

Bazı *Juniperus* (Ardıç) Türlerinin Yaprak ve Meyvalarından Elde Edilen Uçucu Yağların Gaz Kromatografisi İle Araştırılması

Gas Liquid Chromatographic Researches on the Volatile Oils
Obtained From Leaves and From Fruits of Some
Juniperus species

Nevin TANKER, Engin ŞARER*

1. *Juniperus nana* Willd.'nin yaprak, ham meyva ve olgun meyvalarından elde edilen uçucu yağdaki monoterpenik hidrokarbürler'in gaz kromatografisiyle incelenmesi.

Fructus Juniperi (Ardıç meyvası) ve Oleum Juniperi (Ardıç esansı), bu gün de bazı kodeks ve farmakopelerde kayıtlı olan droglardandır (1,2,3,4,5). Birçok kodekse göre her iki drog ta *Juniperus communis* L. bitkisinden elde edilmektedir.

Bir Avrupa bitkisi olan *J. communis*'in memleketimizde de yetiştiği ancak yakın yıllarda saptanmıştır (6). Buna karşın, bu türün bir varyetesi olarak da kabul edilen *J. nana* Willd. (Cüce ardıç), Anadolu'da daha sık rastlanan bir türdür ve kuzey, kuzey-batı, batı ve orta Anadolu dağlarının yüksek kesimlerinde yetişmektedir.

Memleketimizde yetişen bu türün Farmakognozik yönden değerlendirilmesi amacıyla evvelce yaptığımız bir çalışma ile, *J. nana* meyvalarının *J. communis* meyvaları yerine kullanılabileceği sonucuna varmıştık (7).

Oleum Juniperi'nin kayıtlı olduğu kodeks ve farmakopelerde, bu uçucu yağın elde edilmesi için sadece olgun meyvalar kullanıldığı gibi bazen meyva ile beraber dal uçları (Norveç Farmakopesi) da kullanılmaktadır (**).

Redaksiyona verildiği tarih : 9 Mayıs 1975

* Farmakognozi Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi

** Pharmacopaea Norvegica Ed. V. 1939

Bu nedenle, birçok kodekste kayıtlı olan Oleum Juniperi'lerin fiziksel özellik bakımından farklılık göstermesi gibi, kimyasal yapıca da bir ölçüde değişik olması doğaldır.

Bundan önceki çalışmamızda, olgun meyvalardan subuharı distilasyonu ile elde ettiğimiz uçucu yağ kullanmış ve bu yağın bileşimini, fraksiyonlu distilasyon ile ayırım yaparak, saptamaya çalışmıştık. Bu çalışmada ise, uçucu yağın analizini daha hassas olan gaz kromatografisi yardımıyla yaptık ve yukarıda belirttiğimiz hususları gözönünde bulundurarak, hem olgun ve yeşil meyvalardan hem de yapraklardan, yine subuharı distilasyonu ile uçucu yağları elde ederek, araştırmalarımızı bu üç yağ üzerinde ve karşılaştırmalı olarak yürüttük.

Bu kez, sadece monoterpenik hidrokarbürlerini incelediğimiz bu yağların oksijenli bileşikler ve seskiterpenik bileşikler de incelenecek ve benzer çalışmalar Anadolu'da yetişen diğer *Juniperus* türlerinde de sürdürülecektir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Ekim ayında *Juniperus nana* Willd. bitkisinden toplanan yaprak, yeşil meyva (1 yıllık) ve olgun meyvalardan (2 yıllık), subuharı distilasyonu yöntemiyle uçucu yağlar elde edildi (7).

Açık yeşilimsi-sarı renkli ve kuvvetli aromatik kokulu olan bu yağlar, susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu.

Monoterpenik hidrokarbürlerin ayrılması :

Uçucu yağlar, bileşimindeki maddelere göre gruplara ayrıldıktan sonra gaz kromatografisine uygulanırsa, maddeler daha iyi bir ayırım göstermekte ve dolayısıyla daha kesin bir yargıya varılabilmektedir.

Biz de bu amaçla uçucu yağ silikagel sütununa koyup n-pentan ile yıkayarak alçak ısıda kaynayan monoterpenik hidrokarbürleri ayırdık (8).

Pentan dikkatle uçurulduktan sonra, her uçucu yağın monoterpenik hidrokarbür fraksiyonu, belirli koşullarda gaz kromatografisi uygulandı.

Deneylelerimizde, hidrojen alevi detektörü taşıyan Packard 419 gaz kromatograftan yararlanıldı.

Analizler başlıca 2 sistem üzerinde yürütüldü.

Sistem I :

Detektör : FID (Alev iyonizasyonu detektörü)

Kolon : Boyu 8 m, iç çapı 1.5 mm olan bakır spiral

Katı destek : Parçacık büyüklüğü 60/80 olan asitle yıkanmış Chromosorb

Stasyonier faz : % 10 luk Polietilenglikol 20 M

Isı : 100°C izotermal (detektör 200°C, enjektör 190°C)

Taşıyıcı gaz : Azot

Akış hızı : 30 ml/min.

Sistem II.

Bu sistemde birinci sistemden farklı olan kısımlar :

Stasyonier faz : % 10 luk β, β' - oksidiproprionitril

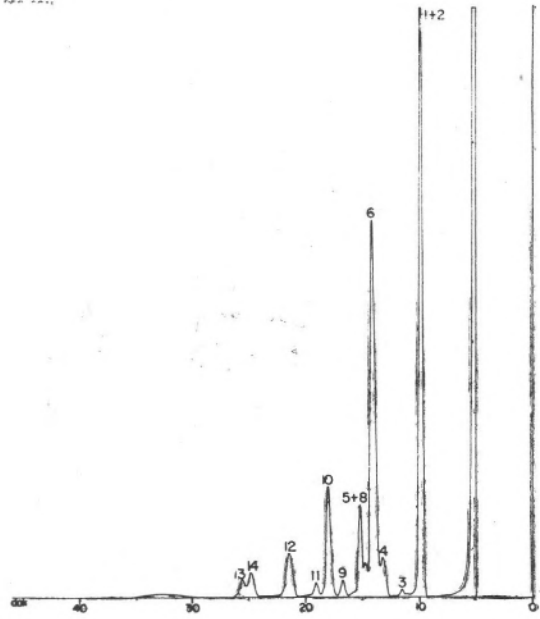
Isı : 30°C izotermal (detektör 180°C, enjektör 190°C)

Akış hızı : 25 ml/min.

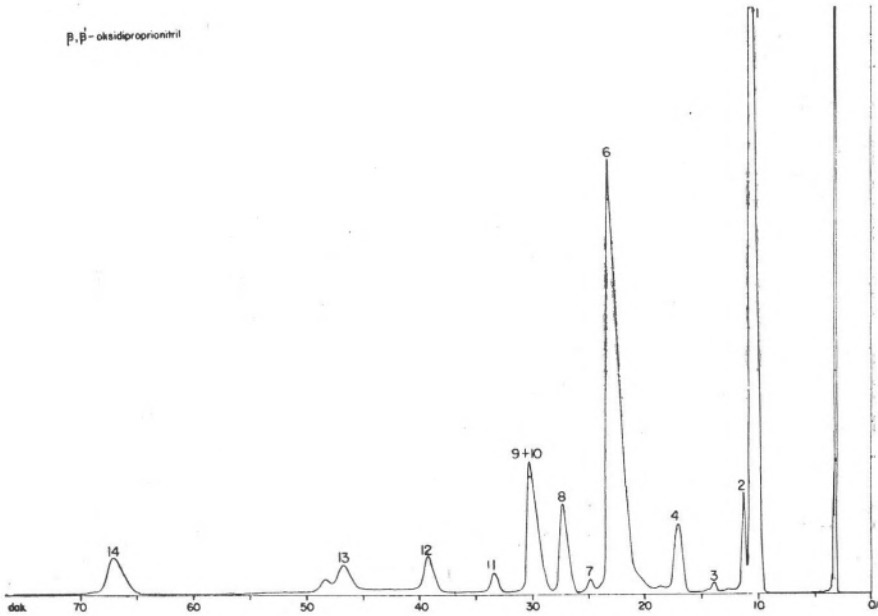
Maddelerin tanınması : Uçucu yağların bileşimindeki maddelerin tutuş zamanı (retansiyon zamanı), analizini aynı koşullarda yapılmış bir uçucu yağ ile karşılaştırılarak ve ayrıca saf maddelerden de yararlanarak yapılmıştır.

B U L G U L A R

Yaprak, yeşil meyva ve olgun meyvaların uçucu yağının, polietilenglikol (Sistem I) ve β, β' -oksidiproprionitril (Sistem II) kolonlarında yapılan analizleri sonucu 14 tane monoterpenik hidrokarbon taşıdığı saptanmıştır. Bunlar α -pinen, α -tuyen, kamfen, β -pinen, Δ_3 karen, sabinen, α -fellandren, mirsen, α -terpinen, limonen, β -fellandren, γ -terpinen, terpinolen ve p-simendir.



β, β' -oksidipropionitril



Kromatog. 1 — *J. nana* Willd. yapraklarının uçucu yağındaki monoterpenik hidrokarbürlerin Sistem I (PEG) ve Sistem II (β, β' -oksidipropionitril) deki gaz kromatogramları (pik numaraları tablo'larda açıklanmıştır).

Varlığı saptanan monoterpenik hidrokarbürlerin gaz kromatografteki tutuş zamanları Tablo I de verilmiştir.

Tablo I : *J. nana* Willd. yapraklarının uçucu yağındaki monoterpenik hidrokarbürlere başlıcalarının Sistem I ve II deki bağıl tutuş zamanları ve % bulunuş oranları.

Terpenler	Sistem I : PEG 20 M		Sistem II : β , β' -oksidipropionitril	
	bağıl tutuş zamanı	% oranı	bağıl tutuş zamanı	% oranı
(1) α -pinen	4.0	32.0	4.2	29.6
(2) α -tuyen	4.0		4.5	1.8
(3) kamfen	4.7	0.8	5.5	0.3
(4) β -pinen	5.3	3.2	6.8	3.7
(5) Δ_3 karen	5.9	4.0	—	—
(8) mirsen	5.9		10.8	4.3
(6) sabinen	5.7	29.6	9.2	30.5
(7) α -fellandren	—	—	9.8	0.9
(9) α -terpinen	6.8	2.4	11.9	8.5
(10) limonen	7.2	5.6	11.9	
(11) β -fellandren	7.7	1.6	13.1	0.9
(12) γ -terpinen	8.6	4.0	15.5	2.7
(13) terpinolen	10.2	2.4	18.5	2.7
(14) β -simen	9.9	3.2	26.8	3.7

Tablo I'de, saptanan maddelerin, hidrokarbür fraksiyonunda bulunan miktarları da % olarak verilmiştir. Verilen rakamlar arasında göze çarpan farklılık bazı piklerin içiçe girmesinden (Sistem I'deki β -pinen ve Sistem II'deki kamfen gibi) ileri gelmektedir.

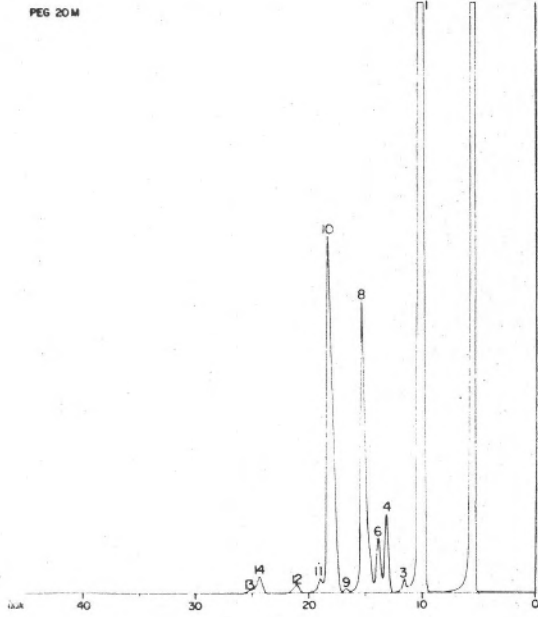
β , β' -oksidipropionitril ile daha iyi bir ayırımın sağlandığı Kromatogram I. de görülmektedir. Her ne kadar α -terpinen ve limonen ile Δ_3 karen ve sabinen aynı pikte birleşmiş görülüyorsa da, β , β' -oksidipropionitril'de ayrılmayan bu maddelerin PEG sisteminde ayrılması kolay olduğundan analiz sonucunu etkilememektedir, ve yaprak yağının α -pinen ve sabinence zengin olduğu açıkça görülmektedir.

Yeşil meyvalardan ve olgun meyvalardan elde edilen uçucu yağların monoterpenik hidrokarbür fraksiyonları da aynı koşullarda gaz kromatografa uygulandı.

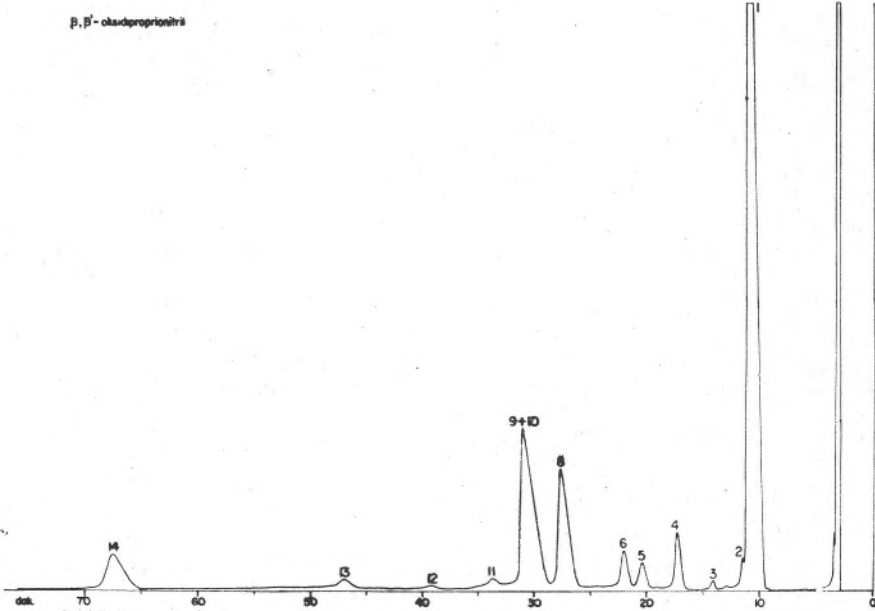
Yeşil meyvaların gaz kromatogramı ve monoterpenlerinin bağıl tutuş zamanı Kromatogram 2 ve Tablo II de, olgun meyvalarınkiler ise Kromatogram 3 ve Tablo III de görülmektedir. Tablolarda ayrıca, saptanan monoterpenlerin hidrokarbür fraksiyonlarında yüzde kaç oranda bulunduğu da verilmiştir.

Tablo II : *J. nana* Willd. yeşil meyvalarının uçucu yağındaki monoterpenik hidrokarbürlere başlıcalarının Sistem I ve Sistem II deki bağıl tutuş zamanları ve % bulunuş oranları.

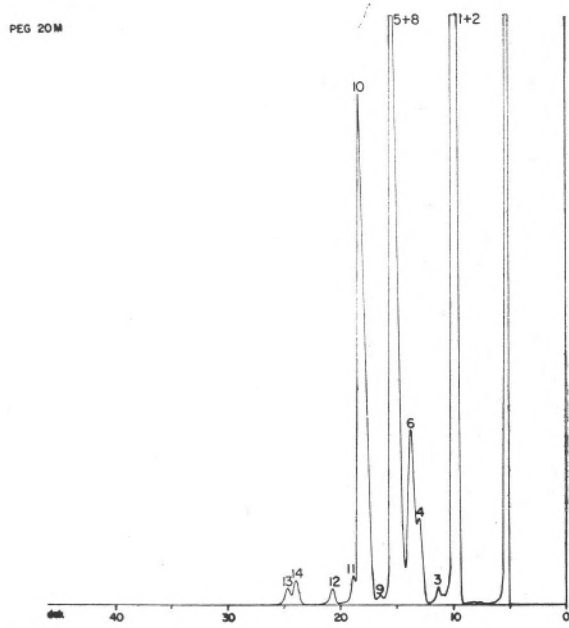
Terpenler	Sistem I : PEG 20 M		Sistem II : β, β' -oksidi-propionitril	
	bağıl tutuş zamanı	% oranı	bağıl tutuş zamanı	% oranı
(1) α -pinen	4.0	47.6	4.3	45.0
(2) α -tuyen	—	—	4.6	1.1
(3) kamfen	4.6	1.1	5.6	0.4
(4) β -pinen	5.2	2.3	6.8	4.2
(5) Δ_3 karen	—	—	8.0	2.7
(6) sabinen	5.5	2.0	8.7	3.0
(7) α -felandren	—	—	—	—
(8) mirsen	6.0	15.7	10.9	8.8
(9) α -terpinen	6.6	0.6	12.2	18.3
(10) limonen	7.2	21.5	12.2	—
(11) β -felandren	7.5	1.7	13.2	12.0
(12) γ -terpinen	8.3	1.7	15.4	0.8
(13) terpinolen	10.0	0.6	18.4	1.5
(14) p-simen	9.6	2.3	26.8	4.6



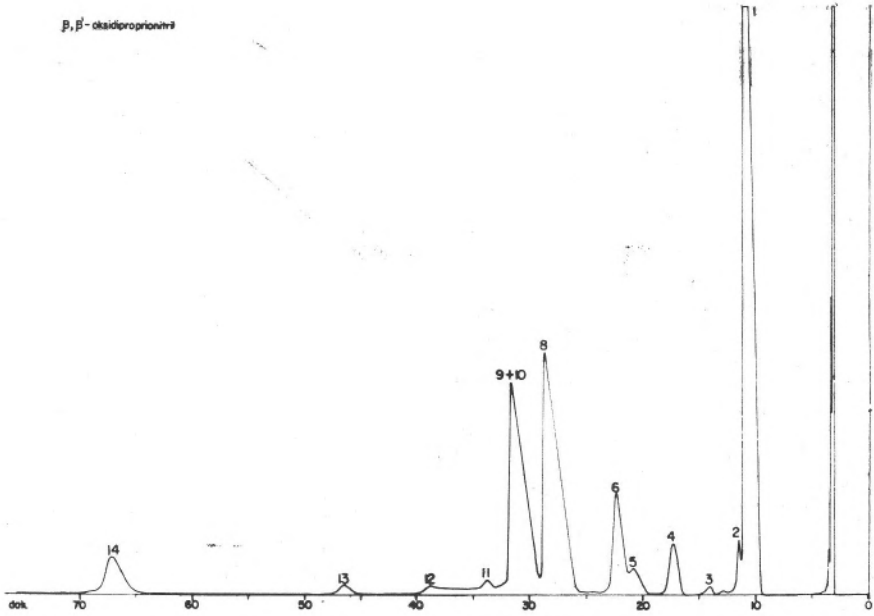
β, β' -oksadipropionitril



Kromatog. 2 — *J. nana* Willd. yeşil meyvalarının uçucu yağındaki monoterpenik hidrokarbürlerin Sistem I ve Sistem II deki gaz kromatogramları (pik numaraları tablolarda açıklanmıştır.)



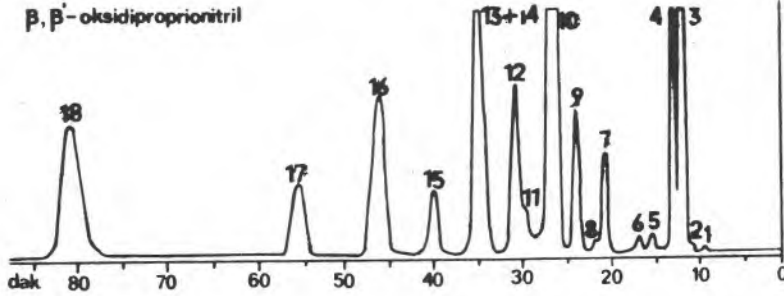
β, β' -oksidopropanol



Kromatog. 3 — *J. nana* Willd. olgun meyvalarının uçucu yağındaki monoterpenik hidrokarbürlerin Sistem I ve Sistem II deki gaz kromatogramları (pik numaraları tablolarda açıklanmıştır).

Tablo III : J. nana Willd. olgun meyvalarının uçucu yağındaki monoterpenik hidrokarbürlerden başlıcalarının Sistem I ve Sistem II deki bağıl tutuş zamanları ve % bulunuş oranları.

Terpenler	Sistem I : PEG 20 M		Sistem II : β, β' -oksidipropionitril	
	bağıl tutuş zamanı	% oranı	bağıl tutuş zamanı	% oranı
(1) α -pinen	4.0	26.5	4.3	29.1
(2) α -tuyen	4.0		4.6	
(3) kamfen	4.6	0.6	5.6	0.5
(4) β -pinen	5.2	3.1	6.8	3.2
(5) Δ_3 karen	6.0	29.0	8.2	1.3
(8) mirsen	6.0		11.4	22.9
(6) sabinen	5.5	8.7	8.8	6.8
(7) α -fellandren	—		—	
(9) α -terpinen	6.6	0.3	12.5	23.4
(10) limonen	7.2	25.3	12.5	
(11) β -fellandren	7.6	0.9	13.4	1.7
(12) γ -terpinen	8.2	0.9	15.4	1.0
(13) terpinolen	9.9	0.9	18.4	1.5
(14) p-simen	9.6	1.2	26.8	3.0



Kromatog. 4 — Oleum Juniperi'nin monoterpenik hidrokarbürlerinin Sistem II deki gaz kromatogramı.

(1) santen, (2) trisklen, (3) α -pinen, (4) α -tuyen (5) β -fenken, (6) kamfen, (7) β -pinen, (8) bilinmeyen (9) Δ_3 karen, (10) sabinen, (11) α -fellandren, (12) mirsen (13) α -terpinen, (14) limonen, (15) β -fellandren, (16) γ -terpinen, (17) terpinolen, (18) p-simen.

SONUÇ ve TARTIŞMA

J. nana yaprak, yeşil meyva ve olgun meyva uçucu yağlarının, monoterprenik hidrokarbürleri bakımından benzer yapıda olduğu kromatogramlarından açıkça görülmektedir. Ancak bazı maddeler farklı miktarlarda bulunmaktadır. Bu maddeler ve hidrokarbür fraksiyonunda bulunuş oranları Tablo IV de gösterilmiştir.

Tablo IV : *J. nana*'nın yaprak, yeşil meyva ve olgun meyva uçucu yağlarında bulunan başlıca monoterprenlerin hidrokarbür fraksiyonunda % bulunuş oranları.

	yaprak	yeşil meyva	olgun meyva
(1) α -pinen	29.6	29.0	45.0
(6) sabinen	30.0	6.8	3.0
(8) mirsen	4.0	22.8	8.8
(10) limonen	5.6	24.0	21.5

Bu sonuçlara göre her üç yağ da α -pinen'ce zengindir, bilhas- sa, olgun meyvada uçucu yağın hidrokarbür fraksiyonunun hemen hemen yarısını kapsamaktadır.

Sabinen oranı yapraklarda, mirsen miktarı ise yeşil meyvalar- da oldukça yüksektir.

Yapraklarda az miktarda bulunan limonen her iki meyvada da bolcadır ve hidrokarbür fraksiyonunun aşağı yukarı 1/4 ü, limo- nenden ibarettir.

J. nana'nın muhtelif kısımlarından elde edilen kromatogramlar Oleum Juniperi'nin kromatogramı (Kromatogram 4, Sistem II) ile karşılaştırılınca (9) görülüyor ki Oleum Juniperi *J. nana* yağı ile hid- rokarbür fraksiyonu bakımından büyük bir benzerlik göstermekte- dir. Bu da evvelki çalışmada vardığımız yargıyı doğrulamaktadır.

ÖZET

J. nana Willd. bitkisinin yaprak, yeşil meyva ve olgun meyva- larından subuharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın hidrokar- bür fraksiyonu, n-pentan ile, silikagel sütununda ayrıldıktan sonra gaz kromatografa uygulandı.

Polietilenglikol 20 M ve β,β' -oksidiprionitril stasyonere fazları ile ve 30-100°C lerde elde edilen gaz kromatogramları büyük benzerlik göstermektedir.

Her üç yağın hidrokarbür fraksiyonunda alçak ısıda kaynayan, başlıca 14 monoterpenik madde vardır. Bunlar α -pinen, α -tuyen, kamfen, β -pinen, Δ_3 karen, sabinen, α -felandren, mirsen, α -terpinen, limonen, β -felandren, γ -terpinen, terpinolen ve p-simen'dir. Ancak bazı maddelerde miktar bakımından farklılık görülmektedir. Şöyle ki, yapraklarda hidrokarbür fraksiyonunun % 29.6 sı α -pinen, % 30 u sabinendir.

Yeşil meyvalarda % 29 α -pinen, % 22.8 mirsen ve %24 limonen vardır.

Olgun meyvalarda ise α -pinen % 45, limonen % 21.5 tur.

Bu fraksiyonlar *J. communis* yağının aynı fraksiyonu ile de benzerdirler.

SUMMARY

In this research, low boiling hydrocarbon fraction of the volatile oils of *Juniperus nana* Willd. was studied gas chromatographically. These fractions were obtained from leaves, from ripe and unripe fruits, by steam distillation and separated from oxygenated compounds on silicagel column by eluting with n-pentane

The gas chromatograms obtained on the stationary phases polyethyleneglycol 20 M and β,β' -oxydiprionitrile at 30°C and 100°C are very similar to each other.

In the hydrocarbon fractions of these three oils, 14 same monoterpenes, α -pinene, α -thujene, camphene, β -pinene, Δ_3 carene, sabinene, α -phellandrene, myrcene, α -terpinene, limonene, β -phellandrene, γ -terpinene, terpinolene, p-cymene were found. But some of the monoterpenes are different in amount, that's to say, 29.6 % of the hydrocarbon fraction of the leaf oil is α -pinene, and 30 % is sabinene.

In the oil of unripe fruits, 29 % of hydrocarbon fraction is α - pinene, 22.8 % is myrcene and 24 % is limonene, while in the ripe fruits' oil, α - pinene is 45 % and limonene is 21.5 %.

These hydrocarbon fractions are similar to that of the same fraction of *Oleum Juniperi*.

L İ T E R A T Ü R

- 1) Ph. Helv. VI ed. (1971).
- 2) Deutsches Arzneibuch 7. Aus. (1973).
- 3) Österreichisches Arzneibuch 9. Aus. 1, (1960).
- 4) Ceskoslovensky Lékopis, Vydání třetí, 2. Svazek (1970).
- 5) VI th Hungarian Pharmacopoeia (1970).
- 6) Baytop, A., Özocak, N., **J. Fac. Pharm. İstanbul** 6, 65 (1970).
- 7) Gülen (Tanker), N., - *Juniperus nana* Willd. bitkisi üzerinde Farmakognozik çalışmalar. 1958 (Doktora tezi).
- 8) Tanker, N., - Gas - Liquid Chromatographic researches on the volatile oil of a *Thymus* species (*Thymus sipyleus*) with a lemon - like odour. **J. Fac. Pharm. Ankara** 3, 112 (1973).
- 9) Karlsen, J., Baerheim Svendsen, A., - The constituents of Norwegian oil of *Juniper* - **Medd. Norsk Farm. Selsk**, 27, 165 (1965).