice Hall, (2009).
- [96] Finar, I. L., B. Sc., Ph. D. (Lond.), A. R. I. C., *Organic Chemistry Vol.2 Stereochemistry and The Chemistry of Natural Products*, London: Longman, 354-358, 440-441, 451,459, (1959).
- [97] Kılıç, T., “*S. lycia* ve *S. leptoclada* Türlerinin Diterpen Bileşiklerinin İzolasyonu ve Karakterizasyonu”, Doktora Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir (2002).

- [98] McMurry, J., *Fundamentals of Organic Chemistry*, United Kingdom: Brooks Cole Publishing Company, 1099-1123, (1986).
- [99] Robbers, J.E., Speedie, M.K. and Tyler, V.E., *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology*, (eds: Balado, D., Williams & Wilkins), USA, 81-107, (1996).
- [100] Croteau, R., Kutchan, T. M. and Lewis, N. G., *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, (eds: Buchanan, B., Gruissem, W. And Jones, R.), USA: American Society of Plant Physiologists, (2000).
- [101] Sakar, M. K., Tanker, M., *Fitokimyasal Analizler Tanım, Miktar Tayini ve İzolasyon*, Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fak. Yay. No:67, 181, (1991).
- [102] David, F., De Clercq, C. and Sandra, P., “GC/MS/MS Analysis of β -damascenone in Rose Oil”, *Varian GC/MS App Note 52*, (2006).
- [103] Çarıkçı, S., “*S. condensata* Boiss. & Heldr Bitkisinin Fitokimyasal Analizi”, Yüksek Lisans Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir, (2005).
- [104] Hanson, J. R, *Natural Products: The Secondary Metabolites, Tutorial Chemistry Texts*, Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 112, (2003).
- [105] Solomons, G. and Fryhle, C., *Organik Kimya 7. Basımdan Çeviri*, (Çev: Okay, G., Yıldır, Y.), İstanbul, 1152-1155, (2002).
- [106] Yamahara, J., Mochizuki, M., Rong, H. Q., Matsuda, H. and Fujimura, H., “The Antiulcer Effects in Rats of Ginger Constituents”, *J. Ethnopharmacol*, 23 (2-3), 299-304, (1988).

- [107] Ni, M., Chen, Z., Yan, B. and Huadong, H. X., "Synthesis of Optically Active Sesquiterpenes and Correlation of Their Antifertility Effect", *Chem. Abstr.*, 111, 195149w. (1989).
- [108] Kılıç.T., "A New and Known Diterpenoids From *Sideritis stricta* Boiss. & Heldr. and Their Biological Activities", *Molecules*, 11, 257-262, (2006).
- [109] Ulubelen, A. and Topçu, G., "Chemical and Biological Investigations of *Salvia* Species Growing in Turkey", *Studies in Natural Product Chemistry*, 20, 659-718, (1998).
- [110] Ulubelen, A., Topçu, G. and Kolak, U., "Chemical and Biological Evaluation of Genus *Teucrium*", *Studies in Natural Product Chemistry*, 23, 591-648, (2000).
- [111] Ertaş, A., "Endemik İki *Sideritis* Türü *S. arguta* ve *S. congesta*'nın Diterpenik Bileşiklerinin İzolasyonu ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, (2005).
- [112] Sönmez. U., "*Salvia napifolia* Jacq. Bitkisinden Elde Edilen Yeni Diterpenoit Bileşiklerinin Yapı Araştırılması", Doktora tezi, *İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, (1995).
- [113] Topçu, G., Ulubelen, A., Tami T. C. M. and Che, C. T., "Sesterterpenes and Other Constituents of *Salvia yosgadensis*", *Phytochemistry*, 42, 1089, (1996).
- [114] Baysal, A., "Karotenoidler; Beslenme ve Sağlık Açısından Önemi", *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 153-159, (1994).
- [115] Gerster, H., "Anticancerogenic Effect of Common Carotenoids", *Internat. J. Nutr. Res.*, 63, 93-121, (1992).
- [116] Gross, J., *Pigments in Fruits*, London: Academic Press Inc. Ltd. 24-28 Oval Road London NW1 7DX, 87-186, (1987).

- [117] Bağdatlıoğlu, N. ve Demirbuker, B., “Gıda İşlemede Karotenoidlerde Meydana Gelen Gelişmeler”, *Gıda*, 9, 48-51, (1999).
- [118] Saldamlı, İ., *Gıda Kimyası*, Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 463-492, (2007).
- [119] Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémés, C. and Jiménez, L., “Polyphenols: Food Sources and Bioavailability”, *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727–747, (2004).
- [120] Bilaloğlu, G. V. ve Harmandar, M., *Flavonoidler*, İstanbul: Aktif Yayınevi, 334-354, (1999).
- [121] Coşkun, F., “Gıdalarda Bulunan Doğal Koruyucular”, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2, 27-33, (2006).
- [122] Aydın, S. A. ve Üstün, F., “Tanenler 1 Kimyasal Yapıları, Farmakolojik Etkileri, Analiz Yöntemleri”, *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 33(1), 21-31, (2007).
- [123] Kafkas, E., Bozdoğan, A., Burgut, A., Türemiş, N., Paydaş Kargı, S. ve Cabaroğlu, T., “Bazı Üzümsü Meyvelerde Toplam Fenol ve Antosiyanin İçerikleri”, *II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu*, Tokat, 309-312, (2006).
- [124] Stavric, B., “Role of Chemopreventers in Human Diet”, *Clin. Biochem.*, 27(5), 319-332, (1994).
- [125] Stavric, B., “Quercetin in Our Diet: From Potent Mutagen to Probable Anticarcinogen”, *Clin. Biochem*, 27(4), 245-248, (1994).
- [126] Bors, W., Heller, W., Michel, C. and Saran M., “Flavonoid As Antioxidants: Determination of Radical-Scavenging Efficiencies”, *Methods in Enzimology*, 186, 343-355, (1990).

- [127] Young, I. S. and Woodside, J. V., “Antioxidants in Health and Disease”, *Journal of Clinical Pathology*, 54, 176-186, (2001).
- [128] Aras, Ö., “Üzüm Ve Üzüm Ürünlerinin Toplam Karbonhidrat, Protein, Mineral Madde ve Fenolik Bileşik İçeriklerinin Belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Isparta, (2006).
- [129] Karakaya, S. ve El, S. N., “Bazı Bitkisel Çayların Toplam Fenolik Madde İçerikleri, Antioksidan Aktiviteleri ve Siyah Çay Polifenollerinin in vitro Biyoyararlılığı”, *GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(1), 1-8, (2006).
- [130] Cemeroğlu, B., *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*, 1, Ankara: Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 35, 77-88, (2004).
- [131] Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S., “Phenolic Compounds in Plants and Agriindustrial By-Products: Antioxidant Activity, Occurrence, and Potential Uses”, *Food Chemistry*, 99, 191-203, (2006).
- [132] Fraga, C. G. (Ed.), *Plant Phenolics and Human Health: Biochemistry, Nutrition and Pharmacology*, New Jersey: Wiley Publication, 593, (2010).
- [133] Jackson, R. S., *Wine Science: Principles, Practise, Perception*, Academic Press., 633, (2000).
- [134] Shahidi, F. and Naczk, M., *Food Phenolics*, Lanchester, USA: Technomic Publishing Company Book, 199-225, (1995).
- [135] Nizamlıoğlu, M. N. ve Nas, S., “Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri”, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5(1), 20-35, (2010).
- [136] Göğüş, F. ve Fadiloğlu, S., *Food Chemistry*, Ankara: Nobel Yayın Dağıtım, 319-339, (2006).

- [137] Fennema, O.R., “Pigment and Other Colorants”, *Food Chemistry*, 545-584, (1985).
- [138] Köksal, G., “Şeftali Meyvesinde Fenolik Madde Dağılımı ve Pulpa İşleme Sırasında Değişimi”, Doktora Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 34-36, (2008).
- [139] Gören, A. C., Çıkrıkçı, S., Çergel, M. and Bilsel, G., “Rapid Quantitation of Curcumin in Turmeric Via NMR and LC-Tandem Mass Spectrometry”, *Food Chemistry*, 113(4), 1239-1242, (2009).
- [140] Williams, A., Rosslein, M. and Ellison, S. L. R. (Eds.), *EURACHEM/CITAC Guide, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement Second ed.*, (April 2000).
- [141] Gören, A. C., Bilsel, G. and Bilsel, M., “Rapid and Simultaneous Determination of 25-OH-Vitamin D₂ and D₃ in Human Serum by LC/MS/MS: Validation and Uncertainty Assesment”, *Journal of Chemical Metrology*, 1(1), 1-10, (2007).
- [142] Blois, M. S., “Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical”, *Nature*, 181, 1199–1200, (1958).
- [143] Miller, H. E., “A Simplified Method for the Evaluation of Antioxidants”, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 45, 91-98, (1971).
- [144] Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. and Karademir, S. E., “Mechanism of Antioxidant Capacity Assays and the CUPRAC (cupric ion Reducing Antioxidant Capacity) Assay”, *Microchimica Acta.*, 160, 413-419, (2008).
- [145] Özyürek, M., Bener, M, Güçlü, K., Dönmez, A. A., Selçuk, S. S., Pırıldar, S., Meriçli, A. H. and Apak, R., “Evaluation of Antioxidant Activity of Crataegus Species Collected from Different Regions of Turkey”, *Records Natural Products*, 6, 263-277, (2012).

- [146] Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., Berker, K. I. and Özyurt, D., “Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay”, *Molecules*, 12, 1496-1547, (2007).
- [147] Ellman G. L., Courtney, K. D., Andres, V. and Featherston, R. M., “A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity”, *Biochem. Pharmacol.*, 7, 88-95, (1961).
- [148] Hatipoğlu, S., “*Salvia Adenophylla* ve *Salvia Verticillata* Subsp. *Amasiaca* Bitkilerindeki Sekonder Metabolitlerin Aktivite Odaklı İzolasyonu ve Yarı Sentetik Türevlerinin Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, (2010).
- [149] Andrews, J. M., “BSAC Standardized Disc Susceptibility Testing Method (Version 4)”, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56, 60-76, (2005).
- [150] Türker, H., Yıldırım, B. A., Karakaş, P. F. and Köylüoğlu, H., “Antibacterial Activities of Extracts from Some Turkish Endemic Plants on Common Fish Pathogens”, *Turkish Journal of Biology*, 33, 73-78, (2009).
- [151] Gonzalez A. G., Fraga, B. M., Hernandez M. G. and Luis, J. G., “Constituents of Labiatae 17. New Diterpenes from *Sideritis candicans*”, *Phytochemistry*, 12, (2721-2723), (1973).
- [152] Piozzi F., Bruno M., Rosselli S., Maggio A., “The Diterpenoids From The Genus *Sideritis*”, *Studies in Natural Products Chemistry*, 33, 493-540, (2006).
- [153] Venturella, P., Bellino, A., Marino, M. L., “A Diterpene, Distanol, from *Sideritis distans*”, *Phytochemistry*, 28, 1976-1977, (1989).
- [154] Topçu, G., Gören, A. C., “Biological Activity of Diterpenoids Isolated from Anatolian Lamiaceae Plants”, *Rec. Nat. Prod.*, 1(1), 1-16, (2007).

- [155] Topçu, G., Tümen, G., Kılıç, T., Gören, A. C., Barla, A., Türkmen, Z., and Kingston, D. G. I., “Bioactive Turkish Plant Extracts and Their Constituents”, *Innovations in Chemical Biology*, 6, 61-81, (2009).