

## Pyrethrum roseum M.B. Çiçeklerinde «Pyrethrinler» ve Diğer Kimyasal Maddeler Yönünden Bir İnceleme

Recherches sur les Pyrethrins et Autres Composés  
Chimiques Existant dans Pyrethrum roseum M. B.

Melkin TANKER (\*) ve Rahmiye APAYDIN (\*\*)

Compositae familyasından bazı *Chrysanthemum* türleri ensektisit etkileri nedeniyle parazitlerle mücadelede önem arz etmektedir. Bu türler arasında bilhassa *Chrysanthemum cinerariaefolium* VİS. *Pyrethrum roseum* M. B. ve *Pyrethrum carneum* M. B. sayılabilir. Bunlardan sadece *P. roseum* M. B. memleketimizde yabancı olarak yetişmekte olup bilhassa Doğu Karadeniz bölgesinde Cimil Dağı (ca 2500 m), Doğu Anadolu'da Erzurum'un Oltu ve Olur kazalarına bağlı yüksek yayalarda rastlanmaktadır. Bu nedenle *P. roseum*'dan elde edilen droga memleketimizde «oltu tozu» veya ensektisit etkisi dolayısıyla bilhassa pirelere karşı kullanıldığından «pire otu» adları verilmektedir ve özellikle D.D.T.'nin keşfinden önce geniş çapta istifade edilmiştir.

Adı geçen türlerin ensektisit etkisi terkiplerindeki ester yapısına sahip birtakım terpenik maddelerden ileri gelmektedir. Genel olarak «Pyrethrinler» diye adlandırılan bu bileşikler kurbağalardan protozoarlara kadar bütün soğuk kanlı hayvanlarda toksik etkiye sahiptir. Ancak bu etkinin şiddeti bir hayvandan diğerine farklı derecelerde görülebilmektedir. İnsanlar ve sıcak kanlı hayvanlarda ise ağız yolu ile alındığı takdirde toksik etki görülmemektedir. Ancak İ. V. enjeksiyon yolu ile bu tip bir tesir görmek kabil olmaktadır. Böylece «pyrethrinler» taşıdıkları bu özellik nedeniyle insanlar ve sıcak kanlı hayvanlar için toksik etkileriyle büyük tehlikeler arzeden diğer bütün ensektisitlere üstün tutulmaktadır.

Redaksiyona verildiği tarih : 24 Kasım 1973

(\*) Farmakognozi Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi.

(\*\*) Farmasötik Kimya Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi.

Memleketimizde, Doğu Anadolu'da tabii olarak yetişen *P. roseum* M. B.'un ensektisit etkisinin terki bindeki pyrethrinlerden ileri geldiği tespit edilmiş olmakla beraber, çiçeklerindeki pyrethrinlerin miktarları, birbirlerine olan oranları ve diğer kimyasal maddeler yönünden günümüze kadar belli başlı bir çalışma yapılmamıştır. Bu sebeple pyrethrinler bakımından muhtevasını incelemek ve pyrethrinlerle birlikte petrol eterli ekstreye geçen diğer bazı kimyasal bileşikleri aydınlatmak ve ensektisit etki gösteren maddeler kullanılmaya elverişli miktarlarda ise memleketimizin bu bitkisini eczacılık alanında değerlendirebilmek amacı ile *P. roseum* M. B. kapitulumları üzerinde bir kimyasal çalışmayı uygun bulduk.

#### MATERYAL VE METOT

Çalışma materyalini teşkil eden çiçek durumları 1970 haziran ayı ortasında ve 1971 temmuz ayı başında henüz açılmışken, Olur kazasına bağlı Kekikli Köyünün Sumat Yaylasında, Göller Yöresi tabir edilen yerde toplandı. Toplanan kapitulumlar, 5-6 cm kalınlığı geçmemek üzere keçeler üzerine serilerek 3-4 gün gölgede sol duruldu ve sonra güneşte süratle kurutuldu. Kurutulan çiçeklerde hemen pyrethrin miktar tayinleri yapıldı.

Compositae familyasından olan *P. roseum* mayıs haziran aylarında çiçek açan 50-60 cm boyunda, çok senelik otsu bir bitkidir. Gövde boyuna oluklu, seyrek ve yumuşak tüylü. Yapraklar 7-8 cm boyunda, saplı; lamina pennatisekt, parçalar seyrek tüylü, mukronat. Çiçek durumları terminal; reseptakulum yarım küre şeklinde, içi dolu, üzeri pulsuz; involukrumu teşkil eden brakteler 4-5 mm boyda, dar lanseolat, konveks, sırt kısmı tüylü, kenarları zarımsı ve esmer renkli, kapitulumu çevreleyen dişi çiçekler dilsî, 2-2.5 cm boyunda, pembe renkli ve 20-30 tane kadar; orta kısmı dolduran tüpsü çiçekler hermafrodit, 2-3 mm boyunda, sarı renkli.

Kurutulmuş kapitulumlar toz edildikten sonra petrol eteri (40-60°C) ile perkole edildi ve ayrıca soxhlet aygıtında tüketildi. Elde edilen ekstreler ince tabaka kromatografisi ile mukayese edildi. Ortaya çıkan lekelerle göre iki ekstraksiyon metodu arasında bir

fark görülmediği için uygulamadaki kolaylık ve solvan kazancı yönünden soxhlet aygıtı ile tüketmeye karar verildi.

Soxhlet ile elde edilen ekstre vakumda distile edilerek yoğunlaştırıldıktan sonra üzerinde pyrethrin teşhis reaksiyonları ve çeşitli metotlarla miktar tayinleri yapıldı.

Elde edilen petrol eterli ekstrenin ince tabaka kromatogramında revelatör olarak  $SbCl_3$  veya  $Ce(SO_4)_2$  kullanılarak her ikisi ile de 8 leke tespit edildi. Bu lekeleri veren maddelerin pyrethrin'lerin dışında kalanlarından bazılarını izole etmek üzere sütun kromatografisinden yararlanıldı. Neticede aynı sütundan değişik oranlardaki solvan sistemi ile 3 tane saf madde izole edildi (izolasyon sırasına göre  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $P_3$ ).

Saf olarak elde edilen 3 maddenin teşhisi için; ergime noktası karışım ergime noktası ve polarize ışığı çevirme dereceleri tayin edildi. Ayrıca, elemanter analiz, U. V., İ.R., N. M. R. ve Mass spektromlarından istifade edildi.

Molekül bünyesindeki —OH fonksiyonlarının açıklık kazanması amacıyla maddelerin asetat, benzoat türevleri hazırlandı. Hazırlanan bu esterlerin ergime noktaları tayin edildi ve İ. R. spektrumları alındı.

İzole edilen maddelerden  $P_3$  üzerinde Oppenauer oksidasyonu uygulandı ve elde edilen oksidasyon ürününün İ. R. spektrumu incelendi.

#### BULGULAR

*P. roseum*'un petrol eterli total ekstresi temizlendikten sonra (1) üzerinde kalitatif pyrethrin testleri yapıldı:  $KMnO_4$ 'ün rengini giderme, fazla miktarda  $Br_2$  fikse etme, amonyaklı  $AgNO_3$ 'ü indirgeme ve polarize ışığı sağa çevirme özellikleri tespit edildi.

Petrol eterli ekstrenin alkollü NaOH ile sabunlaştırılması sonucu pyrethrin I'in açığa çıkardığı chrysanthemum monocarboxylic acid'in Denigés reaktifi ile verdiği fenoltalein kırmızısından-maviyeşile kadar değişen bir seri renk gözlemlendi. Aynı ekstre üzerinde pyrethrin I ve II'nin fosforik asit : asetik asit anhidriti (80 : 20) ka-

rışımı ile 100°C de 2-3 dakika bekletilmesi ile verdiği pembe renk reaksiyonu tespit edildi.

Total ekstrenin Kieselgel-G üzerinde değişik solvanlarla ve re-velatör olarak  $SbCl_3$ 'ün kloroformdaki doymuş çözeltisi veya serik sülfat kullanılarak yapılan incelemeler neticesinde elde edilen leke sayısı ve bu lekelerin Rf değerleri (Tablo : I) de gösterilmiştir.

(Tablo : I)

Solvan Sistemleri	Adsorban	Leke sayısı	Rf Değerleri
Heksan : metil etil keton (80 : 20)	Kieselgel-G	7	0,96; 0,92; 0,73; 0,55; 0,47; 0,38; 0,33
Benzol : etil asetat (85 : 15)	»	6	0,96; 0,92; 0,81; 0,66; 0,56; 0,41
Karbontetraklorür : etil asetat (80 : 20)	»	5	0,93; 0,84; 0,71; 0,63; 0,45
Benzol : metil etil keton (90 : 10)	»	6	0,92; 0,88; 0,76; 0,61; 0,52; 0,40
n — Heksan : etil asetat (75 : 25)	»	8	0,96; 0,91; 0,69; 0,58; 0,51; 0,39; 0,27; 0,20
Petrol eteri (KN=40— 60°C) : etil asetat (75 : 25)	»	7	0,96; 0,87; 0,78; 0,68; 0,61; 0,56; 0,46

Standart olarak temin edilen *P. cinerariaefolium* ekstresi ile hazırladığımız total ekstre ince tabaka kromatografisi ile mukayese edilince her iki ekstrede de aşağı yukarı aynı lekelerin mevcut olduğu anlaşılmıştır. (kromatogram : I).

İnce tabaka kromatogramında elde edilen lekelerden Pyrethrin I (chrysanthemum monocarboxylic acid türevleri) ve Pyrethrin II (pyrethric acid türevleri)'e ait olanların tespiti şöyle yapıldı : Standart ekstre ile total akstre birlikte tatbik edilerek develope edilen plaklarda pyrethrin'lerle renk reaksiyonu veren çeşitli re-velatörler denendi. Bu amaçla,  $SbCl_3$  reaktifi ile revele edilen plaklar 110°C de 10 dakika bekletildiğinde pyrethrin'lere ait olmak üzere

gri-yeşil lekelerin mevcudiyeti görüldü. Bu plaklar U. V. de, 366 m $\mu$  da incelendiğinde, tespit edilen bu lekelerin pyrethrin'lerden ileri gelmek üzere kahverengi - sarı fluoresans verdiği görüldü.

Fosfomolibdik asit reaktifi (%10 etanollu çözeltisi) revelâtör olarak kullanıldığında, plakların 80 - 90° C de 5 dakika bekletilmesinden sonra, sarı bir zemin üzerinde ve aynı yerlerde mavi lekeler görüldü. Ancak bu kromatogramda fosfomolibdik asit ile mavi leke veren 3 madde daha mevcuttu.

2,4 - Dinitrofenilhidrazin reaktifi (2N HCl'deki %0.4'lük çözeltisi) ile pyrethrin'lerden ileri gelmek üzere, aynı yerlerde, portakal kırmızısı renginde 2 leke tespit edildi. Literatür bilgisine göre (2), aynı solvan sistemi ile ve aynı adsorban üzerinde pyrethrin I'in Rf değeri pyrethrin II'nin Rf değerinden daha büyük olduğu için total ekstrenin kromatogramındaki (kromatogram I, lekeler starttan fronta doğru 1, 2, 3... olmak üzere işaretlenmiştir) 4. lekenin pyrethrin I ve 6. lekenin pyrethrin II olduğu düşünüldü. Total ekstrenin alkollü alkali ile yapılan hidrolizi sonucunda, tespit edilen bu lekelerin kaybolması bu ihtimali kuvvetlendirdi (kromatogram II).

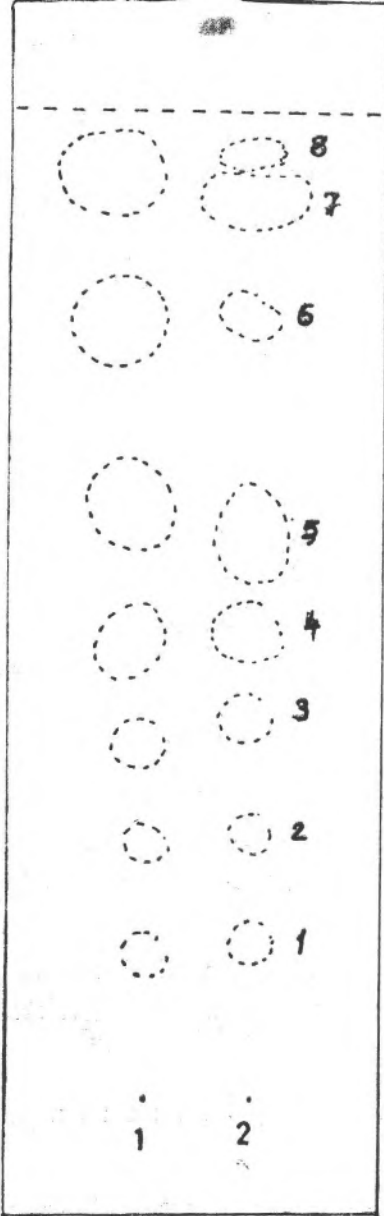
*P. roseum*'dan elde ettiğimiz petrol eterli ekstre, *P. cinerariaefolium* ekstresi ile mukayeseli olarak G.L.C.'e tabi tutulduğunda elde edilen kromatogram (kromatogram III) bize bu iki bitkinin ensektisit esterler yönünden aynı maddeleri ihtiva ettiğini göstermektedir.

Yapılan biyolojik deney sonunda da ekstrenin aktif oluşunun tespiti, bu aktivitenin pyrethrin mevcudiyetinden ileri geldiğini göstermiştir.

*P. roseum* kapitulumlarında pyrethrin'lerin miktar tayinleri

*P. roseum*'da pyrethrin miktar tayinleri, titrimetrik metotlarla, gaz kromatografisi ile ve bir de biyolojik metotla yapılmıştır.

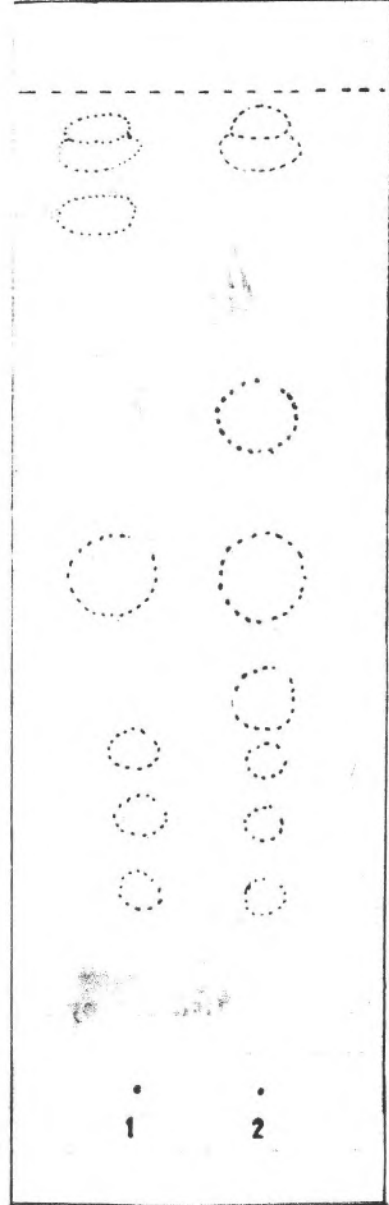
n — Heksan : etil asetat (75 : 25)  
 Developman : 28 dakika  
 Oda ısısı : 24°C



Kromatogram I

1 — *P. cinerariaefolium* ekstresi  
 2 — *P. roseum* total ekstresi

n — Heksan : etil asetat (75 : 25)  
 Developman : 25 dakika  
 Oda ısısı : 22°C



Kromatogram II

1 — Alkollü NaOH ile hidrolizden sonra  
 2 — Total ekstre

**Titrimetrik metotlarla :**

Titrimetrik metodlarla miktar tayini, pyrethrin I ve II esterlerini alkali sabunlaşma ile hidroliz ettikten sonra açığa çıkan chrysanthemum monocarboxylic acid ve chrysanthemum dicarboxylic acid'lerin çözünürlük farklarından yararlanarak birbirinden ayırıp chrysanthemum monocarboxylic acidi Denigés reaktifi ile muamele ettikten sonra ayarlı  $KIO_3$  ile, chrysanthemum dicarboxylic acidi ise doğrudan doğruya ayarlı NaOH çözeltisi ile titre etmeye dayanmaktadır.

Bu alanda A. O. A. C. (3) ve P. B. K. (4) Metotları ile alınan neticeler aşağıda verilmiştir.

A — Mercury reduction veya A. O. A. C. metodu ile alınan neticeler :

Pyrethrin I .....	% 0.1560
Pyrethrin II .....	% 0.2090
Total pyrethrin .....	% 0.3650
Pyrethrin I/pyrethrin II oranı .....	0.74

Bir yıl bekletilen çiçeklerde aynı metot uygulandığı zaman pyrethrin I ve II değerlerinde önemli derecede düşme görülmüştür. Ancak pyrethrin II değerindeki düşüş pyrethrin I'den daha fazladır. Yapılan deneyler sonunda :

Pyrethrin I .....	% 0.0934
Pyrethrin II .....	% 0.0845
Total pyrethrin .....	% 0.1779
Pyrethrin I/pyrethrin II oranı .....	1.1 bulunmuştur.

B — P. B. K. Metodu ile alınan neticeler :

Pyrethrin I .....	% 0.1605
Pyrethrin II .....	% 0.2105
Total pyrethrin .....	% 0.3710
Pyrethrin I/pyrethrin II oranı .....	0.76

Gaz kromatografisi ile :

Bu amaçla total pyrethrin ekstresinin G. L. C. (5) ile analizi yapıldı. Bunun için adsorban olarak %1 neo-pentylglycol succinate taşıyan «Chromosorb W» (asit ile yıkanmış ve 60-80 mesh) ile hazırlanmış 75 cm boy ve 2 mm iç çapına sahip gaz kromatografi kolonu ve Aerograf 204 ile electron capture detektörü kullanılmıştır. Neticede; standart ile aynı şartlarda yapılan deney sonunda elde edilen piklerin (kromatogram III) üçgene tamamlama metodu ile yapılan değerlendirilmesi sonucu :

Pyrethrin I .....	% 0.1777
Pyrethrin II .....	% 0.2055
Total pyrethrin .....	% 0.3832
Pyrethrin I/pyrethrin II oranı .....	0.86 bulunmuştur.

Pyrethrin I kavramı içinde Cinerin I ve Jasmolin I; Pyrethrin II kavramı içinde ise Cinerin II ve Jasmolin II de bulunduğu için ayrıca pyrethrin I ve II muhtevastındaki diğer esterlerin % kaç miktarlarda bulunduğu aynı metotla tayin edildiğinde (kromatogram IV, kromatogram V) şu neticeler alınmıştır :

Pyrethrin I .....	{	Cinerin I .....	% 1.5
		Jasmolin I .....	% 5.5
		Pyrethrin I .....	% 93.0
Pyrethrin II .....	{	Cinerin II .....	% 4.9
		Jasmolin II .....	% 7.9
		Pyrethrin II .....	% 87.2

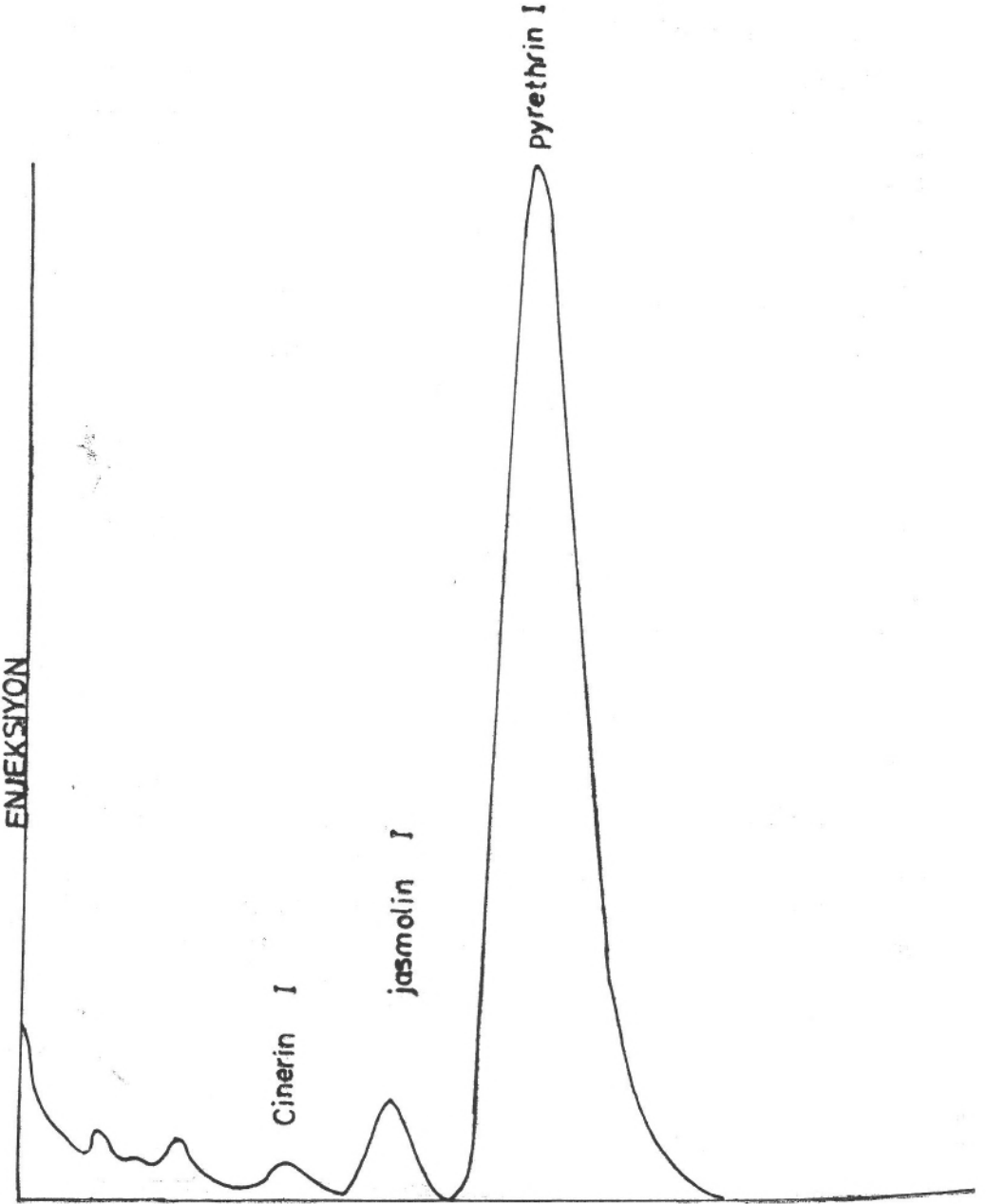
Bir yıl beklemiş drogda yapılan gaz kromatografik analiz sonunda ise şu sonuçlar alınmıştır :

Pyrethrin I .....	% 0.1083
Pyrethrin II .....	% 0.0944
Total pyrethrin .....	% 0.2027
Pyrethrin I/pyrethrin II oranı .....	1.1.

Biyolojik miktar tayini :

Bunun için Ph. Fr. (6) de verilen metot uygulandı. Bu metotta belirli miktar ekstreden hareketle hazırlanan emülsiyonun *Caras-*





Kromatogram IV.

n — Heksan : etil asetat (75 : 25)

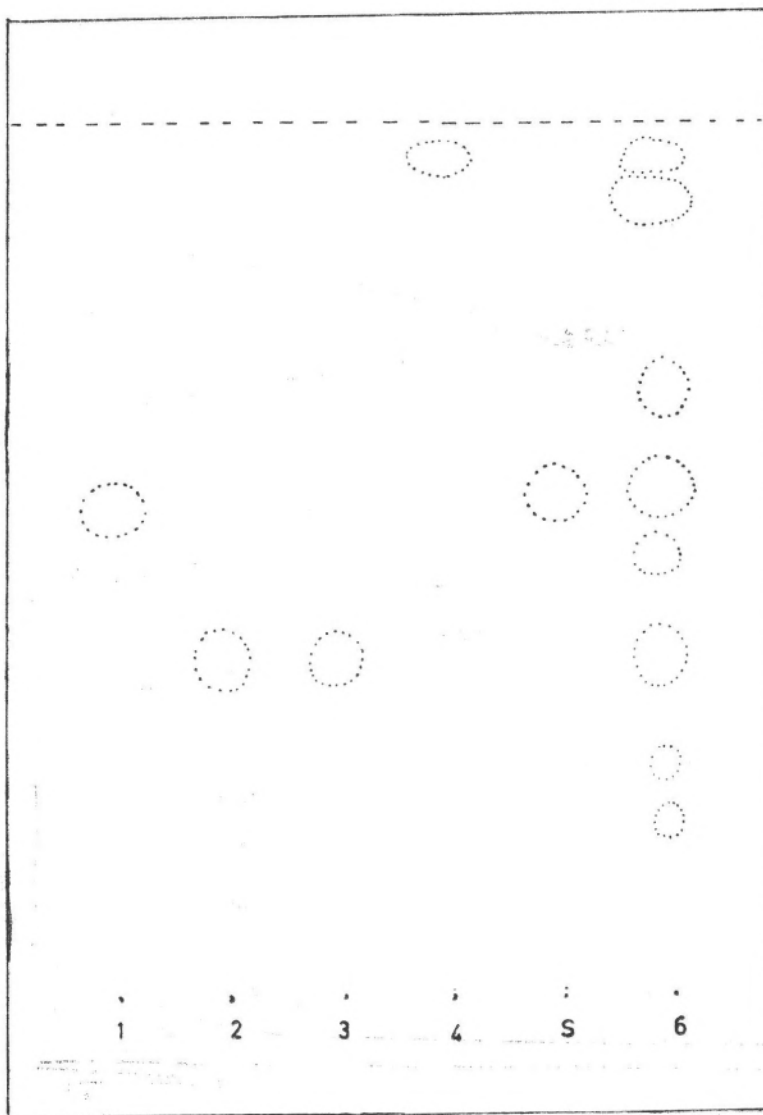
Gelişim : 30 dakika

Oda sıcaklığı : 22°C

1 = Taraxasterol

2 =  $\beta$  - Sitosterol3 = P<sub>3</sub>4 = P<sub>1</sub>5 = P<sub>2</sub>

6 = Total ekstre



Kromatogram VI

*sius auratus* L. adı verilen balıkların üzerindeki etkisi incelenmektedir. Adı geçen kodekse göre; drogun kullanılabilir özellikte olması için ağırlığı 5 g dolaylarında olan bu balıklarda emülsiyona daldırıldığı andan itibaren en fazla 3 dakika sonra denge ve yüzme bozukluğu ile karakterize edilen hareket düzensizlikleri görülmelidir.

İstenen şartlar hazırlanarak 10-12 g ağırlığındaki *Carassius auratus*'lara uygulanan deneyler neticesinde; balıklarda, emülsiyona daldırıldıktan hemen sonra yüzme bozukluğu, hareketlerde düzensizlik ve çözeltiden dışarıya atlama tablosu ile gözlenen bir eksi-tasyon, 2 dakika sonra da sakinleşme ve hareketsizlik görülmüştür.

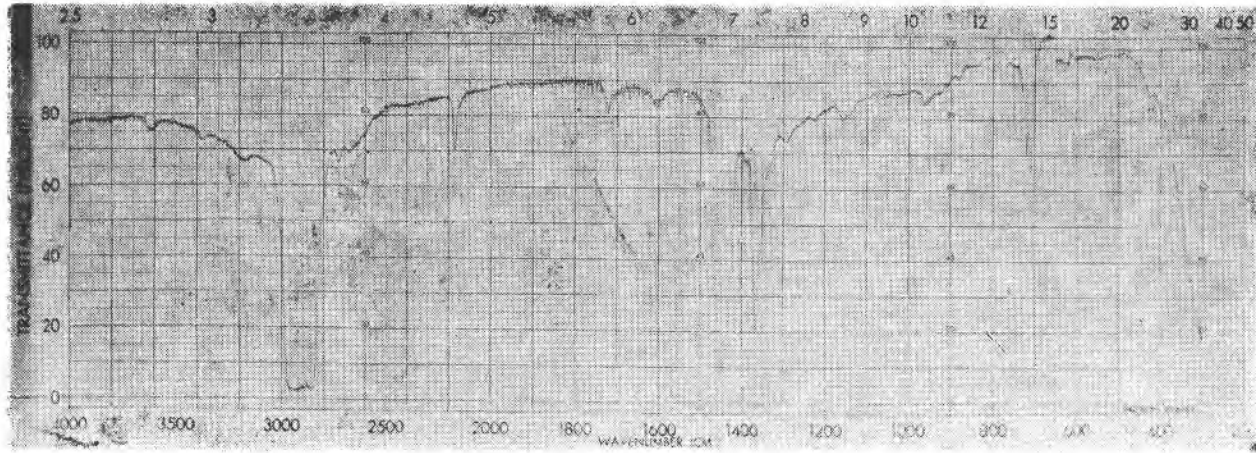
Pyrethrin'leri tüketmek için hazırlanan petrol eterli total ekstre de pyrethrin'lerin dışında kalan maddelerin izolasyonu için sütun kromatografisi denenerek,  $Al_2O_3$  (Aluminiumoxid aktiv neutral) sütununda n - heksan : eter solvan karışımını değişik oranlarda kullanmak suretiyle 3 madde saf halde elde edildi.

Bu amaçla aynı sütunda, total ekstrenin, önce n - heksan : eter (90 : 10) solvan karışımı ile yapılan elüsyonu sonucunda  $P_1$ , daha sonra n - heksan : eter (80 : 20) solvan karışımı ile yapılan elüsyonuyla da  $P_2$  ve nihayet n - heksan : eter (50 : 50) solvan karışımı ile yapılan elüsyonla da  $P_3$  diye adlandırılan maddeler elde edildi. Total ekstrenin ince tabaka kromatogramında bu maddelerden,  $P_1 = 8$ ,  $P_2 = 5$ ,  $P_3 = 3$  numaralı spotlara tekabül etmektedir.

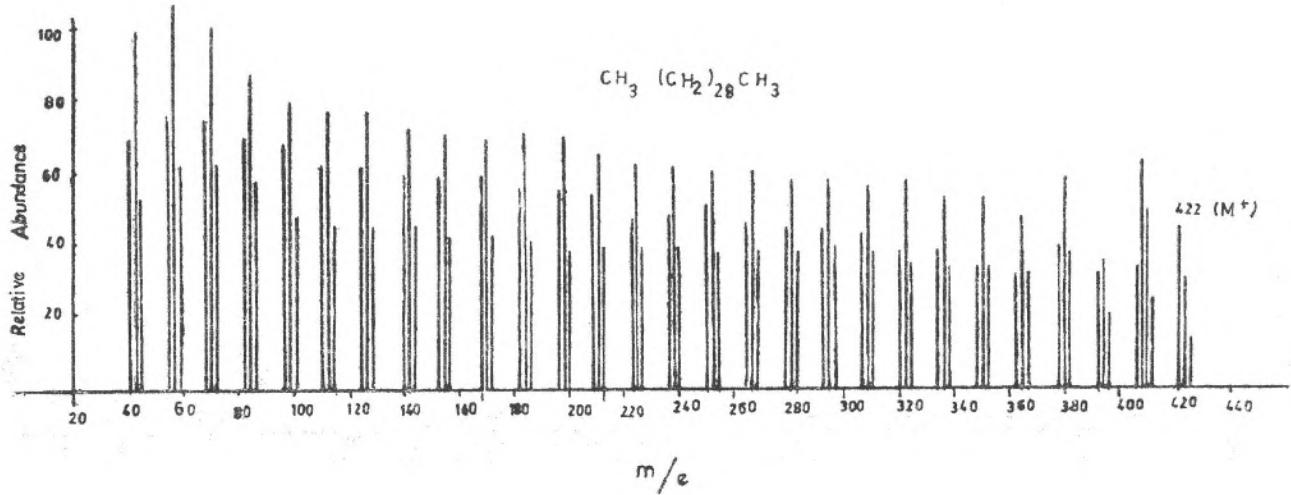
Saf halde elde edilen bu maddelerin bazı teşhis reaksiyonlarından sonra olması muhtemel bileşiklerle mukayesesi için taraxasterol ve  $\beta$  - sitosterol şahit nünuneleri ile  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $P_3$  ve petrol eterli total ekstre ince tabaka kromatografisine tabi tutulduğunda kromatogram (VI) elde edilmiştir.

$P_1$ ,  $P_2$ ,  $P_3$  maddelerini saf olarak ihtiva eden fraksiyonlar, vakumda düşük ısıda distillendikten sonra elde edilen bakiyeler etanolden kristallendirildi.

$P_1$  Maddesi : Kloroform + etanolden kristallendirilen bu madde, beyaz renkli, birbirine yapışan parlak yaprakçıklar halindedir,  $64^\circ C$  de ergimektedir. Madde üzerinde yapılan fonksiyonel grup analizleri sonucunda mevcut fonksiyonlardan hiçbirisini taşımadığı görülmüş-



Spektrum I. P<sub>1</sub> Maddesinin IR Spektrumu

Spektrum III. P<sub>1</sub> Maddesinin Mass, Spektrumu

tür. Yapılan elementer analiz sonunda da C : % 84.86, H : % 14.71 olarak bulunmuştur. Böylece sadece C ve H ihtiva eden bir hidrokarbon olduğu görülmüştür. Fiziksel özellikleri ve elementer analiz neticeleri bu maddenin n - triacontan olabileceğini düşündürmüştür. Nitekim maddenin İ.R. spektrumu da (spektrum I) tamamiyle bir doymuş alkan spektrumuna benzemektedir. Bu maddenin doymuş bir alkan olduğunu C - H ve C - C bağlarından ileri gelmek üzere, spektrumda beliren dört karakteristik bant göstermektedir. Bu bantlar :  $2940\text{ cm}^{-1}$  ve  $2860\text{ cm}^{-1}$  de C - H geriliminden ( $\text{CH}_3$  grubu),  $1460\text{ cm}^{-1}$  de makas hareketi bükülmesinden ( $\text{CH}_2$  grubu),  $1380\text{ cm}^{-1}$  de terminal metil gruplarının deformasyonundan,  $720\text{ cm}^{-1}$  de lineer bir zincir meydana getirmek üzere birleşen 4 veya daha fazla metilen gruplarındaki C'lara bağlı H'lerin titreşiminden ileri gelen bantlardır (7,8,9,10). Maddenin doymuş bir hidrokarbon olduğu N.M.R. spektrumu (spektrum II) ile de teyid edilmiştir. Bu spektrum incelendiğinde 0.8 ve 0.5 ppm ( $\delta$ ) de iki uç metil grubunu işaret eden sinyaller ve 1.2 ppm ( $\delta$ ) de ise uzun metilen zincirini belirten sinyaller görülmektedir (8,9). Maddenin Mass spektrumu da şüphesiz bir doymuş hidrokarbon olduğunu göstermektedir (spektrum III). Bu spektrumda kütle bantı m/e 422 de görülmektedir. Doymuş hidrokarbonlarda karakteristik bir durum olan  $\text{CH}_2$  gruplarının eksilmesi ile 408,394,380..... 29 da spektrumda görülen bantlar elde edilmiştir (9,11).

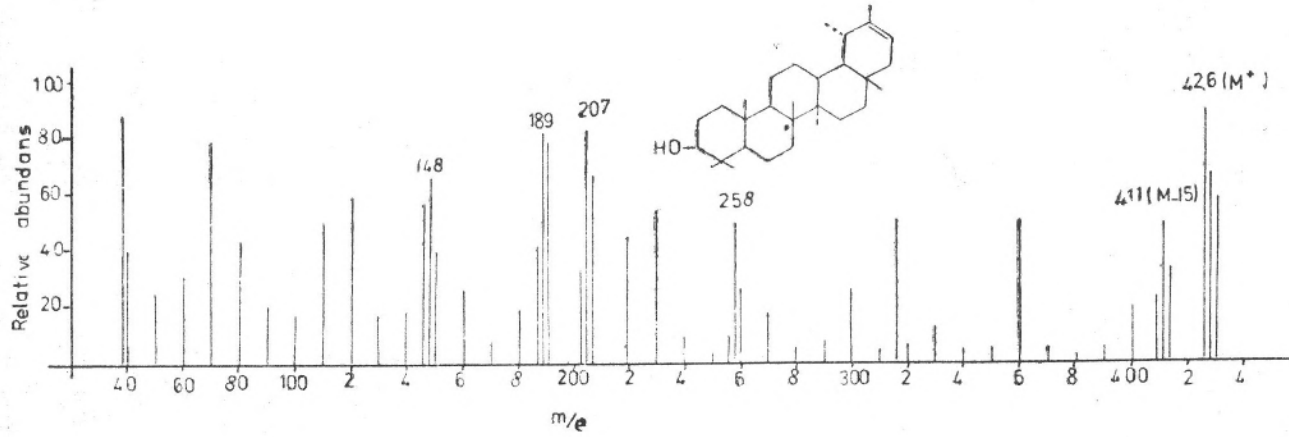
P<sub>2</sub> Maddesi :  $216^\circ\text{C}$  de ergiyen iğnecikler halinde beyaz kristalize bir maddedir. Triterpenlerin kalitatif tanımlanması için uygulanan Salkowsky, Liebermann - Burchard, Tschugajew Reaksiyonlarının (+) olarak vermektedir. Maddenin optik çevirme derecesi  $[\alpha]_D^{20} \div 79.3$  (kloroformda) tür. Değişik solvanlarla ince tabaka kromatografisinde her seferinde taraxasterol ile aynı R<sub>f</sub> değerini göstermesi ve ergime noktasının taraxasterol ve izomeri olan  $\Psi$  - taraxasterol'e yakın oluşu bu maddenin bunlardan bir tanesi olması ihtimalini düşündürdü. Ancak izole ettiğimiz maddenin ergime noktası taraxasterolün literatürde verilen ergime noktasından ( $220 - 222^\circ\text{C}$ ) (12) ziyade  $\Psi$  - taraxasterolün ergime noktasına ( $217 - 219^\circ\text{C}$ ) (12) daha yakındır.

Yapılan elementer analiz neticesinde C: % 84.01, H: % 11.75 olduğu görülmüştür. Taraxasterol ve  $\Psi$ -taraxasterolün  $C_{30}H_{50}O$  formülü için hesaplanan miktarlar ise C: % 84.44, H: % 11.81 dir.

İ.R. spektrumunda (spektrum IV)  $3600 - 3450 \text{ cm}^{-1}$  arasında görülen kuvvetli bir bant serbest —OH grubunun mevcudiyetini göstermektedir. Ayrıca  $1420 \text{ cm}^{-1}$  ve  $1330 \text{ cm}^{-1}$  de görülen bantlarında plân düzlemindeki O—H bağının titreşiminden ileri geldiği düşünülürse de bu bantlar —OH teşhisinde büyük bir değer taşımamaktadır. Ancak moleküldeki sekonder alkolün mevcudiyeti  $1000 - 1100 \text{ cm}^{-1}$  de görülen bantlarla ve asetil türevinin hazırlanma kolaylığı ile teyid edilmiştir. Aynı spektrumda  $1635 \text{ cm}^{-1}$  ve ayrıca  $3075 \text{ cm}^{-1}$ ,  $886 \text{ cm}^{-1}$  de görülen bantlar molekülde mevcut doymamışlığı göstermektedir.  $2940 \text{ cm}^{-1}$  de ise —CH<sub>3</sub> gruplarından ileri gelen bir bant görülmektedir.

Şahit taraxasterolün İ.R. spektrumu (spektrum V) ile bu maddenin İ.R. spektrumu karşılaştırıldığı zaman; (spektrum V) de  $1610 \text{ cm}^{-1}$  ve  $1630 \text{ cm}^{-1}$  de görülen ikili banta mukabil (spektrum IV) de  $1635 \text{ cm}^{-1}$  de tek bir bant görülmektedir. İ.R. spektrumlarındaki bu fark maddenin  $\Psi$ -taraxasterol olması ihtimalini kuvvetlendirmektedir (7,8,9,10).

N.M.R. spektrumunun (spektrum VI) dikkatle incelenmesi ve literatür bilgilerine dayanarak bu bileşiğin halka dışı metilen grubuna sahip olamayacağını tespiti  $\Psi$ -taraxasterol olmasını doğrulamaktadır. Çünkü bu tip metilen grupları 5 ve 6 ppm ( $\delta$ ) civarında bir protona tekabül eden 2 duplet verirler. (Bu dupletlerin bölünmesi çok dar bir sahada olup 2 veya 3 cps değerini geçmezler (13,14,15,16,17). Bizim maddemizin spektrumunda ise 4.5 ppm ( $\delta$ ) de bir protona tekabül eden tek bir duplet vardır ve bu duplet vinilik bir hidrojene tekabül etmektedir. Ayrıca 1.68 ppm ( $\delta$ ) de vinilik metil grubunu kesinlikle belirten bir sinyal görülmektedir. Böylece N.M.R. spektrumunda görülen bu farklılıklardan dolayı maddemizin  $\Psi$ -taraxasterol olabileceği anlaşılmıştır. Spektrumda 0.65 ppm ( $\delta$ ), 0.85 ppm ( $\delta$ ) ve 1.0 ppm ( $\delta$ ) de C<sub>5</sub>, C<sub>9</sub>, C<sub>14</sub> teki metil grupları, 1.68 ppm ( $\delta$ ) de vinilik metil grubu, 1.09-1.05 ppm ( $\delta$ ) de ise 1,1' metil grupları yer almış bulunmaktadır. —OH grubunun ise



Spektrum VII. P<sub>2</sub> Maddesinin Mass. Spektrumu

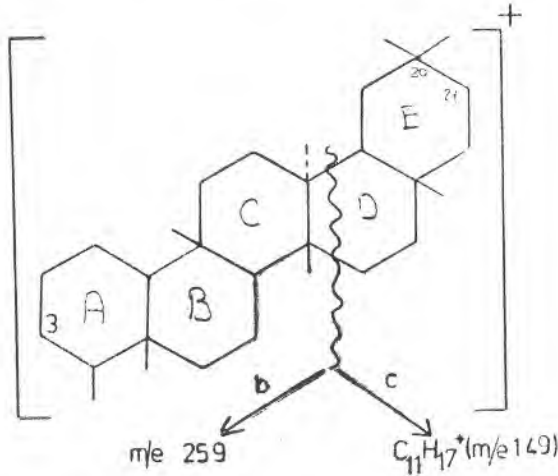


muhtemelen metilen zarfı altında kaldığı ve D<sub>2</sub>O değişmesi ile tespit edilemediğinden yeri verilememektedir.

Maddenin Mass spektrumu incelendiğinde (spektrum VII) 5 halkalı triterpenik maddelerin karakteristik bölünmesine uygun bir bölünme görülmektedir (18,11). Buna göre : kütle bantı m/e 426 da ve M<sup>+</sup> — CH<sub>3</sub> bantı m/e 411 dedir.

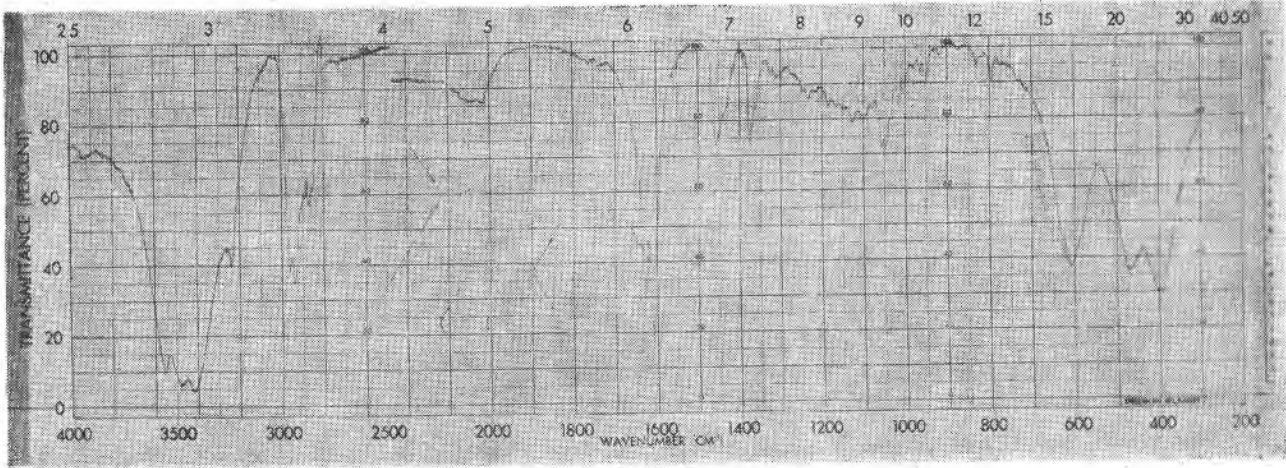
Halkada aşağıdaki şekilde gösterilen bölünme ile b ve c kısımları oluşur.

b kısmı molekülümüzde 3. mevkide —OH grubu taşıdığından m/e 276 - H<sub>2</sub>O bantını m/e 258 de verir, c kısmında ise molekülümüzde E halkasında ve C<sub>20</sub> ile C<sub>21</sub> arasında bir çifte bağ bulunduğu için m/e 148 de görülmektedir.



Ayrıca bu molekülde A ve B halkasının yalnız kalması ile meydana gelen, d ve e bölünmesi sonucu teşekkül eden m/e 207 ve m/e 189 bantları da spektrumda mevcuttur.

P<sub>3</sub> Maddesi : Mutlak etanolden elde edilen P<sub>3</sub> kristalleri, renksiz parlak pulcuklar halinde olup 137.1°C de ergimektedir. Optik çevirme derecesi  $[\alpha]_D^{22} - 33.7$  dir (kloroformda). Steroid reaksiyonlarını pozitif olarak vermektedir. Meunier Reaktifi (19) ile muamele edildiğinde, önce herhangi bir renk gözlenmeyip bir müddet



Spektrum VIII. P<sub>3</sub> Maddesinin IR Spektrumu

sonra pembeleşme ve gittikçe rengin kuvvetlenmesi bu sterolün mono etilenik olmasını gerektirmektedir. Elde edilen bu maddenin mono etilenik sterollerden ergime noktası  $137^{\circ}\text{C}$  civarında olan  $\beta$ -sitosterol olabileceği düşünüldü. Nitekim değişik solvanlarla ince tabaka kromatografisinde her seferinde standart  $\beta$ -sitosterol ile aynı  $R_f$  değerini göstermesi ve karışım ergime noktasının  $137.2^{\circ}\text{C}$  olarak tayin edilmesi bu ihtimali kuvvetlendirmektedir.

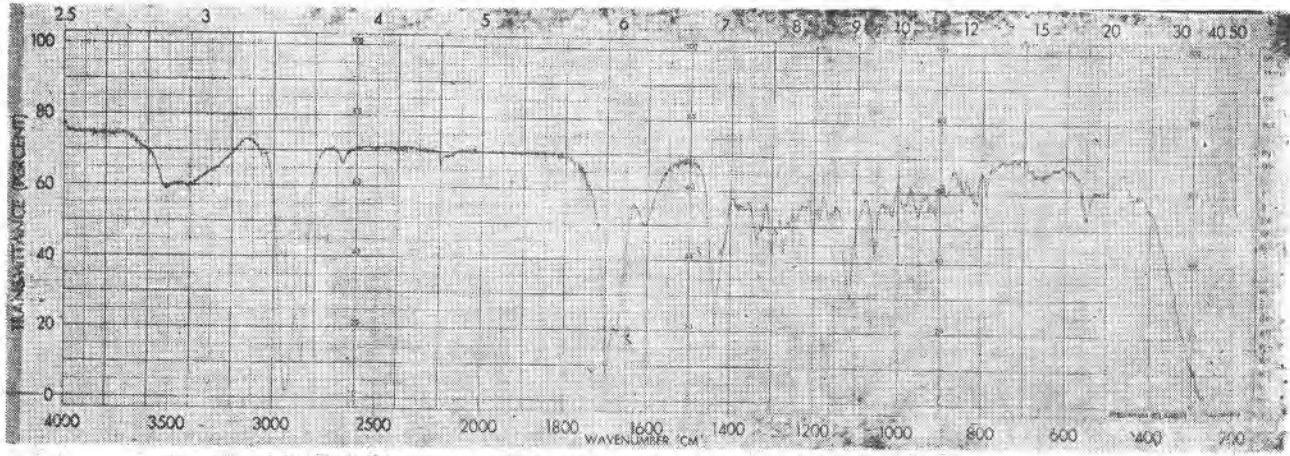
Yapılan elementer analiz neticesinde C: % 81.83,, H: % 12.27 olarak bulunmuştur.  $\beta$ -sitosterolün  $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$  formülü için hesaplanan miktarlar ise C: % 83.99, H: 12.5 tir.

İ.R. spektrumu incelendiğinde (spektrum VIII)  $3584 - 3450 \text{ cm}^{-1}$  arasında görülen kuvvetli bir bant bu molekülde  $-\text{OH}$  grubunun mevcudiyetini göstermektedir.  $1100 \text{ cm}^{-1}$  de görülen diğer bir bant bunun sekonder alkol olabileceğini doğrulamaktadır.  $2872 \text{ cm}^{-1} - 2962 \text{ cm}^{-1}$  de ve yine  $1375 \text{ cm}^{-1} - 1450 \text{ cm}^{-1}$  yakınında  $-\text{CH}_3$  gruplarından ileri gelen kuvvetli bantlar görülmektedir.  $\text{P}_3$ 'ün İ.R. spektrumu ile  $\beta$ -sitosterolün İ.R. spektrumu (spektrum IX) birbirine idantik olarak görülmektedir.

Bu maddenin taşıdığı  $-\text{OH}$  grubu üzerinden asetile türevi hazırlanarak hem hidroksil sayısının bir tane olduğu tespit edildi, hem de asetilli türevin İ.R. spektrumu incelendi (spektrum X). Bu spektrumda  $-\text{OH}$  grubuna ait bantların kaybolduğu buna mukabil  $1720 \text{ cm}^{-1}$  de asetatin karbonil ve  $1240 \text{ cm}^{-1}$  de asetatin  $\text{C}=\text{O}$  bağından ileri gelen bantlar tespit edildi.  $1241 - 1244 \text{ cm}^{-1}$  de görülen bantlar aynı zamanda 3-asetoxy  $\Delta^5$  steroidleri için karakteristiktir (20).

Steroid özelliği gösteren  $\text{P}_3$  molekülünde tespit edilen  $-\text{OH}$  fonksiyonu üzerinden «Oppenauer oksidasyonu» uygulandıktan sonra elde edilen oksidasyon ürününün İ.R. spektrumu incelendiğinde (spektrum XI), mevcut hidroksil bantının kaybına mukabil  $1699 \text{ cm}^{-1}$  de 3. C üzerindeki  $-\text{OH}$  yerinde teşekkül eden karbonil grubunun verdiği bant görülmektedir (7,8,20).

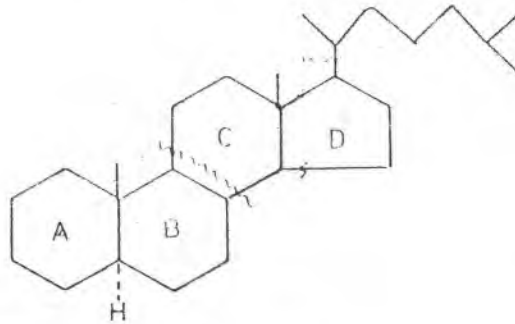
N.M.R. spektrumu (spektrum XII) incelendiği zaman  $1.95 \text{ ppm}$  ( $\delta$ ) de  $-\text{OH}$  grubunun verdiği sinyal görülmektedir,  $3.5 \text{ ppm}$  ( $\delta$ ) deki hidrojen sinyali ise 3. C daki  $-\text{OH}'\text{e}$  komşu hidrojene tekabül



Spektrum XI. P<sub>2</sub> Maddesinin Oppenauer oksidasyon ürününün IR Spektrumu

ctmektedir. 0.7 ppm ( $\delta$ ) de 18. metil, 0.95 ppm ( $\delta$ ) de 29. metil, 0.75 - 1.0 ppm ( $\delta$ ) arasında 21., 26., 27. metil, 1.3 ppm ( $\delta$ ) de 19. metil sinyalleri mevcuttur. 5.4 ppm ( $\delta$ ) de  $C_6$  daki hidrojen,  $C_7$  deki hidrojenlerin etkisi ile bölünmüş olan bir duplet vermiştir. Bu duplet ayrıca  $C_4$  deki hidrojenlerin de etkisinde kaldığından geniş bir duplet şeklindedir (9,21).

Mass spektrumunda (spektrum XIII) steroidal bir hidrokarbonun bölünmesine uygun bir bölünme görülmektedir. Buna göre : Kütle bantı m/e 414 de ve  $M^+ - CH_3$  bantı 399 da görülmektedir. Steroidal halkada aşağıdaki şekilde gösterilen bölünme bizim molekülümüze uygulanırsa : M — yan zincir için M — ( $C_{10}H_{21}$ ) m/e 273 de, M — (yan zincir  $\div$  D halkası) için M — ( $C_{10}H_{21} \div 41$ ) m/e 231 ve M — ( $C_{10}H_{21} \div 42$ ) m/e 232 deki bantların mevcudiyeti görülecektir. Ayrıca C halkasının kopması da m/e 173 deki bant ile tespit edilebilir (11,22,23).



#### SONUÇ VE TARTIŞMA

Halk arasında bir ensektisit olarak kullanılan ve ensektisit tesirinin pyrethrin'lerden ileri geldiği daha önceki çalışmalarla tespit edilmiş bulunan *P. roseum* kapitulumlarının, tesirli olan petrol eteri ekstresi üzerinde yapılan bu araştırmalar sonunda petrol eterli ekstreten 5 fraksiyon ayrılmış bulunmaktadır.

Bu fraksiyonlardan ikisi pyrethrin'lere ait olup biri pyrethrin I'ler karışımı ve diğeri de pyrethrin II'ler karışımından ibarettir. İnce tabaka kromatografisi ile ayrılıp tespit edilen bu karışımların ihtiva ettiği maddeler ve % miktarları da gaz kromatografisi yardımıyla hesaplanmış, total pyrethrin'ler miktarı «Merküri Redüksiyon» metodu ile tayin edilmiştir. Bunagöre *P. roseum* kapitulumlarında total % 0.373 oranında pyrethrin'ler karışımı bulunmakta ve pyrethrin I'ler karışımının % 93'ünün pyrethrin I, pyrethrin II'ler karışımının % 87.2'ini pyrethrin II teşkil etmektedir.

Dalmaçya'da yetiştirilen ve Kenya'da geniş ölçüde kültürü yapılan *P. cinerariaefolium* kapitulumlarında total pyrethrin miktarı % 0.6 - 1.3 arasında değişmektedir.

Buna göre *P. roseum* kapitulumlarındaki total pyrethrin miktarı oldukça düşüktür. Ancak biyolojik olarak yapılan aktivite kontrolü *P. roseum* kapitulumlarından elde edilen ekstrenin de kodekslerin istediği standarda uyduğunu göstermiştir. Nitekim Fransız farmakopesine göre *Carrassius auratus L.*, üzerinde yaptığımız denemeler *P. roseum* kapitulumlarının da ensektisit bir drog olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Üzerinde çalıştığımız nümunedeki pyrethrin miktarının düşük oluşu ile bu biyolojik deneme çelişik gibi görünmekte ise de, pyrethrinler karışımındaki maddelerin oranları karşılaştırılırsa bu sonuçlar açıklanabilmektedir. Şöyle ki; pyrethrin I'ler karışımında asıl tesirli olan pyrethrin I dir. *P. roseum*'da pyrethrin I oranı % 93'tür. Pyrethrin I'ler karışımında bu kadar yüksek oranda pyrethrin I miktarına şimdiye kadar rastlanmamıştır. Pyrethrin II'ler arasında pyrethrin II oranı aynı şekilde yüksek olup % 87.2'ye ulaşmaktadır. Halbuki aynı oranlar *P. cinerariaefolium* için oldukça düşüktür. Mukayeseli rakamlar aşağıdaki tabloda verilmiştir. (Tablo II)

(T a b l o 11)

		P. roseum Ekstresi	Kenya Pyrethrum Ekstresi
Pyrethrin I	Cinerin I	% 1.5	% 14.8
	Jasmolin I	% 5.5	% 8.1
	Pyrethrin I	% 93.0	% 77.1
Pyrethrin II	Cinerin II	% 4.9	% 23.0
	Jasmolin II	% 7.9	% 7.8
	Pyrethrin II	% 87.2	% 69.2

Böylece, total pyrethrin'ler içinde yüksek ensektisit aktiviteye sahip olan pyrethrin I ve pyrethrin II'nin cinerin ve jasmolin gibi diğer esterlere oranla çok daha fazla miktarlarda bulunduğu tespit edilen *P. roseum* kapitulularının, Fransız farmakopesine göre istenen fizyolojik aktiviteyi de gösterdiği dikkate alınarak, memleketimizde yetişmekte olan bu türden ensektisit amaçla faydalanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Ensektisit maksatla kullanılan pyrethrin'ler bitkiden saf olarak elde edilmeyip, preparat hazırlamakta, elde edilen total ekstraktlar kullanılmaktadır. *P. roseum*'dan da elde edilebilecek total ekstraktlarda pyrethrin'lerden başka hangi maddelerin bulunacağı tespit edilmek üzere yaptığımız araştırmalarda sütun kromatografisi yoluyla ayırmak suretiyle 3 madde izole edilmiştir : n - triacontan,  $\Psi$  - taraxasterol ve  $\beta$  - sitosterol.

Fiziksel özellikleri, elementer analizi, İ.R., N.M.R. ve Mass spektrumları yardımıyla teşhis edilen n - triacontan, *P. cinerariaefolium* kapitulularında da tespit edilmiş bir maddedir.

$\Psi$  — taraxasterol de fiziksel özellikleri, spektrumlarının tetkiki ve hazırlanan bazı tüdevlerinin incelenmesi ile tespit edilmiştir. Bu madde *P. cinerariaefolium*'da yoktur. Bu bitkide, bu maddenin

bir izomeri olan taraxasterol bulunmaktadır. İzole ettiğimiz bu maddenin İ. R. spektrumundaki farklılık ve N.M.R. spektrumunda 4.5 ppm ( $\delta$ ) de bir protona tekabül eden tek bir dupletin mevcudiyeti ve bu dupletin vinilik bir hidrojene tekabül etmesi halka dışı metilen grubunun olamayacağını göstermiştir. Ayrıca 1.68 ppm ( $\delta$ ) deki sinyal vinilik metil grubunun mevcudiyetini kesinlikle belirtmektedir. Bu meyanda hazırladığımız türevlerin de  $\Psi$  — taraxasterol türevlerinin özelliklerini göstermesi bunun taraxasterol değil, bir izomeri olan  $\Psi$  — taraxasterol olduğunu göstermiştir.

*P. roseum* kapitulularının ekstresinden elde edilen 3. madde  $\beta$  - sitosteroldür. *P. cinerariaefolium*'da bir sterol bulunduğu, uygulanan renk reaksiyonları ve gaz kromatografisi yardımıyla tespit edilmiş bulunmakla beraber bu sterol henüz izole ve teşhis edilmiş değildir. *P. roseum*'dan izole ettiğimiz madde ise gerek kendisinin gerekse tarafımızdan hazırlanan türevlerinin fiziksel özellikleri İ.R., N.M.R. ve Mass spektrumları ile  $\beta$  - sitosterol olarak tayin ve teşhis edilmiştir.

#### Ö Z E T

Bu çalışmada, Doğu Anadolu'da Oltu ve Olur kazalarına bağlı yüksek yayalarda tabii olarak yetişen *P. roseum* M.B. kapitulularının kimyasal analizi yönünden bir araştırma yapılmıştır.

Bu bitkinin çiçeklerinin ihtiva ettiği pyrethrin I ve pyrethrin II miktarı; kimyasal metodlarla, G.L.C. ile ve biyolojik yolla olmak üzere tayin edilmiştir. Neticede ortalama olarak

pyrethrin I	% 0.1647,
pyrethrin II	% 0.2083 ve
total pyrethrin	% 0.3730 olarak bulunmuştur.

Uygulanan biyolojik metot, bitkinin istenen aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.

Pyrethrin miktar tayinlerinin yanı sıra, pyrethrin'lerle birlikte petrol eterli ekstreye geçen maddelerden ileri gelmek üzere ince tabaka kromatografisi ile tespit edilen 8 lekedен 5 tanesi tanımlanmış ve pyrethrin'lerin dışında kalanların izolasyonuna çalışıl-



mıştır. Neticede sütun kromatografisi yardımı ile  $n$ -triacontan,  $\Psi$ -traxasterol,  $\beta$ -sitosterol olmak üzere 3 madde izole edilmiştir. Bu maddeler ergime noktaları, polarize ışığı çevirme dereceleri, elemanter analizleri, U.V., İ.R., N.M.R. ve Mass spektrumları yardımı ile ve çeşitli türevlerinin hazırlanması ile teşhis ve tayin edilmişlerdir.

#### R E S U M E

Ce travail a eu pour but de determiner la composition chimique des capitules de *Pyrethrum roseum* M.B.

Les échantillons examinés ont été recueillis sur les hauts plateaux des sous prefectures d'Oltu et Olur (région Est de L'Anatolie), plateaux où cette variété de *Pyrethrum* pousse à l'état sauvage.

La determination du taux en pyrethrines a été réalisée soit par les methodes chimiques, soit par chromatographie en phase gazeuse, soit par les methodes biologiques.

Les teneurs en pyrethrine trovées sont :

Pyrethrine I 0.1647 %

Pyrethrine II 0.2083 %

soit une teneur totale de 0.3730 % exprimée en «pyrethrine».

Les methodes biologiques permettent de considerer cette variété de *Pyrethrum* comme assez active.

Sur l'extrait obtenue par traitement des capitules par l'ether de petrole, il a été possible par chromatographie en couche mince de determiner la présence de 8 constituants, dont cinq ont pu être identifiés.

La chromatographie sur colonne nous a permis d'isoler 3 de ces produits :  $n$ -triacontane,  $\Psi$ -taraxasterol et  $\beta$ -sitosterol, identifiées par la detremination des points de fusion, la mesure des pouvoirs rotatoires et l'obtention des dérivés acétylés et benzoylés, ainsi que par leurs spectres de Masse, de R.M.N., U. V. et İ.R.

## L İ T E R A T Ü R

- 1 — **Staudinger, H., Ruzicka, L.** : Helv. Chim. Acta 7, 177 (1924).
- 2 — **Sthal, E.** : Dünnschicht - Chromatographie, Springer - Verlag., Berlin, Heidelberg, New York. 616 (1967).
- 3 — A.O.A.C. Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. Tenth Edition, Washington. D. Ç. 20044., 50 (1965).
- 4 — **Shah, V. M.** : Pyrethrum post. 10 (4), 27 (1970).
- 5 — **Head, S. W.** : Pyrethrum post. 9 (2), 3-7 (1967).
- 6 — **Pharmacopée Française.** : VIII. Edition, 293 (1965).
- 7 — **Davies, M.** : Infrared Spectroscopy and Molecular Structure. Elsevier Publishing Company. Amsterdam, London, New York (1963).
- 8 — **Ewing, G. W.** : Instrumental Methods of Chemical analysis. Mc. Graw-Hill Book Company, Inc., New York, Toronto, London (1960).
- 9 — **Silverstein, R. M., Bassler, G. C.** : Spectrometric Identification of Organic Compounds. Second Edition, John Wiley. Sons. Inc., New York, London, Sydney (1967).
- 10 — **Williard, H. H., Merrit, L. L., John, J.R., Dean, A.** : Instrumental Methods of analysis. 4. Edition., Van Nostrand Reinhold Company. New York, Cincinnati, Toronto, London, Melbourne. 146 (1965).
- 11 — **Budzikiewicz, H., Djerassi, C., Williams, H.** : Structur Elucidation of Natural Products by Mass spectrometry. 2, Steroids, terpenoids, sugars, and miscellaneous classes. Holden - Day, San Fransisco, London, Amsterdam, (1964).
- 12 — **Karrer, W.** : Konstitution und Vorkommen der Organischen Pflanzenstoffe. Birkhauser Verlag, Stuttgart. 823 (1958).
- 13 — **Geismann, T. A., Turley, R. J., Murayoma, S.** : J. Org. Chem. 31, 2269 (1966).
- 14 — **Geismann, T.A., Matsueda, S.** : Phyto. Chem. 7, 1613 (1968).
- 15 — **Geisman, T. A., Mukherjee, R.** : J. Org. Chem. 33, 656 (1968).
- 16 — **Herz, W., Subbaramaniam, P. S., Geismann, T.A.** : J. Org. Chem. 33, 3743 (1968)
- 17 — **Toribio, T. B., Geismann, T.A.** : Phyto. Chem. 7, 1623 (1968).
- 18 — **Budzikiewicz, H. J., Wilson, M., Djerassi, C.** : J. Amer. Chem. Soc. 85, 3688 (1963).
- 19 — **Tanker, M.** : Marsdenia erecta R. Br, kökleri üzerinde anatomik ve kimyasal araştırmalar (İstanbul Üniv. Eczacılık Doktora Tezi. 1960).
- 20 — **Roberts, G., Beatrice, S. Gallagher., Norman Jones, R.** : Infrared absorption spectra of steroids, an atlas. II. Interscience Publishers, Inc., New York, Interscience Publishers, Ltd. London (1958).
- 21 — **Slomp, G., Macheller, F. A.** : J. Amer. Chem. Soc. 84, 204 (1962).
- 22 — **Budzikiewicz, H., Djerassi, C.** : J. Amer. Chem. Soc. 84, 1430 (1962).
- 23 — **Friedland, S. S., George, H. Lane** : Anal, Chem. 31, 169 (1959).

## İLMİ HABERLER

1. Doç. Dr. Nevin Tanker Profesör oldu (1973)
2. Doç. Dr. Gazenfer Bingöl Profesör oldu (1973)

### Tezler :

1. Dr. Pharm. Ningur : Anadolu'da yetişen bazı bitkilerin, Steroidal ilâçların yarı sentezi yönünden değerlendirilmesi hakkında araştırmalar. (Doç. Tezi - 1973)
2. Mehmet Koyuncu : Türkiye'deki Valeriana türleri üzerinde araştırmalar. (Doktora tezi - 1973)
3. Ecz. Erendiz Sayron : Styrax Liquidus üzerinde Farmakognozik çalışmalar. (Doktora tezi - 1973)

### Konferanslar :

Prof Dr. K.H. Frömming 3.4.1973 tarihinde «Farmasötik Teknoloji sahasında yeni gelişmeler» konulu.

Prof. Dr. Haas 23.5.1973 tarihinde «Yeni ilâçların geliştirilmesine örnek olan tabii maddeler» konulu.

Prof. Dr. Kleinsorge 23.5.1973 tarihinde «İlâçların yan tesirlerinin tesbitinde karşılaşılan güçlükler» konulu.

Prof. Dr. Teyeau Ekim 1973 de seri konferanslar vermiştir.

## DERS KİTAPLARI

1. Mekin Tanker - Nevin Tanker : Farmakognozisi Cilt I  
Özışık Matbaası - İstanbul, 1973
2. A. Cemal Omurtag : Mikrobiyoloji Ders Kitabı Viroloji.  
Fon Matbaası - Ankara, 1973
3. Orhan Altınkurt : Farmakoloji Ders Notları III  
Fon Matbaası - Ankara, 1973
4. Kâmil Karamanoğlu : Farmasötik Botanik Ders Kitabı  
Ongun Kardeşler Matbaası - Ankara, 1973
5. Genel ve Endüstriyel Farmasi Cilt II. : Enver İzgü  
Ayyıldız Matbaası A.Ş. - Ankara, 1973

**Fakülte Profesörler Kurulunun 10.3.1970 tarih ve 358 sayılı Kararı ile Fakülte Mecmuasında yayınlanacak yazılar için tesbit edilen esaslar**

1) Dergide, başka bir mecmuada aynı isimle ve aynı tarzda neşredilmemiş orijinal çalışmalar yayınlanır.

2) Yazılar Komisyona verildiği tarih sırasıyla yayınlanır.

3) Metin 15 daktilo sayfasını geçmemek üzere Türkçe veya yabancı dilde yazılabilir. Metnin başlığı ve özeti Türkçe ve yabancı dilde yazılacaktır.

4) Yazılar, kâğıdın bir yüzüne, daktilo ile ve normal aralıklarla yazılmalı, italik yazılacak kelimelerin altı çizilmeli, klişesi yapılacak grafik, şema, formül gibi şekiller, çini mürekkep ile, aydinger kâğıdına çizilmeli; fotoğraflar parlak kâğıda ve kontrastlı olarak çekilmelidir. Şekillerin her biri ayrı kâğıtlarda olmalı ve kâğıdın üzerinde yazarın adı, kaçınıcı şekil olduğu, resim altı olarak yazılması istenen ibare kaydedilmelidir.

5) Yazı plânı aşağıdaki şekilde olmalıdır : Konunun takdimi, bulgular, denel kısım, münakaşa, Türkçe özet, yabancı dilde özet, literatür.

Konunun takdimi 2 daktilo sahifesini geçmemeli; materyal, metot ve yapılan ameliyeler «denel kısım» da yer almalı, «münakaşa» kısmı, gerekli ise konmalıdır.

Literatür, metinde parantez içindeki numaralarla belirtilmesi ve metin sonunda bu numaralara uygun olarak sıralanmalıdır. Sırasıyla yazarın soyadı, adının ilk harfi, mecmuanın milletler arası kullanılan kısaltılmış ismi, cilt numarası (italik), sayfa ve parantez içinde tarih yazılmalıdır.

6) Tashihler yazar tarafından yapılacaktır.

7) Yazara 50 ayrı baskı verilir.



ONGUN KARDEŞLER Offset-Tipe Matbaası

☎ : 11 95 49 - 24 39 21 — ANKARA

Fiati : 10 Lira