

CYCLOTRICHUM NIVEUM
UÇUCU YAĞININ BİLEŞİMİ

Ecz. Sevda SARIKARDAŞOĞLU

Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Farmakognozi Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Prof.Dr. K.Hüsnü Can BAŞER

Ağustos-1992

Sevda SARIKARDAŞOĞLU (BATUM)'un YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Cyclotrichium niveum Uçucu Yağının Bİleşimi" başlıklı bu çalışma jürimizce Lisansüstü Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

24 / 8. / 1992

Üye: Prof.Dr. K. Hüsnü Can BAŞER (İmza)

Üye: Yrd.Doc.Dr. Nere KIRIMER (İmza)

Üye: Yrd.Doc.Dr. Münaffer DÖĐÜZÜREN (İmza)

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 25.8.1992...gün ve 192/484. sayılı kararıyla onaylanmıştır.

(İmza)
Enstitü Müdürü
Prof.Dr. Alirettn BAZARAN

ASLİ KÖZİDİR

25 AĞUSTOS 1992

İsmet YILMAZ
Enstitü Sekreteri



Cyclotrichium niveum

ÖZET

Endemik bir Labiatae bitkisi olan *Cyclotrichium niveum*'un toprak üstü kısımlarının uçucu yağ verimi ve kompozisyonu ilk defa çalışıldı.

Kuru herba'dan su distilasyonu ile % 1.54, buhar distilasyonu ile ise % 2.56 verimle uçucu yağ elde edildi. Ayıklanan yaprak + çiçek'ler den ise su distilasyonu ile % 5.74 verime ulaşıldı.

Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometrisi (GC/MS) tayinleri sonucunda tüm yağlarda ana bileşiğin pulegon olduğu belirlendi (% 56.1-56.6). İkinci önemli bileşik izomenton'un ise % 33.8-35.9 oranında bulunduğu tespit edildi.

Ana bileşik pulegonla ilgili literatür taramasında bu bileşiğin tabiatta bulunuşu ve biyolojik etkileriyle ilgili bilgiler derlendi.

Anahtar kelimeler : *Cyclotrichium niveum*, Dağ Nanesi, Uçucu yağ, Distilasyon, Pulegon, Gaz Kromatografisi (GC), Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC/MS)

SUMMARY

The essential oil yield and composition of the aerial parts of *Cyclotrichium niveum*, an endemic Labiatae of Turkey, was studied for the first time.

Dried herbal parts yielded 1.54 % and 2.56 % essential oil by water and steam distillations, resp. Leaves and flowers separated from branches yielded 5.74 % oil by water distillation.

Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC/MS) studies revealed the occurrence of pulegone as the major constituent of all the oils studied (56.1-56.6 %). Isomenthone (33.8-35.9 %) was the second major component.

Literature survey on the major constituent of the oil provided information on the occurrence in nature and biological activities of pulegone.

Key words : *Cyclotrichium niveum*, Essential oil, Distillation, Pulegone, Gas Chromatography (GC), Gas Chromatography -Mass Spectrometry (GC/MS)

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimim süresince büyük ilgi ve destek göstererek konuyu yönlendiren danışmanım Prof.Dr.K.Hüsnü Can BAŞER'e,

Çalışmalarım sırasında konuya ilgi gösterip yardımda bulunan Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı Prof.Dr.İhsan SARIKARDAŞOĞLU ve Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyelerine,

Yardımlarından dolayı Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognози Anabilim Dalı Öğretim Görevlisi Y.Doç.Dr.Neş'e KIRIMER ve Uludağ Üniversitesi Öğretim Görevlileri Doç.Dr. Gülelendam TÜMEN ve Doç.Dr.Hulusi MALYER'e,

Yaptığım çalışmalarda yakın ilgi ve şahsi gayretleriyle daima destek olan Anadolu Üniversitesi Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi çalışanlarından Kimya Yüksek Mühendisleri Temel ÖZEK ve Mine KÜRKÇÜOĞLU ile Biyolog Ayla KAYA'ya,

Literatür taramalarında büyük kolaylık sağlayan Chicago Üniversitesi NAPRALERT Bilgi Bankası'na,

Çalışmalarım süresince göstermiş olduğu sabır ve anlayıştan dolayı Anneme ve Oğluma,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

ŞEKİLLER DİZİNİ

| <u>Şekil</u> | | <u>Sayfa</u> |
|--------------|--|--------------|
| 3.1 | Volumetrik Nem Tayin Aperi | 16 |
| 3.2 | Clevenger Aperi | 16 |
| 3.3 | Buhar Distilasyonu Aperi | 17 |
| 4.1 | <i>Cyclotrichium niveum</i> ' un genel görünüşü | 21 |
| 4.2 | <i>Cyclotrichium niveum</i> çiçek ve meyva | 22 |
| 4.3 | <i>Cyclotrichium niveum</i> ' un yaprak enine kesiti | 25 |
| 4.4 | <i>Cyclotrichium niveum</i> ' un yaprak enine kesiti anatomik | 26 |
| 4.5 | <i>Cyclotrichium niveum</i> ' un yaprak yüzeysel kesiti anatomik | 27 |
| 4.6 | <i>Cyclotrichium niveum</i> ' un gövde enine kesiti | 28 |
| 4.7 | <i>Cyclotrichium niveum</i> ' un gövdede örtü ve salgı tüyleri | 29 |
| 4.8 | Herbadan Clevenger Aperiinde elde edilen Uçucu Yağın Gaz Kromatogramı | 32 |

TABLOLAR DİZİNİ

| <u>Tablo</u> | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| 4.1 Clevenger apereyinde elde edilen uçucu yağ verimleri | 30 |
| 4.2 Uçucu Yağların Fizikokimyasal Özellikleri | 30 |
| 4.3 <i>Cyclotrichium niveum</i> Uçucu yağının bileşenleri ve relatif yüzdeleri | 33 |
| 5.1 %10'nun üzerinde Pulegon taşıyan uçucu yağların elde edildiği bitkiler | 40 |
| 5.2 Uçucu yağında %10'dan daha az Pulegon bulunan türler | 42 |

Tezde Adı Geçen Bileşiklerin İngilizce Yazılışları

| Formül no | Bileşik |
|-----------|--------------------------|
| 49 | (E)- β -ocimene |
| 48 | (Z)- β -ocimene |
| 37 | 2-hexanal |
| 40 | 3-methyl cyclo hexanone |
| 39 | 3-methyl cyclo pentanone |
| 69 | 1,8-cineole |
| 30 | α -bisabolene |
| 19 | α -fenchol |
| 5 | α -pinene |
| 70 | α -terpineol |
| 53 | α -terpinolene |
| 71 | α -thujene |
| 25 | artemisia keton |
| 72 | β -bourbonene |
| 50 | β -pinene |
| 34 | cadinene |
| 13 | calaminthone |
| 16 | camphene |
| 6 | camphor |
| 20 | carquejol |
| 44 | carvacrol |
| 66 | cis-isopulegone |
| 68 | cis-sabinene hydrate |
| 15 | digeranyl ether |

| | |
|----|---------------------------|
| 33 | eremophilone |
| 3 | eucarvone |
| 35 | eudesmol |
| 60 | eugenol |
| 12 | evodone |
| 28 | farnesol |
| 18 | fenchone |
| 1 | fragranol |
| 7 | furan |
| 10 | furfuraldehyde |
| 73 | γ -elemene |
| 74 | germacren D |
| 32 | gossypol |
| 2 | grandisol |
| 36 | hexanal |
| 55 | isoborneol |
| 59 | isomenthone |
| 64 | isopiperitenone |
| 27 | lavandulol |
| 45 | limonene |
| 57 | linalool |
| 23 | m-mentha-1,8(9)-dien-5-ol |
| 21 | m-menthane ester |
| 14 | menthofuran |
| 58 | menthone |
| 47 | myrcene |

| | |
|-----|----------------------|
| 29 | nerolidol |
| 17 | nojigiku alcohol |
| 38 | nonanal |
| 41 | octadecane |
| 52 | p-cymene |
| 63 | piperitenone |
| 61 | piperitone |
| 62 | piperitone oxide I |
| 46 | pseudolimonene |
| 65 | pulegone |
| 51 | sabinene |
| 24 | santolinatriene |
| 75 | spathulenol |
| 8-9 | spiro-ethers |
| 22 | sylvestrene |
| 42 | tetradecane |
| 11 | tetrahydropyran |
| 4 | thujic acid |
| 54 | thymol |
| 76 | torreyol |
| 56 | trans-dihydrocarvone |
| 67 | trans-isopulegone |
| 43 | undecane |
| 26 | yomogi alcohol A |
| 31 | zingiberene |

İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| ÖZET | iii |
| SUMMARY | iv |
| TEŞEKKÜR | v |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | vi |
| TABLolar DİZİNİ | vii |
| Tezde Adı Geçen Bileşiklerin İngilizce Yazılışları | viii |
| | |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| | |
| 2. KAYNAK TARAMASI | 2 |
| | |
| 2.1. Botanik Özellikleri ve yayılışı | 2 |
| 2.2. <i>Cyclotrichium</i> türleri ile yapılan kimyasal çalışmalar | 6 |
| 2.3. Uçucu Yağlar | 6 |
| 2.3.1. Monoterpenler | 7 |
| 2.3.2. Seskiterpenler | 8 |
| 2.4. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri | 11 |
| 2.4.1. Su Distilasyonu | 11 |
| 2.4.2. Buhar Distilasyonu | 12 |
| 2.4.3. Su-Buhar Distilasyonu | 12 |
| 2.4.4. Soğukta Sıkma | 12 |
| 2.4.5. Çözücü Ekstraksiyon | 12 |
| 2.4.6. Sıvılaştırılmış Gazlarla Ekstraksiyonu | 13 |
| | |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER | 14 |
| | |
| 3.1. Kullanılan Bitkisel Materyal, Kimyasal Maddeler ve Aletler | 14 |
| 3.1.1. Bitkisel Materyal | 14 |
| 3.1.2. Kimyasal Maddeler | 14 |
| 3.1.3. Aletler | 14 |

| | | |
|----------|---|----|
| 3.2. | Deneysel Çalışma | 15 |
| 3.2.1. | Morfolojik ve Anatomik Çalışma | 15 |
| 3.2.2. | Nem Tayini | 15 |
| 3.2.3. | Distilasyon İşlemleri | 15 |
| 3.2.3.1. | Su Distilasyonu | 15 |
| 3.2.3.2. | Buhar Distilasyonu | 16 |
| 3.2.4. | Analitik Çalışmalar | 17 |
| 3.2.4.1. | Yoğunluk Tayini | 17 |
| 3.2.4.2. | Kırılma İndisi | 18 |
| 3.2.4.3. | Optik Çevirme | 18 |
| 3.2.4.4. | Gaz Kromatografisi (GC) | 18 |
| 3.2.4.5. | Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC/MS) | 19 |
| 3.2.4.6. | Kolon Kromatografisi | 19 |
| 4. | DENEYSEL BULGULAR | 20 |
| 4.1. | Botanik Çalışma | 20 |
| 4.1.1. | Morfolojik Çalışma | 20 |
| 4.1.2. | Anatomik Çalışma | 23 |
| 4.1.2.1. | Yaprak | 23 |
| 4.1.2.2. | Gövde | 23 |
| 4.2. | Nem Tayini | 30 |
| 4.3. | Uçucu Yağ Eldesi | 30 |
| 4.4. | Uçucu Yağlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar | 30 |
| 4.4.1. | Analitik Çalışmaların Sonuçları | 30 |
| 4.4.2. | Gaz Kromatografisi (GC) Sonuçları | 31 |
| 4.4.3. | Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi Sonuçları | 31 |
| 4.4.4. | Kolon Kromatografisi Sonuçları | 31 |
| 5.5. | SONUÇ VE TARTIŞMA | 38 |
| | KAYNAKLAR DİZİNİ | 43 |

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ülkemiz florası uçucu yağ taşıyan bitkilerin çeşitliliği ve yaygınlığı yönünden zengindir. Bu bitkilerin çoğu halk arasında ve endüstride kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı halk arasında "Dağ Nanesi" adıyla bilinen ve yetiştiği yörelerde nane yerine kullanılan (15, 33) *Cyclotrichium niveum*'un morfolojik, anatomik özelliklerinin incelenmesi ve uçucu yağının bileşenlerinin tanımlanmasıdır. Ülkemizin endemik bir türü olan bu bitkinin botanik özellikleri ve uçucu yağı ile ilgili bir araştırmaya literatür taraması sırasında rastlanmamıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1 Botanik Özellikler ve Yayılışı

Cyclotrichium cinsi, Labiatae (Lamiaceae) familyasına aittir. Bu familyaya ait bitkilerde olduğu gibi *Cyclotrichium* cinsi de uçucu yağ taşımakta olup, bu cinsin Türkiye'de 5 türü yetişmektedir. Bu türlerden 2 tanesi endemik tür olup, çok yıllık çalimsı bitkilerdir.

CYCLOTRICHIMUM (Boiss.) Manden & Scheng.

Bitki çok yıllık çalimsı; tüyler basit ve salgı tüysüz veya dallanmış sapsız veya az çok saplı salgı tüylü. Yaprak az çok ovat, tam veya az dentat, düz, kısa saplı. Vertisillastrumlar yapraklı çiçek ekseninde aralıklı dizilmiş, 6 veya daha çok sapsız çiçekli veya bazen ayrı ikinci bir simoz içerir. Brakteoller lanseolat-akuminat veya linear, kaliks tübü veya yarısı kadar uzunlukta. Kaliks hemen hemen düzgün, sub-bilabiat, veya bilabiat, düz veya az kıvrık, 13 damarlı, boğazda tüylü. Korolla tübü resupinat, annulat, üst dudak (abaksial) tam veya emarginat, alt dudak (adaksial) 3 parçalı. Stamenler 4, uzun ve korolla tübünden dışarı çıkmış, teka paralel. Stilus dalları az çok eş veya değil, subulat. Nutlet (küçük fındıksı meyva) uzunca ovoid, tüysüz.

Sin : *Calamintha* L. Seksiyon *Cyclotrichium* Boiss., Fl. Or. 4: 576 (1879)

Mandenova ve Schengelia tarafından bir İran-Turan cinsi olarak ele alınmıştır. C. Asiatic *Lophanthus* Adans. la ilişkili olduğu için *Nepeta*'ya yakın bir cinistir. Benzerliğine rağmen, *Cyclotrichium*, *Calamintha* ile kongenerik değildir.

- | | |
|---|-------------------------|
| 1. Bitki yoğun beyaz dallanmış tomentos tüylü | 1. niveum |
| 1. Bitki yukardaki gibi değil | |
| 2. Kaliks belirgin bilabiat, üst dudak sadece yarıya kadar bölünmüş az veya çok geriye kıvrık, dişler 0.5-1.5 mm, üç köşeli ve akuminat | 2. origanifolium |
| 2. Kaliks sub-bilabiat, dişler dışa doğru uzanmış, hepsi lanseolat ve akuminat | |
| 3. Gövde glandular- puberulant, en azından nodlarda uzun, yaygın eglandular tüylü ; alt kaliks dişleri 1.5- 2 mm., asla siliat değil | 3. leucotrichium |
| 3. Gövde glandular - pruinosa, uzun eglandular tüyler yok ; alt kaliks dişleri 2.5 -4 mm., siliat veya değil | |
| 4. Kaliks 1/3 ine kadar sub-bilabiat, tüp uzun tüylü veya tüysüz ; dişler lanseolat - subulat, siliat veya değil | 4. stamineum |
| 4. Kaliks 1/2 - 1/3 ine kadar sub-bilabiat, tüp asla uzun tüylü değil ; dişler subulat, nadiren siliolat | 5. glabrescens |

1. *C. niveum* (Boiss.) Manden Scheng.in Not.Syst.(Leningrad) 15: 337 (1953)
 Sin: *Calamintha nivea* Boiss, in Ann.Sci.Nat.ser. 4, 2: 253 (1854); *Clinopodium niveum* (Boiss.) Kuntze, Rev.Gen. 2: 515 (1891); *Satureja nivea* (Boiss.) Briq. in Engler Prantl, Natürl.Pflanzenfam. 4, (3): 299 (1895).

Gövde askend-dik, 25-50 cm. Bitki yoğun beyaz tomentos kısa dallanmış tüylü. Gövde yaprakları (orta yapraklar) 8-14 x 6-9 mm, ovat-eliptik, tam. Vertisillastrumlar 3-10, simoz kısa saplı, yayvan ve aynı tarafta, diğer türlerden daha fazla yaygındır. Brakteoller linear-linear subulat, kalikslardan daha kısa. Kaliks tübü düz, 4-6 mm, 1/5'ine kadar bilabiata, üst diş üç köşeli ve mutikus, 0.4 - 0.6 mm, alt diş üç köşeli ve subulat, 1-1.5 mm. Korolla gül rengi veya leylak, 7-9 mm.

Çiçeklenme: Temmuz-Ağustos.

Habitat : Kayalık ve kalker yamaçlar (Step) ve kayalıklar, 1200 - 1830 m.

Tip : (Türkiye B6 Malatya) Kapadokya merkez olmak üzere Ketché-Mesara dan Gürün'e Tchihatcheff (G?).

Doğu Anadolu. B6 Malatya: Malatya'dan Gürün'e 40 km, alt. 1400 m, McNeill 466! Darendé'nin 5 km Kuzeybatısında alt. 1200 m, Sorger 77-105-20! B7. Sivas: Deli Dağı, Bornm. 1893:3482! Gürün'den Sivas'a 5 km, alt. 1700 m, Hub.-Mor.15570! Erzincan: Egin (Kemaliye) den Kolsan'a, Sint, 1890: 2901! Malatya/Adıyaman: Ak Dağı, alt. 1830 m, 12ix 1865, Hauskn.!

Endemik. İran - Turan elementi. Beyaz, dallanmış intementumu dolayısıyla diğer türlerden çok farklıdır.

2. *C. origanifolium* (Labill.) Manden Scheng.in Not.Syst.(Leningrad) 15:337 (1953). Sin.: *Clinopodium origanifolium* Labill.,Icon. Pl. Syr. 4:14 (1812); *Calamintha origanifolia* (Labill.) Boiss., Diagn. ser. 1(12): 50 (1853); *Calamintha origanifolia* (Labill.) Boiss. var. *velutina* Boiss. Heldr. in Boiss., Diagn. ser. 1(12): 51 (1853)! *Clinopodium floridum* (Boiss.) Kuntze, Rev. Gen. 2: 515 (1891)! *Satureja origanifolia* (Labill.) Briq. in Engler et Prantl, Natürl. Pflanzenfam. 4(3a): 299 (1895); *Satureja florida* (Boiss.) Briq., loc. cit. (1895)! *Calamintha florida* Boiss. var. *villicaulis* Bornm. in Feddes Rep. 49: 250 (1940); *Cyclotrichium floridum* (Boiss.) Manden. & Scheng.in Not. Syst. (Leningrad) 15: 336 (1953)! Ic: Labill., Icon. Pl.Syr. t. 9 (1812), as *Clinopodium origanifolium*; Post (ed. Dinsm.), Fl. Syria 2: 344, f.562 (1933), as *Calamintha origanifolia*; Manden.Scheng., op. cit. 335, fig.(1953), as *Cyclotrichium floridum*.

Bitki değişken, sapsız veya az çok saplı glandular veya genellikle glandular olmayan hirsut veya pubescent tüylü. Gövde askend, hemen hemen dik, zikzaklı veya prokumbent. Gövde yaprakları (6-) 8-15 x (4-) 5-13 mm, ovat-ovat orbikular, tam. Vertisillastrumlar 2-4, aralıklı. Brakteoler lanseolat - akuminat ve subulat, takriben kaliks túbünün uzunluğu kadar. Kaliks biraz geriye kıvrık, 4.5-7.5 mm, genellikle hirsut tüylü, belirgin 1/4'ine kadar bilabiat, dişler siliat, üst dudak yarıya kadar 3-dişli, üst dişler 0.5-1.5 mm, genellikle üç köşeli ve akuminat ve yukarı doğru kıvrık, alt dişler üç köşeli ve subulat, 1.2-2.5 mm. Korolla soluk mor, viyole veya pembe, nadiren beyaz, 8-12 mm.

- Çiçeklenme : Temmuz-Eylül
 Habitat : Kuru dağlık yerler,kalkerli taşlıklar ve kayalar, 1300-2200m.
 Tip : (Lübnan) Libano, Labillardiere (holo.Fl).

Güneybatı ve Güney Anadolu. C2 Denizli: Acıpayam, Bozdaę, alt. 1670 m, D.13404! C3 Antalya: Tahtalı Dağı, alt. 2100 m, D. 14144! Isparta: Davras Dağı, alt. 1500 m, 1845, Heldr.! C4 İçel: Anamur, Olucak Ermenek ve Anamur arasında ,alt. 1700 m, D.16334b! Antalya: Ak Dağı Karabuynus Yaylası civarı, alt. 2000m, D.14533! C5 Nięde: Toros, Kotschy 478 (*C. florida* 'nın tip örneği)! Bulgar Maden, alt. 1400-2000m, Siehe 1896:586! Adana: Karaisalı, Bulgar Dağı, Pozantı ve Meydan arasında, alt. 1500 m, D. 16585! C6 Adana: Amanos, Düldül Dağı, alt. 1500-1800 m, Haradj.3846!

Lübnan. Doğu Akdeniz elementi. Habitatlarda indementum ve çiçek boyutlarında çok değişkenlik gösterir. Birçok lokal ırklara ayrılmıştır. C3 Antalya: Tahtalı Dağ.'dan toplanan örnekler glandular-pubescent kalikse sahip ve uzun tüyleri yoktur. Düldül Dağından (Amanos) toplanan bahçe örnekleri son derece küçük yapraklı ve ince uzundur.

3. *C. leucotrichium* (Stapf ex Rech.fil.) Leblebici in Bitki 1: 405 (1974) Sin: *Calamintha leucotricha* Stapf ex Rech. fil. in Öst.Bot.Zeitschr.99: 62(1952)! Ic: Öst. Bot. Zeitschr. 99: 54 f. 11a (1952).

Bitki sarımsı-yeşil, glandular puberulent, genellikle gövdede en azından nodlarda uzun ve yaygın glandular olmayan tüylere sahiptir. Gövdeleri askend-dik, 15-30 cm Gövde yaprakları 18-25 x 10-15 mm, ovat, sert, tam veya hemen hemen öyle. Vertisillastrumlar 5.5-8 mm, 1/3' ine kadar sub-bilabiat, glandular-puberulent; dişler dışa ileri doğru uzanmış, lanseolat, asla siliat değil; üst diş 1-1.5 mm, alttaki 1.5-2 mm, Korolla soluk viyolet, 9-12 mm.

- Çiçeklenme : Temmuz
 Habitat : Kayalık kireçtaşı yamaçlar ve yarıklar. c.1000-1500 m.

Tip : (Türkiye C 8 Mardin) Mardin, Rişmil, 23.vı.1888 Sintenis 1352
(holo.WU, iso.E! LD!).

Güneydoğu Anadolu. C8 Mardin: Karamanköyü, 24. VII. 1970, T.
Baytop (ISTE 18228)! Kızıltepe'den Mardin'e, 1500 m, Koyuncu ve
Güneş 4466!

Kuzey Irak, İran-Turan elementi. *C.stamineum*'la ilişkilidir.

4. *C. stamineum* (Boiss. Hohen.) Manden Scheng. in Not.Syst. (Leningrad) 15:
337 (1953). Sin: *Micromeria staminea* Boiss. Hohen. in Boiss., Diagn. ser. 1, (5): 19
(1844)! *Calamintha staminea* (Boiss. Hohen.) Boiss., Diagn. ser. 1, (12): 51 (1853)!
Clinopodium stamineum (Boiss. Hohen.) Kuntze, Rev. Gen. 2: 516, (1891)! *Satureja*
staminea (Boiss. Hohen.) Briq. in Engler Prantl, Natürl. Pflanzenfam. 4, (3a): 299
(1895)! Ic: Öst. Bot. Zeitschr. 99: 54, f. 11b, (1952).

Bitki mavimsi yeşil, küçük glandular-pruinosa, yapraklar ve gövde üzerinde uzun
tüyler yoktur. Gövde dik, 14-32 cm. gövde yaprakları 15-20 x 7-5 mm, oval, tam.
Vertisillastrumlar 2-8. Brakteoller lanseolat-linear, kaliks tübü veya yarısı kadar
uzunluktadır. Kaliks düz, 6-8 mm, 1/3'üne kadar sub-bilabiata, hemen hemen sapsız
glandlı, tüp piloz-hirsut veya değil; dişler dışa doğru uzamış, lanseolat ve subulat, siliat
veya değil; üst diş 1.5-3 mm, alttaki 2.5-4 mm. Korolla leylak, soluk mor veya gül
rengi, 8-12 mm.

Çiçeklenme : Haziran-Ağustos

Habitat : Kayalık kalkerli yamaçlar, 1200-1830 m.

Tip : (Kuzey Irak) in fissuris rupium montis Gara Kurdistaniae,
Kotschy 311(holo.G! iso BM! K!)

Güneydoğu Anadolu. C9 Hakkari: Cilo Dağı ,Diz Deresi, alt. 1700 m,
D.23924! Çukurca, alt. 1200 m, D.47745! C10 Hakkari: Oramar civari
(Cilo Dağının güneyi.), alt. 1830 m, Trelawny 1845!

Kuzey Irak, İran-Turan elementi. D.47745 ve Trelawny 1845'in, siliat kaliks dişli uzun
tüylü kalikslere sahip olan örneklerde tip örneğinden farklıdır. Mamafih Irak'tan, hatta
aynı tip lokalitesinden toplanmış örnekleri benzer bir varyasyon dizisi göstermişlerdir. *C.*
stamineum, *C. glabrescens* ve *C. longiflorum*'un her ikisi ile de çok yakın ilişkilidir.

5. *C. glabrescens* (Boiss. Kotschy ex Rech fil.) Leblebici in Bitki 1: 406 (1974).
Sin: *Calamintha glabrescens* Boiss.& Kotschy ex Rech fil. in Öst. Bot. Zeitschr. 99:
62, 63 f.12, (1952)!

Bitki mavimsi yeşil, glandular-pruinosa, uzun tüyler yoktur. Gövde ascend, ince uzun, 10-25 cm. Gövde yaprakları 10-20 x 12-16 mm, ovat, tam veya hemen hemen öyle. Vertisillastrumlar (1-) 2-5, yoğun 6 veya daha çok çiçekli. Brakteoller lanseolat, kalikslerin 1/2-3/4'ü kadar. Kaliks biraz geriye kıvrık, 7-8 mm, glandular-pruinosa, sub-bilabiata; dişler dışa doğru uzamış ve subulat, nadiren siliolat, üst diş takriben 2 mm kadar, alttaki 2.5-3 mm'ye kadar. Korolla soluk mor, 9-12 mm.

Çiçeklenme : Temmuz

Habitat : Kalkerli kayalıklar, 1100-2000 m.

Tip : (Türkiye B8 Muş) iter cilicico-kurdicum ad urbem Muş in subalpinis, c. 2000 m, 9 ix 1859, Kotschy 1859:Suppl. 688 (holo.W, iso.G!K!).

Güneydoğu Anadolu. B8/9 Bitlis: 30 km from Bitlis'ten Diyarbakır, Sarıkonak'tan Narlıdere'ye, alt. 1100-1200 m, Ehrend.ve ark..787-85-1!
B9 Bitlis: Baykan'ın 25 km kuzeyinde, alt. 1040 m, Hub.-Mor. 11385!

Endemik. İran-Turan elementi. *C. stamineum*'a çok yakındır ve belki spesifik olarak farklı değildir. Ehrendorfer'in bahçe örneklerinde kaliks dişleri siliat olmayandan siliolata kadar değişir (21).

2.2. *Cyclotrichium* Türleri ile Yapılan Kimyasal Çalışmalar

C. niveum ile yapılmış tek araştırmada toz edilmiş tüm bitkinin Soxhlet aparatında aseton ile hazırlanan ekstresinden β -amirin, sitosterol, vergatik asit, oleanolik asit isimli triterpenoitler, apigenin, apigenin-7-metileter, eriodiktiyol 7-O-glikozit, izosakuranetin, izosakuranetin 7-O-ramnozid, akasetin 7-O-rutinozid isimli flavanonlar izole edilerek tanımlanmıştır (24).

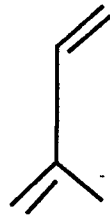
2.3. Uçucu Yağlar

Uçucu yağlar bitkilerden veya bitkisel droglardan elde edilen özel kokulu, adi sıcaklıkta sıvı halde olan uçucu maddeler karışımıdır. Uçucu yağlar genellikle bitkinin bağlı olduğu familyaya göre belirli oranda salgı tüylerinde, salgı ceplerinde, salgı kanallarında veya salgı hücrelerinde bulunurlar. Bazen Piperaceae familyasında olduğu gibi değişikliğe uğramış parenkima hücrelerinde veya gül'de olduğu gibi epiderma veya parenkima hücrelerinde dağılmış olarak bulunurlar. Genellikle zambak ve reçinelerle birlikte bulunurlar ve havayla uzun temas sonucu reçineleşirler. Uçucu yağ taşıyan aromatik bitkiler genellikle sıcak iklim bölgelerinde yetişirler. Akdeniz bölgesi bu bakımdan zengindir.

Uçucu yağlar genellikle suda az, etanol ve çoğu organik çözücülerde ve yağlarda çok çözünürlürlü. Uçucu yağlar suda belli oranda, alkolde çok çözünürlürlü.

Uçucu yağlar genellikle hidrokarbonlar ve oksijenli hidrokarbon türevlerinden meydana gelmişlerdir. Bir kısmı glikozitlerden hidroliz yoluyla açığa çıkar. Bazı uçucu yağlarda hidrokarbonlar çoğunluktadır, pek az oksijenli bileşik vardır. Uçucu yağın koku ve tadı oksijenli bileşiklerden dolaydır. Uçucu yağların çoğu terpenoit kökenlidir. Pek azı da aromatik (benzen) türevlerinin terpenlerle karışımı halindedir. Bir kaç bileşikte terpenoit kökenli olmasına rağmen aromatik yapıdadır. Uçucu yağlarda mono ve seskiterpenlere rastlanır. Monoterpenler parfümlerde ve gıda tatlandırıcılarında kullanılmaktadır. Anti-bakteriyel, antifungal, antikanser etkilerinin olduğu bilinmekte, ilaç endüstrisindeki önemleri de gün geçtikçe artmaktadır (93)

2.3.1. Monoterpenler



İzopren molekülü: C₅H₈

Monoterpenlerde 38 farklı iskelet tipine rastlanmıştır. Bunların çoğu "düzenli tip"tedir, yani iki izopren molekülü "baş-kuyruk" bağı ile bağlıdır. Bu grupta, asiklik mirsan (2,6-dimetil lakton), monosiklik p-mentan, iridan ve bisiklik tuyan, karan, pinan ve bornan sıkça rastlanan yapılarıdır. Bu tipin daha az rastlanan üyeleri; 4 üyeli halka taşıyan fragranol (1) (*Artemisia fragrans*) ve grandisol (2) (*Anthonomus grandis*), 7 üyeli halka taşıyan ökarvon (3) (*Asarum sieboldii*) ve tuyik asit (4) (*Thuja* türleri) tir.

Birçok monoterpenin doğada tek bir optik izomeri bulunur. Fakat aynı bitkide iki izomerinde bulunması haline de sıkça rastlanır. (+) ve (-) α-pinen (5) in bütün *Pinus* türlerinde, kafurun (6) iki antipodunun bir çok *Chrysanthemum* türünde, karvonun her iki enantiomerinin *Cymbopogon* uçucu yağında bulunduğu bilinmektedir.

Oksijenli monoterpen türevlerine daha az rastlanır. Bunlar furanoit ve piranoit monoterpenlerdir. Çoğu ya mirsan yada p-mentan iskeleti taşır. Örn: mirsan iskeleti taşıyanlar, izomerik furanlar (7) *Cydonia oblonga*, spiro eterler (8,9) *Geranium* uçucu yağında, furfuraldehit (10) *Tagetes glandulifera* ve tetrahidropiran (11) *Tanacetum boreale*'de veya p-mentan iskeleti taşıyanlar örneğin: (+) - evodon (12), kalaminton (13) ve mentofuran (14) *Calamintha ashei*'de bulunurlar. *Rosa gallica* yağında bulunan digeranil eter (15) gibi bileşikler de az rastlanan eter türevleridir.

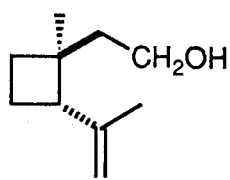
Bilinen düzensiz tipteki monoterpenlerin yeniden düzenlenme reaksiyonlarıyla düzenli prekürsörlerden meydana geldiği düşünülmektedir. Örneğin izokamfenler kamfenden (16) *Chrysanthemum japonense* deki nojigiku alkol (17) bornan iskeletinden, fenkon (18) ve α - fenkol (19) gibi çok bilinen örnekleri olan fenkanların pinan iskeletinden meydana geldiği bilinmektedir. *Baccharis* ve *Piqueria* türlerinden izole edilen karkuejol (20) ve türevlerinde rastlanan düzensiz o-mentan iskeleti bir pinan prekürsöründen meydana gelmiştir. *Eupatorium* ve *Senecio* türlerinden izole edilen m-mentan esterlerinin (21) meydana geliş şekilleri ise bilinmemektedir. Bazı m-mentan türevlerinin (Örn: Silvestren (22) *Pinus silvestris* ten, m-mentha-1,8 (9)- dien- 5- ol (23) *Cannabis sativa*'dan elde edilmiştir) izolasyon prosedürünün artifaktları olabileceği düşünülmektedir.

Düzensiz monoterpenlerin bir kısmı biogenetik izopren kuralına uymazlar. Bunun iyi bilinen örnekleri *Santolina* ve *Artemisia* izole edilen santolinatrien (24) ve türevleri, artemisia keton (25) ve yomogi alkol A (26) gibi santolinan ve artemisanlar ve *Lavandula* yağındaki lavandulol (27) gibi lavandulanlardır. Bu bileşiklerin biyosentezinde trans-krizantemil pirofosfatın parçalanması söz konusudur, iki C5 ünitesinin orta - kuyruk bağı teşkil etmesi ile meydana gelirler. Bu yolun detayları henüz bilinmemektedir. Epstein ve Gaudioso (1984) nun hipotezine göre 2,7-dimetillakton ve rotrokil iskeletinden meydana gelmektedirler. Mısır yasemin esansındaki alkol ve *Artemisia tridentata* var. *rothrocii* deki rotroken bu tip iskelet taşıyan yeni bulunmuş bileşiklerdir (38).

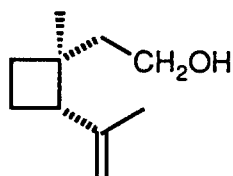
2.3.2. Seskiterpenler

Seskiterpenler, birçok farklı organizmada rastlanan büyük bir madde grubudur ve terpenoidlerinde en geniş sınıfını oluştururlar. Günümüzde 100 den fazla seskiterpen iskeleti bilinmektedir, binlerce seskiterpen bileşiği isole edilmiş ve tanımlanmıştır. Bu bileşiklerin çoğunun yapısının aydınlatılması yeni kromatografik ve spektroskopik metodların gelişmesi sonucunda son 20 yılda gerçekleşmiştir.

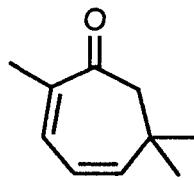
İlk seskiterpenoid çalışması, bitkisel uçucu yağda monoterpenoidlerle beraber yüzyıl önce yapılmıştır. Karanfil ve ardıç yağları (*Eugenia caryophyllata* ve *Juniperus virginiana*'dan elde edilmiştir) ilk çalışılan örneklerdir. Daha sonra *Pogostemon patchouli*'den elde edilen paçuli yağı incelenmiştir. Bu yağın bazı özellikleri rapor edilirken molekül formülü C₁₅H₂₄ olarak verilmiştir. Seskiterpenlerin yapısının 3 izopren ünitesinden meydana geldiği ve naftalen çekirdeğinin anayapısını oluşturduğu ve diğer bileşiklerdeki terpenoid yapıların izopren kaidelerinden oluştuğu açıklanmıştır. 1913'te farnesol (28) yapısı açıklanmıştır , böylece seskiterpenlerde asiklik bileşikler ilk kez gösterilmiştir.



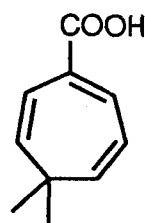
1



2



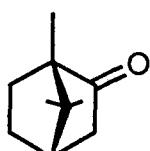
3



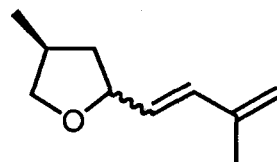
4



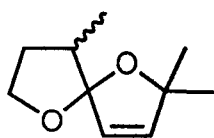
5



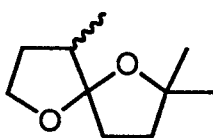
6



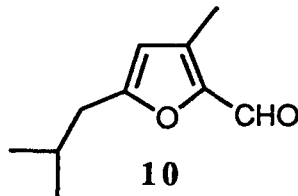
7



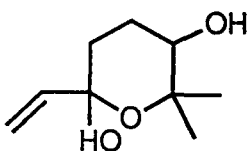
8



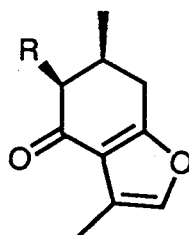
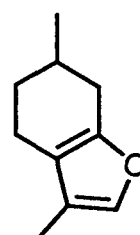
9



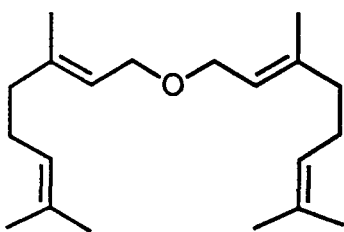
10



11

12 R=H
13 R=OAc

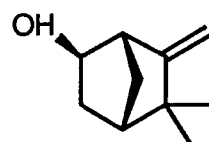
14



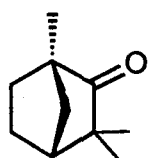
15



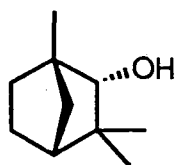
16



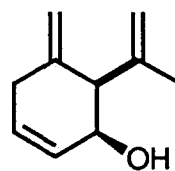
17



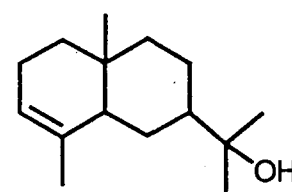
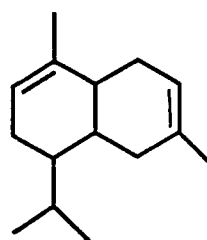
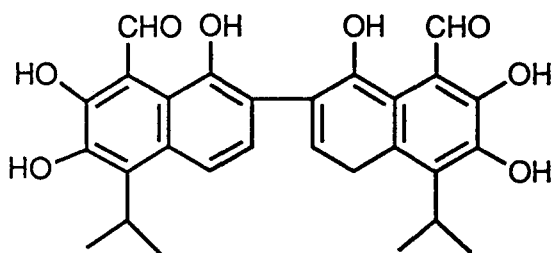
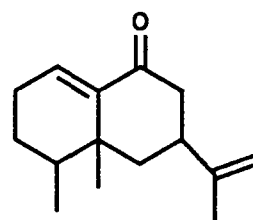
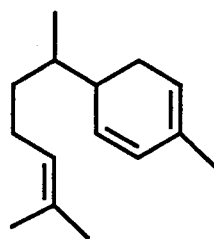
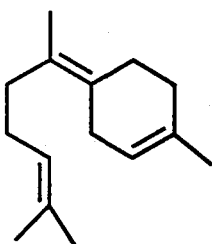
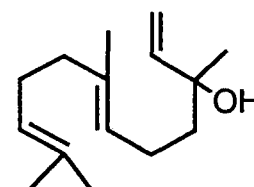
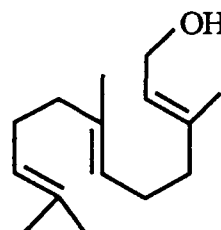
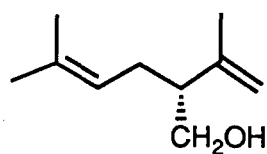
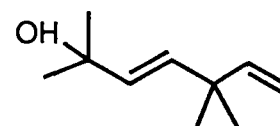
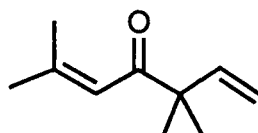
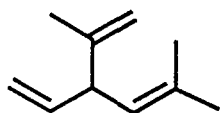
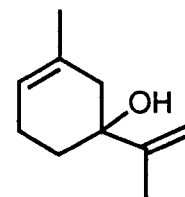
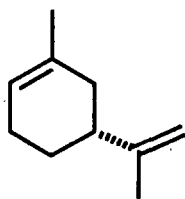
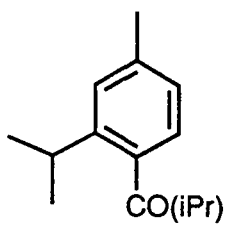
18



19



20



Kadinen ve ödosmol gibi seskiterpenlerin Vesterberg'in sülfür metodu ile dehidrojenasyonu önce açıklanmış, daha sonra Ruzicka ve arkadaşları aromatik hidrokarbonlardan kadelen ve ödalen yapısını, bir yıl sonrada nerolidol (29) ün yapısını ilk kez izopren kaidesi ile açıklamıştır. Opoponax yağından α -bisabolen (30) ve zencefil yağından zingiberen (31) tanımlanmıştır. Dimerik seskiterpenlerden gossipol (32) pamuk tohumlarından izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Eremofilon (33) *Eremophilla mitchelli* den izole edilmiş ve yapısı aydınlatılmıştır. Bu yapısı Wallach kaidesiyle aydınlatılan ilk tabii seskiterpendir. Kadinen (34) ve ödesmol (35) de çifte bağın pozisyonu tanımlanmıştır. Bunlar ve benzer pek çok çalışma Ruzicka okulunda yapılmış, gelişmeler "Biogenetic Isoprene Rule" de verilmiştir.

Seskiterpenler izopentil pirofosfat ile 3,3-dimetilallilpropilfosfat'ın (geranil pirofosfatı vermesi şeklinde) kondensasyonla geranil pirofosfat oluşurlar. Daha sonra 2E, 6E- farnesil pirofosfat formundaki izopentenil pirofosfatın bu moleküle ilavesi ile 15 C atomlu karakteristik seskiterpen molekülü oluşur. Bu iki basamak farnesilpirofosfatsintetaz enzimiyle katalizlenir, bu enzim birçok kaynaktan izole edilmiştir.

Siklik seskiterpenlerin biyosentezinde; farnesil pirofosfat (2E, 6E ve 2Z, 6E izomerlerinin her ikisinde) veya nerolidil pirofosfatın siklizasyonu temel alınır ve katyonik ortam ile hipotetik yol kullanılarak açıklama yapılır.(38)

2.4. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri

Uçucu yağ eldesi için yöntem seçerken uçucu yağın sıcaklık veya suya karşı hassasiyeti, uçuculuğu ve sudaki çözünürlüğü gibi özellikler göz önünde tutulmalıdır.

Uçucu yağ eldesinde 4 temel yöntem kullanılır.

- Su veya buhar distilasyonu
- Soğukta sıkma
- Çözücü ekstraksiyonu
- Sıvılaştırılmış gazlarla ekstraksiyon

2.4.1. Su distilasyonu (Adi distilasyon-Hidro distilasyon)

Kurutulmuş veya kaynatılınca bozulmayan materyalden uçucu yağ suyla adi distilasyon yoluyla elde edilir. Drog su ile kaynatılınca oluşan buhar ile sürüklenen uçucu yağ soğutucuda kondanse olup Florentin kabı adı verilen toplama kabında suyun üstünde birikir. Gül yağı eldesi bu yolla yapılmaktadır.

2.4.2. Buhar distilasyonu

Bütün tıbbi uçucu yağlar, Limon esansı ve Ardıç katranı hariç distilasyon yoluyla elde edilirler. Modern uçucu yağ distilasyon sistemlerinde drog delikli tava veya sepetlere yerleştirilir, ve basınç ile taze drog üzerine gönderilen subuharı yağı sürükleyerek soğutucuya götürür. Sıvılaştıran su-yağ karışımı toplama kabında yoğunluk farkından dolayı 2 tabakaya ayrılır. Bu yöntemle buhar distilasyonu denir.

2.4.3. Su -buhar distilasyonu

Hidrodistilasyon sırasında kaynamayı hızlandırmak ve distilasyon süresini kısaltmak amacıyla distilasyon kazanına buhar enjekte edilir. Bu uygulamaya su-buhar distilasyonu denir. Su buharıyla sürüklenen uçucu yağ soğutucuda kondanse olup Florentin kabında birikir.

Florentin kabı yağın sudan ayrılmasını sağlayan toplama kabıdır. Sudan hafif olan yağlar kabın üst kısmında toplanır, ve üst kısmında bulunan bir musluktan yağ alınır. Sudan ağır olanlar ise dipte toplandıklarından dipte bulunan bir musluktan tahliye edilir.

2.4.4. Soğukta sıkma

Bazı uçucu yağlar distilasyon yöntemi ile bozulurlar. Bu yağların elde edilmesi için narenciye kabukları preslerde sıkılır ve akan yağ toplanır. Kalan yağ suyla yıkayarak kabuktan alınır. Yağ-su emülsiyonu santrafuj edilerek ayrılır. Bazen kabuklar sünger içinde sıkılır ve süngere geçen yağ sonradan sıkılarak elde edilir. Sıkma yoluyla elde edilen narenciye esansları soğutulduklarından kumarin türevi maddelerden ibaret bir çökelti verirler.

2.4.5. Çözücü ekstraksiyonu

Drog uygun bir organik çözücü ile (benzen, heksan, heptan) ekstre edilir. Organik çözücüye geçen uçucu yağ, sabit yağ, renk maddeleri ve mumlar çözücünün alçak basınçta uçurulması sonucu elde edilirler. Bu bakiyeye konkret denir. Konkret etanol ile tüketilirse kokulu maddeler alkole geçer ve absölü adını alan bu kısım parfümeride kullanılır. Türkiye'de gül ve tütün konkretleri elde edilmektedir. Uçucu yağ eldesinde kullanılan en pahalı yöntem enfleurage usulüdür. Bunun için taze drog (özellikle nadide çiçeklerin petalleri) ince bir kokusuz sabit yağ (domuz yağı) tabakası üzerine serilir. Bir müddet bırakılır. Mekanik yolla veya elle toplanan petallerin yerine tazeleri konur ve petallerdeki uçucu yağların sabit yağa geçmesiyle bir süre sonra doyan sabit yağ kazınarak alınır ve etanolle ekstre edilir. Etanolün alçak basınçta yoğunlaştırılması ile uçucu yağ elde edilmiş olur. Bu usul halen Fransa'da nadide parfümlerin hazırlanmasında kullanılan bir yöntemdir.

2.4.6. Sıvılaştırılmış gazlarla ekstraksiyon

CO₂ gibi sıvılaştırılmış gazlar kullanılarak gerçekleştirilir. CO₂ inert olduğu ve toksik olmadığı için tercih edilir. CO₂'in kritik noktası 73 kg/cm² basınçta ve 31°C'dedir. İşlem sıvılaştırılmış gazın kritik noktasının civarında yüksek basınçlı ekstraksiyon kabında sirkülasyonu ile gerçekleştirilir. Çözücü gaz ekstreden basıncın değiştirilmesi ile veya buharlaştırılarak tamamen uzaklaştırılmaktadır. Geri kazanılan gaz sıkıştırılarak tekrar kullanılabilir. Elde edilen ürün diğer yöntemlerle elde edilenlere oranla daha iyi kalitede olmakta ve tercih edilmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu bölümde, öncelikle çalışmalarımızda kullanılan bitkisel materyal, kimyasal maddeler ve aletler belirtilmiş ve daha sonra ise yapılan deneysel çalışmalar konusunda bilgi verilmiştir.

3.1. Kullanılan Bitkisel Materyal, Kimyasal Maddeler ve Aletler:

3.1.1. Bitkisel materyal

Bu çalışmada kullanılan *Cyclotrichium niveum* 25.8.1991 tarihinde Sivas Gürün Darende mevkiinde, 20 km. den toplanmıştır. Bitki örnekleri Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda saklanmaktadır (ESSE 9228).

3.1.2 Kimyasal maddeler

- Etil alkol (% 70 lik)
- *n*-Hekzan (Merck)
- Metanol (Merck)
- Ksilen (Merck)

- Sartur Reaktifi : Saf laktik asit 60 ml, Soğukta sudan III ile doyurulmuş laktik asit 45 ml, saf anilin 2 g, iyot 0.2 g, potasyum iyodür 1 g, alkol 95° 10 ml, distile su 80 ml.

Hazırlanışı: 1) Soğukta Sudan III ile doyurulmuş laktik asit hazırlamak için, asit, çözebileceği miktardan biraz fazla Sudan III ile beraber arasına çalkalamak şartı ile birkaç gün kendi haline bırakılır ve sonra cam pamuktan süzülür. 2) 60 ml laktik asit içine 2 g anilin konur, çalkalanır ve üzerine Sudan III ile doyurulmuş 45 ml laktik asit ilave edilir. 3) 1 g potasyum iyodür, 10 ml alkol ve 0.2 g iyot ilave edilir. İyot tamamen eridikten sonra bu solüsyon laktik asitli solüsyona ilave edilir ve üzerine 70 ml distile su konur.

- Gliserin-jelatin : 1 kısım jelatin, 7 kısım gliserin, 6 kısım distile su ve her 100 g karışım için 1 g fenol kullanılarak hazırlanır.

3.1.3. Aletler

- Binoküler Mikroskop (Leitz SM-LUX) ve Resim Çizme Tüpü
- Abbe Refraktometresi (Shimadzu Bausch Lamb)
- Polarimetre (Optical Activity)
- Gaz Kromatografisi (GC) (Shimadzu GC -9A + C-R4A Entegratör)
- Gaz Kromatografisi - Kütle Spektrometrisi Sistemi (GC/ MS), (Shimadzu GC 14 A/QP 2000 A)

- Volumetrik Nem Tayin Apareyi
- Clevenger Apareyi
- Rotavapor
- Buhar Distilasyonu Apareyi

3.2. Deneysel Çalışma

Bu bölümde *Cyclotrichium niveum* bitkisinden uçucu yağ eldesi için yapılan su distilasyonu işlemleri ve elde edilen yağın özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan analitik çalışmalar verilmiştir.

3.2.1. Morfolojik ve anatomik çalışma

Morfolojik ve anatomik çalışmalar için % 70 lik alkol içinde saklanmış örnekler kullanılmıştır. Gövdenin ve yaprakların orta bölgelerinden alınan kesitler ile yaprak yüzeyel kesiti sartur reaktifi ile boyanarak gliserin-jelatin içine alınmış, anatomik çizimler bu preparatlar üzerinden yapılmıştır.

3.2.2. Nem tayini

Distilasyon işlemlerinde elde edilen uçucu yağ verimini kuru baz üzerinden hesaplamak amacıyla distilasyon işlemlerinden önce materyalin içerdiği nem miktarı volumetrik yöntemle belirlenmiştir. Bu amaçla yapılan nem miktarı tayinlerinde Şekil 3.1. de görülen volumetrik nem tayin apareyi kullanılmıştır.

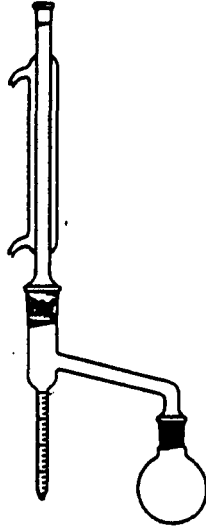
İşlemler için 10-15 gr kadar elle ufalanmış materyal tam olarak tartılıp, 250 ml lik bir balona konulmuş ve üzerine 100 ml su ile doyurulmuş ksilen ilave edip, su miktarı sabit kalıncaya kadar geri çeviren soğutucu altında kaynatılmıştır. Dereceli tüpte toplanan Ksilen+Su karışımı tamamen ayrıldıktan sonra dip kısımda toplanan suyun miktarı okunup materyalin içerdiği nem miktarı yüzde olarak hesaplanmıştır.

3.2.3. Distilasyon işlemleri

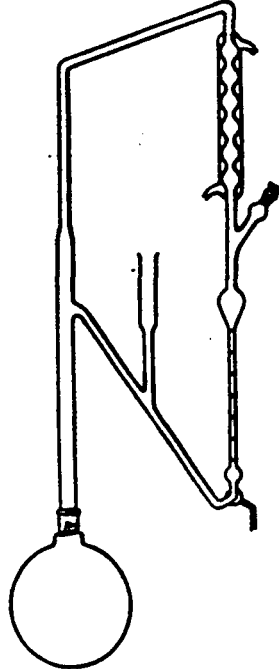
Bitkinin toprak üstü kısmının tamamından su ve buhar distilasyonu ile, yaprak+çiçek ve dallardan su distilasyonu ile uçucu yağlar elde edilmiştir.

3.2.3.1. *Su distilasyonu:*

Laboratuvarda Clevenger apareyinde yapılan su distilasyonu işlemi için yaklaşık 100 gr materyal 2 L lik balona doldurulduktan sonra üzerine 1 L su ilave edilerek 4 saat süreyle işlem sürdürülmüştür. Su distilasyonu işlemi için kullanılan Clevenger apareyi Şekil 3.2. de gösterilmiştir.



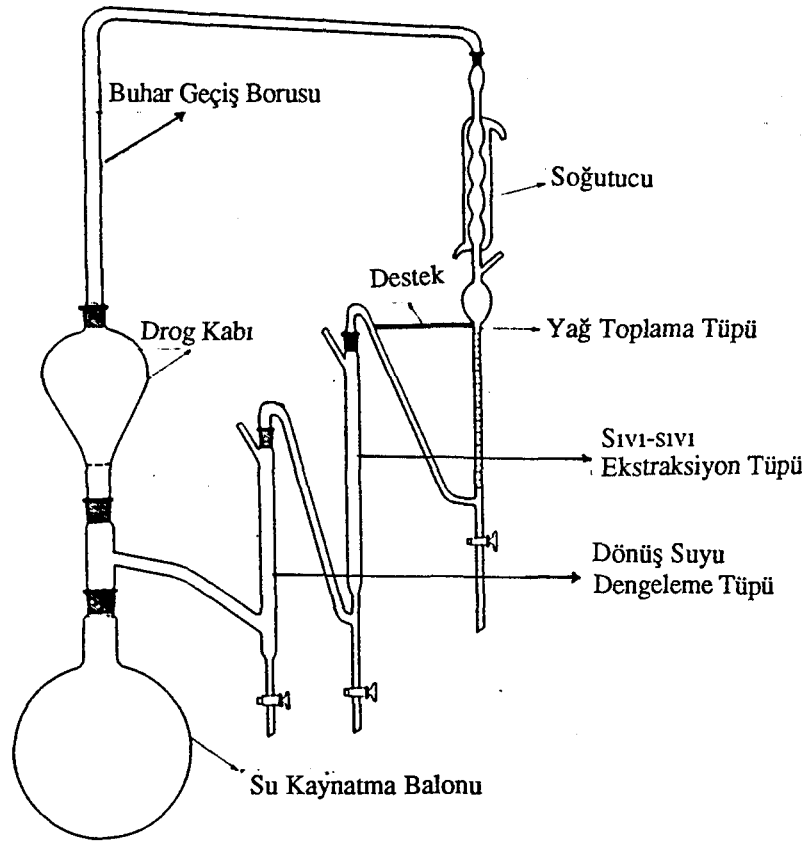
Şekil 3.1. Volumetrik Nem Tayin Apareyi



Şekil 3.2. Clevenger Apareyi

3.2.3.2. Buhar distilasyonu

30 g herba tartılıp, Şekil 3.3 de görülen düzenek ile 3 saat buhar distilasyonuna tabii tutulmuştur.



Şekil 3.3. Buhar Distilasyonu Apareyi

3.2.4. Analitik Çalışmalar

Elde edilen uçucu yağlarda şu analitik çalışmalar yapılmıştır.

- Yoğunluk tayini (d_{20})
- Kırılma indisi ($[n]^{20}$)
- Optik çevirme ($[\alpha]^{20}$)
- Gaz Kromatografisi (GC)
- Gaz Kromatografisi -Kütle Spektrometrisi (GC/MS)

3.2.4.1. Yoğunluk Tayini:

Yoğunluk tayini için 1 ml lik hassas ayarlı kap kullanılmıştır. Kap önce boş, sonra distile su ve daha sonrada yağ numunesi ile doldurularak tartılmış ve yoğunluk aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (18).

$$d = \frac{c-a}{b-a}$$

Burada;

- a= Boş kabın tartımı (g)
- b= Su ile dolu kabın tartımı (g)
- c= Yağ ile dolu kabın tartımı (g)

3.2.4.2. Kırılma indisi:

Elde edilen uçucu yağların kırılma indisleri Abbe Refraktometresinde doğrudan okunmuştur (18).

3.2.4.3. Optik Çevirme:

Uçucu yağların optik çevirme açıları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. (94, 106).

$$[\alpha]^{20} = \frac{\alpha \cdot 100}{l \cdot p \cdot d}$$

Burada;

α = çevirme açısı

l = tüp uzunluğu (dm.)

p = seyreltme konsantrasyonu (g/100 ml.)

d = yoğunluk

3.2.4.4. Gaz Kromatografisi (GC)

Uçucu yağ içinde bulunan bileşenler gaz kromatografisi kolonunda tutunma sürelerine göre ayrılarak, relatif oranlarına göre değerlendirilmiştir. (46)

Gaz Kromatografisi Analiz Koşulları

| | |
|--------------------|---|
| Kolon | : Thermon 600 T (Fused Silika Kapiler Kolon 50m.x 0,25mm. ϕ) |
| Dedektör | : FID |
| Taşıyıcı gaz | : Azot |
| Enjeksiyon | : 250 °C |
| Sıcaklık programı | : 70 °C de 10 dak., 180 °C ye 2 °C/dak., 180 °C de 30 dak. |
| Dedektör | : 250 °C |
| Split oranı | : 60:1 |
| Enjeksiyon miktarı | : 1 μ l |
| Kağıt hızı | : 5 mm/dak |

3.2.4.5. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS)

Uçucu yağ içindeki bileşenler gaz kromatografisi kolonunda ayrılıp iyonlaştırıldıktan sonra her birinin tek tek kütle spektrumları alınmıştır. Değerlendirme işlemleri GC/MS cihazının 43.000 maddelik NBS/NIH/EPA kütüphanesinin yanısıra "The WILEY/ NBS Registry of Mass Spectral Data " ve diğer kaynaklar kullanılarak yapılmıştır (4, 14, 30, 65, 66, 90, 91).

GC Koşulları

Kolon : Thermon 600 T (50 m.X 0.25 mm.φ)

Taşıyıcı gaz : Helyum

Sıcaklıklar

Enjeksiyon : 250 °C

Kolon : 70 °C de 10 dak., 180 °C ye 2 °C / dak., 180 °C de 30 dak.

Dedektör : 250 °C

Split oranı : 60 : 1

MS Koşulları

İyon kaynağı sıcaklığı : 250 C

Elektron enerjisi : 70 eV

Kütle aralığı : 10-400 m/z

Threshold : 35

Çözücü kesme süresi : 4.5 dak.

Scan aralığı : 2 sn.

3.2.4.6. Kolon kromatografisi

Preparatif amaçla kullanılmak üzere koku takip edilerek kromatografik ayırım yapılmıştır. Toplanan fraksiyonlar gaz kromatografisi yöntemi ile kontrol edilmiştir.

4. DENEYSEL BULGULAR

Bu bölümde *Cyclotrichium niveum* uçucu yağının özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmaların sonuçları verilmiştir.

4.1. Botanik Çalışma

4.1.1. Morfolojik çalışma

Cyclotrichium niveum çok yıllık, 22-35 cm. boyunda, gövdeler dik ve yükselici, basit, yüzeyi beyaz, karışık kısa dallanmış yoğun örtü tüylü, örtü tüylerinin altında seyrek salgı guddeli.

Orta yapraklar basit, dekusat dizilişli, ovat-eliptik 8.5-16 x 4.8-8 mm., 1-1.5 mm. saplı, kenarda düz, tepede ve tabanda obtus, damarlar alt yüzeyde hafif belirgin, örtü tüyleri her iki yüzde de yoğun ve kısa dallanmış, örtü tüylerinin altında salgı guddeli.

Çiçek durumu vertisillastrum 3-6, vertisillatlar mesafeli, simozlar 1-2 mm.'e kadar saplı, birbirinden ayrılmış ikinci simozlardan oluşan vertisiller çok genişlemiş ve yoğun çiçekli.

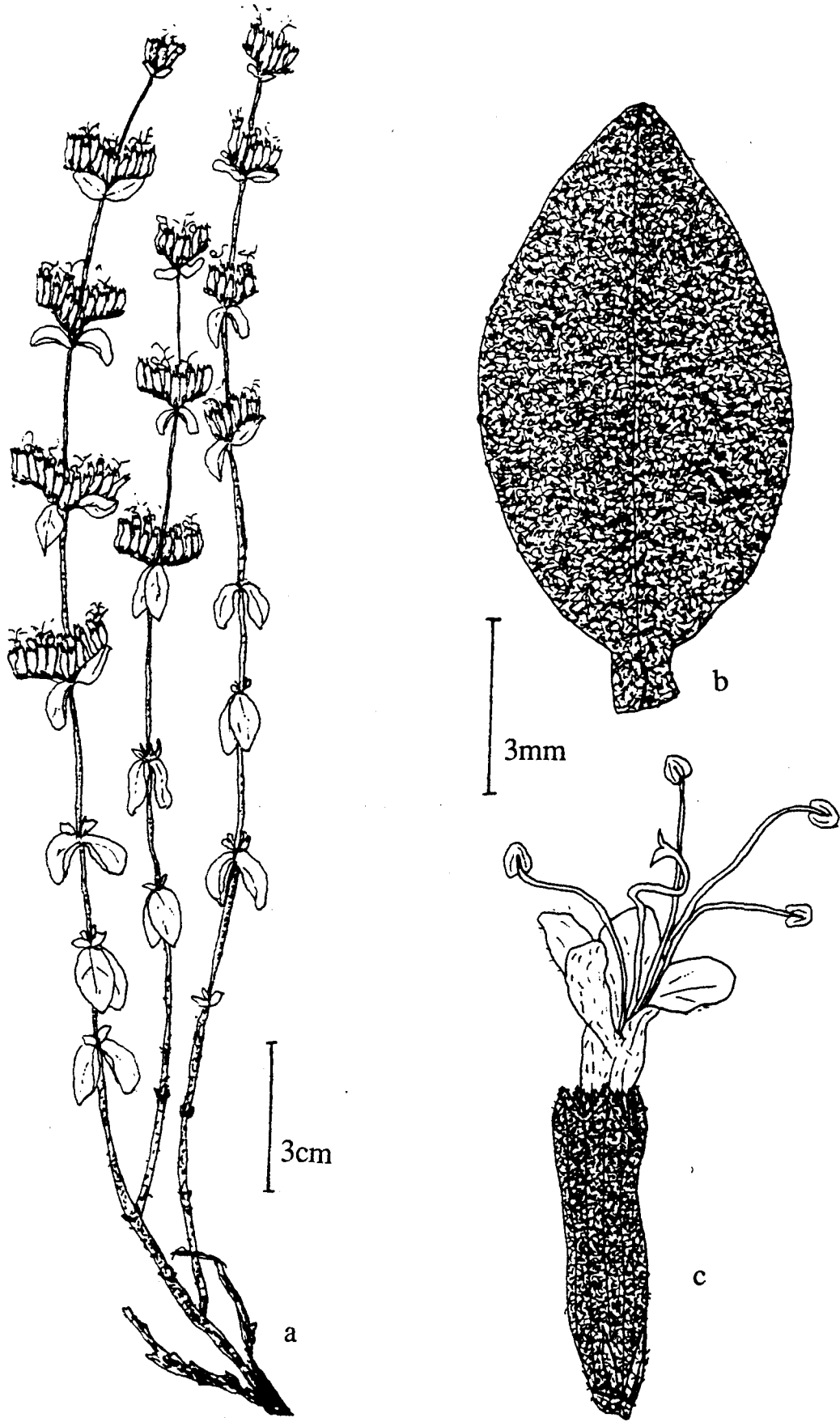
Brakteoller 1.5-2.5 mm., linear, linear-subulat. Brakteler basit, dekusat dizilişli, ovat-eliptik, 3.5-12 x 2-6 mm., sapsız ya da 1 mm.'ye kadar saplı, kenarda düz, tepede ve tabanda obtus, damarlar alt yüzeyde hafif belirgin, örtü tüyleri her iki yüzde de yoğun ve kısa dallanmış, örtü tüylerinin altında salgı guddeli.

Kaliks beyazımsı, bazen damarlarda mor çizgili, kaliks tübü dik, 4.5-6.8 mm., tubulat, gamasepal, 13 damarlı, bilabiat; üst dudak 3 (nadiren 4) dişli, üçgen-dikensiz, 0.4-0.6 mm., alt dudak 2 dişli, üçgen-subulat, 1-1.5 mm., dış yüzey ; kısa dallanmış yoğun tüylü, tüylerin altında salgı guddeli ; iç yüzeyi dişlerin bulunduğu kısımda yoğun, uzun tüylü.

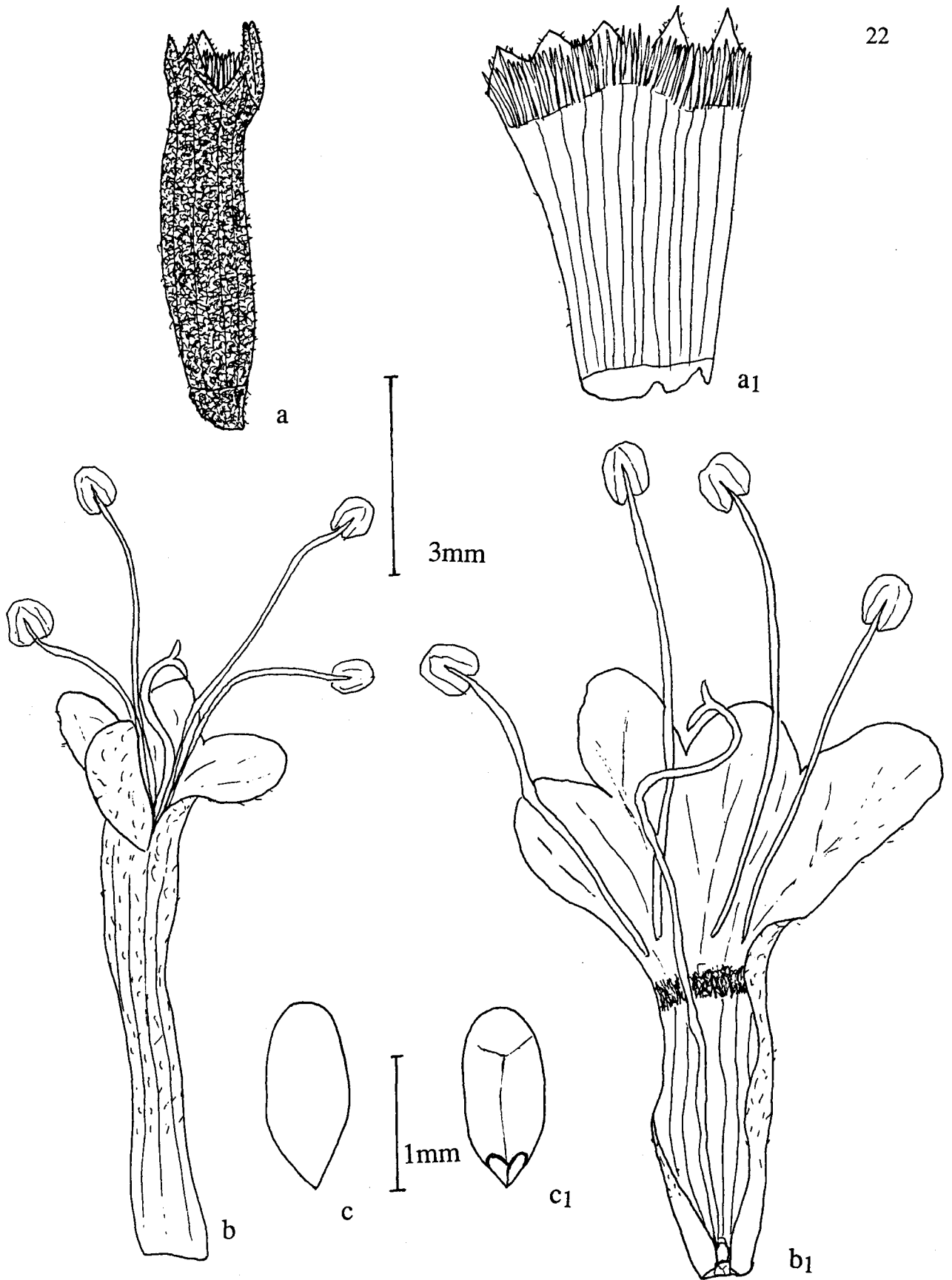
Korolla dudaklarda mor, uç kısımda açık leylak, alt kısımda beyaz, 7-9 mm., tubulat, gamopetal bilabiat ; üst dudak (abaxial) tam, alt dudak (adaxial) 3 loblu, orta lob uzun, korolla tübü dik resupinat, iç yüzeyde boğazda yoğun tüylü, dış yüzeyde ince tüylü.

Stamenler 4, didinam, korolla iç yüzeyine bağlı ve korolla tübünün dışında. Anterler 0.5-0.7 mm..Stilus 10-12 mm., ginobazik, stigma dallanmış, ± eşit, korolla tübünün dışında.Ovaryum üst durumlu, 2 karpelli, 4 gözlü.

Meyve nuks, açık kahverengi, 1.2-1.5 x 0.5-0.7 mm.oblong, tüysüz, tepede obtus (Şekil 4.1, 4.2).



Şekil 4.1. *Cyclotrichium niveum*: a- bitki genel görünüş, b- yaprak, c- çiçek



Şekil 4.2. *Cyclotrichium niveum* : a- kaliks dış yüzey, a1- kaliks iç yüzey, b- korolla dış yüzey, b1- korolla iç yüzey, c- nuks dış yüzey, c1- nuks iç yüzey

4.1.2 Anatomik çalışma

4.1.2.1. Yaprak

Epiderma: Üst ve alt epiderma tek sıralı ve kütikula ile örtülüdür. Epiderma hücrelerinin enine kesiti genellikle dikdörtgen ya da dörtgen hücrelerden oluşmuştur.

Tüyler: Örtü ve salgı tüyleri her iki epidermada da gözlenmiştir. Örtü tüyleri salgı tüylerinden daha yoğun olarak bulunur. Dallanmış çok hücreli örtü tüyleri fazladır. 2 ve 3 hücreli basit örtü tüyleri ile tek hücreli, diş tüy şeklinde olanlar azdır. Salgı tüyleri Labiatae tipi salgı pulu ile başı 1, sapı 1-3 hücreli kısa saplılardır. Sapı 2 ve 3 hücreli olanlar diğerine oranla daha yoğun olarak bulunur.

Stomalar: Yaprığın her iki yüzünde de yoğun olarak bulunurlar. Enine kesitte epiderma hücreleri ile hemen hemen aynı seviyededirler. Stomalar diasitik (102) tipte olup, her 10 epidermanın 5'inde stoma bulunur.

Mezofil: Isolateral. Palizat parankiması alt ve üst epidermada 2'şer sıra halinde ve bol kloroplastlıdır. Sünger parankiması 1-2 sıra boyuna uzamış hücrelerden meydana gelmiştir.

İletim Demetleri: Dar bir alanı kapsar. Ksilem yaprağın üst epidermaya bakan yönünde, floem ise alt epidermaya bakan yöndedir. Floem ve ksilem dıştan parankima dokusu ile çevrelenmiştir (Şekil 4.3, 4.4, 4.5).

4.1.2.2. Gövde

Epiderma: Enine uzamış, tek sıra dikdörtgen şeklindeki hücrelerden oluşmuştur. Alt ve üst çeperler kalın, yan çeperler incedir. Üzeri ince bir kutikula ile örtülüdür. Çok sayıda örtü tüyü, seyrek salgı tüyü gözlenmiştir. Salgı tüyleri başı 1, sapı 1 veya 2 hücreden oluşur. Labiatae tipi salgı pulları da bulunmaktadır. Örtü tüyleri genellikle dallanmış ve çok hücrelidir. Ayrıca seyrek oranda, basit, 1-3 hücreli tüyler de bulunur. Epiderma da stoma gözlenmiştir.

Korteks: Epidermanın altında 2-5 sıra, enine uzamış, büyük oval şekilli, yer yer ezilmiş, hücreler arası boşluklu parenkima dokusu bulunur. İnce çeperli ve kloroplastlıdır. Kalınlanmış bölgelerde endodermmanın üstünde 3-8 sıra boyuna uzamış genellikle dörtgen şekilli mantar dokusu yer alır. Köşelerde epidermanın altında 5-6 sıra gayri muntazam şekillerde dar bir alanı kaplayan kollenkima hücreleri vardır. Kollenkimanın altında bazen ezilmiş 1-3 sıra parankimatik doku bulunur.

Endoderma: Tek sıra hücrelerden oluşmuştur. Hücreler büyük, muntazam çeperli, enine uzamış, dikdörtgen şekillidir.

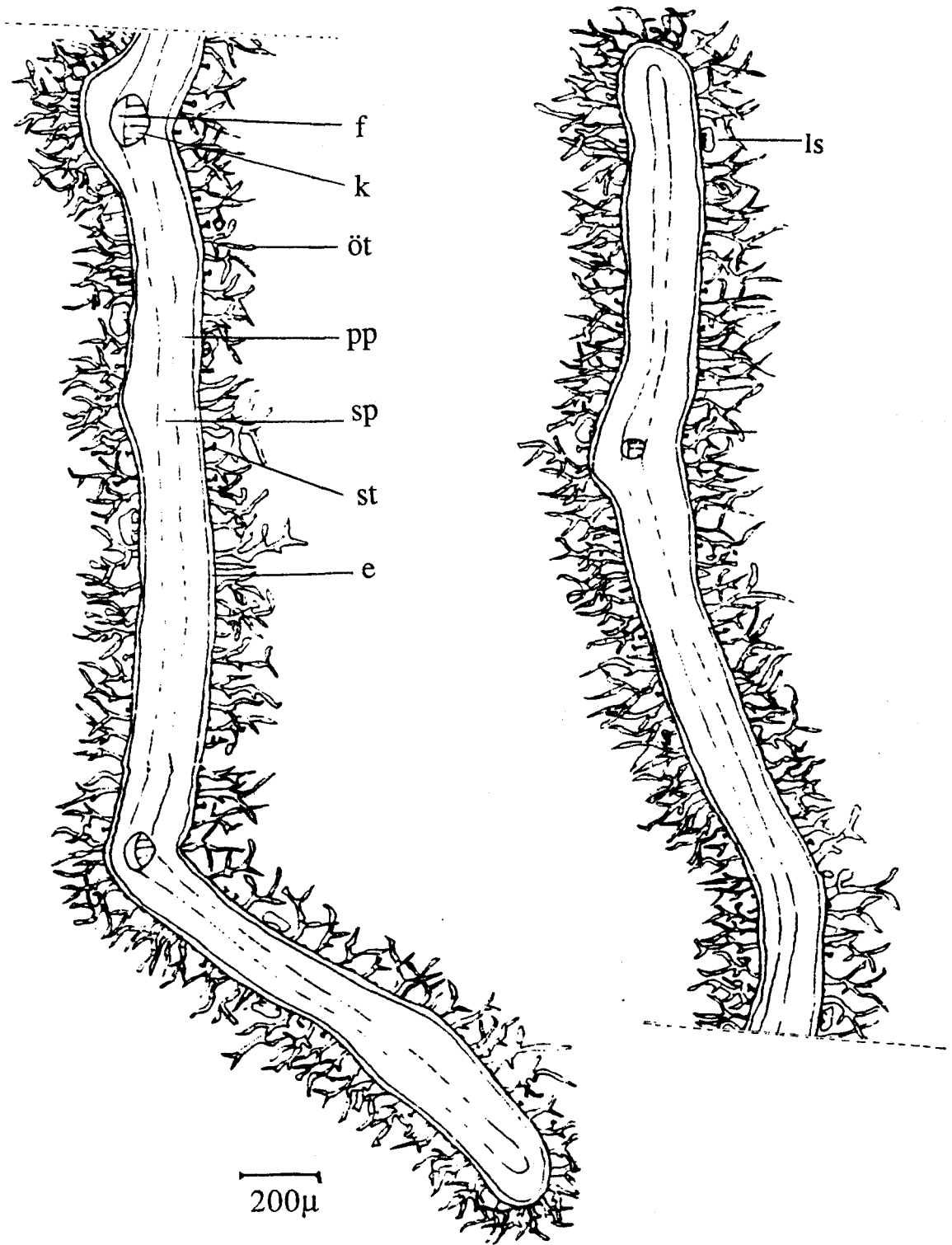
Periskl: Endodermannın altında yer yer 1 ya da 4 taneli, enine uzamış oval şekilli hücre grupları halindedir.

Floem: 2-5 sıralı, irili-ufaklı dörtgen veya düzensiz çeperli hücrelerden oluşmuştur.

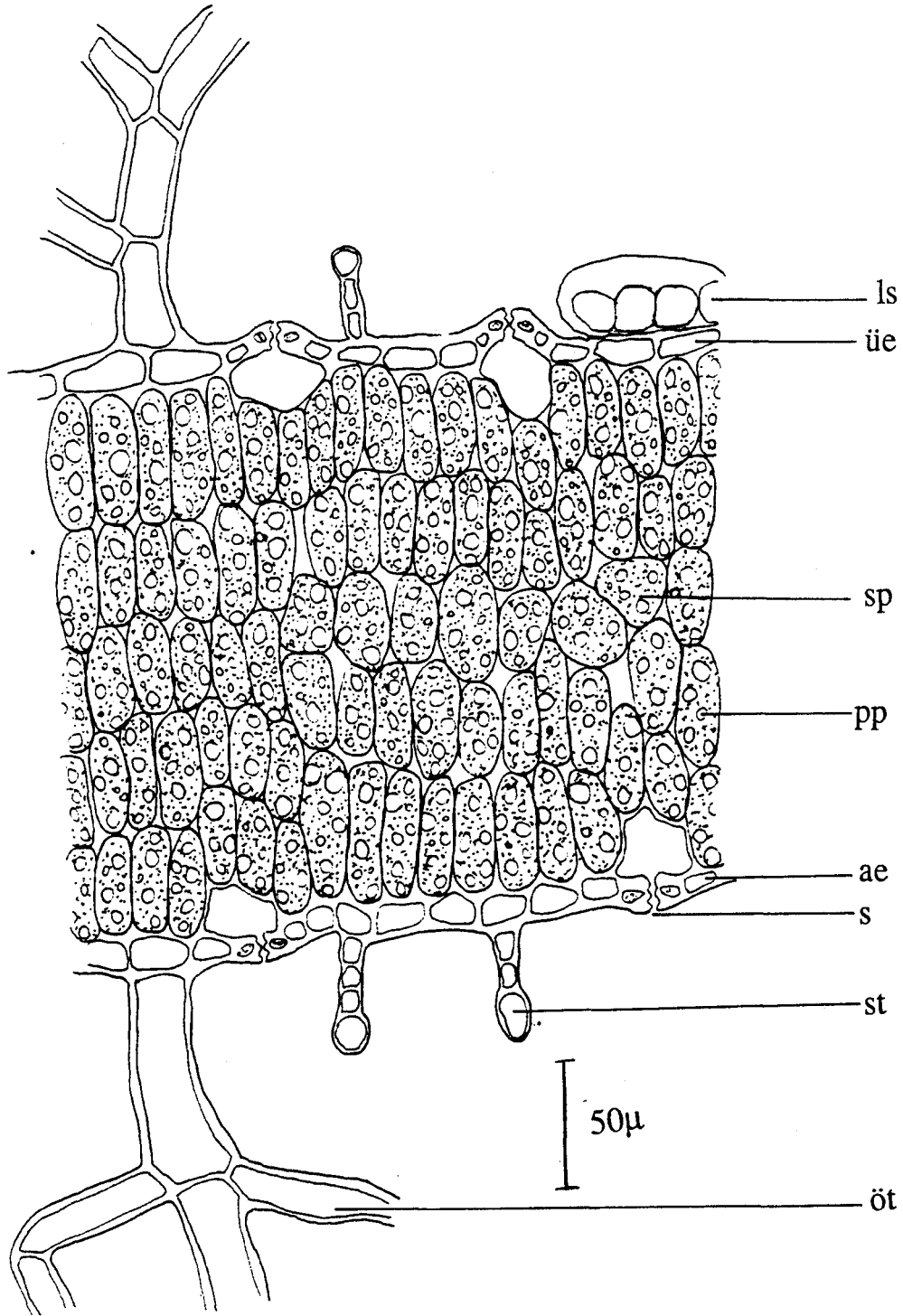
Kambiyum: Belirsizdir.

Ksilem: Trakeler yuvarlak ya da oval şekilli, trakeidler ise çokgen şekillidir. Öz kolları çoğunlukla tek nadiren 2 sıra halindedir.

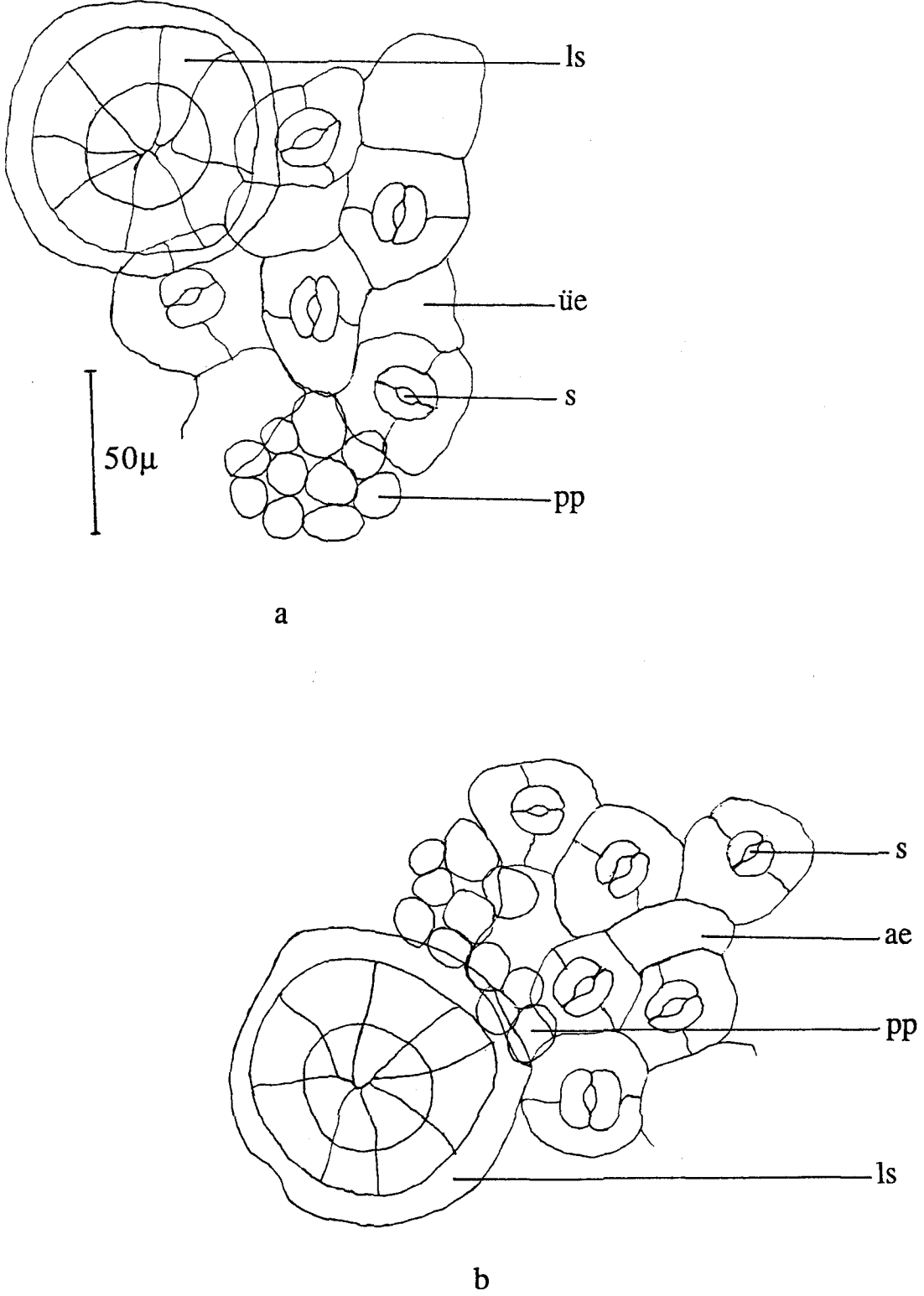
Öz: Büyük çokgen ya da yuvarlak parankimatik hücrelerden oluşmuştur. Ksilemin altında çeperleri kalın, çapları dardır (Şekil 4.6, 4.7).



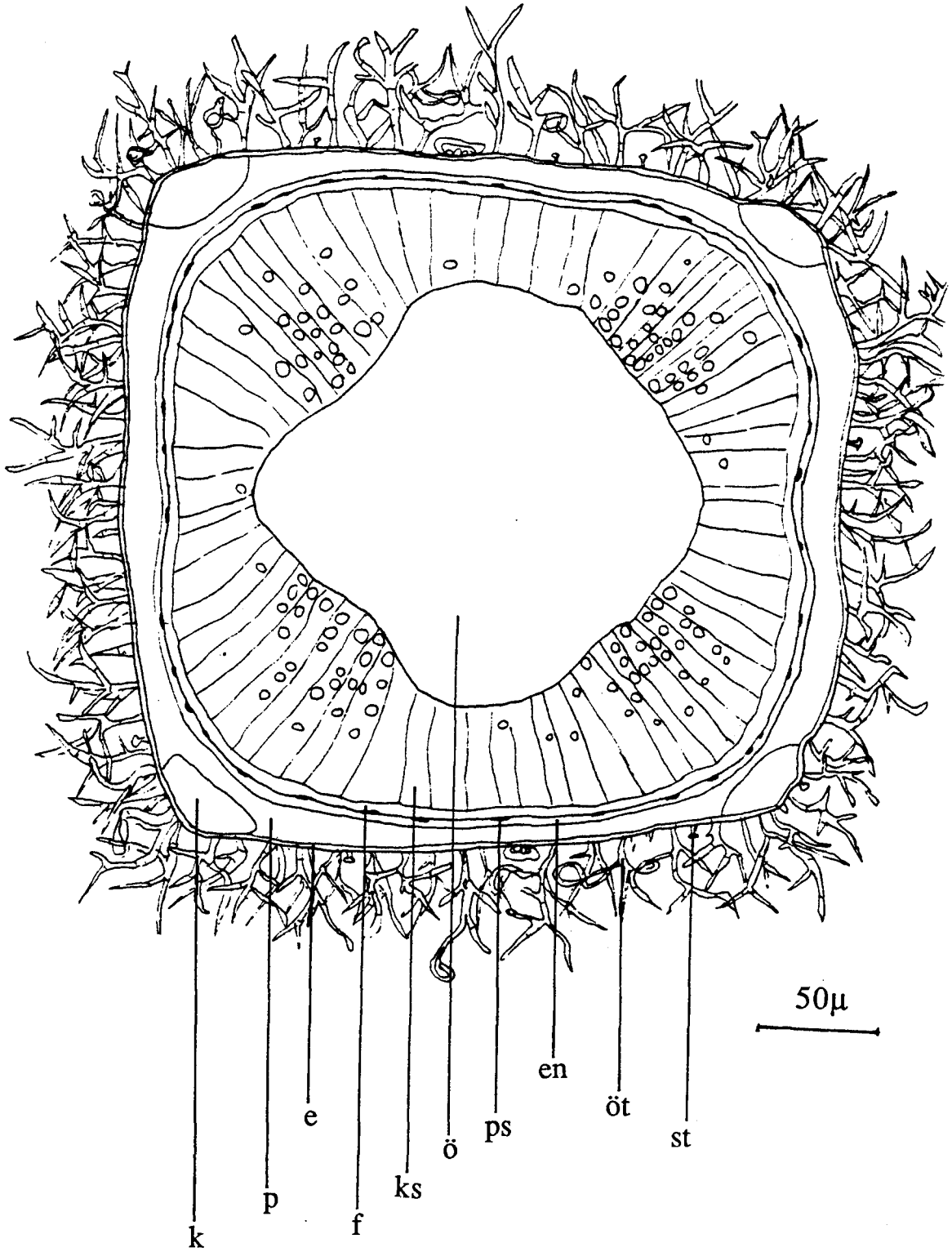
Şekil 4.3. *Cyclotrichium niveum* : yaprak enine kesiti. Şematik, e- epidema, f- floem, k- ksilem, öt- örtü tüyü, pp- palizat parenkiması, sp- sünger parenkiması, st- salgı tüyü
ls- Labiatae tipi salgı tüyü



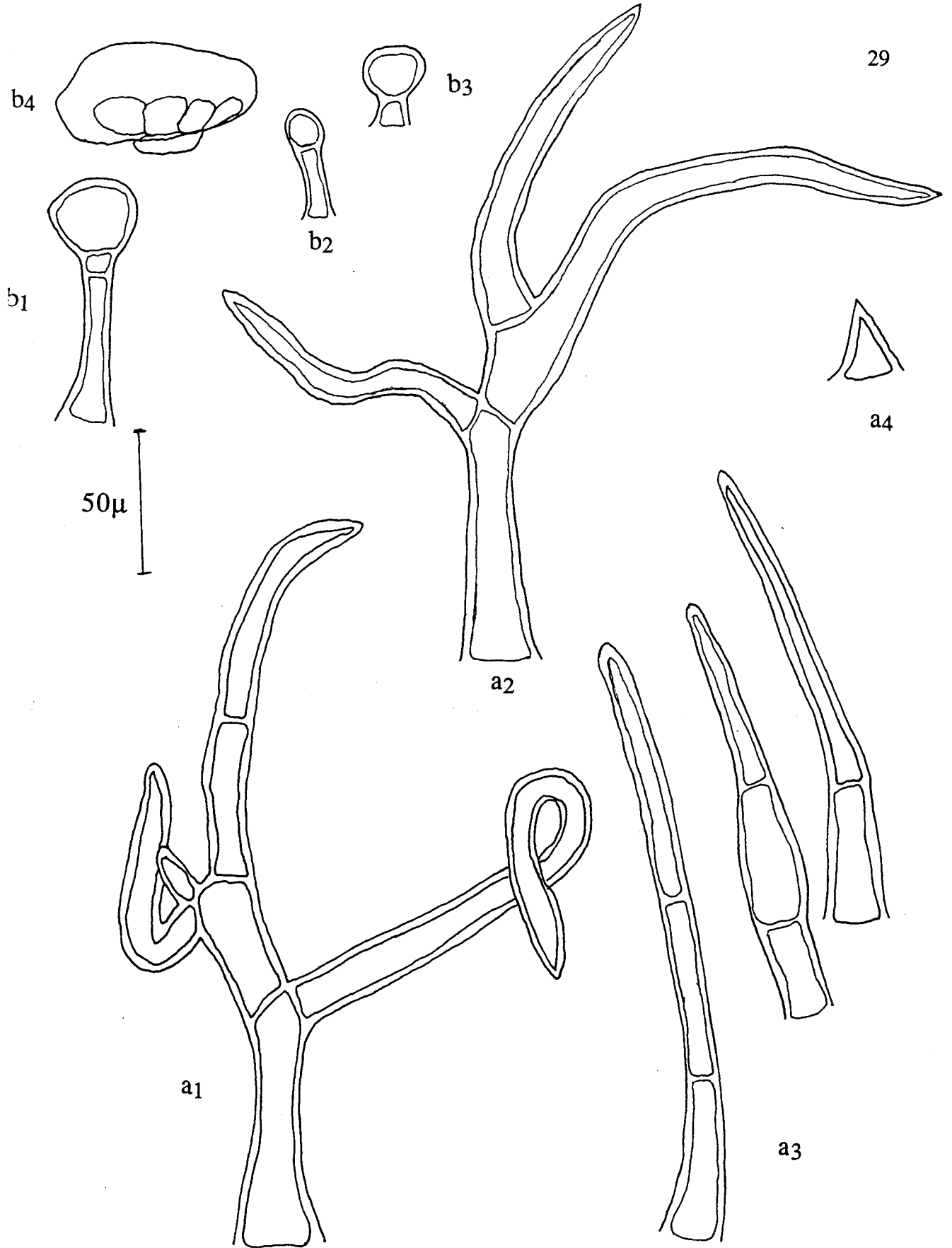
Şekil 4.4. *Cyclotrichium niveum* : Yaprak enine kesiti anatomik. üe- üst epiderma, ae- alt epiderma, pp- palizat parenkiması, sp- sünger parenkiması, s- stoma, öt- örtü tüyü, st- salgı tüyü, ls- labiatae tip salgı tüyü



Şekil 4.5. *Cyclotrichium niveum* : Yaprak yüzeysel kesiti anatomik. a- üst epiderma (üe), b- alt epiderma (ae), s- stoma, pp- palizat parenkiması, ls- labiatae tipi salgı tüyü



Şekil 4.6. *Cyclotrichium niveum* : gövde enine kesiti. Şematik e-epiderma, en-endoderma, fl-floem, k-kollenkima, ks-ksilem, p-parenkima, ps-perisikl, st - salgı tüyü, ö- öz, ört- örtü tüyü



Şekil 4.7. *Cyclotrichium niveum* : Gövdede örtü (a1, a2, a3, a4) ve salgı (b1,b2,b3,b4) tüyleri

4.2. Nem Tayini

Bölüm 3.2.1. de belirtildiği şekilde volumetrik yöntemle yapılan nem tayininde elde edilen sonuçların ortalaması alınarak, materyalin içerdiği nem miktarı belirlenmiştir.

Buna göre materyalin ortalama nem miktarı % 9 olarak bulunmuştur.

4.3. Uçucu Yağ Eldesi

C.niveum' un herba ve yapraklardan uçucu yağ eldesinde laboratuvar ölçekte Clevenger apareyi kullanılarak su distilasyonu yapılmıştır. Herba'dan ayrıca buhar distilasyonu ile de yağ elde edilmiştir. Yağ verimlerinin kuru baz üzerinden hesaplandığı çalışma sonuçları Tablo 4.1. de verilmiştir.

Tablo 4.1. Uçucu yağ verimleri

| Yağ | Yağ verimi % | |
|--------------|-----------------|--------------------|
| | Su distilasyonu | Buhar distilasyonu |
| herba | 1.54 | 2.56 |
| yaprak+çiçek | 5.74 | - |

4.4. Uçucu Yağlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar

4.4.1. Analitik çalışmaların sonuçları

Clevenger apareyi ve buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağların fiziko kimyasal özellikleri Tablo 4.2. de verilmiştir.

Tablo 4.2. Uçucu Yağların Fizikokimyasal Özellikleri

| Fiziko-kimyasal özellikler | Herba Clevenger | Yaprak+Çiçek Clevenger | Herba Buhar dist. |
|----------------------------|-----------------|------------------------|-------------------|
| d_{20} | 0.9381 | 0.9485 | 0.9292 |
| $[\alpha]_{20}$ | +45.84 | +45.33 | +46.27 |
| $[n]_{20}$ | 1.4740 | 1.4740 | 1.4720 |

4.4.2. Gaz Kromatografisi (GC) Sonuçları

Çalışmalarda elde edilen uçucu yağların gaz kromatogramları ve bileşiklerin relatif yüzdeleri belirlenmiştir. Örnek kromatogram Şekil 4.8 de verilmiştir.

4.4.3. Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometrisi (GC/MS) Sonuçları

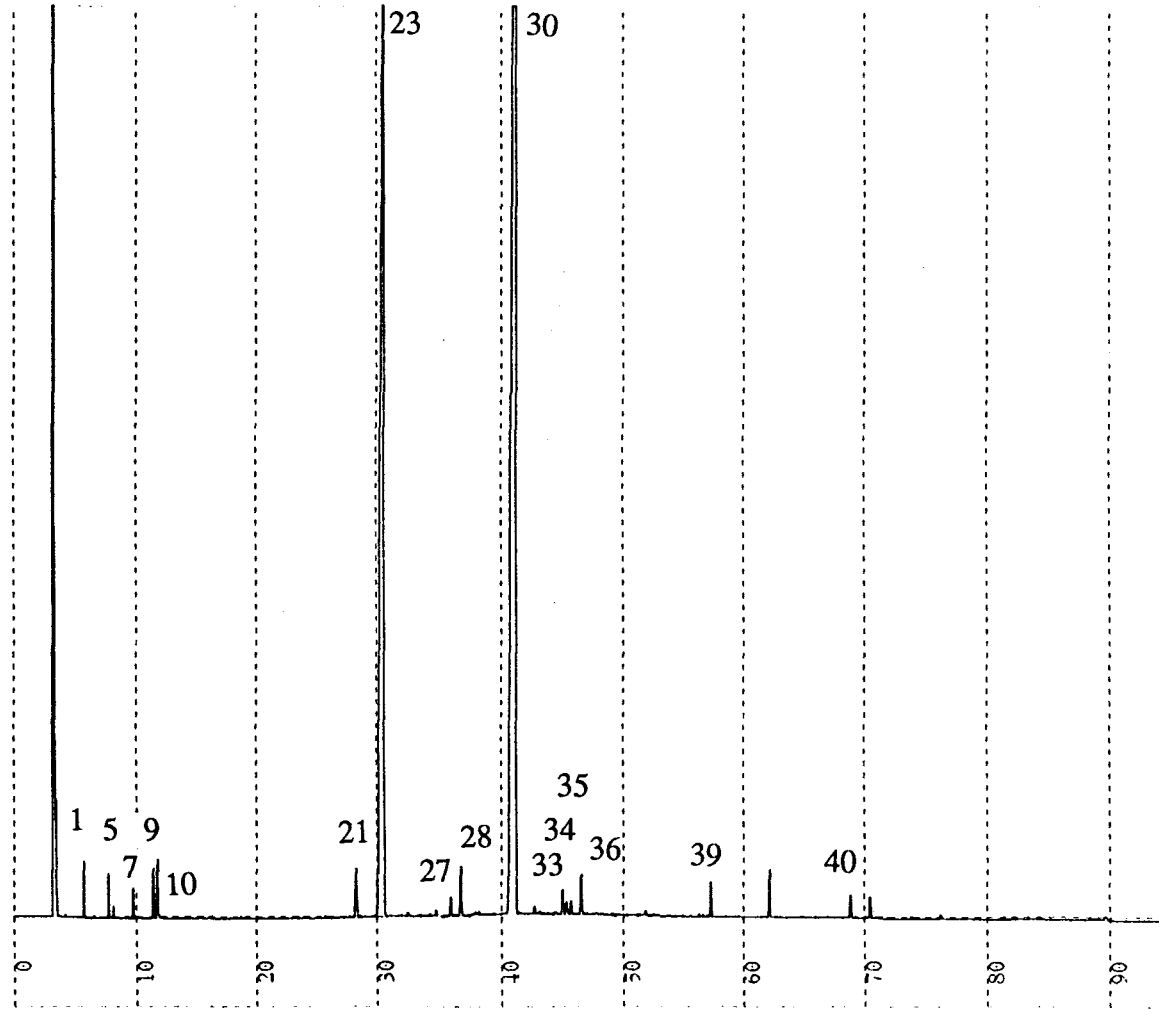
Uçucu yağlardaki bileşiklerin belirlenmesi amacıyla gaz kromatografisiyle ayrılan her bileşiğin kütle spektrumları alınmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.3 de verilmiştir.

4.4.4. Kolon Kromatografisi Sonuçları

0.5 ml herba'dan elde edilen uçucu yağ kolon kromatografisinde ayrılmıştır. Bu amaçla cam kolona (15 x 1 cm) 10 g silikajel 60 (Merck 7734) 'in hekzanla oluşturulan süspansiyonu doldurulmuştur. Daha sonra ise tartılan yağ numunesi ayrılan az miktardaki silikajele iyice yedirilip kolon üzerine ilave edilmiş, n-hekzan ile elusyona başlanarak fraksiyonlar toplanmıştır. Fraksiyonlar koku değişimine göre ayrılmış, değişinceye veya koku gelmeyinceye kadar toplama işlemine devam edilmiştir. Toplanan fraksiyonlar şu şekildedir.

1. Fraksiyon n-hekzan
2. Fraksiyon n-hekzan : etanol (1:1)
3. Fraksiyon etanol

Alınan fraksiyonların Gaz kromatografik analizlerinde n-hekzan fraksiyonunun monoterpen hidrokarbonlarca, etanol fraksiyonunun oksijenli monoterpenlerce zengin olduğu gözlenmiş ve sonuçlar Tablo 4.3 te verilmiştir.



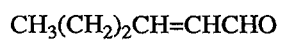
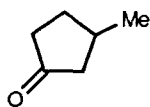
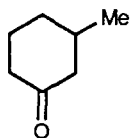
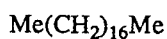
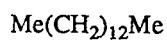
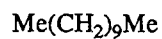
Şekil 4.8. Herba'dan Clevenger Apereyinde elde edilen Uçucu Yağın Gaz Kromatogramı

Tablo 4.3. *Cyclotrichium niveum* Uçucu Yağının Bileşenleri ve Relatif Yüzdeleri

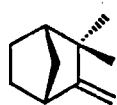
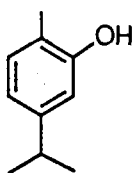
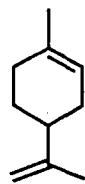
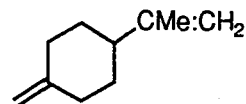
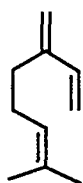
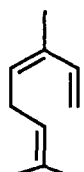
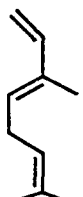
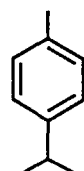
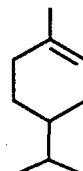
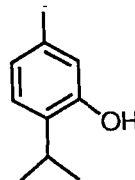
| Pik no | Bileşen | Formül no | Mol. Ağ. | Rt | Herba yağı (%) | Yaprak +çiçek (%) | Monoterpen Hidrokarbonlar | Oksijenli Monoterpenler | Buhar Distilasyonu |
|--------|----------------------|-----------|----------|-------|----------------|-------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------|
| 1 | α -pinen | 5 | 136 | 5.65 | 0.29 | 0.38 | 8.56 | - | 0.47 |
| 2 | kamfen | 16 | 136 | 6.57 | 0.01 | 0.01 | - | - | 0.03 |
| 3 | hekzanal | 36 | 100 | 6.88 | 0.01 | - | - | - | 0.02 |
| 4 | undekan | 43 | 156 | 7.32 | - | - | 1.88 | - | - |
| 5 | β -pinen | 50 | 136 | 7.67 | 0.32 | 0.39 | 7.31 | - | 0.48 |
| 6 | sabinen | 51 | 136 | 8.06 | 0.01 | 0.12 | 1.73 | - | 0.14 |
| 7 | mirsen | 47 | 136 | 9.69 | 0.27 | 0.33 | 6.50 | - | 0.44 |
| 8 | psödolimonen | 46 | 136 | 9.95 | 0.02 | 0.02 | 0.91 | - | 0.03 |
| 9 | limonen | 45 | 136 | 11.39 | 0.52 | 0.84 | 19.81 | - | 1.11 |
| 10 | 1,8-sineol | 69 | 154 | 11.75 | 0.67 | 0.77 | 6.81 | 0.58 | 0.74 |
| 11 | 3-metilsiklopentanon | 39 | 98 | 12.29 | 0.01 | <0.01 | - | - | - |
| 12 | 2-hekzenal | 37 | 98 | 12.43 | <0.01 | 0.01 | - | - | - |
| 13 | (Z)- β -osimen | 48 | 136 | 14.01 | <0.01 | 0.01 | - | - | 0.02 |
| 14 | (E)- β -osimen | 49 | 136 | 14.45 | 0.01 | 0.01 | - | - | - |
| 15 | p-simen | 52 | 134 | 15.49 | 0.02 | 0.02 | - | - | 0.02 |
| 16 | α -terpinolen | 53 | 136 | 16.30 | 0.02 | 0.02 | - | - | 0.02 |
| 17 | 3-metilsikloheksanon | 40 | 112 | 18.68 | 0.04 | 0.04 | - | 0.03 | 0.01 |
| 18 | nonanal | 38 | 142 | 23.60 | 0.02 | 0.01 | - | - | 0.03 |
| 19 | tetradekan | 42 | 198 | 25.08 | - | - | 4.09 | - | - |
| 20 | α -tuyon | 71 | 152 | 25.82 | - | 0.03 | - | - | 0.03 |
| 21 | menton | 58 | 154 | 28.29 | 0.86 | 0.71 | - | 0.94 | 0.67 |
| 22 | mentofuran | 14 | 150 | 29.79 | - | - | 2.42 | - | - |
| 23 | izomenton | 59 | 154 | 30.60 | 34.20 | 35.36 | - | 35.92 | 33.75 |

| | | | | | | | | | |
|-----|---------------------|----|-----|-------|-------|-------|------|-------|-------|
| 2 4 | β -bourbonen | 72 | 204 | 32.56 | 0.06 | 0.05 | - | - | 0.12 |
| 25 | cis-sabinen hidrat | 68 | 154 | 34.39 | 0.03 | 0.03 | - | 0.04 | 0.04 |
| 26 | linalol | 57 | 154 | 34.88 | 0.08 | 0.08 | - | 0.09 | 0.06 |
| 27 | cis-izopulegon | 66 | 152 | 35.82 | 0.25 | 0.26 | - | 0.31 | 0.27 |
| 28 | trans-izopulegon | 67 | 152 | 36.66 | 0.66 | 0.69 | - | 0.76 | 0.66 |
| 29 | trans-dihidrokarvon | 56 | 152 | 38.17 | 0.05 | 0.05 | - | - | - |
| 30 | pulegon | 65 | 152 | 41.16 | 56.40 | 56.11 | - | 58.19 | 56.56 |
| 31 | α -terpineol | 70 | 154 | 43.76 | 0.02 | 0.02 | - | 0.02 | - |
| 32 | izo-borneol | 55 | 154 | 44.33 | 0.07 | 0.05 | - | - | - |
| 33 | germakren D | 74 | 204 | 44.98 | 0.36 | 0.25 | 4.98 | - | 0.45 |
| 34 | piperiton oksit I | 62 | 168 | 45.29 | 0.20 | 0.15 | - | 0.17 | 0.26 |
| 35 | piperiton | 61 | 152 | 45.66 | 0.17 | 0.17 | - | 0.17 | 0.11 |
| 36 | γ -elemen | 73 | 204 | 46.51 | 0.56 | 0.50 | 7.45 | - | 0.65 |
| 37 | izo-piperitenon | 64 | 150 | 51.85 | 0.06 | 0.05 | - | 0.06 | 0.18 |
| 38 | oktadekan | 41 | 254 | 51.99 | - | - | 1.10 | - | - |
| 39 | piperitenon | 63 | 150 | 57.24 | 0.44 | 0.41 | - | 0.43 | 0.44 |
| 40 | spatulenol | 75 | 220 | 68.86 | 0.37 | 0.34 | - | 0.38 | 0.41 |
| 41 | öjenol | 60 | 164 | 71.89 | 0.02 | - | - | - | - |
| 42 | torreyol | 76 | 222 | 72.37 | 0.04 | - | - | - | - |
| 43 | timol | 54 | 150 | 73.87 | 0.04 | 0.04 | - | 0.04 | - |
| 44 | karvakrol | 44 | 150 | 76.00 | 0.02 | 0.05 | - | 0.08 | 0.08 |

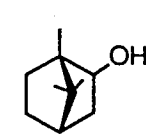
Alifatik Bileşikler

Hekzanal
(36)2-Hekzenal
(37)Nonanal
(38)3-Metilsiklopentanon
(39)3-Metilsikloheksanon
(40)Oktadekan
(41)Tetradekan
(42)Undekan
(43)

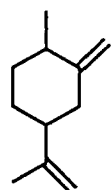
Oksijenli Monoterpenler

Kamfen
(16)Karvakrol
(44)Limonen
(45)Psödolimonen
(46)Mirsen
(47)(Z)- β -Osimen
(48)(E)- β -Osimen
(49) α -Pinen
(5) β -Pinen
(50)Sabinen
(51)p-Simen
(52)Terpinolen
(53)Timol
(54)

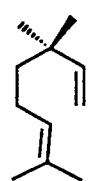
Oksijenli Monoterpenler



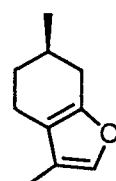
İzoborneol
(55)



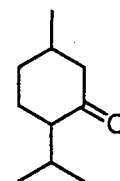
trans-Dihidrokarvon
(56)



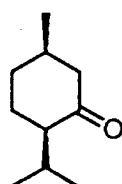
Linalool
(57)



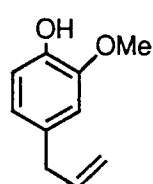
Mentofuran
(58)



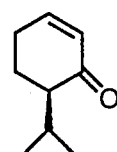
Menton
(58)



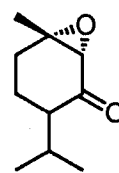
İzomenton
(59)



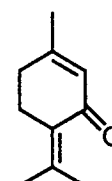
Öjenol
(60)



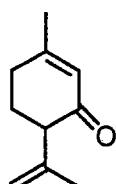
Piperiton
(61)



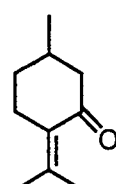
Piperiton oksit I
(62)



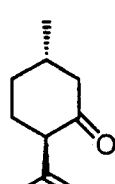
Piperitenon
(63)



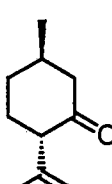
İzopiperitenon
(64)



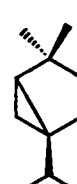
Pulegon
(65)



cis-İzopulegon
(66)



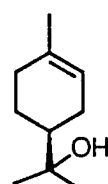
trans-İzopulegon
(67)



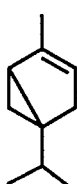
cis-Sabinenhidrat
(68)



1,8-Sineol
(69)

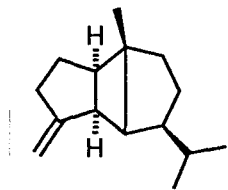


α-Terpineol
(70)

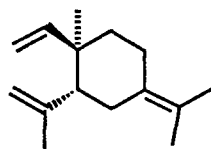


α-Tuyon
(71)

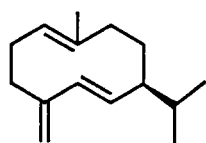
Seskiterpenler



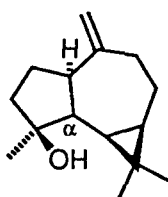
β -Bourbonene
(72)



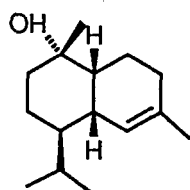
γ -elemen
(73)



Germakren
(74)



Spathulenol
(75)



Torreyol
(76)

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışma halk arasında "Dağ Nanesi " adıyla nane gibi kullanılan ve endemik bir tür olan *Cyclotrichium niveum* ile yapılmış ilk farmakognozik araştırmadır.

C. niveum'un toprak üstü kısımları morfolojik ve anatomik olarak incelenmiştir. Morfolojik çalışmada bitkinin genel görünüşü, yaprak, çiçek ve meyva yapılarının şekilleri verilmiştir. Anatomik çalışmada ise gövde ve yaprak enine kesitleri ile yaprak yüzeysel kesiti, örtü ve salgı tüyleri incelenerek şekilleri çizilmiştir.

Uçucu yağ eldesi için açık havada kurutulmuş herba hem buhar hem de su distilasyonuna tabii tutulmuş, yaprak+çiçeklere ise su distilasyonu uygulanmıştır.

Elde edilen uçucu yağların fiziko kimyasal özellikleri Tablo 4.2. de verilmiştir. Uçucu yağ verimleri Tablo 4.1. de, gaz kromatografisi analizleri sonucu elde edilen relatif yüzde değerleri Tablo 4.3. de verilmiştir.

Bütün uçucu yağlarda pulegon ana bileşendir ve oranı % 56.11- 56.56 arasındadır. Bu yağlarda izomenton ikinci ana bileşendir ve bütün örneklerde % 33.75- 35.92 oranında bulunmuştur. Herba'dan su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağda tanımlanan 39 bileşik yağın % 97.22 sini, buhar distilasyonu ile elde edilen de 31 bileşik yağın % 98.30 unu teşkil etmektedir. Yaprak + çiçeklerden elde edilen uçucu yağ da ise tanımlanan 37 bileşik yağın % 98.39 unu kapsamaktadır.

Yağların ana bileşeni olan pulegon Labiatae familyasında yaygın olarak bulunmaktadır. Araliaceae, Umbelliferae, Verbenaceae, Compositae, Rutaceae, Malvaceae, Saxifragaceae familyası uçucu yağlarında pulegon rastlanmıştır. % 10 un üzerinde pulegon taşıyan uçucu yağların elde edildiği bitkilerin listesi Tablo 5.1. de , % 10'un altında olanların listesi ise Tablo 5.2. de verilmiştir. Fas'ta yetişen *Menthae rotundifolia*, Şili'de yetişen *Menthae pulegium* ve Yugoslavya'da yetişen *Acinos majoranifolius* pulegonca zengindir (% 97).

Pulegon ilk defa *Mentha pulegium* dan izole edilmiş ve isimlendirilmiştir. *Mentha pulegium* uçucu yağları % 30-97 oranında pulegon taşır.

Pulegonun biyolojik aktivitesi ile ilgili literatür taraması sonuçları aşağıda verilmiştir. Pulegon *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* de 8.0 ml lik konsantrasyonlarda *in vitro* antibakteriyal aktivite göstermiştir (41). Mikromol düzeyinde konsantrasyonda kobayda *in vitro* antihistaminik etkilidir (74). Sıçanda 15.0 mg/kg *i.p.* uygulanması halinde antipiretik etkilidir (76). Fare de subkutan uygulamada konvülsyonları azaltır (105). *İn vivo* ve *in vitro* uygulamada sıçanda sitokrom P-450 yi inhibe eder ve lizozomal enzim aktivitesi gösterir (63, 44). % 1 pulegon içeren diyetle beslenen sıçanlarda hiperkolesterolemi olduğu ve bu durumda pulegonun besin tüketimini azalttığı gözlenmiştir. Pulegonun hepatotoksik aktivitesi sıçanda hepatositlerde vakuol artışı ve plazma kreatinin düzeyinde düşme ile bildirilmiştir (44, 95)

Pulegonun sitokrom P-450, lizozomal enzim, vücut ağırlığı ve kolesterol metabolizmasındaki etkileri hepatotoksik aktivitesi ile yakından ilişkili gibi gözükmektedir. Nörotoksik etkisi sıçanda 20 mg/kg da atoni ve ensefalopati şeklinde gözlenir (95). Farede spontan motor aktivitenin azalmasına neden olur (76). Pulegon kedide 1.0 ve 5.0 g doz da öğürme, kusma, diyare, zayıflık, titreme ve düzensiz hareketlere neden olur (61).

Birkaç damla pulegonun kurbağada letal etkili olduğu rapor edilmiştir (61). Minimum letal dozu güvercin, köpek ve tavşanda 0.5, 3-5, 1.5-2 g olarak verilmiştir. Farede subkutan LD₅₀ 1.709 g/kg dır (105).

Yaprak + çiçek' leri uçucu yağca oldukça zengin olan *C. niveum*' dan endüstriyel ölçekte uçucu yağ üretilebilmesi bu bitkinin tarımının yapılmasıyla mümkündür. Uçucu yağ ile biyolojik aktivite tayinleri yapılarak, toksisitesinin ve etkilerinin araştırılması gereklidir.

Tablo 5.1.%10 nun üzerinde Pulegon Taşıyan Uçucu Yağların Elde Edildiği Bitkiler

| TÜRLER | FAMILYA | KAYNAĞI | PULEGON (%) | REF. |
|--|----------|-----------------|-------------|------|
| <i>Mentha rotundifolia</i> | Labiatae | Fas | 97 | 16 |
| <i>Mentha pulegium</i> | Labiatae | Şili | 97 | 67 |
| <i>Acinos majoranifolius</i> | Labiatae | Yugoslavya | 97 | 109 |
| <i>Mentha pulegium</i> | Labiatae | Güney Afrika | 93 | 2 |
| <i>Mentha pulegium</i> | Labiatae | İngiltere | 90 | 56 |
| <i>Ziziphora tenuior</i> subsp. <i>taurica</i> | Labiatae | Türkiye | 86-87 | 85 |
| <i>Mentha pulegium</i> | Labiatae | İspanya | 71-83 | 35 |
| <i>Mentha arvensis</i> | Labiatae | Papua Yeni Gine | 83 | 78 |
| <i>Hedeoma pulegioides</i> | Labiatae | Amerika | 82 | 35 |
| <i>Micromeria fruticosa</i> subsp. <i>barbata</i> | Labiatae | Türkiye | 81 | 54 |
| <i>Micromeria capitellata</i> | Labiatae | Hindistan | 80 | 80 |
| <i>Mentha gentilis</i> | Labiatae | Japonya | 78 | 69 |
| <i>Ziziphora taurica</i> subsp. <i>cleonioides</i> | Labiatae | Türkiye | 47-78 | 86 |
| <i>Mentha pulegium</i> | Labiatae | Türkiye | 23-78 | * |
| <i>Poliomintha incana</i> | Labiatae | Amerika | 77 | 59 |
| <i>Acinos suaveolens</i> | Labiatae | Türkiye | 33-75 | 100 |
| <i>Mentha gattefossei</i> | Labiatae | Amerika | 66 | 60 |
| <i>Mentha piperita</i> | Labiatae | Vietnam | 22-65 | 70 |
| <i>Ziziphora taurica</i> subsp. <i>taurica</i> | Labiatae | Türkiye | 38-65 | 13 |
| <i>Calamintha arkansana</i> | Labiatae | Amerika | 63 | 97 |
| <i>Mentha gattefossei</i> | Labiatae | Fransa | 60 | 42 |
| <i>Ziziphora clinopodioides</i> | Labiatae | Türkiye | 60 | 1 |
| <i>Hedeoma drummondii</i> | Labiatae | Amerika | 60 | 29 |
| <i>Calamintha nepeta</i> subsp. <i>glandulosa</i> | Labiatae | Belçika | 30-58 | 19 |

| | | | | |
|---|------------|------------------------------|-------|------------|
| <i>Micromeria fruticosa</i> subsp. <i>brachycalyx</i> | Labiatae | Türkiye | 57 | 55 |
| <i>Cyclotrichium niveum</i> | Labiatae | Türkiye | 56 | bu çalışma |
| <i>Ziziphora bungeana</i> | Labiatae | Bağımsız Devletler Topluluğu | 55 | 23 |
| <i>Micromeria brownei</i> var. <i>pilosiuscula</i> | Labiatae | Amerika | 52 | 96 |
| <i>Micromeria fruticosa</i> subsp. <i>serpyllifolia</i> | Labiatae | Türkiye | 33-46 | 53 |
| <i>Mentha pulegium</i> | Labiatae | Angola | 42 | 79 |
| <i>Calamintha nepeta</i> subsp. <i>glandulosa</i> | Labiatae | Türkiye | 42 | 51 |
| <i>Mentha arvensis</i> | Labiatae | Vietnam | 8-40 | 72 |
| <i>Calamintha nepeta</i> | Labiatae | Yunanistan | 40 | 88 |
| <i>Calamintha grandiflora</i> | Labiatae | Yunanistan | 35 | 89 |
| <i>Calamintha nepeta</i> | Labiatae | İtalya | 32 | 7 |
| <i>Mentha pulegium</i> | Labiatae | Amerika | 30 | 8 |
| <i>Calamintha nepeta</i> | Labiatae | İtalya | 30 | 77 |
| <i>Panax quinquefolius</i> | Araliaceae | Çin | 26 | 108 |
| <i>Mentha longifolia</i> | Labiatae | İtalya | 21 | 39 |
| <i>Minthostachys verticillata</i> | Labiatae | Arjantin | 17 | 62 |
| <i>Satureja glabella</i> | Labiatae | Kanada | 16 | 58 |
| <i>Pycnanthemum virginicum</i> | Labiatae | Kanada | 15 | 58 |
| <i>Mentha arvensis</i> | Labiatae | Bağımsız Devletler Topluluğu | 14 | 45 |
| <i>Micromeria congesta</i> | Labiatae | Türkiye | 10-12 | 52 |

* TBAM nin yayınlanmamış çalışmaları

Tablo 5.2. Uçucu yağında %10 dan daha az Pulegon Bulunan Türler

| FAMİLYA | TÜRLER* |
|------------------|--|
| Labiatae | <i>Calamintha ascendens</i> (31), <i>Calamintha sylvatica</i> (75, 76), <i>Hedeoma multiflora</i> (26), <i>Hedeoma reverchonii</i> (28), <i>Lavandula officinalis</i> (25), <i>Mentha acuatica</i> (70, 36, 68), <i>Mentha cardiaca</i> (36), <i>Mentha citrata</i> (36, 68), <i>Mentha gentilis</i> (69), <i>Mentha sacchalinensis</i> (71), <i>Mentha spicata</i> (70, 36, 68), <i>Nepeta racemosa</i> (12), <i>Rhabdocaulon denudatum</i> (64), <i>Satureja chalepensis</i> (26), <i>Satureja douglasii</i> (83), <i>Satureja odora</i> (27), <i>Satureja parnassica</i> subsp. <i>sipylea</i> (99), <i>Schizonepeta tenuifolia</i> (107), <i>Sideritis mugronensis</i> (104), <i>Thymus leucostomus</i> var. <i>argillaceus</i> (9), <i>Thymus longicaulis</i> var. <i>subisophyllus</i> (11), <i>Thymus sibthorpii</i> (10), <i>Ziziphora biebersteinia</i> (50), <i>Ziziphora capitata</i> (50), <i>Ziziphora hispanica</i> (103), <i>Ziziphora pamiroalaica</i> (87), <i>Ziziphora puschkinii</i> (50). |
| Rutaceae | <i>Agathosma crenulata</i> (17), <i>Euodia daniellii</i> (81), <i>Murraya euchrestifolia</i> (47, 48) |
| Compositae | <i>Eupatorium inulaefolium</i> (3), <i>Matricaria chamomilla</i> (32), <i>Senecio fuchsii</i> (101) |
| Umbelliferae | <i>Pimpinella diversifolia</i> (5), <i>Stewartiella baluchistanica</i> (6) |
| Cannabaceae | <i>Cannabis sativa</i> (40, 98) |
| Ericaceae | <i>Vaccinium ashei</i> (43) |
| Gentianaceae | <i>Swertia japonica</i> (84) |
| Malvaceae | <i>Hibiscus syriacus</i> (37) |
| Myrtaceae | <i>Eugenia uniflora</i> (57) |
| Saxifragaceae | <i>Ribes nigrum</i> (73) |
| Solanaceae | <i>Capsicum annuum</i> (92) |
| Verbenaceae | <i>Lippia fissicalyx</i> (22, 82) |
| Membraniporoidae | <i>Conopeum seuratum</i> (34)** |

* Türler alfabetik sırayla verilmiştir.

**Denizlerde yaşayan bir omurgasız

KAYNAKLAR:

1. Akgül, A., De Pooter, H.L., De Buyck, L.F.: The Essential Oils of *Calamintha nepeta* subsp. *glandulosa* and *Ziziphora clinopodioides* from Turkey. J. Essent. Oil Res. , 3, 7-10, 1991.
2. Anon : Recent Investigations on Essential Oils. Bull. Imp.Inst. (London), 28 , 8 1930.
3. Appel De Mattos, M.: Contrubution to the Phytochemical Study of *Eupatorium inulaefolium* HBK- Compositae, Essential Oil II. Rev. Cent. Cienc Saude, 6, 127-134, 1978.
4. Ardrey, R.E., Brown., C., Allan, A.R., Bal., T.S., Moffat, A.C.: An Eight Peak Index of Mass Spectra of Compounds of Forestic Interest. Scottish Academic Press, Edinburgh, 1983.
5. Ashraf, M., Rafi, A., Bhatti, M. K.: The Essential Oils of the Pakistani species of the Family Umbelliferae: 34. *Pimpinella diversifolia* Seed and Stalk Oil. Pak. J. Sci. Ind. Res., 22, 265-266, 1979.
6. Ashraf, M., Saeed, T., Sandra, P. J. Bhatti, M. K.: Studies on the Essential Oils of the Pakistani Species of the Family Umbelliferae, XLVI. *Stewartiella baluchistanica*, E. Nastr, Oil of the Whole Plant. Pak. J. Sci. Ind. Res., 231, 70-72, 1980.
7. Bandini, P., Pacchiani, M.: Constituents, Properties and Use of *Calamintha nepeta*. Essenze Deriv. Agrum., 514, 325-330, 1981.
8. Barrowcliff, M.: The Constituents of the Essential Oil of American pennyroyal. Occurrence of a Dextro-menthone. Proc. Chem. Soc., 23, 114, 1907.
9. Başer, K. H. C., Kırimer, N., Özek, T., Kürkçüoğlu, M., Tümen, G.: The Essential Oil of *Thymus leucostamus* var. *argillaceus*. J.Essent. Oil Res., 4, 421-422, 1992.
10. Başer, K. H. C., Özek, T., Kürkçüoğlu, M., Tümen, G.: Characterization of the Essential Oil of *Thymus sibthorpii* Bentham. J. Essent. Oil Res., 4 (3), 303-304, (1992).
11. Başer, K. H. C., Özek, T., Kürkçüoğlu, M., Tümen, G.: Composition of the Essential Oil of *Thymus longicaulis* C.Presl. var. *subisophyllus* (Barbas) Jalas from Turkey. J. Essent Oil Res., 4 (3), 311-312, (1992).
12. Başer, K.H.C., Özek, T., Akgül, A., Tümen, G.: Composition Essential Oil of *Nepeta racemosa* Lam., J. Essent Oil Res. (in press).
13. Başer, K.H.C., Kürkçüoğlu, M., Özek, T., Tümen, G., Sezik, E.: The Volatile Constituents of *Ziziphora* Species Growing in Turkey. Doğa-Tr. J. of Pharmacy, 2, 7-16, 1992.
14. Bauer, K., Garbe, D.: Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses. Weinheim VCH Verlagsgesellschaft, Darmstadt, 1985.
15. Baytop, T.: Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi Yayınları, No.3255, Ecz.Fak. No.40, İstanbul, 1984.

16. Berrada, M.B., Holeman, M., Ildirissi, A., Pinel, R.: Qualitative and Quantitative Analysis of the Essential Oil of *Mentha rotundifolia* (L.) Hudson ssp. *rotundifolia* a. Plant. Med. Phytother., **171**, 33-39, 1983.
17. Blommaert, K. L. J., Bartel, E.: Chemotaxonomic Aspects of the Buchu Species *Agathosma betulina* (Pillans) and *Agathosma crenulata* (Pillans) from Local Plantings. J. S. Afr. Bot., **42**, 121-126, 1976.
18. British Pharmacopoeia. Vol. II, The University Printing House, Cambridge, England.
19. Brunke, E-J. (Ed.): Progress in Essential Oil Research. Proceedings of the International Symposium on Essential Oils, Holzminden/Neuhaus, Federal Republic of Germany, September 18-21, 1985, Berlin, 1986. (H.L.De Pooter, N.M. Schamp, Comparison on the Volatile Composition of some *Calamintha/Satureja* species, 139-150)
20. Bungaenko, L.A., Reznikoya, S. A. : Genetic Control of Terpene Biosynthesis in Mint. I. Genotypes in Certain *Mentha* Species and Intraspecific varieties from Genes Controlling Biosynthesis of main Essential Oil Components. Genetica (Moscow), **2011**, 1857-1863, 1984.
21. Davis, P.H.: Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol.7, Edinburgh University Press, Edinburgh, 1982.
22. Delfini, A. A., Retamar, J. A.: Essential Oil of *Lippia fissicalyx*. Essenze Deriv. Agrum, **44**, 23, 1974.
23. Dembitskii, A.D., Yunna, R.A., Krotova, G.I., Goryaev, M.I., Sinitsyn, G.S.: Study of *Ziziphora bungeana* Essential Oil. Izv Akad Nauk Kaz SSR Ser Khim **291**, 63-65, 1979.
24. Doğanca, S., Ulubelen, A. , Tuzlacı, E.: Flavanones from *Cyclotrichium niveum*. Phytochemistry, **28**, (12) , 3561-3562, 1989.
25. Don, H., Tian, N., Feng, B., Qiad, H., Lu, X., Chemical Components of Lavender oil. SEPU, **22**, 75-79, 1985.
26. Fester, G.A., Martinuzzi, E.A., Retamar, J.A., Ricciardi, Y.A.I.A.: The Essential Oils of Cordoba and San Luis Argentina, Bol. Acad. Nac. Cienc., **39**, 375, 1956.
27. Fester, G.A., Martinuzzi, E. A., Ricciardi, A. I.: Volatile Oils. V. Rev. Fac. Ing. Quim., **20**, 21- , 1951.
28. Firmage, D.H.: Nongenetic Variation of the Monoterpenes in *Hedeoma*. Diss. Abstr. Int. B., **34**, 3129, 1974.
29. Firmage, D.H.: Environmental Influences on the Monoterpene Variation in *Hedeoma drummondii*. Biochem Syst Ecol, **9**, 53-58, 1981.
30. Formacek, V., Kubeczeka, K-H.: Essential Oil Analysis by Capillary Gas Chromatography, Carbon-13 NMR Spectroscopy. John-Wiley Sons, Bristol, 1985.
31. Frazao, S., Domingues, A., Sousa, M.B.: Characteristics of the Essential Oil of *Calamintha ascendens* (*Satureja calamintha*). Int. Congr. Essent. Oils (PAP) 6th allured Publ. Corp. Oak. Park Ill., **118**, 4, 1974.

32. Graciela, M., Griselda, A., Santi, M., Noemi, R., Juan, A.: The Essential Oil of *Matricaria chamomilla* L. (Chamomile). *Essenze Deriv. Agrum.*, **551**, 52-61, 1985.
33. Gürgen, A.: Türkiye'nin Önemli Eteri Yağları Üzerinde Araştırmalar I. Ankara Y. Zir. Enst. Derg. **6** (2), 301, 1946.
34. Hadjieva, P., Popov, S., Budevskia, B., Dyulgerov, A., Andreev, S.: Terpenoids from a Black Sea Bryozoan *Conopeum seuratum*. *Z. Naturforsch Ser. C.*, **429/10**, 1019-1022, 1987.
35. Handa, K.L., Smith, D.M., Nigam, I.C., Levi, L.: Essential Oils and their Constituents. XXIII. Chemotaxonomy of the Genus *Mentha*. *J. Pharm. Sci.*, **53**, 1407-1409, 1964.
36. Hanny, B. W., Thompson, A. C., Gueldner, R. C., Hedia, P. A.: Essential Oil of *Hibiscus syriacus*. *J. Agr. Food Chem.*, **21**, 1973.
37. Harborne, J.B., Dey, P.M.: *Methods in Plant Biochemistry*, Vol. 7, Academic Press Limited, UK, 1991.
38. Hegnauer, R.: The Content of Essential Oil and Carvone in Various Species of Mint. *Ber. Schweiz Bot. Ges.*, **63**, 90-102, 1953.
39. Hendriks, H., Malingre, T. M., Battermen, S., Bos, R.: The Essential Oils of *Cannabis sativa*. *Pharm. Weekbl.* **113**, 413-424, 1978.
40. Hinou, J. B., Harvala, C. E., Hinous, E. B.: Antimicrobial Activity Screening of 32 Common Constituents of Essential Oils. *Pharmazie*, **444**, 302-303, 1989.
41. Holeman, M., Berrada, M., Bellakhdar, J., Gorrichon, J.P., Iidirissi, A., Pinel, R.: Chemical Analysis of the *Mentha gattefossei* maire Essential Oil. *Parfums Cosmet Aromes*, **59**, 61-62, 1984.
42. Horvat, R. J., Senter, S. D.: Comparison of the Volatile Constituents from Rabbiteye Blueberries (*Vaccinium ashei*) During Ripening. *J. Food. Sci.*, **502**, 429-431, 6, 1985.
43. Imaizumi, K., Hanada, K., Mawatari, K., Sugano, M.: Effect of Essential Oils on the Concentration of Serum Lipids and Apolipoproteins in Rats, *Agr. Biol. Chem.* **499**, 2795-2796, 1985.
44. Jackonis, J., Zviniene, N.: Biological and Biochemical Characteristics of the Main Taxons of Mint Cultivated and Growing Naturally in the Lithuanian SSR. 7. field mint. *Liet TSR Makslu Akad Darb Ser C*, **3**, 44-49, 1985.
45. Jennings, W., Shibamoto, T.: *Qualitative Analysis of Flavour, Fragrance Volatiles by Glass Capillary Gas Chromatography*. Academic Press, London, 1980.
46. Ji, X. D., Pu, Q. L., Yang, G. Z. The constituent of Volatile Oils from *Murraya euchrestifolia*. *Yao Hsueh T'ung Pao*, **17**, 302, 1982.
47. Ji, X. D., Pu, Q. L., Yang, G. Z.: Studies on the Volatile Oil from Dou Ye Jiu Li Ziàng (*Murraya euchrestifolia* Hayata). *Chung TS'ao Yao.*, **139**, 397-405, 1982.
48. Ji, X. D., Pu, Q. L., Yang, G. Z. The Chemical Components of Essential Oil from *Murraya euchrestifolia* Hayata. *Yao Hsueh Hsueh Pao*, **188**, 626-629, 1983.

49. Kaxymov, I. M., Ismailov, N. M., Kasumov, F. Y.: Essential Oils of *Ziziphora* L. Species : Composition and Antimicrobial Activity. I. Z. V. Akad. Nauk. S. S. R., **6**, 22-27, 1989.
50. Kırımer, N , Başer, K.H.C., Özek, T., Kürkçüoğlu, M.: Composition of the Essential Oil of *Calamintha nepeta* subsp. *glandulosa*. J. Essent. Oil Res., **4**, 189-190, 1992.
51. Kırımer,N., Özek, T., Başer, K.H.C.: Composition of the Essential Oil of *Micromeria congesta*. J. Essent Oil Res., **3** (6), 387-393, 1991.
52. Kırımer, N., Özek, T., Başer, K.H.C., Harmandar, M.: The Essential Oil of *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *serpyllifolia* (Bieb.) P.H.Davis. J. Essent. Oil Res. (in press).
53. Kırımer, N., Tümen, G., Özek, T., Başer, K.H.C.: The Essential Oil of *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *barbata* (Boiss et Kotschy) Davis of Turkish Origin. J. Essent. Oil Res
54. Kırımer, N.: The Essential Oil of *Micromeria fruticosa* (L.) Druce ssp. *brachycalyx* P.H. Davis, J. Essent. Oil. Res.**4**, 521-522, 1992.
55. Kunkell, A.J.: Toxicology of *Mentha pulegium*, Handbuch der Toxicologie, Verlag Gustav Fischer, Jena. **1**, 962-963, 1899.
56. Lalli De Viana, M. J., Retamar, J. A.: Essential Oil of *Stenocalyx micheli* (Myrtle). An. Acad. Brasil Cienc., **44**, 183, 1972.
57. Lawrence, B.M., Hogg, J.W., Terhune, S.J., Morton, J.K., Gill, L.S.: Terpenoid Composition of some Canadian Labiatae. Phytochemistry **11**, 2636-2638, 1972.
58. Lewis, E.J., Friedrich, E.C.: The Essential Oil of *Poliomintha incana*. Plant.Med. **562**, 224-226, 1990.
59. Lincoln, D.E., Murray, M.J.: Monogenic Basis for Reduction of (+) - Pulegone to (-) - Menthone in Mentha Oil Biogenesis. Phytochemistry **17**, 1727-1730, 1978.
60. Lindemann, W.: The activity of Oleum Pulegii, Naunyn-Schmiedebergs Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. **42**, 356-375, 1989.
61. Lizzi, S.M., Retamar, J.A.: *Minthostachys verticillata* Essential Oil. Riv. Ital. Essenze Profumi Piante Offic. Aromi Saponi. Cosmet. Aer., **57**, 219, 1975.
62. Madyastha, P., Moorthy, B., Vaidyanathan, C. S., Madyastha, K. M.: In vivo and In vitro Destruction of Rat Liver Cytochrome P-450 by a Monoterpene Ketone, Pulegone. Biochem. Biophys Res Commun **1282**, 921-927, 1985.
63. Mancini, B., Rocha, A.B., Panizza, S.: *Rhabdocalon denudatus* (Bentham) Epling. 1. Presence of Pulegone in the Essential Oil. Rev. Cienc. Farm.(Araraquara), **2**, 93-99, 1980.
64. Masada, Y.: Analysis of Essential Oils by GC/MS. Hirokawa Publishing Co., Inc., Tokyo, 1975.
65. McLafferty, F.W., Stauffer, D.B.: The Wiley / NBS Registry of Mass Spectral Data. Vol. 1-7, Jonh Wiley Sons, New York, 1988.

66. Montes, M., Valenzuela, L., Wilkomirsky, T., Niedmann, C., Quantitative Determination of Pulegone from Volatile Oil of Chilean *Mentha pulegium* L.. Ann Pharm. Fr., **442**, 133-136, 1986.
67. Murray, M.J., Lincoln, D.E., Hefendehl, F.W.: Chemogenetic Evidence Supporting Multiple Allele Control of the Biosynthesis of (-) -Menthone and (+) - Isomenthone Stereoisomers in *Mentha* Species. Phytochemistry, **19**, 2103-2110, 1980.
68. Nagasawa, T., Umemoto, K., Tsuneya, T., Shiga, M.: Wild Mints of Tokai Districts IV. New Terpenic Alcohols in the Essential Oil of *Mentha gentilis* Containing (+) Pulegone as a Main Component. Nippon Nogei Kagaku Kaishi, **49**, 217, 1975.
69. Nam, C.B., Loi., D.T. : Characteristics of Biochemistry, Chemistry, and the Shape of Peppermint X-2. Tap Chi Duoc Hoc. **46/9**, 29, 1984.
70. Nagasawa, T., Umemoto, K., Tsuneya, T., Shiga, M.: Wild Mints of Tokai Districts IV. New Terpenic Alcohols in the Essential Oil of *Mentha gentilis* Containing (+) Pulegone as a Main Component. Nippon Nogei Kagaku Kaishi, **49**, 217, 1975.
71. Nickolaev, A.G.: Variability of the Composition of Monoterpenoids in Some Hybrid Posterities of Mint. Proc. IUPAC. 11th International Symp. Chem. Nat. Prod., **1**, 205-208, 1978.
72. Nikolaev, A.G., Le Zui Hai.: Essential Oils of *Mentha arvensis* L. from Vietnam. Rast Resur , **16**, 286-292, 1980.
73. Nishimura, D., Mihara, S.: Aroma Constituents of Black currant Buds (*Ribes nigrum* L.) Proc. 10th. int. Congress Essential Oils, Fragrances and Flavours, Washington, DC, Nov. 16-20, 1986, 30, 1986.
74. Ortiz De Urbina, A. V., Martin, M. L., Montero, M. J., Carron, R., Sevilla, M. A., San roman, L.: Antihistaminic Activity of Pulegone on the Guinea-Pig Ileum, J. Pharm Pharmacol **424**, 295-296, 1990.
75. Ortiz De Urbina, A.V., Martin, M.L., Montero, M.J., Carron, R., San Roman, L.: Pharmacologic Screening and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Calamintha sylvatica* subsp. *ascendens*. J. Ethnopharmacol, **232/3**, 323-328, 1988.
76. Ortiz De Urbina, A.V., Martin, M.L., Montero, M.J., Moran, A., San Roman, L.: Sedating and Antipyretic Activity of the Essential Oil of *Calamintha sylvatica* subsp. *ascendens*. J.Ethnopharmacol, **252**, 165-171, 1989.
77. Pagni, A.M., Catalano, S., Cioni, P.L., Coppi, C., Morelli, I.: Morpho-Anatomic and Phytochemical Studies of *Calamintha nepeta* (L.) Savi (Labiatae). Plant. Med. Phytother., **243**, 203-213, 1990.
78. Piper, T.J., Price, M.J.: Atypical oils from *Mentha arvensis* var. *piperascens* (Japanese mint.) Plant Grown from Seed. Int. Flavours Food Addit, **6**, 196, 1975.
79. Proenca Da Cunha, A., Roque, O.R., Cardoso Do Vale, J.: Chromatographic and Chemical Study of the Essential Oils of *Mentha pulegium* of Angola., Bol Fac Farm Coimbra **11**, 23, 1976.
80. Puri, H.S., Jain, S.P.: *Micromeria capitellata* Benth. a new source of Pulegone Parfume Kosmet , **693**, 163, 1988.

81. Reisch, J., Hussain, R. A., Szendrei, K., Adesina, S. K.: Extractives from *Euodia hupehensis* Fruit Hull, Peduncle, Twig and Leaf, Pharmazie., **4011**, 412-414, 1985.
82. Retamar, J. A., Talenti, E. C. J., Delfini, A. A.: Essential Oil of *Lippia fissicalyx*. 2. Essenze Deriv. Agrum, **45**, 31, 1975.
83. Rhoades, D.G., Lincoln, D.E., Langenheim, J. H.: Preliminary Studies of Monoterpenoid Variability in *Satureja douglasii*. Biochem. Syst. Ecol., **4**, 5-1976.
84. Sakai, T., Nakagawa, Y., Iwashita, T., Naoki, H., Sakan, T.: Semburins and Swertiols, Novel 2,8-Dioxabicyclo [3,3,1] Nonanes and their Precursory Alcohols from *Swertia japonica* Makino. Bull. Chem. Soc. Jap. **5611**, 3477-3482, 1983.
85. Sezik, E., Tümen, G., Başer, K.H.C.: *Ziziphora tenuior* L., a New Source of Pulegone. Flavour and Fragrance Journal, **6**, 101, 1991.
86. Sezik, E., Tümen, G.: Constituents of the Essential Oil of *Ziziphora taurica* subsp. *cleonioides* (Boiss) P.H.Davis Growing in Turkey, Journal of Islamic Academy of Sciences. **3**, 113-117, 1990.
87. Shavarda, A. L., Markova, L. P., Nadezhina, T. P., Sinitskii, V. S., Relenovskaya, L. M., Fokina, G. A., Ligaa, U., Tumbaa, K. H.: Essential Oil Plants of Mongolia. Terpenoid Composition of Essential Oils of Certain Species of the Lamiaceae Family. Rast . Resur., **16**, 286-292, 1980.
88. Souleles, C., Argyriadou, N., Philianos, S.: Constituents of the Essential Oil of *Calamintha nepeta*. J Nat Prod **503**, 510-511, 1987.
89. Souleles, C., Argyriadou, N.: The Volatile Constituents of *Calamintha grandiflora*. Planta Med., **562**, 234-235, 1990.
90. Srinivas, S.R.: Atlas of Essential Oils. Anadams, Newyork , 1986.
91. Swigar, A.A., Silverstein, R.M.: Monoterpenes: Infrared, Mass, ¹H NMR and ¹³C NMR Spectra and Kovats Indices. Aldrich Chemical Co., Inc., Wisconsin, 1981.
92. Takahashi, M., Osawa, K., Tsuai, C. T., Abe, M.: The Constituents of *Capsicum annuum* L. var *fasciculatum* Irish and the Distribution of Capsi-amide in the Varieties of *Capsicum annuum* L. Yakugaku Zasshi **100**, 221-223, 1980.
93. Tanker, M., Tanker, N.: Farmakognozi Cilt II. Reman Matbaasi, İstanbul, 1976.
94. The United States Pharmacopoeia (U.S.P. XX). Mach Printing Co. Easton, Pa. 1980.
95. Thorup, I., Wurtzen, G., Carstensen, J., Olsen, P.: Short Term Toxicity Study in Rats Doses With Pulegone and Menthol, Toxicol. Lett. **193**, 207-210, 1983.
96. Tucker, A.O., Maciarello, M.J., McCrory, D.: The Essential Oil of *Micromeria brownei* (Swartz) Benth. var. *pilosiuscula* Gray. J. Essent. Oil Res., **4** (3), 301-302, 1992.
97. Tucker, A.O., Maciarello, M.J.: The Essential Oil of *Calamintha arkansana*. (Nutt.) Shinnars. J. Essent Oil Res , **32**, 125-126, 1991.
98. Turner, C. E., Elsohly, M. A., Boeren, E. G.: Constituent of *Cannabis sativa* L. XVII. A review of the Natural Constituents. J.Nat. Prod. **43**, 169-234, 1980.